



N° d'Ordre : 04 /2021

**Formation Doctorale : Molécules Bioactives, Santé et Biotechnologies**

**Discipline : Biologie**

**Spécialité : Biochimie et Biotechnologie**

**Laboratoire : Biotechnologie, Environnement, Agro-alimentaire et Santé**

## **THESE DE DOCTORAT**

Présentée par

**SOUNNI Fatiha**

**Valorisation des margines comme source d'énergie renouvelable et des molécules à haute valeur ajoutée**

Soutenue le 21/ 01 / 2021 devant le jury composé de :

|                               |                                                                            |                           |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| <b>Pr. TALEB Mustapha</b>     | <b>Faculté des sciences Dhar El Mahraz-Fès</b>                             | <b>Président</b>          |
| <b>Pr. BOUCHELTA Aziz</b>     | <b>Faculté des sciences-Meknès</b>                                         | <b>Rapporteur</b>         |
| <b>Pr. EL OMARI Hamid</b>     | <b>Faculté des sciences et techniques-Settat</b>                           | <b>Rapporteur</b>         |
| <b>Pr. MERZOUKI Mohammed</b>  | <b>Faculté des sciences Dhar El Mahraz-Fès</b>                             | <b>Rapporteur</b>         |
| <b>Pr. EL AMRI Hamid</b>      | <b>Institut des Analyses Génétiques de la<br/>Gendarmerie Royale-Rabat</b> | <b>Examineur</b>          |
| <b>Pr. EL BARI Hassan</b>     | <b>Faculté des sciences-Kénitra</b>                                        | <b>Examineur</b>          |
| <b>Pr. BENLEMLIH Mohammed</b> | <b>Faculté des sciences Dhar El Mahraz-Fès</b>                             | <b>Directeur de thèse</b> |

## *DEDICACES*

### ***A mes chers parents,***

Pour vos sacrifices, et votre amour inconditionnel tout au long de ma vie. J'espère être à la hauteur de votre confiance et vos ambitions.

### ***A mes très chers sœurs et frères : Atika, Lamyae, Omar, Nouha & Abdelmoula***

Je vous aime fort. Merci pour tout ce que vous avez fait et ce que vous faites pour moi, vous êtes un grand support pour moi.

### ***A ma chère amie : Imane***

Tu n'es pas seulement mon amie intime, mais aussi ma confidente, mon inspirante, Merci d'être là pour m'aider, m'encourager et m'écouter.

### ***A mes nièces et neveu : Hiba, Ali et Iness***

Vous êtes mes chers, je vous aime énormément

### ***A mon beau-frère : Youssef***

Merci pour tes encouragements

### ***A la mémoire de mon grand-père qui nous a quitté récemment .....***

### ***A mes amis (es) du laboratoire LB***

Merci pour tous les moments de qualité que nous avons vécus ensemble.

### ***A mes amies de l'IAA 4***

Merci pour la qualité de l'amitié qui nous lie depuis longtemps et encore

### ***A tout le personnel de Laboratoire LB, du Département de biologie et de la faculté (Etudiants, Professeurs, Personnel administratif)***

Merci pour votre aimable collaboration

# REMERCIEMENTS

Le présent travail de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de Biotechnologie (LB) de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz-Université Sidi Mohammed Ben Abdellah-Fès.

Tout d'abord, Je me fais un agréable devoir de remercier vivement mon directeur de thèse Professeur **Mohammed BENLEMLIH**, Doyen de Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, et responsable de l'unité Biotechnologie de l'environnement- Laboratoire de Biotechnologie, qui m'a accueilli et m'a fait bénéficier de son longue expérience. Je le remercie particulièrement pour ses conseils judicieux, son souci permanent de me pousser vers l'avant, sa rigueur scientifique, sa disponibilité malgré ses préoccupations et lourdes responsabilités administratives. Je le remercie de m'avoir intégré dans son parcours de chercheur imminent et d'être une partie de son histoire riche en expériences et apprentissages.

Mes vifs remerciements vont également au Professeur **Mohammed MERZOUKI**, Directeur du Laboratoire de Biotechnologie de Faculté des Sciences Dhar El Mahraz.

Je ne le remercierai jamais assez pour avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail. Ses remarques scientifiques pertinentes m'ont beaucoup aidée à progresser. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude pour son aide et ses qualités humaines.

Un grand merci s'adresse à **Pr Mustapaha TALEB** Professeur à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz qui m'a fait l'honneur de présider le jury de ma thèse. J'exprime ma reconnaissance à **Pr Hamid EL OMARI**, Professeur à la Faculté des Sciences et techniques-Settat pour ses efforts et son temps à titre de rapporteur et membre du jury de ma thèse.

Je suis très reconnaissante de l'honneur que **Pr Aziz BOUCHELTA**, Professeur à Faculté des Sciences-Meknès, m'a fait en jugeant ce travail. Je remercie également **Pr Hamid EL AMRI, Directeur de l'Institut des Analyses Génétiques de la Gendarmerie Royale** -Rabat, d'avoir accepté de juger ce mémoire en sa qualité d'examineur, j'en suis très honorée.

Mes remerciements s'adressent à **Pr Hassan EL BARI**, Professeur à la Faculté des Sciences-Kénitra, d'examiner mon travail. Je le remercie également, lui et son aimable équipe, pour l'accueil et les bonnes conditions de déroulement de mon stage au sein de son laboratoire.

Je tiens aussi à remercier vivement Professeur **Mohammed EL HASSOUNI**, vice Doyen de Faculté des Sciences de Fès, pour sa disponibilité et son aimable aide tout au long de ma thèse.

# AVANT-PROPOS

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de biotechnologie de l'environnement, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès.

Une partie de ce travail s'inscrit dans le cadre du projet de recherche dans les domaines prioritaires de la recherche scientifique et du développement technologique (**projet PPR**, type B (2017-2019) financé par le Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique (CNRST) et le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de la Formation des Cadres, en collaboration avec les universités de Kénitra et Settat.

Le projet est intitulé « *Etude des Technologies Appropriées pour la conversion des Déchets Organiques et Biomasse en Energie Renouvelable et en Biofertilisant durables* ».

En tant que partenaire de projet, nous proposons une solution innovante pour le traitement des margines afin de réduire leur effet sur l'environnement mais aussi de valorisation comme source d'énergie renouvelable sous forme de biogaz, en utilisant la technologie de la digestion anaérobie ou bio méthanisation en combinaison avec un prétraitement électrochimique.

La partie expérimentale de ce travail a été réalisée dans les laboratoires suivants :

- Laboratoire de biotechnologie de l'environnement, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès.
- Laboratoire des énergies renouvelables et environnement- unité d'Energie Biomasse - Biogaz, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, dans le cadre d'un stage de recherche.

# Résumé

---

Les margines représentent une problématique environnementale sérieuse pour les pays producteurs de l'huile d'olive à l'instar du Maroc. Le danger de ces effluents réside dans leur impact négatif sur le milieu naturel récepteur, d'où la nécessité de proposer des solutions innovantes pour leur bonne gestion.

Ce travail de recherche vise la valorisation énergétique des margines par production de biogaz, valorisable en électricité et chaleur.

Le deuxième volet consiste en la valorisation de ces effluents comme source de biomolécules à haute valeur ajoutée notamment les polyphénols.

Dans un premier temps, nous avons mené une étude comparative de deux types de margines : issues du système à presse et du système continu à trois phases. La comparaison a porté sur la détermination de la composition physicochimique, microbiologique, métallique et phénolique de ces margines.

Les margines présentent une forte charge organique en termes de DCO avec 298 et 125 g/L pour les margines à presse et margines du système continu à trois phases respectivement.

L'hydroxytyrosol demeure le composé phénolique majoritaire atteignant jusqu'à 1446 mg/L pour les margines du système moderne.

Ensuite, nous avons étudié le prétraitement des margines par électrocoagulation avant l'étape de la digestion anaérobie. L'optimisation des facteurs par l'outil des plans d'expériences montre que les meilleurs taux d'abattements de DCO et polyphénols (60 et 75 %) sont obtenus après 4hrs d'électrolyse et sous la tension 24 V/5A.

L'étude de co-digestion des margines a été réalisée avec quatre substrats riches en azote, à savoir le lactosérum, le fumier avicole, l'effluent d'abattoir et les déchets verts. Seul le mix margines-effluent d'abattoir a été utilisé en test de co digestion en mode semi continu dans un réacteur anaérobie séquentiel discontinu.

Le mélange margines : effluent d'abattoir à 50:50 correspond au ratio optimal avec une production de biogaz plus élevée en mode batch. La co-digestion de ce mélange en mode continu est possible jusqu'à une charge de 9 g DCO / L / j en terme de stabilité et de production de biogaz.

Dans un second temps, nous avons déterminé la performance de deux résines synthétiques (XAD4 et Amberjet) et de bio-adsorbants (chitine, sciure de bois et coquilles d'œufs) pour la récupération des polyphénols. Ce processus a été contrôlé par analyse quantitative et qualitative par HPLC des polyphénols récupérés après désorption.

Cette étude a révélé que les meilleurs taux d'adsorption des polyphénols sont obtenus pour la sciure de bois à une dose de 50 g/L, pendant un temps de contact de 3 heures et à pH alcalin.

En désorption, l'éthanol est le meilleur solvant et l'hydroxytyrosol a été bien récupéré avec une concentration de 680 mg/L.

**Mots clés :** Margines, Valorisation, Biogaz, Bio méthanisation, Co-substrats, Adsorption, Polyphénols

# Abstract

Olive mill wastewaters (OMW) is a serious environmental problem within olive oil production countries like Morocco. These effluents have a high risk due to their negative impact on the environment. Hence, innovative solutions are needed for a good management of these wastes.

This research aims at the energy recovery from OMW throughout biogas production; this fuel is used as a source of electricity and heat.

The other part of this study focuses on valorization of these effluents as a source of biomolecules with high added value like polyphenols.

First, we carried out a comparative study of two types of OMW: from the press system, and from continuous three-phase system. Comparison focused on the determination of physicochemical, microbiological, metallic and phenolic composition of these effluents.

OMW have a high organic load in terms of COD with 298 and 125 g/L for the press and continuous three-phase system respectively.

Hydroxytyrosol is the major phenolic compound reaching up to 1446 mg/L for modern system.

Then, we studied pretreatment of olive mill OMW by electrocoagulation before anaerobic digestion stage. Optimization of factors by experimental design showed that best removal rates of COD and polyphenols (60 and 75%) are obtained after 4 hours of electrolysis and 24 V / 5A.

Co-digestion of OMW was carried out with four nitrogen rich substrates, namely whey (WW), poultry manure (PM), slaughterhouse wastewater (SWW), and green waste. Only the mix (slaughterhouse effluent: OMW) was further co-digested in semi-continuous mode in a anaerobic sequential batch reactor.

The mix (OMW: SWW) at 50:50 resulted in the highest biogas production in batch mode. Co-digestion of this mixture in continuous mode is possible up to an OLR of 9 g COD / L / d in terms of stability and biogas production.

In a second step, we determined the performance of two synthetic resins (XAD4 and Amberjet) and bio-adsorbents (chitin, sawdust and eggshells powder) for the recovery of polyphenols, this process was controlled by quantitative and qualitative analysis of polyphenols using HPLC .

The highest adsorption rates are obtained for sawdust at a dose of 50 g/L, during 3 hours of contact, at alkaline pH.

Ethanol is the best solvent for desorption and hydroxytyrosol was well recovered, up to 680 mg /L.

**Keywords:** Olive Mill Wastewaters, Valorization, Biogas, Anaerobic digestion, Co-substrates, Adsorption, Polyphenols.

## *Publications ET communications*

### Liste de publications

- ✓ **Sounni F.**, Elgnaoui Y., El Bari H., Merzouki, M., and Benlemlih, M. (2020). Effect of Mixture Ratio and Organic Loading Rate during Anaerobic Co digestion of Olive Mill Wastewater and Agro Industrial Wastes. *Accepté pour publication in Biomass Conversion and Biorefinery*.
- ✓ **Sounni, F.**, Aissam, H., Ghomari, O., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2018). Electrocoagulation of olive mill wastewaters to enhance biogas production. *Biotechnology letters*, 40(2), 297-301.
- ✓ El Gnaoui, Y., **Sounni, F.**, Bakraoui, M., Karouach, F., Benlemlih, M., Barz, M., & El Bari, H. (2020). Anaerobic co-digestion assessment of olive mill wastewater and food waste: effect of mixture ratio on methane production and process stability. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 103874.
- ✓ Ghomari, O., **Sounni, F.**, Massaoudi, Y., Ghanam, J., Kaitouni, L. B. D., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2019). Phenolic profile (HPLC-UV) of olive leaves according to extraction procedure and assessment of antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, 23,347.
- ✓ Laaboudi, W., Ghanam, J., Ghomari, O., **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2016). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of phenolic olive tree extract in streptozotocin diabetic rats. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 8, 287-291.
- ✓ Moussaoui, A. E., Jawhari, F. Z., Bourhia, M., Maliki, I., **Sounni, F.**, Mothana, R. A., Bousta, D., & Bari, A. (2020). *Withania frutescens*: Chemical characterization, analgesic, anti-inflammatory, and healing activities. *Open Chemistry*, 18(1), 927-935.

### Séjours scientifiques/stages

- ❖ Stage au laboratoire des énergies renouvelables, Université Ibn Tofail-Kénitra (Mars 2018)
- ❖ Séjour scientifique à l'Université Hochschule Bonn Rhein-Sieg –Allemagne (Décembre 2016)

## Prix et distinctions

- 2ème prix du meilleur projet, (projet : Biopack), Les Doctoriales de l'USMBA-cité d'innovation, 18-20 Mai 2016.
- 3<sup>ème</sup> prix de la meilleure jeune startup (Solar tracker), *Company program*, Injaz Almaghrib, 30 Juillet 2016.

## Liste de communications

- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Metagenomic analysis applied to anaerobic ecosystems. Colloquium MICROBIOME for HEALTH II. 29-30-31 Octobre, 2018, Fès, Maroc (**Affichée**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Potentiel biogaz des margines/effluent d'abattage en mode batch et continu. La 2ème Journée Scientifique dédiée aux Doctorants- FSDM, Fès, Maroc (**Affichée**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Apport de la biotechnologie environnementale dans la valorisation énergétique des margines. IVe Symposium International sur les Biotechnologies. 13-14 Février 2018, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès (**Affichée**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Valorisation énergétique des margines. Les deuxièmes journées d'huile d'olive de Zerhoun .23-24- 25 Novembre 2018, Zerhoun, Maroc (**Orale**).
- **Sounni, F.**, Ghannam J, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Anaerobic digestion of olive mill wastewater for biogas recovery. « Deutsch-Arabische Kurzmassnahmen: Workshop zur Vorbereitung eines gemeinsamen Studienganges » .10 -17 Decembre 2016. Hochschule Bonn-Rhein-Sieg, 53754 Sankt Augustin-Allemagne (**Orale**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Etude de bio méthanisation des margines. 1ère Conférence Méditerranéenne sur la Méthanisation, le Biogaz et la Valorisation Energétique des Déchets- Medwrconf 2016. 1-2 Juin 2016. Beni Mellal, Maroc (**Orale**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Procédé combiné de traitement et valorisation énergétique des margines. VI Th Euro-Mediterranean Workshop on Water, Sediments, Catalysis and Environment. 18-19 Avril 2016, Ecole supérieure de technologie –Fès, Maroc (**Affichée**).

- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Production de biogaz par co-digestion des margines, Colloque “ Les changements climatiques : Quelles stratégies pour un développement Durable ? 2 et le 3 Novembre 2016, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès (**Orale**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Effet de la co-digestion sur la méthanisation des margines. 2èmes Journées De Procédés Pour L'énergie et l'environnement-FPT TAZA, 24 - 25 Octobre 2016 (**Orale**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Traitement et valorisation des margines par bio-méthanisation. 1er forum du pôle de biotechnologie, 13 Novembre 2015, FSDM Fès (**Affichée**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Détoxification des margines par procédés d'oxydation avancée. 1er forum du pôle de l'eau et de l'environnement, 23 novembre 2015, FST Fès (**Affichée**).
- **Sounni, F.**, Merzouki, M., & Benlemlih, M. Potentiel bio méthane de différents substrats organiques en Co-méthanisation avec les margines, 2eme forum du pôle biotechnologie- 20 Décembre 2016, FSDM Fès (**Affichée**).
- **Sounni, F.**, Ghannam J, Merzouki, M., & Benlemlih, M. La biotechnologie environnementale pour la dépollution et valorisation énergétique des effluents. Premier forum national la biotechnologie environnementale, 22 Novembre 2016, FPT TAZA (**Affichée**).

# SOMMAIRE

Avant- propos

Résumé

Abstract

Introduction Générale

## Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>I. Introduction</b>                                                                      | 5  |
| <b>II. Oléiculture</b>                                                                      | 5  |
| II.1. Oléiculture au Maroc                                                                  | 5  |
| II.2 Procédés d'extraction d'huile d'olive                                                  | 7  |
| II.2.1 Procédés en discontinu ou système à presse                                           | 7  |
| II.2.2 Procédés en continu ou système à centrifugation                                      | 8  |
| II.3 Les sous-produits d'extraction d'huile d'olive                                         | 9  |
| II.3.1 Les feuilles, brindilles                                                             | 9  |
| II.3.2 Les grignons                                                                         | 9  |
| II.3.3 Les margines                                                                         | 10 |
| II.4 Composition des margines                                                               | 10 |
| II.4.1 L'eau                                                                                | 10 |
| II.4.2 Composition organique                                                                | 11 |
| a) Les polyphénols                                                                          | 11 |
| b) Les sucres                                                                               | 12 |
| c) Les lipides                                                                              | 13 |
| d) Les acides organiques                                                                    | 13 |
| e) Les vitamines                                                                            | 13 |
| f) Les composés azotés                                                                      | 13 |
| II.4.3 Composition minérale                                                                 | 14 |
| II.5 Problématique environnementale des margines                                            | 15 |
| II.5.1 Pollution du sol et phyto toxicité                                                   | 15 |
| II.5.2 Pollution de l'eau                                                                   | 16 |
| II.5.3 Pollution de l'air                                                                   | 17 |
| <b>III. Traitement des margines</b>                                                         | 18 |
| III.1 Procédés physiques                                                                    | 18 |
| III.1.1 Evaporation                                                                         | 18 |
| III.1.2 Distillation                                                                        | 19 |
| III.1.3 Adsorption                                                                          | 19 |
| III.2 Procédés hydro-thermiques                                                             | 20 |
| III.3 Procédés membranaires                                                                 | 20 |
| III.4 Procédés physicochimiques                                                             | 21 |
| III.5 Procédés d'oxydation avancée                                                          | 21 |
| III.5.1 Procédés d'oxydation chimique                                                       | 22 |
| a) Procédés Fenton ( $\text{Fe}^{2+}$ / $\text{Fe}^{3+}$ / $\text{H}_2\text{O}_2$ )         | 22 |
| b) Peroxonation ( $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ )                                       | 22 |
| c) Oxydation catalytique par l'air humide                                                   | 23 |
| III.5.2 Procédés d'oxydation photochimique                                                  | 23 |
| a) Photolyse de $\text{H}_2\text{O}_2$ ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ )                 | 23 |
| b) Photolyse d' $\text{O}_3$ ( $\text{O}_3/\text{UV}$ )                                     | 23 |
| c) Photo-Fenton ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ ( $\text{Fe}^{3+}$ )/ $\text{UV}$ ) | 23 |
| d) Photo-peroxonation ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3/\text{UV}$ )                       | 24 |
| e) Photo catalyse homogène ( $\text{Fe}^{3+}/\text{UV}$ )                                   | 24 |

|                                                          |           |
|----------------------------------------------------------|-----------|
| f) Photo catalyse hétérogène .....                       | 24        |
| III.5.3 Oxydation Sono chimique .....                    | 24        |
| III.5.4 Procédés d'oxydation électrochimique .....       | 25        |
| a) Oxydation anodique (OA) .....                         | 25        |
| b) Electro-Fenton (EF) .....                             | 26        |
| c) Electrocoagulation (EC) .....                         | 26        |
| III.6 Procédés biologiques .....                         | 26        |
| III.6.1 Les procédés aérobies .....                      | 27        |
| III.6.2 Compostage .....                                 | 27        |
| III.6.3 Les procédés anaérobies .....                    | 28        |
| <b>IV. Valorisation des margines .....</b>               | <b>28</b> |
| IV.1 Récupération de biomolécules .....                  | 28        |
| IV.1.1 Les polyphénols .....                             | 28        |
| IV.1.2 Les enzymes .....                                 | 29        |
| IV.1.3 Les Polysaccharides .....                         | 30        |
| IV.1.4 Les bio surfactants .....                         | 30        |
| IV.1.5 Les fibres .....                                  | 30        |
| IV.1.6 Champignons comestibles .....                     | 31        |
| IV.2 Valorisation agronomique .....                      | 31        |
| IV.2.1 Epandage sur les sols .....                       | 31        |
| IV.2.2 Utilisation comme bio pesticide .....             | 31        |
| IV.2.3 Utilisation comme compost .....                   | 32        |
| IV.3 Valorisation comme source d'énergie .....           | 32        |
| IV.3.1 Production d'hydrogène .....                      | 32        |
| IV.3.2 Le bio-éthanol et biodiesel .....                 | 33        |
| IV.3.3 Le bio-méthane .....                              | 33        |
| IV.4 La digestion anaérobie .....                        | 34        |
| IV.4.1 Les étapes de la digestion anaérobie .....        | 34        |
| IV.4.2 Facteurs influençant la digestion anaérobie ..... | 35        |
| a) pH .....                                              | 35        |
| b) Rapport C/N .....                                     | 36        |
| c) Température .....                                     | 36        |
| d) Origine et nature de l'inoculum .....                 | 37        |
| e) Nutriments .....                                      | 37        |
| f) Charge organique .....                                | 37        |
| g) Temps de séjour .....                                 | 38        |
| IV.4.3 Les réacteurs anaérobies .....                    | 38        |
| a) Bioréacteurs à biomasse libre.....                    | 38        |
| b) Réacteurs à biomasse fixe .....                       | 39        |
| c) Réacteurs granulaires .....                           | 39        |
| IV.4.4 Les produits de la digestion anaérobie.....       | 40        |
| a) Le biogaz .....                                       | 40        |
| b) Le digestat .....                                     | 40        |
| IV.4.5 Inhibiteurs de la digestion anaérobie .....       | 41        |
| a) Les acides gras volatils .....                        | 41        |
| b) Ammoniac NH <sub>3</sub> .....                        | 41        |
| <b>V. Conclusion .....</b>                               | <b>42</b> |

## Chapitre 2 : Caractérisation physicochimique, microbiologique, et métallique des margines

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| <b>I. Introduction</b>                                         | 44 |
| <b>II. Matériel et méthodes</b>                                | 44 |
| II.1 Echantillonnage des margines                              | 44 |
| II.2 Analyses physicochimiques                                 | 45 |
| II.2.1 pH                                                      | 45 |
| II.2.2 Conductivité                                            | 46 |
| II.2.3 Demande chimique en oxygène (DCO)                       | 46 |
| II.2.4 Demande biologique en oxygène (DBO <sub>5</sub> )       | 46 |
| II.2.5 Nitrites (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )                | 46 |
| II.2.6 Nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )                | 47 |
| II.2.7 Ammonium (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )                | 47 |
| II.2.8 Ortho phosphates (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )       | 47 |
| II.2.9 Polyphénols totaux                                      | 47 |
| II.2.10 Matière grasse                                         | 47 |
| II.2.11 Matière sèche                                          | 47 |
| II.2.12 Matière volatile                                       | 48 |
| II.2.13 Matière minérale                                       | 48 |
| II.2.14 Les sucres totaux                                      | 48 |
| II.3 Composition métallique                                    | 48 |
| II.4 Analyses microbiologiques                                 | 48 |
| II.4.1 Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)                   | 48 |
| II.4.2 Coliformes Totaux (CT)                                  | 49 |
| II.4.3 Coliformes Fécaux (CF)                                  | 49 |
| II.4.4 Streptocoques Fécaux (SF)                               | 49 |
| II.4.5 Staphylocoques                                          | 49 |
| II.4.6 Champignons                                             | 49 |
| II.4.7 Levures                                                 | 50 |
| II.5 Profil phénolique des margines                            | 50 |
| <b>III. Résultats et discussion</b>                            | 51 |
| III.1 Caractéristiques physicochimiques des margines           | 51 |
| III.1.1 pH                                                     | 52 |
| III.1.2 Demande chimique en oxygène (DCO)                      | 53 |
| III.1.3 Demande biochimique en oxygène (DBO <sub>5</sub> )     | 53 |
| III.1.4 Conductivité électrique                                | 54 |
| III.1.5 Nitrates, nitrites et ammonium                         | 54 |
| III.1.6 Ortho phosphates                                       | 55 |
| III.1.7 Matière grasse                                         | 55 |
| III.1.8 Les sucres                                             | 56 |
| III.1.9 Matières en suspension                                 | 56 |
| III.1.10 Les polyphénols                                       | 56 |
| III.2 Composition métallique                                   | 57 |
| III.3 Analyses microbiologiques des margines                   | 58 |
| III.4 Profil phénolique des margines                           | 59 |
| <b>IV. Conclusion</b>                                          | 62 |
| <b>Chapitre 3 : Prétraitement électrochimique des margines</b> |    |
| <b>I. Introduction</b>                                         | 64 |
| <b>II. Matériel et méthodes</b>                                | 64 |
| II.1 Dispositif expérimental                                   | 64 |

|                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.2 Etude des facteurs influençant l'électrocoagulation.....                      | 66        |
| II.3 Effet de l'électrocoagulation sur les margines .....                          | 66        |
| II.3.1 Composition physicochimique.....                                            | 66        |
| II.3.2 Profil phénolique .....                                                     | 66        |
| II.3.3 Activité antibactérienne .....                                              | 66        |
| II.3.4 Test de germination .....                                                   | 67        |
| II.3.5 Les boues de traitement.....                                                | 67        |
| II.3.6 Production de biogaz .....                                                  | 68        |
| <b>III. Résultats et discussion.....</b>                                           | <b>68</b> |
| III.1 Criblage et optimisation des facteurs influençant l'électrocoagulation ..... | 68        |
| III.1.1 Description des facteurs .....                                             | 68        |
| III.1.2 Etude graphique des effets de facteurs .....                               | 70        |
| a) Diagrammes des facteurs .....                                                   | 70        |
| b) Diagrammes de Pareto .....                                                      | 71        |
| III.1.3 Validation du modèle .....                                                 | 72        |
| III.1.4 Optimisation des facteurs de l'électrocoagulation .....                    | 73        |
| a) Optimisation de la réponse 1 (abattement de DCO) .....                          | 75        |
| b) Optimisation de la réponse 2 (abattement des polyphénols) .....                 | 77        |
| III.2 Effet de l'électrocoagulation sur les margines .....                         | 78        |
| III.2.1 Composition physicochimique .....                                          | 78        |
| III.2.2 Profil phénolique par HPLC .....                                           | 80        |
| III.2.3 Biotoxicité des margines .....                                             | 81        |
| III.2.4 Phytotoxicité des margines .....                                           | 83        |
| III.2.5 Réutilisation des boues d'électrocoagulation .....                         | 84        |
| III.2.6 Le potentiel biogaz des margines .....                                     | 86        |
| <b>IV. Conclusion .....</b>                                                        | <b>88</b> |

#### **Chapitre 4 : Production de biogaz par digestion anaérobie**

|                                                           |            |
|-----------------------------------------------------------|------------|
| <b>I. Introduction .....</b>                              | <b>90</b>  |
| <b>II. Matériel et méthodes .....</b>                     | <b>90</b>  |
| II.1 Substrats et inoculum .....                          | 90         |
| II.2 Prétraitement des margines.....                      | 91         |
| II.3 Co-digestion des margines en mode batch .....        | 91         |
| II.4 Co-digestion des margines en mode continu .....      | 92         |
| <b>III. Résultats et discussion .....</b>                 | <b>94</b>  |
| III.1 Caractérisation physicochimique des substrats ..... | 94         |
| III.2 Production de biogaz en mode batch .....            | 95         |
| III.3 Co digestion en mode continu .....                  | 98         |
| III.3.1 Effet de la charge organique .....                | 98         |
| III.3.2 Stabilité du digesteur .....                      | 100        |
| <b>IV. Conclusion .....</b>                               | <b>102</b> |

#### **Chapitre 5 : Récupération des polyphénols des margines**

|                                                          |            |
|----------------------------------------------------------|------------|
| <b>I. Introduction .....</b>                             | <b>104</b> |
| <b>II. Matériel et méthodes .....</b>                    | <b>104</b> |
| II.1 Margines d'olive .....                              | 104        |
| II.2 Préparation et caractérisation des Adsorbants ..... | 105        |
| II.2.1 Résine XAD 4 .....                                | 105        |
| II.2.2 Résine AMBERJET 4200 Cl .....                     | 106        |
| II.2.3 Sciure de bois .....                              | 107        |

|                                                    |     |
|----------------------------------------------------|-----|
| II.2.4 Coquilles d'œuf .....                       | 108 |
| II.2.5 Chitine .....                               | 109 |
| II.3 Préparation des adsorbants .....              | 111 |
| II.4 Protocoles expérimentaux d'adsorption .....   | 112 |
| II.4.1 Effet de masse d'adsorbant .....            | 113 |
| II.4.2 Effet du temps de contact .....             | 113 |
| II.4.3 Effet du pH .....                           | 113 |
| II. 5 Protocoles expérimentaux de désorption ..... | 114 |
| <b>III. Résultats et discussion</b> .....          | 114 |
| III.1 Effet de la masse d'adsorbant .....          | 114 |
| III.2 Effet du temps de contact .....              | 116 |
| III. 3 Effet du pH .....                           | 117 |
| III.4 Etude structurale des adsorbants (MEB) ..... | 117 |
| III.5 Cinétique de la désorption .....             | 119 |
| III.6 Analyse qualitative des désorbats .....      | 121 |
| <b>IV. Conclusion</b> .....                        | 123 |

## **Chapitre 6 : Dimensionnement du pilote de traitement et valorisation des margines**

|                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>I. Introduction</b> .....                                     | 126 |
| <b>II. Objectifs du projet</b> .....                             | 126 |
| II.1 Environnementaux .....                                      | 126 |
| II.2 Socioéconomiques .....                                      | 126 |
| II.3 Industriels .....                                           | 127 |
| <b>III. Schéma du procédé de valorisation des margines</b> ..... | 128 |
| III.1 Matières premières .....                                   | 129 |
| III.2 Méthodes analytiques .....                                 | 129 |
| III.3 Dispositif d'Electrocoagulation .....                      | 129 |
| III.4 Le digesteur .....                                         | 131 |
| III.4.1 Temps de fonctionnement .....                            | 132 |
| III.4.2 La production de biogaz .....                            | 132 |
| III.4.3 Stockage de biogaz .....                                 | 133 |
| <b>IV. Valorisation des sous-produits</b> .....                  | 133 |
| IV.1 Production chaleur et d'électricité .....                   | 133 |
| IV.2 Séparation de biogaz .....                                  | 134 |
| IV.3 La cogénération .....                                       | 135 |
| IV.4 Valorisation du digestat .....                              | 136 |
| III.4.1 Les propriétés du digestat .....                         | 136 |
| <b>V. Aspects économiques du projet</b> .....                    | 137 |
| V.1 Investissement .....                                         | 137 |
| V.2 Les recettes .....                                           | 138 |
| V.3 Les charges d'exploitation .....                             | 138 |
| VI. Aspects réglementaires .....                                 | 139 |
| <b>VII. Conclusion</b> .....                                     | 139 |
| <b>Conclusion générale et perspectives</b> .....                 | 141 |
| <b>Références bibliographiques</b> .....                         | 145 |
| <b>Annexes</b> .....                                             | 159 |

# LISTE DES FIGURES

|                                                                                                                             |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figure 1 : Procédés d'extraction d'huile d'olive (Aggoun, 2016).....</b>                                                 | <b>8</b>  |
| <b>Figure 2 : Bassin d'évaporation naturelle des margines dans les environs de Fès .....</b>                                | <b>18</b> |
| <b>Figure 3 : Etapes de la digestion anaérobie .....</b>                                                                    | <b>35</b> |
| <b>Figure 4 : Echantillons de margines à presse et du système continu à trois phases.....</b>                               | <b>45</b> |
| <b>Figure 5 : Appareillage de HPLC .....</b>                                                                                | <b>50</b> |
| <b>Figure 6 : Chromatogramme HPLC des margines du système continu à trois phases obtenu à 280 nm.....</b>                   | <b>60</b> |
| <b>Figure 7: Schéma de la cuve d'électrolyse bipolaire pour le traitement des margines à l'échelle du laboratoire. ....</b> | <b>65</b> |
| <b>Figure 8 : Schéma du dispositif expérimental pour la mesure du biogaz produit .....</b>                                  | <b>68</b> |
| <b>Figure 9 : Représentation graphique de la réponse 1 (abattement de la DCO) .....</b>                                     | <b>70</b> |
| <b>Figure 10: Représentation graphique de la réponse 2 (abattement des polyphénols) .....</b>                               | <b>70</b> |
| <b>Figure 11 : Diagramme de Pareto de la réponse 1(abattement de la DCO) .....</b>                                          | <b>71</b> |
| <b>Figure 12 : Diagramme de Pareto de la réponse 2 (abattement des polyphénols) .....</b>                                   | <b>72</b> |
| <b>Figure 13 : Droite d'Henry (réponse 1 : abattement de la DCO) .....</b>                                                  | <b>73</b> |
| <b>Figure 14 : Etude graphique des résidus réponse 1 (abattement de DCO) .....</b>                                          | <b>76</b> |
| <b>Figure 15 : Courbes iso réponses de la réponse 1 (abattement de DCO) .....</b>                                           | <b>76</b> |
| <b>Figure 16 : Etude graphique des résidus de la réponse 2 (abattement des polyphénols) .....</b>                           | <b>71</b> |
| <b>Figure 17 : Courbes iso réponses de la réponse 2 (abattement de polyphénols) .....</b>                                   | <b>78</b> |
| <b>Figure 18 : Chromatogrammes HPLC des margines brutes (bleu) et traitées (rose) .....</b>                                 | <b>80</b> |
| <b>Figure 19 : Test antibactérien des margines brutes et traitées par électrocoagulation. ....</b>                          | <b>81</b> |
| <b>Figure 20 : Pourcentage de germination des graines de maïs des margines brutes et traitées .....</b>                     | <b>83</b> |

|                                                                                                                                                                                              |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figure 21 :</b> Germination de <i>Zea mays</i> , irriguées par les margines brutes et traitées (témoin : eau distillée) .....                                                             | <b>84</b>  |
| <b>Figure 22 :</b> Schéma de prétraitement des margines avec électrocoagulation.....                                                                                                         | <b>84</b>  |
| <b>Figure 23 :</b> Evolution du pH durant la digestion anaérobie des margines (brutes, diluées et traitées).....                                                                             | <b>86</b>  |
| <b>Figure 24 :</b> Evolution du rendement de biogaz pour les margines brutes, diluées et traitées.....                                                                                       | <b>87</b>  |
| <b>Figure 25 :</b> Dispositif expérimental de co-digestion des margines : effluent d'abattoir en mode continu .....                                                                          | <b>92</b>  |
| <b>Figure 26 :</b> Production cumulée de biogaz des mélanges (margines/substrats) à différents ratios (SWW : effluent d'abattoir, PM : fumier avicole, CW : lactosérum et déchet vert) ..... | <b>96</b>  |
| <b>Figure 27 :</b> Production cumulée de biogaz des substrats en mono digestion.....                                                                                                         | <b>97</b>  |
| <b>Figure 28 :</b> Production de biogaz du mélange margines : effluent d'abattoir (50/50) à différentes charges organiques. ....                                                             | <b>99</b>  |
| <b>Figure 29 :</b> Evolution de pH, alcalinité et AGV à différentes charges organiques. ....                                                                                                 | <b>100</b> |
| <b>Figure 30 :</b> Les billes de la résine AMBERJET 4200 Cl.....                                                                                                                             | <b>106</b> |
| <b>Figure 31 :</b> La sciure de bois .....                                                                                                                                                   | <b>108</b> |
| <b>Figure 32 :</b> Les coquilles d'œufs .....                                                                                                                                                | <b>109</b> |
| <b>Figure 33 :</b> Poudre de chitine .....                                                                                                                                                   | <b>109</b> |
| <b>Figure 34 :</b> Effet de la masse des adsorbants sur le pourcentage d'adsorption des polyphénols .....                                                                                    | <b>115</b> |
| <b>Figure 35 :</b> Effet du temps de contact sur le pourcentage d'adsorption des polyphénols .....                                                                                           | <b>116</b> |
| <b>Figure 36 :</b> Effet du pH sur le pourcentage d'adsorption des polyphénols .....                                                                                                         | <b>117</b> |
| <b>Figure 37 :</b> Observations de la structure de la sciure de bois au MEB au Grossissement (4000x) avant (a) et après adsorption (b). ....                                                 | <b>118</b> |
| <b>Figure 38:</b> Observations de la structure de la chitine au MEB au Grossissement (2000x) avant (a) et après adsorption (b). ....                                                         | <b>118</b> |
| <b>Figure 39 :</b> Observations de la structure de la coquille d'œufs au MEB au Grossissement (1000x) avant (a) et après adsorption (b). ....                                                | <b>119</b> |
| <b>Figure 40 :</b> Cinétiques de désorption des polyphénols des différents adsorbants .....                                                                                                  | <b>120</b> |

|                                                                                                                                                                                             |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figure 41</b> : Chromatogrammes HPLC des margines brutes a) et du désorbat de la sciure de bois-Ethanol b). .....                                                                        | <b>123</b> |
| <b>Figure 42</b> : Schéma général de valorisation des margines.....                                                                                                                         | <b>128</b> |
| <b>Figure 43</b> : Effluents de margines .....                                                                                                                                              | <b>129</b> |
| <b>Figure 44</b> : Effluent d'abattoir de viandes rouges.....                                                                                                                               | <b>129</b> |
| <b>Figure 45</b> : Schéma du Bassin d'électrocoagulation des margines d'un volume utile de 1 m3.....                                                                                        | <b>130</b> |
| <b>Figure 46</b> : Photographie du système d'électrocoagulation ( <a href="http://www.dlk.ch/index.php/fr/electrocoagulation">http://www.dlk.ch/index.php/fr/electrocoagulation</a> ) ..... | <b>130</b> |
| <b>Figure 47</b> : Exemple de digesteur pilote (SBR anaérobie) .....                                                                                                                        | <b>131</b> |
| <b>Figure 48</b> : Analyseur de biogaz .....                                                                                                                                                | <b>132</b> |
| <b>Figure 49</b> : Les différentes formes de valorisation de biogaz.....                                                                                                                    | <b>133</b> |
| <b>Figure 50</b> : Types de co-générateurs pour biogaz .....                                                                                                                                | <b>135</b> |
| <b>Figure 51</b> : Le digestat de la méthanisation .....                                                                                                                                    | <b>136</b> |

# LISTE DES TABLEAUX

---

|                                                                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tableau 1</b> : Objectifs du Plan Maroc Vert pour l'année 2020.....                                                           | <b>6</b>  |
| <b>Tableau 2</b> : Valeurs minimales et maximales des minéraux et métaux lourds des margines selon le système d'extraction ..... | <b>14</b> |
| <b>Tableau 3</b> : Gradient d'élution en HPLC .....                                                                              | <b>51</b> |
| <b>Tableau 4</b> : Les valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des margines analysées.....                              | <b>52</b> |
| <b>Tableau 5</b> : Caractérisation métallique des margines étudiées .....                                                        | <b>57</b> |
| <b>Tableau 6</b> : Les concentrations moyennes des microorganismes contenus dans les margines.....                               | <b>58</b> |
| <b>Tableau 7</b> : Composition phénolique des margines étudiées .....                                                            | <b>60</b> |
| <b>Tableau 8</b> : Souches de bactéries testées vis-à-vis des margines brutes et traitées .....                                  | <b>67</b> |
| <b>Tableau 9</b> : Les facteurs de l'électrocoagulation pour criblage .....                                                      | <b>69</b> |
| <b>Tableau 10</b> : Plan d'expérimentation pour le criblage des facteurs .....                                                   | <b>69</b> |
| <b>Tableau 11</b> : Analyse ANOVA de la réponse 1 (abattement de la DCO) .....                                                   | <b>72</b> |
| <b>Tableau 12</b> : Analyse ANOVA de la réponse 2 (abattement des CP) .....                                                      | <b>73</b> |
| <b>Tableau 13</b> : Modèle expérimental de l'optimisation des facteurs .....                                                     | <b>74</b> |
| <b>Tableau 14</b> : Niveaux de facteurs pour optimisation .....                                                                  | <b>74</b> |
| <b>Tableau 15</b> : Matrice d'expériences pour optimisation .....                                                                | <b>75</b> |
| <b>Tableau 16</b> : Estimations statistiques des coefficients de la réponse 1.....                                               | <b>75</b> |
| <b>Tableau 17</b> : Estimations statistiques des coefficients de la réponse 2 .....                                              | <b>77</b> |
| <b>Tableau 18</b> : Composition physicochimique des margines avant et après électrocoagulation.....                              | <b>79</b> |
| <b>Tableau 19</b> : Diamètres d'inhibition des souches bactériennes par les margines brutes et traitées .....                    | <b>82</b> |
| <b>Tableau 20</b> : Caractérisation physicochimique de la boue d'électrocoagulation.....                                         | <b>85</b> |
| <b>Tableau 21</b> : Composition des mélanges margines et substrats en mode batch.....                                            | <b>91</b> |
| <b>Tableau 22</b> : Caractéristiques physicochimiques des substrats pour codigestion anaérobie .....                             | <b>94</b> |

|                                                                                                                            |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Tableau 23 :</b> Composition métallique du mélange margines : effluent ‘abattoir en entrée et sortie du digesteur ..... | <b>101</b> |
| <b>Tableau 24 :</b> Caractéristiques des margines utilisés en adsorption .....                                             | <b>105</b> |
| <b>Tableau 25 :</b> Caractéristiques de la résine XAD4 .....                                                               | <b>106</b> |
| <b>Tableau 26 :</b> Caractéristiques de la résine Amberjet 4200 Cl .....                                                   | <b>107</b> |
| <b>Tableau 27 :</b> Caractéristiques physicochimiques des bio-adsorbants.....                                              | <b>112</b> |
| <b>Tableau 28:</b> Composition phénolique des désorbats de la sciure de bois .....                                         | <b>122</b> |
| <b>Tableau 29 :</b> Estimation des charges d’exploitation d’un projet de méthanisation.....                                | <b>138</b> |

# Liste des abréviations

---

**AGV** : Acides gras volatils

**CP** : Composés phénoliques

**CSTR** : Continuously stirred tank reactor

**DBO5** : Demande biochimique en oxygène pendant cinq jours

**DCO** : Demande chimique en oxygène

**HPLC**: High Pression (or performance) Liquid Chromatography

**ICP** : Inductively Coupled Plasma

**MES** : Matière en suspension

**MS** : Matière sèche

**MV** : Matière volatile

**POA** : Les procédés d'oxydation avancée

**RSD** : Réacteur séquentiel discontinu

**SBR** : Sequencing batch reactor

**TSH**: Temps de séjour hydraulique

**UASB**: Up flow anaerobic sludge blanket reactor

# Introduction générale

Depuis des siècles, la culture de l'olivier est largement répandue dans les pays méditerranéens. Ce recours à l'oléiculture est justifié par les conditions climatiques favorables pour la croissance des oliviers. De ce fait, c'est à peu près 98 % de l'oléiculture est concentrée dans le pourtour méditerranéen avec un patrimoine de 900 millions d'arbres répartis sur 10 millions hectares (Messineo et al., 2019).

La principale problématique de la filière d'huile d'olive est la génération de grandes quantités de déchets liquides et solides pendant une courte période, étant donné que la saison oléicole ne dure que 3 à 4 mois, d'Octobre à Février.

L'estimation des quantités de déchets produits annuellement demeure incertaine à cause de plusieurs facteurs, entre autres, la fluctuation de la production d'une année à autre et le type de procédé d'extraction utilisé. Toutefois, une estimation de 600 000 m<sup>3</sup> de margines est produite chaque saison oléicole au Maroc. (OLIVAE, 2019 N°125)

La valorisation et le recyclage constituent de nouveaux concepts de plus en plus demandés dans le monde entier. Les sous-produits, déchets et effluents agro-industriels renferment de grandes quantités de protéines, de sucres, de lipides et des métabolites ; ainsi, ils pourraient être considérés comme des matières premières bon marché et abondantes pour la récupération de molécules et de biomatériaux à haute valeur ajoutée.

Pour les producteurs d'huile d'olive, la principale préoccupation est de trouver des solutions économiquement viables pour l'élimination et la gestion des déchets des moulins d'olive.

Les margines sont les effluents liquides de l'extraction d'huile d'olive, elles sont constituées d'eau de végétation des olives, de l'eau de lavage, des tissus mous de la pulpe d'olive. Dans de nombreux cas, l'élimination directe de ces effluents dans les lacs, les rivières et les cours d'eau a entraîné des conséquences environnementales lourdes à cause de leur effet polluant (Yay et al., 2012).

Le traitement de cet effluent implique d'importants investissements en capital et l'installation d'unités opérationnelles. Malheureusement, l'efficacité des traitements est limitée en raison de la charge organique élevée et du coût d'exploitation élevé.

A présent, la mise en bassins d'évaporation est la seule voie d'élimination des margines appliquée à grande échelle, toutefois, cette technique reste insuffisante et engendre des effets secondaires sur l'air, le sol et l'eau.

Cependant, les perspectives ne sont pas complètement décourageantes et il existe des preuves d'utilisations réussies des margines comme ressource économique. En ce sens, plusieurs études ont montré que les margines peuvent être recyclées et utilisées comme matière première pour obtenir des biomolécules d'intérêt tels que des antioxydants, des enzymes, du biogaz, des fertilisants et des aliments pour animaux (Kourmentza et al., 2017; Gullón et al., 2018).

Afin d'apporter une réponse scientifique à cette problématique environnementale persistante, nous avons proposé une stratégie de traitement et valorisation des margines par des procédés innovants et économiquement viables.

Pour cela, nous nous sommes fixés quelques objectifs, auxquels nous avons essayé de répondre à travers cette thèse :

- i) La caractérisation et comparaison de la composition des margines issues de deux systèmes de trituration différents : le système discontinu à presse et le système continu à trois phases.
- ii) La valorisation des margines comme source d'énergie renouvelable (biogaz) au moyen de la technologie de digestion anaérobie.
- iii) L'utilisation des margines comme source de biomolécules à haute valeur ajoutée (les polyphénols) par adsorption et désorption sur des matrices naturelles et commerciales (résines synthétiques).
- iv) L'étude de proposition d'une station de traitement et valorisation des margines à échelle industrielle.

Dans ce sens, ce mémoire de thèse est articulé comme suit :

**Chapitre I :** est consacré à une synthèse bibliographique ayant comme objectif de présenter la problématique posée par les margines. Cette partie passe en revue l'état de l'art et les recherches réalisées en relation avec le traitement et la valorisation des margines par différents procédés et technologies chimiques, physiques et biologiques.

**Chapitre II :** nous présentons les résultats de la caractérisation physicochimique, microbiologique et métallique de deux types de margines, selon le procédé d'extraction utilisé pendant la trituration d'olives. Une analyse quantitative et qualitative des polyphénols des margines est également présentée.

**Chapitre III** : est réservé à l'étude du prétraitement des margines par électrocoagulation ainsi que les facteurs influençant l'efficacité de ce traitement électrochimique.

**Chapitre IV** : porte sur l'étude de la bio méthanisation des margines en mode batch et en discontinu dans un réacteur séquentiel discontinu anaérobie en appliquant différentes charges organiques.

**Chapitre V** : s'intéresse à l'étude de possibilité de valorisation des margines comme source de polyphénols par adsorption sur résines synthétiques et biomatériaux.

**Chapitre VI** : présente une étude de dimensionnement d'une station pilote intégrée de prétraitement des margines et leur valorisation par méthanisation.

Enfin, nous terminerons ce travail de recherche par une conclusion générale en présentant l'essentiel des résultats obtenus, ainsi que les perspectives et recommandations proposées.

# **Chapitre 1 :**

## *Synthèse bibliographique*

---

## **I. Introduction**

La trituration d'olive génère annuellement des quantités importantes d'effluents liquides appelées margines. Ce sont des effluents colorés en brun foncé, leur pH est acide et sont riches en matière organique.

Le rejet direct des margines dans la nature engendre des dommages importants pour le milieu récepteur.

Partant de ce constat, les margines ont fait l'objet d'un bon nombre d'études scientifiques visant leur traitement pour réduire leur charge organique ou bien leur valorisation en produits utilisables dans plusieurs industries (pharmaceutique, alimentaire, cosmétique....).

La présente revue de littérature examine de manière critique et discute des approches et solutions techniques proposées par les chercheurs pour le traitement et valorisation des margines.

## **II. Oléiculture**

### **II.1 Oléiculture au Maroc**

L'oléiculture revêt une importance essentielle pour le Maroc. Avec une superficie de près de 998 000 ha dédiés à la culture de l'olivier, celui-ci représente 65% de la superficie arboricole du pays et participe à hauteur de 5% dans la formation du PIB agricole (Examen national de l'export vert du Maroc, 2017).

Le pays produit annuellement, en moyenne, 160.000 tonnes d'huile d'olive et 90.000 tonnes d'olives de table. En termes d'exportations, 17.000 tonnes d'huile d'olive et 64.000 tonnes d'olives de table sont destinés vers les marchés internationaux (Ministère l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts).

Les principales régions de production couvrent presque la totalité du territoire national, à l'exception de la zone côtière Atlantique. La principale variété produite est la « picholine marocaine» à hauteur de 96 % des plantations. Mais on retrouve également d'autres variétés apportées de différents pays, principalement l'Espagne, l'Italie comme celle de Picholine de Languedoc, Manzanilla, Picual, Hojiblanca, Arbequine, Ascolana Dura, Frontoio, Gordal. (Ministère l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts)

Vu son importance socioéconomique, environnementale et sociale aussi, le Maroc s'est engagé dans un programme ambitieux de mise à niveau de la filière oléicole

Dans ce sens le royaume a réservé une place importante dans le plan Maroc vert dédiée à l'oléiculture (Tableau 1). Aussi, la filière a pu bénéficier d'un contrat programme pour consolider les acquis et continuer le développement de cette filière.

**Tableau 1 : Objectifs du Plan Maroc Vert pour l'année 2020**

|                                       |                  |
|---------------------------------------|------------------|
| Superficie (Ha)                       | <b>1 220 000</b> |
| Production totale en olives (T)       | <b>2 500 000</b> |
| - Huile d'olive                       | <b>330 000</b>   |
| - Olives de table                     | <b>320 000</b>   |
| Consommation interne (Kg/habitant/an) |                  |
| - Huile d'olive                       | <b>4</b>         |
| - Olives de table                     | <b>5</b>         |
| Exportation (T)                       |                  |
| - Huile d'olive                       | <b>120 000</b>   |
| - Olives de table                     | <b>150 000</b>   |

Les principaux axes du contrat-programme de la filière oléicole sont :

- Réalisation de 510 projets intégrés pour l'amélioration de la productivité et de la qualité.
- Développement d'une valorisation forte et pérenne.
- Mise en place de deux oléo pôles pour le renforcement de la recherche au niveau de Marrakech et Meknès.
- Promotion et diversification des exportations.
- Renforcement des programmes d'encadrement et de recherche appliquée.

### **Production d'huile d'olive**

Chaque année, environ 65% de la production nationale d'olives est destinée à la trituration, 25% pour l'industrie de conservation d'olive alors que 10% est répartie entre les pertes et la consommation locale.

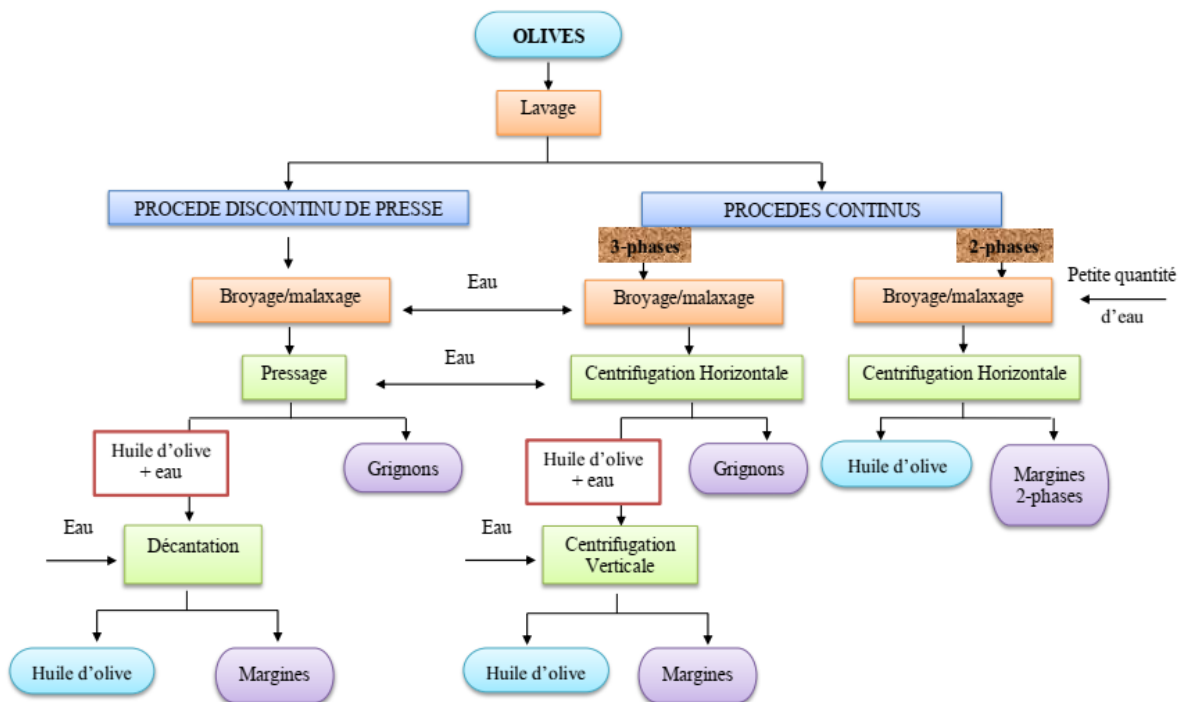
L'activité de trituration d'olives au Maroc compte près de 948 huileries modernes et semi modernes, et plus de 11,000 maâsras (OLIVAE, 2019 N°125).

## II.2 Procédés d'extraction d'huile d'olive

### II.2.1 Procédés en discontinu ou système à presse

L'extraction traditionnelle par presse est encore utilisée dans certaines unités de trituration d'olive. Après avoir broyé les olives dans des moulins à pierre, la pâte est étalée sur des poches filtres appelées scourtins (qui sont empilés les uns sur les autres) puis placée dans la presse hydraulique pour appliquer une pression sur les disques, compactant ainsi la phase solide de l'olive alors que la phase liquide (huile et eau de végétation) s'écoule le long de la colonne de presse. Pour faciliter la séparation des phases, l'eau coule sur les côtés des disques pour augmenter la vitesse de percolation. Traditionnellement, les scourtins étaient faits de chanvre ou de noix de coco, mais à l'époque moderne, ils sont faits de fibres synthétiques, permettant un nettoyage et entretien plus faciles (Souilem et al., 2017). Les grignons obtenus par ce type de procédé sont secs et les margines sont concentrées dû à une utilisation minimale d'eau pendant l'extraction (Aggoun, 2016).

Ce processus génère une fraction solide appelée grignon d'olive, et une émulsion contenant d'huile d'olive avec une phase aqueuse. L'huile d'olive est enfin séparée des margines restantes par décantation ou centrifugation verticale. Le procédé traditionnel est réputé pour produire une huile d'olive de haute qualité. Cependant, de nombreuses précautions doivent être prises en considération, par exemple, un nettoyage des disques et un traitement rapide de la pâte pour éviter la fermentation qui peut être à l'origine de saveurs indésirables dans l'huile. De nos jours, en raison de la nécessité de traiter de grandes quantités d'olives et pour obtenir des rendements plus élevés en huile d'olive, l'évolution du processus d'extraction de l'huile a conduit au remplacement des broyeurs à pression traditionnels par une extraction centrifuge continue moderne, selon les étapes représentées dans la figure 1.



**Figure 1** : Procédés d'extraction d'huile d'olive (Aggoun, 2016)

### II.2.2 Procédés en continu ou système à centrifugation

Après les étapes de lavage, de broyage et de malaxage, l'extraction mécanique de l'huile est principalement réalisée selon un procédé continu basé sur la centrifugation avec un décanteur. La centrifugeuse à décantation est conçue avec convoyeur à vis et bol rotatif, permettant de traiter de grandes quantités d'olives en peu de temps. Actuellement, deux types de décanteurs centrifuges sont actuellement utilisés : la centrifugation en deux phases et la centrifugation en trois phases.

Le processus de centrifugation en trois phases en continu a été introduit dans les années 1970 afin d'augmenter la capacité de transformation et le rendement d'extraction et réduire la main-d'œuvre (Elabbassi et al., 2017).

Au cours du processus en trois phases, un ajout d'eau chaude est nécessaire pour laver l'huile. Le processus donne trois phases :

- i) Phase huileuse
- ii) Résidu solide : tourteau d'olive (pulpe d'olive et noyaux)
- iii) Phase aqueuse sous forme de margines

Le résidu solide est séparé des deux autres phases dans le décanteur. Les phases liquides sont soumises ensuite à une centrifugation verticale afin de séparer l'huile d'olive des margines.

Un grand inconvénient de ce processus est la grande quantité de margines produites qui sont dues à la forte consommation d'eau, 1,25 à 1,75 fois plus d'eau que l'extraction sous presse (Vlyssides et al., 2004).

L'incapacité à développer une technologie appropriée de traitement des margines a été derrière le développement du procédé à deux phases. Celui-ci utilise peu d'eau pendant l'extraction et produit de l'huile (phase liquide) et un substrat très humide (phase semi-solide appelée marc d'olive humide ou margines diphasiques). Ce processus a un impact environnemental réduit en raison de la baisse de la demande en eau et des quantités de déchets produites, mais il nécessite de l'énergie pour le séchage des grignons (Dermeche et al., 2013).

### **II.3 Les sous-produits d'extraction d'huile d'olive**

L'extraction d'huile d'olive génère trois types de déchets :

#### **II.3.1 Les feuilles, brindilles**

Collées aux olives pendant la récolte, elles sont éliminées pendant le triage et lavage des olives avant la trituration. Leur présence peut altérer négativement la qualité organoleptique et hygiénique de l'huile obtenue.

Toutefois, les feuilles d'olivier représentent une ressource naturelle riche en biomolécules d'intérêt, du coup, elle trouve plusieurs utilisations en vue de les valoriser. Nous citons, entre autres : l'extraction de composés phénoliques (Ghomari et al., 2019) ; incorporation dans l'alimentation du bétail ou encore comme combustible après séchage (Molina et al., 2008), (Mondal et al., 2014).

#### **II.3.2 Les grignons**

Sous-produits qui résultent de l'extraction de l'huile d'olive. Ils sont composés de noyaux, de la peau et de pulpe. Selon le mode d'extraction utilisé le taux d'humidité des grignons varie comme suit :

- Extraction par presse (méthode traditionnelle) : 40 à 45% d'humidité
- Décanteurs centrifuges et centrifugeuses verticales « trois phases » : 50 à 55% d'humidité

- Décanteurs centrifuges de type « deux phases » ou « deux phases et demi » : entre 60 et 70% d'eau (Agri Maroc, 2017 /valoriser les sous-produits de l'olive en compost)

Annuellement, la saison oléicole génère des quantités importantes de grignons dont la quantité et le type varie selon la récolte, le procédé d'extraction ....

Dans un souci de gestion de ces sous-produits, plusieurs voies de valorisation ont été étudiées et mises en pratique à savoir :

- Utilisation des grignons comme aliment de bétail afin d'optimiser la ration alimentaire du cheptel
- Compostage des grignons pour en produire un biofertilisant des cultures
- Combustion dans les chaudières, cimenteries, et fours pour récupérer l'énergie d'autant plus que le noyau d'olive représente un pouvoir calorifique de l'ordre de 5 kWh/kg (Agri Maroc, 2018 / Agropole olivier Meknès : Valorisation des coproduits oléicoles).

### **II.3.3 Les margines**

Le procédé d'extraction de l'huile d'olive engendre la production d'effluents liquides, nommés margines ou parfois eaux de végétation.

Le pressage de 1 tonne d'olives produit en moyenne 1,5 tonnes de margines avec les modes de production modernes (Messineo et al., 2019).

Les margines ont une couleur brun à brun-rougeâtre, d'aspect trouble, avec une odeur rappelant celle des olives.

La composition moyenne en poids de margines issues du procédé à trois phases est de 83 à 96% d'eau, 3,5 à 15% de matières organiques (sucres, composés azotés, acides organiques, phénols et pectines, etc.) et 0,5 –2% de sels minéraux (Messineo et al., 2019).

## **II.4 Composition générale des margines**

### **II.4.1 L'eau**

Les margines sont des effluents aqueux, avec une forte teneur en eau, qui dépend de plusieurs facteurs intervenant au cours de la trituration d'olive ; mais principalement, c'est le procédé d'extraction qui conditionne le plus la quantité et la composition des margines obtenues.

L'eau des margines est la résultante des éléments suivants :

- Eau de lavage des olives : Le volume d'eau utilisée varie entre 80 et 120 litre par tonne d'olives selon l'état des olives réceptionnées à l'unité de trituration. Ces eaux se

chargent de poussières, feuilles, de terre, de morceaux de fruits abimés et de toute particule qui a été collée au fruit pendant la récolte et stockage

- Eau de rinçage des trémies de stockage.
- Eau ajoutée au cours du malaxage pour faciliter le mélange de la pâte d'olive
- Eaux ajoutée pendant la centrifugation de l'huile pour optimiser la séparation centrifuge des phases, c'est le cas notamment pour le procédé de trois phases.
- Eau de végétation contenue dans l'olive, 40 à 50% d'eau des margines provient du fruit d'olive.

En conséquence, La teneur en eau des margines peut atteindre les 90 % (Rahmanian et al., 2013), (Messineo et al., 2019).

#### **II.4.2 Composition organique**

Les margines représentent une matrice complexe constituée d'eau, d'une fraction organique et autre minérale.

La fraction organique est à son tour, divisée en deux :

- La partie insoluble constituée des matières en suspension et colloïdes provenant des débris, de fractions de pulpes d'olive....
- La partie soluble dans la phase aqueuse et regroupe des composés phénoliques, des sucres, des lipides, des acides organiques et de composés azotés.

##### **a) Les polyphénols**

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des composés ayant un noyau aromatique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles. Très répandus dans les végétaux, ces composés possèdent des activités biologiques très intéressantes, et exploitables dans plusieurs domaines tel que : l'agroalimentaire, le cosmétique, l'industrie pharmaceutique, etc.

La composition phénolique des margines est diversifiée et très variable et leur teneur peut atteindre 24 g/L voire plus (Rahmanian et al., 2013).

Les polyphénols des margines proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucosides et des esters de la pulpe d'olive au cours de la trituration.

Une grande partie de ces polyphénols d'olive est polaire, ce qui explique leur passage vers la phase aqueuse (les margines) plutôt que dans la phase organique (l'huile). Par conséquent, les polyphénols sont dix fois plus abondants dans les margines que dans l'huile d'olive.

On peut diviser les phénols en deux grandes catégories :

**Les phénols libres**, dont la formation est principalement assurée par l'hydrolyse enzymatique des composés de la pulpe, cette catégorie regroupe les acides et alcools phénoliques (Dermeche et al., 2013).

Les acides phénoliques sont représentés par l'acide-coumarique, cinnamique, caféique, férulique, gallique, sinapique, chlorogénique, protocatéchique, syringique, vanillique et élénolique.

D'autre part, l'hydrotyrosol et le tyrosol sont les alcools phénoliques les plus répandus dans les margines, avec des teneurs allant jusqu'à 1 g/L d'hydroxytyrosol (Caporasso et al., 2018).

**Les composées phénoliques** ayant des masses moléculaires élevées comprises entre 500 et 3000 Da. Différentes substances de nature phénolique sont concernées, notamment, les secoroides, les flavonoïdes et tannins.

La présence de secoroides dans les margines tels que l'oleuropéine et ses dérivés a été rapportée par plusieurs auteurs.

De leur côté, les flavonoïdes les plus trouvés dans les margines sont l'apigénine, hespéridine, cyanidine flavone, anthocyanes et quercétine (Rahmanian et al., 2013), (Dermeche et al., 2013).

### **b) Les sucres**

Les sous-produits d'olivier sont riches en carbohydrates principalement la cellulose, hémicellulose et pectines. Les polysaccharides solubles sont donc détectés dans la phase aqueuse qui est la marge alors que la fraction insoluble est plutôt identifiée dans les sous-produits solides (grignons, pulpes d'olive...). Entre 5 et 10% des polysaccharides solubles de l'olive migrent différenciellement dans les margines (Dermeche et al., 2013), en conséquence la teneur des margines en sucres totaux varie entre 0,3 et 41 g/L (Aggoun, 2016).

Les monomères saccharidiques représentent 1–4.5 g/100 g et sont constitués de glucose, fructose, galactose, mannose, et quelques traces de saccharose.

L'analyse de la composition en sucres contenus dans les margines révèle la présence de pectines tel que arabinane, galactane. Ces composés possèdent des propriétés fonctionnelles comme gélifiant utilisé dans l'industrie agroalimentaire.

L'analyse qualitative des sucres a indiqué la présence de glucose comme monomère majoritaire, suivi par galactose, arabinose, rhamnose, et l'acide galacturonique. La fraction glucidique des margines a révélé une bonne activité antioxydante dans le piégeage du radical DPPH et aussi une bonne capacité de fermentation par les *Lactobacilles* (Nadour et al., 2015).

**c) Les lipides**

La concentration en lipides résiduels présents dans les margines varie considérablement avec le procédé d'extraction utilisé. Dans ce sens, le procédé traditionnel par presse engendre des margines plus riches en huile atteignant jusqu'à 9 g/L. En contraste, le procédé continu à trois phase permet d'obtenir des margines épuisées en lipides, dû à la bonne séparation par les décanteurs centrifuges utilisés.

Récemment et avec le recours de plus en plus des tritrateurs aux procédés continus, la teneur en huiles dans les margines est globalement faible, et se situe entre 0.03–1.1 % (Rahmanian et al., 2013).

La présence d'une forte teneur en lipides limite tout traitement des margines, en l'occurrence pour les procédés membranaires, mais aussi pendant l'évaporation naturelles des margines dans les bassins, puisque les huiles résiduelles forment une couche imperméable à la surface du bassin limitant ainsi le processus d'évaporation naturelle. Ces huiles peuvent être aussi à l'origine de fortes odeurs émises dans les bassins d'évaporation (Ahmed.P.M et al ., 2019).

**d) Les acides organiques**

Constitués de molécules organiques à courtes chaînes de trois carbones, leur concentration dans les margines varie entre 0,5 et 1,5 %. Ils regroupent l'acide fumarique, glycérique, lactique, malique et malonique. La présence des acides organiques participe au pH acide des margines (Aissam, 2003).

**e) Les vitamines**

La présence occasionnelle des caroténoïdes et tocophérols (vitamines liposolubles) dans les margines serait liée aux débris de l'olive présents en suspension ainsi qu'à l'huile résiduelle après le processus d'extraction. Ce qui justifie que peu d'études visant l'identification ou la quantification de ces composés dans les margines soient menées, car ils sont recherchés plutôt dans l'huile d'olive (Aggoun , 2016).

**f) Les composés azotés**

Les composés azotés des margines regroupent principalement les protéines et les acides aminés.

La concentration en azote total dans les margines est très variable allant de 25,4 à 2900 mg/L (Aggoun, 2016).

De manière générale, les margines sont réputées pour leur déficit en azote, ce qui leur confère un rapport C/N déséquilibré. Ce déficit rend obligatoire une correction du dit rapport avant tout traitement biologique des margines afin de satisfaire les besoins des microorganismes

épuratoires aérobies et anaérobies (Gunay et al., 2015 ; Ahmed P.M. et al., 2019 ; Messineo et al., 2019).

#### II.4.3 Composition minérale

La concentration de chaque élément minéral varie selon la nature du sol, la fertilisation apportée à l'olivier, et la qualité de l'eau ajoutée pendant la trituration et le procédé d'extraction utilisé (Gunay al., 2015).

Le tableau 2 montre les valeurs minimales et maximales des minéraux et métaux lourds déterminées sur les margines issues de deux systèmes d'extraction d'huile (COI, 2008).

**Tableau 2** : Valeurs minimales et maximales des minéraux et métaux lourds des margines selon le système d'extraction (COI, 2008)

| Elément    | Procédé d'extraction de l'huile |                |
|------------|---------------------------------|----------------|
|            | Pression                        | Centrifugation |
| K (mg/L)   | 1500 -5000                      | 630-2500       |
| Ca (mg/L)  | 54 - 408                        | 47-200         |
| Na (mg/L)  | 38 -285                         | 18-124         |
| Mg (mg/L)  | 90 - 336                        | 60-180         |
| Fer (mg/L) | 16,48 -86,4                     | 8,8-31,5       |
| Mn (mg/L)  | 2,16 -8,9                       | 0,87-5,2       |
| Cu (mg/L)  | 1,1- 4,75                       | 1,16-3,42      |
| Zn (mg/L)  | 1,6-6,5                         | 1,42-4,48      |
| Pb (µg/L)  | 0,4- 1,85                       | 0,35- 0,72     |

Les minéraux sont présents soit à l'état soluble (phosphates, chlorures et sulfates) à hauteur de 80%, ou insoluble (carbonates et silicates) pour 20%, les éléments les plus représentatifs sont le potassium, les carbonates, le phosphate et le sodium.

**Le phosphore** peut exister sous forme dissoute ou en suspension, le phosphore dissous total comprend le phosphore organique et le phosphore inorganique, qui lui-même composé des ortho phosphates et des poly phosphates. Le phosphore est un élément biogène essentiel à la croissance des algues, sa présence élevée dans les margines peut favoriser le phénomène d'eutrophisation des eaux. Cependant, le phosphore a un effet bénéfique en termes de fertilisation des cultures.

**Les chlorures** se trouvent généralement sous forme de sels de sodium (NaCl) ou de potassium (KCl), leur concentration varie selon le type de processus de trituration de l'olive. La teneur en chlorures varie entre 52,33 et 123,68 ppm pour le procédé à presse, et 33,3 à 142,71 ppm pour le procédé continu en trois phases, et 23,79 à 71,36 ppm pour le procédé à deux phases (Bouknana et al., 2014).

La présence de potassium à des teneurs considérables, a conduit plusieurs chercheurs à tester le pouvoir fertilisant des margines (Aggoun, 2016).

## **II.5 Problématique environnementale des margines**

Les margines non traitées constituent un problème écologique majeur pour les pays producteurs d'huile d'olive en raison de leur charge organique élevée, qui peut entraîner de dommages sérieux pour l'environnement, allant de la coloration des eaux naturelles, à la toxicité vis-à-vis des espèces aquatiques, pollution des eaux de surface et souterraines, altération de la qualité des sols, phyto-toxicité et nuisances olfactives. Les grandes quantités de margines produites pendant une courte période aggravent ces dommages pour les pays oléicoles où les margines sont déchargées, sans traitement, dans l'environnement.

### **II.5.1 Pollution du sol et phyto-toxicité**

Les margines rejetées directement dans le sol ont des effets néfastes non seulement sur la croissance des plantes et l'activité microbienne, mais aussi sur les propriétés physico-chimiques des sols. Le principal obstacle à l'utilisation directe des margines pour l'irrigation est sa forte concentration en composés phénoliques, qui sont phyto toxiques, pouvant inhiber la germination des graines. De plus, la présence d'huile résiduelle dans les margines entraîne une hydrophobie accrue du sol et une diminution des taux de rétention d'eau (Dermeche et al., 2013).

El Hajjouji et al., (2007) ont utilisé le test *Vicia faba* pour évaluer la génotoxicité des margines et ont constaté que les margines sont géno toxiques à une dilution de 10%. Cette géno toxicité a été associée aux monomères phénoliques.

Mechri et al., (2008) ont indiqué que l'application agronomique des margines a des impacts négatifs sur le fonctionnement des arbusculaires mycorhizes entre les champignons et l'olivier. Cette même conclusion a été publiée par Chartzoulakis et al., (2010) pour l'effet des margines sur les propriétés du sol, la performance des plantes et l'environnement, après 3

années consécutives d'applications des margines à doses croissantes allant de 252 m<sup>3</sup> / ha (1 an) à 420 m<sup>3</sup> / ha (pendant 2 ans).

L'étude a révélé un taux significatif de potassium disponible et une augmentation de composés phénoliques ayant des impacts négatifs sur le sol.

Les études convergent sur le fait que l'application des margines sans traitement a un impact négatif sur le long terme. Cependant, le contrôle du volume des margines à appliquer sur le sol pourrait réduire son impact négatif et être bénéfique en tant que fertilisant.

Un épandage bien contrôlé des margines permettrait de les utiliser comme un engrais prometteur pour les systèmes de culture.

Ayoub et al., (2014) ont recommandé l'application de margines à raison de 10 L / m<sup>2</sup> pour améliorer la fertilité du sol et la performance de l'olivier.

Par ailleurs, l'application des margines montre, à court terme, des effets négatifs sur les propriétés physicochimiques et biologiques du sol, mais ils peuvent être considérés comme négligeables après une période d'adaptation appropriée (Di Bene et al., 2013). Dans une étude récente, les auteurs ont recommandé l'amendement du sol avec les margines six mois avant le semis de maïs pour atténuer leur toxicité (Belaqziz et al., 2017). Avec le choix correct de type de sols, notamment calcaires et de cultures tolérantes, comme le maïs, cette méthode pourrait constituer une approche efficace pour valoriser les margines.

### **II.5.2 Pollution de l'eau**

Le rejet des margines dans l'eau douce réduit la concentration de l'oxygène dissout, ce qui bouleverse l'équilibre de l'écosystème aquatique.

De plus, la concentration élevée de sucres réducteurs peut stimuler la respiration microbienne, abaissant ainsi davantage la concentration en oxygène dissous.

En cas de rejet des margines dans des eaux chargées en phosphore, cela peut conduire à l'eutrophisation par accumulation de nutriments.

Les margines ont également un impact sur les eaux de surface par coloration à cause des polyphénols et tanins.

Plus encore, les lipides des margines forment un film impénétrable à la surface de l'eau qui bloque la lumière du soleil et l'oxygène, inhibant ainsi la croissance des plantes.

D'autre part, le non-respect des règles de construction des bassins d'évaporation des margines donne lieu à un débordement ou fuite, et donc elles affectent les systèmes voisins (sols agricoles, eaux de surface et souterraines).

Les margines sont souvent déchargées dans des bassins d'évaporation ou directement dans le milieu récepteur provoquant ainsi une forte nuisance olfactive, la contamination des sols, l'inhibition de la croissance des plantes, la pollution des cours d'eau naturels ainsi que des impacts graves sur la faune aquatique (Komnitsas et al., 2016).

Concernant l'impact des margines sur les milieux marins, Danellakis et al., (2011) ont démontré que le déversement des margines pourrait induire des altérations pré-pathologiques chez les organismes marins. Karaouzas et al., (2011) ont étudié les effets toxiques des margines sur les organismes aquatiques. Les paramètres biotiques (macro-invertébrés) et abiotiques (physico-chimiques et hydro morphologiques) ont été suivis. Les résultats ont révélé la détérioration spatiale et temporelle des communautés aquatiques en raison de la diminution de la capacité du fleuve à s'auto-purifier.

Pavlidou et al., (2014) ont évalué les impacts du rejet des margines dans les milieux marins d'eau douce et oligotrophes. Dans cette étude, l'enrichissement de l'eau douce et la zone côtière du golfe de Messiniakos (Grèce) par l'ammoniac, les nitrites, les phénols, le carbone organique total, le cuivre, le manganèse et le nickel était directement corrélé avec le déversement des margines.

### **II.5.3 Pollution de l'air**

Lorsque les margines sont stockées dans les bassins d'évaporation naturelle, elles peuvent subir une fermentation et émettre le méthane et d'autres gaz malodorants tels que le sulfure d'hydrogène (Figure 2). L'impact est plus grave en cas de vents qui véhiculent ces odeurs auprès des habitations.



**Figure 2 :** Bassin d'évaporation naturelle des margines dans les environs de Fès

L'exposition des margines à l'air libre est responsable aussi de la multiplication d'insectes ayant un danger pour la santé de la population (El-Abbassi et al., 2017).

### **III. Traitement des margines**

#### **III.1 Procédés physiques**

##### **III.1.1 Evaporation**

L'évaporation naturelle est la méthode conventionnelle pratiquée pour la gestion des margines dans la majorité des pays méditerranéens producteurs d'olive.

En absence d'application à grande échelle des procédés de traitement ou valorisation des margines ; l'évaporation naturelle par la mise en bassins ouverts à l'air libre demeure une solution simple, non couteuse et permet aux producteurs d'huile d'olive de s'aligner avec les exigences réglementaires locales (Alfano et al., 2009).

Toutefois, l'évaporation dans les bassins présente plusieurs contraintes liées principalement aux odeurs fortes, la multiplication d'insectes autour des bassins ce qui peut représenter un problème de santé de la population.

Le phénomène physique d'évaporation est également limité à cause des grands volumes écoulés dans les bassins et aussi par la résistance à l'évaporation induite par la couche d'huile formée à la surface.

L'évaporation des margines dans les bassins nécessite également de grandes surfaces de terres pour la construction des bassins. S'ajoute à cela, le risque de perméabilité du sol du bassin pouvant causer une infiltration des margines vers la nappe phréatique.

Pour optimiser l'efficacité de l'évaporation naturelle, l'évaporation forcée fut alors proposée. L'étude de cette technique remonte aux travaux de De Ursinos et al., (1992) qui ont utilisé des panneaux évaporateurs permettant une plus large surface d'échange et une évaporation accélérée.

En dépit de son efficacité et de la diminution de besoins en surface d'évaporation, l'évaporation forcée nécessite un apport d'énergie important.

### III.1.2 Distillation

La distillation des margines permet de réduire leur volume par concentration, il en résulte deux produits : un résidu à utiliser comme combustible pour le chauffage et une eau réutilisable en irrigation après un traitement de finition.

La distillation a permis d'obtenir des abattements très remarquables des composés phénoliques (97%), DCO (92%), DBO<sub>5</sub> (96%), conductivité (99%,) et chlorures (97%). En revanche, le distillat obtenu est très acide et nécessite une étape de traitement ultérieur pour être valorisé (Ouabou et al., 2014).

La distillation, est aussi limitée par la consommation élevée en énergie. Une alternative à cette contrainte est d'utiliser l'énergie solaire (El-Abbassi et al., 2017).

### III.1.3 Adsorption

L'adsorption repose sur la capacité d'un solide (l'adsorbant) à fixer à sa surface des composés liquides ou gazeux (dits adsorbat). Grâce à sa simplicité de mise en œuvre et de son efficacité, l'adsorption fut largement utilisée comme technique de traitement des effluents industriels mais aussi comme technique de valorisation par la récupération des molécules d'intérêt après une désorption.

On distingue deux types d'adsorption : la physisorption et la chimisorption, selon les forces d'attraction mises en jeu. Ainsi dans le cas de la physisorption, les forces d'attraction sont de nature physique, de type Van Der Waals sans interaction chimique entre l'adsorbant et l'adsorbat.

Pour la chimisorption, c'est une adsorption de type chimique résultant des forces de nature chimique avec un transfert d'électrons entre l'adsorbat et l'adsorbant.

Le traitement des margines par adsorption a été réalisée sur différents types d'adsorbants : Sable et charbon activé (Rahmaninan et al., 2013), gravite, sable et zéolite (Aly et al., 2014), résines (Zagklis et al., 2015 ; Frascari et al., 2016), bio adsorbants (Achaq et al., 2009 ; Achaq et al., 2013 ; Ena et al., 2012).

### III.2 Procédés hydro-thermiques

Ces procédés incluent : la carbonisation, la liquéfaction, et la gazéification, générant les produits suivants : hydro char, bio-huile et gaz.

La gazéification hydrothermale permet à la fois de traiter les déchets de biomasse et produire de l'énergie. L'eau contenue dans la biomasse agit comme un solvant pour la réaction et donc élimine le besoin d'une étape de séchage avant (Taylor et al., 2009 ; Kipçak et al., 2011).

La carbonisation hydrothermale a également été utilisée pour convertir les margines en hydro char (Poerschmann et al., 2013).

Les auteurs n'ont pas recommandé l'utilisation de la carbonisation hydrothermale dans le traitement des margines en raison du faible rendement en hydro char. Cela pourrait être lié à la faible teneur en carbohydrates dans les margines utilisées.

### III.3 Procédés membranaires

Le traitement par séparation membranaire se base sur la séparation des composés solubles d'une solution ou effluent selon la taille moléculaire.

Il existe plusieurs procédés membranaires, classés selon l'ordre décroissant du seuil de séparation : Microfiltration, ultrafiltration, nano filtration et osmose inverse.

La séparation membranaire a l'avantage d'être très sélective, ne nécessite pas beaucoup d'énergie et permet de récupérer des molécules bioactives intactes pour une valorisation ultérieure (El Abbassi et al., 2017).

Cependant, ces techniques sont limitées par le phénomène de colmatage des membranes, notamment pour les effluents très chargés en matière organique comme les margines. Un autre inconvénient est lié au coût des membranes et à leur maintenance (Lee et al., 2019).

### III.4 Procédés physicochimiques

#### Coagulation- floculation

La coagulation-floculation est basée sur la déstabilisation des particules en suspension par l'utilisation d'un coagulant chimique et d'un floculant pour favoriser leur agglomération en floccs à séparer par décantation. Elle est largement utilisée comme traitement physicochimique des effluents chargés en matière organique et inorganique.

Le traitement des margines par coagulation floculation a fait l'objet de plusieurs études, par l'usage de différents coagulants : La chaux (Achak et al., 2008), la chitosane (Rizzo et al., 2010), les chlorures et sulfates d'aluminium (Pelendridou et al., 2014).

En dépit de la réduction de la matière organique obtenue, la coagulation floculation ne représente pas une technique efficace et durable, à cause des grandes quantités de réactifs chimiques nécessaires, et la formation de boues excessives nécessitant à leur tour un traitement ou valorisation ultérieurs.

### III.5 Procédés d'oxydation avancée

Ces dernières années, les recherches dans le domaine de l'eau et traitement des eaux usées ont prouvé que les techniques d'oxydation avancée peuvent éliminer ou réduire efficacement les polluants solubles ou colloïdaux tels que métaux lourds, matières en suspensions, huiles et émulsions.

L'application des POA (procédés d'oxydation avancée) au traitement des margines a attiré une attention considérable en raison de la grande efficacité, et la facilité d'utilisation (Elkacmi et al., 2019). Ainsi, de nombreuses études ont été réalisées pour réduire la charge organique des margines dont la DCO, polyphénols, solides en suspension, turbidité et coloration par différents POA.

Le principe commun de ces procédés est la génération «in situ» d'espèces oxydantes puissantes et réactives appelées radicaux libres tels que le radical hydroxyle ( $\text{OH}\cdot$ ), l'ion super oxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), anion ozonide ( $\text{O}_3^{\cdot-}$ ), peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ),  $\text{HO}_2^{\cdot}$ , et  $\text{HO}_3^{\cdot}$ .

Parmi les avantages des POA, nous pouvons citer :

(i) La réduction significative des composés inorganiques et organiques

- (ii) La minéralisation complète des contaminants organiques en dioxyde de carbone, eau et sels minéraux
- (iii) La génération des sous-produits non toxiques sans rejet des polluants secondaires
- (iv) La haute réactivité et non-sélectivité des radicaux hydroxyles vers les polluants.
- v) La possibilité d'utilisation comme traitement ou prétraitement des eaux usées (Belkacmi et al., 2019).

L'efficacité des POA dépend de plusieurs paramètres tels que le pH, la température, le type de polluants, la concentration en oxydant, et l'intensité de la lumière UV.

Les POA se sont avérés être la solution la plus concrète pour éliminer ou réduire la charge organique des margines. Les cinq catégories des POA utilisées pour le traitement des margines sont résumées ci-dessous :

### **III.5.1 Procédés d'oxydation chimique**

#### **a) Procédés Fenton ( $\text{Fe}^{2+}$ / $\text{Fe}^{3+}$ / $\text{H}_2\text{O}_2$ )**

Les procédés Fenton sont classés comme un moyen simple de produire des radicaux ( $\text{OH}^\bullet$ ), non seulement pour leur simplicité et un temps de réaction court, mais aussi en raison de leur flexibilité permettant une manipulation aisée (exécution et contrôle), ainsi que le faible besoin en équipements et produits chimiques coûteux.

Pour les margines, comme pour de nombreuses autres eaux usées industrielles, le procédé Fenton a montré une efficacité très significative (Esteves et al., 2018 ; Oturan et al., 2014 ; Kallel et al., 2009a ; Iboukhoullef et al., 2016).

#### **b) Peroxonation ( $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ )**

L'ozonation a été largement utilisée pour le traitement des eaux potables et eaux usées étant donné que l'ozone est un oxydant puissant, permettant la dégradation des polluants organiques et inorganiques en solution.

Le traitement des margines par cette méthode a été étudiée, utilisée seule ou en combinaison avec d'autres techniques (Canizares et al., 2009 ; Chedeville et al., 2009).

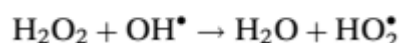
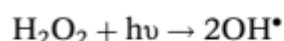
**c) Oxydation catalytique par l'air humide**

Le principe de ces procédés repose sur l'oxydation des polluants organiques et inorganiques en solution à hautes pressions (200 bar) et température (125- 320 °C). Le but est de favoriser le contact entre l'oxygène et la solution afin de dégrader la matière organique en produits biodégradables (Yousefifar et al., 2017).

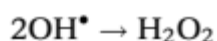
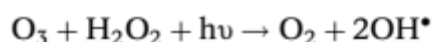
**III.5.2 Procédés d'oxydation photochimique****a) Photolyse de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV)**

L'utilisation des radiations UV a reçu une attention particulière comme technique de dégradation des polluants organiques des eaux usées ou naturelles (Uğurlu et al., 2007 ; Hodaifa et al., 2015).

La combinaison de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et des radiations UV augmente la quantité des radicaux OH• formés qui réagissent avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selon les réactions suivantes :

**b) Photolyse d'O<sub>3</sub> (O<sub>3</sub>/UV)**

La photolyse de l'ozone implique l'irradiation des molécules d'ozone par les rayons UV pour accélérer la formation des radicaux OH• selon les réactions suivantes :



Plusieurs études ont démontré l'efficacité du système O<sub>3</sub>/UV pour le traitement des effluents issus de l'industrie pharmaceutique, de textile, de viticulture, de papeterie et du pétrole (Elkacmi et al., 2019).

Dans le cas des margines, peu ou voire une seule étude de Benitez et al., (1997b) qui a mis l'accent sur l'utilisation du dit système.

**c) Photo-Fenton (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup> (Fe<sup>3+</sup>)/UV)**

La méthode est basée sur la réaction de Fenton entre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et Fe<sup>2+</sup> ou Fe<sup>3+</sup> couplée aux radiations UV.

En conditions optimales, le traitement des margines par le procédé Photo-Fenton, aboutit aux taux de dépollution considérables (Badawy et al., 2009 ; García et al., 2017).

#### **d) Photo-peroxonation ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3/\text{UV}$ )**

Pour ce système combiné, l'ozone absorbe les radiations UV et produit le  $\text{H}_2\text{O}_2$ , qui à son tour, subit une photolyse et génère ainsi le radical hydroxyle (Kusic et al., 2006).

#### **e) Photo catalyse homogène ( $\text{Fe}^{3+}/\text{UV}$ )**

Dans ce procédé, le  $\text{Fe}^{3+}$  est excité par les radiations UV sans ajout de réactifs chimiques tel que le  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ce système de photo catalyse homogène repose sur un mécanisme de photo réduction du fer (III) en solution, pour produire le fer (II) et le radical OH (Elkacmi et al., 2019).

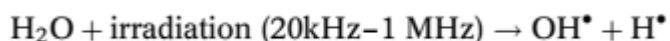
#### **f) Photo catalyse hétérogène**

La photo catalyse hétérogène est classée parmi les meilleures techniques pour la génération des radicaux OH. L'ajout des matériaux semi-conducteurs stimule la réduction d'une large gamme de polluants organiques et inorganiques dans les eaux potables et les eaux usées (Elkacmi et al., 2019).

Plusieurs catalyseurs ont été testés comme :  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{MoO}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{CeO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CdO}$ ,  $\text{CdS}$ ,  $\text{HgO}$ ,  $\text{PbO}$ ,  $\text{Sb}_2\text{O}_3$  et  $\text{TiO}_2$  (Karunakaran et al., 2007), le dernier catalyseur a donné des résultats intéressants dans le traitement des margines. Lorsque l'oxyde de titane est irradié par les UV, il y a génération des radicaux OH à la surface du semi-conducteur, et la matière organique est oxydée (El Hajjouji et al., 2008).

### **III.5.3 Oxydation sono chimique**

Cette technique se base sur l'utilisation des ondes ultrasons pour activer la formation des radicaux OH. Les ondes ultrasons sont appliquées à des fréquences de 20 kHz et 1 MHz :



Les ondes ultrasons produisent des microbulles dans la solution, générant ainsi des chocs et réactivant les radicaux libres et donc la matière organique est oxydée.

La technique est caractérisée par sa simplicité et l'absence de sous-produits toxiques, ce qui a suggéré son utilisation pour le traitement des eaux potables et eaux usées (Elkacmi et al., 2019).

Peu d'études se sont intéressées à l'application de l'oxydation sono chimique pour traiter les margines. Ceci est dû au faible taux de radicaux OH générés et à son coût élevé.

Pour remédier à cela, les chercheurs se sont orientés vers la combinaison de l'oxydation sono chimique avec d'autres techniques utilisant le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>3</sub> (Atanassova et al., 2005).

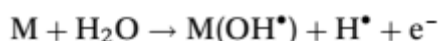
### III.5.4 Procédés d'oxydation électrochimique

Les procédés d'oxydation électrochimique sont parmi les techniques les plus étudiées par les chercheurs pour la dégradation des polluants. Le principal objectif de ces techniques est la réduction d'utilisation des réactifs chimiques ajoutés, cela se fait par la production in situ de l'oxydant (Elkacmi et al., 2019).

Il existe deux grandes catégories de production de radical libre : directe (oxydation anodique et électrocoagulation) et indirecte (procédé Electro-Fenton).

#### **a) Oxydation anodique (OA)**

La technique se base sur un transfert d'électron du polluant à la surface de l'électrode, selon la réaction suivante :



M : matériau de l'anode (fer, Al....)

M (OH•) : radical hydroxy métal adsorbé sur l'anode

Dans le cas des margines, plusieurs types d'électrodes sont utilisés : BDD (boron-doped diamond), Pt, Ti/IrO<sub>2</sub>, Ti/RuO<sub>2</sub>, Ti/SnO<sub>2</sub>, PbO<sub>2</sub>, etc. (Panizza et al., 2006 ; Kotta et al., 2007 ; Bouhssine et al., 2013).

Toutefois, le principal désavantage de ce procédé réside dans son coût relativement élevé (Liu et al., 2017a), s'ajoute à cela, la formation d'un dépôt solide à la surface de la cathode, qui peut augmenter la résistance au passage des électrons (Khaled et al., 2019 ; Markou et al., 2017).

**b) Electro-Fenton (EF)**

Comme pour l'oxydation anodique, l'électro-Fenton est une technique électrochimique indirecte qui implique la génération in situ du radical OH sous l'effet de l'énergie électrique. Il s'agit d'une réaction Fenton assistée par l'électrochimie, où le  $\text{Fe}^{2+}$  réagit avec  $\text{H}_2\text{O}_2$  pour générer le radical OH•.

L'efficacité de cette technique est influencée par plusieurs paramètres incluant : le pH de la solution, la température, l'intensité du courant, le type d'électrodes et la concentration du catalyseur (Khoufi et al., 2006 ; Bellakhal et al., 2006).

**c) Electrocoagulation (EC)**

L'électrocoagulation a été largement étudiée pour le traitement des effluents récalcitrants ou hautement polluants comme les margines. L'intérêt de cette technique réside dans sa simplicité, sa faible consommation d'énergie et la quantité modérée des boues formées (Elkacmi et al., 2017c ; (Hanafi et al., 2010).

Les principales étapes de l'électrocoagulation peuvent être résumées comme suit :

- Formation du coagulant par oxydation électrolytique de l'anode sacrificielle
- Destabilisation des composés organiques, des suspensions et désagrégation des émulsions
- Agrégation des particules sous forme de floccs pour être séparées par sédimentation.

Les principaux matériaux composant les électrodes sont l'aluminium et le fer, dû à leur disponibilité, leur coût relativement bas, et leur compatibilité du point de vue environnemental (Esfandyari et al., 2015).

**III. 6 Procédés biologiques**

Les procédés biologiques se basent essentiellement sur la capacité des microorganismes à dégrader la matière organique. Ces microorganismes peuvent être des bactéries, champignons ou Archea. On distingue trois types de procédés biologiques pour le traitement des margines :

Les procédés aérobie, le compostage et les procédés anaérobies.

### III.6.1 Les procédés aérobies

Le traitement aérobie des margines implique essentiellement les bactéries et les champignons. Les souches bactériennes testées sont *Bacillus pumilus*, *Arthrobacter sp.*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas putida* et *Ralstonia sp* (McNamara et al., 2008).

Les bactéries aérobies ne permettent pas d'avoir une bonne dégradation des polyphénols complexes responsables de la coloration des margines, ainsi les chercheurs ont étudié l'efficacité des consortiums bactériens pour un effet de synergie. Les consortiums proviennent des milieux complexes comme les boues activées, les effluents industriels, les microorganismes du sol ou bien des inoculums commerciaux (McNamara et al., 2008).

Cette méthodologie a permis d'atteindre une dégradation significative de la DCO jusqu'à 80% et aussi des composés phénoliques.

D'autre part, trois types de champignons ont été testés pour le traitement des margines : Les champignons de pourriture blanche (*Coriolus versicolor*, *Funalia trogii*, *Geotrichum candidum* *Phanerochaete sp.*), les *Aspergillus (terreus, niger)* et les levures *Trichosporon cutaneum*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces sp*, *Geotrichum terrestre* et *Candida boidinii*.

Les champignons ont permis une bonne réduction de la DCO, polyphénols et aussi la décoloration des margines (McNamara et al., 2008 ; Yaacoubi et al., 2010).

### III.6.2 Compostage

Le compostage est l'une des techniques de recyclage des margines. Ces dernières sont souvent mélangées avec un substrat solide pour augmenter le taux de matière sèche (Bargougui et al., 2019). Différents substrats de type résidus agricoles sont utilisés en co-compostage avec les margines, nous citons : Les résidus de la viticulture, paille de sésame, déchets de palmier dattier, déchets verts et déchets solides de l'olivier (Majbar, 2019).

Le compost s'obtient principalement par une dégradation aérobie-anaérobie de la matière organique des résidus (marges + résidus agricoles). Un temps de contact long permettra d'avoir de bons rendements.

Malgré cette efficacité de traitement, le compostage est un procédé consommateur du temps et sans gain d'énergie à l'opposé de la digestion anaérobie.

### **III.6.3 Les procédés anaérobies**

Parmi les traitements biologiques des margines, la digestion anaérobie a été proposée comme une technologie prometteuse pour la gestion de ces effluents par la dégradation de la matière organique et la production de l'énergie (biogaz).

Cependant, quelques obstacles doivent être surmontés tels que l'inhibition de la croissance des Archaea méthanogènes par les composés phénoliques, un pH bas, et une faible concentration en azote (Ahmed P.M. et al., 2019).

Les taux d'abattement de la DCO après digestion anaérobie s'élève à 80 % (Souilem et al., 2017). De ce fait cette technique est considérée à la fois comme un moyen de traitement et valorisation des margines. Les facteurs influençant la digestion anaérobie des margines seront détaillés dans la section suivante.

## **IV. Valorisation des margines**

La production biotechnologique des biomolécules a une longue histoire et continue d'être l'une des alternatives les plus intéressantes pour valoriser les margines, elle est doublement bénéfique car, non seulement, elle valorise ces déchets en tant que matière première à faible coût, mais elle réduit également les dommages environnementaux causés par leur rejet dans le milieu naturel.

Les margines peuvent être utilisées comme substrat pour la croissance de micro-organismes, la production d'engrais, de biomolécules, d'aliments pour animaux, et comme source d'énergie.

### **IV. 1 Récupération de biomolécules**

#### **IV.1.1 Les polyphénols**

Les margines ont été largement étudiées comme source de composés bioactifs. Ces molécules sont dotées d'une activité antioxydante intéressante (Salido et al., 2015 ; Gullón et al., 2018).

Les polyphénols sont présents dans les margines principalement sous forme de pigments colorés, leur concentration varie en fonction de la polarité, de la variété d'olive et du mode de culture, ainsi que des méthodes d'extraction d'huile et des traitements appliqués (Dourou et al., 2016).

De plus, d'autres facteurs, notamment la maturité des fruits, le climat, les conditions agronomiques, les conditions de stockage avant l'extraction de l'huile et les techniques de trituration pourraient également avoir des impacts sur la qualité et quantité des composés bioactifs des margines (Allouche et al., 2004; Obied et al., 2005).

Bien que la teneur en phénols des margines est très variable, les principaux composés décrits dans la littérature sont les acides phénoliques, les alcools et les flavonoïdes (Lafka et al., 2011).

Ces composés possèdent des propriétés anti hypertensives, anti-inflammatoires, hypoglycémiques et hypocholestérolémiques et, dans certains cas, ils ont un pouvoir antimicrobien contre certaines bactéries, champignons et mycoplasmes (Ghanbari et al., 2012).

Plusieurs techniques (utilisées seules ou combinées) ont été proposées pour récupérer les polyphénols des margines telles que l'extraction par solvant, les séparations chromatographiques, la centrifugation, les processus membranaires (Rahmanian et al., 2013 ; Souilem et al., 2017) et plus récemment les décharges électriques à haute tension, et les ultrasons (Roselló-Soto et al., 2015).

La bioconversion enzymatique a été également utilisée pour récupérer les composés bioactifs aux propriétés anti oxydantes avérées (Khoufi et al. 2011 ; Hamza et al., 2012).

D'autres méthodes basées sur l'utilisation de bio-adsorbants ont également été étudiées pour la récupération des polyphénols des margines (Ena et al., 2012).

### **IV.1.2 Les enzymes**

Les champignons sont des micro-organismes bien connus en raison de leur capacité à synthétiser une large gamme de catalyseurs biologiques pouvant être utilisés dans divers processus bio-industriels.

Plus précisément, les champignons lignolytiques constituent un outil puissant pour la dégradation et la détoxification des margines car ils ont démontré leur capacité à éliminer les composés récalcitrants par la production d'enzymes oxydantes non spécifiques telles que les phénol-oxydases, les polyphénol-oxydases et les peroxydases (Ntougias et al., 2015 ; Koutrotsios et al., 2016 ; Zerva et al., 2017).

D'autres enzymes telles que les lipases et les pectinases peuvent également être obtenues par le traitement fongique des margines (Abrunhosa et al., 2013 ; Crognale et al., 2006).

### **IV.1.3 Les Polysaccharides**

Les exo polysaccharides (EPS) sont des substances extracellulaires et polymères biosourcés avec des complexités structurales et des fonctions biologiques diverses, et ont des applications industrielles. Ils peuvent être utilisés dans les domaines alimentaires, pharmaceutique, cosmétique et de bio remédiation (Liang et al., 2015).

Les margines représentent une source potentielle pour ces composés, à titre d'exemple, le xanthane est l'un des EPS microbiens à haute valeur ajoutée commerciale.

La première production de xanthane à partir des margines a été décrite par López et al. , (1996). D'autres bactéries productrices d'EPS capables de se développer dans les margines ont également été étudiées (Morillo et al., 2007).

### **IV.1.4 Les bio surfactants**

Les bio surfactants, agents amphipathiques à «têtes» hydrophiles et «queues» hydrophobes, se caractérisent par leur capacité à atténuer la tension superficielle de l'eau ou la tension inter faciale entre deux phases opposées, aqueuse et hydrophobe. Ces composés sont stables à des conditions de pH, de salinité et de température extrêmes, et peuvent être utilisés dans de nouvelles applications telles que l'assainissement des sols, la récupération des métaux lourds, des aliments ou des médicaments (Shekhar et al., 2015).

En raison de la présence d'huiles résiduelles et de polysaccharides, les margines constituent une source de carbone appropriée pour la production de bio surfactants sous forme de rhamnolipides (bio surfactants glycolipidiques) ou de surfactines (bio surfactants lipopeptidiques) (Ramírez et al., 2015 ; Gudiña et al., 2016).

### **IV.1.5 Les fibres**

Les fibres alimentaires sont aujourd'hui utilisées comme additifs dans les denrées alimentaires en raison de leurs propriétés technologiques et leurs vertus nutritionnelles.

Les sous-produits oléicoles y compris les margines contiennent des débris de polysaccharides de la paroi des cellules d'olive et donc, ont été proposés comme source de polymères tels que les pectines, les hémicelluloses, la cellulose et la lignine (Galanakis et al., 2010).

La production de fibres pour l'alimentation animale en utilisant des sous-produits de l'olive comme source à bon coût et disponible semble une solution compétitive, surtout si le coût des prétraitements est diminué (Federici et al., 2009 ; Dermeche et al., 2013).

#### **IV.1.6 Champignons comestibles**

Les margines ont été utilisées depuis longtemps comme milieu de culture pour certains micro-organismes dans le but d'obtenir une biomasse microbienne comme les champignons comestibles. En particulier les espèces *Pleurotus*, *Lentinula* et *Agaricus*, ont été cultivés sur les margines comme source de nutriments, en appliquant différentes stratégies (Altieri et al., 2009 ; Koutrotsios et al., 2016 ; Lakhtar et al., 2010).

### **IV.2 Valorisation agronomique**

#### **IV.2.1 Epandage sur les sols**

De nombreux chercheurs ont étudié l'épandage direct des margines à des fins agronomiques pour enrichir les sols en nutriments, aussi bénéficier de leur potentiel de mobilisation des ions du sol, tandis que les effets négatifs sont associés à la forte salinité de ces effluents, leur pH acide et la présence de phénols (El hassani et al., 2010 ; Kurtz et al., 2015; Chatzistathis et al., 2017).

L'amendement du sol avec les margines est également connu pour avoir exercé un effet antimicrobien et anti-phytopathogène (Brenes et al., 2011).

#### **IV.2.2 Utilisation comme bio pesticide**

Plusieurs études ont révélé le potentiel d'utilisation des margines comme bio pesticides contre les agents phytopathogènes. Les margines sont utilisées pour supprimer les mauvaises herbes sans aucun effet négatif sur la croissance des cultures (El-Abbassi et al., 2017).

De même, les margines se sont révélées efficaces contre les principaux phytopathogènes bactériens et fongiques (Lykas et al., 2014).

De plus, des études récentes ont signalé l'effet biocide des margines sur certains ravageurs mollusques (Obied et al., 2007), nématodes (Cayuela et al., 2008), et arthropodes (Larif et al., 2013). Sur la base des études disponibles, les margines peuvent être utilisées en agriculture pour le contrôle des maladies des plantes. Cependant, certaines mesures doivent être respectées dans ce cas, notamment en ce qui concerne la dose et la période de l'utilisation.

#### **IV.2.3 Utilisation comme compost**

Le compostage est défini comme un processus de dégradation de déchets organiques solides par des micro-organismes en un mélange complexe stable et riche en humus.

Le compostage est l'une des principales technologies pour recycler les margines et les transformer en engrais. Ce processus permet le retour des nutriments dans les terres cultivées en évitant les effets négatifs souvent observés lors de l'application directe des margines sur le sol (Majbar, 2017).

En tant que liquide, les margines ne peuvent pas être directement compostés mais ils doivent être utilisés en combinaison avec d'autres substrats solides tel que la sciure, les boues d'épuration domestiques, le fumier et les pailles de céréales dans un processus appelé «Co-compostage» (Akratos et al., 2017).

L'application du compost à base des margines a montré une amélioration des propriétés chimiques et physicochimiques du sol, principalement des éléments fertilisants tels que le calcium, le magnésium, l'azote, le potassium et le phosphore (Rigane et al., 2015).

#### **IV.3 Valorisation comme source d'énergie**

Les margines constituent une matière première prometteuse pour la production de bioénergie et de biocarburants en raison de leur contenu en matière organique comme les sucres, les acides volatils, les polyalcools et huiles (Dermeche et al., 2013).

##### **IV.3.1 Production d'hydrogène**

Le bio hydrogène (bio-H<sub>2</sub>) est considéré comme une énergie renouvelable pour remplacer les combustibles fossiles. La production de bio-H<sub>2</sub> implique un large éventail de réactions, y compris la bio photolyse directe et indirecte, la photo-fermentation et la fermentation sombre. De plus, le bio-H<sub>2</sub> peut être produit par un grand nombre de micro-organismes (principalement des bactéries) avec des caractéristiques physiologiques et métaboliques distinctes par des voies cataboliques uniques ou combinées.

En raison de la faible teneur en azote, les margines sont un substrat favorable à la production de bio-H<sub>2</sub> par photo-fermentation (Uyar et al., 2012). Cependant, de nombreuses recherches soulignent le fait que la production de bio-H<sub>2</sub> par des bactéries photosynthétiques utilisant les

margines comme substrat est limitée par la couleur foncée de ces effluents. Afin de surmonter ce problème, les margines sont diluées à des taux élevés.

*R. sphaeroides* est l'espèce bactérienne photo-fermentative la plus étudiée pour la production de bio-H<sub>2</sub> couplée au traitement des margines (Eroglu et al., 2011).

#### IV.3.2 Le bio-éthanol et biodiesel

La charge organique des margines en font une matière première appropriée pour la production d'éthanol et de biodiesel. Cependant, il est nécessaire d'éliminer ou de réduire le taux des composés phénoliques afin d'utiliser ses fractions glucidiques et lipidiques pour produire ces biocarburants (Dorou et al., 2016 ; Kourmentza et al. (2017).

#### IV.3.3 Le bio-méthane

Les effluents chargés en matière organique peuvent être convertis en énergie sous forme méthane (CH<sub>4</sub>) et dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) dans les digesteurs anaérobies grâce aux actions concertées de différentes populations microbiennes.

Habituellement, la production de méthane à partir des margines implique un prétraitement de nature physique, chimique, physico-chimique ou biologique. Le prétraitement est ensuite suivi par la digestion anaérobie.

Les champignons se sont révélés d'excellents candidats pour le prétraitement des margines avant la digestion anaérobie (Hamdi et al., 1991 ; Borja et al., 1995).

Certains chercheurs ont étudié d'autres alternatives de prétraitement des margines, incluant l'ajout de bases, de sels chimiques, la dilution par l'eau et aussi le prétraitement par ultrasons (Ruggeri et al., 2015).

Toujours en combinaison avec un traitement anaérobie, l'oxydation catalytique par le peroxyde d'hydrogène par voie humide a permis de réaliser environ 75, 78 et 61% d'abattement de DCO, DBO<sub>5</sub> et COT, respectivement (El-Gohary et al., 2009).

En outre, Azabou et al. (2010) a rapporté une réduction remarquable de la DCO, de la couleur et des polyphénols en utilisant deux systèmes catalytiques différents : ((Al – Fe) / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / UV) à 25 °C et ((Al-Fe) / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 50°C

La co-digestion des margines avec d'autres déchets tels que le fumier de volaille, les eaux usées des abattoirs, les résidus vinicoles et le fumier bovin liquide a également été étudiée, ce

qui a entraîné des rendements en  $\text{CH}_4$  de plus de 250 L/kg de DCO (Gelegenis et al., 2007 ; Fountoulakis et al., 2008 ; Dareioti et al., 2010).

#### **IV.4 La digestion anaérobie**

La digestion anaérobie est l'une des technologies les plus efficaces et les plus respectueuses de l'environnement pour la gestion des déchets. Elle permet non seulement de traiter les déchets organiques, mais en même temps, elle constitue une source d'énergie renouvelable par la production de méthane.

Il s'agit d'un processus microbien complexe qui implique une série de réactions métaboliques pour la décomposition de la matière organique en biogaz et digestat (Kumar et al., 2020).

##### **IV.4.1 Les étapes de la digestion anaérobie**

La digestion anaérobie est essentiellement divisée en quatre étapes : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse (Figure 3).

- 1) Hydrolyse : est la première étape au cours de laquelle la matière organique complexe tel que les glucides, les protéines et les graisses sont décomposées en molécules organiques solubles comme les sucres, les acides aminés, les acides gras et d'autres composés apparentés.
- 2) Acidogénèse est la deuxième étape au cours de laquelle les composés de l'étape d'hydrolyse sont décomposés davantage en acides gras à chaîne courte.
- 3) Acétogénèse est la troisième étape au cours de laquelle les acides organiques formés au cours de l'acidogénèse sont convertis en acide acétique ainsi qu'en  $\text{H}_2$  et  $\text{CO}_2$ .
- 4) La dernière étape est la méthanogénèse, où deux groupes différents de méthanogènes interviennent. Le premier groupe convertit l'acide acétique en méthane et dioxyde de carbone, tandis que l'autre groupe utilise les produits intermédiaires ( $\text{H}_2$  et  $\text{CO}_2$ ) pour la formation de méthane (Kumar et al., 2020).

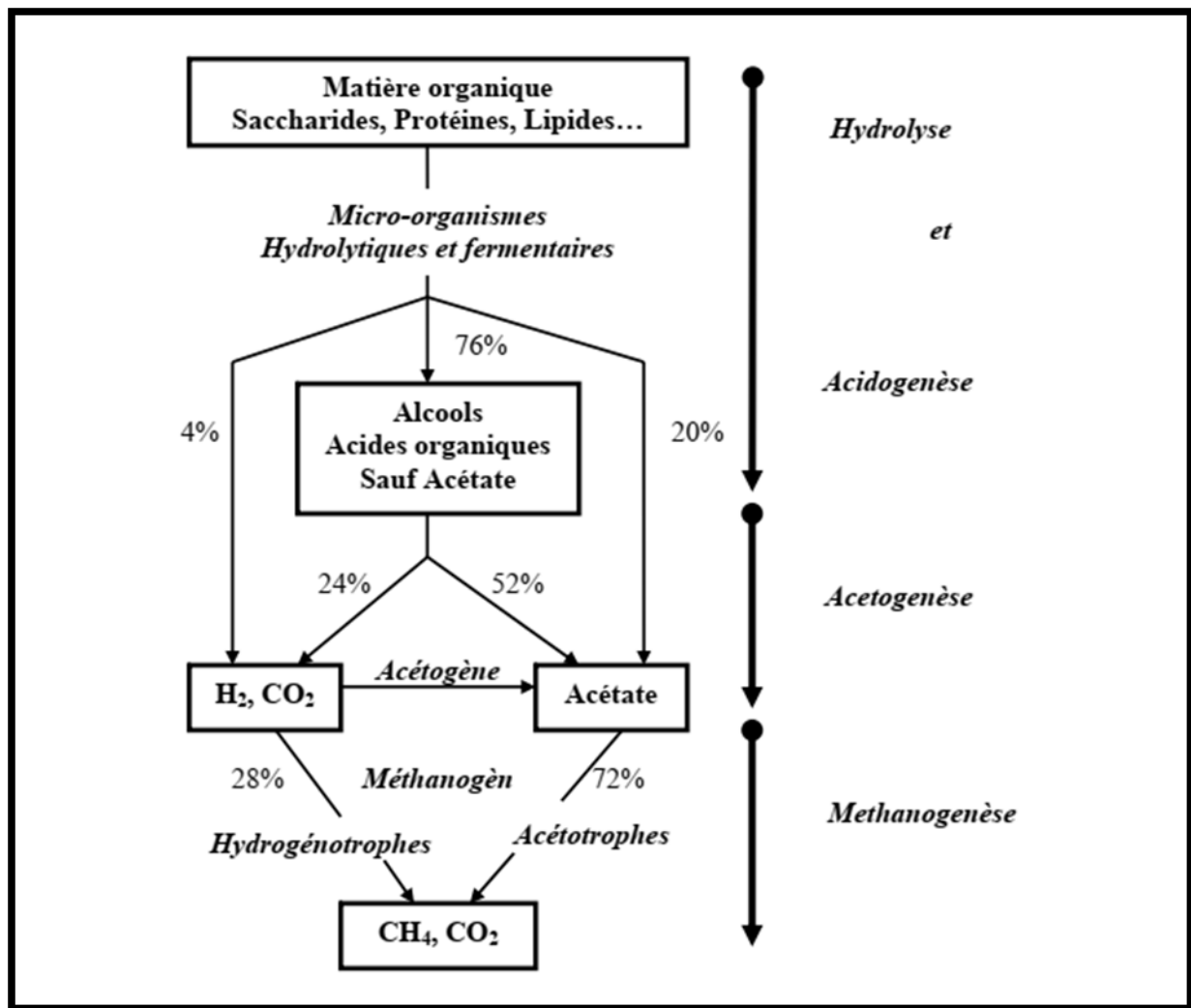


Figure 3 : Etapes de la digestion anaérobie (Derbal, 2009)

#### IV.4.2 Facteurs influençant la digestion anaérobie

##### a) pH

Le pH est un indicateur de la stabilité de la digestion anaérobie. Les méthanogènes sont très sensibles au pH. La formation de méthane peut être limitée en raison du déclin de la croissance des méthanogènes à pH acide.

Une gamme de valeurs de pH (6,5 à 8,5) a été jugée favorable pour la digestion anaérobie dans la littérature, mais le pH optimal pour une digestion anaérobie efficace est d'environ 7 (Mao et al., 2015).

**b) Rapport C/N**

Le carbone et l'azote sont la source d'énergie et de nutriments essentiels à la croissance de micro-organismes. Le rapport C / N aide à identifier la nature des déchets introduits dans le digesteur anaérobie. Plusieurs études ont suggéré un rapport C / N optimal de 20 à 30 pour une digestion anaérobie efficace (Mao et al., 2015 ; Messineo et al., 2019 ; Kumar et al., 2020).

À un rapport C / N élevé, une acidification excessive se produit en raison de la dégradation rapide du substrat pendant la phase initiale de la digestion, entraînant l'instabilité du processus. L'excès de carbone ralentira le processus de dégradation, car les micro-organismes mettront plus de temps à consommer le carbone disponible.

Bien que le faible rapport C / N indique la forte concentration d'azote ammoniacal qui inhibe le processus anaérobie. Le rapport C / N dépend du type de matière première et peut être maintenu au niveau souhaité en modifiant le rapport de mélange de deux substrats de rapport C / N élevé et faible, c'est le cas des margines mélangées avec l'urée comme source d'azote permettant d'avoir des rapports C/N de 25 et 13 (Ghanam et al, 2013).

**c) Température**

La température est l'un des paramètres les plus importants qui affecte les performances des réacteurs anaérobies. En particulier, la méthanogenèse est fortement influencée par ce paramètre.

En fonction de la température de fonctionnement, le mode de digestion anaérobie est divisé en trois catégories différentes : psychrophile (~ 20 °C), mésophile (~ 35 °C) et thermophile (~ 55 °C).

La plupart des procédés de digestion anaérobie sont conduits à des plages mésophiles qu'en thermophiles, car le processus est plus stable, moins assujéti à l'accumulation d'acides et nécessite moins d'investissements pour un rendement équivalent en biogaz.

Cependant, le mode mésophile présente certaines limites telles que le faible rendement en méthane, la mauvaise biodégradabilité de la biomasse lignocellulosique et le long démarrage des digesteurs (Kumar et al., 2020)

### **d) Origine et nature de l'inoculum**

L'action d'un inoculum est liée à son origine, sa concentration, sa richesse en microorganismes méthanogènes, ainsi qu'aux conditions physico-chimiques du milieu (pH, temps de séjour et température) (Messineo et al., 2019).

Différentes sources d'inoculum sont utilisées : les boues de station d'épuration, les fumiers, ou les digestats issues des réacteurs anaérobies traitant le même substrat ou autre.

Certains auteurs (de la Lama et al., 2017) ont démontré que l'acclimatation de la biomasse peut considérablement améliorer le processus de biodégradation et améliorer la méthanisation des résidus oléicoles.

L'augmentation des performances de digestion a également été mentionnée par Calabrò et al., (2018) lors de l'utilisation du digestat provenant du traitement des margines comme source d'inoculum.

### **e) Nutriments**

Pour assurer un bon fonctionnement de la digestion anaérobie, les bactéries ont besoin de nutriments sous forme de macro éléments tel que le carbone, l'azote et le phosphore mais aussi de micro nutriments tel que le fer, le cobalt, le nickel et le zinc. La concentration en nutriments est un facteur limitant car elle peut stimuler les processus biochimiques de la digestion anaérobie ou bien les perturber si la concentration est très élevée (Mudhoo et al., 2013).

### **f) Charge organique**

La charge organique représente la quantité de matière organique introduite dans un digesteur par jour sous alimentation continue. Avec l'augmentation de la charge organique, le rendement en biogaz augmente dans une certaine mesure, mais l'équilibre et la productivité du processus de digestion peuvent être perturbée par inhibition.

Cette inhibition se produit en raison de charges extrêmement élevées conduisant à une activité bactérienne d'hydrolyse / acidogenèse plus élevée que l'activité bactérienne de méthanogenèse et augmente ainsi la production des acides à courte chaîne, ce qui conduit finalement à une acidification irréversible (Mao et al., 2015).

### **g) Temps de séjour**

Le temps de rétention est le temps nécessaire pour achever la dégradation de la matière organique. Il est associé au taux de croissance microbien et dépend de la température du procédé, de la charge organique et de la composition du substrat.

Le temps de séjour est défini par l'équation suivante :

$$\boxed{\text{TSH} = V / Q} \quad \text{où} \quad \text{TSH} = \text{Temps de séjour hydraulique}$$

V = volume du réacteur biologique

Q = débit d'influent dans le temps.

La diminution du temps de séjour conduit généralement à une accumulation d'acides, tandis qu'un TSH plus long entraîne une utilisation insuffisante des composants du digesteur (Mao et al., 2015).

### **IV.4.3 Les réacteurs anaérobies**

Au cours des dernières années, différents réacteurs anaérobies ont été utilisés pour traiter les margines. Il s'agit principalement de trois types de réacteurs : en suspension, en biofilm et granulaires :

#### **a) Bioréacteurs à biomasse libre**

##### Réacteur à cuve complètement agitée (CSTR) :

Les CSTR sont des réacteurs à biomasse libre bien connus et ont été largement utilisés pour la digestion anaérobie des margines et d'autres effluents organiques.

Par rapport à d'autres réacteurs, les CSTR ont une concentration de biomasse plus faible.

Comme d'autres réacteurs à haut débit, les performances des CSTR sont maximisées en faisant fonctionner le réacteur à des charges élevées.

Les performances pourraient être améliorées en utilisant une digestion en deux phases, une co-digestion avec d'autres déchets ou le développement de biofilms sur les matériaux ajoutés à l'intérieur des réacteurs. Un traitement en deux étapes permet le fonctionnement stable d'un CSTR à des charges élevées en séparant les phases acidogénèse et méthanogénèse.

La co-digestion des margines avec des substrats complémentaires améliore les performances du CSTR et permet au réacteur d'être exploité à des charges plus élevées et à un temps de séjour plus court (Nasir et al., 2012).

### Autres réacteurs à biomasse libre

Il s'agit du réacteur séquentiel discontinu anaérobie (anaerobic sequencing batch reactor **ASBR**) et réacteur séquentiel à chicanes (periodic anaerobic baffled reactor **PABR**). Ce dernier est un nouveau bioréacteur qui a été développé afin de surmonter les problèmes de fonctionnement des réacteurs à chicane classiques. La conception circulaire permet le déplacement séquentiel de l'effluent à travers tous les compartiments de sorte que la matière organique du substrat est exposée de manière égale à toute la biomasse retenue dans le bioréacteur (Liu et al., 2010).

### **b) Réacteurs à biomasse fixe**

Les réacteurs à biofilm ont une biomasse concentrée et peuvent fonctionner à des charges organiques élevées avec une efficacité de traitement élevée.

Les micro-organismes anaérobies pourraient être inhibés par un excès d'ammoniac résultant de la dégradation de matières organiques riches en protéines ; néanmoins, les réacteurs à biofilm retrouvent rapidement leurs performances après l'élimination des substances inhibitrices ou correction des conditions défavorables.

### Filtre anaérobie à flux ascendant

Les filtres anaérobies ont été exploités pour le traitement des margines. Divers matériaux de rétention de biomasse ont été utilisés, y compris le charbon actif, la silice, les anneaux en PVC et les copeaux de bois.

Les filtres anaérobies ont une grande quantité de biomasse et donc peuvent supporter des charges organiques élevées (Gannoun et al, 2016).

### **c) Réacteurs granulaires**

#### Réacteur à lit de boue à flux ascendant

Ce bioréacteur granulaire est très utilisé pour le traitement des effluents de l'industrie alimentaire et des moulins à huile. Les margines non diluées peuvent être traitées de manière satisfaisante par ce type de réacteurs sous des charges organiques élevées (Mao et al., 2015).

#### Réacteurs hybrides

La formation de mousse et le lavage de la biomasse sont les principaux inconvénients de réacteur à lit de boue à flux ascendant. De plus, le piégeage physique des solides dans les lits

de boues détériore également les performances du réacteur et réduit l'efficacité d'élimination de la DCO.

#### IV.4.4 Les produits de la digestion anaérobie

##### a) Le biogaz

Le terme biogaz désigne le gaz produit lors de la digestion anaérobie de la matière organique. Ce gaz se compose principalement de méthane et de dioxyde de carbone et sa composition dépend du substrat utilisé.

D'autres gaz tels que la vapeur d'eau ( $H_2O$ ), le monoxyde de carbone ( $CO$ ), l'azote ( $N_2$ ), l'hydrogène ( $H_2$ ), le sulfure d'hydrogène ( $H_2S$ ) et l'oxygène ( $O_2$ ) se trouvent dans le biogaz à faible taux.

L'énergie du biogaz dépend de la teneur en méthane et donc plus la teneur en méthane est élevée, plus d'énergie peut être produite (Derbal, 2009).

En général, la teneur en méthane varie entre 55 et 65% en fonction des substrats utilisés.

Le Pouvoir calorifique inférieur du biogaz est estimé comme suit :

- $1m^3$  de biogaz (60% méthane) = 6 kWh
- $1m^3$  de méthane = 9,94 kWh
- Pour comparaison : 1 litre de fioul = 10 kWh

Le biogaz est valorisé par différentes voies :

- **La cogénération** : Permet la production simultanée de l'électricité et la chaleur par des moteurs à combustion.
- **Valorisation en chaudière** : La chaleur produite peut servir pour la production d'eau chaude, de vapeur, ou dans les fours industriels.
- **Injection dans le réseau de gaz naturel** : pour les utilisations domestiques (L'Agence de la transition écologique, 2018)

##### b) Le digestat

Le digestat est le résidu obtenu après digestion anaérobie. Sa composition et ses caractéristiques varient selon le substrat utilisé et aussi les conditions opératoires de la méthanisation.

Le processus de digestion anaérobie conserve entièrement l'eau et la majorité de la fraction minérale des substrats organiques du départ. L'azote est plus assimilable pour les microorganismes du sol. Le digestat est donc valorisable comme fertilisant pour les sols agricoles (L'Agence de la transition écologique, 2018).

### **IV.4.5 Inhibiteurs de la digestion anaérobie**

#### **a) Les acides gras volatils**

Pendant la phase initiale du processus de digestion anaérobie, les composés organiques solubles convertis en produits intermédiaires appelés AGV (acide acétique, propionique, butyrique et acide valérique). Idéalement, les AGV produits devraient être convertis en CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub>. Mais, en raison du contenu organique élevé dans le substrat, une formation excessive des AGV est observée à un stade précoce de la digestion, ce qui entraîne une chute du pH et donc la méthanogenèse est inhibée (Kumar et al., 2020).

Le seuil de l'inhibition de la digestion anaérobie par les acides gras volatils est différent d'un composé à l'autre.

Wang et al., (2009) ont rapporté que des concentrations d'acide acétique et d'acide butyrique de 2400 et 1800 mg/L, respectivement, n'ont entraîné aucune inhibition significative de l'activité des méthanogènes, tandis qu'une concentration d'acide propionique de 900 mg L<sup>-1</sup> a entraîné une inhibition significative de la digestion anaérobie.

#### **b) Ammoniac NH<sub>3</sub>**

L'ammoniac est l'un des produits intermédiaires du processus de digestion anaérobie et aussi l'un des inhibiteurs majeurs des bactéries anaérobies.

À une concentration faible, l'ammoniac peut agir comme un tampon pour le système, mais à une concentration élevée et à pH élevé, il peut être toxique pour les méthanogènes. La concentration inhibitrice de l'ammoniac dans le digesteur anaérobie dépend principalement du pH, de la température, du rapport C / N, du type de substrat et de l'inoculum (Kumar et al., 2020).

Selon Moletta (2008), une concentration entre 1,5 et 3g /L est modérément inhibitrice, alors qu'au-dessus de 3 g / L, il y a une forte inhibition de la digestion anaérobie.

## V. Conclusion

Dans cette revue de littérature, nous avons souligné la problématique des margines, d'abord par présentation de leur origine, leur composition et aussi leur impact sur les composantes de l'écosystème : l'air, le sol et l'eau.

Le risque de pollution et de dégradation de ces éléments par le déversement des margines a permis l'émergence des approches scientifiques visant la remédiation de ces effluents oléicoles. Du coup, nous avons présenté une synthèse des différents procédés de traitement et de valorisation des margines. Ces procédés permettent de réduire la charge organique de ces déchets mais aussi la production de molécules d'intérêt.

Dans cette optique, notre approche pour mieux gérer les margines produites pendant la saison oléicole se base principalement sur deux piliers :

- Utilisation des margines comme source d'énergie renouvelable par le procédé de digestion anaérobie
- Récupération des polyphénols des margines par adsorption sur matériaux synthétiques et naturels.

## **Chapitre 2 :**

### *Caractérisation physicochimique, Microbiologique, et métallique des margines*

---

## I. Introduction

La région Fès-Meknès dispose du plus grand pôle oléicole et industriel du Maroc avec une capacité de trituration de 768.591 tonnes, réalisée par 4.810 unités de trituration dont 100 de deux phases, 141 de trois phases et 4.569 traditionnelles.

Ces unités sont réparties sur les différentes provinces de la région, principalement à Fès, Meknès, Taounate, Taza, Elhajeb, Séfrou, Boulemane et Ifrane.

L'activité de trituration génère des volumes importants d'effluents liquides sous forme de margines, contenant une charge organique élevée. Ces effluents sont colorés en brun foncé, chargés en polyphénols et ont un pH acide.

En absence de procédés de traitement efficaces et applicables à grande échelle, les margines sont directement rejetées dans les cours d'eau ou dans le réseau d'assainissement urbain. Cette pratique cause des dégâts sévères pour l'environnement et parfois même bloque le fonctionnement de la station d'épuration de la ville de Fès entraînant son arrêt pendant la saison oléicole.

À présent, seule l'évaporation naturelle des margines est utilisée comme technique simple et peu onéreuse. L'évaporation est réalisée soit dans des bassins construits à l'unité de trituration ou bien dans un bassin collectif.

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats de la caractérisation de deux types de margines à savoir les margines issues du système d'extraction par presse, et celle obtenues par le procédé trois phases. Ceci permet d'estimer l'impact et la charge polluante de ces rejets sur le milieu récepteur.

## II. Matériel et méthodes

### II.1 Echantillonnage des margines

L'échantillonnage des margines a été réalisé pendant la saison oléicole, les margines du système à presse sont obtenues à partir d'une unité située à Bab Ftouh-Fès ; alors que les margines du système continu à trois phases sont collectées chez une unité de trituration moderne fonctionnant avec le système continu située dans la région Ain El Beida sur la route Fès-Séfrou (Figure 4).

Les échantillons ont été prélevés dans des bidons bien lavés et rincés à l'avance pour les analyses physicochimiques.

Les margines étudiées sont fraîches car elles sont obtenues directement du process de trituration. Pour les analyses microbiologiques, nous avons utilisé des flacons stériles.

Tous les échantillons ont été rapidement acheminés au laboratoire, aliquotés pour les différentes analyses et ensuite stockés à -18 °C jusqu'à utilisation ultérieure. Il faut noter que les margines ne sont produites que pendant 4 mois allant du mois d'octobre jusqu'au mois de Janvier –Février.



**Figure 4 :** Echantillons de margines à presse et du système continu à trois phases

## II.2 Analyses physicochimiques

La caractérisation physicochimique des margines a été réalisée selon les procédures décrites dans Rodier 2009, les paramètres suivants ont été déterminés.

### II.2.1 pH

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH mètre de type HANNA 9142.

### II.2.2. Conductivité

La conductivité électrique est l'estimation des sels présents dans une solution. La conductivité a été mesurée par un conductimètre de type WTW modèle LF 318/SET. Les résultats sont donnés à 25°C en  $\text{mS.cm}^{-1}$  (Rodier, 2009).

### II.2.3 Demande chimique en oxygène (DCO)

Le principe de détermination de la DCO repose sur une oxydation de la matière organique contenue dans l'échantillon par excès du dichromate de potassium ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), en milieu acide, chaud et en présence de sulfate de mercure ( $\text{HgSO}_4$ ) et de sulfate d'argent ( $\text{AgSO}_4$ ) comme catalyseur. La DCO est exprimée par la quantité d'oxygène consommée au cours de la minéralisation de la matière organique durant deux heures à l'aide d'un DCO mètre de type COD REACTOR. La réaction donne un complexe coloré en jaune susceptible d'un dosage colorimétrique à 585 nm (Rodier, 2009). La DCO est estimée par rapport à une gamme d'étalonnage de glucose.

### II.2.4 Demande biologique en oxygène (DBO<sub>5</sub>)

La DBO<sub>5</sub> a été déterminée par la méthode respirométrique. La DBO<sub>5</sub> est la quantité d'oxygène nécessaire pour l'oxydation biologique de la matière organique par les microorganismes du milieu, durant 5 jours. Ce paramètre est particulièrement utile dans l'estimation de la biodégradabilité d'un effluent donné.

Le principe de cette méthode est d'assurer l'apport de l'oxygène à l'échantillon par l'intermédiaire de l'atmosphère gazeuse au-dessus de celui-ci. Le gaz carbonique dégagé est piégé par des pastilles de soude. Un volume d'échantillon donné est incubé pendant 5 jours à 20°C et à l'obscurité dans une armoire thermostatée (Rodier, 2009). Le DBO mètre mémorise automatiquement une valeur toutes les 24 heures sur 5 jours. La valeur de la DBO<sub>5</sub> est donnée en milligramme d'oxygène par litre consommé par l'échantillon.

### II.2.5 Nitrites ( $\text{NO}_2^-$ )

Les nitrites sont dosés par le réactif de Zambelli. L'acide sulfurique en milieu chlorhydrique et en présence d'ions  $\text{NH}_4^+$  et de phénol forme avec les ions  $\text{NO}_2^-$  un complexe coloré en jaune (dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en nitrites) et dosé par colorimétrie à 435 nm.

### II.2.6 Nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )

Les nitrates sont réduits en nitrites en présence de l'acide sulfosalicylique aboutissant à la formation d'un dérivé qui donne en présence d'ammoniaque une coloration jaune stable susceptible d'un dosage colorimétrique à 415 nm.

### II.2.7 Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ )

En milieu alcalin et en présence de nitroprussiate de sodium ( $\text{Na}_2 [\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ ) qui agit comme catalyseur, les ions  $\text{NH}_4^+$  traités par une solution d'hypochlorite de sodium ( $\text{NaClO}$ ) et de phénol ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ ) donnent du bleu d'indophénol susceptible d'un dosage colorimétrique à 630 nm.

### II.2.8 Ortho phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

Les ortho phosphates sont la forme inorganique du phosphore dans le milieu. Les ortho phosphates forment en milieu acide et en présence du molybdate d'ammonium et du tartrate double d'antimoine et de potassium un complexe qui sera ensuite réduit par l'acide ascorbique en composé coloré en bleu absorbant la lumière à 880 nm (Rodier, 2009).

### II.2.9 Polyphénols totaux

La méthode utilisant le réactif de Folin Ciocalteau a été utilisée pour quantifier les polyphénols totaux des margines par formation d'un complexe bleu à doser par spectrophotométrie à 750 nm et en référant à une gamme étalon d'acide gallique.

### II.2.10 Matière grasse

Elles sont déterminées par extraction liquide-liquide par l'hexane, ensuite le mélange hexane-matière grasse est concentré dans un rotavapor pour évaporer l'hexane. Le taux de matière grasse est obtenu par différence de poids avant et après élimination du solvant.

### II.2.11 Matière sèche

La matière sèche (MS) regroupe l'ensemble des substances organiques en solution et en suspension, contenues dans l'échantillon. La matière sèche est déterminée à 105°C par différence de poids de l'échantillon après évaporation d'un volume (V), dans un creuset en porcelaine de masse initiale  $m_0$ , jusqu'à obtention d'une masse constante  $m_1$  (généralement après 24h).

#### **II.2.12 Matière volatile**

La matière volatile est déterminée en faisant la différence entre la matière sèche et les résidus (cendres) issus de la calcination de l'échantillon. En effet, après la détermination de la matière sèche, le même creuset de masse est porté dans un four de température 600°C pendant 2 à 3 heures.

#### **II.2.13 Matière minérale**

La matière minérale est déterminée par la différence entre la matière sèche et volatile.

#### **II.2.14 Les sucres totaux**

Les sucres totaux ont été dosés selon la méthode de Dubois décrite par (Achaq et al., 2008). En présence de phénol et en milieu acide concentré, les sucres présents dans la solution réagissent pour former un complexe jaune orangé dont l'absorbance est mesurée à 490 nm en utilisant une gamme étalon de glucose.

### **II.3 Composition métallique**

Les éléments métalliques contenus dans les margines ont été analysés par absorption d'émission atomique à plasma à couplage inductif ICP-AES à la cité d'innovation –USMBA Fès. L'analyse a porté sur la détermination des paramètres suivants : Calcium, Cadmium, Cobalt, Cuivre, Fer, Potassium, Sodium, Nickel, Plomb, Zinc.

### **II.4 Analyses microbiologiques**

L'analyse microbiologique des échantillons a été réalisée dès réception au laboratoire, afin d'éviter toute contamination. Après homogénéisation des margines, une série de dilutions dans de l'eau distillée stérile est réalisée. Un volume de 0,1 mL de chaque dilution appropriée est étalé sur des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé de choix.

#### **II.4.1 Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)**

La microflore aérobie totale regroupe le nombre total de micro-organismes, en particulier les bactéries se développant dans les conditions aérobies. Ces germes sont cultivés sur gélose nutritive (**Voir la composition dans l'Annexe 1**), qui est un milieu riche et non sélectif. Après inoculation, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures en position inversée.

Toutes les colonies apparentes sont comptées après l'incubation. Le nombre de germes est exprimé en UFC [unité formant colonie].

#### **II.4.2 Coliformes Totaux (CT)**

Ils sont des indicateurs de qualité hygiénique (contamination fécale). Les coliformes totaux sont recherchés sur milieu désoxycholate lactose agar solide (Biokar Diagnostics, France) (Milieu DL, Annexe 1). Les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les colonies lactose positives développées sur le milieu DL sont dénombrées.

#### **II.4.3 Coliformes Fécaux (CF)**

De même, Les coliformes fécaux sont recherchés sur le milieu DL, sauf que les boîtes de Pétri ensemencées sont incubées à 44°C pendant 48 heures.

#### **II.4.4 Streptocoques Fécaux (SF)**

Sont également des témoins d'une contamination d'origine fécale. Le milieu de culture utilisé est Slanetz et Bartley (Biokar Diagnostics, France) (voir la composition dans l'annexe 1). Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, toutes les colonies de coloration rouge, rose ou marron sont dénombrées.

#### **II.4.5 Staphylocoques**

Elles font partie des micro-organismes pathogènes. Les staphylocoques sont des bactéries qui tolèrent une forte concentration en NaCl. Ces bactéries sont recherchées sur le milieu de Chapman (Biokar Diagnostics, France) (voir la composition dans l'annexe 1). L'incubation des boîtes est effectuée à 37°C pendant 24 heures.

#### **II.4.6 Champignons**

Le milieu de culture utilisé est le milieu à l'extrait de Malt solide (Biokar Diagnostics, France) additionné du chloramphénicol (25 µg/mL) pour inhiber la croissance des bactéries (Milieu Extrait de Malt, voir la composition dans l'annexe 1). Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 3 à 7 jours. Après incubation, les colonies de champignons reconnues par leur aspect filamenteux sont dénombrées.

#### II.4.7 Levures

Les levures sont recherchées sur milieu YPG solide (Yeast extract-Peptone-Glucose) additionné d'ampicilline (50 µg/mL) et de chloramphénicol (25 µg/mL) afin d'inhiber toute croissance bactérienne (Milieu YPG, voir la composition dans l'annexe 1). Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 2 à 5 jours.

#### II.5 Profil phénolique des margines

L'analyse quantitative des polyphénols des margines a porté sur la détermination des polyphénols totaux en utilisant le réactif Folin Ciocalteu alors que l'analyse qualitative de ces composés a été réalisée par la technique de HPLC. Pour cela nous avons utilisé le dispositif expérimental suivant :

La chaîne HPLC est de marque Shimadzu (Figure 5), équipée d'une pompe quaternaire, détecteur UV, la phase mobile est constituée du mélange A : Méthanol/Acétonitrile 50/50 et mélange B : eau acidifiée par 0.2% acide ortho phosphorique



**Figure 5 :** Appareillage de HPLC

L'analyse chromatographique se fait en mode gradient pendant 53 min selon le tableau 3 :

**Tableau 3** : Gradient d'élution en HPLC

| Temps (min) | Debit (mL/min) | Phase mobile A (%)<br>MeOH/ACN | Phase mobile B (%) (eau acidifiée) |
|-------------|----------------|--------------------------------|------------------------------------|
| 0           | 1              | 4                              | 96                                 |
| 20          | 1              | 50                             | 50                                 |
| 25          | 1              | 60                             | 40                                 |
| 30          | 1              | 100                            | 0                                  |
| 40          | 1              | 100                            | 0                                  |
| 42          | 1              | 4                              | 96                                 |
| 53          | 1              | 4                              | 96                                 |

L'injecteur est de type manuel avec une boule d'injection de 20  $\mu$ L qui correspond au volume d'échantillon injecté dans l'appareil pour analyse.

L'enregistrement du signal et l'intégration se font à l'aide du logiciel **Labsolutions**.

Les composés phénoliques des margines sont déterminés par comparaison des temps de rétentions des pics obtenus pendant l'analyse des échantillons à ceux obtenus par les standards commerciaux analysés dans les mêmes conditions chromatographiques.

La colonne de séparation chromatographique est de type Wakosil C18 à phase inversée dont les dimensions sont 150mm\*4,6mm \*5 $\mu$ m.

Les solvants chimiques utilisés sont de grade HPLC, Sigma Aldrich ainsi que les standards des composés phénoliques étudiés.

### III. Résultats et discussion

#### III.1 Caractéristiques physicochimiques des margines

Les résultats de la caractérisation physicochimique des margines étudiées sont regroupés dans le tableau 4.

**Tableau 4** : Les valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des margines étudiées

| Paramètre                    | Margines système à presse | Margines système continu à trois phases |
|------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------|
| DCO (g/L)                    | 298                       | 125,06                                  |
| DBO <sub>5</sub> (g/L)       | 70                        | 42                                      |
| DCO/ DBO <sub>5</sub>        | 4,25                      | 2,97                                    |
| pH                           | 4,52                      | 4,66                                    |
| Conductivité (ms/cm)         | 25                        | 11,15                                   |
| Nitrites (mg/L)              | 17,87                     | 26,97                                   |
| Nitrates (mg/L)              | 343                       | 614,42                                  |
| Ammonium (mg/L)              | 15,48                     | 14,54                                   |
| Ortho phosphates (mg/L)      | 161                       | 52,63                                   |
| Chlorures (mg/L)             | 2723                      | 1616,66                                 |
| Polyphénols (g/L)            | 24                        | 10,06                                   |
| Matières grasses (g/L)       | 2,53                      | 0,21                                    |
| Matières en suspension (g/L) | 62,47                     | 12,73                                   |
| Matières sèches %            | 17,60                     | 12,05                                   |
| Matières volatiles %         | 14,60                     | 9,37                                    |
| Matières minérales %         | 3,00                      | 2,68                                    |
| Sucres (g/L)                 | 28,25                     | 19,12                                   |

### III.1.1 pH

Les valeurs de pH pour les deux types de margines étudiés sont de 4,5 et 4,66 indiquant un milieu acide pour les margines traditionnelles et modernes (Tableau 4).

Le caractère acide des margines peut être attribué aux présences d'acides organiques tels que l'acide fumarique, glycérique, lactique, malique et malonique ; et aussi les composés phénoliques et plus particulièrement les acides phénoliques qui libèrent les protons H<sup>+</sup> en solution.

### III.1.2 Demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène est une estimation de la charge organique contenue dans l'effluent étudié, d'après l'analyse de la DCO, les margines traditionnelles sont les plus chargées en matière organique avec 298 g O<sub>2</sub>/L suivies par les margines du système d'extraction moderne avec une moyenne de 125 g O<sub>2</sub>/L (Tableau 4). Ces valeurs de DCO dépassent ceux rapportés par Esmail et al., (2014), dans leur étude de comparaison des margines traditionnelles de trois régions du Maroc, Ouazzane, Fès Boulman et Béni Mellal, de même pour Achaq et al., (2008) qui rapportent une valeur de 76 g O<sub>2</sub>/L pour des margines modernes d'une unité d'extraction près de Marrakech.

La matière organique des margines est constituée des sucres, des protéines, résidus de matière grasse, des pectines et des acides organiques. Les différents composés organiques retrouvés dans les margines sont issues de l'olive, et donc on trouve que les différents constituants de l'olive sont retrouvés dans les margines à différentes concentrations, selon leur solubilité (hydrosolubles ou lipophiles)

un autre paramètre affectant la charge organique des margines est le type de procédé d'extraction d'huile utilisé, ces procédés se différencient entre eux par la quantité d'eau ajoutée dans le processus, ainsi le procédé d'extraction par presse utilise moins d'eau aboutissant à des margines plus concentrées en matière organique et en quantité réduite alors que le procédé d'extraction en continu, dit de trois phases ou moderne, utilise beaucoup plus d'eau lors de l'extraction. Cet ajout d'eau donne des volumes plus importants de margines mais moins concentrés en charge organique et en polyphénols (Bouknana et al., 2014).

La charge organique d'un effluent et particulièrement les margines affectera aussi toute démarche de traitement envisagée pour l'effluent en question. A titre d'exemple, dans le cas des margines, un traitement qui tolère une forte charge organique sera avantageux.

### III.1.3 Demande biochimique en oxygène (DBO<sub>5</sub>)

Les margines se caractérisent par une faible quantité de matière organique biodégradable 80 et 42 g d'O<sub>2</sub>/L qui est largement inférieure à la valeur de la DCO pour les deux types de margines analysées (Tableau 4).

Le rapport DCO/DBO<sub>5</sub> est de 4,25 et 3 pour les margines à presse et du système continu à trois phases indiquant un rapport DCO/DBO<sub>5</sub> > 2.5.

Cette différence de valeur entre la DCO et DBO<sub>5</sub> indique une faible aptitude à la biodégradabilité des margines (Rodier et al., 2009). Ceci est dû à la présence de substances récalcitrantes, en occurrence les polyphénols difficiles à dégrader par les microorganismes.

### III.1.4 Conductivité électrique

Elle constitue une estimation du contenu de l'effluent en éléments minéraux dissouts. Les valeurs de conductivité électrique exprimée en ms/cm se situent entre 11 et 25 pour les deux types de margines étudiés (Tableau 4). De nombreuses études rapportent un intervalle de conductivité électrique entre 8 et 50 ms/cm (Esmail et al., 2014 ; Achaq et al., 2008 ; Bouknana et al., 2014 ; Ouabou et al., 2014).

En plus, Cette salinité élevée pourrait être un handicap au traitement biologique de ces effluents et le rendement serait moins important.

La conductivité des margines varie selon la concentration des éléments minéraux présents et leur type en plus de la richesse naturelle des olives en sels minéraux. Récemment, on rapporte des valeurs moins importantes de conductivité électrique des margines, ceci est dû à l'arrêt ou recul de la pratique du salage des olives avant leur trituration.

### III.1.5 Nitrates, nitrites et ammonium

Les nitrates représentent les concentrations les plus élevées pour les deux types de margines étudiés, la plus haute concentration est enregistrée pour les margines du procédé à trois phases suivi par les margines du procédé de presse (Tableau 4).

La concentration des nitrates varie entre 0.36- 1.39 mg/L pour les margines du procédé à presse, entre 0.25- 1.34 mg/L pour le système continu **à trois phases**, et 0.06 -0.95 mg/L pour le procédé à deux phases selon Bouknana et al., (2014).

Les concentrations en nitrites et ammonium sont proches entre les margines de type moderne et par presse.

Une concentration en ammonium (NH<sup>4+</sup>) assez élevée pourrait indiquer que l'activité biologique des margines est très limitée (Hanafi et al., 2009).

La présence d'ammonium dans le milieu traduit habituellement une dégradation incomplète de la matière organique. L'ammonium provient de la réaction de minéraux contenant du fer avec des nitrates.

Les nitrates sont issus de la dégradation des nitrites par nitratisation et de l'azote ammoniacal.

Les composés azotés résultent de la dégradation des protéines et acides aminés contenus dans le milieu.

### III.1.6 Ortho phosphates

Le dosage des ortho phosphates a montré que les margines obtenues par presse sont les plus chargées en ces ions avec une valeur de 161 mg/L, suivie par les margines du système continu à trois phases avec 52 mg/L (Tableau 4).

La caractérisation des margines du procédé continu a révélé que la concentration en orthophosphates est de 30 mg/L selon Achaq et al., (2008). Bouknana et al., (2014) n'ont pas observé une différence significative des ions ortho phosphates selon le type de procédé d'extraction.

Les éléments phosphatés peuvent être présents sous différentes formes (solubles, en suspension). Le phosphore total renferme le phosphore organique et inorganique sous forme de poly phosphates et ortho phosphates.

La présence des éléments phosphatés pourrait être due à l'utilisation d'engrais pour la fertilisation du sol.

Le phosphore joue un rôle dans l'amélioration de la productivité des cultures, d'autre part il peut causer le phénomène d'eutrophisation des milieux aquatiques lorsqu'il est présent à fortes concentrations.

### III.1.7 Matière grasse

Les margines que nous avons étudiées renferment une quantité de matières grasses estimée à 2,5 g/L pour les margines du système à presse et 0.21 g/L pour les margines du système à trois phases (Tableau 4).

Les matières grasses des margines correspondent à la fraction d'huile non récupérée lors de la trituration d'olives, en effet même si la centrifugation assure une bonne séparation entre la fraction huileuse et les autres fractions (margines et grignons), une partie de l'huile passe dans les margines et grignons (Aggoun, 2016).

L'évaporation naturelle des margines peut être freinée par la formation d'une couche d'huile à la surface, en plus des odeurs fortes émanant de cette couche d'huile sous l'effet d'oxydation.

La présence des acides gras à longues chaînes représente un facteur limitant pour les traitements biologiques à cause de leur effet antimicrobien (Siegert et al., 2005).

Certains auteurs ont étudié la valorisation de cette fraction lipidique considérée comme déchet pour l'extraction de biomolécules à intérêt, dans ce sens Elkacmi et al., (2016) présentent les résultats d'extraction d'acide oléique à partir de la matière grasse résiduelle des margines pour être utilisée comme ingrédient de fabrication de savon.

### **III.1.8 Les sucres**

Le taux des sucres dans les margines étudiées a atteint 28.25 g/L pour les margines de presse, contre 19.12 g/L pour les margines du système continu à trois phases (Tableau 4).

Ces valeurs dépassent celles rapportées par El-Abbassi et al., (2013), (Bouknana et al., 2014), (Achaq et al., 2008), mais restent comparables avec ceux de Ouabou et al., (2014) pour les margines de presse et de trois phases.

Les sucres représentent une partie importante de la matière organique des margines, et proviennent essentiellement des pectines et de la cellulose du fruit d'olive.

Les sucres retrouvés dans les margines d'olives sont très variés, on y trouve, entre autres, le raffinose, sucrose, arabinose, xylose, glucose, mannose, et fructose (Aggoun, 2016).

### **III .1.9 Matières en suspension**

Les margines étudiées dans notre cas sont caractérisées par une forte teneur de solides en suspension : 62 et 12 g/L (Tableau 4). Les matières en suspension sont présentes car les échantillons ont été prélevés directement pendant la trituration, et non du bassin de stockage où les solides décantent au fond.

### **III.1.10 Les polyphénols**

Le dosage des polyphénols totaux exprimés en g équivalent acide gallique/L montre que les margines du système presse sont les plus chargées avec une valeur de 24 g/l, celle des margines du système continu à trois phases est de 10 g/L (Tableau 4). Cette dernière valeur est comparable à celles obtenus par (Yaakoubi et al., 2010 ; Bensassi et al., 2006 ; Leouifoudi et al., 2014).

La composition phénolique des margines dépend de plusieurs facteurs tels que : Le cultivar, la maturité de fruit, les conditions climatiques, mais aussi du procédé de trituration des olives (Esmail et al., 2013).

Selon Leouifoudi et al., (2014) : Le contenu phénolique des margines peut varier aussi selon l'emplacement géographique de l'olivier, ainsi, des margines obtenus à partir des zones montagneuses sont plus riches en polyphénols que celles des plaines.

En dépit de leurs activités biologiques intéressantes, les polyphénols sont connus pour leur phytotoxicité et leur effet antimicrobien qui peut limiter l'efficacité de tout traitement biologique (Hassani et al., 2010). Il convient alors de réduire leur concentration dans les margines avant tout traitement biologique (Lakhtar et al., 2010).

Le dosage des polyphénols totaux permet de donner une estimation sur le contenu phénolique dans son ensemble ; pour déterminer la nature des polyphénols présents dans les margines et donc réaliser une étude qualitative de ces composés, d'autres méthodes plus poussées sont utilisées, c'est le cas de la technique HPLC qui sera décrite en détail dans la partie suivante de l'étude.

### **III.2 Composition métallique**

Les margines ont été analysées pour quantifier leur contenu en éléments métalliques, le résultat de cette analyse métallique est donné dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Caractérisation métallique des margines étudiées

| <b>Elément (mg/L)</b> | <b>Margines système à presse</b> | <b>Margines système continu à 3 phases</b> |
|-----------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|
| <b>Ca (mg/L)</b>      | 933,5                            | 586                                        |
| <b>Cd (mg/L)</b>      | < 0,01                           | < 0,01                                     |
| <b>Co (mg/L)</b>      | 17,97                            | 7,21                                       |
| <b>Cu (mg/L)</b>      | 13                               | 5,2                                        |
| <b>Fe (mg/L)</b>      | 58,6                             | 14                                         |
| <b>K (mg/L)</b>       | 7422,87                          | 923                                        |
| <b>Na (mg/L)</b>      | 1012,25                          | 760                                        |
| <b>Ni (mg/L)</b>      | < 0,01                           | < 0,01                                     |
| <b>Pb (mg/L)</b>      | 39,2                             | 15,34                                      |
| <b>Zn (mg/L)</b>      | 13,9                             | 4,22                                       |

Les principaux éléments métalliques des margines sont le potassium, le sodium et le calcium, avec une prévalence pour les margines du système à presse. Leur concentration atteint le seuil de 1 g/L pour les trois éléments cités.

L'origine des éléments métalliques des margines peut être attribuée à la composition du fruit d'olive, aux traitements phytosanitaires et fertilisants appliqués à l'arbre et aussi à la source d'eau utilisée pendant le procès de trituration. Ces eaux peuvent être des eaux potables ou de puits.

Les métaux sont importants tant du point de vue nutritionnel que toxicologique. Certains métaux, en particulier le fer, le cuivre et le zinc, sont essentiels au métabolisme des plantes. Il convient de souligner que les margines possèdent un potentiel élevé d'être utilisé comme engrais si leur pouvoir polluant est contrôlé (Souilem et al., 2017).

### **III.3 Analyses microbiologiques des margines**

Les concentrations moyennes en germes totaux, coliformes totaux, germes indicateur de la contamination fécale (Coliformes fécaux et streptocoques fécaux), staphylocoques, levures et champignons dans les margines sont représentées dans le tableau 6 :

**Tableau 6 :** Les concentrations moyennes des microorganismes contenus dans les margines

| <b>Germes (UFC/mL)</b>      | <b>Margines à presse</b> | <b>Margines système continu à trois phases</b> |
|-----------------------------|--------------------------|------------------------------------------------|
| <b>FMAT</b>                 | $10^6$                   | $5.10^3$                                       |
| <b>Levures</b>              | $311.10^3$               | $169.10^3$                                     |
| <b>Champignons</b>          | $120.10^3$               | $88.10^3$                                      |
| <b>Staphylococcus</b>       | 0                        | 0                                              |
| <b>Streptocoques fécaux</b> | 0                        | 0                                              |
| <b>Coliformes totaux</b>    | 0                        | 0                                              |
| <b>Coliformes fécaux</b>    | 0                        | 0                                              |

La charge microbienne totale est de l'ordre de  $10^6$  et  $5.10^3$  UFC/mL pour les margines à presse et celles du système continu à trois phases respectivement. Ces valeurs restent comparables avec celles de Bensassi et al., (2006).

Cette charge microbienne dépend de plusieurs facteurs dont la composition physicochimique des margines, le procédé d'extraction utilisé, les conditions ambiantes de l'unité de trituration.

La lecture de ces résultats montre aussi une faible diversité microbienne avec une absence totale de certains micro-organismes spécifiques. Cette absence microbienne surtout des germes indicateurs de contamination fécale pourrait s'expliquer par la toxicité des composés phénoliques qui rend impossible leur croissance. Le pH acide des margines exerce aussi un effet inhibiteur envers les bactéries sensibles au pH acide (Esmail et al., 2014).

Par ailleurs, les résultats indiquent que les levures et champignons peuvent croître dans les margines, avec une prévalence des levures. Le même constat a été rapporté par Benssasi et al., (2006). La capacité des levures et champignons à tolérer les margines peut être expliquée par leur caractère génétique (Esmail et al., 2014).

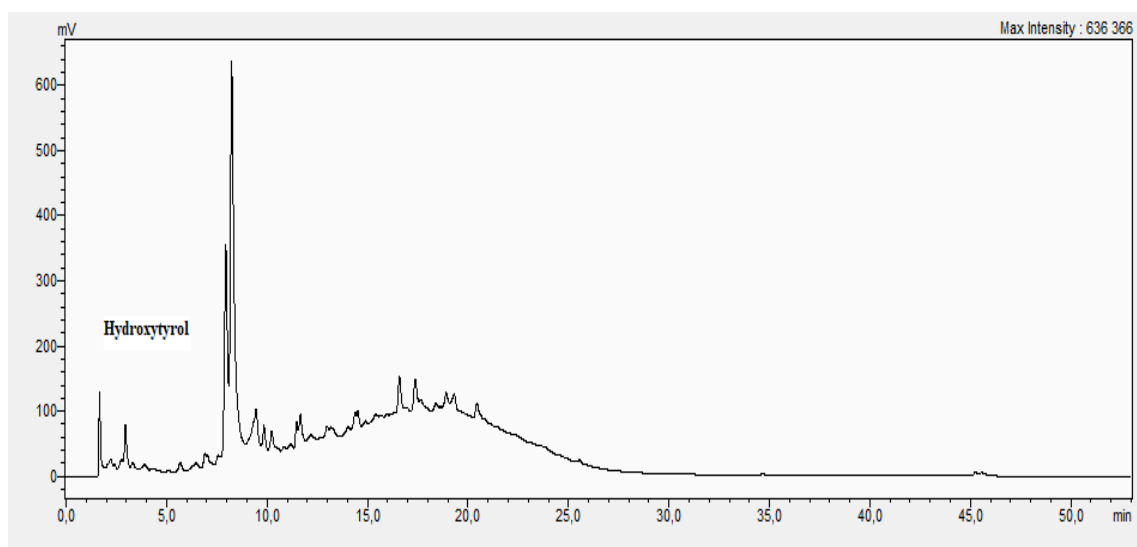
Cette caractéristique a été très utile dans la conception des procédés de traitement des margines par les levures et champignons (Aissam et al., 2007).

D'autre part, les margines peuvent être utilisées comme milieu de croissance pour les levures productrices d'éthanol (Dourou et al., 2016).

### **III.4 Profil phénolique des margines**

L'analyse des polyphénols a porté sur la quantification des polyphénols totaux par la méthode de Folin Ciocalteu, et pour mieux comprendre la composition de ceux-ci, nous avons mené une analyse qualitative des polyphénols des margines par la technique HPLC, permettant d'identifier les monomères phénoliques de ces effluents.

L'analyse qualitative des margines (Figure 6) montre que ceux-ci sont riches en composés phénoliques de différents types, avec une variabilité entre les deux types de margines.



**Figure 6** : Chromatogramme HPLC des margines du système continu à trois phases à 280 nm

L'hydroxytyrosol demeure le composé majoritaire commun entre les deux échantillons, avec une concentration allant jusqu'à 1446 mg/L pour les margines tri phasiques et 1194 mg/L pour les margines de presse (Tableau 7).

**Tableau 7** : Composition phénolique des margines étudiées

| Composé (mg/L)               | Margines système à Presse | Margines système continu à trois phases |
|------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------|
| <b>Hydroxytyrosol</b>        | 1194                      | 1446                                    |
| <b>Tyrosol</b>               | 281                       | 597                                     |
| <b>Acide Syringique</b>      | 1                         | nd                                      |
| <b>Acide Protocatéchique</b> | 11,26                     | nd                                      |
| <b>Pyrogallol</b>            | 52,15                     | nd                                      |
| <b>Acide Coumarique</b>      | 0,97                      | 3,41                                    |
| <b>Acide Gallique</b>        | 14,45                     | nd                                      |
| <b>Oleuropéine</b>           | 15,72                     | 15,69                                   |
| <b>Acide Tannique</b>        | 90                        | 22,16                                   |
| <b>Lutéoline</b>             | 4,22                      | 0,3                                     |
| <b>Catéchol</b>              | 23,1                      | 65,71                                   |
| <b>Acide Férulique</b>       | 2                         | nd                                      |
| <b>Epicatechine Gallate</b>  | 34,5                      | nd                                      |
| <b>Acide Cafféique</b>       | 12                        | 8                                       |
| <b>Apigénin</b>              | 5,46                      | 5,22                                    |

Ces résultats rejoignent ceux de Leouifoudi et al., (2014) dans leur étude de comparaison du profil phénolique des margines marocaines issues de zones montagneuses et de zones plaines de la région Tadla Azilal. Pour les deux types de margines analysées, l'hydroxytyrosol a été le composé majoritaire représentant jusqu'à 15 % des polyphénols totaux.

Les deux échantillons de margines présentent aussi une richesse en différents types de polyphénols, incluant les alcools phénoliques (Hydrotyrosol et tyrosol), les acides phénoliques (acide vanillique, acide caféique, acide coumarique, acide sinapique, acide syringique, acide dihydroxymandélique, acide triméthoxybenzoïque) et les secoïroïdes principalement les dérivés de l'oleuropeine et de ligstroside.

Belaqziz et al., (2017) et al ont comparé la composition des margines collectées de la région Marrakech, en polyphénols selon le procédé d'extraction utilisé ; les margines du système continu à trois phases sont plus riches en polyphénols que les margines du système à presse, ainsi l'acide férulique, la lutéoline et leurs dérivés n'ont été détectés que dans les margines du système continu.

Une autre étude de comparaison du profil phénolique des margines en Italie selon la variété de l'olive a été conduite par Di Mauro et al., (2017). Les margines issues de la variété Cerasuola sont plus riches en qualité et quantité des composés détectés que la variété Nocellara. Ainsi on note l'absence de l'oleuropéine, pyrocatechol et verbascoside chez la variété Nocellara.

D'un point de vue quantitatif, les concentrations de l'hydroxytyrosol, tyrosol et oleuropéine sont plus importantes chez la variété Nocellara : 821,86 ; 105,93 ; 14,32 mg/L respectivement contre 267,17 ; 37,49 pour la variété Cerasuola.

Aggoun (2016) ont étudié la variabilité de la composition en polyphénols entre procédé d'extraction (presse et tri-phasique) et entre variétés d'olive (Azerraj, Sigoise, Chemlal) en Algérie. La variabilité en termes de polyphénols était plus significative entre les variétés qu'entre les procédés d'extraction.

## IV. Conclusion

L'étude des margines issus de deux systèmes d'extraction a révélé qu'elles sont caractérisées par une forte charge organique évaluée en termes de DCO de 298 et 125 g/L pour les margines à presse et margines du système continu à trois phases respectivement.

Cette fraction organique inclut également une teneur élevée en polyphénols caractéristiques de l'olivier. Le profil phénolique des margines montre qu'ils renferment plusieurs polyphénols allant des acides et alcools phénoliques aux polymères phénoliques. Cette caractéristique présente à la fois une limite pour le traitement biologique des margines mais représente une niche de valorisation peu étudiée.

La caractérisation métallique des margines a montré une composition riche en éléments métalliques principalement le potassium, sodium et calcium.

L'étude microbiologique des margines révèle que seuls les levures et champignons peuvent y croître, par contre la charge bactérienne est faible, voire nulle, à cause des substances antibactériennes contenues dans les margines, notamment les polyphénols.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que les margines peuvent engendrer une pollution pour le milieu récepteur s'ils ne sont pas traitées.

Par contre, et loin de considérer les margines comme un déchet avec risque, ces effluents représentent une bio ressource valorisable par différentes voies et pour des applications diverses, et ce dans une perspective de valorisation plutôt que de remédiation ou traitement.

Ces valorisations feront l'objet des chapitres suivants, à travers la valorisation des margines par production de biogaz par la technologie de digestion anaérobie.

## **Chapitre 3 :**

### ***Prétraitement électrochimique des margines***

---

### I. Introduction

La digestion anaérobie des margines est affectée par la présence des composés phénoliques à effet antimicrobien, s'ajoute à cela le pH acide qui peut perturber sévèrement les réactions métaboliques du processus de digestion anaérobie.

Ce constat montre la nécessité de conduire un prétraitement des margines afin d'améliorer les conditions physicochimiques de la digestion anaérobie.

L'électrocoagulation des margines a fait l'objet de plusieurs études comme méthode de traitement de ces effluents, ceci est dû à son efficacité et facilité de mise en œuvre.

Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à l'étude du procédé électrocoagulation comme prétraitement des margines afin de minimiser l'effet toxique des polyphénols sur les méthanogènes. Pour atteindre cet objectif, nous avons réalisé une étude des facteurs qui influencent ce traitement par la méthodologie des plans d'expériences et ensuite fixer les conditions optimales permettant d'avoir des taux d'abattement de la DCO et des composés phénoliques satisfaisants.

### II. Matériel et méthodes

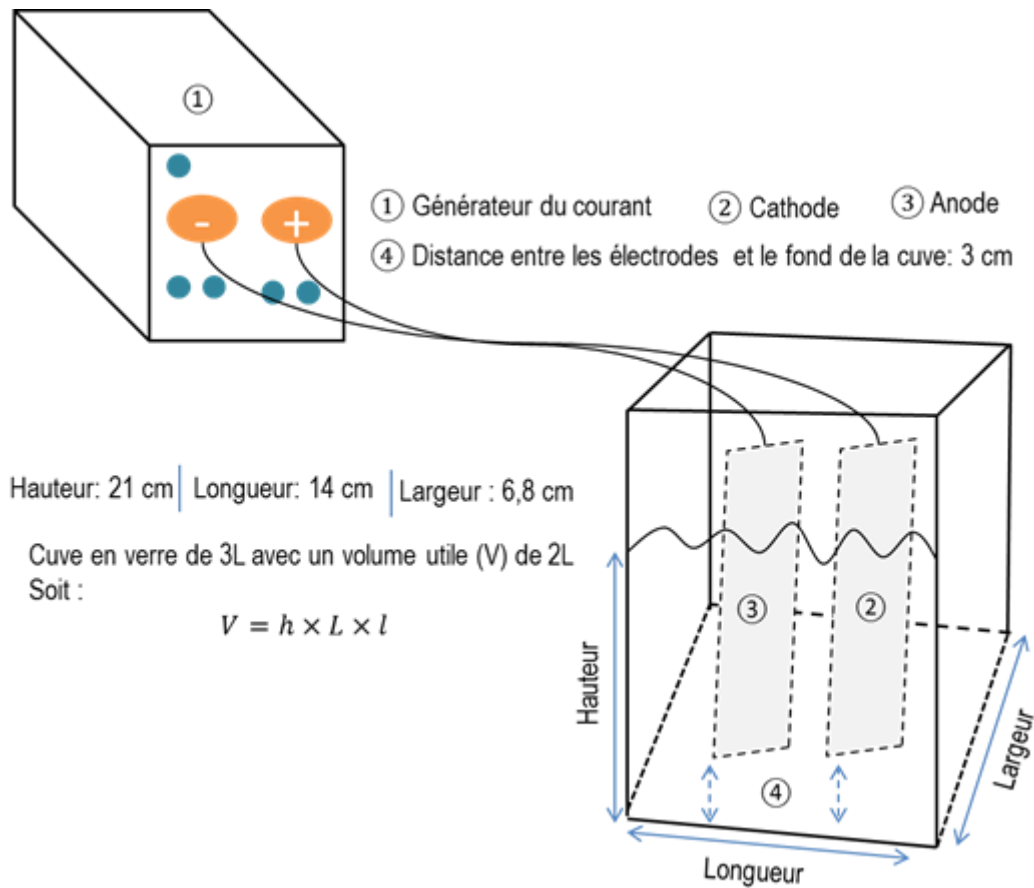
Les margines utilisés dans cette étude ont été collectées auprès d'une unité de trituration d'huile d'olive utilisant le procédé continu à trois phases.

La caractérisation physicochimique : DCO, pH, polyphénols totaux, ortho phosphates, MS MV,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , NTK a été réalisée selon les procédures décrites dans le chapitre précédant.

#### II.1 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental d'électrocoagulation est composé d'une cellule en verre résistant à la température (de type DURAN) de capacité de 3 litres, Le verre constitue un matériau inerte qui ne peut en aucun cas réagir avec l'électrolyte ou les produits d'électrolyse. De plus, le verre résiste à l'élévation de la température induite par l'effet de Joule.

Dans la cellule sont immergés deux électrodes en fer sous forme de plaques planes (cm largeur et cm longueur) et fixés en parallèle avec un espace inter électrodes de 2 cm, selon le schéma [sur la figure 7](#) :



**Figure 7 :** Schéma de la cuve d'électrolyse bipolaire pour le traitement des margines à l'échelle du laboratoire.

Les électrodes planes sont faciles à monter, et à nettoyer à la fin de l'électrocoagulation. Le choix d'un espace inter électrodes réduit permet de réduire la chute ohmique par l'effet de Joule.

Les plaques sont reliées à un générateur de courant offrant différentes intensités de courants et de voltages (24 V/5 A ; 12/5 et 12/10).

L'effluent est introduit en mode batch, l'effluent est introduit avant traitement, et après électrocoagulation, l'effluent est évacué et un nouveau test commence.

L'homogénéisation de l'effluent est assurée par une agitation magnétique, la cellule électrochimique est placée sur une plaque agitatrice et la vitesse d'agitation est ajustée à 100 rpm.

Les échantillons pour analyse sont prélevés avant, pendant et après traitement, ils sont centrifugés pour éliminer les matières en suspension.

## **II.2 Etude des facteurs influençant l'électrocoagulation**

Pour bien étudier le procédé d'électrocoagulation appliqué aux margines, il faut déterminer les facteurs qui influencent ce traitement. Rappelons que le procédé d'électrocoagulation est contrôlé par plusieurs facteurs notamment l'intensité du courant, le temps d'électrolyse, le pH de l'effluent à traiter, et sa charge organique.

Pour faire, nous avons opté pour un plan de criblage à l'aide du logiciel Nemrodw, et ce afin de réduire le nombre d'essais à réaliser et aussi obtenir le maximum d'informations possibles sur l'influence des facteurs et quantifier l'effet de leur interaction.

## **II.3 Effet de l'électrocoagulation sur les margines**

### **II.3.1 Composition physicochimique**

La composition physicochimique des margines a été analysée avant et après traitement. Cette caractérisation a porté sur les paramètres physicochimiques, selon les procédures décrites dans le chapitre précédent.

### **II.3.2 Profil phénolique**

L'analyse qualitative des polyphénols des margines a été réalisée par la technique HPLC selon la procédure décrite dans le chapitre précédant. La comparaison du profil phénolique a été faite entre les margines brutes et celles traitées par électrocoagulation.

### **II.3.3 Activité antibactérienne**

Nous avons mené une étude de l'activité antibactérienne des margines avant et après traitement selon le protocole décrit ci-dessous :

#### **Préparation des margines**

Les margines brutes et traitées ont été concentrées par évaporation dans une étuve à 40 °C, pour se débarrasser de l'eau ; ensuite elles ont été diluées dans le DMSO (Diméthylsulfoxyde) à différentes concentrations de **50 , 100 et 200 mg/mL**.

#### **Les souches testées**

Six souches ont été testées pour leur réponse vis-à-vis des margines brutes et traitées (Tableau 8), elles proviennent de la collection du laboratoire de biotechnologie à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz. Les souches ont été repiquées sur milieu LB et incubées à 37 °C pendant 24 h.

**Tableau 8 :** Souches de bactéries testées vis-à-vis des margines brutes et traitées

| Groupe microbien       | Nom de la souche              |
|------------------------|-------------------------------|
| Gram +                 | <i>Bacillus cereus</i>        |
| Gram +                 | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| Gram – Entérobactéries | <i>Escherichia coli</i>       |
| Gram +                 | <i>Bacillus subtilis</i>      |
| Gram +                 | <i>Listeria monocytogenes</i> |

L'activité antimicrobienne a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion sur milieu gélosé de LB. Ainsi, le milieu de culture LB est uniformément ensemencé à l'aide d'un écouvillon stérile par une suspension saline (NaCl 0,9%) de la souche à étudier, préalablement ajustée à l'aide de l'étalon 0,5 McFarland à une turbidité environ de  $10^8$  bactéries/ ml. Des disques en papier absorbant de Whattman de 6 mm de diamètre sont stérilisés à l'autoclave (121°C pendant 20 minutes). Ils sont imbibés par les margines à tester à raison de 10 µL. Les disques ainsi préparés sont déposés sur les milieux de LB. Après 24 h d'incubation à 37°C, le diamètre des auréoles d'inhibition est mesuré. Un témoin négatif contenant le DMSO seul a été préparé en parallèle, alors que le témoin positif est le chloramphénicol.

### II.3.4 Test de germination

Nous avons testé la toxicité des margines brutes et traitées vis-à-vis des graines de maïs (*Zea mays*), pour chaque type de margines, deux concentrations ont été utilisées : 50 et 100 %. Les graines ont été réparties à raison de 20 graines par boîtes. Au bout de 3 jours, les graines germées ont été comptées. Une graine est considérée germée quand l'embryon arrive à perforer sa paroi. Un témoin avec l'eau distillée est préparé selon les mêmes conditions de (Hassani, 2009) :

- ✓ Tremper les graines de maïs dans une solution de NaOH à 1% pendant 5 à 10 min.
- ✓ Les graines désinfectées sont trempées dans la solution à tester
- ✓ Les boîtes sont incubées à 20 °C
- ✓ Les graines germées sont comptées pour déterminer le taux de germination.

### II.3.5 Les boues de traitement

Après traitement des margines par électrocoagulation, nous procédons à la séparation du liquide et de la boue générée par électrolyse.

La boue est caractérisée par mesure de pH, conductivité, azote Kjeldahl ainsi que certains éléments métalliques et minéraux, selon les procédures décrites dans le chapitre précédant.

### II.3.6 Production de biogaz

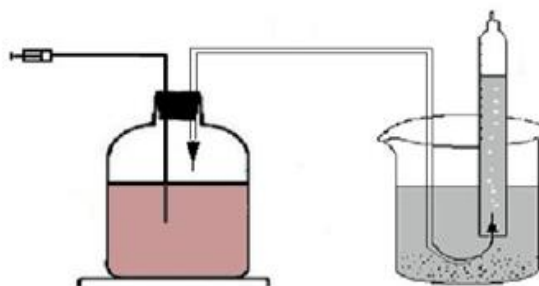
Nous avons mené une étude comparative du potentiel biogaz des margines avec et sans prétraitement, et ce afin d'étudier l'effet de l'électrocoagulation sur la digestion anaérobie des margines. Un échantillon contenant les margines diluées à 50 % est aussi ajouté à titre de comparaison ; la dilution est considérée comme un prétraitement des margines.

La digestion anaérobie a été réalisée dans des flacons en verre de capacité 500 ml, inoculées avec une boue anaérobie. Ensuite ils sont alimentés par trois types de margines : brutes, traitées par électrocoagulation et celles diluées à 50% par l'eau distillée.

On effectue un barbotage des flacons par l'azote pour éliminer l'oxygène et assurer l'anaérobiose, puis les réacteurs sont incubés à 37°C (régime mésophile).

La mesure du biogaz produit a été effectuée selon la méthode du liquide déplacé (Figure 8) et la digestion anaérobie continue jusqu'à arrêt de production de biogaz (25 jours environs).

Le pH a été mesuré régulièrement pour un bon suivi de la digestion anaérobie.



**Figure 8** : Schéma du dispositif expérimental pour la mesure du biogaz produit

## III Résultats et discussion

### III.1 Criblage et optimisation des facteurs influençant l'électrocoagulation

#### III.1.1 Description des facteurs

Les facteurs étudiés sont la surface d'électrodes, le temps, le taux de dilution des margines, et la densité du courant utilisée.

Pour chaque facteur on détermine un intervalle de variation exprimé par les niveaux, selon lesquels, le facteur est réglé lors du test.

Les facteurs étudiés ainsi que leurs niveaux sont représentés dans le tableau 9 :

**Tableau 9** : Les facteurs de l'électrocoagulation pour criblage

|          | U 1                | U 2   | U 3      | U 4        |
|----------|--------------------|-------|----------|------------|
| Nom      | surface électrodes | temps | dilution | couple V/A |
| Unité    | A/cm2              | hr    |          | V/A        |
| Niveau 1 | 30                 | 2     | 0        | 6/10       |
| Niveau 2 | 40                 | 4     | 1/2      | 12/5       |
| Niveau 3 |                    |       | 1/4      | 24/5       |

L'efficacité du traitement est déterminée par le taux d'abattement de la DCO et des composés phénoliques, qui correspondent aux deux réponses choisies.

Pour quatre facteurs à 2 et 3 niveaux, on obtient un plan d'expérimentation de 18 expériences à réaliser et les différents réglages des facteurs (Tableau 10).

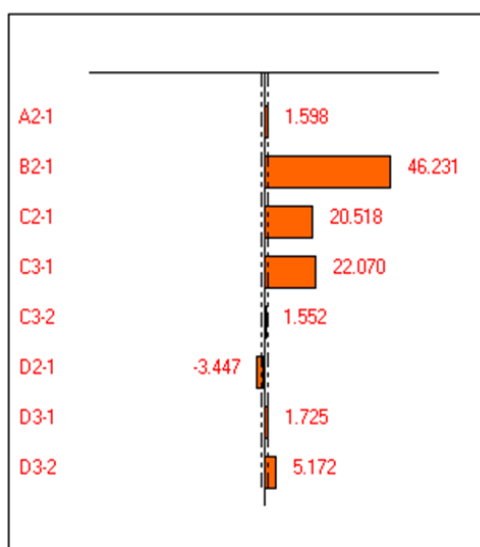
**Tableau 10** : Plan d'expérimentation pour le criblage des facteurs

| N° d'expérience | Surface électrode (cm <sup>2</sup> ) | Temps (h) | Dilution | V /A |
|-----------------|--------------------------------------|-----------|----------|------|
| 1               | 30                                   | 2         | 0        | 6/10 |
| 2               | 30                                   | 2         | 0        | 6/10 |
| 3               | 30                                   | 4         | 1/2      | 12/5 |
| 4               | 30                                   | 4         | 1/2      | 12/5 |
| 5               | 30                                   | 2         | 1/4      | 24/5 |
| 6               | 30                                   | 2         | 1/4      | 24/5 |
| 7               | 40                                   | 2         | 1/2      | 24/5 |
| 8               | 40                                   | 2         | 1/2      | 24/5 |
| 9               | 40                                   | 4         | 1/4      | 6/10 |
| 10              | 40                                   | 4         | 1/4      | 6/10 |
| 11              | 40                                   | 2         | 0        | 12/5 |
| 12              | 40                                   | 2         | 0        | 12/5 |
| 13              | 30                                   | 2         | 1/4      | 12/5 |
| 14              | 30                                   | 2         | 1/4      | 12/5 |
| 15              | 30                                   | 4         | 0        | 24/5 |
| 16              | 30                                   | 4         | 0        | 24/5 |
| 17              | 30                                   | 2         | 1/2      | 6/10 |
| 18              | 30                                   | 2         | 1/2      | 6/10 |

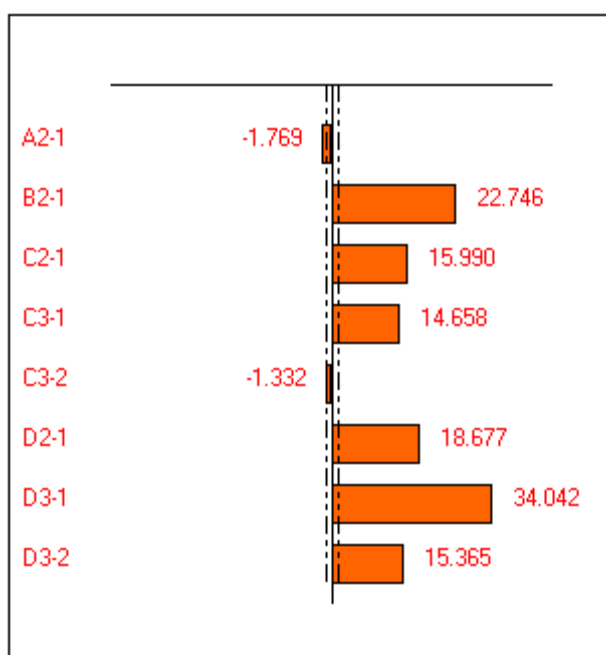
### III.1.2 Etude graphique des effets de facteurs

#### a) Diagrammes des facteurs

Afin de bien visualiser l'effet de chaque facteur sur la réponse étudiée (réponse 1 sur la figure 9 et réponse 2 pour la figure 10), nous utilisons la représentation graphique selon les diagrammes ci-dessus :



**Figure 9 :** Représentation graphique de la réponse 1 (abattement de la DCO)



**Figure 10 :** Représentation graphique de la réponse 2 (abattement des polyphénols)

Les figures 9 et 10 représentent les effets des quatre facteurs étudiés : la surface d'électrodes, le temps, le taux de dilution des margines et la densité du courant sur les deux réponses choisies. Ainsi, on peut remarquer que tous les facteurs sauf la surface des électrodes ont des

effets positifs sur l'abattement de la DCO et les CP , c'est-à-dire que l'elevation de ces trois facteurs augmente la valeur des deux réponses .

Toutefois , il faut noter qu'il existe des différences des effets des facteurs entre les deux réponses, par exemple l'effet du facteur B (temps ) est plus significatif pour la DCO que les CP 44,23 % contre 22,74 % .

Le facteur dilution présente des effets proches pour les deux réponses avec 20,51 % et 16 % .

L'effet du facteur densité du courant est plus important pour l'abattement des composés phénoliques (jusqu'à 34 %) alors qu'il est moins significatif voir négligeable pour la DCO .

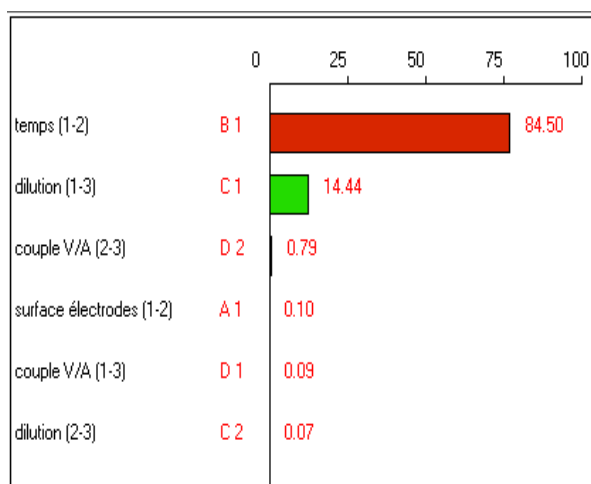
Nous pouvons alors ,d'après la représentation graphique des facteurs influençant chaque réponse, déterminer les facteurs les plus significatifs pour chaque réponse étudiée .

Ainsi, on trouve que l'abattement de la DCO est influencé plus par les facteurs temps et dilution des margines ; alors que la réponse "abattement des CP" est déterminée par l'effet des facteurs couple V/A , suivi par le facteur temps et par le facteur dilution.

## b) Diagrammes de Pareto

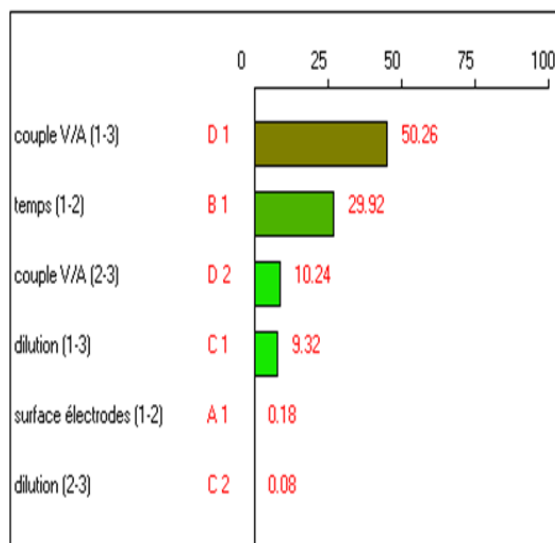
La représentation selon le diagramme de Pareto permet la quantification de l'effet des facteurs étudiés sur la réponse. Pour la réponse abattement de la DCO , le diagramme de Pareto est représenté dans la **figure 11** .

Nous remarquons que les facteurs : temps de traitement et dilution des margines sont les plus influents.



**Figure 11** : Diagramme de Pareto de la réponse 1(abattement de la DCO)

La réponse : abattement des polyphénols est plutôt influencée par les facteurs : couple V/A et temps de traitement, comme indiqué sur le diagramme Pareto de cette réponse dans la figure 12.



**Figure 12** : Diagramme de Pareto de la réponse 2 (abattement des polyphénols)

### III.1.3 Validation du modèle

#### Analyse de l'ANOVA

Afin de vérifier si le modèle postulé pour la modélisation est bien valide, il faut conduire une validation statistique par l'outil de l'ANOVA.

Les résultats de l'ANOVA pour la réponse 1 (abattement de la DCO) sont donnés dans le tableau 11 :

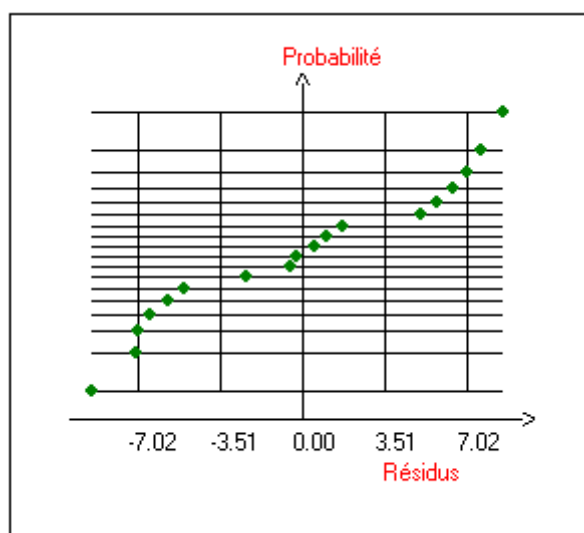
**Tableau 11** : Analyse ANOVA de la réponse 1 (abattement de la DCO)

| Source de vari | Somme des carrés | Degrés de liberté | Carré moyen   | Rapport   | Signif     |
|----------------|------------------|-------------------|---------------|-----------|------------|
| Régression     | 1.04635E+0004    | 6                 | 1.74393E+0003 | 2659.5085 | < 0.01 *** |
| Résidus        | 5.70667E+0002    | 11                | 5.18788E+0001 |           |            |

Nous remarquons que la variance due à la régression est supérieure à la variation résiduelle ( $p < 0,05$ ), cela signifie que la variation expliquée par le modèle est supérieure à celle non expliquée.

Le coefficient de détermination est supérieur à 0,9 ce qui indique un bon ajustement entre les valeurs expérimentales et celles prédites par le modèle.

Ces résultats sont confirmés par la représentation graphique selon la droite d'Henry (figure 13). La droite est linéaire entre les valeurs observées et les valeurs prédites.



**Figure 13 :** Droite d'Henry (réponse 1 : abattement de la DCO)

De même pour la réponse 2 (Abattement des CP), les éléments de la validation du modèle sont représentés dans le tableau 12 :

**Tableau 12 :** Analyse ANOVA de la réponse 2 (abattement des CP)

| Source de vari | Somme des carrés | Degrés de liberté | Carré moyen   | Rapport   | Signif     |
|----------------|------------------|-------------------|---------------|-----------|------------|
| Régression     | 6.51412E+0003    | 6                 | 1.08569E+0003 | 1405.1881 | < 0.01 *** |
| Résidus        | 1.52856E+0003    | 11                | 1.38960E+0002 |           |            |

### III.1.4 Optimisation des facteurs de l'électrocoagulation

Après avoir déterminé les facteurs les plus significatifs de l'électrocoagulation des margines, deux paramètres ont été retenus : le temps du traitement et le couple V/A.

Pour l'étude de l'optimisation de ces deux facteurs, nous avons utilisé la méthode de surface de réponse, pour cela le modèle expérimental choisi est un plan central composite à deux facteurs avec 3 points aux centres comme indiqué dans le tableau 13.

**Tableau 13 :** Modèle expérimental de l'optimisation des facteurs

| Objectif de l'étude    | Etude dans un domaine |
|------------------------|-----------------------|
| Nombre de variables    | 2                     |
| Nombre d'expériences   | 11                    |
| Nombre de coefficients | 6                     |
| Nombre de réponses     | 2                     |

Le modèle expérimental peut être représenté par l'équation suivante

$$Y = b_0 + (b_1 * X_1) + (b_2 * X_2) + (b_{1-1} * (X_1 * X_1)) + b_{2-2} * (X_2 * X_2) + b_{1-2} * (X_1 * X_2)$$

Avec

$b_i \neq 0$  est le coefficient du paramètre

$b_0$  représente la moyenne des coefficients

$X_i.X_j$  est l'interaction entre les paramètres  $X_i$  and  $X_j$

$Y$  est la réponse étudiée (abattement de la DCO ou des composés phénoliques)

Chaque facteur est réglé, pendant le test, selon un niveau donné. Les différents niveaux des facteurs sont donnés dans le tableau 14.

**Tableau 14 :** Niveaux de facteurs pour optimisation

| Notation | Facteur    | Niveau (-1) | Niveau (0) | Niveau (+1) |
|----------|------------|-------------|------------|-------------|
| X1       | Temps (hr) | 2           | 3          | 4           |
| X2       | Couple V/A | 6/10        | 12/5       | 24/5        |

La matrice d'expériences à réaliser est représentée dans le tableau 15 :

**Tableau 15** : Matrice d'expériences pour optimisation

| N°Exp | temps | couple V/A | Abattement DCO | Abattement PF |
|-------|-------|------------|----------------|---------------|
|       | hr    | V/A        | %              | %             |
| 1     | 2.00  | 0.00       | 22.22          | 40.57         |
| 2     | 4.00  | 0.00       | 40.45          | 69.56         |
| 3     | 2.00  | 2.00       | 43.56          | 50.45         |
| 4     | 4.00  | 2.00       | 77.73          | 66.69         |
| 5     | 2.00  | 1.00       | 14.00          | 37.22         |
| 6     | 4.00  | 1.00       | 25.34          | 56.06         |
| 7     | 3.00  | 0.00       | 32.00          | 44.92         |
| 8     | 3.00  | 2.00       | 52.81          | 59.00         |
| 9     | 3.00  | 1.00       | 19.00          | 40.48         |
| 10    | 3.00  | 1.00       | 18.79          | 38.92         |
| 11    | 3.00  | 1.00       | 18.83          | 39.24         |

#### a) Optimisation de la réponse 1 (abattement de DCO)

Après avoir obtenu les réponses expérimentales pour les deux facteurs étudiés, on passe au calcul des coefficients de l'équation du modèle.

Le tableau 16 montre les estimations statistiques des coefficients de l'équation pour la réponse 1 (abattement de la DCO)

**Tableau 16** : Estimations statistiques des coefficients de la réponse 1

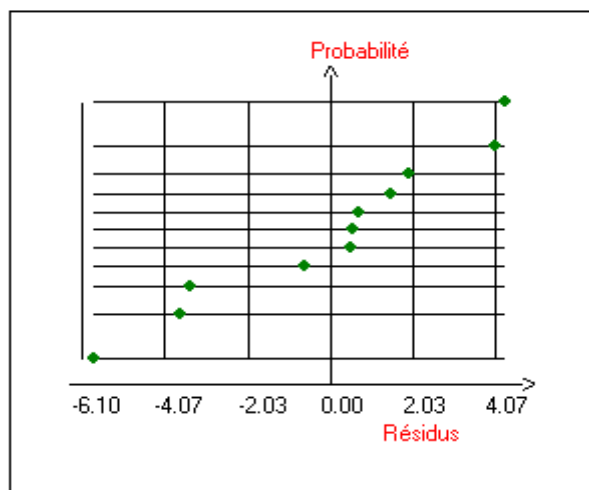
| Nom | Coefficient | F.Inflation | Ecart-Type | t.exp. | Signif. %  |
|-----|-------------|-------------|------------|--------|------------|
| b0  | 18.286      |             | 0.057      | 319.69 | < 0.01 *** |
| b1  | 10.623      | 1.00        | 0.046      | 233.37 | < 0.01 *** |
| b2  | 13.238      | 1.00        | 0.046      | 290.81 | < 0.01 *** |
| b11 | 2.264       | 1.08        | 0.070      | 32.32  | 0.0615 *** |
| b22 | 24.999      | 1.08        | 0.070      | 356.84 | < 0.01 *** |
| b12 | 3.985       | 1.00        | 0.056      | 71.48  | 0.0197 *** |

D'après le tableau 16, nous pouvons réécrire l'équation du modèle en remplaçant les coefficients par leur valeur, mais en conservant que les coefficients des facteurs les plus significatifs

$$Y = 18.286 + 10.623 X_1 + 13.238 X_2 + 2.264 X_1 * X_1 + 24.999 X_2 X_2 + 3.985 X_1 * X_2$$

### Etude graphique des résidus

L'étude graphique des résidus de la réponse 1 est représentée par la droite d'Henry (figure 14)

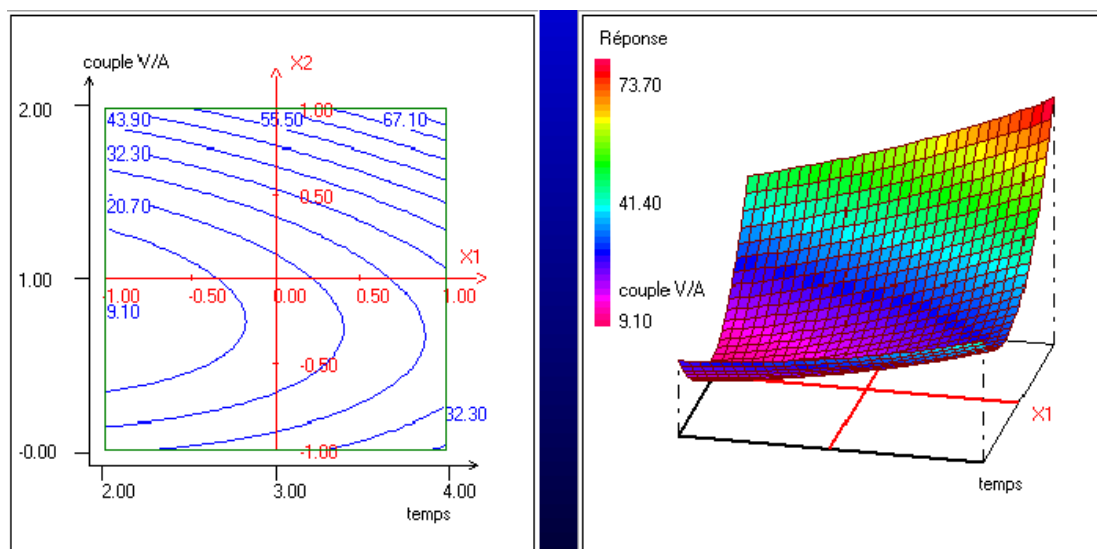


**Figure 14 :** Etude graphique des résidus réponse 1 (abattement de la DCO)

### Représentation graphique de la réponse 1

Les surfaces de réponses sont une représentation graphique des réponses obtenues en fonction des niveaux de facteurs étudiés selon un plan tridimensionnel, ainsi, nous pouvons déterminer, pour une réponse maximale désirée, les valeurs des facteurs à régler.

Les courbes iso réponses de la réponse 1 sont données dans la figure 15 :



**Figure 15 :** Courbes iso réponses de la réponse 1 (abattement de DCO)

### b) Optimisation de la réponse 2 (abattement des polyphénols)

De même pour la réponse 1, nous donnons l'estimation des coefficients de l'équation du modèle pour la réponse 2 (tableau 17).

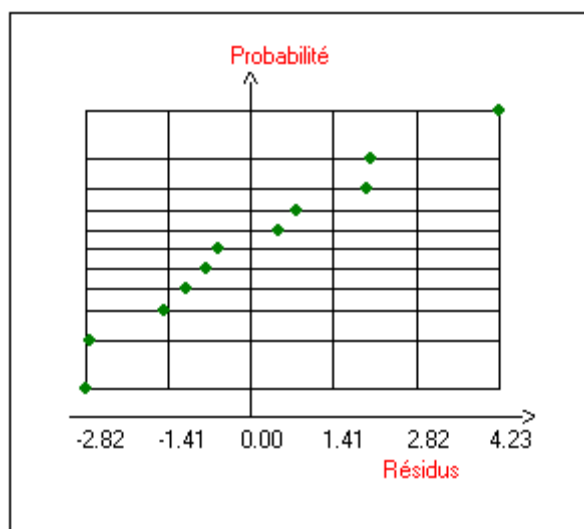
**Tableau 17** : Estimations statistiques des coefficients de la réponse 2(abattement des polyphénols)

| Nom | Coefficient | F.Inflation | Ecart-Type | t.exp. | Signif. %  |
|-----|-------------|-------------|------------|--------|------------|
| b0  | 40.017      |             | 0.423      | 94.67  | 0.0145 *** |
| b1  | 10.678      | 1.00        | 0.336      | 31.74  | 0.0634 *** |
| b2  | 3.515       | 1.00        | 0.336      | 10.45  | 0.645 **   |
| b11 | 5.917       | 1.08        | 0.518      | 11.43  | 0.524 **   |
| b22 | 11.237      | 1.08        | 0.518      | 21.71  | 0.129 **   |
| b12 | -3.188      | 1.00        | 0.412      | -7.74  | 1.30 *     |

$$Y = 40.017 + 10.678 X_1 + 3.515 X_2 + 5.917 X_1^2 + 11.237 X_2^2 - 3.188 X_1 X_2$$

#### Etude graphique des résidus

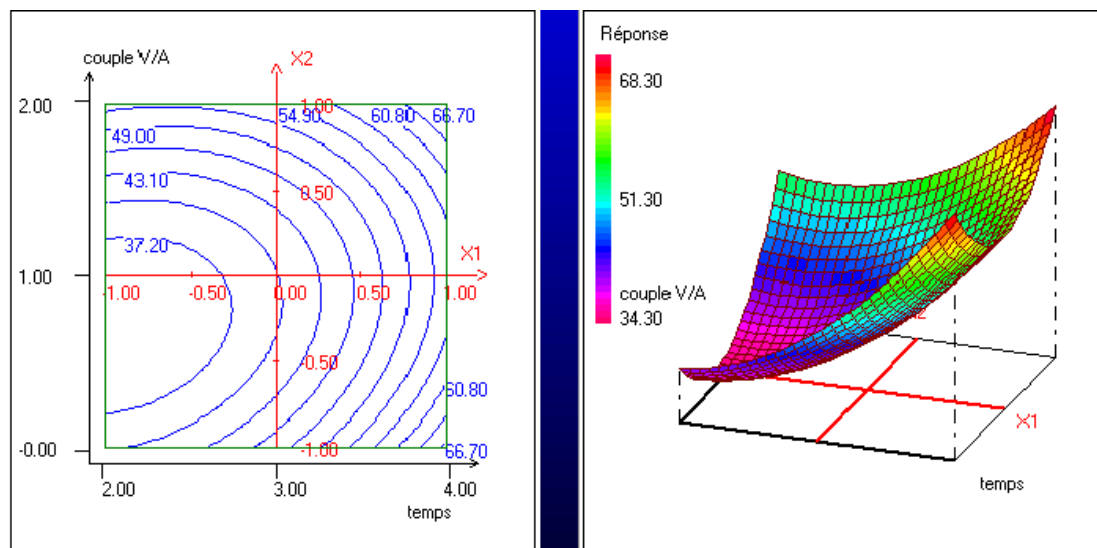
La droite d'Henry de la réponse 2 est schématisée dans la figure 16 :



**Figure 16** : Etude graphique des résidus de la réponse 2 (abattement des polyphénols)

### Etude graphique de la réponse 2

De même pour la réponse 1, les courbes iso réponses de la réponse 2 (abattement des polyphénols) sont représentées dans la [figure 17](#) :



**Figure 17** : Courbes iso réponses de la réponse 2 (abattement de polyphénols)

## III.2 Effet de l'électrocoagulation sur les margines

### III.2.1 Composition physicochimique

Après avoir déterminé les facteurs les plus influençant sur l'électrocoagulation des margines et optimisé leur niveaux, nous avons réalisé une caractérisation physicochimique des margines avant et après traitement pour estimer son effet sur l'abattement des paramètres indicateurs de pollution.

Le tableau 18 montre l'évolution des paramètres physicochimiques des margines brutes et traitées par électrocoagulation.

**Tableau 18:** Composition physicochimique des margines avant et après electrocoagulation

| Paramètres                           | Marges brutes      | Marges traitées    | % d'abattement |
|--------------------------------------|--------------------|--------------------|----------------|
| DCO (g/L)                            | 175 ( $\pm$ 3.51)  | 71 ( $\pm$ 2.08)   | 60             |
| pH                                   | 4.9 ( $\pm$ 0.06)  | 6.8 ( $\pm$ 0.05)  | -              |
| Polyphénols (g/L)                    | 9 ( $\pm$ 0.14)    | 2 ( $\pm$ 0.07)    | 78             |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L) | 57.5 ( $\pm$ 3.53) | 4.5 ( $\pm$ 0.09)  | 92             |
| TS (%)                               | 9.9 ( $\pm$ 0.06)  | 5 ( $\pm$ 0.08)    | 49             |
| VS (%)                               | 6 ( $\pm$ 0.16)    | 0.8 ( $\pm$ 0.03)  | 87             |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)  | 37 ( $\pm$ 1.27)   | 29.6 ( $\pm$ 0.55) | 20             |
| NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)  | 31 ( $\pm$ 2.82)   | 14 ( $\pm$ 0.28)   | 55             |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)  | 395 ( $\pm$ 5.50)  | 107 ( $\pm$ 0.62)  | 73             |
| NTK (mg/L)                           | 350 ( $\pm$ 0.03)  | 70 ( $\pm$ 2.00)   | 80             |

D'après les résultats représentés dans le tableau 18 , nous remarquons que la charge organique des margines exprimée en DCO a été réduite de 60% allant de 175 à 71 g/L.Ce taux d'abattement de la DCO est proche de celui rapporté par Hanafi et al., (2010 ; UN et al., 2006).

Le pH de l'effluent évolue vers un pH proche de la neutralité. Ceci peut etre expliqué par la libération des ions hydroxydes dans la solution ,ce qui augmente le pH. D'autre part, la dégradation des acides phénoliques participe aussi au changement du pH selon Khoufi et al., (2006). Le taux des polyphénols est passé de 9 à 2 g/L correspondant à un taux d'abattement de 75 %. Le mécanisme de dégaradtion des polyphénols se base sur la polymérisation de ces composés suivie de leur minéralisation (Kallel et al., 2009).

Le taux d'abattement des ions orthophosphates a été de 92 %. Selon Tchamango et al., (2010), l'électrocoagulation permet de dégrader les composés phosphorés et azotés dans les effluents de l'industrie laitière, riches en ces deux éléments. Les auteurs rapportent un taux d'abattement de 89 et 81 % pour le phosphore et l'azote respectivement.

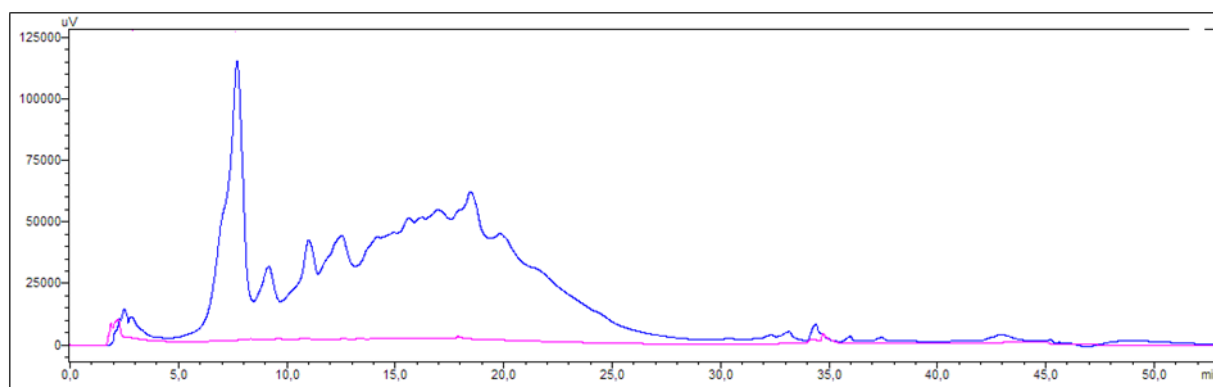
Cependant une faible réduction des ions ammonium ,de l'ordre de 20% a été remarquée.

### III.2.2 Profil phénolique

Afin d'étudier l'effet de l'électrocoagulation sur la composition des margines, nous avons suivi l'évolution de la concentration des composés phénoliques avant et après traitement.

Le suivi des composés phénoliques est important car ils sont responsables de la toxicité des margines ou plutôt de leur caractère récalcitrant notamment lors des processus biologiques impliquant des microorganismes.

La figure 18 représente les deux chromatogrammes obtenus pour les deux échantillons de margines analysés par HPLC.



**Figure 18 :** Chromatogrammes HPLC des margines brutes (bleu) et traitées (rose)

Les margines brutes sont riches en composés phénoliques principalement l'hydroxytyrosol représenté par le pic majoritaire (spectre en bleu) suivis d'autres composés appartenant à la famille des acides phénoliques, ces acides phénoliques sont des polyphénols de petite taille moléculaire, ayant des temps de rétention réduits (< 20 min).

Le spectre des margines traitées montre une absence des pics, et donc de composés détectés, notamment les acides phénoliques présents au départ dans l'échantillon brut.

L'électrocoagulation a permis donc une dégradation des composés phénoliques des margines, principalement les acides phénoliques.

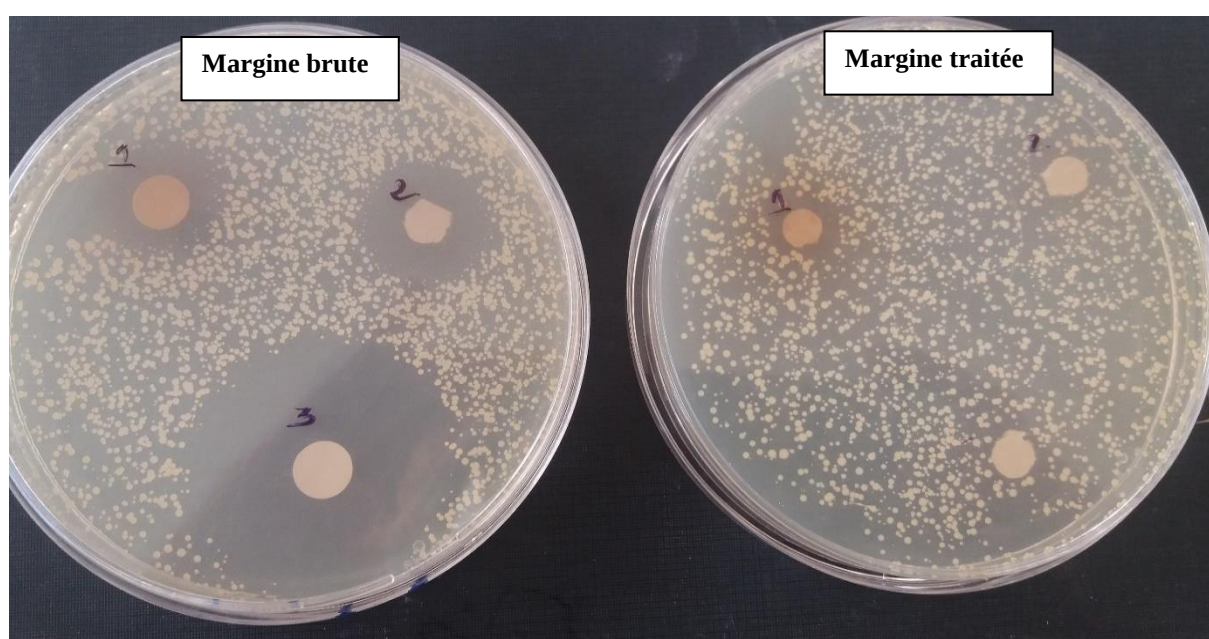
Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Sonia et al., (2006). Selon les auteurs, les monomères phénoliques incluant les acides et alcools de faible masse moléculaire sont dégradés rapidement durant l'oxydation électrochimique des margines.

### III.2.3 Biotoxicité des margines

Le but de cette expérimentation est d'étudier l'effet de traitement par électrocoagulation sur la biotoxicité des margines, par l'étude de leur pouvoir antibactérien vis-à-vis de différentes souches bactériennes dont quelques unes connues pour leur pathogénicité.

L'activité antibactérienne des margines avant et après traitement par électrocoagulation a été testée sur cinq souches de bactéries sous trois concentrations de 50, 100 et 200 mg/mL.

La présence de l'activité antibactérienne est visualisée par la présence d'un halo d'inhibition de la souche testée autour du disque imprégné par les margines brutes, comme c'est montré sur la figure 19.



**Figure 19 :** Test antibactérien des margines brutes et traitées par électrocoagulation.

Les résultats représentés sur le tableau 19 montrent que l'activité la plus importante a été obtenue pour la souche *Staphylococcus aureus* à la concentration 200 mg/mL.

**Tableau 19 :** Diamètres d'inhibition des bactéries par les margines brutes et traitées

| Margine | Concentration mg/mL | <i>Bacillus cereus</i> | <i>Staph. aureus</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Listeria monocytogene</i> | <i>E.coli</i> |
|---------|---------------------|------------------------|----------------------|--------------------------|------------------------------|---------------|
| Brute   | 50                  | 14 ± 2.6               | 11±0.9               | 16±0.7                   | 12±1.2                       | 9±0           |
|         | 100                 | 18±2                   | 13±0.5               | 20±1                     | 20±0.8                       | 13±1.5        |
|         | 200                 | 23±1.3                 | 26±1.2               | 24±0.6                   | 22±0.3                       | 17±0.4        |
| Traitée | 50                  | 6±1                    | 5±0.2                | 7±1.5                    | 9±0                          | 5±1.4         |
|         | 100                 | 6±1.5                  | 6±0.5                | 7±1.7                    | 11±0.3                       | 6±1           |
|         | 200                 | 7±0.8                  | 6±3.1                | 8±2.4                    | 10±1.6                       | 8±0.2         |

Il faut noter que le halo d'inhibition est différent d'une souche à l'autre pour une même concentration testée.

Nous avons constaté que la zone d'inhibition maximale a été observée chez *Staphylococcus aureus* (26 mm) tandis que la zone d'inhibition minimale était observée chez *Escherichia coli* (17 mm). Le même constat a été rapporté par Esmail et al., (2015), dans leur étude d'activité antibactérienne sur des margines marocaines vis-à-vis d'une sélection de bactéries et levure : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*.

Il est bien évident que les margines brutes sans traitement exercent activité antibactérienne importante exprimée par un halo d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques.

D'autre part, les margines traitées affichent des halos d'inhibitions plus réduits pour les différentes souches, indiquant une diminution de l'activité antibactérienne, si on exclut l'effet de l'antibiorésistance.

Ces résultats montre que la présence des polyphénols et flavonoïdes dans les margines brutes peut expliquer leur activité antibactérienne.

Hanafi et al, (2010) ont rapporté une réduction de la toxicité des margines vis-à-vis de *Bacillus cereus* de 70% après électrocoagulation.

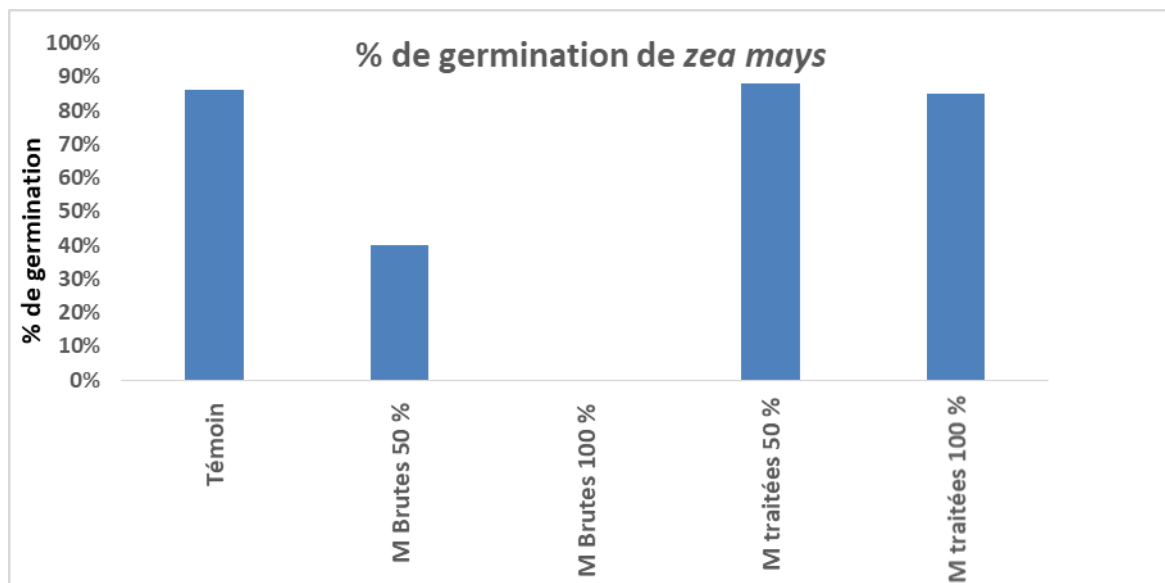
Cette activité est due à l'action des polyphénols sur la membrane cellulaire des bactéries par changement de la perméabilité (Esmail et al., 2015).

L'activité antibactérienne des margines est due essentiellement à l'hydroxytyrosol, composé phénolique majoritaire de ces effluents (Tafesh et al., 2011).

### III.2.4 Phyto toxicité des margines

Plusieurs tests in vitro ou in vivo sont utilisés pour estimer la toxicité des margines, entre autre, le test de germination est considéré comme un test sensible pour caractériser cette toxicité par l'étude de l'effet d'application des margines sur des germes et suivre leur germination en boîtes.

Les pourcentages de germination des grains de maïs irrigués par les margines sont représentés dans la figure 20.



**Figure 20** : Pourcentage de germination des graines de maïs des margines brutes et traitées

L'application des margines brutes sans dilution a causé une inhibition totale de la germination (0 graine germée).

La dilution des margines brutes à 50 % a permis une amélioration de la germination (40 % de graines germées).

Les margines traitées présentent de meilleurs taux de germination, pour les deux concentrations utilisées (50 et 100 %).

Des résultats similaires ont été rapportés par Rusan et al, (2015), les auteurs ont étudié l'impact de différents traitements de margines sur la germination des graines de l'orge (*Hordeum vulgare* L.).

Les traitements étudiés sont : dilution par l'eau du robinet (25,50 et 100%), le traitement biologique aérobie dans un réacteur Jacto, l'oxydation solaire combiné au système fenton, la microfiltration suivie d'une nano filtration, et la microfiltration suivie d'un procédé d'osmose

inverse. Les résultats montrent que 100, 75 et 50% de margines sont très phyto-toxiques et interdisaient complètement la germination des graines. Cependant, la phyto-toxicité a diminué de manière significative après tous les traitements étudiés.

L'effet inhibiteur des margines brutes (Figure 21) reflète la présence de substances phyto-toxiques présentes dans les margines. Ces substances sont représentées principalement par les composés phénoliques, les acides organiques et aussi la fraction résiduelle de lipides dans ces effluents.

Témoin : Eau distillée

Margines brutes

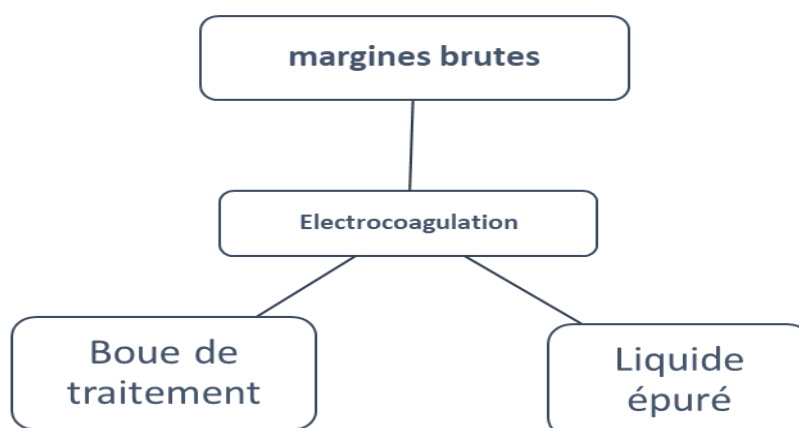
Margines traitées



**Figure 21 :** Germination de *Zea mays*, irriguées par les margines brutes et traitées (témoin : eau distillée)

### III.2.5 Réutilisation des boues d'électrocoagulation

Comme vu précédemment, le traitement des margines par électrocoagulation permet de réduire leur contenu en matière organique, nous obtenons donc, un effluent moins riche en matière organique et aussi un résidu solide sous forme de boue chargée en éléments dissous par électrolyse (figure 22).



**Figure 22 :** Schéma de prétraitement des margines avec électrocoagulation

La composition physicochimique des boues d'électrocoagulation est donnée dans le tableau 20.

**Tableau 20** : Caractérisation physicochimique de la boue d'électrocoagulation

| Paramètre            | Valeur |
|----------------------|--------|
| pH                   | 10.22  |
| Conductivité (ms/cm) | 14     |
| NTK (mg/kg)          | 84     |
| P (mg/kg)            | 15,9   |
| Ca (mg/kg)           | 14     |
| Cd (mg/kg)           | < 0,01 |
| Co (mg/kg)           | 0,18   |
| Cu (mg/kg)           | 0,13   |
| Fe (mg/kg)           | 49     |
| K (mg/kg)            | 29     |
| Na (mg/kg)           | 20     |
| Ni (mg/kg)           | < 0,01 |
| Pb (mg/kg)           | 3,9    |
| Zn (mg/kg)           | 0,83   |

D'après les résultats du tableau 20, nous remarquons que la boue d'électrocoagulation est caractérisée par un pH alcalin (10.22), une forte conductivité électrique et aussi une charge minérale importante, en occurrence : l'azote, le phosphore, le fer et le potassium.

Le pH alcalin de la boue peut être attribué à l'effet de la précipitation des ions hydroxydes lors du traitement. Cette précipitation des ions hydroxydes participe aussi à l'augmentation de la conductivité électrique.

La composition de la boue riche en éléments minéraux laisse à proposer une valorisation possible de cette boue :

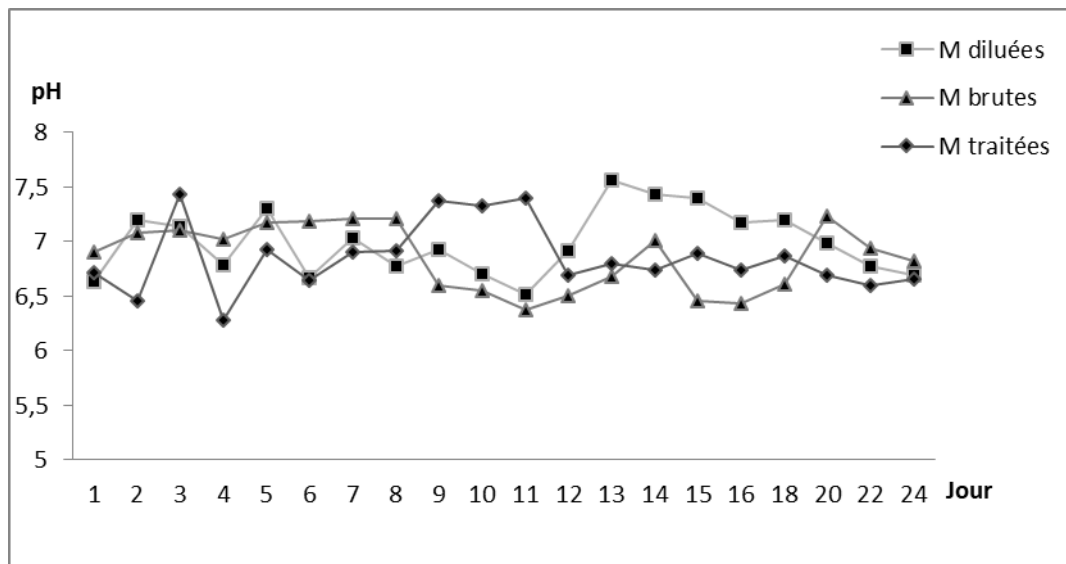
- Pour l'élimination des métaux lourds (García-Gómez et al., 2016).
- En compostage (Khoufi et al., 2009).

- Pour l'élimination des colorants utilisés en textile (Yilmaz et al., 2011).
- Comme matériau de fabrication des briques de construction (Adyel et al., 2013).

### III.2.6 production de biogaz

Le but du prétraitement des margines par électrocoagulation est de réduire la toxicité de ces effluents envers les microorganismes épurateurs lors d'un traitement biologique ultérieur, en l'occurrence, les polyphénols des margines qui exercent un effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries méthanogènes lors de la digestion anaérobie.

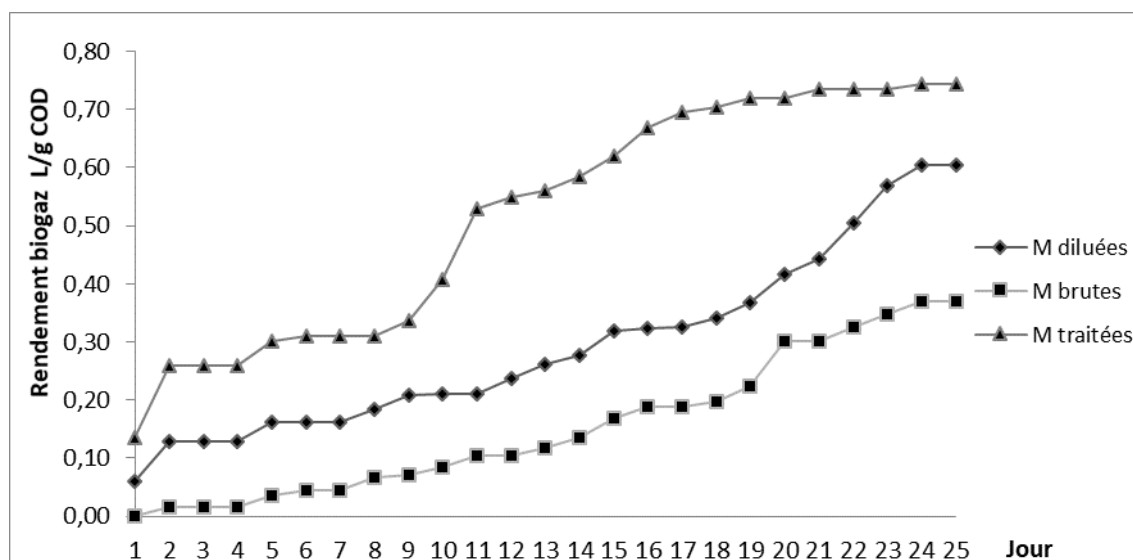
Le suivi du pH pendant la digestion anaérobie des margines a montré que la marge 6 – 8 est bien maintenue (Figure 23), ce qui montre un bon fonctionnement de la bio méthanisation. Cette plage de pH est un paramètre critique pour la digestion anaérobie et donc la production de biogaz.



**Figure 23 :** Evolution du pH durant la digestion anaérobie des margines (brutes, diluées et traitées)

La stabilité des digesteurs anaérobies nécessite le maintien d'un pH proche de neutralité, faute de quoi le processus est déstabilisé et la production de biogaz chute (Ghanam et al., 2013).

La figure 24 montre que les margines traitées ont produit le plus de biogaz avec un rendement de 700 mL/g DCO suivies par les margines diluées 600 mL/g DCO et finalement les margines brutes avec 300 mL/g DCO.



**Figure 24** : Evolution du rendement de biogaz pour les margines brutes, diluées et traitées

La courbe de production de biogaz montre une différence de la durée de la phase initiale entre les trois types de margines. La plus courte durée a été enregistrée pour l'échantillon prétraité, en revanche, les échantillons bruts et dilués ont pris plus de temps pour démarrer la production de biogaz.

Cette différence de cinétique de production de biogaz pourrait être attribuée au phénomène d'hydrolyse amélioré dans le cas des margines diluées et traitées, car l'addition d'eau ou l'électrocoagulation permet de décomposer les polymères en molécules de faible poids moléculaire. Cette étape correspond à la première étape de la chaîne de digestion anaérobie.

Les présents résultats démontrent que le prétraitement exerce un effet positif sur la digestion anaérobie des margines par oxydation des polyphénols récalcitrants à la bio méthanisation.

Plusieurs études (Elgohary et al., 2009) ; (Khoufi et al., 2009) ; (Azabou et al., 2010) ont rapporté que le prétraitement des margines, avec les procédés d'oxydation avancée, améliore la production de biogaz en réduisant sa teneur en phénols et en augmentant le pH à une valeur optimale pour la digestion anaérobie.

### III. Conclusion

La digestion anaérobie des margines brutes est limitée par la présence des polyphénols et le pH acide. Ces éléments perturbent la chaîne métabolique de la digestion anaérobie, et donc le processus est bloqué.

Pour y remédier, le recours à un prétraitement est nécessaire pour réduire la toxicité des margines vis à vis des bactéries méthanogènes.

L'étude du prétraitement des margines par électrocoagulation a permis de déduire les conclusions suivantes :

- Les facteurs les plus influençant sur l'efficacité de l'électrocoagulation sont : le temps de traitement et le couple tension / intensité.
- L'optimisation de ces facteurs par l'outil des plans d'expériences montre que les meilleurs taux d'abatteurs de la DCO et polyphénols sont obtenus après 4hrs d'électrolyse et sous la tension 24 V/5A.
- L'électrocoagulation a permis de réduire la charge organique des margines en termes de DCO de 60% et 75% de polyphénols avec une évolution du pH vers la neutralité.
- Le test d'activité antibactérienne a révélé que les margines les margines traitées par électrocoagulation sont moins toxiques.
- Le prétraitement des margines a amélioré la germination des graines de Zea mays.
- Test du potentiel méthane des margines brutes, traitées et diluées a montré que le prétraitement des margines a amélioré la production de biogaz.

L'électrocoagulation a permis de réduire la toxicité ou atténuer l'effet inhibiteur des margines envers les populations microbiennes de la digestion anaérobie.

## Chapitre 4 :

### *Production de biogaz par digestion anaérobie*

---

## I. Introduction

La digestion anaérobie des margines a été étudiée selon différentes approches : procédé en mono-phase, en deux phases où les étapes, acidogénèse et méthanogénèse, sont séparées (Dareioti et al., 2010), ou après un prétraitement (Siciliano et al., 2016). De loin, la co-digestion des margines avec des substrats riches en azote a été également rapportée ; le but étant d'équilibrer leur rapport C / N / P inapproprié pour la digestion anaérobie (Gonçalves et al., 2012) ; (Fernández-Rodríguez et al., 2014).

Les études de co-digestion visent à choisir le co-substrat le plus approprié à utiliser (fumier, résidus agro-industriels, etc.), évaluer l'effet des paramètres physico-chimiques comme le temps de séjour hydraulique (TSH), le taux de charge organique (OLR) et les configurations des réacteurs : en boucle de recirculation, UASB, digesteur tubulaire, etc...

Ce chapitre vise, dans un premier temps, à comparer la production de biogaz des margines mélangées à différents substrats riches en azote comme le fumier avicole (Poultry Manure **PM**), le lactosérum (Cheese Whey **CW**), les déchets verts (**grass**) et l'effluent d'abattoir (Slaughterhouse WasteWater **SWW**).

Chaque substrat a été digéré à différents rapports volumiques de 0% à 100% de mélange (co-substrat : margines).

Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous avons étudié la codigestion des margines avec l'effluent d'abattoir en mode semi-continu, dans un réacteur séquentiel discontinu anaérobie (Anaerobic Sequencing Batch Reactor **ASBR**) en appliquant des charges organiques (Organic Loading Rate OLR) allant de 1 à 10 g DCO / L / j.

## II. Matériel et méthodes

### II.1 Substrats et inoculum

Les margines ont été collectées auprès d'une unité d'extraction d'huile d'olive utilisant le système à trois phases.

Le fumier avicole a été obtenu chez un éleveur de volailles.

L'effluent d'abattoir est issu d'un abattoir de viandes rouges dans les environs de la ville de Fès.

Le lactosérum a été collecté auprès d'une ferme d'élevage de vaches à Fès.

Les déchets verts ou gazon proviennent du jardin de la faculté des sciences Dhar El Mahraz, Fès. Il a été coupé en petits morceaux pour faciliter son broyage avec l'eau.

Tous les échantillons ont été caractérisés par analyse des paramètres physico-chimiques selon les procédures décrites dans le chapitre 2. Ensuite, les échantillons ont été conservés à 4 ° C jusqu'à utilisation ultérieure.

L'inoculum anaérobie est obtenu du digesteur anaérobie de la station d'épuration des eaux usées de la ville de Fès.

## **II.2 Prétraitement des margines**

Le prétraitement des margines a été réalisé par électrocoagulation selon la procédure décrite par Sounni et al., (2018). Les paramètres physicochimiques des margines sont déterminés avant et après électrocoagulation.

## **II.3 Co-digestion des margines en mode batch**

Les tests de co-digestion des margines avec les co-substrats (PM, SWW, CW et déchet vert) ont été réalisés en mode batch. Pour chaque substrat, différents mélanges (substrat : margines) (v/v) ont été testés, selon le tableau 21 :

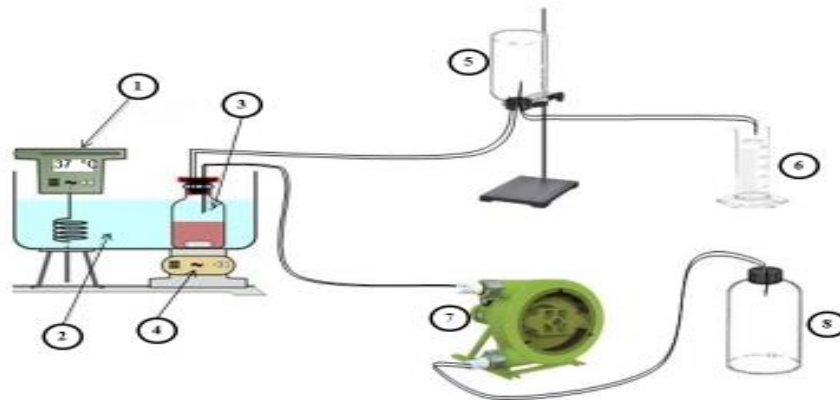
**Tableau 21** : Composition des mélanges margines et substrats en mode batch

| Mélange | Margines (%) | Co substrat (%) |
|---------|--------------|-----------------|
| 0 : 100 | 0            | 100             |
| 20:80   | 20           | 80              |
| 40:60   | 40           | 60              |
| 50:50   | 50           | 50              |
| 60:40   | 60           | 40              |
| 80:20   | 80           | 20              |
| 100:0   | 100          | 0               |

La co-digestion est réalisée dans des réacteurs en verre ayant un volume utile de 200 mL. Dans chaque lot, l'inoculum a été ajouté à raison de 10%, puis le substrat et les margines sont ajoutés comme décrit par Kougias et al., (2014). Les réacteurs sont barbotés avec l'azote pour maintenir des conditions anaérobies, puis placés à 37 °C. Le biogaz est mesuré périodiquement par la méthode du déplacement liquide. La digestion anaérobie est arrêtée lorsque il n'y a plus de biogaz produit.

### II.4 Co-digestion des margines en mode continu

La co-digestion des margines en mode continu a été réalisée dans un digesteur séquentiel discontinu anaérobie à l'échelle du laboratoire. Le dispositif expérimental est illustré dans la figure 25.



**Figure 25 :** Dispositif expérimental de co-digestion des margines : effluent d'abattoir en mode continu

- 1 : Thermostat réglée à la température =37 °C
- 2 : Bain thermostaté
- 3 : Réacteur séquentiel discontinu anaérobie (volume utile = 1 L)
- 4 : Agitateur magnétique
- 5 : Solution de barbotage de biogaz
- 6 : Epprouvette graduée de récupération de bio-méthane produit
- 7 : Pompe péristaltique pour alimentation et soutirage de l'effluent
- 8 : Récipient d'alimentation ou soutirage de l'effluent

Le réacteur séquentiel discontinu comprend un seul réservoir (volume de 1 L) avec cinq opérations :

- ✓ Alimentation
- ✓ Réaction
- ✓ Décantation
- ✓ Soutirage
- ✓ Repos

Tout d'abord, le réacteur est alimenté par le substrat à dégrader, puis la digestion se déroule sous mélange pendant un temps 22h. A la fin de la réaction, le mélange est arrêté et le contenu du réacteur est laissé à décanter pendant 2h pour avoir une bonne séparation de la biomasse des effluents traités à retirer. La biomasse est conservée au fond du réacteur pour démarrer un nouveau cycle (Ammary et al., 2005).

Le dispositif expérimental est composé d'un réacteur en verre d'un volume utile de 600 mL, équipé de deux orifices : l'un connecté à une pompe péristaltique pour l'alimentation et soutirage des effluents, tandis que l'autre est connecté à l'appareil de mesure du biogaz. L'ensemble est placé dans un bain-marie thermostatique chauffé à 37 ° C.

D'abord, Le digesteur a été inoculé uniquement avec les boues anaérobies, ensuite il est barboté par l'azote pour assurer les conditions d'anaérobie. Puis le digesteur est placé dans une cuve thermo statée à 37 °C.

Après adaptation de l'inoculum, le digesteur est alimenté par le mélange margines : effluent d'abattoir à 50:50 (v / v), de manière à avoir une charge d'alimentation de 1 g COD / L / d.

Le choix de ce mélange a été fait d'après les résultats du test en mode batch, puisque l'effluent d'abattage a donné les meilleurs résultats en termes de production de biogaz.

Durant toute l'opération de co-digestion, nous avons suivi la production de biogaz, et l'évolution des paramètres physicochimiques suivants : DCO, pH, PC,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NH}_4^+$ , les acides gras volatils et l'alcalinité.

Avant chaque alimentation du digesteur, l'agitation est arrêtée pendant 2 heures, afin d'avoir une bonne décantation de la biomasse au fond du réacteur. Ensuite, une quantité appropriée d'effluent est retirée. Le digesteur est alimenté pour démarrer un nouveau cycle.

### **III. Résultats et discussion**

#### **III.1 Caractérisation physicochimique des substrats**

Les paramètres physicochimiques de margines et substrats sont présentés dans le tableau 22 :

**Tableau 22** : Caractéristiques physicochimiques des substrats pour co-digestion anaérobie

| <b>Paramètre</b>                          | <b>M. brutes</b> | <b>M. traitées</b> | <b>Fumier avicole (PM)</b> | <b>Effluent abattoir (SWW)</b> | <b>Lactosérum (CW)</b> | <b>Déchet vert</b> |
|-------------------------------------------|------------------|--------------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------|--------------------|
| <b>DCO (g/L)</b>                          | 146± 0,40        | 46±0,56            | 26±0,2                     | 15±0,15                        | 45±0,17                | 12,9±0,26          |
| <b>pH</b>                                 | 4±0,15           | 7±0,11             | 7,2±0,26                   | 6,5±0,40                       | 6,6±0,26               | 7,9±0,11           |
| <b>CP (g/L)</b>                           | 11±0,11          | 3,7±0,25           | 0,2±0,03                   | 0,23±0,02                      | 0,27±0,02              | 0,05±0,01          |
| <b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg/L)</b> | 125±0,35         | 42±0,32            | 209±3,51                   | 13±0,56                        | 1,3±0,09               | 2±0,07             |
| <b>MS (%)</b>                             | 20±0,21          | 11±0,30            | 26±0,20                    | 0,57±0,03                      | 4,8±0,17               | 11±0,18            |
| <b>MV (%)</b>                             | 18±0,21          | 10±0,25            | 7±0,15                     | 0,45±0,01                      | 1,36±0,20              | 10,2±0,28          |
| <b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg/L)</b>  | 27±0,35          | 20,6±0,70          | 83±0,55                    | 0,7±0,03                       | 1,6±0,05               | 1,6±0,05           |
| <b>NTK (mg/L)</b>                         | 120±0,50         | 71,5±1,40          | 140±0,50                   | 190±1,15                       | 3200±19                | 351±1,52           |

Les résultats de la caractérisation physicochimique montrent que le lactosérum et le fumier avicole sont les plus chargés en matière organique avec 45 et 26 g DCO / L respectivement (tableau 22).

La charge organique d'effluent d'abattoir est proche de celle des déchets verts. Toutefois, nous notons un faible taux de matière volatile pour l'effluent d'abattoir, ceci peut être expliqué par une faible activité d'abattage, puisque le prélèvement de l'effluent a été réalisé dans un abattoir de marché hebdomadaire.

Les quatre substrats ont un pH neutre (entre 6,2 et 8) ; ils sont également riches en azote organique notamment pour les substrats d'origine animale et les déchets verts riches en protéines.

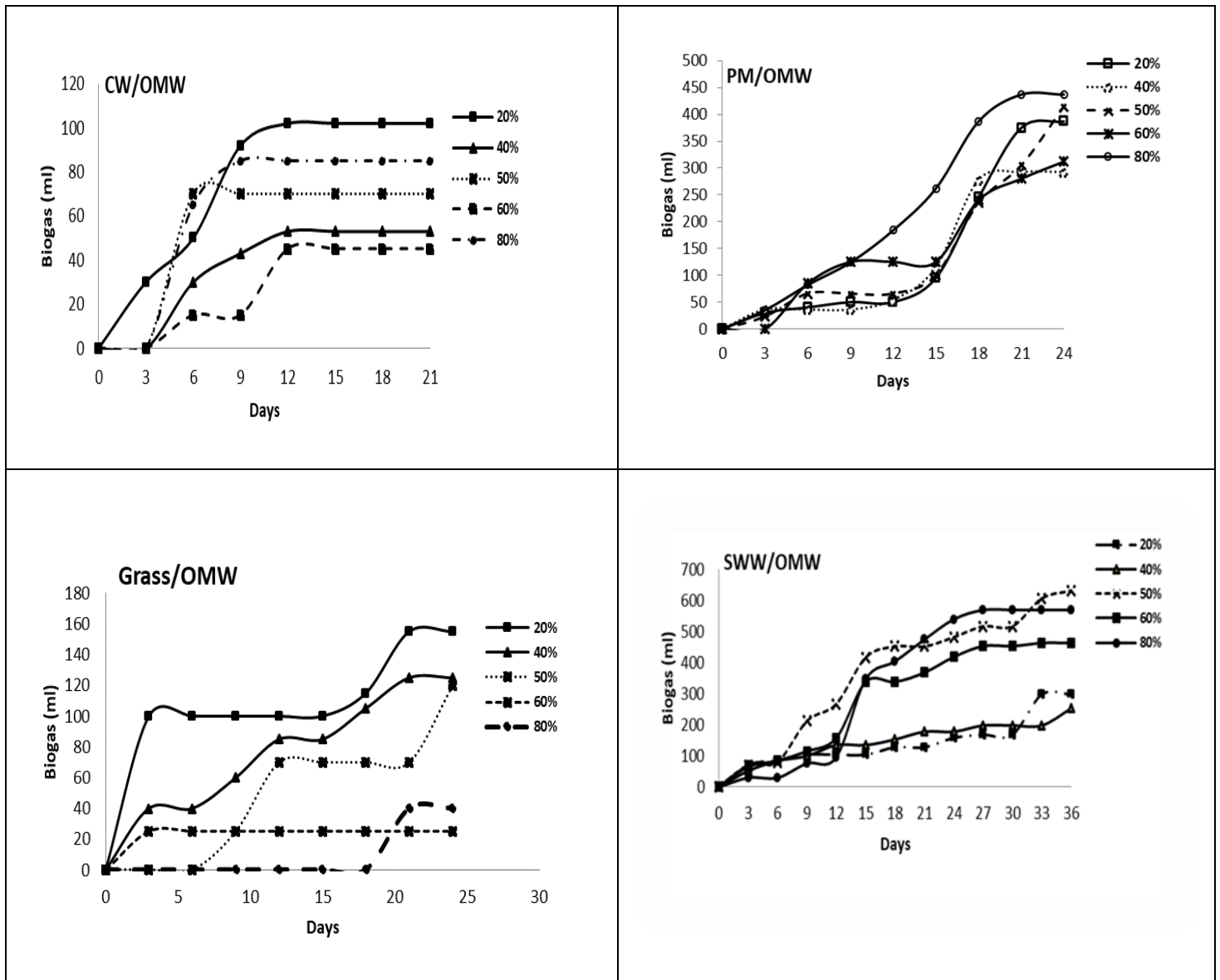
La concentration élevée en  $\text{NH}_4^+$  du fumier avicole pourrait être un indicateur d'ammonification.

Pour ce type de substrats, une concentration élevée en ammoniac peut inhiber la digestion anaérobie. Pour éviter ce phénomène, différentes approches ont été étudiées, à savoir la dilution par l'eau, la digestion en deux phases ou la co-digestion avec un substrat complémentaire (Dalkılıç et al., 2015).

La comparaison de la composition physico-chimique des margines et des substrats révèle une complémentarité, ce qui peut suggérer un effet synergique lors de la co-digestion des margines avec ces substrats. En effet, parmi les limites de la digestion anaérobie des margines, on trouve le déficit en azote, le pH acide et la présence de composés phénoliques. La co-digestion pourrait équilibrer la composition des margines et assurer plus de stabilité au processus (Messineo et al., 2019).

### **III.2 Production de biogaz en mode batch**

La figure 26 montre que l'effluent d'abattoir et le fumier avicole ont produit le plus de biogaz avec un maximum de 632 et 437 mL.

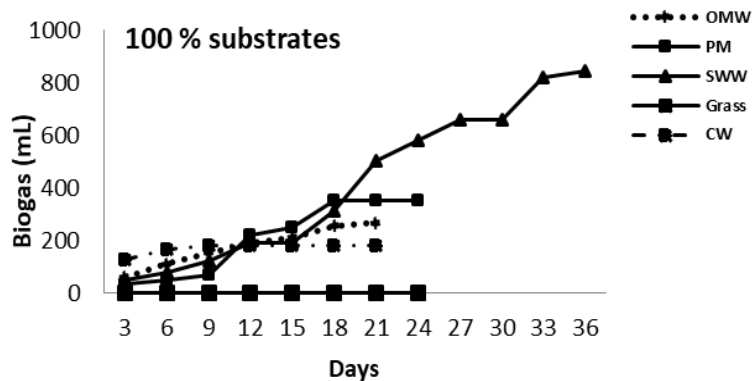


**Figure 26 :** Production cumulée de biogaz des mélanges (marges/substrats) à différents ratios (SWW : effluent d'abattoir, PM : fumier avicole, CW : lactosérum et déchet vert)

Le potentiel de biogaz des substrats dépend étroitement de leur composition qui varie également en fonction de l'origine du substrat. Dans ce sens, l'effluent d'abattoir varie en fonction du type d'animaux sacrifiés, du rythme journalier et des opérations effectuées lors de l'abattage (lavage, découpe, etc.). La présence d'une fraction insoluble, composée de graisses, d'acides à longue chaîne et de protéines est responsable d'éventuelles inhibitions lors de la digestion anaérobie de ce type d'effluents (Caixeta et al., 2002).

Selon la figure 27, la comparaison du biogaz produit par les substrats et les marges seuls, sans mélange, révèle que le potentiel de biogaz de l'effluent d'abattoir était supérieur à celui

des autres substrats, 848 mL contre 355 mL pour le fumier avicole, 180 mL pour le lactosérum.



**Figure 27 :** Production cumulée de biogaz des substrats en mono-digestion

Cependant, aucune production n'a été enregistrée pour le batch contenant les déchets verts à 100%; le même résultat a été rapporté par Xie et al., (2011).

La cinétique de digestion anaérobie est différente d'un substrat à l'autre, par exemple, la production de biogaz pour le lactosérum a arrêté le 21e jour, tandis que celle de l'effluent d'abattoir a duré 36 jours.

Le rapport optimal de substrat : margines est différent d'un substrat à l'autre ; il correspond à 80:20 pour le fumier avicole, 50:50 pour l'effluent d'abattoir et 20:80 pour le lactosérum et déchets verts.

Pendant la co-digestion, le rapport optimal varie suivant plusieurs facteurs :

- a) Composition physico-chimique des substrats mixtes
- b) Mode de digestion anaérobie (batch, continu, seule phase ou plus)
- c) Configuration du digesteur utilisé (CSTR, filtre anaérobie, UASB ...)
- d) Le régime de température, mésophile ou thermophile ainsi que les conditions opératoires (charge organique, temps de séjour hydraulique, volume ....).

Selon Gelegenis et al, (2007) le rapport optimal du mix margines : fumier de volaille est 40:60 en mode continu, alors que ce rapport était de 70:30 pour Khoufi et al., (2015), qui ont étudié

la co-digestion des margines avec le fumier de volaille en mode discontinu et continu dans un réacteur à boucle de circulation.

La co-digestion des margines avec le lactosérum a été étudiée par Azbar et al., (2008) en testant quatre mélanges de 0 : 100 ; 10:90; 20:80, 50:50 (margines : substrat) avec différentes charges organiques de 3 ; 10 et 30 mg COD / L. Le meilleur rendement en biogaz a été obtenu pour le mélange 20:80.

Martinez-Garcia et al., (2007) ont rapporté un mélange optimal proche de 75:25 (margines : Substrat), alors qu'il était de 55:40 pour Dareoiti et al., (2009) qui ont testé un mélange de (margines / lactosérum / fumier de vache) à 55: 40: 5.

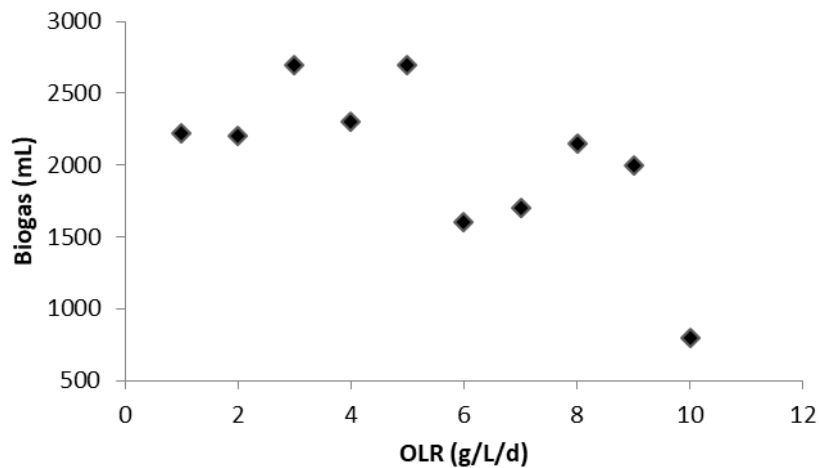
La digestion anaérobie du lactosérum est affectée par l'équilibre entre deux constituants majeurs du lactosérum, à savoir la caséine (protéine majeure du lait, mal dégradée en conditions anaérobies), et le lactose, sucre dégradable en acétate, éthanol et propionate, intermédiaires de la chaîne terminale de la méthanogenèse (Prazeres et al., 2012).

Les déchets verts représentent une biomasse ligno-cellulosique ; ce type de substrat est difficile à dégrader par les bactéries méthanogènes même s'il représente une source d'azote favorable pour la digestion anaérobie. La production de méthane à partir de déchets verts est attribuée à la dégradation de la fraction soluble (Liew et al., 2012).

### **III.3 Co-digestion en mode continu**

#### **III.3.1 Effet de la charge organique**

Selon la figure 28 la production de biogaz est proportionnelle à la charge organique appliquée de 1 à 3 g DCO / L / jour.



**Figure 28 :** Production de biogaz du mélange margines : effluent d’abattoir (50/50) à différentes charges organiques.

Aux charges 4 et 6 g DCO / L / j, une diminution de la production de biogaz est observée, puis le système s'est rétabli, comme en témoigne l'augmentation du volume de biogaz à la charge de 8 g DCO / L / jour.

Pendant la phase (1-5 g DCO/L/j), la production de biogaz était proportionnelle à l'augmentation de la charge ; cette gamme de charge organique a été rapportée par Gelegenis et al., (2007) et Goberna et al., (2010).

A la charge de 5 g DCO / L / j, la production de biogaz a considérablement baissé, ce qui peut s'expliquer par une surcharge à l'intérieur du digesteur, par conséquent, la communauté bactérienne n'est pas capable de dégrader la matière organique cumulée et donc, la production de biogaz a chuté.

La surcharge organique est un phénomène récurrent dans les digesteurs anaérobies, ce phénomène se traduit par une dégradation lente ou réduite de la matière organique, l'accumulation de substances inhibitrices, la perturbation des écosystèmes microbiens anaérobies et donc une défaillance du processus se produit.

De la charge 6 à 8 g DCO / L / j, la production de biogaz a augmenté, cela peut suggérer que les populations microbiennes ont été adaptées à l'augmentation des charges.

Au-delà de la charge 8 g DCO / L / j, la courbe de biogaz montre une baisse jusqu'à seuil critique à la charge 10 g DCO / L / j.

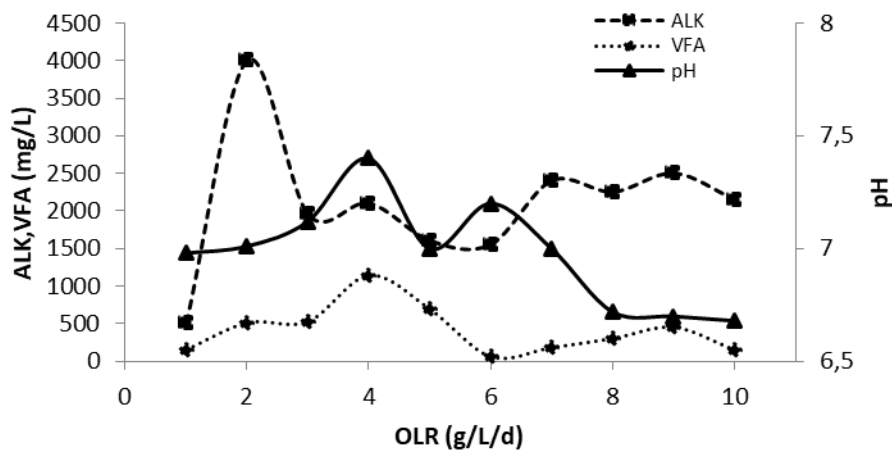
Les réacteurs à fortes charges comme le filtre anaérobie ou à boucle de circulation peuvent tolérer jusqu'à 12 g de DCO / L / jour (Gannoun et al., 2016). La configuration du réacteur est un paramètre clé de la digestion anaérobie car elle affecte la production de biogaz et la stabilité du processus.

L'élimination de la matière organique est d'environ 70% pour les différentes charges organiques testées. Cette dégradation incomplète peut s'expliquer par l'utilisation d'une partie de la matière organique pour les besoins de biosynthèse. De plus, une fraction de la matière organique est non dégradable. D'autre part, Une autre partie de la matière est déplacée à l'interface liquide-gaz par flottation comme indiqué par Kougias et al., (2014). Ce phénomène est responsable de la formation d'une couche épaisse à la surface des digesteurs non mélangés, empêchant ainsi le transfert des bulles de biogaz formées.

### III.3.2 Stabilité du digesteur

Afin de bien contrôler le fonctionnement du digesteur, il faut suivre les paramètres indicateurs de la stabilité de la digestion anaérobie, à savoir le pH, l'alcalinité et la concentration des acides gras volatils (AGV).

L'évolution du pH, de l'alcalinité et des AGV est représentée dans la figure 29.



**Figure 29 :** Evolution de pH, alcalinité et AGV à différentes charges organiques.

Le pH est maintenu dans la plage de 6,5 à 8 tout au long de l'expérience. Cette stabilité du pH offre des conditions optimales pour les méthanogènes.

La plage de l'alcalinité est de 1500 à 2500 mg éq  $\text{CaCO}_3$  / L pendant la digestion. L'alcalinité est un paramètre important pour surveiller la stabilité de la digestion anaérobie, une valeur

d'alcalinité autour de 1000 mg / L est nécessaire pour garder une bonne capacité tampon du digesteur et empêche l'acidification en neutralisant les AGV formés, cependant, une alcalinité excessive indique une inhibition par l'ammoniac  $\text{NH}_3$  (Massé et al., 2001).

La concentration en AGV varie entre 60 et 1140 mg éq d'acide acétique / L, avec une valeur maximale à la charge de 4 g DCO / L / j correspondant à une baisse de production de biogaz. Au-delà de la charge 6, la concentration des AGV a diminué de manière significative, mais cette diminution n'est pas accompagnée d'une amélioration du biogaz.

Les AGV sont des espèces intermédiaires produites pendant la phase acidogénèse de la digestion anaérobie, leur accumulation dans le digesteur peut inhiber la méthanogénèse (Siegert et al., 2005).

Une concentration élevée en AGV a été observée à un temps de séjour long, pour des charges organiques élevées de l'influent (24 jours et 196 g DCO / L) (Fezzani et al., 2010), l'acide acétique est le composé majoritaire par rapport aux autres acides : butyrique, propionique, caproïque et valérique.

Dans cette étude, le temps de séjour varie en fonction de la charge appliquée, allant de 26 à 2,6 jours en parallèle avec l'intervalle de charge de 1 à 10 g DCO / L / j.

Dans la partie suivante, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet des éléments métalliques et minéraux sur la digestion anaérobie. Le [tableau 23](#) montre les résultats de l'analyse de ces éléments dans l'entrée et sortie du digesteur.

**Tableau 23 :** Teneur en oligoéléments et en métaux lourds du mélange margines : effluent abattoir en entrée et sortie du digesteur

| Element   | Influent | Digestat |
|-----------|----------|----------|
| Ca (mg/L) | 586,3    | 160,95   |
| Cd (mg/L) | Nd       | Nd       |
| Co (mg/L) | 7,21     | 3,585    |
| Cu (mg/L) | 5,2      | 2,61     |
| Fe (mg/L) | 144      | 50,105   |
| K (mg/L)  | 923,53   | 455,39   |
| Na (mg/L) | 760,23   | 624,85   |
| Ni (mg/L) | Nd       | Nd       |
| Pb (mg/L) | 15,34    | 7,76     |
| Zn (mg/L) | 4,22     | 2,44     |

Le calcium affiche le taux d'abattement le plus élevé lors de la digestion anaérobie, suivi par le fer atteignant jusqu'à 60% d'élimination. Le Co, Cu, K, Pb et Zn étaient similaires en termes d'abattement entre 42 et 50%. En revanche, le Na n'a pas été dégradé de manière significative, car seulement 17% est éliminé.

Mudhoo et al., (2013) ont évalué la co-digestion anaérobie des fientes de volaille et des pelures de Pawpaw. Le suivi des métaux avant et après digestion n'a révélé aucun changement significatif, sauf pour le Ca (11,76%), d'autres éléments : K, Mg, Mn, Fe, Zn, Al, Co sont restés constants.

L'effet des métaux sur la digestion anaérobie dépend de plusieurs facteurs comme la concentration en métal, le type d'espèce métallique, les paramètres liés au processus tels que le pH et le potentiel redox (Mudhoo et al., 2013).

La composition métallique du digestat pourrait encourager son utilisation en agriculture, pour remplacer les engrais minéraux et ainsi éviter leur risque sanitaire et environnemental (Nkoa et al., 2014; Pivato et al., 2016; Song et al., 2019).

## IV. Conclusion

Les principales conclusions à tirer de cette étude sont résumées comme suit :

- La co-digestion anaérobie des margines est un processus efficace pour convertir la matière organique en biogaz.
- Le mélange margines : effluent d'abattoir à 50:50 correspond au ratio optimal avec une production de biogaz plus élevée en mode batch.
- La Co-digestion des margines et l'effluent d'abattoir à (50:50) dans un réacteur séquentiel discontinu anaérobie est possible jusqu'à une charge de 9 g DCO / L / j en terme de stabilité et de production de biogaz.

## Chapitre 5 :

### *Récupération des polyphénols des margines*

### I. Introduction

Les polyphénols connaissent un intérêt croissant pour des applications diverses. En effet, leur utilisation est encouragée dans le cadre du recours aux substances naturelles ou bio sourcées.

Les margines représentent un gisement inépuisable et renouvelable des polyphénols d'olivier aux propriétés biologiques avérées.

Il existe donc un besoin de récupération de ces molécules pour une utilisation dans un large champ d'application (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs alimentaires...)

Les techniques d'extraction employées dans l'extraction des polyphénols peuvent être classées en deux catégories :

- Les techniques conventionnelles qui sont basées sur l'utilisation de solvants chimiques, toxiques
- Les techniques vertes qui donnent plus d'efficacité, moins de temps et utilisent des matières premières renouvelables, par conséquent non toxiques.

L'objectif de ce chapitre est l'étude de la récupération des polyphénols à partir des margines par adsorption sur trois bio-adsorbants et deux résines commerciales.

Ensuite, nous allons présenter les résultats de la désorption des polyphénols par deux solvants de qualité alimentaire.

Une Analyse quantitative et qualitative des polyphénols par HPLC a été menée, pour déterminer le profil phénolique des adsorbats et désorbats.

### II. Matériel et méthodes

#### II.1 Margines d'olive

Les margines utilisées dans les expériences d'adsorption sont collectées pendant la saison oléicole, et ont été caractérisées selon les protocoles décrits dans le chapitre II. Les résultats sont représentés sur le tableau 24.

**Tableau 24** : Caractéristiques des margines utilisées en adsorption

| Paramètre | Valeur moyenne |
|-----------|----------------|
| DCO       | 111 g/L        |
| pH        | 5.44           |
| PF        | 27 g/L         |
| MS        | 20.13%         |
| MV        | 2.97%          |

## II.2 Préparation et caractérisation des Adsorbants

### II.2.1 Résine XAD 4

La résine XAD 4 fait partie de résines appelées ‘‘Amberlite’’, ce sont des polymères synthétiques sous forme de billes dures et insolubles, de diamètre compris entre 0,3 et 0,9 mm. Ces résines correspondent à une gamme assez importante de polymères qui présentent des degrés de porosité et de polarité importants.

Les résines Amberlite XAD sont des résines macroporeuses capables d’incorporer de grandes quantités d’adsorbats à cause de leurs grandes surfaces spécifiques, haute résistance mécanique, meilleure réticulation et faible gonflement durant l’imprégnation. En général, elles ont des surfaces spécifiques situées entre 150 - 900 m<sup>2</sup>/g et présentent une porosité de 0,4 à 0,6, un diamètre moyen des pores situé entre 4 et 9 nm et un volume poreux de 0,6 à 1,1 cm<sup>3</sup>/g.

Selon le poids moléculaire des molécules à adsorber, les résines Amberlite XAD sont classées en trois catégories :

- ✓ XAD-4 pour les molécules relativement petites ou de faible poids moléculaire
- ✓ XAD-16 pour les molécules de petit à moyen poids moléculaire.
- ✓ X1180 pour les molécules à haut poids moléculaire

La résine XAD4 est de type polystyrène-divinylbenzène non ionique, utilisée pour l’adsorption de substances organiques à partir de solution aqueuse (Tableau 25). Elle possède

une excellente stabilité physique, chimique et thermique (données fournisseur, Sigma Aldrich).

**Tableau 25** : Caractéristiques de la résine XAD4

| Nom                                          | Amberlite XAD 4              |
|----------------------------------------------|------------------------------|
| Matrice                                      | Polymère de styrène          |
| Forme                                        | Billes blanches translucides |
| Surface spécifique (m <sup>2</sup> /g)       | 725                          |
| Porosité (cm <sup>3</sup> /cm <sup>3</sup> ) | 0,5                          |
| Volumes des pores (cm <sup>3</sup> /g)       | 0,974                        |
| Diamètre moyen des pores (nm)                | 5                            |
| Densité sèche (g/ml)                         | 1,08                         |

### II.2.2 Résine AMBERJET 4200 Cl

La résine AMBERJET 4200 Cl est une résine échangeuse d'ions avec une granulométrie uniforme (Figure 30), conçue pour plusieurs utilisations, notamment la déminéralisation d'eau, mais également dans l'adsorption des phénols à partir des solutions aqueuses et effluents industriels (Données fournisseur, Rohm and Haas : Tableau 26). D'autres études ont testé l'efficacité des résines échangeuses d'ions pour la récupération des polyphénols à partir des matrices végétales : raisin (Trikas et al., 2017), extrait de gingembre (Datta et al., 2011). L'uniformité et la taille moyenne des particules de La résine AMBERJET 4200 Cl a été optimisée pour être utilisée dans les équipements industriels, y compris les lits mixtes.



**Figure 30** : Les billes de la résine AMBERJET 4200 Cl

**Tableau 26** : Caractéristiques de la résine Amberjet 4200 Cl

| Nom                                | Amberjet 4200 Cl                      |
|------------------------------------|---------------------------------------|
| Matrice                            | Styrène di vinylbenzène               |
| Forme                              | Billes sphériques translucides jaunes |
| Groupe fonctionnel                 | Triméthyl ammonium/ Cl-               |
| Humidité                           | 49 à 55 %                             |
| Coefficient d'homogénéité          | < 1,25                                |
| Capacité d'échange                 | ≥ 1.30 eq/L                           |
| Diamètre moyen des particules (µm) | 600-800                               |

### II.2.3 Sciure de bois

Le bois est un matériau de type polymère de cellulose d'origine végétale, produit par les arbres vivants. C'est un matériau très utilisé dans différentes activités (construction, industrie, etc).

Le bois est constitué d'un ensemble de fibres de structures complexes, Ces fibres sont constituées à leur tour de micro fibrilles de cellulose (40-50%), enrobées de deux types de polymères amorphes : la lignine (25-30%) et les hémicelluloses (15-25%).

La cellulose est le constituant majoritaire du bois, formée de maillons de glucose, sa formule brute est  $C_6H_{10}O_5$ . Les unités de glucose sont liées entre elles par des liaisons  $\beta$  (1-4) glycosidiques. Le degré de polymérisation varie selon l'espèce végétale et peut atteindre 15000.

Les hémicelluloses : sont des hétéro polysaccharides, car elles sont constituées d'unités structurales de nature différentes. Soit des hexoses (glucose ; galactose ; mannose), soit des pentoses (xyloses ; arabinoses). Le degré de polymérisation des hémicelluloses ne dépasse pas 200.

La lignine représente 16 à 33% de la masse de bois. Elle est chimiquement très différente de la cellulose et des hémicelluloses. C'est un polymère tridimensionnel amorphe et de nature phénolique qui assure la rigidité de la paroi cellulaire (Nordine, 2018).

La transformation du bois génère des quantités considérables de sous-produits et de sciures (Figure 31), celles-ci peuvent être valorisés pour différents usages, tels que la valorisation énergétique par combustion, ou comme adsorbant naturel, disponible et surtout à faible coût (M'hamdi et al, 2017).

Les résidus de coupes et de transformation du bois représentent l'une des principales biomasses végétales largement étudiées pour l'adsorption des métaux tels que cuivre, le cadmium, le plomb, le nickel, le chrome, le mercure et le zinc à partir de solutions aqueuses et d'effluents industriels (Nordine, 2018).



**Figure 31** : La sciure de bois

### II.2.4 Coquilles d'œuf

Le Maroc a produit 6,6 milliards d'œufs en 2018 (ANPO, 2019), ce chiffre traduit l'importance de la consommation des œufs chez les marocains et aussi laisse imaginer la quantité de déchets produits après consommation ou transformation des œufs. Les sous-produits des œufs sont constitués principalement des coquilles d'œufs (Figure 32).

La coquille d'œuf est un matériau céramique constitué de trois couches : la cuticule située à la surface extérieure, une couche spongieuse, de type calcaire, et une couche interne lamellaire. Les couches spongieuses et lamellaires forment une matrice composée de fibres protéiques liées à la calcite (carbonate de calcium) (Abdulrahman et al., 2014 ; Carvalho et al., 2011).



**Figure 32** : Les coquilles d'œufs

Les coquilles d'œufs constituent les 11% du poids total de l'œuf et sont constituées par le carbonate de calcium (94%), le phosphate de calcium (1%), la matière organique (4%) et le carbonate de magnésium (1%). La nature poreuse de la coquille d'œufs en fait un matériau intéressant à utiliser comme adsorbant (Singh et al., 2012).

### II.2.5 Chitine

La chitine fait partie de la grande famille des polymères naturels qui comprend la cellulose, l'amidon, le collagène, etc. La chitine est un polysaccharide linéaire constitué d'une chaîne d'unités de 2-acétamido-2-deoxy-D-glucopyranose ou N-acétyl-D-glu-cosamide enchaînées par des liaisons osidiques 1-4 (Achur et al., 2018).

Il existe plusieurs sources de chitines animales (crevettes, crabes), fongiques (parois de mycélium) ou végétales (algues).

La chitine commerciale est souvent isolée des déchets de fruits de mer comprenant les coquilles de crevettes, de crabes et de calamars (Figure 33).



**Figure 33** : Poudre de chitine

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. De manière générale, elles consistent à éliminer les éléments minéraux (démminéralisation), les protéines (déprotéinisation) et la couleur (blanchiment) selon les étapes suivantes :

**Démminéralisation** : consiste à éliminer la matière minérale liée à la chitine par hydrolyse acide. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique.

**Déprotéinisation** : Dans cette étape, les protéines liées à la chitine sont éliminées par hydrolyse basique. Ce traitement peut se faire en utilisant des solutions à base de NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, KOH...

**Décoloration** : afin d'éliminer les pigments qui sont liés à la chitine. En effet, le pigment dans les carapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine (Al-sagheer et al., 2009).

Pour être utilisé dans l'industrie, la chitine doit être décolorée. Le blanchiment est un processus souhaitable, souvent réalisé par l'usage d'agents oxydants (KMnO<sub>4</sub>, NaOCl, SO<sub>2</sub>, NaHSO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ce traitement ne doit pas affecter les propriétés physico-chimiques de la chitine.

La chitine possède plusieurs propriétés physico-chimiques, on peut citer :

Le degré de dés acétylation : La chitine est caractérisée par son degré de dés acétylation, qui représente la proportion d'unité d'amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. C'est le pourcentage molaire de l'élimination des groupements N-acétyl. Ce paramètre influe sur toutes les autres propriétés physico-chimiques (masse moléculaire en poids, viscosité, solubilité...)

La solubilité : La chitine est insoluble dans l'eau et ainsi que dans la plupart des solvants (acides et bases). Par contre, elle se décompose par chauffage (vers 250°C) mais sans se fondre.

La viscosité : elle dépend essentiellement de la concentration, du poids moléculaire, de la température ainsi que du degré de désacétylation.

Poids moléculaire : Etant une caractéristique très importante, le poids moléculaire dépend de la masse du monomère ainsi que du nombre de monomères qui constituent le polymère.

En raison de ses propriétés, la chitine a été largement utilisée dans plusieurs domaines :

- Agriculture : Protection des plantes ; amélioration des rendements de cultures
- Technologie biomédicale : Augmentation de la coagulation du sang ; prothèses
- Pharmaceutique : dans les produits dermatologiques comme les anti-acnés.
- Cosmétique : shampooing ; crèmes hydratantes...
- Alimentaire : en occurrence dans l'œnologie pour la stabilisation, la clarification par adsorption des polyphénols colorants, la désacidification, l'élimination des métaux lourds (plomb, cadmium) ou des métaux majeurs (fer, cuivre), ainsi que l'élimination des mycotoxines , des enzymes et des résidus des pesticides , la chitine est aussi utilisée dans l'alimentation animale.
- Dépollution des eaux : élimination des métaux lourds, diminution de la DCO (demande chimique en oxygène) et de la turbidité.

### II.3 Préparation des adsorbants

Avant d'être utilisés, les adsorbants doivent être bien préparés, la méthode et les étapes de préparation diffèrent d'un matériau à l'autre :

**Les résines** : activation par l'éthanol pendant 1 heure sous agitation, puis lavage 3 fois par l'eau distillée (Ferri et al., 2011).

**La chitine** : les déchets de crevettes (carapaces) sont bien lavés avec de l'eau de robinet jusqu'à l'obtention d'une eau de lavage claire, afin d'éliminer toutes les impuretés, ensuite ils ont été séchés à l'étuve pour éliminer l'eau et aussi faciliter le broyage ultérieurement, réalisé par un blender.

La poudre préparée est traitée par HCL 0,5 M pendant 8 hr, puis on effectue un rinçage par l'eau distillée pour éliminer le  $\text{CaCl}_2$  formé.

Ensuite on réalise un traitement par NaOH 1N à 90 °C pendant 2hrs, et on lave par l'eau distillée .après filtration et séchage on obtient la chitine sous forme de poudre.

**La sciure de bois** : La sciure a été triée pour éliminer les gros morceaux de bois, ensuite elle a été lavée par l'eau distillée, séchée.

**Les coquilles des œufs** : Les coquilles d'œufs sont bien lavées, ensuite elles sont séchées et réduits en petits morceaux pour faciliter leur broyage.

Les trois biosorbants ont été tamisés, et la fraction dont la taille <500 µm a été collectée pour les tests d'adsorption et aussi pour la caractérisation physicochimique, selon le [tableau 27](#) :

**Tableau 27** : Caractéristiques physicochimiques des bio-adsorbants

| Paramètre    | Coquilles d'œufs | Chitine    | Sciure    |
|--------------|------------------|------------|-----------|
| MS           | 99,78%           | 94%        | 74,65%    |
| VS           | 0,11%            | 1,40%      | 1,93%     |
| pH           | 8,24             | 8,43       | 5,23      |
| Conductivité | 225 µs/cm        | 1011 µs/cm | 387 µs/cm |

NB : Nous avons préparé une suspension du biosorbant dans l'eau distillée, on recueille le surnageant pour la mesure de pH et conductivité.

### La microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM pour Scanning Electron Microscopy) est une technique de microscopie électronique qui permet de déterminer des détails de morphologie comme la taille, la texture, les éléments de la surface.

Son principe de fonctionnement repose sur l'interaction entre les électrons et la matière, en effet, lorsqu'un faisceau d'électrons est émis vers l'échantillon, sa surface est balayée en donnant résultat à une image de cette surface.

Pour obtenir des images de haute résolution, il faut procéder à une bonne préparation de l'échantillon, celui-ci doit être propre, homogène et plat.

L'observation microscopique des surfaces des biosorbants utilisés a été réalisée à l'aide d'un microscope de modèle « Quanta 200 FEI » au sein de la cité de l'innovation de l'université de Fès.

## II.4 Protocoles expérimentaux d'adsorption

La capacité d'adsorption d'un adsorbant donné, est le résultat de nombreuses interactions entre adsorbant/adsorbat et adsorbat/solution. Ainsi, différents facteurs peuvent influencer ce

phénomène tels que : la masse d'adsorbant, le temps de contact ou encore les caractéristiques de la solution dont le pH.

Ainsi l'étude de l'influence de ces paramètres, sur l'adsorption des polyphénols des margines, a été menée :

### **II.4.1 Effet de masse d'adsorbant**

Afin de déterminer l'effet de masse d'adsorbant sur la rétention des polyphénols à partir des margines ; nous avons procédé comme suit :

Différentes masses d'adsorbants sont mises en suspension avec 50 mL de margines dans des erlenmeyers de 250 mL, pour avoir les concentrations suivantes (g d'adsorbant/L de margines) suivantes : 10 ; 20 ; 50 et 100 g/L.

Les erlenmeyers, sont placés dans un shaker. Tout au long des expériences, la vitesse d'agitation est maintenue constante à une valeur de 140 tr/min, qui permet une bonne homogénéisation de la solution.

A la fin de l'expérience, on sépare le surnageant de l'adsorbant par filtration. La concentration résiduelle en polyphénols totaux dans le filtrat est déterminée selon la méthode du Folin Ciocalteu.

### **II.4.2 Effet du temps de contact**

Les cinétiques d'adsorption des polyphénols sur les différents adsorbants ont été étudiées. Une masse fixe des adsorbants a été mise en contact avec les margines et agitées à 140 tr/min dans un shaker.

La quantité des polyphénols adsorbée a été déterminée à des intervalles de temps allant de 30 min à 24 hrs.

### **II.4.3 Effet du pH**

Pour comprendre l'effet du pH sur l'adsorption des polyphénols, nous avons préparée des 3 suspensions d'adsorbant dans les margines pour chaque adsorbant, comme cité ci-dessus. On

Ajuste le pH par HCl ou NaOH afin d'avoir trois types de pH : acide (pH=4), neutre (pH=7) et basique (pH=9).

A la fin de l'expérience, on procède de même, et on mesure le taux de polyphénols dans le filtrat.

### II. 5 Protocoles expérimentaux de désorption

Comme cité dans l'introduction de ce chapitre, le but de ce travail est d'étudier la faisabilité de récupération des polyphénols à partir des margines par adsorption sur différents adsorbants.

Une fois adsorbés, les polyphénols doivent être récupérés à partir de l'adsorbant, cette opération est appelée **désorption**.

La désorption est l'opération inverse de la sorption (adsorption ou absorption), par laquelle les molécules adsorbées se détachent de l'adsorbant.

Afin d'étudier la désorption des polyphénols à partir d'adsorbants, nous avons testé deux solvants : l'eau et l'éthanol.

Pour faire, on mélange les adsorbants (chargés en polyphénols) avec le solvant (eau ou éthanol) dans des erlenmeyers qui sont placés ensuite dans le shaker à la vitesse 140 tr/min.

Nous avons suivi la désorption des polyphénols en fonction du temps et de même que pour les expériences d'adsorption, on mesure le taux de polyphénols libérés dans le surnageant.

#### Analyse qualitative et quantitative des désorbats

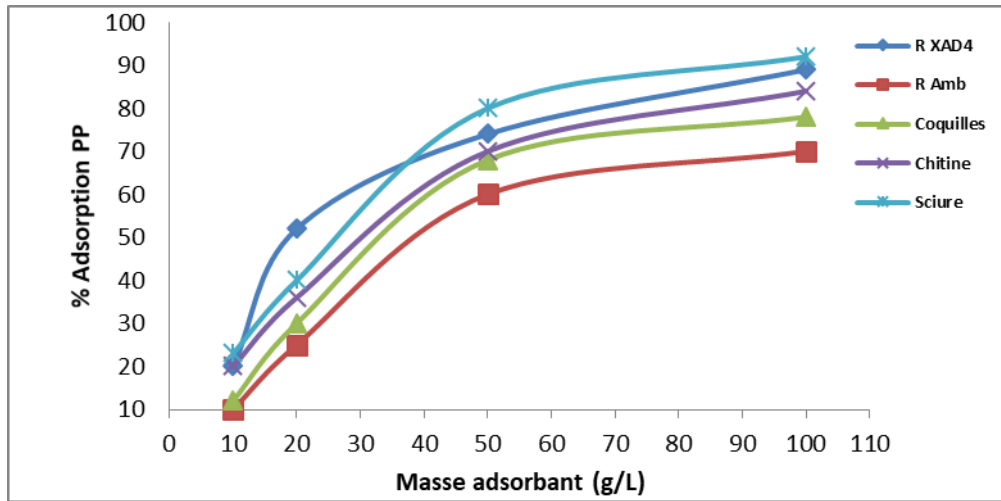
Afin de comparer l'efficacité des deux solvants, nous avons évalué les polyphénols récupérés quantitativement par la méthode de Folin Ciocalteu et qualitativement par la technique de HPLC.

### III. Résultats et discussion

#### III.1 Effet de la masse d'adsorbant

La capacité d'adsorption en batch d'un adsorbant donné, est attribuée à de nombreuses interactions existantes entre adsorbant/adsorbat et adsorbat/solution. Ainsi, différents paramètres peuvent influencer ce phénomène tels que : la masse d'adsorbant, le temps de contact ou encore les caractéristiques de la solution dont le pH.

L'adsorption des polyphénols des margines par les adsorbants préparés a été étudiée en variant la masse de l'adsorbant entre 10 et 100 g/L, les résultats obtenus sont présentés dans la figure 34 :



**Figure 34 :** Effet de la masse des adsorbants sur le pourcentage d'adsorption des polyphénols

La figure 34 montre que le pourcentage d'adsorption des polyphénols augmente lorsque la masse des biosorbants passe de 10 à 100 g/L pour atteindre un maximum de 89%, 70 %, 78 %, 84 et 92 % pour la résine XAD4, Amberlite, coquilles d'œufs, chitine et sciure de bois respectivement. Cette augmentation de la capacité d'adsorption est attribuée à une augmentation de la surface de contact et donc la disponibilité de plus de sites d'adsorption.

Cependant, l'augmentation de la masse de 50 à 100 g/L, ne conduit pas à un changement significatif du taux d'adsorption des polyphénols, cela peut être expliqué par l'agglomération des particules des biosorbants ou encore la saturation des sites d'adsorbants.

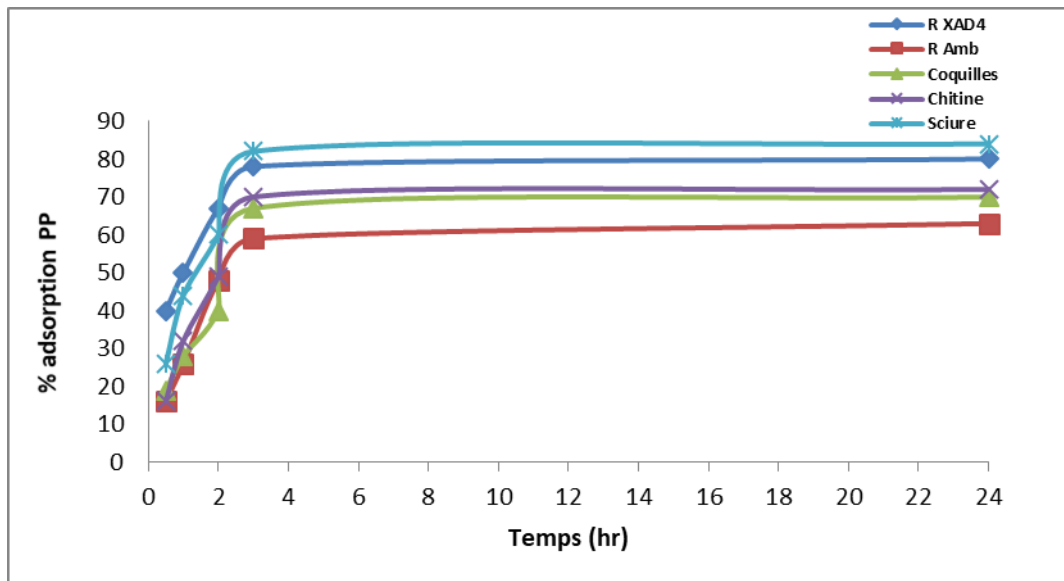
L'augmentation de la dose de l'adsorbant de 10 à 50 g / L a augmenté de manière significative le taux d'adsorption des composés phénoliques de 45 à 67% en utilisant le son de blé comme adsorbant (Achaq et al., 2014).

De leur côté, Yangui et al., (2017) ont rapporté des taux d'adsorption de polyphénols 90 et 60%, à la concentration de 100 g/L d'adsorbant pour les résines MN202 et FPX66 respectivement.

### III.2 Effet du temps de contact

Le temps de contact est un paramètre fondamental, qui joue un rôle important dans tous les phénomènes de transfert tels que l'adsorption.

L'étude consiste en la mise en contact, des margines avec une masse de 20 g/L de chacun des adsorbants et de suivre l'adsorption des polyphénols à intervalle de temps de ½ h à 24 h. Ainsi la variation du pourcentage des polyphénols adsorbés en fonction du temps est représentée dans la figure 35 :



**Figure 35 :** Effet du temps de contact sur le pourcentage d'adsorption des polyphénols

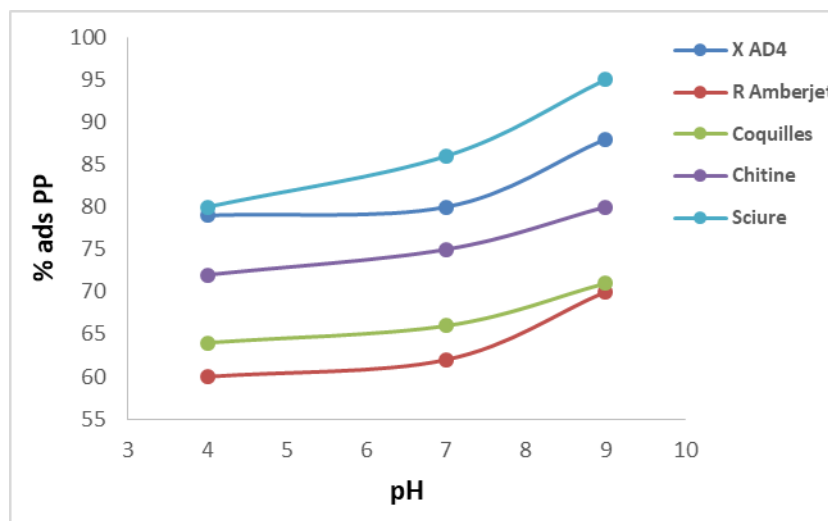
La figure 35 révèle l'existence de deux phases lors de l'adsorption des polyphénols par les cinq matériaux, une première phase relativement rapide (0 à 2H) où le pourcentage augmente rapidement avec le temps et une deuxième phase lente où le pourcentage augmente progressivement avec le temps de contact jusqu'à l'équilibre. Ceci peut être expliqué par la grande disponibilité des sites actifs vacants, à la surface des adsorbants. Au-delà de 3H, l'adsorption des polyphénols reste constante jusqu'à 24 H.

Selon Achag et al., (2014), le processus d'adsorption s'est révélé relativement rapide, l'équilibre est atteint après 4 heures du contact.

Pour Jeddi et al., (2016), Le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre est d'environ 5h pour l'adsorption de l'acide caféique et de l'acide tannique sur la bentonite.

### III. 3 Effet du pH

Le pH de la solution est un paramètre clé dans le processus d'adsorption. En effet il peut intervenir de deux manières différentes soit par modification de la charge superficielle des adsorbants, soit par modification de la chimie des adsorbats dans la solution. L'étude de l'influence du pH sur l'adsorption des polyphénols est présentée dans la figure 36 :



**Figure 36** : Effet du pH sur le pourcentage d'adsorption des polyphénols

L'allure des courbes, présentées dans la figure 36, indique que le maximum d'adsorption est atteint à des pH alcalins. Ce constat rejoint ceux de Achag et al., (2014), à pH alcalins l'adsorption des composés phénoliques est améliorée.

Par contre Ziati et al., (2017), rapportent qu'à pH acide et température ambiante ( $T = 20^{\circ}\text{C}$ ), l'adsorption des polyphénols atteint (91%).

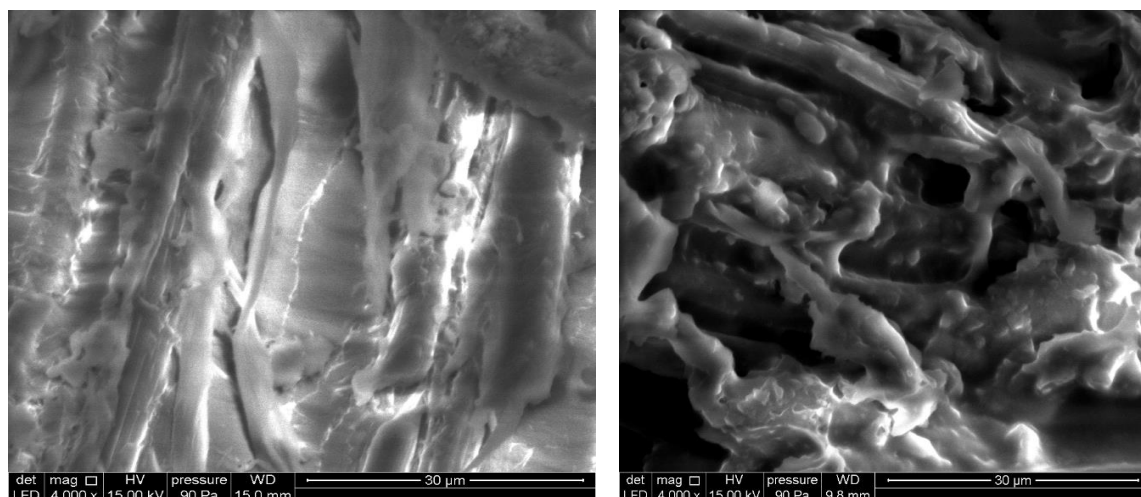
L'influence du pH sur le phénomène de l'adsorption est la résultante de plusieurs facteurs dont le pH de la surface de l'adsorbant, le pH de la solution et la constante  $pK_a$  des adsorbats.

### III.4 Etude structurale des adsorbants (MEB)

L'étude de la structure des adsorbants a été réalisée par microscope électronique à balayage. Seulement les trois bio- adsorbants ont été analysés avant et après adsorption pour comparaison

## Sciure de bois

Les images microscopiques de la sciure de bois (figure 37) montrent la présence de tubes en forme horizontale sous formes de trachées donnant une structure fibreuse, avec des vides entre les fibres correspondant à des pores irréguliers.

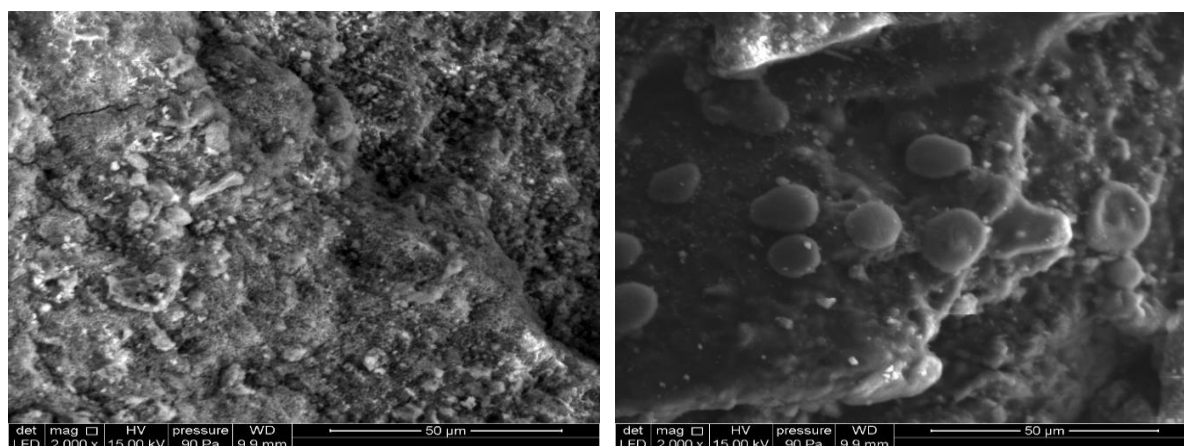


**Figure 37 :** Observations de la structure de la sciure de bois au MEB au Grossissement (4000x) avant (a) et après adsorption (b).

## Poudre de Chitine

La chitine extraite montre des agrégations assimilées à des nano particules de formes rondes, ovales et semi-ovales et très hétérogènes en taille (Figure 38).

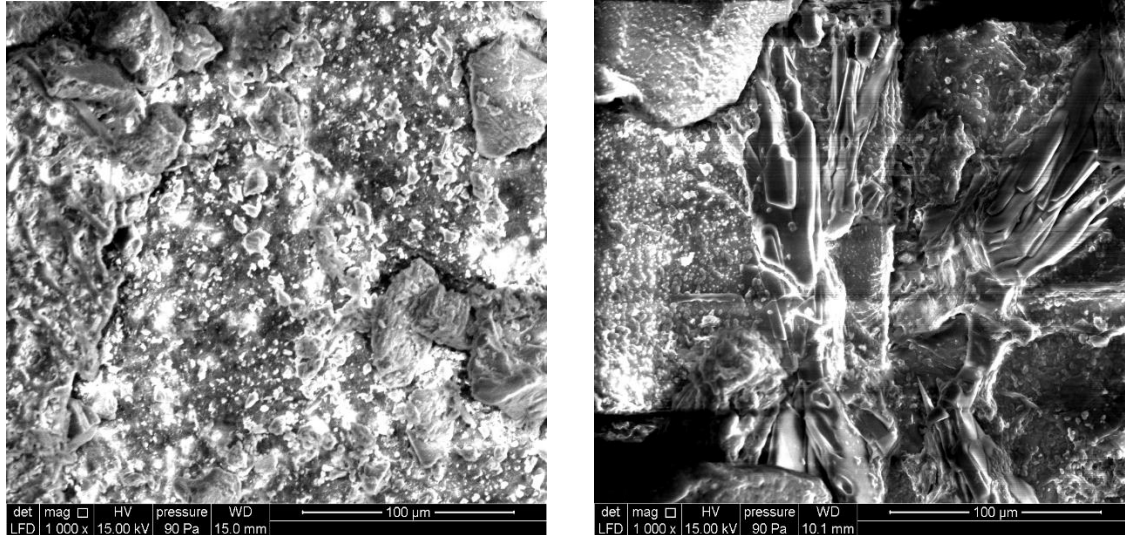
La structure de la chitine est différente selon l'espèce dont la chitine est extraite et la procédure d'extraction utilisée (Berger et al., 2014).



**Figure 38 :** Observations de la structure de la chitine au MEB au Grossissement (2000x) avant (a) et après adsorption (b).

### Coquilles d'œufs

Les coquilles d'œufs présentent une structure cristalline fibrillaire, les cristaux sont de forme et taille irrégulières (Figure 39).



**Figure 39** : Observations de la structure de la coquille d'œufs au MEB au Grossissement (1000x) avant (a) et après adsorption (b).

Pour les trois bio adsorbants, on remarque une modification de la surface des matériaux après adsorption.

La modification se fait par dépôt de particules ou bien par modification chimique de la surface suite à l'établissement de liaisons fortes.

### III.5 Cinétique de la désorption

Afin de récupérer les polyphénols adsorbés, nous avons mené une étude de désorption de ces composés en utilisant deux solvants à savoir l'eau et l'éthanol. Les solvants ont été choisis car ils sont disponibles, non toxiques et de grade alimentaire.

Le taux de désorption des polyphénols a été suivi en fonction du temps, pour les deux solvants et sur les cinq adsorbants, comme indiqué sur la figure 40 :

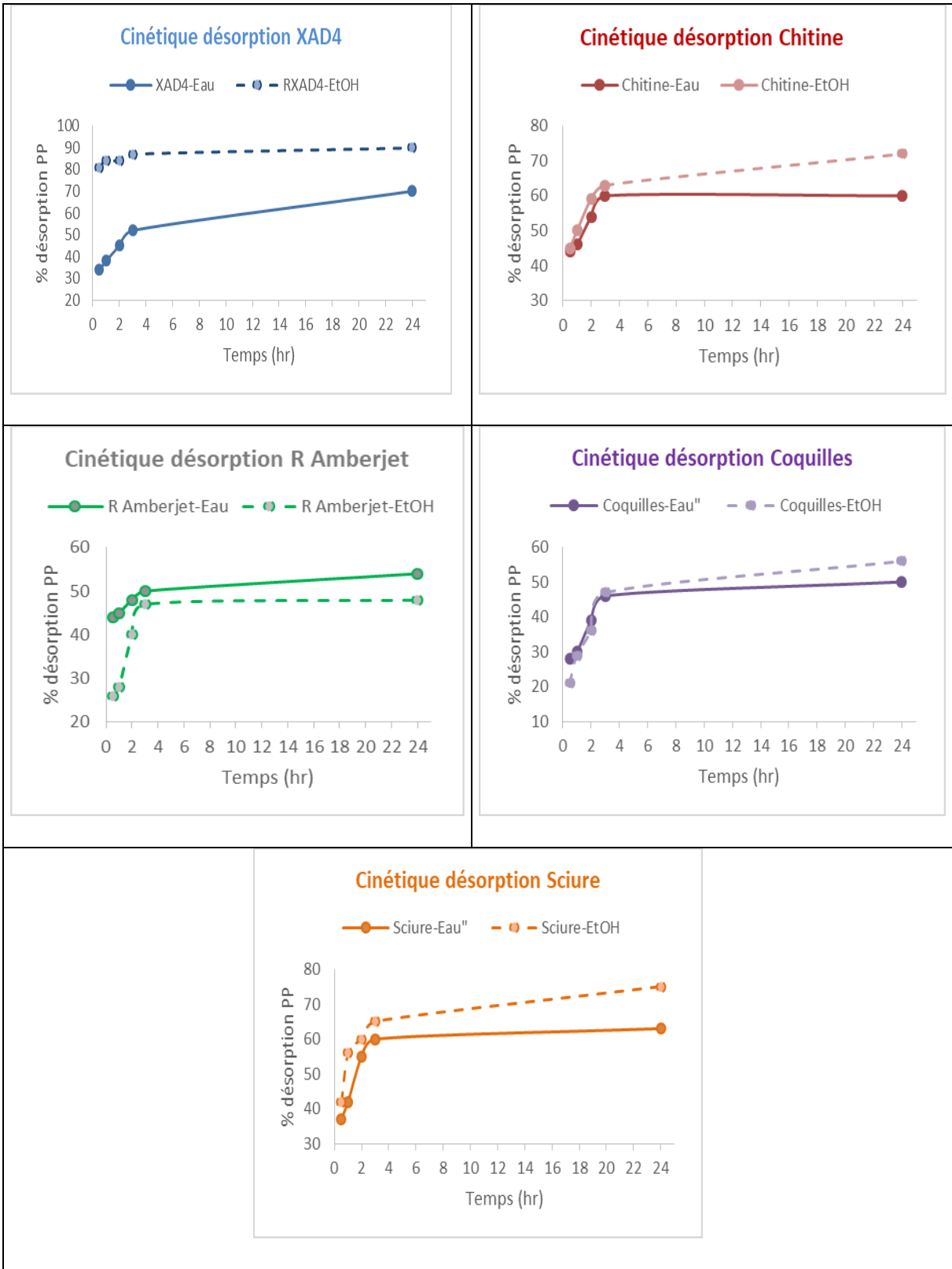


Figure 40 : Cinétiques de désorption des polyphénols des différents adsorbants

La figure 40 présente les cinétiques de désorption pour chaque adsorbant et avec deux solvants. On remarque que le taux de désorption le plus haut a été obtenu pour la résine XAD4 avec 90 %, suivi par la chitine, la sciure, la résine Amberjet et les coquilles d'œufs.

Le meilleur solvant en désorption est l'éthanol pour les adsorbants sauf dans le cas de la résine Amberjet.

Le suivi de la désorption en fonction du temps montre que l'équilibre est atteint après 3h de contact, au-delà de ce temps, la désorption se stabilise jusqu'à 24 h, ce résultat est proche de celui rapporté par Wang et al., (2019) avec un temps de désorption de 5h lors de l'adsorption des polyphénols de distillerie sur une résine macroporeuse D101.

L'éthanol est largement utilisé comme solvant de désorption des polyphénols, en raison de son efficacité et sa sécurité car il est d'origine alimentaire.

Plus de 60% des polyphénols totaux ont été récupérés en utilisant ENV + et l'éthanol comme solvant de désorption (Ferri et al., 2011).

Plus loin, certains chercheurs ont utilisé des mélange hydro alcoolique afin d'augmenter l'efficacité de la récupération des polyphénols de différentes polarités. La désorption des polyphénols a été obtenue à des fractions d'éthanol à 40% et 60% (Wang et al., 2017).

Le solvant de désorption peut déterminer le mode d'adsorption mis en jeu, ainsi :

i) Si l'eau est efficace dans la désorption, alors l'adsorption est due aux faibles liaisons ii) Si l'eau à pH alcalin, l'adsorption résulte d'un échange d'ions iii) si l'eau à pH acide, l'adsorption résulte d'une chimisorption (Achaq et al., 2013).

### III.6 Analyse qualitative des désorbats

La désorption a été étudiée en fonction du temps et par comparaison de solvants utilisés. L'efficacité de la désorption a été suivie par dosage des polyphénols totaux récupérés à partir des adsorbants testés.

Pour mieux comprendre le phénomène de transfert des polyphénols de l'adsorbant vers la solution, nous avons effectué une analyse qualitative des polyphénols des désorbats (Tableau 28).

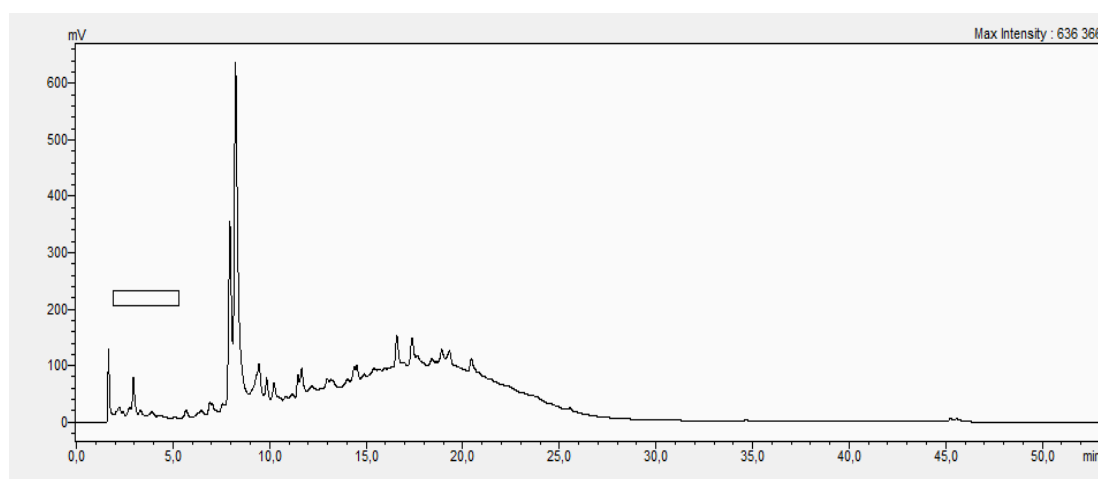
**Tableau 28** : Composition phénolique des désorbats de la sciure de bois

| Composé mg/L)    | Margines brutes | Sciure de bois |      |
|------------------|-----------------|----------------|------|
|                  |                 | Eau            | EtOH |
| Hydroxytyrosol   | <b>1260</b>     | 480            | 680  |
| Tyrosol          | <b>290</b>      | 120            | 190  |
| Acide syringique | <b>14,1</b>     | 0              | 10   |
| Acide gallique   | <b>12</b>       | 7,2            | 8    |
| Lutéoline        | <b>2,3</b>      | 0              | 1    |
| Catéchol         | <b>60</b>       | 0              | 25   |
| Acide caféique   | <b>35</b>       | 22             | 0    |

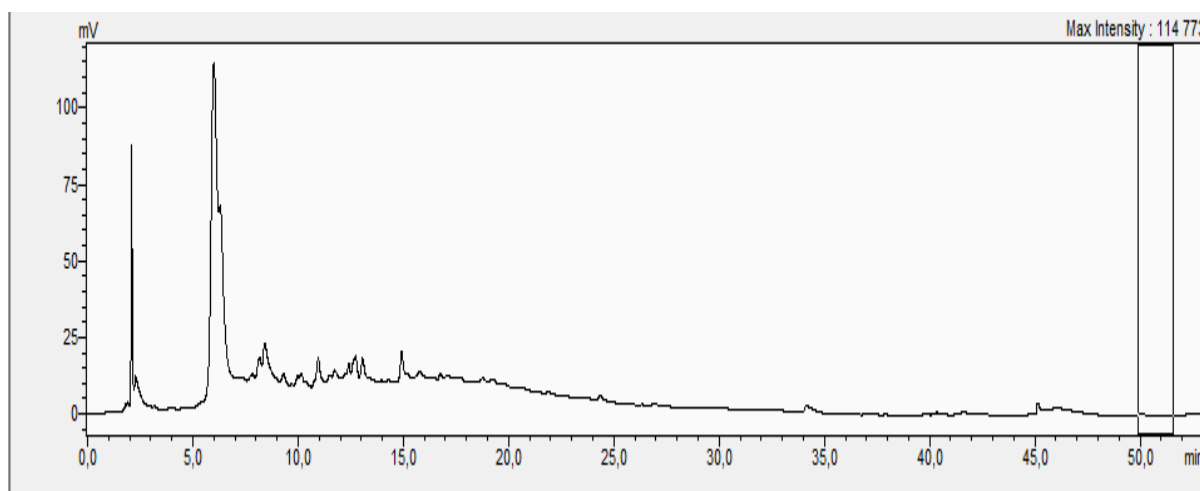
L'analyse qualitative des polyphénols des adsorbats (tableau 28) montre une diversité des composés détectés, cette composition varie selon l'adsorbant et le type de solvant utilisé. Pour la sciure de bois, on remarque que l'hydroxytyrosol et tyrosol sont les principaux composés détectés pour les deux solvants testés. D'autres composés sont seulement détectés dans le désorbat avec l'éthanol, c'est le cas de l'acide syringique, catéchol et lutéoline.

Par contre, l'acide caféique a été récupéré par l'eau et non par l'éthanol.

#### a) Margines brutes



#### b) Sciure de bois -Ethanol



**Figure 41** : Chromatogrammes HPLC des margines brutes a) et du désorbat de la sciure de bois-Ethanol b).

La comparaison des chromatogrammes des margines brutes avant et après désorption montre que la majorité des polyphénols des margines sont récupérés par l'éthanol (Figure 41 a et b).

L'adsorption compétitive et la sélectivité du phénol et de l'hydroxytyrosol sur les résines (FPX66) et (MN202) ont été étudiées par Yangu et al., (2017). Grâce à la grande affinité de l'hydroxytyrosol pour la résine MN202, son adsorption et sa récupération étaient supérieures à 90%.

Pour Wang et al., (2017), la composition phénolique des désorbats montre que L'acide gallique, l'hydroxytyrosol, le tyrosol et l'acide férulique sont les principaux composés détectés.

## IV. Conclusion

L'objectif de ce chapitre était d'évaluer le pouvoir adsorbant de cinq adsorbants pour la récupération des polyphénols à partir des margines. Les expériences d'adsorption ont été effectuées à l'échelle du laboratoire en batch et les résultats ont montré que les adsorbants peuvent être utilisés efficacement pour la récupération des polyphénols avec des taux de récupération jusqu'à 75 %.

Une étude de l'influence des différents paramètres a été réalisée, afin de comprendre l'effet de chaque paramètre indépendamment sur la capacité d'adsorption des matériaux adsorbants, et les facteurs étudiés sont : le temps de contact, la masse d'adsorbant, et le pH.

Cette étude a révélé que les meilleurs taux d'adsorption des polyphénols sont obtenus dans le cas de la sciure de bois à une dose de 50 g/L, pendant un temps de contact de 3 heures et à pH alcalin.

L'étude de la désorption des polyphénols à partir des adsorbants a été réalisée par le suivi de la cinétique de la désorption et par comparaison de deux solvants (l'eau et l'éthanol).

Les résultats montrent que le plus haut taux de désorption des polyphénols est obtenu dans le cas de la sciure avec l'éthanol comme solvant.

L'analyse de désorbat par HPLC indique que l'hydroxytyrosol et tyrosol sont les principaux composés détectés pour les deux solvants testés.

A la lumière de ces résultats, la récupération des polyphénols par adsorption sur des biomatériaux semble être une alternative prometteuse pour la valorisation des margines.

## Chapitre 6 :

### *Dimensionnement du pilote de traitement et valorisation des margines*

---

## **I. Introduction**

Le but de notre travail de recherche est d'étudier et proposer un procédé compact de traitement et valorisation des margines par la technologie de biogaz.

Le projet s'intéresse d'abord au choix technologique pour la production de biogaz à partir des margines d'olives au niveau de la région de Fès avant d'être généralisé aux autres centres de production à l'échelle nationale.

Cette étude doit établir les solutions techniques envisageables pour la réalisation d'une unité de méthanisation comme filière de traitement biologique des margines d'olive, avec une approche technico-économique du fonctionnement de l'installation.

## **II. Objectifs du projet**

### **II.1 Environnementaux**

- ✓ Préservation des ressources hydriques de la ville de Fès (principalement Oued Sebou) de la pollution causée par les margines.
- ✓ Protection du sol et des cultures, contre le risque de phyto-toxicité des margines
- ✓ Traitement des margines avant d'être acheminées vers la station d'épuration des eaux usées et donc éviter l'arrêt de celle-ci pendant la saison oléicole
- ✓ Production d'une énergie renouvelable et propre utilisable pour les besoins énergétiques des unités de trituration
- ✓ Produire un amendement organique (le digestat) qui se substitue aux engrais chimiques
- ✓ Réduire les odeurs des effluents organiques
- ✓ Apporter des valorisations à des coproduits non valorisés
- ✓ Développer l'autonomie énergétique
- ✓ Réduire les émissions de gaz à effet de serre par la réduction de l'usage d'énergies fossiles ou d'engrais chimiques

### **II.2 Socioéconomiques**

- Transfert de la technologie dans le cadre de recherche et développement de l'université vers le secteur socio-économique.
- Promotion de l'innovation de la recherche dans la valorisation des produits et sous-produits de l'olivier

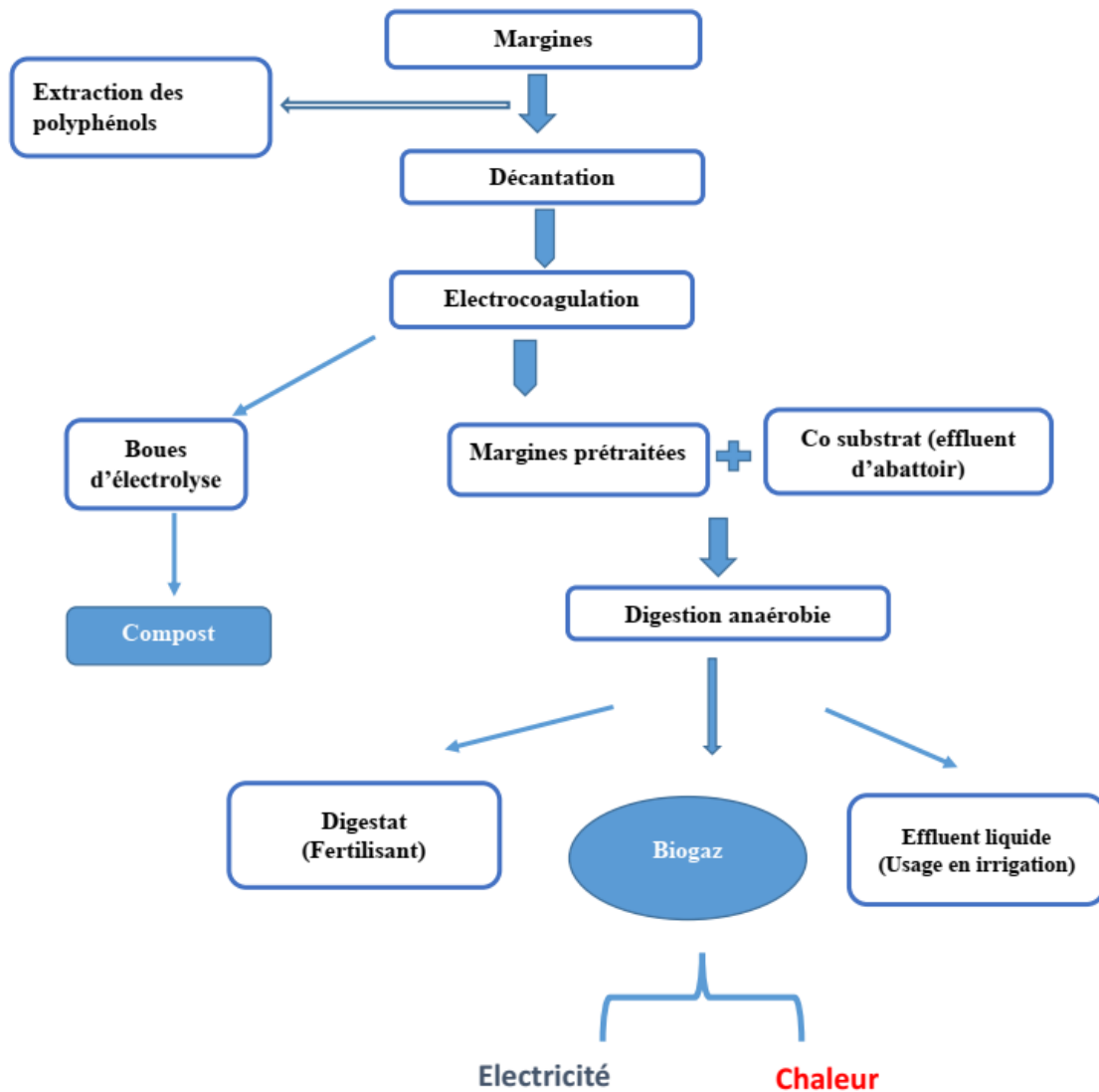
- Formation dans le domaine du traitement des eaux usées.
- Mise en place d'une structure d'étude et d'exploitation des données
- Elaboration de projets de recherche avec recrutement de chercheurs dans le secteur industriel de la ville de Fès et dans les autres villes du Maroc

### **II.3 Industriels**

- Créer des sources de revenus complémentaires, stables
- Produire de la chaleur pour différentes activités
- Solution technique pour les producteurs d'huile d'olive afin de s'aligner avec les exigences réglementaires pour la gestion des effluents oléicoles
- Création d'emploi correspondant à différents niveaux de qualification
- Créer de nouveaux débouchés industriels : vente de matériel, services techniques ....

### III. Schéma du procédé de valorisation des margines

La figure 42 montre les différentes étapes, entrées et sorties du schéma de valorisation des margines :



**Figure 42 :** Schéma général de valorisation des margines

### III.1 Matières premières

- Margines : issus de l'unité de trituration d'olive selon le procédé à trois phases (figure 43)



Figure 43 : photos des margines

- Effluent d'abattoir de viandes rouges (Figure 44)



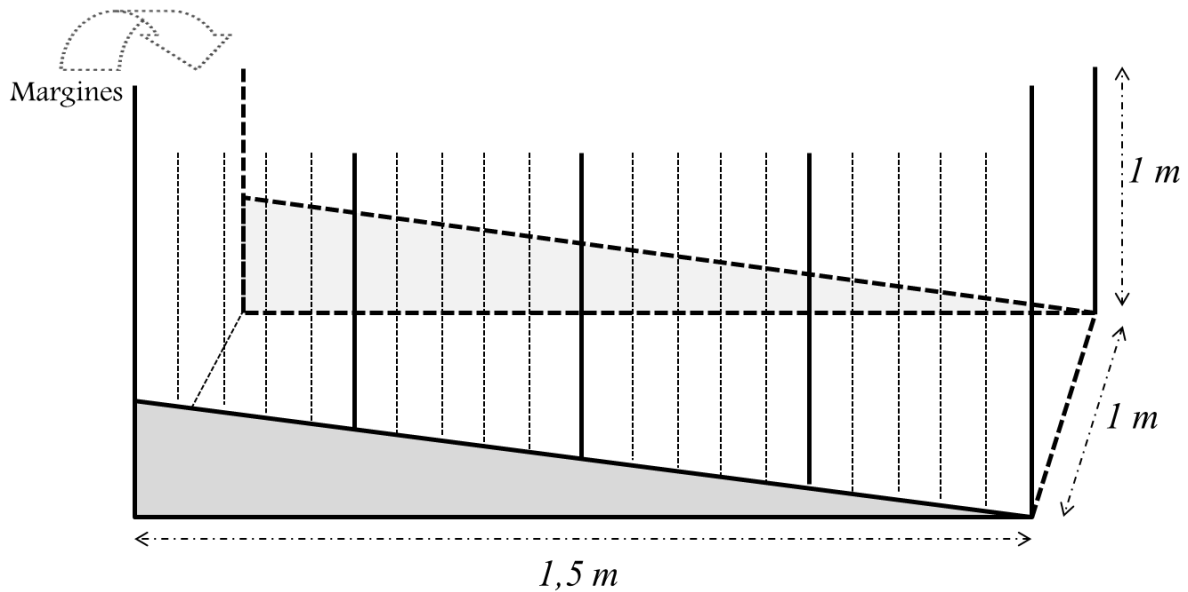
Figure 44 : photos des effluents d'abattoir de viandes rouges

### III.2 Méthodes analytiques

- Mesure de pH des effluents bruts et du mix à l'entrée du digesteur
- Détermination de la DCO, concentration en polyphénols

### III.3 Dispositif d'Electrocoagulation

La cuve d'électrocoagulation à l'échelle pilote comporte quatre compartiments et dans chaque compartiment il y a 4 emplacements pour les électrodes avec une distance de 3 cm entre elles. Le volume utile de cette cuve est de 1 m<sup>3</sup>. Voir figure ci-dessous (figure 45) :



**Figure 45** : Schéma du Bassin d'électrocoagulation des margines d'un volume utile de  $1 \text{ m}^3$ .



**Figure 46** : Photographie du système d'électrocoagulation  
(<http://www.dlk.ch/index.php/fr/electrocoagulation>)

L'électrolyseur est divisé en plusieurs compartiments, délimités par des cloisons (Figure 46). Dans les compartiments se situent une série d'électrodes, chacune d'entre elles étant reliée à l'une des bornes d'une source d'énergie électrique. Les électrodes sont constituées d'un alliage de fer soluble.

Les éléments de la cuve sont :

- Environ. 15 électrodes en fer (faciles à remplacer pour l'entretien et le fonctionnement).
- Système pneumatique de nettoyage du réacteur à travers des diffuseurs.
- Connexions pour : alimentation, soutirage.
- Vannes manuelles en entrée et sortie.

- Armoire électrique
- Dispositif de protection contre les surtensions pour protéger l'équipement électrique
- Boutons poussoirs et autres indicateurs.
- Autres appareils électriques de commande.

### III.4 Le digesteur

- Un seul digesteur de type SBR anaérobie composé d'une cuve en acier inoxydable (modèle sur la figure 47)
- Volume =  $2,5 \text{ m}^3$  (volume utile =  $2 \text{ m}^3$ ) pour prévenir les surcharges et la surpression



**Figure 47 :** Exemple de digesteur pilote (SBR anaérobie)

(<https://www.enviropro.co.uk/entry/40108/Wehrle-Environmental/Sequenced-batch-reactor>)

- T° de fonctionnement =  $37 \text{ °C}$  par un thermostat permettant de fonctionner en mésophile ou en conditions thermophiles. Le refroidissement, se produit grâce à une conduite d'eau directement raccordée au réacteur, chaque fois que la température dépasse les seuils définis.
- Pendant la phase de réaction, le contenu du digesteur est agité grâce à un moteur à vitesse de rotation variable.
- Alimentation par une pompe à partir d'un réservoir de mélange des deux substrats (marges et effluent d'abattage)
- Analyseur de gaz portable pour l'analyse qualitative et quantitative de biogaz (modèle sur la figure 48).



**Figure 48 : Analyseur de biogaz**

([https://fr.made-in-china.com/co\\_shiantech/product\\_Biogas-Detector-H2s-O2-CH4-CO2-Infrared-Sensor-Biogas-Analyzer\\_rneiyrng.html](https://fr.made-in-china.com/co_shiantech/product_Biogas-Detector-H2s-O2-CH4-CO2-Infrared-Sensor-Biogas-Analyzer_rneiyrng.html))

### III.4.1 Temps de fonctionnement

En dépit de la saisonnalité de l'activité de trituration des olives, qui dure seulement 3 mois, la co-digestion des margines avec un substrat disponible toute l'année permet un fonctionnement continu du digesteur (durant toute l'année)

### III.4.2 La production de biogaz

Selon l'étude de la co-digestion des margines avec l'effluent d'abattoir en mode continu, la limite de charge organique à appliquer est de 10 g DCO/L/j ; or et pour éviter une surcharge dans le réacteur, nous avons choisi d'opter pour une charge de **8 g DCO/L/j**.

- ✓ Pour un volume de digesteur de **2 m<sup>3</sup>**, la DCO équivalente au volume de digesteur est de 16000 g
- ✓ Avec une DCO moyenne de l'effluent d'entrée égale à 22 g/L, le débit journalier est estimé à 711 L/jour
- ✓ En tenant compte du potentiel méthane des deux substrats :  
 Margines = 700 L/kg DCO)  
 Effluent d'abattoir = 314 L/kg DCO  
 Potentiel du mélange (50/50)= 507 L/kg DCO  
 Avec une charge journalière de **8 g DCO/L/j**  
 Nous avons une production journalière de méthane de 8,11 m<sup>3</sup> /jour, Ce qui revient à une production annuelle de 2960 m<sup>3</sup> /an.

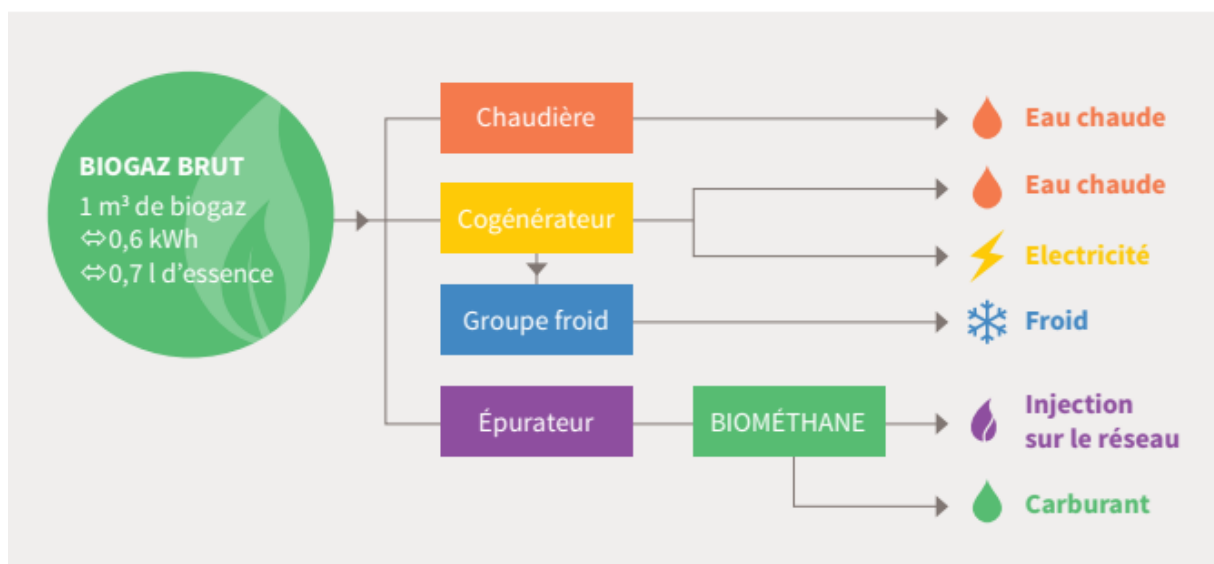
### III.4.2 Stockage de biogaz

Le biogaz produit est stocké dans un gazomètre ( $2\text{m}^3$ ) à pression réduite (2 à 3 mbar en général) : il est lié au digesteur .le gazomètre est équipé de torchère puis des soupapes de sécurité permettent d'évacuer le biogaz excédentaire en cas de trop forte pression.

## IV. Valorisation des sous-produits

### IV.1 Production chaleur et d'électricité

Afin de valoriser le bio méthane produit comme source de chaleur et d'électricité, nous proposons un système de cogénération qui permet de produire les deux formes d'énergies : Electricité et chaleur (Figure 49)



**Figure 49** : Les différentes formes de valorisation de biogaz (ADEME, 2019)

**L'électricité** est utilisée pour les besoins de la station

Pour calculer l'électricité produite, nous avons besoin du taux de la production annuelle du méthane et du rendement électrique, symbolisé par  $\mu$  et définie comme le rapport entre l'énergie utile et l'énergie reçue

$$\mu = \text{énergie utile} / \text{énergie absorbée}$$

Pour le cas de la production d'électricité à partir de biogaz, le rendement électrique est estimé à 38,9 %.

L'énergie électrique produite en KWh/an est calculée selon la formule suivante

$$\text{electricity produced } \left( \frac{\text{kWh}}{\text{year}} \right) = \frac{\eta_{\text{electr}} * \text{methane produced } \left( \frac{\text{m}^3}{\text{year}} \right) * 9.97 \left( \frac{\text{kWh}}{\text{m}^3} \right)}{100}$$

Sachant que l'énergie équivalente du méthane est égale à 9.97 kWh/ m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>

**L'énergie électrique = 11479 kWh/an**

En divisant sur le nombre d'heures par année, on obtient **Kwe= 1,31**

**Remarque :** il faut tenir compte des besoins en électricité de la station de méthanisation, estimés à 40 % de l'électricité produite, ce qui revient à **4591 kWh /an** (Mas Bolaños, 2017).

**La chaleur** est utilisée pour le chauffage du digesteur et autres

De même pour le calcul de l'énergie thermique, sauf que le rendement thermique est estimé à 41,3 %

**L'énergie thermique produite est égale à 12188 kWh/an**

## IV.2 Séparation de biogaz

### Elimination de H<sub>2</sub>S

Cette étape permet de séparer le bio méthane des autres gaz présents notamment le H<sub>2</sub>S qui provient de la réduction du soufre et de sulfates contenus dans les substrats de départ, notamment pour les substrats d'origine animale riches en protéines, acides aminés. Le H<sub>2</sub>S ne gêne pas la combustion du biogaz dans le système de production de chaleur mais il peut présenter des risques de corrosion des composantes métalliques et canalisations.

Pour la désulfurisation de biogaz, différents procédés sont possibles, soit biologiques : passage sur colonne de bactéries désulfurisantes, injection d'oxygène dans le biogaz pour transformer l'hydrogène sulfuré en soufre solide ; ou physicochimiques : précipitation après ajout d'une solution de sel de fer chlorure de fer, adsorption sur charbon actif, lavage à l'eau (Abatzoglou et al., 2009).

La technique proposée est une tour de lavage à l'eau ; le biogaz brut est mis en contact dans une tour et l'H<sub>2</sub>S du biogaz migre préférentiellement dans la phase liquide.

### Elimination de l'eau

Le biogaz contient une quantité de l'eau, celle-ci ne doit pas entrer en contact avec les composantes mécaniques de la ligne de valorisation du biogaz (électrovannes, capteurs...).

À pression élevée ou basse température, l'eau du biogaz est condensée.

Une solution simple consiste à faire circuler le biogaz dans les canalisations souterraines à température constante d'environ 10°C, à cette température le biogaz est refroidi et l'eau sera condensée sur les parois de la canalisation.

Afin d'éviter la stagnation de l'eau condensée dans les canalisations, celles-ci doivent être installées avec une pente constante de 1,5% minimum afin de drainer l'eau condensée vers des pots de purges.

Ce système est simple à mettre en place et ne consomme pas d'énergie, il est surtout adapté aux petites exploitations.

### IV.3 La cogénération

Le système de cogénération se compose d'un moteur à gaz, d'un alternateur et de circuits de récupération de la chaleur. Le méthane est brûlé dans le moteur puis l'énergie mécanique du moteur est transformée en électricité par l'alternateur. L'énergie thermique produite par le moteur sur les circuits d'échappement, d'eau de refroidissement et d'huile de lubrification sont récupérables pour obtenir soit la chaleur ou la vapeur (selon les besoins)

La cogénération de petite puissance (inférieur à 36 kW) désigne un module capable de produire simultanément de la chaleur et de l'électricité à partir du biogaz (Figure 50).

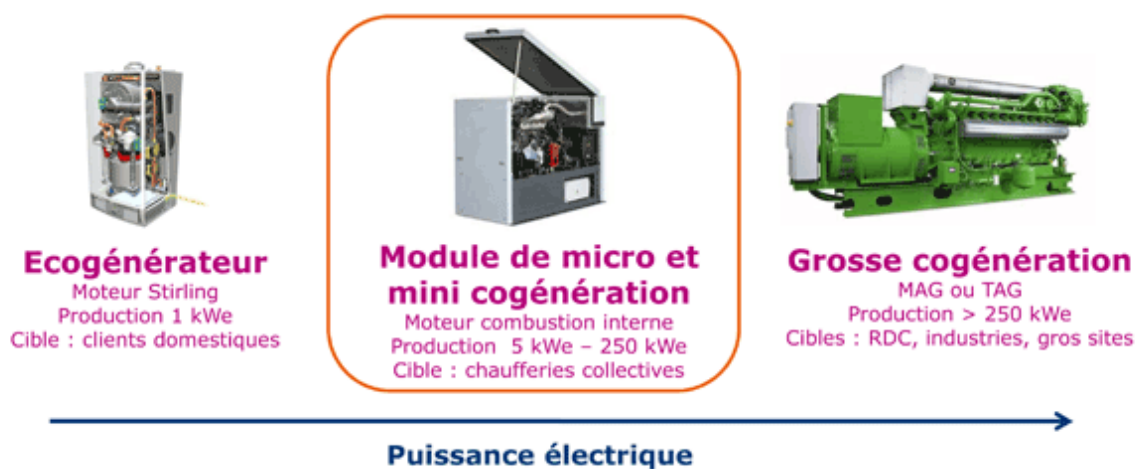


Figure 50 : Co-générateurs pour biogaz

Un module de micro ou mini cogénération se présente sous la forme d'une enceinte compacte intégrant les éléments suivants :

- Moteur à combustion interne
- Alternateur qui produit un courant alternatif triphasé 400v-50hz
- Echangeurs pour récupérer l'eau chaude jusqu'à 90°C
- Isolation phonique pour les bruits de fonctionnement
- Armoire électrique de régulation
- Système d'évacuation des produits de combustion

#### IV.4 Valorisation du digestat

Le digestat est le produit résiduel après l'achèvement de la digestion anaérobie. Il contient des éléments fertilisants et de la matière organique non dégradée par les méthanogènes, ce qui lui confère des propriétés agronomiques intéressantes (Figure 51).

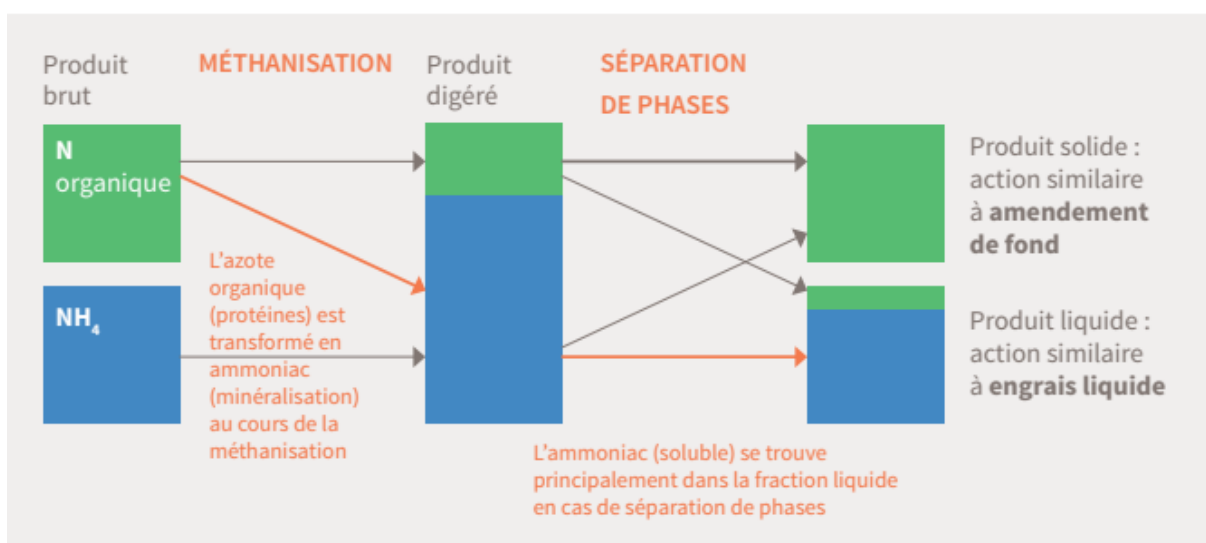


Figure 51 : Le digestat de la méthanisation (ADEME, 2019)

##### III.4.1 Les propriétés du digestat

**Fertilisation** : les éléments fertilisants N, P, K conservent leur taux total, mais leur forme ionique est modifiée. L'azote organique est minéralisé en ammoniac NH<sub>4</sub>, forme plus facilement assimilable par les plantes.

**Amendement en matière organique** : il faut noter que la matière organique n'est pas complètement dégradée et transformée en biogaz, mais plutôt, une fraction non dégradable ou récalcitrante reste dans le substrat. Cette matière résiduelle est restituée au sol, permettant ainsi de rétablir les équilibres physicochimiques et microbiologique du sol amendé.

**Hygiénisation** : La qualité sanitaire des digestats issus de la méthanisation est satisfaisante ,surtout que le substrat de départ ne présente pas de risques de pathogènes (les margines) , s'ajoute à cela les conditions extrêmes au sein des digesteurs anaérobies qui permet une inhibition des germes pathogènes (température, pH, anaérobie totale....), cette hygiénisation est favorable aussi, du fait qu'elle permet de réduire les odeurs fortes des substrats animales (le cas des fumiers, ou déchets animaux )

**Facilité de l'épandage** : Le digestat brut est fluide, homogène et donc plus facile à épandre sur les terres agricoles.

L'épandage du digestat doit être fait de façon à éviter la volatilisation de l'azote par l'utilisation de matériels adaptés et du respect des conditions d'épandage (pendant les périodes humides, procéder à l'enfouissement pour éviter la volatilisation en surface du sol)

## **V. Aspects économiques du projet**

L'étude économique du projet de biogaz est très importante pour estimer la rentabilité du projet et aussi pour justifier le choix de la technologie de biogaz comme procédé de traitement et valorisation des margines adapté au contexte économique marocain en général et au secteur de trituration d'olive en particulier, notamment les petites à moyennes unités de trituration.

L'étude économique repose sur trois composantes essentielles à savoir : l'investissement, les recettes et les charges d'exploitation.

### **V.1 Investissement**

Les investissements d'un projet de biogaz dépendent de plusieurs paramètres, en autres : le type de substrats utilisés, volume d'intrants, la taille de l'unité de méthanisation et le mode de valorisation du biogaz choisi.

Toutefois, des fourchettes de cout sont données selon la capacité installée, ainsi nous pouvons donner les couts d'investissements pour l'installation de méthanisation et celle de cogénération.

- Pour l'installation de méthanisation, on compte entre **3000-5000 Euro/KW** en **Espagne** pour les unités de méthanisation < 100 kW (Mas Bolaños, 2017).
- Pour l'installation de cogénération, le cout est estimé à **900 Euro/KW**

## **V.2 Les recettes**

Les recettes ou gains générés par un projet de biogaz couvrent les éléments suivants :

- La production d'énergie sous forme d'électricité et de chaleur à valoriser sur site, l'option de vente est aussi valable pour l'électricité
- La redevance pour le traitement de déchets
- Économies d'engrais réalisées grâce à l'utilisation du digestat pour la fertilisation.

## **V.3 Les charges d'exploitation**

Les charges d'exploitation regroupent principalement les composantes montrées dans le **tableau 29** :

- Les coûts de fonctionnement (contrôle technique, maintenance, frais de personnel, moyens généraux) et plus l'énergie du process (produite par le procédé même).
- Cout de matières premières : dans le cas présent, il s'agit de l'effluent d'abattoir.
- Cout de transport et logistique : principalement le transport de l'effluent d'abattoir et selon les cas, le transport du digestat si la terre agricole est loin de l'unité ou est installé le projet.

**Tableau 29** : Estimation des charges d'exploitation d'un projet de méthanisation (ADEME, 2019)

| Désignation                           | Coût estimé                    |
|---------------------------------------|--------------------------------|
| Main d'œuvre                          | 6000 MAD (3000 MAD*2)          |
| Transport de matières                 | 30 à 40 MAD/t                  |
| Entretien et réparation               | 3 à 4 % d'investissement       |
| Maintenance de Co générateur          | 4000 MAD /an                   |
| Suivi et analyses du procédé          | 10000 MAD /an                  |
| Consommables                          | 20000 MAD /an                  |
| Assurances                            | 0,5 à 1 % d'investissement /an |
| Charges fixes (comptabilité, eau....) | 20000 MAD /an                  |

## VI. Aspects réglementaires

L'activité de méthanisation est une activité de traitement et valorisation des déchets organiques de différentes origines (industrie, agriculture, élevage .....), ceci incombe qu'elle soit soumise à plusieurs réglementations qui contrôlent ces activités, on y trouve l'aspect environnement, les exigences sanitaires, la construction et aménagement, la gestion industrielle et autres.

De ce fait, tout développement de projet de méthanisation doit prendre en considération les points suivants :

### **Aménagement et construction des ouvrages de méthanisation**

- ✓ Distance entre digesteurs et habitations > 50 m
- ✓ 35 m des points d'eau,
- ✓ Local cogénération distant d'au moins 10 m des digesteurs
- ✓ Présence d'une clôture autour de l'installation
- ✓ Ventilation des locaux techniques (gaines techniques, local cogénération)
- ✓ Étanchéité des zones de stockage et de manipulation des matières
- ✓ Débitmètre et analyseur biogaz CH<sub>4</sub> et H<sub>2</sub>S, à faire contrôler tous les ans et étalonner tous les 3 ans
- ✓ Zonage avec les consignes de sécurité affiché sur le site
- ✓ Formation du personnel à la prévention des nuisances et des risques
- ✓ Interdiction du rejet direct de biogaz dans l'air (en cas de surplus, une torchère est fortement conseillée)

## VII. Conclusion

A notre connaissance, il n'y a pas d'extrapolation des procédés de traitement ni valorisation des margines à grande échelle n'a pas encore vu le jour la problématique de la pollution n'est pas encore résolue, et ne cesse de s'accroître. La pollution générée par les margines est très importante. Elle a un impact négatif sur le milieu récepteur et sur le fonctionnement de la nouvelle STEP de la ville de Fès. Cela ne permet pas aussi de tirer profit des atouts de valorisation de ce déchet disponible, riche et sans effets secondaires.

L'intérêt scientifique du projet à réaliser porte sur le traitement et la valorisation des margines par des procédés simples, non coûteux et respectueux de l'environnement avec production de

bio énergie valorisable sur site et du digeste pour amender le sol en éléments nutritifs. Un autre intérêt du présent projet est la valorisation d'un déchet liquide de l'agroalimentaire, celui de l'effluent d'abattage pour assurer une continuité de l'activité industrielle durant toute l'année.

Le procédé permet un traitement de mise en œuvre, répondant aux exigences du traitement global, en matières technique, énergétique, environnementale et économique :

- Les différents produits générés par le procédé de traitement des margines : biogaz, Energie électrique, bio-engrais, représentent une économie viable pour le projet.
- Les différents rejets ne contiennent ni métaux lourds, ni substances organiques nuisibles pour l'environnement.
- La solution apportée à ce problème par la présente recherche répond parfaitement aux orientations stratégiques du pays en matière du développement durable et de l'efficacité énergétique.

# **Conclusion générale et perspectives**

A travers le travail mené dans ce mémoire, nous avons contribué à l'étude de la problématique des margines, effluents liquides résultants de la trituration des olives. Notre contribution vise la proposition de quelques alternatives pour la bonne gestion des margines, en mettant l'accent sur l'aspect valorisation.

Dans un premier lieu, nous avons mené une étude de comparaison et caractérisation des margines issues de deux systèmes d'extraction d'huile d'olive. La caractérisation a porté sur la composition physicochimique, microbiologique, métallique et aussi phénolique des margines produites au niveau de la région Fès.

Les deux types de margines présentent une forte charge organique exprimée par une DCO de 298 et 125 g/L pour les margines du système à presse et celles du système continu à trois phases, respectivement. Le profil phénolique des margines est très varié mais l'hydroxytyrsol demeure le composé majoritaire avec 1446 mg/L.

La caractérisation métallique des margines a montré une composition riche en éléments métalliques principalement le potassium (7422 mg/L), sodium (1012 mg/L) et calcium (933 mg/L).

L'étude microbiologique des margines révèle que seuls les levures et champignons peuvent y croître, par contre la charge bactérienne est faible, voire nulle pour la flore de contamination fécale.

Par la suite, nous avons présenté les résultats de l'étude de prétraitement des margines par électrocoagulation.

Le traitement des margines par électrocoagulation a été réalisé en utilisant deux électrodes plates en fer, le processus a été optimisé par la méthodologie des plans d'expériences. Les paramètres optimisés sont : la densité de courant, le temps d'électrolyse.

Dans les conditions optimales, l'électrocoagulation a permis une réduction d'environ 60% de DCO et 75% de polyphénols.

L'efficacité de l'électrocoagulation a été démontrée par l'étude de l'effet antibactérien des margines brutes et traitées vis-à-vis de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes*. Pour les différentes souches testées, les margines traitées sont moins toxiques.

Le traitement des margines par électrocoagulation a également un effet positif sur la germination des graines de *Zea mays*. Par ailleurs, les margines traitées ont permis d'avoir le potentiel biogaz le plus élevé (750 mL/g DCO) en comparaison avec les margines brutes et diluées avec 300 et 600 mL/g DCO respectivement.

Dans la partie suivante, l'étude de la digestion anaérobie des margines a porté sur la co-digestion de celles-ci avec quatre substrats riches en azote : le lactosérum, l'effluent d'abattoir, le fumier avicole et les déchets verts. Après avoir caractérisé tous les substrats par mesure des paramètres physico-chimiques, des mélanges (margines : substrats) à différents rapports volumiques ont été préparés pour les tests de co-digestion en mode batch.

Le mélange margines : effluent d'abattoir à 50:50 correspond au ratio optimal avec une production de biogaz plus élevée en mode batch.

La co-digestion des margines avec l'effluent d'abattoir à (50:50) dans un réacteur séquentiel discontinu anaérobie est possible jusqu'à une charge de 9 g DCO / L / j.

Le 5<sup>ème</sup> chapitre a été consacré à une autre alternative de valorisation des margines, cette fois ci par récupération des composés phénoliques par adsorption. Ainsi cinq adsorbants ont été utilisés : la résine XAD4, la résine Amberjet CL4200 et trois bio matériaux : la sciure de bois, la chitine et les coquilles d'œufs.

Les adsorbants ont été caractérisés et préparés puis testés en mode batch. Les paramètres étudiés sont : le temps de contact, la dose de l'adsorbant et le pH de la solution.

Une bonne efficacité d'adsorption a été observée pour la sciure de bois avec une dose de 50 g/L, pendant 3 heures de contact ; à pH alcalin.

Après adsorption, les polyphénols sont récupérés par désorption à partir des adsorbants, en utilisant l'eau ou l'éthanol comme solvants de désorption.

L'éthanol a permis d'avoir les meilleurs taux de désorption avec un temps de contact de 3 heures. L'analyse qualitative du désorbat par HPLC, a montré que l'hydroxytyrosol a été bien récupéré avec une concentration de 680 mg/L.

Afin de valoriser les résultats de ces recherches à grande échelle, nous avons présenté une étude de dimensionnement d'une station pilote de traitement et valorisation des margines par la technologie de biogaz. Le système proposé comporte deux composantes : un dispositif

d'électrocoagulation suivi par un digesteur anaérobie pilote fonctionnant à une charge organique de 8 g DCO/L/jr. Le biogaz produit est valorisé sous forme d'électricité et de chaleur par cogénération.

A la lumière de ces résultats, la valorisation des margines par production de biogaz ou extraction de polyphénols représentent de bonnes options pour la gestion de ces effluents et leur exploitation comme des ressources et non des déchets polluants.

Ce travail ouvre de nombreuses perspectives de recherche et développement industriel par :

- L'étude de faisabilité de compostage des boues issues de l'électrocoagulation et leur utilisation comme amendement agricole
- Le test du pouvoir fertilisant du digestat issus de la digestion anaérobie des margines sur les cultures par des essais sur terrain.
- L'étude de l'adsorption des polyphénols sur colonnes d'adsorbants afin de mettre au point un procédé intégré d'extraction et enrichissement des polyphénols des margines.
- L'exploitation des polyphénols extraits dans des applications en agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique en tant que conservateurs naturels
- L'étude technico-économique des différentes alternatives de valorisation de margines pour fournir des solutions clés en main au profit des industriels.

# Références bibliographiques

- Abatzoglou, N., & Boivin, S. (2009). A review of biogas purification processes. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 3(1), 42-71.
- Abdulrahman, I., Tijani, H. I., Mohammed, B. A., Saidu, H., Yusuf, H., Ndejiko Jibrin, M., & Mohammed, S. (2014). From garbage to biomaterials: an overview on eggshell based hydroxyapatite. *Journal of Materials*, 2014.
- Abrunhosa, L., Oliveira, F., Dantas, D., Gonçalves, C., & Belo, I. (2013). Lipase production by *Aspergillus ibericus* using olive mill wastewater. *Bioprocess and biosystems engineering*, 36(3), 285-291.
- Achak, M., Hafidi, A., Mandi, L., & Ouazzani, N. (2014). Removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by adsorption onto wheat bran. *Desalination and Water Treatment*, 52(13-15), 2875-2885.
- Achak, M., Hafidi, A., Ouazzani, N., Sayadi, S., & Mandi, L. (2009). Low cost biosorbent “banana peel” for the removal of phenolic compounds from olive mill wastewater: Kinetic and equilibrium studies. *Journal of hazardous materials*, 166(1), 117-125.
- Achak, M., Ouazzani, N., Yaacoubi, A., & Mandi, L. (2008). Caractérisation des margines issues d’une huilerie moderne et essais de leur traitement par coagulation-floculation par la chaux et le sulfate d’aluminium. *Revue des sciences de l’eau/Journal of Water Science*, 21(1), 53-67.
- Achur, R. N. (2018). Isolation and characterization of chitin from Millipede (Spirobolida). *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 79(1), 30.
- Adyel, T. M., Rahman, S. H., Zaman, M. M., Sayem, H. M., Khan, M., Gafur, A., & Islam, S. M. (2013). Reuse feasibility of electrocoagulated metal hydroxide sludge of textile industry in the manufacturing of building blocks. *Journal of Waste Management*, 2013.
- Aggoun, A.M., (2016) .Caractérisation de la composition en micro constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri-Constantine.
- Agri Maroc (2017) .Valoriser les sous-produits de l’olive en compost. ([www.agrimaroc.ma](http://www.agrimaroc.ma)).
- Agri Maroc (2018). Agropole olivier Meknès : Valorisation des coproduits oléicoles. ([www.agrimaroc.ma](http://www.agrimaroc.ma)).
- Ahmed, P. M., Fernández, P. M., de Figueroa, L. I., & Pajot, H. F. (2019). Exploitation alternatives of olive mill wastewater: production of value-added compounds useful for industry and agriculture. *Biofuel Research Journal*, 6(2), 980-994.
- Aissam, H., Penninckx, M. J., & Benlemlih, M. (2007). Reduction of phenolics content and COD in olive oil mill wastewaters by indigenous yeasts and fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(9), 1203-1208.
- Aissam,H., (2003).Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l’enzyme tannase. Thèse De Doctorat .Universite Sidi Mohamed Ben Abdellah.
- Akratos, C. S., Tekerlekopoulou, A. G., Vasiliadou, I. A., & Vayenas, D. V. (2017). Cocomposting of olive mill waste for the production of soil amendments. In *Olive Mill Waste* (pp. 161-182). Academic Press.
- Al Sagheer, F. A., Al-Sughayer, M. A., Muslim, S., & Elsabee, M. Z. (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate polymers*, 77(2), 410-419.

- Alfano, G., Lustrato, G., Lima, G., & Ranalli, G. (2009). Present and future perspectives of olive residues composting in the Mediterranean Basin (CompMed). *Dynamic Soil, Dynamic Plant*. Global Science Books, Isleworth, UK, 39-56.
- Allouche, N., Fki, I., & Sayadi, S. (2004). Toward a high yield recovery of antioxidants and purified hydroxytyrosol from olive mill wastewaters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2), 267-273.
- Altieri, R., Esposito, A., Parati, F., Lobianco, A., & Pepi, M. (2009). Performance of olive mill solid waste as a constituent of the substrate in commercial cultivation of *Agaricus bisporus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(8), 993-997.
- Aly, A. A., Hasan, Y. N., & Al-Farraj, A. S. (2014). Olive mill wastewater treatment using a simple zeolite-based low-cost method. *Journal of environmental management*, 145, 341-348.
- ANPO, 2019. Association Nationale des Producteurs d'Œufs de consommation/ Le Maroc a produit plus de 6,6 milliards d'œufs en 2018.
- Atanassova, D., Kefalas, P., Petrakis, C., Mantzavinos, D., Kalogerakis, N., & Psillakis, E. (2005). Sonochemical reduction of the antioxidant activity of olive mill wastewater. *Environment international*, 31(2), 281-287.
- Ayoub, S., Al-Absi, K., Al-Shdiefat, S., Al-Majali, D., & Hijazeen, D. (2014). Effect of olive mill wastewater land-spreading on soil properties, olive tree performance and oil quality. *Scientia Horticulturae*, 175, 160-166.
- Azabou, S., Najjar, W., Bouaziz, M., Ghorbel, A., & Sayadi, S. (2010). A compact process for the treatment of olive mill wastewater by combining wet hydrogen peroxide catalytic oxidation and biological techniques. *Journal of hazardous materials*, 183(1-3), 62-69.
- Badawy, M. I., Gohary, F. E., Ghaly, M. Y., & Ali, M. E. M. (2009). Enhancement of olive mill wastewater biodegradation by homogeneous and heterogeneous photocatalytic oxidation. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 673-679.
- Bargougui, L., Guergueb, Z., Chaieb, M., & Mekki, A. (2019). Co-composting of Olive Industry Wastes with Poultry Manure and Evaluation of the Obtained Compost Maturity. *Waste and Biomass Valorization*, 1-13.
- Belaqqiz, M., Tan, S. P., El-Abbassi, A., Kiai, H., Hafidi, A., O'Donovan, O., & McLoughlin, P. (2017). Assessment of the antioxidant and antibacterial activities of different olive processing wastewaters. *PloS one*, 12(9).
- Bellakhal, N., Oturan, M. A., Oturan, N., & Dachraoui, M. (2006). Olive oil mill wastewater treatment by the electro-Fenton process. *Environmental Chemistry*, 3(5), 345-349.
- Benitez, F. J., Beltran-Heredia, J., Torregrosa, J., & Acero, J. L. (1997). Treatments of wastewaters from olive oil mills by uv radiation and by combined ozone-UV radiation. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 61(1-4), 173-185.
- Berger, L. R. R., Stamford, T. C. M., Stamford-Arnaud, T. M., De Alcântara, S. R. C., Da Silva, A. C., Da Silva, A. M., ... & Maria, G. (2014). Green conversion of agroindustrial wastes into chitin and chitosan by *Rhizopus arrhizus* and *Cunninghamella elegans* strains. *International journal of molecular sciences*, 15(5), 9082-9102.

- Borja, R., Martin, A., Alonso, V., Garcia, I., & Banks, C. J. (1995). Influence of different aerobic pretreatments on the kinetics of anaerobic digestion of olive mill wastewater. *Water Research*, 29(2), 489-495.
- Bouhssine, I., Tazi, A., & Azzi, M. (2013). Treatment of olive mill wastewater by electrolysis on boron doped diamond (BDD) electrode.
- Bouknana, D., Hammouti, B., Salghi, R., Jodeh, S., Zarrouk, A., Warad, I., & Sbaa, M. (2014). Physicochemical characterization of olive oil mill wastewaters in the eastern region of Morocco. *J. Mater. Environ. Sci*, 5(4), 1039-1058.
- Brenes, M., García, A., De los Santos, B., Medina, E., Romero, C., De Castro, A., & Romero, F. (2011). Olive glutaraldehyde-like compounds against plant pathogenic bacteria and fungi. *Food Chemistry*, 125(4), 1262-1266.
- Calabrò, P. S., Fòlino, A., Tamburino, V., Zappia, G., & Zema, D. A. (2018). Increasing the tolerance to polyphenols of the anaerobic digestion of olive wastewater through microbial adaptation. *Biosystems engineering*, 172, 19-28.
- Canizares, P., Paz, R., Sáez, C., & Rodrigo, M. A. (2009). Costs of the electrochemical oxidation of wastewaters: a comparison with ozonation and Fenton oxidation processes. *Journal of Environmental Management*, 90(1), 410-420.
- Caporaso, N., Formisano, D., & Genovese, A. (2018). Use of phenolic compounds from olive mill wastewater as valuable ingredients for functional foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(16), 2829-2841.
- Carvalho, J., Ribeiro, A., Graça, J., Araújo, J., Vilarinho, C., & Castro, F. (2011). Adsorption process onto an innovative eggshell-derived low-cost adsorbent in simulated effluent and real industrial effluents.
- Cayuela, M. L., Millner, P. D., Meyer, S. L. F., & Roig, A. (2008). Potential of olive mill waste and compost as biobased pesticides against weeds, fungi, and nematodes. *Science of the total environment*, 399(1-3), 11-18.
- Chartzoulakis, K., Psarras, G., Moutsopoulou, M., & Stefanoudaki, E. (2010). Application of olive mill wastewater to a Cretan olive orchard: Effects on soil properties, plant performance and the environment. *Agriculture, ecosystems & environment*, 138(3-4), 293-298.
- Chatzistathis, T., & Koutsos, T. (2017). Olive mill wastewater as a source of organic matter, water and nutrients for restoration of degraded soils and for crops managed with sustainable systems. *Agricultural Water Management*, 190, 55-64.
- Chedeville, O., Debacq, M., & Porte, C. (2009). Removal of phenolic compounds present in olive mill wastewaters by ozonation. *Desalination*, 249(2), 865-869.
- COI, (2008). International course on water management and irrigation of olive orchards. ([www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org)).
- Crognale, S., D'Annibale, A., Federici, F., Fenice, M., Quarantino, D., & Petruccioli, M. (2006). Olive oil mill wastewater valorisation by fungi. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 81(9), 1547-1555.

- Danellakis, D., Ntaikou, I., Kornaros, M., & Dailianis, S. (2011). Olive oil mill wastewater toxicity in the marine environment: alterations of stress indices in tissues of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, 101(2), 358-366.
- Dareioti, M. A., Dokianakis, S. N., Stamatelatou, K., Zafiri, C., & Kornaros, M. (2010). Exploitation of olive mill wastewater and liquid cow manure for biogas production. *Waste Management*, 30(10), 1841-1848.
- Datta, C., Dutta, A., Dutta, D., & Chaudhuri, S. (2011). Adsorption of polyphenols from ginger rhizomes on an anion exchange resin Amberlite IR-400–Study on effect of pH and temperature. *Procedia Food Science*, 1, 893-899.
- De la Lama, D., Borja, R., & Rincón, B. (2017). Performance evaluation and substrate removal kinetics in the semi-continuous anaerobic digestion of thermally pretreated two-phase olive pomace or “Alperujo”. *Process Safety and Environmental Protection*, 105, 288-296.
- De Ursinos, J. F. R., & Padilla, R. B. (1992). Use and treatment of olive mill wastewater: current situation and prospects in Spain. *Grasas y aceites*, 43(2), 101-106.
- Derbal, K., (2009). digestion anaérobie des déchets solides mélangés avec les boues de station d’épuration. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine, Algérie.
- Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Mouliti-Mati, F., & Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48(10), 1532-1552.
- Di Bene, C., Pellegrino, E., Debolini, M., Silvestri, N., & Bonari, E. (2013). Short-and long-term effects of olive mill wastewater land spreading on soil chemical and biological properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 56, 21-30.
- Di Mauro, M. D., Giardina, R. C., Fava, G., Mirabella, E. F., Acquaviva, R., Renis, M., & D’antona, N. (2017). Polyphenolic profile and antioxidant activity of olive mill wastewater from two Sicilian olive cultivars: Cerasuola and Nocellara etnea. *European Food Research and Technology*, 243(11), 1895-1903.
- Dourou, M., Kancelista, A., Juszczak, P., Sarris, D., Bellou, S., Triantaphyllidou, I. E., & Aggelis, G. (2016). Bioconversion of olive mill wastewater into high-added value products. *Journal of Cleaner Production*, 139, 957-969.
- El Hajjouji, H., Barje, F., Pinelli, E., Bailly, J. R., Richard, C., Winterton, P., & Hafidi, M. (2008). Photochemical UV/TiO<sub>2</sub> treatment of olive mill wastewater (OMW). *Bioresource technology*, 99(15), 7264-7269.
- El Hajjouji, H., Pinelli, E., Guisresse, M., Merlina, G., Revel, J. C., & Hafidi, M. (2007). Assessment of the genotoxicity of olive mill waste water (OMWW) with the *Vicia faba* micronucleus test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 634(1-2), 25-31.
- El Hassani, F. Z., Zinedine, A., Alaoui, S. M., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2010). Use of olive mill wastewater as an organic amendment for *Mentha spicata* L. *Industrial crops and products*, 32(3), 343-348.
- El-Abbassi, A., Khayet, M., Kiai, H., Hafidi, A., & García-Payo, M. D. C. (2013). Treatment of crude olive mill wastewaters by osmotic distillation and osmotic membrane distillation. *Separation and purification technology*, 104, 327-332.

- El-Abbassi, A., Saadaoui, N., Kiai, H., Raiti, J., & Hafidi, A. (2017). Potential applications of olive mill wastewater as biopesticide for crops protection. *Science of the Total Environment*, 576, 10-21.
- El-Gohary, F. A., Badawy, M. I., El-Khateeb, M. A., & El-Kalliny, A. S. (2009). Integrated treatment of olive mill wastewater (OMW) by the combination of Fenton's reaction and anaerobic treatment. *Journal of hazardous materials*, 162(2-3), 1536-1541.
- Elhassani ,F.Z., 2009, Fertirrigation du sol par les margines: equilibres microbiologiques, détoxification et impact sur la plante. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.
- Elkacmi, R., & Bennajah, M. (2019). Advanced oxidation technologies for the treatment and detoxification of olive mill wastewater: a general review. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 9(4), 463-505.
- Elkacmi, R., Kamil, N., & Bennajah, M. (2017). Upgrading of Moroccan olive mill wastewater using electrocoagulation: kinetic study and process performance evaluation. *Journal of Urban and Environmental Engineering*, 11(1), 30-41.
- Elkacmi, R., Kamil, N., Bennajah, M., & Kitane, S. (2016). Extraction of oleic acid from Moroccan olive mill wastewater. *BioMed research international*, 2016.
- Ena, A., Pintucci, C., & Carlozzi, P. (2012). The recovery of polyphenols from olive mill waste using two adsorbing vegetable matrices. *Journal of biotechnology*, 157(4), 573-577.
- Eroglu, E., Gunduz, U., Yucel, M., & Eroglu, I. (2011). Effect of iron and molybdenum addition on photofermentative hydrogen production from olive mill wastewater. *international journal of hydrogen energy*, 36(10), 5895-5903.
- Esfandyari, Y., Mahdavi, Y., Seyedsalehi, M., Hoseini, M., Safari, G. H., Ghozikali, M. G., & Jaafari, J. (2015). Degradation and biodegradability improvement of the olive mill wastewater by peroxi-electrocoagulation/electrooxidation-electroflotation process with bipolar aluminum electrodes. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(8), 6288-6297.
- Esmail, A., Abed, H., Firdaous, M., Chahboun, N., Mennane, Z., Berny, E. H., & Ouhssine, M. (2014). Étude physico-chimique et microbiologique des margines de trois régions du Maroc (Ouazzane, Fès Boulman et Béni Mellal). *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 (1), 121, 126.
- Esmail, A., Chahboun, N., Mennane, Z., Amiyare, R., Abed, H., Barrahi, M., & Berny, E. H. (2015). Étude de l'activité antimicrobienne des margines issues de Fès Boulman vis-à-vis de souches pathogènes. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 6 (3) 869-876.
- Esteves, B. M., Rodrigues, C. S., & Madeira, L. M. (2018). Synthetic olive mill wastewater treatment by Fenton's process in batch and continuous reactors operation. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(35), 34826-34838.
- Federici, F., Fava, F., Kalogerakis, N., & Mantzavinos, D. (2009). Valorisation of agro-industrial by-products, effluents and waste: concept, opportunities and the case of olive mill wastewaters. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 84(6), 895-900.
- Fernández-Rodríguez, M. J., Rincón, B., Feroso, F. G., Jiménez, A. M., & Borja, R. (2014). Assessment of two-phase olive mill solid waste and microalgae co-digestion to improve methane production and process kinetics. *Bioresource technology*, 157, 263-269.

- Ferri, F., Bertin, L., Scoma, A., Marchetti, L., & Fava, F. (2011). Recovery of low molecular weight phenols through solid-phase extraction. *Chemical Engineering Journal*, 166(3), 994-1001.
- Fezzani, B., & Cheikh, R. B. (2010). Two-phase anaerobic co-digestion of olive mill wastes in semi-continuous digesters at mesophilic temperature. *Bioresource technology*, 101(6), 1628-1634.
- Fountoulakis, M. S., Drakopoulou, S., Terzakis, S., Georgaki, E., & Manios, T. (2008). Potential for methane production from typical Mediterranean agro-industrial by-products. *Biomass and bioenergy*, 32(2), 155-161.
- Frascari, D., Bacca, A. E. M., Zama, F., Bertin, L., Fava, F., & Pinelli, D. (2016). Olive mill wastewater valorisation through phenolic compounds adsorption in a continuous flow column. *Chemical Engineering Journal*, 283, 293-303.
- Galanakis, C. M., Tornberg, E., & Gekas, V. (2010). A study of the recovery of the dietary fibres from olive mill wastewater and the gelling ability of the soluble fibre fraction. *LWT-Food Science and Technology*, 43(7), 1009-1017.
- Gannoun, H., Omri, I., Chouari, R., Khelifi, E., Godon, J. J., Hamdi, M., ... & Bouallagui, H. (2016). Microbial community structure associated with the high loading anaerobic codigestion of olive mill and abattoir wastewaters. *Bioresource technology*, 201, 337-346.
- García, C. A., & Hodaifa, G. (2017). Real olive oil mill wastewater treatment by photo-Fenton system using artificial ultraviolet light lamps. *Journal of Cleaner Production*, 162, 743-753.
- García-Gómez, C., Rivera-Huerta, M. L., Almazán-García, F., Martín-Domínguez, A., Romero-Soto, I. C., Burboa-Charis, V. A., & Gortáres-Moroyoqui, P. (2016). Electrocoagulated metal hydroxide sludge for fluoride and arsenic removal in aqueous solution: characterization, kinetic, and equilibrium studies. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(3), 96.
- Gelegenis, J., Georgakakis, D., Angelidaki, I., Christopoulou, N., & Goumenaki, M. (2007). Optimization of biogas production from olive-oil mill wastewater, by codigesting with diluted poultry-manure. *Applied Energy*, 84(6), 646-663.
- Ghanam, J., Laaboudi, W., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2013). Response of anaerobic consortium populations to carbon/nitrogen (C/N) variation during anaerobic digestion of olive mill wastewater. *Journal of Biotechnology Letters*, 4(1), 72.
- Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A. H., & Saari, N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*, 13(3), 3291-3340.
- Ghomari, O., Sounni, F., Massaoudi, Y., Ghanam, J., Kaitouni, L. B. D., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2019). Phenolic profile (HPLC-UV) of olive leaves according to extraction procedure and assessment of antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, 23, e00347.
- Gonçalves, M. R., Freitas, P., & Marques, I. P. (2012). Bioenergy recovery from olive mill effluent in a hybrid reactor. *biomass and bioenergy*, 39, 253-260.
- Gudiña, E. J., Rodrigues, A. I., de Freitas, V., Azevedo, Z., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2016). Valorization of agro-industrial wastes towards the production of rhamnolipids. *Bioresource technology*, 212, 144-150.

- Gullón, B., Gullón, P., Eibes, G., Cara, C., De Torres, A., López-Linares, J. C., ... & Castro, E. (2018). Valorisation of olive agro-industrial by-products as a source of bioactive compounds. *Science of the Total Environment*, 645, 533-542.
- Gunay, A., & Karadag, D. (2015). Recent developments in the anaerobic digestion of olive mill effluents. *Process Biochemistry*, 50(11), 1893-1903.
- Hamdi, M. (1991). Effects of agitation and pretreatment on the batch anaerobic digestion of olive mil. *Bioresource Technology*, 36(2), 173-178.
- Hamza, M., Khoufi, S., & Sayadi, S. (2012). Fungal enzymes as a powerful tool to release antioxidants from olive mill wastewater. *Food chemistry*, 131(4), 1430-1436.
- Hanafi, F., Assobhei, O., & Mountadar, M. (2010). Detoxification and discoloration of Moroccan olive mill wastewater by electrocoagulation. *Journal of hazardous materials*, 174(1-3), 807-812.
- Hanafi, F., Sadif, N., Assobhei, O., & Mountadar, M. (2009). Traitement des margines par électrocoagulation avec des électrodes plates en aluminium. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 22(4), 473-485.
- Hodaifa, G., Agabo, C., Moya, A. J., Pacheco, R., & Mateo, S. (2015). Treatment of olive oil mill wastewater by UV-light and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system. *Int. J.*, 1, 46-53.
- Iboukhoullef, H., Amrane, A., & Kadi, H. (2016). Removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by a Fenton-like system H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Cu (II)—Thermodynamic and kinetic modeling. *Desalination and Water Treatment*, 57(4), 1874-1879.
- Jeddi, S., Ouassini, A., El Ouahaby, M., & Mghafri, H. (2016). Valorisation of natural mineral substances (NMS) at adsorption techniques: case of olive oil mill waste waters. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7, 488.
- Kallel, M., Belaid, C., Boussahel, R., Ksibi, M., Montiel, A., & Elleuch, B. (2009). Olive mill wastewater degradation by Fenton oxidation with zero-valent iron and hydrogen peroxide. *Journal of Hazardous materials*, 163(2-3), 550-554.
- Karaouzas, I., Skoulidakis, N. T., Giannakou, U., & Albanis, T. A. (2011). Spatial and temporal effects of olive mill wastewaters to stream macroinvertebrates and aquatic ecosystems status. *Water research*, 45(19), 6334-6346.
- Karunakaran, C., & Anilkumar, P. (2007). Semiconductor-catalyzed solar photooxidation of iodide ion. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 265(1-2), 153-158.
- Khaled, B., Wided, B., Béchir, H., Elimame, E., Mouna, L., & Zied, T. (2019). Investigation of electrocoagulation reactor design parameters effect on the removal of cadmium from synthetic and phosphate industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 1848-1859.
- Khoufi, S., Aloui, F., & Sayadi, S. (2006). Treatment of olive oil mill wastewater by combined process electro-Fenton reaction and anaerobic digestion. *water research*, 40(10), 2007-2016.
- Khoufi, S., Aloui, F., & Sayadi, S. (2009). Pilot scale hybrid process for olive mill wastewater treatment and reuse. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(2), 643-650.
- Khoufi, S., Hamza, M., & Sayadi, S. (2011). Enzymatic hydrolysis of olive wastewater for hydroxytyrosol enrichment. *Bioresource technology*, 102(19), 9050-9058.

- Kıpçak, E., Söğüt, O. Ö., & Akgün, M. (2011). Hydrothermal gasification of olive mill wastewater as a biomass source in supercritical water. *The Journal of Supercritical Fluids*, 57(1), 50-57.
- Komnitsas, K., Modis, K., Doula, M., Kavvadias, V., Sideri, D., & Zaharaki, D. (2016). Geostatistical estimation of risk for soil and water in the vicinity of olive mill wastewater disposal sites. *Desalination and Water Treatment*, 57(7), 2982-2995.
- Kotta, E., Kalogerakis, N., & Mantzavinos, D. (2007). The effect of solids on the electrochemical treatment of olive mill effluents. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 82(5), 504-511.
- Kougias, P. G., Kotsopoulos, T. A., & Martzopoulos, G. G. (2014). Effect of feedstock composition and organic loading rate during the mesophilic co-digestion of olive mill wastewater and swine manure. *Renewable Energy*, 69, 202-207.
- Kourmentza, C., Koutra, E., Venetsaneas, N., & Kornaros, M. (2017). Integrated biorefinery approach for the valorization of olive mill waste streams towards sustainable biofuels and bio-based products. In *Microbial Applications Vol. 1* (pp. 211-238). Springer, Cham.
- Koutrotsios, G., Larou, E., Mountzouris, K. C., & Zervakis, G. I. (2016). Detoxification of olive mill wastewater and bioconversion of olive crop residues into high-value-added biomass by the choice edible mushroom *Herichium erinaceus*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 180(2), 195-209.
- Koutrotsios, G., Larou, E., Mountzouris, K. C., & Zervakis, G. I. (2016). Detoxification of olive mill wastewater and bioconversion of olive crop residues into high-value-added biomass by the choice edible mushroom *Herichium erinaceus*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 180(2), 195-209.
- Kumar, A., & Samadder, S. R. (2020). Performance evaluation of anaerobic digestion technology for energy recovery from organic fraction of municipal solid waste: A review. *Energy*, 117253.
- Kurtz, M. P., Peikert, B., Brühl, C., Dag, A., Zipori, I., Shoqeir, J. H., & Schaumann, G. E. (2015). Effects of olive mill wastewater on soil microarthropods and soil chemistry in two different cultivation scenarios in Israel and Palestinian Territories. *Agriculture*, 5(3), 857-878.
- Kusic, H., Koprivanac, N., & Bozic, A. L. (2006). Minimization of organic pollutant content in aqueous solution by means of AOPs: UV-and ozone-based technologies. *Chemical Engineering Journal*, 123(3), 127-137.
- L'Agence de la transition écologique, 2018/ La méthanisation Comment se transforme la matière organique en énergie ? [www.ademe.fr](http://www.ademe.fr) .
- L'Agence de la transition écologique, 2019/ Réaliser une unité de méthanisation à la ferme projets de moins de 500 kWé ou 125 Nm3/h ([www.ademe.fr](http://www.ademe.fr)) .
- Lafka, T. I., Lazou, A. E., Sinanoglou, V. J., & Lazos, E. S. (2011). Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes. *Food Chemistry*, 125(1), 92-98.
- Lakhtar, H., Ismaili-Alaoui, M., Philippoussis, A., Perraud-Gaime, I., & Roussos, S. (2010). Screening of strains of *Lentinula edodes* grown on model olive mill wastewater in solid and liquid state culture for polyphenol biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(3), 167-172.

- Larif, M., Zarrouk, A., Soulaymani, A., & Elmidaoui, A. (2013). New innovation in order to recover the polyphenols of olive mill wastewater extracts for use as a biopesticide against the *Euphyllura olivina* and *Aphis citricola*. *Research on Chemical Intermediates*, 39(9), 4303-4313.
- Lee, Z. S., Chin, S. Y., Lim, J. W., Witoon, T., & Cheng, C. K. (2019). Treatment technologies of palm oil mill effluent (POME) and olive mill wastewater (OMW): A brief review. *Environmental technology & innovation*, 100377.
- Leouifoudi, I., Ziyad, A., Amechrouq, A., Oukerrou, M. A., Mouse, H. A., & Mbarki, M. (2014). Identification and characterisation of phenolic compounds extracted from Moroccan olive mill wastewater. *Food Science and Technology*, 34(2), 249-257.
- Liang, T. W., & Wang, S. L. (2015). Recent advances in exopolysaccharides from *Paenibacillus* spp.: production, isolation, structure, and bioactivities. *Marine drugs*, 13(4), 1847-1863.
- Liu, R., Tian, Q., & Chen, J. (2010). The developments of anaerobic baffled reactor for wastewater treatment: a review. *African Journal of Biotechnology*, 9(11), 1535-1542.
- Liu, W. H., Zhang, C. G., Gao, P. F., Liu, H., Song, Y. Q., & Yang, J. F. (2017). Advanced treatment of tannery wastewater using the combination of UASB, SBR, electrochemical oxidation and BAF. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 92(3), 588-597.
- Lopez, M. J., & Ramos-Cormenzana, A. (1996). Xanthan production from olive-mill wastewaters. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38(3-4), 263-270.
- Lykas, C., Vagelas, I., & Gougoulas, N. (2014). Effect of olive mill wastewater on growth and bulb production of tulip plants infected by bulb diseases. *Spanish journal of agricultural research*, (1), 233-243.
- M'hamdi, A. I., Kandri, N. I., & Zerouale, A. (2017). Adsorption study of the methylene blue on sawdust beech and red wood. *J. Mater. Environ. Sci*, 8, 2816-2831.
- Majbar, Z., (2019). Traitement des margines par un procédé couplant l'électrocoagulation et l'adsorption sur des charbons actifs de la sciure de bois d'eucalyptus et leur valorisation par la filière de compostage des déchets vinicoles. Thèse De Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 540-555.
- Markou, V., Kontogianni, M. C., Frontistis, Z., Tekerlekopoulou, A. G., Katsaounis, A., & Vayenas, D. (2017). Electrochemical treatment of biologically pre-treated dairy wastewater using dimensionally stable anodes. *Journal of environmental management*, 202, 217-224.
- Mas Bolaños, M. (2017). Feasibility study of anaerobic digestion of olive mill wastewater for energy production. Case study applied to an olive oil extraction industry in Spain (Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya).
- Masse, D. I., & Masse, L. (2001). The effect of temperature on slaughterhouse wastewater treatment in anaerobic sequencing batch reactors. *Bioresource technology*, 76(2), 91-98.
- McNamara, C. J., Anastasiou, C. C., O'Flaherty, V., & Mitchell, R. (2008). Bioremediation of olive mill wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 61(2), 127-134.
- Mechri, B., Mariem, F. B., Baham, M., Elhadj, S. B., & Hammami, M. (2008). Change in soil properties and the soil microbial community following land spreading of olive mill wastewater affects olive trees key

- physiological parameters and the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 152-161.
- Messineo, A., Maniscalco, M. P., & Volpe, R. (2019). Biomethane recovery from olive mill residues through anaerobic digestion: A review of the state of the art technology. *Science of The Total Environment*, 135508.
  - Ministère l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts ([www.agriculture.gov.ma/filière oléicole](http://www.agriculture.gov.ma/filière_oléicole)).
  - Moletta R (2008) Méthanisation de la biomasse. Tech. l'ingénieur. Editions T.I., Paris
  - Molina-Alcaide, E., & Yáñez-Ruiz, D. R. (2008). Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1-3), 247-264.
  - Mondal, P., & Ghosh, S. (2014). Biomass based indirectly heated combined cycle plant: Energetic and exergetic performance analyses. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 3(2), 9285-9294.
  - Morillo, J. A., Del Águila, V. G., Aguilera, M., Ramos-Cormenzana, A., & Monteoliva-Sánchez, M. (2007). Production and characterization of the exopolysaccharide produced by *Paenibacillus jamilae* grown on olive mill-waste waters. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(12), 1705.
  - Mudhoo, A., & Kumar, S. (2013). Effects of heavy metals as stress factors on anaerobic digestion processes and biogas production from biomass. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10(6), 1383-1398.
  - Nadour, M., Laroche, C., Pierre, G., Delattre, C., Moulti-Mati, F., & Michaud, P. (2015). Structural characterization and biological activities of polysaccharides from olive mill wastewater. *Applied biochemistry and biotechnology*, 177(2), 431-445.
  - Nasir, I. M., Mohd Ghazi, T. I., & Omar, R. (2012). Anaerobic digestion technology in livestock manure treatment for biogas production: a review. *Engineering in Life Sciences*, 12(3), 258-269.
  - Nkoa, R. (2014). Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 473-492.
  - NORDINE, N., 2018. Etude expérimentale du potentiel d'adsorption de polluants métalliques sur la sciure de bois brute et modifiée. Analyse cinétique et thermodynamique. Thèse de doctorat, UNIVERSITE DJILLALI LIABES.
  - Ntougias, S., Baldrian, P., Ehalotis, C., Nerud, F., Merhautová, V., & Zervakis, G. I. (2015). Olive mill wastewater biodegradation potential of white-rot fungi–Mode of action of fungal culture extracts and effects of ligninolytic enzymes. *Bioresource technology*, 189, 121-130.
  - Obied, H. K., Allen, M. S., Bedgood, D. R., Prenzler, P. D., Robards, K., & Stockmann, R. (2005). Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 823-837.
  - Obied, H. K., Bedgood Jr, D. R., Prenzler, P. D., & Robards, K. (2007). Bioscreening of Australian olive mill waste extracts: biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities. *Food and Chemical Toxicology*, 45(7), 1238-1248.

- OLIVAE, 2019, N°125. The olive grove in morocco ([www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org)).
- Oturan, M. A., & Aaron, J. J. (2014). Advanced oxidation processes in water/wastewater treatment: principles and applications. A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44(23), 2577-2641.
- Ouabou, E., Anouar, A., & Hilali, S. (2014). The treatment of olive oil mill wastewater by distillation followed by neutralization with lime. *Journal of Applied Biosciences*, 79, 6867-6872.
- Panizza, M., & Cerisola, G. (2006). Olive mill wastewater treatment by anodic oxidation with parallel plate electrodes. *Water Research*, 40(6), 1179-1184.
- Pavlidou, A., Anastasopoulou, E., Dassenakis, M., Hatzianestis, I., Paraskevopoulou, V., Simboura, N., ... & Drakopoulou, P. (2014). Effects of olive oil wastes on river basins and an oligotrophic coastal marine ecosystem: a case study in Greece. *Science of the total environment*, 497, 38-49.
- Pelendridou, K., Michailides, M. K., Zagklis, D. P., Tekerlekopoulou, A. G., Paraskeva, C. A., & Vayenas, D. V. (2014). Treatment of olive mill wastewater using a coagulation–flocculation process either as a single step or as post-treatment after aerobic biological treatment. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 89(12), 1866-1874.
- Pivato, A., Vanin, S., Raga, R., Lavagnolo, M. C., Barausse, A., Rieple, A., & Cossu, R. (2016). Use of digestate from a decentralized on-farm biogas plant as fertilizer in soils: An ecotoxicological study for future indicators in risk and life cycle assessment. *Waste management*, 49, 378-389.
- Poerschmann, J., Baskyr, I., Weiner, B., Koehler, R., Wedwitschka, H., & Kopinke, F. D. (2013). Hydrothermal carbonization of olive mill wastewater. *Bioresource technology*, 133, 581-588.
- Rahmani. M., (2017) Examen National de l'Export vert du Maroc : Produits Oléicoles, Romarin et Thym, United Nations, Geneva.
- Rahmanian, N., Jafari, S. M., & Galanakis, C. M. (2014). Recovery and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(1), 1-18.
- Ramírez, I. M., Tsaousi, K., Rudden, M., Marchant, R., Alameda, E. J., Román, M. G., & Banat, I. M. (2015). Rhamnolipid and surfactin production from olive oil mill waste as sole carbon source. *Bioresource technology*, 198, 231-236.
- Rigane, H., Chtourou, M., Ben Mahmoud, I., Medhioub, K., & Ammar, E. (2015). Polyphenolic compounds progress during olive mill wastewater sludge and poultry manure co-composting, and humic substances building (Southeastern Tunisia). *Waste Management & Research*, 33(1), 73-80.
- Rizzo, L., Lofrano, G., & Belgiorno, V. (2010). Olive mill and winery wastewaters pre-treatment by coagulation with chitosan. *Separation science and technology*, 45(16), 2447-2452.
- Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Parniakov, O., Galanakis, C. M., Lebovka, N., Grimi, N., & Vorobiev, E. (2015). High voltage electrical discharges, pulsed electric field, and ultrasound assisted extraction of protein and phenolic compounds from olive kernel. *Food and Bioprocess Technology*, 8(4), 885-894.
- Ruggeri, B., Battista, F., Bernardi, M., Fino, D., & Mancini, G. (2015). The selection of pretreatment options for anaerobic digestion (AD): A case study in olive oil waste production. *Chemical Engineering Journal*, 259, 630-639.

- Rusan, M. J., Albalasmeh, A. A., Zuraiqi, S., & Bashabsheh, M. (2015). Evaluation of phytotoxicity effect of olive mill wastewater treated by different technologies on seed germination of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(12), 9127-9135.
- Salido, S., Pérez-Bonilla, M., Adams, R. P., & Altarejos, J. (2015). Phenolic components and antioxidant activity of wood extracts from 10 main Spanish olive cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(29), 6493-6500.
- Sassi, A. B., Boularbah, A., Jaouad, A., Walker, G., & Boussaid, A. (2006). A comparison of Olive oil Mill Wastewaters (OMW) from three different processes in Morocco. *Process Biochemistry*, 41(1), 74-78.
- Shekhar, S., Sundaramanickam, A., & Balasubramanian, T. (2015). Biosurfactant producing microbes and their potential applications: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45(14), 1522-1554.
- Siciliano, A., Stillitano, M. A., & De Rosa, S. (2016). Biogas production from wet olive mill wastes pretreated with hydrogen peroxide in alkaline conditions. *Renewable Energy*, 85, 903-916.
- Siegert, I., & Banks, C. (2005). The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry*, 40(11), 3412-3418.
- Singh, V., & Mehta, N. (2012). Synthesis of Nano Crystalline Hydroxyapatite from Egg Shells by Combustion Method. *International Journal of Science and Engineering Investigations*, 1, 92-4.
- Song, Z., Fang, L., Wang, J., & Zhang, C. (2019). Use of biogas solid residue from anaerobic digestion as an effective amendment to remediate Cr (VI)-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(13), 13041-13053.
- Souilem, S., El-Abbassi, A., Kiai, H., Hafidi, A., Sayadi, S., & Galanakis, C. M. (2017). Olive oil production sector: environmental effects and sustainability challenges. In *Olive mill waste* (pp. 1-28). Academic Press.
- Sounni, F., Aissam, H., Ghomari, O., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2018). Electrocoagulation of olive mill wastewaters to enhance biogas production. *Biotechnology letters*, 40(2), 297-301.
- Tafesh, A., Najami, N., Jadoun, J., Halahlih, F., Riepl, H., & Azaizeh, H. (2011). Synergistic antibacterial effects of polyphenolic compounds from olive mill wastewater. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- Taylor, A. D., DiLeo, G. J., & Sun, K. (2009). Hydrogen production and performance of nickel based catalysts synthesized using supercritical fluids for the gasification of biomass. *Applied Catalysis B: Environmental*, 93(1-2), 126-133.
- Tchamango, S., Nanseu-Njiki, C. P., Ngameni, E., Hadjiev, D., & Darchen, A. (2010). Treatment of dairy effluents by electrocoagulation using aluminium electrodes. *Science of the total environment*, 408(4), 947-952.
- Trikas, E. D., Papi, R. M., Kyriakidis, D. A., & Zachariadis, G. A. (2017). Evaluation of Ion Exchange and Sorbing Materials for Their Adsorption/Desorption Performane towards Anthocyanins, Total Phenolics, and Sugars from a Grape Pomace Extract. *Separations*, 4(1), 9.

- Uğurlu, M., & Kula, I. (2007). Decolourization and removal of some organic compounds from olive mill wastewater by advanced oxidation processes and lime treatment. *Environmental Science and Pollution Research-International*, 14(5), 319-325.
- Ün, Ü. T., Uğur, S., Koparal, A. S., & Ögütveren, Ü. B. (2006). Electrocoagulation of olive mill wastewaters. *Separation and purification technology*, 52(1), 136-141.
- Uyar, B., Kars, G., Eroğlu, İ., Yücel, M., & Gündüz, U. (2012). Hydrogen production via photofermentation. In *State of the art and progress in production of biohydrogen* (pp. 54-77). Bentham Science Publishers.
- Vlyssides, A. G., Loizides, M., & Karlis, P. K. (2004). Integrated strategic approach for reusing olive oil extraction by-products. *Journal of Cleaner production*, 12(6), 603-611.
- Wang, X., Wang, S., Huang, S., Zhang, L., Ge, Z., Sun, L., & Zong, W. (2019). Purification of Polyphenols from Distiller's Grains by Macroporous Resin and Analysis of the Polyphenolic Components. *Molecules*, 24(7), 1284.
- Wang, Y., Zhang, Y., Wang, J., & Meng, L. (2009). Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass and bioenergy*, 33(5), 848-853.
- Wang, Z., Wang, C., Yuan, J., & Zhang, C. (2017). Adsorption characteristics of adsorbent resins and antioxidant capacity for enrichment of phenolics from two-phase olive waste. *Journal of Chromatography B*, 1040, 38-46.
- Yaacoubi, A., Chahlaoui, A., El yachoui, M., & Chaouch, A. (2010). Traitement des margines à pH neutre et en conditions d'aérobic par la microflore du sol avant épandage. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*, 149, 43-56.
- Yangui, A., Njimou, J. R., Cicci, A., Bravi, M., Abderrabba, M., & Chianese, A. (2017). Competitive adsorption, selectivity and separation of valuable hydroxytyrosol and toxic phenol from olive mill wastewater. *Journal of environmental chemical engineering*, 5(4), 3581-3589.
- Yilmaz, A. E., Boncukcuoğlu, R., Kocakerim, M., & Karakaş, İ. H. (2011). Waste utilization: the removal of textile dye (Bomplex Red CR-L) from aqueous solution on sludge waste from electrocoagulation as adsorbent. *Desalination*, 277(1-3), 156-163.
- Yousefifar, A., Baroutian, S., Farid, M. M., Gapes, D. J., & Young, B. R. (2017). Fundamental mechanisms and reactions in non-catalytic subcritical hydrothermal processes: A review. *Water research*, 123, 607-622.
- Zagklis, D. P., Vavouraki, A. I., Kornaros, M. E., & Paraskeva, C. A. (2015). Purification of olive mill wastewater phenols through membrane filtration and resin adsorption/desorption. *Journal of hazardous materials*, 285, 69-76.
- Zerva, A., Zervakis, G. I., Christakopoulos, P., & Topakas, E. (2017). Degradation of olive mill wastewater by the induced extracellular ligninolytic enzymes of two wood-rot fungi. *Journal of environmental management*, 203, 791-798.

**ANNEXE 1 : Milieux de culture**

| Gélose nutritive     |         |                                                |
|----------------------|---------|------------------------------------------------|
| Tryptone             | 10 g    |                                                |
| Extrait de viande    | 5 g     |                                                |
| Chlorure de sodium   | 5 g     | Le milieu est stérilisé à 120°C pendant 20 min |
| Agar agar            | 15 g    |                                                |
| Eau distillée q.s.p. | 1000 ml |                                                |

| Milieu Désoxycholate Agar (DL) |                |                                                                                              |
|--------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Peptone                        | 10 g           |                                                                                              |
| Lactose                        | 10 g           |                                                                                              |
| Désoxycholate de sodium        | 2 g            |                                                                                              |
| Dipotassium phosphate          | 2 g            | Le milieu n'est pas autoclavable, il est porté à ébullition puis coulé sur boîte stérilement |
| Chlorure de sodium             | 5 g            |                                                                                              |
| Citrate ferreux                | 1 g            |                                                                                              |
| Citrate de sodium              | 1 g            |                                                                                              |
| Rouge neutre                   |                |                                                                                              |
| Agar                           | 0,03 g<br>20 g |                                                                                              |
| Eau distillée q.s.p.           | 1000 ml        |                                                                                              |

| Milieu Slanetz et Bartley       |         |                                                |
|---------------------------------|---------|------------------------------------------------|
| Hydrolysat tryptique de caséine | 20 g    |                                                |
| Extrait de levure               | 5 g     |                                                |
| Glucose                         | 2 g     |                                                |
| Azide de sodium                 | 0,4 g   |                                                |
| Agar                            | 10 g    | Le milieu est stérilisé à 120°C pendant 20 min |
| Eau distillée q.s.p.            | 1000 ml |                                                |

### Milieu de Chapman

|                     |         |
|---------------------|---------|
| Peptone             | 11 g    |
| Extrait de viande   | 1 g     |
| Chlorure de sodium  | 75 g    |
| Mannitol            | 10g     |
| Rouge de phénol     | 0,025 g |
| Agar                | 15 g    |
| Eau distillée q.s.p | 1000 mL |

### Milieu Extrait de Malt

|                     |         |                               |
|---------------------|---------|-------------------------------|
| Extrait de Malt     | 20 g    | Le milieu est stérilisé à     |
| Agar                | 15 g    | Agar 20 g 120°C pendant 20min |
| Eau distillée q.s.p | 1000 mL |                               |

### Milieu YPG

|                     |         |                           |
|---------------------|---------|---------------------------|
| Glucose             | 20 g    |                           |
| Extrait de levure   | 10 g    |                           |
| Peptone             | 20 g    | Le milieu est stérilisé à |
| Agar                | 20 g    | 120°C pendant 20 min      |
| Eau distillée q.s.p | 1000 mL |                           |