

DEDICACES

A mes très chers PARENTS : MOHAMED ET ATIKA

Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondé en moi et réalisé aujourd'hui l'un de vos rêves. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements.

Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.

A mes chers FRÈRES : AMINE ET WALID,

Pour la tendre affection qu'ils m'ont toujours Témoignée, pour les encouragements et le soutien qu'ils m'ont accordé tout au long de mes études.

A mon cher MARI NOURDDINE

Ton amour, ton aide, ta générosité, ton soutien ont été pour moi une source de courage et de confiance. Qu'il me soit permis aujourd'hui de t'assurer mon profond amour et ma grande reconnaissance.

Je te dédie ce travail qui est aussi le tiens, en implorant DIEU le tout puissant de nous accorder une longue vie de bonheur, de prospérité et de réussite, en te souhaitant le brillant avenir que tu mérites.

A mon adorable petit enfant MOHAMED-ZAYD

Je te remercie d'avoir été gentil et patient durant mes nuits d'études. Tu as partagé avec moi cette aventure avant même ta naissance et tu continues à la vivre avec moi chaque instant. A toi mon bonheur, je dédie ce modeste travail en priant DIEU le tout puissant de te garder pour nous.

A ma chère nièce ARWA et sa maman ZINEB,

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur. Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

A la famille MIKDAME et LMRABET

Que ce travail soit l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère pour tous ce que vous avez fait pour moi.

A la famille CHOUQIRI

Vous m'avez accueilli à bras ouverts dans votre famille. En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.

Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie.

A tous mes amis et collègues

En souvenir des meilleurs moments agréables de ma vie universitaire et avec qui j'ai partagé les périodes les plus difficiles et échangé les conseils les plus sincères et le soutien moral.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Ingénierie d'Electrochimie de Modélisation et d'Environnement LIEME de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz de Fès.

Je tiens à remercier vivement Monsieur le Professeur TALEB Mustapha, Directeur de ce laboratoire pour m'avoir accepté dans sa structure de recherche. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements et l'honneur qu'il me fait en présidant le jury de ma thèse.

Je réserve une attention toute particulière à Madame le Professeur Zakia RAIS, ma Directrice de thèse. Qu'elle trouve ici l'expression de ma très vive reconnaissance pour sa disponibilité, son aide, ses critiques judicieuses et ses conseils. Votre soutien moral, vos qualités humaines et professionnelles ont fondé une ambiance favorable au travail.

Mes sincères remerciements à Madame le Professeur KHARMACH Ezzahra, professeur à la Faculté des Sciences Mohamed Premier d'OUJDA, de m'avoir accordé l'accès à son laboratoire où j'ai pu réaliser une partie de mes manipulations. Merci pour votre disponibilité, votre caractère collaboratif, à l'intérêt que vous avez porté à mes travaux et d'avoir accepté d'être un membre du jury de cette thèse.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur EL HALOUANI Hassan, professeur à la Faculté des Science de Oujda, Madame EL HAJI Mounia, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure d'Electricité et de Mécanique de Casablanca, Monsieur ABDELLAOUI Abdelfattah, professeur à la Faculté des sciences de Fès, Monsieur AINANE Tarik, professeur à l'Ecole Supérieure de Technologie de Khénifra et Madame CHEMLAL Souad d'avoir accepté de juger ce travail.

J'exprime également mes sincères remerciements à Madame CHABIR Rachida, Chef du Laboratoire Physiopathologie et Nutrition à la Faculté de Médecine et de pharmacie de Fès, pour m'avoir permis d'y mener une partie de mes expérimentations dans ce laboratoire.

Je remercie aussi monsieur ELOUTASSI Nourddine, professeur au centre régional des Métiers de l'Education et de la Formation (CRMEF) région Fès-Meknès, pour son aide.

Un merci particulier à monsieur BEN ABBOU Mohammed pour le grand effort fourni pour la réalisation de ce travail.

J'exprime mes sincères remerciements à Mademoiselle MTARFI Nourelhouda, qui a participé de près à la réussite de ce travail.

Un grand merci à monsieur ROKNI Yahya pour sa disponibilité, son aide et son soutien.

Je tiens aussi à remercier vivement mes collègues qui m'ont soutenu : Dr. TAOUDA Hasnae, Dr. MAJBAR Zineb, Dr. EL HAJJAJI Fadoua, Dr. EL MADANI Fatimazahrae, Dr. LAHLOU Kenza et Dr. OMOR Anas.

Mes remerciements les plus sincères à tout le personnel de la Faculté des Sciences de Fès, de la Faculté des Sciences d'Oujda et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A toutes les personnes citées et les autres que j'aurais pu oublier, MERCI.

RESUME

Le Maroc est confronté à une menace environnementale inquiétante causée par les déchets oléicoles. Leur rejet sans traitement cause de sérieux problèmes aussi bien sur la santé publique, que sur l'environnement à la suite de leur forte charge en matières organiques non biodégradables et en composés phénoliques. La présente étude porte sur la valorisation de ces déchets par l'extraction des composés phénoliques, la production du méthane et la production d'un amendement organique par les boues générées des différents traitements.

L'extraction des antioxydants des déchets oléicoles dans les conditions expérimentales optimales de solvant (V/V) sous effet d'ultrasons a permis l'obtention du maximum des composés phénoliques ; 1.15 mg/mg pour les grignons et 3.65mg/mL pour les margines. L'activité antioxydante de ces extraits phénoliques sur le beurre à différentes concentrations a augmenté sa résistance contre le stress oxydatif et par conséquent sa durée de conservation de deux fois plus que le beurre témoin.

La valorisation des résidus, appelés substrats, de l'extraction des polyphénols et d'autres résidus de traitement des margines par un procédé combinant l'adsorption à la coagulation floculation, dans la production du méthane a eu lieu par digestion anaérobie. La production maximale du biogaz a été obtenue des boues générées par le traitement des margines. La quantité de méthane produite est l'équivalent de 8,72 Wh/L en énergie électrique pour les boues de traitement, 6,87Wh/L pour les margines sans polyphénols et 2,95 Wh/L pour les margines brutes.

Les boues épuisées du traitement de chaque substrat ont été cumulées et valorisées par co-compostage aérobie en tas avec d'autres déchets organiques. La fraction de chaque constituant dans le mélange a été calculée à partir de leur composition en matières organiques. Deux mélanges ont été réalisés ; l'un en présence des boues et l'autre sans boue qui nous a servi de témoin. Le suivi de la dégradation biologique de ces matières a été effectué par la mesure hebdomadaire des paramètres physico-chimiques, biologiques et spectroscopiques jusqu'à leurs stabilisations après 90 jours. La présence des boues dans le mélange a accéléré le processus de compostage d'une semaine. Les composts produits sont riches en éléments fertilisants, notamment celui avec les boues. Ils sont conformes à la norme française relative aux amendements organiques NFU-44-51 et ne présentent aucun effet phytotoxique. Les tests de ces composts pour la lutte biologique contre deux champignons, la *Penicillium digitatum* et la tavelure de pecher, montrent une forte répression du compost avec les boues contre Tavelure de pecher.

Mots clés : Déchets oléicoles, Valorisation, Polyphénols, Activité antioxydante, Electrocoagulation, Adsorption, Biométhanisation, Energie, Compostage, Activité antifongique, Activité antibactérienne.

ABSTRACT

Morocco is facing a serious environmental threat caused by olive waste. Their discharge, without treatment, causes serious problems for both the public health and the environment as a result of their high load in non-biodegradable organic matter and phenolic compounds. This study focuses on the recovery of this waste by promoting them by extracting phenolic compounds, producing methane and producing an organic amendment by the sludge generated from the various treatments.

The extraction of antioxidants from olive waste under the optimal and the experimental conditions of solvent (V/V) and ultrasonic effect permits to obtain the maximum of phenolic compounds; 1.15 mg/mg for pomace and 3.65 mg/mL for olive mill waste water OMWW. The antioxidant activity of these phenolic extracts on butter showed an increase in its resistance to oxidative stress and therefore an increase of its shelf life twice as long as the control butter.

The valorisation of residues, from the extraction of polyphenols and other OMWW treatment residues by a process combining adsorption and coagulation flocculation (Majbar, 2018), in methane production was done by anaerobic digestion. The results showed that the maximum biogas production was generated by the treatment of the OMWW was. The quantity of methane produced, in electrical energy, is the equivalent of 8.72 Wh/L, for treatment sludge, 6.87 Wh/L for OMWW without polyphenols and 2.95 Wh/L for raw OMWW.

The spent sludge from the treatment of each substrate was accumulated and recovered by aerobic co-composting in heaps with other organic waste. The fraction of each component in the mixture was calculated from their organic matter composition. Two mixtures were made; one in the presence of the sludge and the other without sludge (which served as a control). The biological degradation of these materials was monitored by weekly measurements of physico-chemical, biological and spectroscopic parameters until their stabilization after 90 days. The presence of sludge in the mixture accelerated the composting process by one week. We also noted that mature composts are rich in fertilizing elements, especially the one with sludge. It should be noted that these composts comply with the French standard for organic amendments NFU-44-51 and have no phytotoxic effects. The Tests, of these composts, of biological control against two fungi, « *Penicillium digitatum* » and « *Tavelure de pecher* », show a strong repression of compost with sludge against « *Tavelure de pecher* » than that of the control compost.

Keywords : Olive waste, Valorization, Polyphenols, Antioxidant activity, Electrocoagulation, Adsorption, Biomethanization, Energy, Composting, Antifungal activity, Antibacterial activity.

TABLE DES MATIERES

RESUME	5
ABSTRACT.....	6
LISTE DES TABLEAUX	1
LISTE DES FIGURES	2
INTRODUCTION GENERALE.....	5
CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE	8
I. Introduction	9
II. Déchets Oléicoles	9
II.1. Origine.....	9
II.2. Impact des margines sur l'environnement.....	10
III. Stratégie de gestion des déchets oléicoles	12
IV. Norme des rejets liquides et solides	13
IV.1. Loi 36-15 modifiant la loi 10-95 relative aux rejets liquides.....	13
IV.2. Loi 23-12 modifiant la loi 28-00 relative à la gestion des rejets solides	13
V. Méthodes de traitement et de valorisation des déchets oléicoles.....	14
V.1. Méthode de traitement des déchets oléicoles.....	14
V.2. Domaine de valorisation des margines	20
VI. Polyphénols des déchets oléicoles.....	26
VI.1. Composés phénoliques à partir des margines.....	26
VI.2. Composés phénoliques à partir des grignons d'olive	27
VI.3. Propriétés des phénols contenus dans les déchets oléicoles	27
VII. Modélisation statistique	29
VII.1. Méthodes de la modélisation statistique	29
VII.2. Plan d'expérience	30
VII.3. Analyse statistique des modèles.....	33
VIII. Conclusion.....	36
CHAPITRE II : EXTRACTION DES POLYPHENOLS DES DECHETS OLEICOLES ET OPTIMISATION DES CONDITIONS OPERATOIRES	38
I. Introduction	39
II. Méthodologie expérimentale	39
II.1. Déchets oléicoles	39
II.2. Méthodes	40
III. Caractérisation des déchets oléicoles	45

IV.	Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols.....	46
IV.1.	Etape 1: Détermination des termes de la variabilité de la réponse.....	47
IV.2.	Etape 2 : Association entre les termes et les réponses	48
IV.3.	Etape 3: Ajustement du modèle aux données	49
IV.4.	Etape 4 : vérification des hypothèses de l'analyse	50
V.	Identification des extraits phénoliques par HPLC	50
VI.	Conclusion.....	53

CHAPITRE III : EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE DES EXTRAITS PHENOLIQUES DES DECHETS OLEICOLES : APPLICATION A LA FORTIFICATION DU BEURRE 54

I.	Introduction	55
II.	Méthodologie expérimentale	55
II.1.	Test d'activité antioxydante des extraits phénoliques des déchets oléicoles	55
II.2.	Test d'activité antimicrobienne des margines et de leur extrait phénolique	56
II.3.	Application à la fortification du beurre par les sous-produits oléicoles et leurs extraits phénoliques	56
III.	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des déchets oléicoles ...	60
IV.	Evaluation de l'activité antimicrobienne des margines et de leurs extraits phénoliques	61
IV.1.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches	61
IV.2.	Activité antimicrobienne des polyphénols extraits des margines.....	62
V.	Application des sous-produits oléicoles et de leurs extraits phénoliques dans la fortification du beurre.....	63
V.1.	Fortification du beurre par les extraits phénoliques des sous-produits oléicoles	64
VI.	Conclusion.....	77

CHAPITRE IV : VALORISATION DES RESIDUS DE L'EXTRACTION DES POLYPHENOLS DES MARGINES ET DES RESIDUS DE LEUR TRAITEMENT POUR LA PRODUCTION DU BIOGAZ 78

I.	Introduction	79
II.	Matériaux et méthodes.....	79
II.1.	Matériaux.....	79
II.2.	Approvisionnement et échantillonnage	79
II.3.	Méthodes	81
III.	Traitement des margines par électrocoagulation-adsorption	84
III.1.	Caractérisation physico-chimique des margines brutes	84
III.2.	Traitement des margines par électrocoagulation	85
III.3.	Traitement des margines prétraitées par adsorption sur le charbon de la sciure de bois d'eucalyptus activée par voie acide.....	86

III.4.	Caractérisation des boues de traitement des margines	87
IV.	Valorisation énergétique des boues des margines traitées.....	90
IV.1.	Caractérisation des boues des margines traitées	90
IV.2.	Traitement des substrats par biométhanisation	90
IV.3.	Estimation du méthane Produit en énergie.....	93
IV.4.	Effet de la biométhanisation des margines et de leurs boues sur les paramètres physico-chimiques en fonction du temps.....	94
V.	Conclusion.....	98
CHAPITRE V : VALORISATION DES BOUES DE TRAITEMENT DES MARGINES PAR BIOMETHANISATION PAR LA FILIERE DE COMPOSTAGE.....		98
I.	Introduction	99
II.	Matériaux et méthodes.....	100
II.1.	Matériaux	100
II.2.	Méthodes	100
II.3.	Application des jus des composts pour la lutte biologique	102
II.4.	Analyse statistique.....	103
III.	Caractérisation des substrats et de leur mélange à t_0	104
IV.	Suivi du processus de compostage.....	105
IV.1.	Température	105
IV.2.	pH.....	106
IV.3.	Conductivité électrique	107
IV.4.	Rapport C/N.....	109
V.	Matière organique	110
V.1.	Composés phénoliques	111
V.2.	Maturité et qualité des composts T et B : Indice de germination	112
V.3.	Substances humiques	113
VI.	Analyse en composantes principales des paramètres de contrôle des composts T et B	115
VII.	Caractérisation des composts T et B matures.....	117
VIII.	Pouvoir antifongique des jus des composts T et B :	119
VIII.1.	Cas du champignon <i>Penicillium digitatum</i>	119
VIII.2.	Cas du champignon tavelure de pecher.....	121
IX.	Conclusion.....	122
CONCLUSION GENERALE		123
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		127

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Conditions d'établissement des modèles statistiques	30
Tableau 2: Avantages et contraintes des plans d'expériences	31
Tableau 3 : méthodes d'analyses des paramètres caractérisant les déchets oléicoles	40
Tableau 4: Niveaux minimal et maximal des paramètres étudiés : cas des margines	42
Tableau 5: Niveaux minimal et maximal des paramètres étudiés : cas des grignons	43
Tableau 6 : Niveaux des facteurs utilisés pour le plan factoriel complet : cas des margines	43
Tableau 7 : Niveaux des facteurs utilisés pour le plan factoriel complet : cas des grignons	43
Tableau 8 : Matrice d'expérience pour l'extraction des polyphénols : cas des margines	44
Tableau 9 : Matrice d'expérience pour l'extraction des polyphénols : cas des grignons	44
Tableau 10 : Les transitions d'ions précurseur au produit (m/z).....	45
Tableau 11 : catractérisation physico-chimique des déchets oléicoles.....	45
Tableau 12 : Pourcentage des Polyphénols extraits des déchets oléicoles selon les spécifications de plan d'expérimentation.....	46
Tableau 13 : Association entre les termes et les réponses cas des margines	48
Tableau 14 : Association entre les termes et les réponses cas des grignons d'olive	48
Tableau 15 : statistiques d'adéquation et de l'ajustement	49
Tableau 16 : concentration des extraits phénoliques des sous-produits oléicoles en Oleuropéine.....	52
Tableau 17:Les souches microbiennes testées.....	56
Tableau 18:Méthodes d'analyses des paramètres chimiques du beurre	57
Tableau 19:Méthode de détermination des paramètres microbiologiques du beurre testées	59
Tableau 20 : Concentration minimale inhibitrice des margines	62
Tableau 21 : méthodes de mesure de la DCO et la DBO5	81
Tableau 22 : Caractéristiques physico-chimiques des margines brutes.....	84
Tableau 23 : Caractéristiques physico-chimiques des margines après électrocoagulation	85
Tableau 24 : Caractéristiques physico-chimiques des margines traitées par électrocoagulation-adsorption	86
Tableau 25 : Caractéristiques physico-chimiques des boues de traitement des margines.....	87
Tableau 26 : Caractérisation des substrats utilisées dans la biométhanisation	90
Tableau 27 : Composition volumique du biogaz.....	92
Tableau 28 : Equivalent énergétique de 1 m ³ de méthane	93
Tableau 29 : quantité du méthane produit par tonne de déchet	93
Tableau 30: Caractérisation des substrats utilisés pour leur compostage.....	104
Tableau 31: Caractérisation des mélanges T et B à t ₀	105
Tableau 32 : Test de Student pour les profils de température des deux mélanges T et B	106
Tableau 33: Comparaison des moyennes du pH des mélanges T et B par le test de Student.....	107
Tableau 34 : Comparaison des moyennes des conductivités des mélanges T et B par le test de Student	108
Tableau 35 : Comparaison des moyennes du rapport C/N des mélanges T et B par le test de Student	109
Tableau 36 : Comparaison des moyennes de la MO des mélanges T et B par le test de Student	111
Tableau 37 : Comparaison des moyennes dégradation des polyphénols des mélanges T et B par le test de Student	112
Tableau 38 : Matrice de corrélation entre les différents paramètres de contrôle du processus de co-compostage et l'indice de germination pour des mélanges T et B	116
Tableau 39 : Caractérisation physico-chimique des composts T et B matures	118

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Emplacement de l'entreprise de trituration d'olive- Fès.....	39
Figure 2 : Somparaison de la valeur relative et la signification par le diagramme de Pareto.....	47
Figure 3 : Analyse de la droite d'Henry pour la vérification des hypothèses de l'analyse	50
Figure 4 : Chromatogramme HPLC d'un extrait phénolique des margines.....	51
Figure 5 : Chromatogramme HPLC d'un extrait phénolique des grignons d'olive.	51
Figure 6 : Spectre de l'Oleuropéine par la spectroscopie de masse	52
Figure 7 : Pourcentage (%) d'inhibition des radicaux en fonction de la concentration des extraits phénoliques.....	60
Figure 8 : Ic50 et EA des extraits phénoliques des sous-produits oléicoles	61
Figure 9 : Effet de la concentration des extraits phénoliques des margines sur l'activité antibactérienne	62
Figure 10 :Indice de peroxyde du beurre conservé à 60°C en fonction de la concentration des extraits phénoliques des margines et du temps de conservation.	65
Figure 11 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 60°C en fonction de la concentration des extraits phénoliques des grignons d'olive et du temps de conservation.....	65
Figure 12 : Acidité du beurre en fonction de la concentration des extraits phénoliques des margines à 60°C et du temps de sa conservation.....	66
Figure 13 : Acidité du beurre en fonction de la concentration des extraits phénoliques des grignons d'olive à 60°C et du temps de sa conservation.....	66
Figure 14 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 25°C en fonction de la concentration des margines et du temps de conservation.	67
Figure 15 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 25°C en fonction de la concentration des grignons d'olive et du temps de conservation.....	68
Figure 16 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 60°C en fonction de la concentration des margines et du temps de conservation.....	69
Figure 17 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 60°C en fonction de la concentration des grignons d'olive et du temps de conservation	69
Figure 18 : Acidité du beurre conservé à 25°C en fonction de la concentration des margines et du temps de sa conservation.....	71
Figure 19 : Acidité du beurre conservé à 25°C en fonction de la concentration des grignons d'olive et du temps de sa conservation	71
Figure 20 : Acidité du beurre conservé à 60°C en fonction de la concentration des margines et du temps de sa conservation.....	72
Figure 21 : Acidité du beurre conservé à 60°C en fonction de la concentration des grignons d'olive et du temps de sa conservation.....	72
Figure 22 : Evolution des populations de FMAT des beurres en fonction du temps, de la température et de la concentration des sous-produits oléicoles.....	74
Figure 23 : Evolution des populations des coliformes totaux des beurres en fonction du temps, de la température et de la concentration des sous-produits oléicoles.....	75
Figure 24 : Evolution des populations des levures et moisissures des beurres en fonction du temps, de la température et la concentration des sous-produits oléicoles.....	76
Figure 27 : Zones de prélèvement des margines bruts	80
Figure 26 : Mode opératoire du traitement des margines par électrocoagulation	83
Figure 27 : Mode opératoire de traitement des margines par digestion anaérobie	84
Figure 28 : Efficacité de traitement des margines par électrocoagulation.....	86

Figure 29 : Les taux d'abattement pour les différents paramètres après électrocoagulation-adsorption	87
Figure 30: Diffractogramme des boues de traitement des margines	88
Figure 31: spectre infrarouge des boues de traitement des margines	89
Figure 32: Morphologie des boues de traitement des margines	89
Figure 33 : Evolution du volume cumulé de méthane produit des différents substrats.....	92
Figure 34 : Evolution du pH des substrats en fonction du temps	94
Figure 35 : Evolution de la conductivité des MB, BT et MSP en fonction du temps	95
Figure 36 : Evolution de la teneur en matière grasse de MB, BT et MSP margines en fonction du temps	95
Figure 37 : Evolution de la teneur en polyphénols des MB, BT et MSP en fonctions du temps	96
Figure 38 : Evolution de la demande chimique en oxygène des MB, BT, et MSP en fonction du temps	97
Figure 39 : Taux d'abattement pour les différents paramètres après biométhanisation	97
Figure 40 : Evolution de la température des mélanges T et B au cours du processus de compostage	105
Figure 41: Evolution du pH au cours du processus de compostage des mélanges T et B.....	107
Figure 42 : Evolution de la conductivité électrique au cours du processus de compostage	108
Figure 43 : Evolution du rapport C/N au cours du processus de compostage des mélanges T et B....	109
Figure 44 : Dégradation de la matière organique des mélanges T et B au cours du processus de compostage.....	110
Figure 45 : Evolution des polyphénols des mélanges T et B au cours du processus de compostage ..	111
Figure 46 : Indice de germination du cresson imbibé par les mélanges T et B.....	113
Figure 47 : Rapport E2/E3 au cours du processus de co-compostage des mélanges T et B	114
Figure 48 : Rapport E2/E4 au cours du processus de co-compostage des mélanges T et B	114
Figure 49 : Rapport E4/E6 au cours du processus de co-compostage des mélanges T et B	115
Figure 50 : Analyse en composantes principales des paramètres de contrôle des mélanges T et B au cours du processus de co-compostage.....	117
Figure 51 : Pouvoir antifongique des jus des composts sur la croissance de <i>Penicillium digitatum</i> ...	120
Figure 52 : Effet de différentes concentrations des jus des composts T et B sur la croissance du champignon <i>Penicillium digitatum</i>	120
Figure 53 : Pouvoir antifongique des jus des composts sur la croissance de <i>Tavelure de pecher</i>	121
Figure 54 : Effet de différentes concentrations des jus des composts T et B sur la croissance du champignon <i>Tavelure de pecher</i>	121

LISTE DES ABREVIATIONS

ABHS	: Agence du bassin hydraulique de sebou
AGV	: Acide gras volatil
Al	: Aluminium
BHT	: Hydroxytoluène butylé
B.O	: Bulletin officiel
BT	: Boues de traitement
CH₄	: Méthane
CO₂	: Dioxyde de carbone
Cr	: Chrome
DBO5	: Demande biologique en oxygène pendant 5 jours
DCO	: Demande chimique en oxygène
DCL	: Désoxycholate Lactose agar
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
DRA	: Direction Régionale de l'Agriculture
DRX	: Diffractométrie de rayon X
EA	: Pouvoir antiradicalaire
EGA	: Equivalent en acide gallique
Fe	: Fer
FMAT	: Flore mésophile aérobie totale
GI	: Indice de germination
H	: Humidité
HPLC	: Chromatographie Liquide à Haute Performance
H₂S	: Sulfure d'hydrogène
ISO	: Organisation internationale de normalisation
IP	: Indice de peroxyde
LDL	: Lipoprotéine
MB	: Margines brutes
MEB	: Microscopie électronique à balayage
MS	: Matière en suspension
MSP	: Margines sans polyphénols
ND	: Non déterminé
NF	: Norme française
NM	: Norme marocaine
NTK	: Azote total kjeldahl
OMWW	: Olive mill waste water
ONSSA	: Office national de sécurité sanitaire des produits alimentaires
P	: Phosphore
PCA	: Plate Count Agar
UFC	: Unité formant colonie
V	: Volume
VC	: Vitamine C
Wh	: Wattheure
Zn	: Zinc

INTRODUCTION GENERALE

La consommation d'huile d'olive est en augmentation rapide dans le monde entier, en raison de sa haute valeur diététique et nutritionnelle. Cependant, la production de cette matière s'accompagne de la génération de grandes quantités de déchets : margines et grignons d'olives dont la production dépend du procédé de trituration des olives (Rahmani et Zrira, 2017). Le rejet de ces déchets dans les cours d'eau sans traitement au préalable impacte la faune et la flore à cause de leur toxicité ; principalement due à leur charge en matières organiques non biodégradables et en polyphénols (Lakhtar, 2010; Aouidi, 2012). Souvent répandues dans la nature, de manière incontrôlée, elles exposent ainsi l'écosystème à une pollution inéluctable et provoquent de sérieux problèmes aussi bien pour la santé publique que pour l'environnement

Par ailleurs, malgré leur pollution potentielle, les sous produits oléicoles sont une source très riche en composés phénoliques. En tant qu'antioxydants naturels, ces polyphénols suscitent un intérêt croissant pour la prévention de nombreuses maladies (Rocio et al., 2019). Ils sont également utilisés comme additifs pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires, notamment pour stabiliser les huiles végétales (Mikdame et al., 2016). Actuellement, les consommateurs ont tendance à éviter les antioxydants synthétiques supposés avoir des effets toxiques, allergisants et cancérigènes (Kachouri et al., 2016) et utilisent les antioxydants naturels grâce à leur vertu.

La plupart des pays producteurs de ces déchets ont recours à leur traitement par évaporation naturelle ou forcée, qui n'est qu'un transfert de pollution de l'état liquide à l'état solide et gazeux (Hammouch et Benkhail, 2011). De nombreux travaux de recherche ont pu réduire la charge polluante de ces déchets par des procédés biologiques en anaérobie (Azbar et al., 2008; Ghasimi et al., 2016) ou physicochimiques telles que l'électrocoagulation (Ben Abbou et al., 2014), la coagulation floculation (Sbai et Loukili, 2015), l'oxydation avancée (Madani et al., 2015), l'adsorption (Benamraoui, 2015) et les traitements membranaires (Barry et Diarra, 2018). Souilem et al., 2017 et Majbar et al., 2019 ont pu augmenté le taux de réduction de cette pollution par couplage de l'électrocoagulation et l'adsorption. Néanmoins, toutes les méthodes génèrent une pollution secondaire par les boues résiduelles. Ces boues comportent des matières organiques et des éléments minéraux qui sont susceptibles de constituer un apport intéressant aux sols et aux cultures. Selon plusieurs expériences (Majbar et al., 2018; Lahlou et al., 2017), le compostage constitue une technique biologique qui permet une valorisation intégrale de ces boues.

Dans la région Fès-Meknès, le traitement des margines s'effectue par évaporation naturelle dans des bassins distant de la ville des Fès de 15 km jusqu'au jour-ci. Tandis que les grignons d'olives sont peu exploités comme charbons chez certains industries ou co-combusibles dans les fours de ciments.

L'objectif de ce travail est de valoriser intégralement les déchets oléicoles selon les séquences suivantes :

- Extraction des polyphénols des déchets oléicoles ;
- Production du méthane des boues résultant d'une part de l'extraction ; et d'autre part du traitement des margines par combinaison de l'adsorption à l'électrocoagulation dans les conditions optimales, obtenues à notre ex-laboratoire LIEME (Laboratoire d'Ingénierie d'Electrochimie, de Modélisation et d'Environnement) (Majbar et al., 2019) ;
- Co-compostage des résidus, engendrés des différents traitements des margines ou valorisation des déchets oléicoles, pour produire un amendement organique.

A cet égard, nous avons subdivisé le travail de cette étude en cinq chapitres :

- **Le premier chapitre** est dédié à une synthèse bibliographique, rappelant la problématique des déchets oléicoles en mettant l'accent sur la situation actuelle de leur gestion au Maroc et les différentes techniques de leur traitement et/ou valorisation adoptée. Cette revue de littérature met aussi l'accent sur les normes environnementales et les réglementations de rejets de ces déchets.
- **Le deuxième chapitre** est consacré à l'extraction et à l'analyse des composés phénoliques des déchets oléicoles , ainsi qu'à l'optimisation du procédé.
- **Le troisième chapitre** traite l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques des déchets oléicoles et leur application comme antioxydant naturel et conservateur pour le beurre.
- **Le quatrième chapitre** est réservé, d'une part, à la digestion anaérobie des margines sans polyphénols issus de l'extraction de ces derniers ; et d'autre part, à la comparaison de cette digestion avec celle des margines brutes et des boues issues de traitement physico-chimique des margines par un procédé combinant l'adsorption à l'électrocoagulation.
- **Le cinquième chapitre** vise la valorisation de toutes les boues cumulées de traitements des margines dans la filière de co-compostage et l'application des composts produits pour la lutte biologique contre les champignons *Penicillium digitatum* et tavelure de pecher.

CHAPITRE I

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction

La culture de l'olivier et la production d'huile d'olive sont des activités agricoles et économiques majeures pour les pays méditerranéens. Plus de 65% de la superficie totale cultivée en oliviers dans le monde sont situées en Europe (Donoso-Bravo et al., 2016) et contribuent à 72% de la production mondiale d'olives (Valta et al., 2015). Les principaux pays producteurs du monde sont l'Espagne, l'Italie, la Grèce, suivis dans une moindre mesure par la Turquie, le Maroc, la Tunisie et la Syrie (Rahmani et Zrira, 2017). La culture et la production d'oliviers dépendent de nombreux facteurs, notamment la fertilité du sol, la disponibilité de l'irrigation et les conditions climatiques.

Toutefois, l'extraction de l'huile d'olive génère de grandes quantités de sous-produits solide et liquide, grignons d'olive et margines, qui sont actuellement considérés comme des déchets de moulins à huile. Les deux sous-produits sont nocifs pour l'environnement. Plusieurs études ayant démontré leurs effets négatifs sur les populations microbiennes du sol, les écosystèmes aquatiques et les émissions atmosphériques de phénol et de dioxyde de soufre (El-Abbassiet al., 2013 ; Ben Abbou M. et al., 2014 ; Khoufi et al., 2015). Les phénols d'olive sont des contributeurs majeurs à cette pollution en raison de leur toxicité et de leur activité. Il est donc urgent de trouver des moyens de traitement et/ou valorisation de ces sous-produits.

Ce chapitre relate un aperçu sur les déchets oléicoles (origine, impact sur l'environnement, méthodes de leur traitement ou valorisation) et sur les outils statistiques permettant d'optimiser et/ou valider les conditions opératoires d'un prototype quelconque.

II. Déchets Oléicoles

II.1. Origine

L'huile d'olive est considérée comme la pierre angulaire du régime méditerranéen dans les pays producteurs traditionnels. Cependant, la consommation mondiale d'huile d'olive a augmenté de façon continue au cours des dernières décennies en raison de la conscience de la population de ses bienfaits pour la santé, de sa vitalité et donc du changement de leur mode d'alimentation. Cela a entraîné une augmentation d'environ 40% de la culture de l'olivier (Dermeche et al., 2013), et donc une augmentation de la production des déchets liquides ou pâteux (margines) et solides (grignons). Au Maroc, les quantités produites pendant la campagne oléicole 2017/2018 sont respectivement estimés à 400 000 m³ et 200 000 tonnes dont 80 000 à 160 000 m³ de

margines et 36 000 à 73 000 tonnes de grignons sont produits annuellement au niveau de la région Fès-Meknès (DRA, 2018).

II.1.1. Margines

Les margines sont un mélange d'eau de végétation, de tissus mous d'olives et d'eau utilisée dans le processus de mouture. C'est un liquide trouble et de couleur noir à brun foncé (Dermeche et al., 2013). Leurs caractéristiques dépendent de nombreux facteurs tels que la technologie d'extraction utilisée, la variété et la maturité des olives, les conditions climatiques la gestion de la culture, et la durée de stockage (Barbera et al., 2013 ; Dermeche et al., 2013 ; Tayoub et al., 2015 ; Valta et al., 2015).

Plusieurs travaux antécédants ont montré que les margines sont acides, leur pH varie entre 3 et 6, se caractérisent par une charge organique difficilement biodégradable notamment en huiles, graisses et composés phénoliques responsables de la couleur noire typique des margines (Hanafi et al., 2013 ; Majbar et al., 2019), des teneurs élevées en sels et en minéraux principalement le sodium, le potassium et le calcium (Larid et Elaichi, 2019). En outre, les margines ne peuvent développer que quelques microorganismes essentiellement les levures et les moisissures. Elles ont un pouvoir antimicrobien dû aux phénols manométriques et les pigments bruns ou catéchol mélanique en dénaturant les protéines cellulaires et en altérant les membranes (Larid et Elaichi, 2019). En 2017, Zaier et al. ont montré que les margines sont aussi capables d'inhiber l'activité des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote dans le tube digestif des ruminants en inhibant leur activité enzymatique.

II.1.2. Grignons d'olive

Les grignons d'olive sont des déchets solides dont la composition chimique varie selon l'espèce, les conditions de culture, l'origine des olives et le processus d'extraction. On a montré qu'ils sont principalement composés de la cellulose, l'hémicellulose, la lignine et les sucres solubles. Ils contiennent aussi les graisses, les protéines et quelques minéraux tels que le potassium, le calcium et le sodium (Jorfi et al., 2014).

II.2. Impact des margines sur l'environnement

Les margines non traitées constituent un problème écologique majeur pour les pays producteurs d'huile d'olive entre les mois d'Octobre et de Mars de l'année en raison de leur charge polluante élevée (Stasinakis et Al., 2012). Elles entraînent des dommages environnementaux tels que la coloration des eaux naturelles, la toxicité des organismes aquatiques, la pollution des eaux de

surface et des eaux souterraines, la dégradation du sol, la phytotoxicité et les nuisances olfactives.

II.2.1. Pollution du sol et phytotoxicité

Les margines déversées directement dans le sol ont des effets sur leurs propriétés physicochimiques et sur la germination des semences, de la croissance des plantes et de l'activité microbienne (Chouchene, 2010 ; Komnitsas et al., 2016) à cause de leur forte concentration en composés phénoliques et en composés huileux. Ces derniers entraînent une augmentation de l'hydrophobie du sol et une diminution des taux de rétention d'eau et d'infiltration (Kavvadias et Al., 2010). En effet, le caractère génotoxique des margines est associée à leur teneur en acide gallique et en oleuropéine (El Hajjouji et al., 2007). Mechri et al. (2011) ont rapporté que les applications agronomiques des margines ont des effets négatifs sur le fonctionnement des mycorhizes arbusculaires ; champignons de l'olivier. Chartzoulakis et al. (2010) ont étudié l'effet des margines sur les propriétés du sol, la performance des plantes et l'environnement après 3 années consécutives d'application des margines à des taux croissants de 252 m³/ha (1 an) à 420 m³ / ha (pendant 2 ans). L'étude a révélé un taux important de potassium disponible et une augmentation des composés phénoliques ayant des effets négatifs sur le sol. Magdich et al. (2012) ont également prouvé l'impact à long terme des margines sur les oliviers en prenant en compte l'évolution du composé phénolique du sol et de la phytotoxicité, et la numération microbienne du sol à différentes couches. Par ailleurs, On a rapporté que l'application de trois doses de margines (50, 100 et 200 m³/ha par an) sur six années successives a augmenté la teneur en polyphénols du sol et de la numération microbienne en fonction de la quantité des margines appliquées.

Des études susmentionnées ont montré que l'application des margines sans traitement pour l'épandage sur le sol aurait un impact négatif à long terme. Le contrôle des volumes et des concentrations de ce sous-produit serait une opération rentable aussi bien pour le sol que pour les cultures.

II.2.2. Pollution de l'eau

Le rejet des margines dans les eaux de surface change leur couleur et conduit à la formation d'un film à la surface irisation, à cause de leur charge en lipides, qui bloque la pénétration de la lumière, du soleil, et de l'oxygène. De plus, la concentration élevée en sucres réduits peut stimuler la respiration microbienne, inhiber la croissance des plantes et les décomposer. Ce phénomène d'hypoxie pourrait aussi induire l'asphyxie de certaines espèces de poissons

(Dermeche et al., 2013). Aussi, lorsque les margines sont riches en phosphore, elles pourraient causer le phénomène d'eutrophisation.

II.2.3. Pollution de l'air

Le stockage des déchets oléicoles dans des réservoirs ouverts et/ou rejetés sur le sol ou dans des eaux naturelles, pourrait subir une fermentation, émettre du méthane et d'autres gaz piquants tels que le sulfure d'hydrogène et créer une forte pollution par les odeurs (Dermeche et al., 2013).

III. Stratégie de gestion des déchets oléicoles

Il n'existe pas encore de législation ou de réglementation unifiée pour l'élimination des déchets oléicoles, et les normes sont laissées à l'application de chaque pays. Adoptant ces législations sur les limites maximales de rejet des margines dans le sol, les pays tentent d'atténuer l'impact environnemental négatif attendu sur les cultures et les sols (Chartzoulakis et al., 2010). Mais le problème dans de nombreux pays réside dans le rejet incontrôlé de ces déchets dans l'environnement ouvert, à savoir les sols, les cours d'eau, les rivières et les mers, en raison de l'absence de législation ou de l'absence de solutions de traitement.

Au Maroc, 2 millions de tonnes d'olives ont été produites lors de la campagne 2018/2019 dont 80% de cette quantité est enregistrée à la région Fès-Meknès (DRA,2020). En cette année, le volume des margines produits par an varie entre 400.000 et 500.000 m³ et celui des grignons d'olive entre 650.000 et 750.000 tonnes (EL AISSI, 2019).

A l'heure actuelle, quelques initiatives sont prises en considération pour le traitement ou la réutilisation de ces rejets. Parmi les quelles, le projet mené par l'Agence du bassin hydraulique de Sebou (ABHS) dans le cadre d'un partenariat avec la coopération japonaise (JICA). C'est une technologie déjà pratiquée au Japon dans le traitement des rejets industriels très concentrés semblables aux margines et pour les grignons d'olives. Grâce à cette expérience, l'Agence disposera d'une sécheuse à décompression et à chaleur d'huile, qui permettra, d'une part, le traitement des grignons et, d'autre part, le recyclage d'huile résiduelle. Les déchets restants seront traités pour obtenir de la matière première servant à produire des combustibles, des aliments pour le bétail et des fertilisants à haute valeur ajoutée, contribuant ainsi à réduire le risque d'impact environnemental (EL AISSI, 2019).

Aussi une signature en 2015 d'une convention tripartite a eu lieu entre le Ministère chargé de l'Agriculture, le Ministère de l'Economie et des Finances et le Ministère Délégué chargé de

l'Environnement pour la valorisation des sous-produits de l'olive, afin de réduire l'impact environnemental de ces rejets. Cette Convention (2015-2020) visait la valorisation de près de 80% des grignons humides (issus des chaînes continues à 2 phases et des margines produites à l'horizon 2020, soit respectivement 730 000 t et 900 000 t (Rahmani et Zrira, 2017).

IV. Norme des rejets liquides et solides

IV.1. Loi 36-15 modifiant la loi 10-95 relative aux rejets liquides

Les rejets liquides des unités de trituration (marges) et des conserveries doivent être traités, avant d'être déversés dans la nature ou dans le réseau d'assainissement public. En vertu de la loi numéro 36-15 modifiant la loi 10-95, relatif aux déversements, écoulements, rejets, dépôts directs ou indirects dans les eaux superficielles ou souterraines ; des redevances de déversement seront appliquées sur les déversements des rejets liquides, en fonction de leur volume et de leur degré de pollution (Bulletin officiel n°6506, 2016).

IV.2. Loi 23-12 modifiant la loi 28-00 relative à la gestion des rejets solides

L'adoption de la Loi 28-00 relative à la gestion des déchets et à leur élimination en 2006 modifiée par la loi 23-12 en 2012 et leurs textes d'application vise à prévenir et à protéger la santé de l'homme, la faune, la flore, les eaux, l'air, le sol, les écosystèmes, les sites, les paysages et l'environnement en général contre les effets nuisibles des déchets (Bulletin officiel n°6080, 2012). Ainsi que la loi cadre 99-12 portant sur la charte nationale de l'environnement et du développement durable publiée en 2014 (B.O. n° 6240, 2014) insiste sur plusieurs principes parmi lesquels ceux de :

- précaution exigeant la prise des mesures adéquates, économiquement et socialement viables et acceptables pour faire face aux dommages environnementaux ;
- prévention obligeant l'évaluation et l'appréciation régulière des impacts des activités susceptibles de porter atteinte à l'environnement, et la mise en oeuvre des mesures concrètes pour réduire voire supprimer leurs effets négatifs ;
- responsabilité incitant toute personne, physique ou morale, publique ou privée, à réparer les dommages causés à l'environnement

V. Méthodes de traitement et de valorisation des déchets oléicoles

V.1. Méthode de traitement des déchets oléicoles

V.1.1. Traitement des grignons d'olive

Les grignons d'olive sont partiellement valorisés comme combustible (fours, briqueteries, hammams, cimenteries...) grâce à leur grand pouvoir calorifique. Depuis 2012, le groupe Veolia a mis en place sur son site une unité de production de l'eau chaude par trois chaudières pour chauffer le process de l'atelier de peinture de l'usine. Ces chaudières utilisent les grignons d'olives comme combustible avec un volume annuel de près de 25.000 tonnes. Ce procédé a permis d'économiser près de 300.000 m³ d'eau par an, selon la direction du groupe Veolia (EL AISSI, 2019). Quant au groupe Lafarge Holcim, les grignons ont été utilisés comme co-combustible depuis 15 ans. Pour cela, Lafarge Holcim a créé en 2007 la première plateforme de regroupement et de traitement des déchets au Maroc. Le mécanisme repose sur des outils de développement durable qui vise un traitement écologique et une valorisation garantie des déchets.

Les grignons sont également valorisés par l'extraction de l'huile résiduelle par solvant (hexane) ou par la technique du « repassage » ou encore dans la production du bio-compost. Les grignons dégraissés sont séchés et utilisés pour la récupération d'énergie, mis en décharge ou utilisés en agriculture (Koçer et Acemioğlu ; 2016). Après la séparation des noyaux, les grignons peuvent trouver également des applications en alimentation animale.

V.1.2. Traitement des margines

Les techniques de traitement utilisées pour les margines peuvent être classées en trois catégories ; traitement physicochimique, traitement biologique et traitement thermique. Le traitement physique va de la simple séparation des particules solides des eaux usées en vrac (évaporation, décantation, centrifugation, filtration et flottation) à la séparation membranaire plus avancée des macromolécules et des colloïdes des eaux usées filtrées.

V.1.2.1. Traitement physicochimique

Bien que ce processus ne soit pas le plus adéquat pour le traitement absolu des margines à cause de leur forte charge organique non biodégradable et leur couleur intense, il pourrait être appliqué comme un prétraitement pour des applications postérieures.

- **Coagulation-floculation**

La coagulation-floculation est l'une des méthodes les plus efficaces pour éliminer les matières organiques en suspension. Elle consiste à traiter les margines avec des produits tensioactifs ou certains coagulants. Ce type de traitement reste le plus global et certainement le moins coûteux par rapport aux matières éliminées (Sbai et al., 2015).

En 2015, Sbai et al. ont obtenu des réductions de 41% et de 75% en polyphénols, en utilisant respectivement des sulfates d'aluminium et de la chaux comme coagulants. La coagulation par la chaux leur a réduit la DCO de l'ordre de 38 %. Tandis qu'avec les sels d'aluminium, l'abattement a été de 43 %. Les mêmes auteurs ont couplé la coagulation floculation à l'électrolyse, ce qui leur a réduit considérablement la DCO des margines, la couleur (92 %), les chlorures (80%), les polyphénols (64 %), et la turbidité (93 %). Ils ont obtenu des rejets liquides conformes aux normes de leur déversement ou les mélanger aux eaux urbaines pour être traités par les stations d'épuration sans risque de perturber le fonctionnement de ces dernières (Sbai et al., 2015).

- **Electrocoagulation**

L'électrocoagulation a été utilisée pour le traitement des margines par plusieurs chercheurs (Ben Abbou et al., 2014 ; Esfandyari et al., 2015 ; Majbar et al., 2019).

Ce processus consiste à utiliser une cellule électrolytique avec une anode et une cathode, équivalente à des paires de plaques métalliques conductrices, jouant le rôle d'électrodes monopolaires (Nasr et al., 2016). Lorsqu'un courant électrique est introduit dans la solution, le côté positif subit des réactions anodiques. Tandis que des réactions cathodiques se produisent du côté négatif. Les ions métalliques libérés dans le milieu liquide ont tendance à éliminer les contaminants indésirables par réaction chimique et par précipitation. L'électrocoagulation présente un certain nombre d'avantages, tels qu'une production réduite de boues et aucune nécessité d'utilisation des produits chimiques. Cependant, elle présente l'inconvénient de sa fiabilité pour le traitement des faibles débits d'effluents et l'épuisement rapide des électrodes.

- **Adsorption**

L'adsorption a été utilisée pour le traitement des margines par plusieurs auteurs (Benamraoui, 2015 ; Majbar et al., 2019). Petrovet al. (2008) ont utilisé le charbon actif pour traiter les composés phénoliques. Le rendement était de 73% après 8 heures de contact. Avec le même adsorbant, Benamraoui (2015) n'a réduit la DCO que de 34% après 5 heures d'agitation.

L'argile activée a été aussi utilisée comme adsorbant et a réduit la DCO de 71% et la teneur en polyphénols de 81%. En fait, l'équilibre d'adsorption / désorption nécessite des précautions particulières, car les matières organiques et les phénols commencent à se désorber après un certain temps de contact. La combinaison de quatre étapes de traitement, à savoir la décantation, la centrifugation, la filtration et l'adsorption sur des matériaux adsorbants pourrait augmenter le taux d'élimination des phénols et de la matière organique jusqu'à 90 %. En 2019, Majbar et al. ont préparé le charbon actif à partir de la sciure de bois d'eucalyptus qui l'ont traité thermiquement et activé chimiquement pour augmenter sa surface spécifique et sa capacité d'adsorption des polyphénols et des autres polluants des margines. Ces auteurs ont couplé cette méthode à l'électrocoagulation et ont augmenté le rendement de traitement de près de 40%. Toutefois, cette méthode s'accompagne de la génération des résidus des matériaux adsorbants même après leur régénération. Ce qui nécessiterait la recherche d'une voie de leur valorisation.

- **Ozonation**

L'ozonation est un traitement chimique qui utilise l'ozone (Zhang et al., 2014), un oxydant puissant, mais il n'est pas capable d'oxyder complètement la charge organique des margines. Les taux de réduction de la DCO durant l'ozonation, dans les conditions optimales, ne dépassent pas 20 à 30 %. Ouabou et al. (2014) ont montré que l'ozonation des margines à pH alcalin n'a pas permis d'atteindre une minéralisation complète de la charge organique.

- **Oxydation chimique**

Les oxydants chimiques fournissent des traitements destructeurs des phénols aqueux. Le processus a des coûts en réactifs et en énergie faibles, fonctionnant dans des conditions douces de température, de pH et de concentration en oxydant, le plus souvent dans la plage des parties par million. L'ozone, le chlore, le dioxyde de chlore, les chloramines, le ferrate et le permanganate sont les produits chimiques les plus couramment utilisés dans le traitement oxydant des eaux usées. Le permanganate et le ferrate ont été largement étudiés et utilisés en raison de leurs potentiels de réduction élevés. En effet, le ferrate a la capacité d'oxyder divers contaminants sur une large plage de pH. Il se réduit en hydroxyde ferrique qui possède des propriétés de coagulation / floculation, offrant ainsi une meilleure efficacité. En revanche, le permanganate est relativement peu coûteux, facile à manipuler (y compris les boues de dioxyde de manganèse produites), stable et ne forme pas de sous-produits chlorés ou bromés (Guan et al., 2010 ; Yates BJ et al, 2014 ; Jiang JQ et al, 2015). Cette méthode d'oxydation n'est pas

beaucoup utilisée dans le traitement des margines à cause des faibles rendements d'élimination de leur charge polluante.

- **Infiltration percolation**

C'est une technique rapide qui consiste à traiter les margines à travers un sol hautement perméable. Elle est généralement réalisée dans des bassins d'infiltration remplis de sable. Plusieurs phénomènes pourraient être mis en jeu au cours de ce traitement ; physique, chimique ou biologique :

- La filtration et la sédimentation des particules au niveau des pores du matériau filtrant.
- L'adsorption, la précipitation de sels dissous et l'échange ionique.
- La biodégradation de la matière organique.

- **Procédés membranaires**

On distingue l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse.

L'ultrafiltration

Ce procédé repose sur la filtration à travers une membrane, permettant ainsi la rétention des macromolécules de masse moléculaire supérieure à 500 g/mol. La séparation se fait sous l'effet d'un gradient de pression de 3 à 10 bars. Les tests d'ultrafiltration ont permis Yahiaoui, en 2012, d'obtenir un liquide limpide, une réduction de la DCO et des solides en suspension présents dans les margines (Yahiaoui, 2012).

L'ultrafiltration, technique physique, pourrait réduire considérablement les polluants contenus dans les margines jusqu'à 94 %. Toutefois, en raison des substances présentes dans le filtrat restant, un traitement tertiaire serait nécessaire (Barry et Diarra, 2018).

La nano filtration

Dans la dernière décennie, les membranes de la nanofiltration (NF) ont été de plus en plus mis en œuvre dans les processus de traitement de l'eau comme les eaux souterraines et les eaux de surface, le dessalement de l'eau saumâtre et l'eau de mer, et de la décontamination des eaux usées de natures très diverses telles que les margines issus de la trituration des olives. Ochando-Pulido et Stoller (2014) ont utilisé la théorie du flux limite pour modéliser la performance de la nano filtration dans le traitement des margines pour qu'elles soient conformes aux normes de leur utilisation en irrigation.

L'osmose inverse

L'osmose inverse permet de séparer une solution en deux phases : l'une concentrée et l'autre diluée sous une pression allant jusqu'à 80 bars. Mohammadi et al. (2015) ont traité les margines par cette technique et ont obtenu un liquide limpide et incolore.

Les deux procédés membranaires, l'ultrafiltration et l'osmose inverse, permettent d'éliminer 100 % de la DCO initiale. En revanche, ils nécessitent un prétraitement initial de l'effluent, une demande énergétique élevée, et une altération rapide des membranes utilisées (Mnif et al, 2015).

V.1.2.2. Traitement biologique

Les procédés biologiques consistent à utiliser des microorganismes pour dégrader les composés organiques des margines. Ils sont subdivisés en processus aérobie et anaérobie.

- **Traitement aérobie**

Jusqu'à l'année 2004, les travaux réalisés par ce type de traitement consistaient à diluer les margines soit par de l'eau potable ou de surface, les eaux usées domestiques ou les eaux usées épurées avant leur traitement aérobie avec des souches telles que les basidiomycètes en raison de leur grand pouvoir de dégrader les composés phénoliques (Dias et al., 2004). Ces abattements sont très variables et varient en fonction de la performance des souches sélectionnées de bactéries ou de champignons.

- **Traitement anaérobie**

Ce processus de traitement présente l'avantage de produire le méthane, de limiter les dégagements des mauvaises odeurs et réduire la consommation en énergie et la production des boues. Par contre, il est aussi limité à cause de la toxicité élevée des composés phénoliques et des tanins, de la faible biodégradabilité des polymères de couleur foncée et de l'acidification des réacteurs. Certaines études ont montré que la présence des bactéries méthanogènes sont inhibées par des acides gras à chaînes longues notamment l'acide phénolique lorsqu'il dépasse 100 mg/L de margines (Aggoun-arhab, 2016). Au cours de la même année, Alami a produit 855 L de biogaz par kilogramme de matière organique digérée pour un temps de rétention uniquement de 20 jours ; soit une efficacité d'épuration des margines de 80 %. Ce rendement est proportionnel à la concentration des margines en microorganismes et varie largement selon la nature du support (montmorillonite ou sépiolite).

V.1.2.3. Traitement thermique

- **Evaporation naturelle**

L'évaporation naturelle dépend essentiellement des conditions climatiques, notamment de la vitesse du vent, du degré d'ensoleillement et de l'humidité de l'air. Ce procédé consiste à stocker les margines dans des bassins de faibles profondeurs (0,7 à 1,5 m), les sécher par évaporation naturelle pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois selon les conditions climatiques. Durant leur séjour dans les bassins d'évaporation, les margines subissent une autoépuration naturelle par une série de processus de fermentation aérobie et anaérobie. Les agents de cette biodégradation sont surtout des levures qui se trouvent à l'origine dans les olives (Hammouch et Benkhail, 2011). Ce système de traitement enregistre plusieurs inconvénients. Nous citons, les odeurs fétides, la faible biodégradation des matières organiques, la formation d'une pellicule lipidique étanche à la surface qui entrave la pénétration de la lumière et limite l'évaporation naturelle. Ceci pourrait être compenser par l'augmentation de la surface des bassins d'évaporation qui est difficile à aménager surtout dans les zones peuplées.

- **Evaporation forcée**

Cette méthode consiste à mettre des panneaux évaporateurs dans les bassins de stockage des margines. Elles sont pompées puis projetées par des asperseurs sur les panneaux juxtaposés, ayant une importante surface d'échange d'air. La technique est principalement basée sur la différence de potentiel hydrique entre les mailles des panneaux et l'eau. Ce qui facilite la déshydratation des margines par arrosage sur un élément générateur de la surface exposé au vent. En fait, la technique a l'avantage d'utiliser une superficie réduite des bassins d'évaporation. Ce qui pourrait multiplier les volumes à traiter de 40 à 100 fois par m³ occupé du sol de margines mais avec une consommation importante d'énergie.

En 2018, Barry et Diarra ont exploité les rayons solaires pour réduire les coûts de traitement par évaporation forcée en utilisant la parabole Scheffler dont le principe se base sur la concentration des rayons par miroirs réfléchissants. Les rayons solaires tombant sur les réflecteurs sont réfléchis à l'aide d'une série de petits miroirs réfléchissants latéraux intégrés dans la parabole puis envoyés vers un réflecteur secondaire qui se situe au foyer de la parabole pour les concentrer une deuxième fois sur la cible à chauffer. Ceci permet de déshydrater les margines jusqu'à 200 fois plus que l'évaporation naturelle et de réduire la charge organique à environ 30 % et le phosphore à 70 %.

- **Incinération**

L'incinération est une technique coûteuse complexe et extrêmement consommatrice d'énergie. Elle paraît d'autant moins appropriée lorsque les margines sont composées à plus de 80 % d'eau. Elle permet d'évaporer d'abord la phase aqueuse des margines et de brûler ensuite les matières organiques (Yahiaoui, 2012).

- **Distillation**

Ce processus permet de réduire le volume de ces effluents de 70 % et de leur charge en matières organiques dans le distillat évaluées par la mesure de la DCO, la DBO₅ et des composés phénoliques. Le résidu peut être utilisé comme combustible pour chauffer le distillateur ou comme fertilisant dans l'agriculture. L'eau condensée peut être réutilisée après une épuration adéquate dans les processus des huileries. Le problème majeur de cette méthode c'est l'acidité élevée de distillat obtenu (Ouabou, 2014). En 2015, Sklavos et al. ont utilisé un appareil de distillation solaire pour sécher des margines et récupérer les composés phénoliques ayant des propriétés antioxydantes dans le distillat. Des paramètres de distillation solaire tels que la température de l'air ambiant, la pression de vapeur à l'intérieur de l'appareil, la récupération phénolique, la production de retentât (boues) et le rayonnement solaire doivent être surveillés pour réduire le temps de la déshydratation des margines. Selon les mêmes auteurs, la distillation solaire pourrait être considérée comme un processus économique et écologique pour le traitement des margines.

V.2. Domaine de valorisation des margines

V.2.1. Utilisation des margines comme fertilisants

De nombreux travaux ont été publiés concernant les effets de l'épandage des margines sur des sols cultivés de céréales ou d'autres cultures annuelles vu leurs teneurs élevées en minéraux nutritifs (N, P, K). Des expérimentations agronomiques menées avec des doses d'apports conformes aux règles d'amendement, ont toutes montré l'effet favorable des margines sur la fertilité des sols. Yaakoubi (2009) a montré que les margines représentent un excellent substrat pour le développement de la microflore qui permet d'améliorer les propriétés physicochimiques du sol.

Bernou et al. (2015) ont testé l'épandage des margines pendant une longue période sur des sols complantés de maïs et de vigne. Ils ont montré que la productivité des deux sols a augmenté. L'emploi des margines à des doses élevées a permis d'obtenir une biomasse totale supérieure de 30 à 40 % en comparaison avec le témoin. Néanmoins, l'utilisation des margines comme

fertilisants présente des inconvénients en termes d'acidité et de salinité des sols en plus de l'accumulation des lipides et des matières organiques malgré qu'elles pourraient apporter aux cultures 3,5 à 11 Kg d'oxyde de potassium (K_2O) et 0,15 à 0,5 Kg d'oxyde de magnésium (MgO) par m^3 de margines (Yaakoubi et al., 2009).

V.2.2. Bio méthanisation

Les margines sont des substrats candidats pour la production de biohydrogène (bio- H_2), de biométhane et de bioéthanol car ils contiennent des sucres, des acides volatils, des polyalcools et des graisses (Khoufi et al., 2016). De plus, leur faible teneur en azote favorise la production de bio- H_2 photofermentaire car des concentrations élevées en NH_4^+ inhibent la synthèse et l'activité de la nitrogénase. D'autres travaux ont également été sur la production de bioéthanol (Asli, 2009 ; Haagensen, 2009), de bio- H_2 par des procédés de photofermentation et de la fermentation à l'obscurité (Ntaikou et al., 2009) et du biométhane par la digestion anaérobie des margines (Rincon et al., 2009).

Un autre procédé a été développé pour la production de méthane est le prétraitement anaérobie-aérobie des margines en deux étapes et une digestion anaérobie en deux phases. Blika et al. (2009) ont utilisé les champignons pour prétraiter les sous-produits de l'huile d'olive avant la digestion anaérobie. Ils ont aussi prétraité les margines avec *Aspergillus niger* qui a doublé la production de méthane lors de la digestion anaérobie. Dans d'autres études, la digestion anaérobie après prétraitement avec la même souche éliminait plus de 60 % de la DCO et a augmenté les rendements en méthane. De même, des études utilisant l'*Aspergillus terreus* ont démontré qu'un prétraitement aérobie a réduit de manière significative la concentration en composés phénoliques et a augmenté la production de méthane jusqu'à 23%. Les levures, en particulier *Candida tropicalis*, ont également été utilisées dans des conditions aérobies pour prétraiter les margines avant la co-digestion anaérobie (Martinez-Garcia et al., 2009). Le système combiné a entraîné une réduction de la DCO et une dégradation du contenu phénolique des margines, en plus d'une amélioration de la production de méthane.

D'autres études antérieures ont démontré dans la première phase, les bactéries acidogènes transforment les matières organiques complexes, glucides, protéines, lipides, acides aminés et acides gras à longues chaînes, en intermédiaires tels que les acides gras volatils (AGV) et les alcools. Dans la seconde phase, ces métabolites sont métabolisés et biotransformés en CH_4 et CO_2 par des méthanogènes ou des archées. Appliqué aux margines, ce procédé fournit des effluents bien stabilisés et un rendement élevé en méthane (0,268 g de DCO éliminée/L)

(Rincón et al., 2010). Fezzani et Ben Cheikh (2010) ont traité un mélange des margines et des grignons à l'aide de deux digesteurs semi-continus de séquençage fonctionnant à une température mésophile. La première étape (acidifiant) a été réalisée à un temps de rétention hydraulique de 14 et 24 jours, correspondant à des taux de charges organiques allant de 5,54 à 14 g de DCO/L par jour. La deuxième étape (méthaniseur) a été réalisée à un temps de rétention hydraulique de 18, 24 et 36 jours, correspondant à des taux de charges organiques allant de 2,28 à 9,17 g de DCO/L/jour. Les concentrations en AGV augmentaient avec un temps de rétention hydraulique croissant ou une concentration croissante dans les aliments. La productivité de méthane a été doublée (32 L/Lmargines) par rapport à un réacteur monophasé (Fezzani et Ben Cheikh, 2010). En fait, les taux élevés de AGV étaient facilement métabolisés et bioconvertis en CH₄ et CO₂ dans les méthaniseurs après de courtes durées de séjour. Notons aussi que certaines équipes de recherche ont testé un prétraitement chimique avant la fermentation anaérobie des margines. Azbar et al. (2008) ont démontré que la biodégradabilité anaérobie des margines associée à la production de méthane par le digesteur était significativement améliorée (80%) par un prétraitement chimique du craquage acide suivi d'une coagulation – floculation avec le sulfate d'alumine, le sulfate ferreux et le chlorure ferrique.

Une autre approche a été étudiée en 2010 par Dareioti et al., qui est la codigestion des margines avec d'autres substrats (déchets) tels que le fumier des volailles, les eaux usées d'abattoirs, les résidus de vineries et le fumier des vaches liquides, offrant des rendements en méthane pouvant atteindre 0,251 L/g de DCO. Un mélange contenant 20 % de margines et 80 % de fumier de vache liquide a été digéré de manière anaérobie par un procédé en deux étapes dans des conditions mésophiles avec un temps de rétention hydraulique de 19 jours (Dareioti et al., 2010) et a mené à une production de méthane à un taux de régime permanent allant jusqu'à 0,91 L méthane /L substrat /jour.

La teneur élevée en matières organiques des sous-produits de l'huile d'olive est une ressource alternative prometteuse pour la production aussi d'éthanol par des bactéries ou des levures. Les différents types de polysaccharides contenus dans ces sous-produits peuvent être bio convertis en éthanol via un ensemble de processus déployés en deux étapes distinctes (Aberkane et al., 2015).

V.2.3. Production des composés bioactifs

- **Production d'organismes unicellulaires**

Les cultures des fermenteurs aérés sur les margines produisent des protéines d'organismes unicellulaires qui peuvent être employés pour l'alimentation animale.

L'utilisation des microorganismes dans la production des protéines d'organismes unicellulaires est considérée comme un prétraitement pour les margines, permettant d'obtenir d'une part, une diminution de 50 à 70 % de la charge polluante et d'autre part, une biomasse protéique (Amrane et al., 2017).

- **Production des polyphénols bioactifs**

De nombreuses études ont porté sur les propriétés biologiques des composés phénoliques extraits de sous-produits d'olives (Schaffer et al., 2010 ; Lafka et al., 2011). Les margines semblent constituer une source abordable et abondante de substances phénoliques biologiquement actives offrant un potentiel prometteur en tant qu'agents antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiens. Néanmoins, l'hétérogénéité qualitative et quantitative des composés phénoliques dans ces sous-produits pose souvent problème. Les activités antioxydantes des margines ont été étudiées et démontrées par plusieurs essais antioxydants, notamment l'activité piégeant les radicaux de la DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), le piégeage des superions anioniques, l'oxydation des LDL (lipoprotéines) et la protection de la catalase contre l'acide hypochloreux (Lafka et al., 2011). Parallèlement à ces activités thérapeutiques, les margines présentent un large spectre de toxicités vis-à-vis des bactéries, des champignons, des plantes, des animaux et des cellules humaines (Esmail et al., 2014). Ces derniers ont rapporté que la fraction phénolique des margines démontrait une activité antibactérienne contre plusieurs espèces bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*). De plus, d'autres études ont montré que les activités bactéricides et fongicides significatives des margines sont principalement liées à leur teneur en monomères phénoliques, telles que l'hydroxytyrosol et le tyrosol (Yanguai et al., 2010). De plus, Schaffer et al. (2010) ont décrit la cytoprotection des cellules cérébrales par un extrait des margines riche en hydroxytyrosol, sous différents stress ou paradigmes. Les analyses de corrélation ont révélé que les effets cytoprotecteurs observés étaient probablement dus à l'hydroxytyrosol. Par conséquent, la valorisation des composés phénoliques pour leur utilisation en tant qu'agents

bioactifs implique leur fractionnement et/ou leur purification afin d'éviter certains effets antagonistes et, surtout, de contrôler leur concentration.

- **Production des champignons comestibles**

Les champignons comestibles, en particulier les espèces *Pleurotus* ou *Lentinula*, mais également *Agaricus bisporus*, peuvent se développer à l'aide des sous-produits de l'huile d'olive comme source d'éléments nutritifs (Altieri et al., 2009). Lakhtar et al. (2010) ont sélectionné et cultivé une souche de *Lentinula edodes* sur les margines, permettant une décoloration de 65% et une déphénolisation de 75%. La production de laccase était la principale activité lignolytique observée. Kalmis et al. (2010) ont suggéré de cultiver la *Pleurotus ostreatus* sur un substrat de paille de blé contenant un mélange d'eau du robinet et des margines (25% de margine, v/v) comme solution écologique pour la production commerciale de champignons.

- **Production des enzymes**

Les levures et les champignons filamenteux peuvent produire des enzymes industrielles en utilisant comme substrat des sous-produits de l'huile d'olive (Aguilera et al., 2008). Les principales enzymes obtenues par le traitement fongique des sous-produits de l'olive sont les lipases, les laccases, les peroxydases dépendant des pectinases. Les lipases microbiennes ont trouvé des applications dans les industries laitière, pharmaceutique, des détergents et autres. Les grignons ont également été utilisés avec succès pour la production de lipase en utilisant des cultures fongiques thermostables de *Rhizomucor pusillus* et *Rhizopus rhizopodiformis* (Aguilera et al., 2008).

V.2.4. Compostage

Le compostage est considéré comme un processus clé dans la hiérarchie des déchets et joue un rôle important dans la réduction du volume de déchets municipaux solides biodégradables mis en décharge. Il s'agit d'une transformation biologique qui convertit des déchets organiques hétérogènes en substances ressemblant à de l'humus par une population microbienne mixte dans des conditions optimales contrôlées d'humidité, de température et d'aération (Lahlou et al., 2017, Majbar et al., 2019). Lors du compostage, les microorganismes transforment des matières organiques présentes dans les déchets (fumier, boues, feuilles, fruits, les légumes, déchets alimentaires...) en un produit appelé l'humus (Fels et al., 2016 ; Majbar et al. 2018, Lahlou et al., 2017). Grâce au compostage, les déchets organiques se décomposent et se stabilisent en un produit pouvant être utilisé comme conditionneur de sol et / ou amendement organique.

Une grande variété de microorganismes aérobies mésophiles, thermotolérants et thermophiles, principalement des bactéries, des actinomycètes, des levures et des champignons sont impliqués dans le processus de biodégradation spécialisé (Atalia et al., 2015). En fait, le processus de compostage se déroule en trois phases :

- la phase mésophile : la présence de la matière organique fraîche et biodégradable engendre une colonisation rapide du milieu par des micro-organismes mésophiles. L'activité intense de ces derniers engendre une augmentation de la température (40 °C), ainsi qu'une acidification de la matière mise en andain (Rais et al., 2017 ; Lahlou et al., 2017 ; Van der Wurff et al., 2016).

- la phase thermophile : cette phase peut durer de quelques jours à plusieurs mois. La température de cette phase est élevée (peut atteindre des valeurs de 60°C voire 75°C). A ce stade, seuls les microorganismes thermorésistants (essentiellement des bactéries et des actinobactéries) dominent, engendrant ainsi, une importante dégradation des matières organiques complexes tels que la cellulose, et la lignine (Van der Wurff et al., 2016).

- la phase de refroidissement et de maturation : cette phase dure plusieurs mois. La température des déchets compostés diminue progressivement pour atteindre des températures ambiantes grâce à une recolonisation du milieu par des micro-organismes mésophiles et une stabilisation du pH et de température, voire une stabilisation du processus de compostage et de tous les paramètres qui le caractérisent (Van der Wurff et al., 2016).

Majbar et al. (2018) ont montré que le co-compostage des margines avec d'autres déchets s'est avéré être un moyen efficace pour produire un amendement organique pour les sols agricoles.

V.2.5. Autres utilisations

Meksi et al. (2012) ont rapporté une autre approche de la valorisation des margines en tant que ressource possible pour la teinture de matières textiles telles que la laine. Akar et al. (2009) ont décrit un rendement de biosorption élevé pour les grignons permettant d'éliminer le colorant RR198 des eaux usées. D'autres études ont élaboré du charbon actif à base des noyaux d'olive comme biosorbant des ions de métaux lourds (Aziz et al., 2009 ; Blázquez et al., 2009 ; Baccar et al., 2009). Plus récemment, Blázquez et al. (2012) ont rapporté que les noyaux d'olive traités à l'acide constituaient un bon biosorbant pour l'élimination du plomb des eaux usées. Berrios et al. (2012) ont testé le charbon actif à base de pierre d'olive pour éliminer le bleu de méthylène des eaux usées. Ils ont montré qu'il offrait également une alternative viable à faible coût pour l'élimination des composés organiques.

VI. Polyphénols des déchets oléicoles

Les olives sont riches en composés phénoliques simples et complexes, métabolites secondaires des plantes, auxquels sont attribuées plusieurs propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires (Raederstorff, 2009). Au cours du processus d'extraction de l'huile d'olive, en raison des caractéristiques chimiques des polyphénols solubles dans l'eau, la séparation entre l'eau et l'huile est différente. La majeure partie de ces composés va de la pulpe d'olive à la phase aqueuse, c'est-à-dire les margines (<1% dans l'huile d'olive contre 18% dans les olives). Le contenu phénolique des déchets oléicoles dépend fortement du type d'olive, de stade de maturité, des conditions climatiques et agronomiques, des conditions de stockage et du type de processus de production (Dermeche et al., 2013 ; Zahari et al., 2014).

VI.1. Composés phénoliques à partir des margines

Au cours du processus d'extraction de l'huile d'olive, les différentes caractéristiques chimiques des composés phénoliques hydrosolubles entraînent un cloisonnement différentiel entre l'eau et l'huile, et la majeure partie de ces composés passe de la pulpe d'olive aux margines. La fraction phénolique des margines se caractérise par une complexité significative, comme ont montré Zahari et al. (2014) en identifiant 20 composés phénoliques dans ces sous-produits par la technique Chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse (HPLC-MS-MS). Les classes dominantes de phénols hydrophiles ayant été identifiés comprennent les alcools phénoliques, les acides phénoliques, les dérivés de sécoiridoïdes, les flavonoïdes (lutéoline, lutéoline-7-glucoside) et les lignanes. Mouzaoui et al. (2014) ont rapporté que l'oleuropéine, ester de l'acide élénolique et de l'hydroxytyrosol, est un composé phénolique qui se forme lorsque les margines sont issues des olives matures. De plus, la couleur noir-brunâtre typique de cet effluent a été expliquée par la présence des phénols polymères qui présentent une structure semblable à la lignine et constituent sa fraction la plus résistante (Dermeche et al., 2013). La variabilité intrinsèque de la vaste gamme de facteurs analytiques et de méthodes utilisés pour extraire et analyser les composés phénoliques pourrait également expliquer la variabilité des phénols dans les margines. Cette dernière complique considérablement leurs traitements par bioconversion. La valorisation supposée de certains composés phénoliques semble également relativement incertaine et non rentable compte tenu de la faible concentration d'espèces spécifiques dans les margines ainsi que du coût et de la complexité des techniques de purification.

VI.2. Composés phénoliques à partir des grignons d'olive

Les noyaux d'olive contiennent des quantités importantes de composés phénoliques. Trois glucosides, parmi lesquels le salidroside (tyrosol – glucose), le nuezhénide (glucose – acide élénolique – glucose – tyrosol) et le nuezhénide-oléoside, ont été identifiés dans les noyaux d'olive (Dermeche et al., 2013). Le nuezhénide ne se trouve que dans les noyaux en tant que phénol prédominant, alors que le verbascoside n'apparaît qu'en quantités significatives dans les noyaux et la pulpe. Du tyrosol et de l'hydroxytyrosol ont été détectés dans des noyaux d'olive. Tandis que de la décarboxyméthyloléuropéine (3,4 DHFEA-EDA) a été trouvée dans la pulpe et les noyaux.

Les composés phénoliques les plus abondants dans les grignons d'olive sont le tyrosol et l'hydroxytyrosol, ainsi que l'acide p-coumarique et, dans une moindre mesure, l'acide vanillique. Le verbascoside, la rutine, l'acide caféoylquinique, le lutéoline-4-glucoside, le 11 méthyloléoside, l'hydroxytyrosol-10-b-glucoside, le lutéoline-7-rutinoside et l'oléoside sont d'autres composés ayant été identifiés par Ryan et al. (2003).

VI.3. Propriétés des phénols contenus dans les déchets oléicoles

L'hydroxytyrosol, le 2-hydroxytyrosol, le tyrosol, l'acide oléanolique et l'acide maslinique, les flavonoïdes, les anthocyanines et les tanins présents dans les déchets oléicoles sont considérés comme des antioxydants naturels ayant un intérêt commercial et économique considérable. Le plus intéressant semble être l'hydroxytyrosol, composé à haute valeur ajoutée, en raison de ses propriétés antioxydantes, et potentiellement bénéfiques pour la santé humaine.

Les résultats de la recherche in vitro démontrent que l'hydroxytyrosol inhibe l'oxydation des LDL (lipoprotéines) humaines, élimine les radicaux libres, inhibe l'agrégation plaquettaire et la production de leucotriène pour les neutrophils humains et confère la protection des cellules. Il agit également contre les bactéries gram (+) et gram (-). Il pourrait être utilisé comme agent de conservation des aliments dans l'agriculture pour la protection des olives et dans l'industrie cosmétique dans les préparations anti-vieillessement (Mouzaoui et al., 2014).

Esmail et al. ont prouvé en 2014 que l'hydroxytyrosol et les polyphénols d'olive ont un effet bactéricide et/ou bactériostatique vis-à-vis d'une large gamme de bactéries pathogènes, ainsi que leur effet contre les champignons.

Par ailleurs, la composition des déchets oléicoles en hydroxytyrosol les rend efficaces contre l'hyperglycémie, pour la prévention et le traitement des complications diabétiques associées au stress oxydatif et de façon générale pour les maladies d'origine endocrinien (Rocio et al., 2019).

Les mêmes auteurs ont montré que les polyphénols de l'huile d'olive sont de puissants protecteurs contre le cancer et très recommandés pour son traitement. Ils peuvent aussi inhiber la prolifération et induire l'apoptose des cellules cancéreuses (Rocio et al., 2019).

Lors d'une étude pratiquée sur 2300 femmes, des chercheurs de deux écoles de santé publique (Harvard et Athènes) ont constaté que les femmes qui consommaient de l'huile d'olive plus d'une fois par jour présentaient un moindre risque de cancer du sein, de l'ordre de 25 % plus faible. En effet, le taux de décès par cancer du sein est nettement moins élevé en Grèce qu'aux États-Unis. Cette protection de l'huile d'olive contre le cancer, provient probablement de la richesse de l'huile en polyphénols et de la vitamine E (Kabran et al., 2012).

Ces mêmes composés phénoliques ne sont pas toxiques et leur absorption dépend de la dose administrée. Ils sont très biodisponibles en tant que composants naturels de l'huile d'olive. En effet, l'hydroxytyrosol augmente la production de mitochondries indicatrices de la jeunesse du corps et de la bonne santé. Il induit aussi l'expression de plusieurs protéines liées à la longévité des cellules cardiaques (Rocio et al., 2019). Cela lui offre les caractéristiques de traitement des maladies cardio-vasculaires en :

- favorisant la réduction de la présence des molécules d'adhérence cellulaire ;
- augmentant la disponibilité du monoxyde d'azote ;
- supprimant l'agrégation plaquettaire ;
- stimulant les antioxydants endogènes des LDL pour retarder l'artériosclérose ; et en
- réduisant les réactions inflammatoires (Rocio et al., 2019).

L'optimisation des conditions opératoires d'extraction des polyphénols à partir des déchets oléicoles est une étape cruciale. À cet égard, beaucoup de chercheurs ont fait appel aux outils statistiques particulièrement les plans d'expérience pour faciliter la méthode d'extraction et augmenter le rendement (Wang et al., 2016 ; Liu et al., 2010).

VII. Modélisation statistique

La modélisation est une démarche qui permet de réduire la complexité d'un phénomène en éliminant les détails qui n'influencent pas son comportement d'une manière significative pour la compréhension et la prédiction du phénomène modélisé. Cette démarche est appliquée dans plusieurs domaines et spécifiquement dans les industries qui connaissent aujourd'hui de multiples développements et extensions (Menad, 2012).

VII.1. Méthodes de la modélisation statistique

Classiquement, la modélisation se définit comme une relation entre les variables à expliquer aux variables explicatives en répondant à des questions spécifiques qui marquent notre étude. Le choix d'un modèle statistique peut être déterminé par la forme des relations entre variables à expliquer et variables explicatives et il peut aussi être noué à l'objectif de l'étude. Cependant, il existe de nombreuses méthodes pour spécifier ces liens (Subasi et al., 2009). Les techniques de modélisation sont de deux types :

- Techniques descriptives qui admettent d'aborder des jeux de données multivariées sans considérer d'hypothèse particulière à confirmer. Ces techniques engagent souvent une réduction de la dimensionnalité de jeux de données volumineux rendant leur exploration plus facile.
- Techniques explicatives qui permettent de tester le lien entre deux groupes de variables (corrélation) ou d'expliquer une variable ou un groupe de variables par un autre groupe (Causalité).

Les méthodes présentant ces deux techniques sont listées dans le tableau 1.

Tableau 1: Conditions d'établissement des modèles statistiques

Variable(s) à expliquer	Variable(s) explicative(s)	Modèles établis
Une seule variable quantitative	Une variable qualitative = 1 facteur à deux modalités	ANOVA un facteur à 2 modalités
	Une variable qualitative à k modalités	ANOVA à un facteur
	Plusieurs variables qualitatives à k modalités	ANOVA à plusieurs facteurs (plan factoriel)
	Une variable quantitative	Régression linéaire simple; modèles non linéaires (en fonction de la forme de la relation entre variable à expliquer et variable explicative)
	Plusieurs variables quantitatives	Régression linéaire multiple ; modèles non-linéaires
	Mélange des variables qualitatives / quantitatives	ANCOVA
Plusieurs variables quantitatives	Qualitative(s) et/ou quantitative(s)	MANOVA
Un ou plusieurs variables qualitatives	Plusieurs variables quantitatives à k modalités	Plan d'expériences (factoriel, fractionnaire, surface de réponse...)
Une seule variable qualitative	Qualitative(s) et/ou quantitative(s)	Régression logistique (binomiale ou ordinale ou multinomiale)
Une seule variable type comptages	Qualitative(s) et/ou quantitative(s)	Régression log-linéaire

Afin d'appliquer l'approche de modélisation dans notre étude, nous avons appliqué le plan d'expériences pour réduire le nombre des expériences à étudier et pour déterminer la méthode la plus rentable dans l'extraction des polyphénols des déchets oléicoles. Cette méthode est décrite ci-après.

VII.2. Plan d'expérience

La technique des plans d'expériences consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou plusieurs facteurs à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse, c'est-à-dire une grandeur utilisée comme critère et en permettant de modéliser facilement les résultats. Le point délicat dans l'utilisation des plans d'expériences est donc de minimiser le plus possible le nombre d'expériences à mener sans sacrifier la précision des résultats (Tinsson W., 2010).

Les principaux atouts et contraintes des plans d'expériences sont représentés dans le tableau 2.

Tableau 2: Avantages et contraintes des plans d'expériences

Avantages	Contraintes
Diminuer le nombre d'essais	Plan d'expérience ne peut pas être appliqué pour les variables non contrôlables
Etudier un nombre très grand de facteurs (plans fractionnaires)	Il faut impérativement réussir à obtenir toutes les combinaisons de valeurs définies par le plan, sans faire varier les paramètres qui ont été fixés
Détecter les facteurs influents (plans de criblage)	Plus les expériences s'éloignent des valeurs cibles, moins le plan d'expériences est fiable
Détecter les interactions entre les facteurs	Plan factoriel complet requiert l'exécution d'une expérience par combinaison possible de paramètres
Rechercher l'optimum (plan pour surface de réponse)	Nombre d'expériences à réaliser s'obtient en effectuant le produit entre le nombre de niveaux de chaque paramètre
Réduire la variabilité ou étudier la robustesse d'un processus (plans produits)	Nombre d'expériences imposées par le plan complet devient rapidement élevé et peut rendre la campagne expérimentale irréalisable (Tinsson W., 2010).
Obtenir la meilleure précision sur le résultat (plan pour surface de réponse)	
Modéliser et optimiser les résultats ou les réponses (plans pour surface de réponse)	

VII.2.1. Types des plans d'expériences

Il existe un nombre important de plans différents. Chacun, par ses propriétés, permet de résoudre certains problèmes particuliers. Ainsi, on distingue deux grandes catégories :

- Les plans de criblage qui permettent d'étudier, estimer et comparer les effets des paramètres et ils sont les suivants :
 - ✓ Plan factoriel complet
 - ✓ Plan factoriel fractionnaire
 - ✓ Plan de Taguchi
 - ✓ Plan de Plackett-Burman

- Les plans de surfaces de réponse qui sont des plans utilisés pour ajuster les paramètres afin d'atteindre un optimum.

VII.2.2. Condition d'application des plans d'expériences

Les plans d'expériences sont un moyen bien adapté à la recherche à chaque fois que secourt un grand nombre de paramètres. Ils autorisent de réduire le nombre d'essais, d'obtenir du temps et de l'argent, tout en parvenant à un meilleur résultat.

Trois éléments sont indispensables pour atteindre cette démarche : la planification des essais et la qualité de l'expérience, ensuite, la maîtrise d'outils mathématiques tels que la régression linéaire multiple, et enfin l'apport des statistiques pour la validation globale des modèles et la résolution des effets significatifs.

Pour appliquer la méthode des plans d'expériences et, en particulier, les méthodes s'appuyant sur les régressions linéaires multiples, il faut que les deux conditions suivantes soient satisfaites (Tinsson et al., 2010).

- **Condition 1 :**

La valeur que prend chaque variable doit être connue sans erreur. Or dans un travail d'expérimentation, on ne peut nier la présence d'erreur. Donc pour satisfaire cette condition on doit s'assurer que l'erreur induite sur la valeur de la variable soit très petite, voire négligeable devant la variation de cette même variable lorsqu'elle change de valeur.

- **Condition 2 :**

La réponse doit être homoscedastique. Cela signifie que l'erreur de mesure doit être la même sur tout le domaine expérimental. Pour cela il appartient à l'expérimentateur de garder les mêmes gestes, le même matériel et la même cadence lors de toute la campagne d'expérimentation.

VII.2.3. Méthode de surface de réponse

Le plan de surface de réponse est un ensemble des méthodes avancées de plan d'expériences qui autorisent de rechercher les niveaux optimaux des facteurs pour toucher un niveau de réponse souhaité. L'objectif visé lors d'une étude de surface de réponse peut être de différentes natures (Tinsson et al., 2010) :

- Optimiser (maximiser/minimiser) une ou plusieurs variables de réponse,
- Obtenir un compromis satisfaisant entre plusieurs variables de réponse,

- Structurer une cartographie de la variation d'une réponse dans un plan, comme sera le cas pour nous,
- Rechercher dans quelles proportions peut être mélangés des constituants préalablement choisis.

Cependant, il existe trois principaux types de plans de surface de réponse :

- ***Plans de Doehlert***

Ces plans admettent également l'introduction facile de nouveaux facteurs. Les nouvelles expériences viendront compléter les premières et aucune expérience ne sera perdue. La seule précaution à prendre est de maintenir les facteurs non étudiés à une valeur constante (niveau 0) pendant l'étude des facteurs actifs. Les points d'expériences de ces plans remplissent d'une manière uniforme l'espace expérimental.

- ***Plans composites centrés***

Les plans composites centrés peuvent ajuster un modèle quadratique complet. Ils sont souvent utilisés lorsque le plan demande une expérimentation séquentielle, car ces plans peuvent intégrer des informations provenant d'une expérience factorielle correctement planifiée.

- ***Plans de Box-Behnken***

Comme les plans de Box-Behnken comportent généralement moins de points que les plans composites centrés, leur coût est moindre pour le même nombre de facteurs. Ils peuvent estimer efficacement les coefficients de premier et second ordre. Toutefois, ils ne peuvent pas inclure les essais d'un plan factoriel.

Les plans de Box-Behnken ont toujours trois niveaux par facteur, contrairement aux plans composites centrés, qui peuvent en compter jusqu'à cinq. En outre, contrairement aux plans composites centrés, les plans de Box-Behnken ne comprennent jamais d'essais où tous les facteurs sont définis sur des paramètres extrêmes, tels que l'ensemble des paramètres minimaux (Kimouche et al., 2008).

VII.3. Analyse statistique des modèles

L'analyse statistique de la significativité des modèles de 1^{er} degré, 2^{ème} ou autre est réalisée en quatre étapes : d'une part, l'analyse du point de vue de la qualité globale et l'ajustement du modèle (étapes 1 et 2); et d'autre part, celle de la qualité individuelle des coefficients qui

améliorent significativement la variabilité expliquée par le modèle final (étape 3). Finalement, il faut faire une analyse de l'indépendance des résidus du modèle.

Étape 1 : Évaluation de la qualité du modèle élaboré

L'interprétation commence en évaluant la qualité du modèle qui se base sur la vérification si le modèle explique significativement la variabilité d'un modèle ; si l'ensemble des variables explicatives ont une influence sur la variable dépendante.

- Analyse de variance

Les analyses de variance ou analyses factorielles sont des techniques accordant de savoir si une ou plusieurs variables dépendantes sont en relation avec une ou plusieurs variables dites indépendantes.

La formulation de cette analyse, qui nous permet d'évaluer globalement le modèle, est la suivante :

- H_0 : tous les coefficients du modèle sont nuls
- H_1 : il existe au moins un coefficient non nul

Ce test détermine si l'hypothèse nulle (H_0) doit être rejeté ou non (Goupy, 2001).

Étape 2 : Évaluation de l'ajustement du modèle de régression aux données et de sa variabilité expliquée

La significativité du modèle est examinée par le calcul du coefficient de détermination et le test de Fisher.

- Coefficient de détermination

Le coefficient de détermination affiche la force de la relation entre les variables d'entrée et de sortie d'un modèle. C'est un indicateur spécifique qui traduit la variance expliquée par le modèle (Goupy, 2001).

- Test de Fisher

L'appréciation de la qualité globale du modèle se réalise avec la statistique de Fischer, qui donne si les variables explicatives ont une influence sur la variable dépendante.

L'arbitrage se réalise par la comparaison de la valeur de la F-statistique estimée à celle tabulée par Fischer. En général, les logiciels donnent automatiquement la probabilité associée à la

$F_{\text{statistique}}$ calculée, ce qui facilite grandement l'analyse. Il suffira donc de comparer la probabilité associée à la F-statistique au seuil de 5 % retenu. Dans le cas où la probabilité associée à $F_{\text{statistique}}$ calculée est inférieure à 5 %, alors l'hypothèse H_0 sera rejetée au profit de l'hypothèse alternative selon laquelle la régression est globalement significative.

Étape 3 : Évaluation des paramètres du modèle

Un coefficient de régression montre l'importance et le sens de la relation entre un prédicteur et la variable de réponse. Les coefficients sont les nombres par lesquels les valeurs du terme sont multipliées dans une équation de régression.

Le coefficient d'un terme affiche la variation de la réponse moyenne associée à la variation de ce terme quand tous les autres prédicteurs sont maintenus constants. Le signe du coefficient donne la direction de la relation entre le terme et la réponse. La taille du coefficient facilite généralement à évaluer si l'effet d'un terme sur la variable de réponse est significatif dans la pratique. En outre, l'importance du coefficient ne donne pas si un terme est statistiquement significatif ou non car le calcul de la signification prend également en compte la variation des données de réponse. Pour arbitrer la signification statistique, il faut évaluer la valeur de p du terme.

Étape 4 : Independence des résidus

L'introduction du temps dans les variables observées donne une conséquence importante sur les résidus. La qualité du modèle dépend des résidus. Il faut donc analyser cette propriété graphiquement et par des tests statistiques.

L'importance des résidus d'un modèle est de procéder à leur analyse afin d'éprouver :

- a- si les résidus ne donnent pas une mauvaise spécification du modèle utilisé
- b- si les résidus ne mettent pas en évidence l'existence d'autres variables explicatives que celle qui a été retenue.

Les tests à analyser sont classiquement un test sur le coefficient d'autocorrélation d'ordre 1, tel que celui de Durbin et Watson, ou par digramme de Pareto, ou par un graphique (droit d'Henry) est en général simple qui reporte simplement le temps en abscisse et les résidus en ordonnées (Goupy, 2001) :

- Test de Durbin-Watson

Le test de Durbin-Watson est un test statistique cherchant l'autocorrélation et l'indépendance des résidus dans un modèle de régression linéaire.

Son principe se base sur le calcul des résidus en effectuant le rapport entre la somme des différences des résidus à t et $t-1$ et la somme des résidus (les écarts entre le modèle de prédiction et les valeurs réelles).

- Droite d'Henry

La droite de Henry constitue un autre outil pour vérifier dans quelle mesure un ensemble de valeurs observées (des résidus dans le cas présent) suit une distribution théorique. Dans ce graphique, les valeurs des résidus sont tracées selon l'axe horizontal des X ; l'axe vertical Y représente les valeurs normales théoriques associées, après classement dans l'ordre croissant. Si toutes les valeurs s'alignent parfaitement, nous pouvons en conclure que les résidus suivent la loi Normale.

- Diagramme de Pareto

Le diagramme de Pareto des effets est souvent un outil efficace pour donner une synthèse des résultats d'une expérience, en particulier pour les profanes. Dans ce graphique, les effets estimés de l'ANOVA sont classés de la plus grande à la plus petite valeur absolue. L'importance de chaque effet est donnée par une colonne, et souvent, une ligne traversant les colonnes indique à quel seuil un effet sera statistiquement significatif (c'est-à-dire la hauteur que doit avoir une colonne).

VIII. Conclusion

Cette synthèse bibliographique nous a permis de conclure que malgré les efforts exhibés par le gouvernement marocain, la gestion des déchets oléicoles présente jusqu'à l'heure actuelle un risque de pollution funeste. De nombreux procédés ont été développés pour leur traitement.

Bien qu'il n'existe pas encore de résolution radicale permettant d'éliminer ce type de pollution, le choix des filières de traitement ou de valorisation concerne les décideurs, le coût d'investissement, la valeur ajoutée du produit qui en résulte de traitement et de l'impact environnemental de la filière.

Dans cette projection, notre étude intervient pour bénéficier des déchets oléicoles et limiter leur pollution. Elle consiste :

- Dans un premier lieu, d'extraire les composés phénoliques à partir de ces déchets ; évaluer leur efficacité antioxydante et antimicrobienne et les incorporer dans le beurre pour sa stabilité.
- Dans un deuxième lieu, de valoriser les substrats issus de l'extraction des polyphénols dans la production du méthane et comparer le rendement avec celui issu de la biométhanisation des margines brutes et celle des boues issues du traitement combiné des margines par électrocoagulation suivi de l'adsorption sur la sciure de bois d'eucalyptus activée et traitée dans les conditions optimales obtenues par Majbar et al. (2019) dans un travail antérieur de notre laboratoire LIEME (Laboratoire d'Ingénierie d'Electrochimie, de Modélisation et d'Environnement).
- dans un dernier lieu, de valoriser les boues issues des différents essais de biométhanisation par le co-compostage avec les déchets des plantes médicinales, les fientes de volailles et les déchets verts.

CHAPITRE II

EXTRACTION DES POLYPHENOLS DES DECHETS OLEICOLES ET OPTIMISATION DES CONDITIONS OPERATOIRES

I. Introduction

Dans une approche qui repose sur des mécanismes et des outils de développement durable visant un traitement écologique et une valorisation des déchets, les déchets oléicoles seraient une matière première riche en composés phénoliques bioactifs ayant un caractère antioxydant. Ces molécules bioactives pourraient être appliquées dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Kachouri et al., 2016).

Ce chapitre est scindé en 3 objectifs :

- L'extraction des composés polyphénoliques des déchets oléicoles ;
- L'optimisation de la méthode d'extraction des composés phénoliques à l'aide du plan d'expériences ;
- L'identification des extraits à l'aide de la chromatographie en phase liquide à haute performance ;

II. Méthodologie expérimentale

II.1. Déchets oléicoles

L'échantillonnage des déchets oléicoles ; margines et grignons ; a eu lieu par la méthode composite d'une unité de trituration d'olive par centrifugation à 3 phases sise à 12 Km de la route reliant Fès à Séfrou- Coordonnées (33°93'00'' N, 4°90'43'' O).

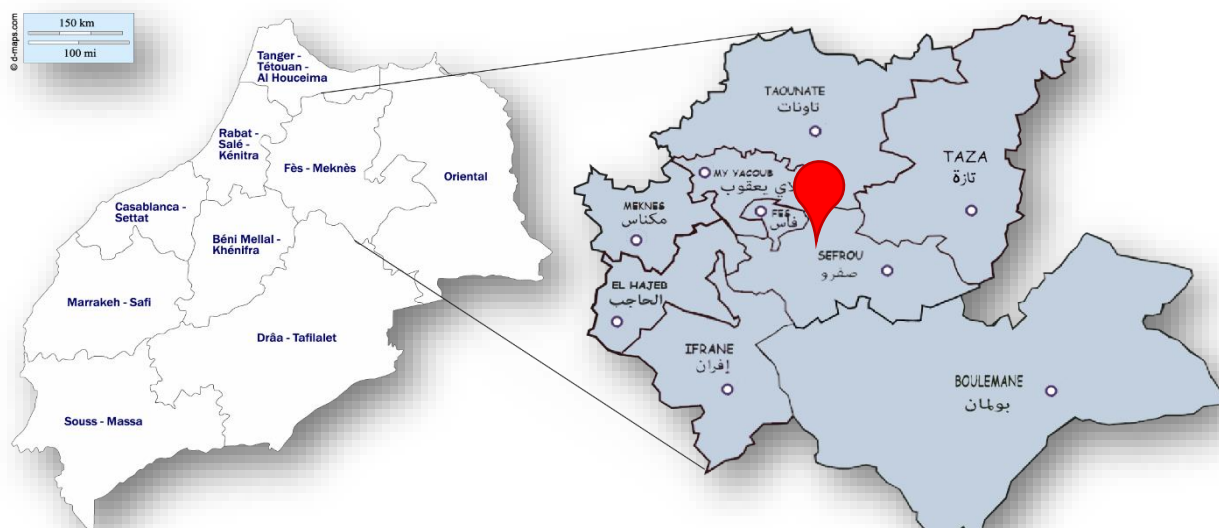


Figure 1 : Emplacement de l'entreprise de trituration d'olive- Fès

8 échantillons ont été prélevés de plusieurs points de rejet au mois d'Octobre de l'année 2015. Le mélange de chaque déchet, en quantité suffisante pour toute l'étude, a été agité et conservé au réfrigérant à 4°C dans des fûts hermétiques étanches en plastique, étiquetés (origine, date de prélèvement) selon la norme AFNOR édictée par Rodier (RODIER, 2009) jusqu'au jour de leur exploitation.

II.2. Méthodes

II.2.1. Caractérisation physico-chimique des déchets oléicoles

Les déchets oléicoles ont été caractérisés par la mesure des paramètres physico-chimiques ; pH, conductivité, humidité (H%), matière sèche (MS%), matière organique (MO%), carbone organique (CO%), azote totale Kjeldahl et polyphénols ; selon les normes AFNOR édictées par Rodier (RODIER, 2009).

Tableau3 : Méthodes d'analyses des paramètres caractérisant les déchets oléicoles

	Méthodes/ Normes	Appareil	Expressions des résultats
pH	NFT 90-017	pH-mètre type HANNA	Mesure directe après étalonnage de l'appareil
Conductivité (ms/cm)	NFT 90-111	Conductimètre de type HANNA	Mesure directe en fonction de la température
Humidité (H%)	Évaporation d'un échantillon de masse (MB) à 105°C, jusqu'à obtention d'une masse constante (MS)	Etuve Type 11-25, FNR861568	$H (\%) = [(MB - MS) / MB] \times 100$
Matière sèche (MS%)	Évaporation d'un échantillon de masse (MB) à 105°C, jusqu'à obtention d'une masse constante (MS)		$MS (\%) = 100 - Humidité (\%)$
Matière organique (MO%)	Calcination d'une masse à 550 °C pendant 4 heures	Four à moufle type Lenton EF11/8B (MC)	$MO (\%) = [(m_s - m_m) / m_s] \times 100$
Carbone organique (CO%)	Détermination à partir de la matière organique (MO)		$CO(\%) = \frac{\%MO}{1,724}$
Azote total Kjeldahl (NTK)	NF T90-110 - Minéralisation d'un volume V de l'échantillon par acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur (sélénium). - Transformation de l'azote organique en ions ammonium (sulfate d'ammonium). - alcalination des produits de la réaction par la soude (NaOH). - L'ammoniaque libéré par la distillation est recueilli dans l'acide borique puis finalement dosé par l'acide chlorhydrique.	- Buchi digestion unit k-424 - Buchi distillation unit B-324	$NTK (mg.L^{-1}) = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 14 \times 1000}{V}$

II.2.2. Extraction des polyphénols à partir des déchets oléicoles

L'extraction des polyphénols consiste en premier lieu à une délipidation des déchets oléicoles en séparant les matières grasses par l'utilisation d'un solvant organique.

- **Extraction des matières grasses**

10 mL de margines ou 10 g de grignons sont ajoutées à 10 mL d'hexane (V/V). La solution est mélangée pendant 3 min (macération pour les grignons). Le mélange est ensuite agité pendant 10 min puis décanté. Les margines délipidiées sont recueillies après séparation complète en deux phases. Le surnageant est composé d'hexane et des lipides et la phase aqueuse composée des margines délipidiées prêtes à une extraction liquide-liquide. Cette étape est reprise trois fois (3 lavages à l'hexane) afin d'éliminer la totalité de la matière grasse (NF EN ISO 734-1, 2007).

- **Dosage des matières grasses**

Après la séparation des deux phases à l'aide d'une ampoule à décanter, la fraction inférieure est récupérée dans un ballon taré (m_{b1} en g). Après évaporation du solvant à l'aide d'un rotavapor, le ballon est de nouveau pesé (m_{b2} en g). La masse des lipides totaux dans la fraction m_{Lt} est alors égale à :

$$m_{Lt} = \frac{(m_{b2} - m_{b1})}{m_0}$$

- avec m_0 : masse de la fraction analysée en grammes.
- m_{b1} : masse initiale du ballon en grammes.
- m_{b2} : masse du ballon en g après évaporation du solvant en grammes.
- m_{Lt} : masse totale des lipides dans la fraction en g.

- **Extraction des polyphénols**

- ✓ **Grignons d'olive**

Les échantillons des grignons d'olive dégraissés ont été soumis à des extractions par macération ou Ultrason à l'aide de quatre types de solvants : acétate d'éthyle, acétone, méthanol et éthanol.

- ✓ **Margines**

Les margines délipidiées ont été clarifiées par centrifugation (4000 tr/min, 15 min). Les composés phénoliques dans les margines dégraissées ont été extraits deux fois par la méthode d'extraction liquide-liquide par les différents solvants.

II.2.3. Dosage des polyphénols totaux des extraits phénoliques des déchets oléicoles par la méthode Folin-Ciocalteu

La teneur totale en composés phénoliques de chaque extrait a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode Folin-Ciocalteu. Cette méthode a pour principe de réduire l'acide phosphomolybdique du réactif Folin-Ciocalteu par les composés phénoliques en milieu alcalin qui se manifeste par le développement d'une coloration bleu foncé. La lecture de la densité optique à 765 nm permet de déterminer la concentration des composés phénoliques en se référant à une courbe étalon dressée à partir des concentrations connues de l'acide galique. Un volume de 2,5 mL de réactif Folin-Ciocalteu 0,2 N est mélangé à 0,5 mL de l'échantillon. Puis mis à l'obscurité pendant 5 minutes. Ensuite, 2 mL d'une solution de carbonate de sodium (75 g/L) sont ajoutés au mélange qui est conservé à l'obscurité pendant 1 h. L'absorbance a été mesurée à 760 nm. Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide galique (EAG).

II.2.4. Méthode d'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols des déchets oléicoles par le plan d'expériences

- **Détermination des paramètres étudiés**

Afin d'améliorer l'extraction des polyphénols avec le moindre coût, nous avons considéré trois paramètres qui présentent un impact important et influent fortement sur l'extraction des polyphénols :

- méthode
- solvant
- volume de solvant

La réponse cherchée dans cette étude est la concentration des polyphénols extraits.

- **Choix des niveaux**

Le choix des niveaux des paramètres étudiés s'est basé sur les spécifications et les exigences de l'étude réalisée. Les niveaux des trois paramètres sont présentés dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 4: Niveaux minimal et maximal des paramètres étudiés : cas des margines

Niveau	Type de méthode d'extraction	Volume de solvant	Type de solvant
Niveau 1	Agitation	V/V	Ethanol
Niveau 2	Ultrason	V/2V	Acétone
Niveau 3	-	-	Méthanol
Niveau 4	-	-	Acétate d'éthyle

Tableau 5: Niveaux minimal et maximal des paramètres étudiés : cas des grignons

Niveau	Type de méthode d'extraction	Volume de solvant	Type de solvant
Niveau 1	Ultrason	G/2V	Méthanol
Niveau 2	Macération	G/V	Ethanol
Niveau 3	-	-	Acétone
Niveau 4	-	-	Acétate d'éthyle

- **Choix de modèle**

L'effet des trois paramètres étudiés sur la quantité des polyphénols extraits a été modélisé par le plan factoriel complet afin de cribler et optimiser le nombre d'expériences.

Les niveaux utilisés pour chacun des facteurs sont présentés dans les tableaux 6 et 7.

Tableau 6: Niveaux des facteurs choisis pour le plan factoriel complet : cas des margines

Facteur	Nombre des niveaux	Niveaux
Méthode d'extraction	2	Agitation
		Ultrason
Volume de solvant	2	V/V
		V/2V
Type de Solvant	4	Ethanol
		Acétone
		Méthanol
		Acétate d'éthyle

Tableau 7 : Niveaux des facteurs utilisés pour le plan factoriel complet : cas des grignons

Facteur	Nombre de niveaux	Niveaux
Méthode d'extraction	2	Macération
		Ultrason
Volume de solvant	2	V/V
		V/2V
Type de Solvant	4	Ethanol
		Acétone
		Méthanol
		Acétate d'éthyle

Pour chaque déchet, un plan d'expériences a été établi suite aux facteurs ciblés avec des niveaux différents (2 niveaux pour les deux premiers facteurs et 4 niveaux pour le 3^{ème} facteur). Le nombre des expériences est donc égale à 8. Le plan d'expérimentation utilisé dans cette étude pour les deux déchets est présenté dans les tableaux 8 et 9. L'effet et les interactions de chaque

type de déchet sont présentés dans un plan d'expérimentation indépendant. La préparation des échantillons est faite selon le même principe et le même plan d'expérimentation afin d'assurer l'étude comparative des effets des différents paramètres sur l'extraction des polyphénols dans les mêmes conditions opératoires.

Tableau 8 : Matrice d'expérience pour l'extraction des polyphénols : cas des margines

N° d'Expérience	Méthode	Volume de solvant	Solvant
1	Agitation	V/2V	Ethanol
2	Agitation	V/V	Acétone
3	Agitation	V/2V	Méthanol
4	Agitation	V/V	Acétate d'éthyle
5	Ultrason	V/V	Ethanol
6	Ultrason	V/2V	Acétone
7	Ultrason	V/V	Méthanol
8	Ultrason	V/2V	Acétate d'éthyle

Tableau 9 : Matrice d'expérience pour l'extraction des polyphénols : cas des grignons

N° d'Expérience	Méthode	Volume de solvant	Solvant
1	Ultrason	G/V	Méthanol
2	Ultrason	G/2V	Ethanol
3	Ultrason	G/V	Acétone
4	Ultrason	G/2V	Acétate d'éthyle
5	Maceration	G/2V	Méthanol
6	Maceration	G/V	Ethanol
7	Maceration	G/2V	Acétone
8	Maceration	G/V	Acétate d'éthyle

II.2.5. Dosage de l'oleuropéine des extraits phénoliques par la chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS/MS)

Des extraits phénoliques des déchets oléicoles sans solvant ont été récupérés avec 2 mL d'une solution d'eau/méthanol (v/v 80 : 20), filtrés à travers un filtre PVDF (Filtres seringues en Polyvinylidène) de 0,45 µm et analysés par un chromatographe en phase liquide type Thermo Scientific™ Dionex™ Dionex™ UltiMate™ UltiMate™ Colonne système 3000 RS couplée à un spectromètre de masse type Thermo Scientific™ TSQ Endura™ quadrupôle à trois étages (HPLC-MS/MS).

L'échantillon à analyser est entraîné par un courant de phase mobile en contact d'une phase stationnaire. Chaque espèce présente migre à une vitesse qui dépend de ses caractéristiques et celles des deux phases en présence. Les composés (extraits phénoliques des margines et des grignons d'olive) à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant (méthanol). Ce

mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent au moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie du colonne grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics constitue le chromatogramme.

Les conditions opératoires dans lesquelles nous avons effectué nos analyses ont été selon le mode ion positif. Les principaux paramètres MS ont été optimisés définis comme suit : Tension de pulvérisation 2900 négatif, température capillaire 250°C, température de vaporisateur 250 ° C, gaine gaz 40 arb, Aux Gas 11arb, Sweepgas 4arb, Q1 et Q3 (FWHM) 0,7.

Tableau 10 : Transitions d'ions précurseur au produit (m/z)

Composé	Précurseur (m/z)	Produit (m/z)	RT (min)	Polarité	Gaz de collision
Oleuropéine	539	307	16,62	Negatif	37,6
Oleuropéine	539	275		Negatif	31,3
Oleuropéine	539	377		Negatif	23,0

III. Caractérisation des déchets oléicoles

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des margines et des grignons d'olive sont répertoriés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Caractérisation physico-chimique des déchets oléicoles

Paramètres	Margines	Grignons d'olive
pH	4,50 ± 0,01	4,12 ± 0,01
EC (mS.cm ⁻¹)	7,00 ± 0,02	5,50 ± 0,01
Densité	1,05	0,32 ± 0,02
MO (%)	74,75 ± 5,46	95,18 ± 0,42
CO (%)	43,36 ± 3,16	53,2
Matière grasse (%)	7,67%	72,3%
NTK (mg/L)	0,003 ± 0,004	0,95
Polyphénols (mg/g)	3,65 ± 0,08	1,15 ± 0,02

Les margines et les grignons sont moyennement acide. Les valeurs de pH, de l'ordre de 4,5 à 6, enregistrées dans notre étude se trouvent dans la limite de la fourchette citée dans la littérature (Esmail et al., 2014 ; El Yamani et al., 2017 ; Zaier et al., 2017). Les deux déchets portent une charge minérale importante comparable à celle des travaux antérieurs, à cause de salage pratiqué au cours de la conservation des olives avant la trituration et de la richesse naturelle des margines en sels minéraux dissous (Souilem et al., 2017). Quant à la matière organique, elle constitue la fraction la plus élevée dans la composition des deux déchets. Néanmoins, elle est à moindre degré dans les margines. Ce qui explique la charge élevée des grignons en azote. Pour la concentration en polyphénols, les margines sont plus riches que les grignons. Ces concentrations élevées en polyphénols confèrent aux déchets oléicoles un pouvoir anti-oxydant d'où découle divers effets biologiques : activité antimicrobienne, antifongique ; ce qui pourraient limiter leur biodégradation naturelle.

IV. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols

Les résultats des essais d'optimisation sont rassemblés dans le tableau 12. Chaque essai de l'extraction des polyphénols a été réalisé trois fois. Les valeurs relevées lors des mesures sont des valeurs particulières de variables aléatoires. La répétition des mesures a permis de s'assurer de ne pas être en présence d'une valeur extrême lors de l'expérimentation. En présence d'une valeur suspecte, l'essai est réalisé de nouveau et la valeur suspecte est écartée. Les résultats des 8 essais de la matrice d'expériences des margines et des grignons d'olive sont présentés dans le tableau 12, et ils relatent les valeurs moyennes des trois essais.

Tableau 12 : Pourcentage des Polyphénols extraits des déchets oléicoles selon les spécifications de plan d'expérimentation

N° de l'Expérience	Concentration des Polyphénols dans les margines mg/MI	Concentration des Polyphénols dans les grignons d'olive mg/mg
1	2,08	1,53
2	2,01	1,15
3	1,06	1,20
4	3,61	1,23
5	3,89	1,28
6	3,07	0,60
7	2,78	1,02
8	4,87	0,50

L'analyse statistique a été réalisée en quatre étapes :

- détermination des termes qui contribuent le plus à la variabilité de la réponse avec analyse par le diagramme de Pareto ;
- analyse statistique des paramètres pour identifier les termes qui ont des effets statistiquement significatifs sur la réponse ;
- ajustement du modèle aux données ;
- vérification des hypothèses de l'analyse par application du modèle.

IV.1. Etape 1: Détermination des termes de la variabilité de la réponse

Le diagramme de Pareto des effets a été utilisé pour comparer la valeur relative et la signification statistique des effets. Le diagramme affiche les valeurs absolues des effets normalisés. Cette analyse donne les résultats présentés dans le tableau 12.

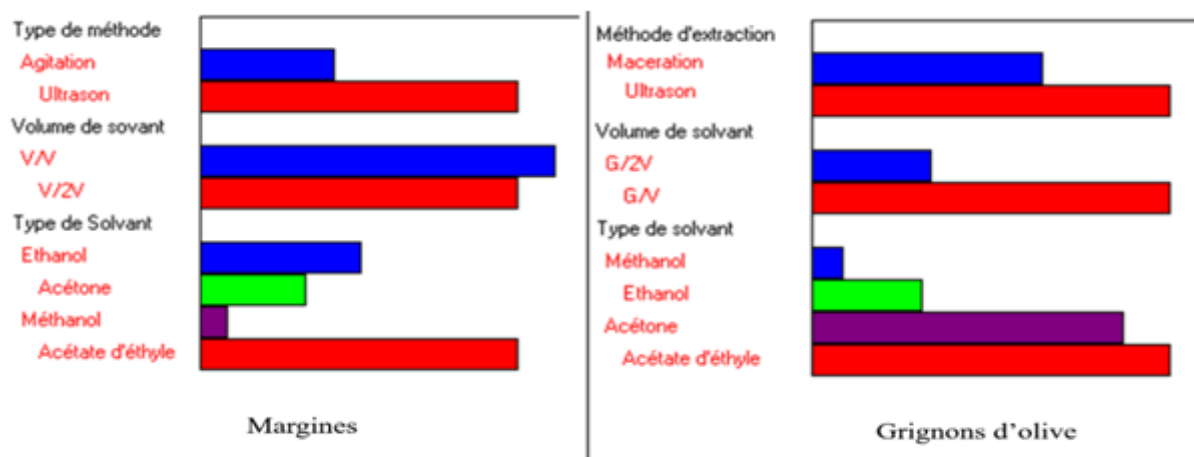


Figure 2 : Comparaison de la valeur relative et sa signification par le diagramme de Pareto

Le dépouillement des graphes de la figure 2 montre que les trois effets principaux pour l'extraction des polyphénols statistiquement significatifs sont pour :

- les margines : l'ultrason pour le type de méthode, V/V pour le volume de solvant et Acétate d'éthyle pour le type de solvant.
- les grignons d'olive : l'ultrason pour le type de méthode, G/V (poids de grignons en gramme/volume de solvant) pour le volume de solvant et l'acétate d'éthyle pour le type de solvant.

IV.2. Etape 2 : Association entre les termes et les réponses

Pour déterminer si l'association entre la réponse et chacun des termes du modèle est statistiquement significative, une comparaison a eu lieu de la valeur de p-value du terme au seuil de signification (5%) pour évaluer l'hypothèse nulle. L'hypothèse nulle signifie que le coefficient du terme est égale à zéro; ce qui implique qu'il n'existe aucune association entre le terme et la réponse.

Tableau 13 : Association entre les termes et les réponses cas des margines

	NOM	EFFET	ECART-TYPE	T.EXP.	SIGNIF. %
METHODE D'AGITATION	Agitation	-1,461	0,067	72,31	6,4
	Ultrason	4,820	0,054	-26,85	0,0856 ***
VOLUME DE SOLVANT	V/2V	0,447	0,077	5,81	5,50
	V/V	1,067	0,077	13,86	0,337 **
TYPE DE SOLVANT	Ethanol	-1,253	0,077	-16,28	5,236
	Acétone	0,620	0,077	8,06	6,18
	Méthanol	-1,700	0,077	-22,09	9,1
	Acétate d'éthyle	2,320	0,077	-30,14	0,0694 ***

Tableau 14 : Association entre les termes et les réponses cas des grignons d'olive

	NOM	EFFET	ECART-TYPE	T.EXP.	SIGNIF. %
METHODE D'AGITATION	Ultrason	0,545	0,059	9,22	0,864 **
	Maceration	0,127	0,048	8,85	6,95
VOLUME DE SOLVANT	G/V	0,540	0,048	4,40	1,23 *
	G/2V	0,213	0,068	7,91	6,53
TYPE DE SOLVANT	Ethanol	0,010	0,068	0,15	8,2
	Acetone	0,245	0,068	3,59	6,8
	Méthanol	0,045	0,059	9,22	8,64
	Acétate d'éthyle	0,427	0,048	8,85	0,949 **

L'analyse des résultats d'association entre les différents facteurs montre que les effets principaux des facteurs (méthode d'agitation, type et volume de solvant) sont statistiquement significatifs au seuil de 5% (0,05) pour les deux sous-produits.

Nous signalons aussi que la variation de ces variables entraîne une variation de la variable de réponse. Les meilleurs résultats de la réponse (Pourcentage des polyphénols) sont obtenus par l'utilisation de la méthode ultrason, un volume de solvant égale à V/V pour les margines et G/V pour les grignons d'olive et l'acétate d'éthyle étant le solvant d'extraction pour les deux sous-

produits. Alors que l'effet de l'agitation, du rapport V/2V, l'éthanol, l'acétone et le méthanol n'est pas statistiquement significatif pour les margines. De même pour les grignons d'olive, les paramètres n'ayant pas d'effet sont la macération, le rapport G/2V, l'éthanol, l'acétone et le méthanol.

IV.3. Etape 3 : Ajustement du modèle aux données

Pour déterminer l'ajustement du modèle aux données, une étude des statistiques d'adéquation de l'ajustement récapitulant du modèle a été faite (tableau 15).

Tableau 15 : Statistiques d'adéquation et de l'ajustement des données

	Margines	Grignons d'olive
Ecart Type de la réponse		0,068
R²	0,999	0,989
R² ajusté	0,996	0,962
Nombre de degrés de liberté	2	2

Les résultats du tableau 15 nous ont permis de constater que les valeurs des coefficients déterminants R² et R² ajusté sont élevées et égales respectivement à 0,999 et 0,996, (~ à 1 (100 %)). Ce qui montre que la qualité de l'ajustement et de la variance du pourcentage des polyphénols, expliquée par les différents termes, est bonne et que les régressions établies semblent de très bonne qualité. Donc, l'apport de variabilité du pourcentage de polyphénol est bien expliqué par les variables introduites : l'ultrason, le rapport V/V et l'acétate d'éthyle pour les margines. L'erreur standard du modèle développé du pourcentage de polyphénol est égale à 0,077.

Le plan développé est le suivant :

$$\% \text{ du polyphénol} = 4,820 \times \text{Ultrason} + 1,067 \times \text{V/V} + 2,320 \times \text{Acétate d'éthyle}$$

Pour les grignons, les valeurs des coefficients déterminants R² et R² ajusté égales respectivement à 0,989 et 0,962. L'apport donc de la variabilité du taux de polyphénols est bien montré par les variables mises en jeu : l'ultrason, le rapport G/V et l'acétate d'éthyle. L'erreur standard du modèle développé du pourcentage de polyphénol est égale à 0,068.

Le plan développé est :

$$\% \text{ des polyphénols} = 0,545 \times \text{Ultrason} + 0,54 \times \text{G/V} + 0,427 \times \text{Acétate d'éthyle}$$

IV.4. Etape 4 : Vérification des hypothèses de l'analyse

L'indépendance et la normalité des résidus du pourcentage des polyphénols ont été prouvées par l'établissement de la droite d'Henry (figure 3). Cette droite a montré que la distribution observée des résidus du modèle présente un bon ajustement à la loi normale car l'ensemble des points forment une droite. Donc, la linéarité est satisfaisante. Cela prouve l'autocorrélation des résidus, l'indépendance des erreurs et la bonne qualité d'échantillonnage pour les margines que pour les grignons d'olive.

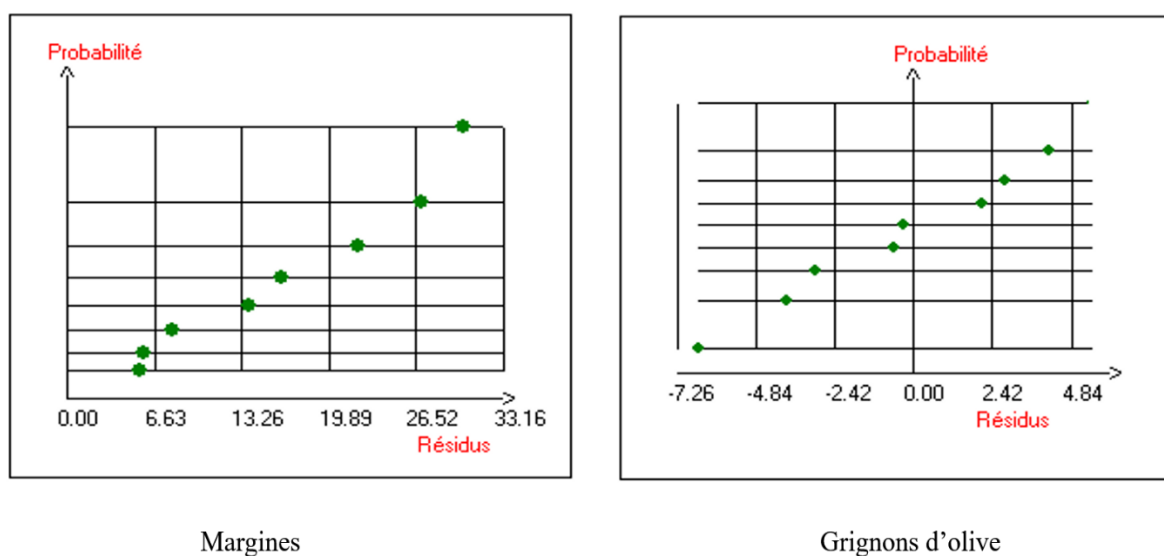
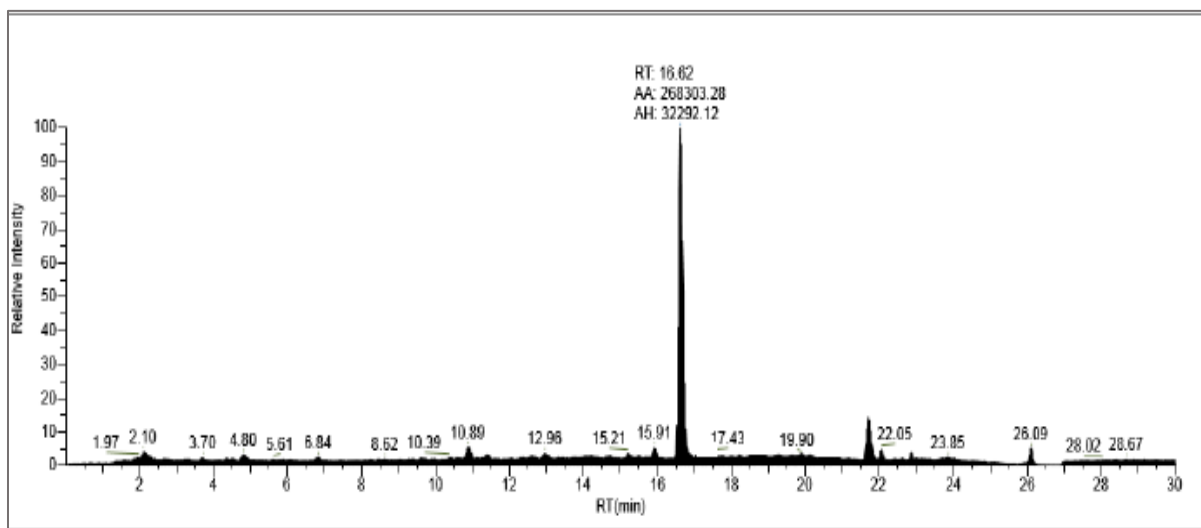


Figure 3 : Analyse de la droite d'Henry pour la vérification des hypothèses de l'analyse

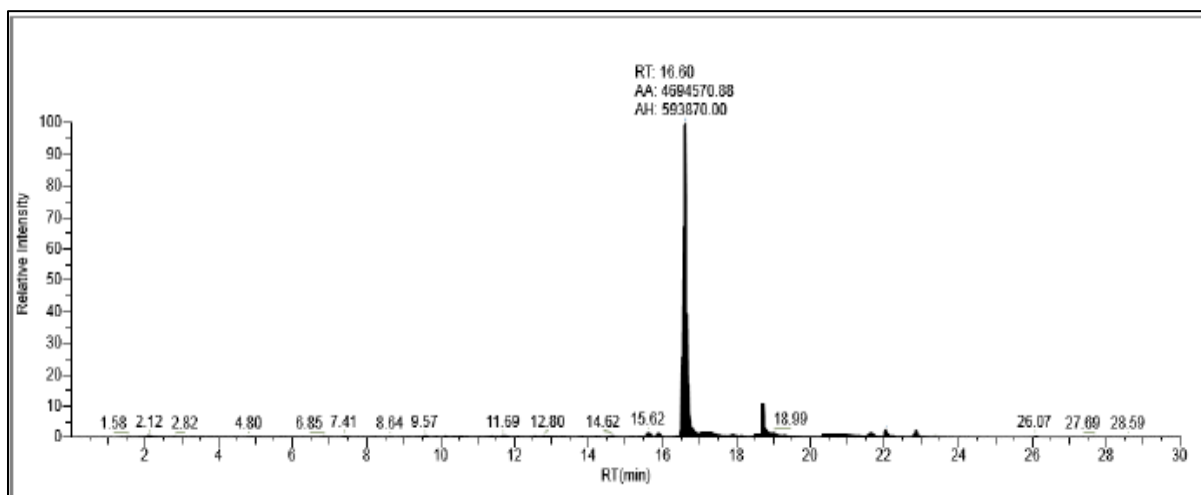
V. Identification des extraits phénoliques par HPLC

La composition des extraits phénoliques des margines et des grignons d'olive a été identifiée par la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Les deux chromatogrammes obtenus (Figures 4 et 5) montrent des pics correspondant au composé phénolique l'oleuropéine pour les extraits des margines et grignons. Ce résultat corrobore celui de plusieurs auteurs qui ont aussi trouvé le même composé majoritaire dans les extraits phénoliques des déchets oléicoles (Altiok et al., 2008 ; Mouzaoui et al., 2014).



**Figure 4 : Chromatogramme HPLC de l'extrait phénolique des margines
Pic d'oleuropéine (tR = 16,62 min).**



**Figure 5 : Chromatogramme HPLC de l'extrait phénolique des grignons d'olive
Pic d'oleuropéine (tR = 16,60 min).**

Étant donné que les déchets oléicoles représentent une source d'oleuropéine (composé phénolique d'intérêt), le potentiel quantitatif de la spectroscopie de masse a été analysé par le dosage de l'oleuropéine dans les déchets oléicoles.

Les valeurs de standard des concentrations de l'oleuropéine ont été déterminées par la méthode de HPLC. Le même standard a été analysé par spectroscopie de masse. Les données spectrales ont été corrélées avec les valeurs de référence des concentrations de l'oleuropéine (figure 6).

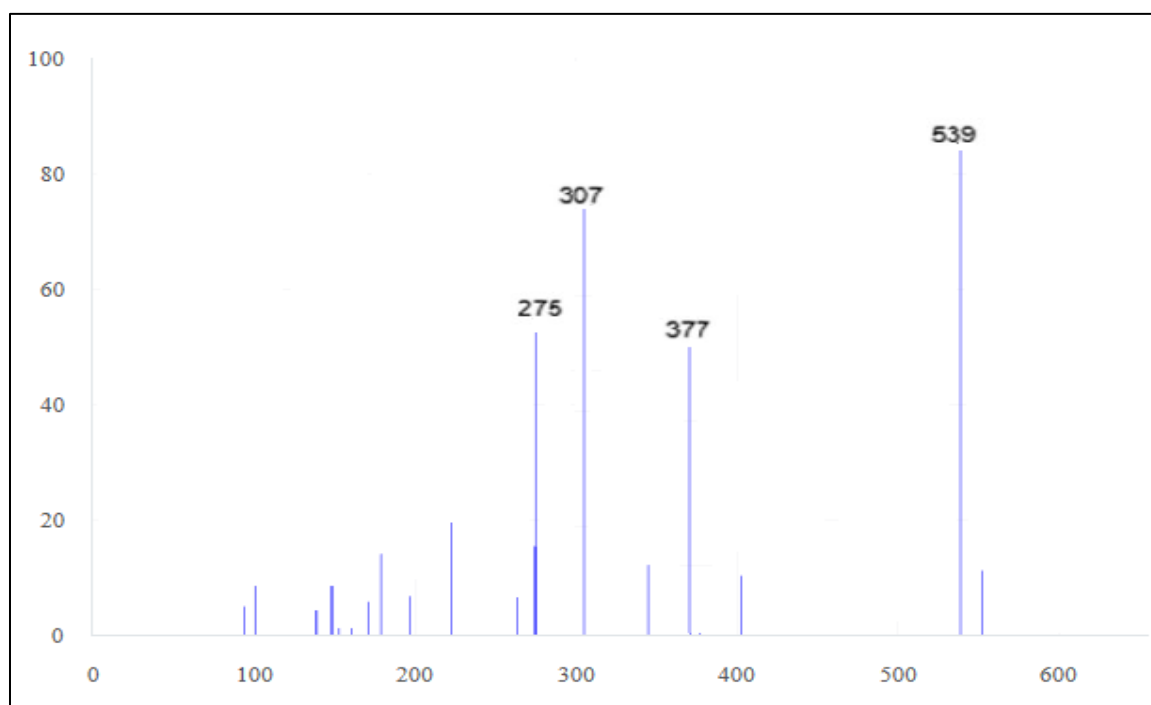


Figure 6 : Spectre de l'Oleuropéine par la spectroscopie de masse

Tableau 16 : Concentration des extraits phénoliques des sous-produits oléicoles en Oleuropéine

Échantillon	Concentration en µg/g
Margines	2,673
Grignons d'olive	45,507

Les concentrations en Oleuropéine trouvées dans les extraits phénoliques totaux des margines et des grignons sont très importantes (tableau 16). En 2014, Mouzaoui et al. ont prouvé que l'Oleuropéine est l'un des composés les plus abondants dans les composés phénoliques des déchets oléicoles. Ils ont montré que ce composé constitue un antioxydant efficace doté de propriétés, hypoglycémique, anti-inflammatoire, anticancéreuse, anti-virale (virus de l'immuno déficience humaine), prévient la maladie d'Alzheimer et est impliqué dans la protection de l'organisme contre certains agents pathogènes responsables de maladies intestinales ou du système respiratoire.

VI. Conclusion

L'extraction des antioxydants des deux déchets oléicoles, par le dosage des composés phénoliques, a été optimisée par le plan d'expériences. Les meilleurs paramètres d'extraction sont l'acétate d'éthyle comme solvant avec un volume de V/V sous effet d'ultrasons. Les taux des composés phénoliques totaux obtenus, sous les conditions optimales, sont respectivement de l'ordre de 1,15 mg/mg et 3,65mg/mL pour les grignons d'olive et pour les margines.

L'analyse des extraits phénoliques des déchets oléicoles par la chromatographie HPLC couplée avec la spectroscopie de masses (HPLC-MS) a identifié et quantifié la présence du composé majoritaire : l'Oleuropéine avec une concentration de 2,673 $\mu\text{g/g}$ dans les grignons d'olive contre 45,508 $\mu\text{g/g}$ dans les margines.

CHAPITRE III

EVALUATION DES ACTIVITES ANTIOXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE DES EXTRAITS PHENOLIQUES DES DECHETS OLEICOLES : APPLICATION A LA FORTIFICATION DU BEURRE

I. Introduction

Malgré leur pollution potentielle, les sous-produits oléicoles sont une source très riche de composés phénoliques. En outre, comme antioxydants naturels, ces polyphénols attirent de plus en plus l'intérêt pour la prévention de nombreuses maladies. Ils sont également utilisés comme additifs pour les produits pharmaceutiques, cosmétiques, et pour l'industrie alimentaire, principalement pour stabiliser les huiles végétales.

Néanmoins, l'activité microbienne et la dégradation des lipides par l'oxygène moléculaire est la principale cause de l'altération et la dégradation des aliments pendant leur entreposage. L'oxydation des lipides modifie les graisses, les huiles et les aliments (Fereidoon et al., 2015). En agissant sur la saveur qui se transforme à un rancissement total, la couleur et la valeur nutritive qui les rend non comestibles. D'autre part, l'oxydation affecte également la stabilité des aliments ; d'où la nécessité de l'utilisation des antioxydants pour la préservation de leur valeur nutritionnelle. L'objectif de ce chapitre est de tester :

- L'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques des déchets oléicoles ;
- L'effet de ces sous-produits en tant qu'antioxydants naturels et conservateurs pour le beurre.

II. Méthodologie expérimentale

II.1. Test d'activité antioxydante des extraits phénoliques des déchets oléicoles

La capacité de réduction des radicaux libres est déterminée par la diminution de l'absorbance induite par les substances anti-radicalaires. La valeur du test antioxydant est exprimée par la concentration d'inhibition IC_{50} en mg/L (Hanato et al., 1988).

Des dilutions de l'extrait de chaque déchet sont effectuées à partir de la solution mère des extraits phénoliques de 200 µg/mL. Un mL de chaque dilution est introduit dans un tube à essai, auquel est ajouté un mL de solution méthanolique de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) à 0,004 %. Le mélange est incubé pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante. L'absorbance est lue à 517 nm. Le blanc est ajusté avec du méthanol pur.

Les mêmes opérations sont menées pour le contrôle (sans extrait) et le standard en remplaçant l'extrait des margines et des grignons d'olives par du méthanol pur et des solutions méthanoïques de BHT (l'hydroxytoluène butylé) à 200 mg/mL et l'acide ascorbique. Pour la fiabilité des résultats, toutes les expériences sont répétées trois fois. L'efficacité anti radicalaire des extraits phénoliques des déchets oléicoles est calculée comme suit :

$$EA = \frac{1}{IC_{50}}$$

Avec IC_{50} : la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50 % de la forme réduite du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

Les tests de l'activité antioxydante des polyphénols extraits des déchets oléicoles ont été comparés à deux antioxydants synthétiques ; la vitamine C et le BHT.

II.2. Test d'activité antimicrobienne des margines et de leur extrait phénolique

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion en puits qui s'effectue en 3 étapes. La 1^{ère} consiste à sélectionner les souches en fonction de leur disponibilité et pouvoir pathogène pour l'homme. La 2^{ème} concerne la préparation de l'inoculum convenable pour chaque espèce pour optimiser et favoriser à nouveau leur croissance. Cette étape est faite pour l'ensemencement et l'incubation des souches étudiées à la température convenable. Ensuite les colonies bien isolées et identiques doivent être raclées par une anse en platine de chacune des souches puis trempées par la suite dans 5 mL d'eau physiologique stérile. La 3^{ème} étape repose sur l'ensemencement en surface du milieu de Muller-Hinton préalablement coulé aseptiquement dans des boîtes de pétri à partir d'une culture de 24 h. Des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur (l'extrémité épaisse). Ensuite des quantités bien déterminées des margines et de leur extrait phénolique sont distribuées sur chaque puits. Les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37 °C pendant 24 h et les auréoles d'inhibition sont mesurées par un pied à coulisse.

Les souches testées dans ce travail sont représentées dans le tableau 17.

Tableau 17: Souches microbiennes testées

SOUCHE	CLASSIFICATION
Escherichia Coli	Bactérie (gram négatif)
Staphylococcus aureus	Bactérie (gram négatif)
Candidas albicans	Levure (gram négatif)

II.3. Application à la fortification du beurre par les sous-produits oléicoles et leurs extraits phénoliques

Le beurre, sur laquelle nous avons testé l'effet antioxydant des sous-produits oléicoles, est un produit alimentaire commercial, acheté d'un marché local. C'est un produit laitier obtenu par barbotage de crème ou de lait frais ou fermenté, très consommé par la population grâce à sa composition riche en vitamine A (bienfait pour la peau, la vision, la résistance aux infections, le système cardiovasculaire), en vitamine D (nécessaire à la croissance osseuse...) et en divers autres vitamines et antioxydants.

II.3.1. Caractérisation du beurre

Le beurre a été caractérisé par mesure des paramètres chimiques tels que l'acidité et l'indice de peroxyde et des paramètres microbiologiques tels que la flore mésophile totale (FMAT), les *Staphylococcus Aureus* (*S. aureus*), les coliformes, les levures et les moisissures. Toutes les analyses ont été effectuées selon la norme ISO 13559 : 2018 (ONSSA, 2019).

- **Caractérisation chimique**

L'acidité d'un corps gras est le pourcentage d'acides gras libres exprimé conventionnellement en acide oléique.

L'indice de peroxyde est la quantité de peroxyde présent dans l'échantillon. Il nous indique sur l'état de fraîcheur de l'huile.

Les méthodes d'analyse sont présentées dans le tableau 18.

Tableau 18: Méthodes d'analyses des paramètres chimiques du beurre

	Normes	Méthodes	Expressions des résultats
L'acidité (%)	NM 08.4.017 (2011) Confirmée en 2019 ISO 1740/2004	▪ Dissolution de m grammes du beurre dans un mélange d'éthanol et d'oxyde d'éthylique (25/25(V/V)). ▪ Dosage des acides gras libres par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH) en présence de la phénolphthaléine comme indicateur coloré.	$\text{Acidité(\%)} = \frac{N.V.M}{m.1000} \times 100$ N : normalité de la solution d'hydroxyde de potassium KOH en mol/L. V : volume de titrage de la solution d'hydroxyde de potassium KOH en mL. m : masse de la prise d'essai en g. M : masse molaire de l'acide oléique en g/mole.
L'indice de peroxyde (meq O2/kg)	NM 08.4.151 (2008) ISO 3976/2006	▪ Une masse m grammes du beurre est dissous dans une solution acide acétique/chloroforme par une solution d'iodure de potassium. ▪ Traitement du mélange par l'iode (KI). ▪ Dosage par le thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon comme indicateur.	$IP = \frac{(V-V_0) \times N}{m} \times 100$ V: volume de la solution thiosulfate de sodium utilisé en mL. V₀: volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en mL. m: masse de la prise d'essai en g.

- **L'analyse microbiologique du beurre**

L'analyse microbiologique du beurre a été réalisée sur des milieux gélosés sélectifs aux germes recherchés préparés aseptiquement en 3 étapes : préparation des solutions mères, dilutions décimales des solutions, ensemencement et incubation.

Les solutions mères ont été préparées aseptiquement par un ajout de 225 mL d'eau peptonée tamponnée (EPT) à 25 g du produit à analyser (beurre). Ce mélange a été homogénéisé, marqué et déposé sur un portoir pendant environ 15 min.

Les solutions ainsi préparées ont été diluées par une solution de tryptone stérile jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-7} . La technique consiste à prélever, à l'aide d'une pipette graduée, 1 mL de la solution mère puis à l'incorporer à 9 mL de Tryptone sel (TS). La solution obtenue constitue la dilution 10^{-1} . Puis, 1 mL de cette dernière a été prélevé pour réaliser la dilution 10^{-2} en respectant le même protocole. Les dilutions successives ont été effectuées de la même manière en partant toujours de la dilution précédente.

Les dilutions obtenues ont été ensemencées sur les milieux gélosés spécifiques aux germes recherchés.

La flore mésophile totale (FMAT) reflète la qualité microbiologique générale du beurre. Elle donne une indication sur l'état de sa fraîcheur ou de son altération.

La *Staphylococcus Aureus* est une espèce très pathogène du germe *staphylococcus*. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles.

Les levures et les moisissures sont des microorganismes absorbotrophes hétérotrophes (glucose, fructose, mannose, ...mais aussi amidon, peptones, papiers, peintures...). Elles possèdent un potentiel enzymatique important et varié. Au cours de leur croissance, les levures assimilent certains composants alimentaires et produisent des produits finaux métaboliques. Cela provoque le changement des propriétés physiques, chimiques et détériore le produit.

Tableau 19: Méthode d'analyse microbiologique du beurre testées

	Solution	Milieu de culture	Température (°C) d'incubation et durée (h)	Aspects des colonies
<i>Flore mésophile totale (FMAT)</i>	1 mL des dilutions de 10^{-1} jusqu'à 10^{-7}	Plate Count Agar (PCA)	30 °C pendant 72 heures	Couleur blanc
<i>Staphylococcus Aureus</i>	1 mL des dilutions de 10^{-1} jusqu'à 10^{-7}	Gélose Chapman	37 °C pendant 48 heures	Couleur jaune doré
<i>Levures et moisissures</i>	1 mL des dilutions de 10^{-1} jusqu'à 10^{-7}	<i>Sabouraud</i>	28 °C pendant 72 heures	Un contour régulier et une surface plus ou moins convexe
<i>Coliformes</i>	1 mL des dilutions de 10^{-1} jusqu'à 10^{-7}	Gélose <i>Désoxycholate Lactose agar</i> (DCL)	37 °C pendant 48 heures.	Des colonies violacées

II.3.2. Fortification du beurre

Dans une perspective d'évaluer l'effet antioxydant des différents additifs sur les beurres, utilisés comme support, nous avons procédé aux tests :

- D'addition des extraits des extraits phénoliques des grignons et des margines ;
- D'addition des margines et grignons bruts sans aucune extraction préalable.

Ces différents tests ont été comparés avec l'addition de l'acide ascorbique pris comme témoin positif et avec le beurre brut dépourvu de toute sorte d'addition (témoin négatif).

Tout d'abord, nous avons recours à un essai accéléré : test à l'étuve. Dix séries de tubes à essais ont été placées dans une étuve thermorégulée à 60 °C pendant 90 jours afin d'étudier la stabilité du beurre étudiée dans les conditions de stockage. Quatre concentrations des margines ont été préparées (2, 4, 6 et 8 mg/100g) ainsi que quatre autres analogues (2, 4, 6 et 8 mg/100 g) de grignons ont été respectivement ajoutés aux beurres, en plus d'une série témoin positif du beurre avec l'acide ascorbique (antioxydant synthétique) et une série de témoin négatif (beurre), dans le but de comparer et d'apprécier leurs effets antioxydants.

Ensuite, un test supplémentaire a été réalisé avec le beurre et les mêmes concentrations des margines, grignons et acide ascorbique sous des conditions thermiques ambiante de 25 °C.

Tout au long du stockage, un prélèvement périodique de 15 jours sur tous les échantillons de chaque série a servi pour poursuivre l'altération du beurre en tant que mesure de l'oxydation, de l'acidité et de la microbiologie.

III. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des déchets oléicoles

L'activité antioxydante des extraits phénoliques des margines et des grignons d'olive et des antioxydants standards (vitamine C et BHT) vis-à-vis du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été évaluée par le piégeage du radical libre DPPH. Cela se manifeste par le changement de couleur, du Violet au jaune mesurable à 517 nm.

Les résultats du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques des margines et des grignons d'olives (figure 7) montrent que le pourcentage d'inhibition de ces extraits sont supérieurs au pourcentage d'inhibition des standards.

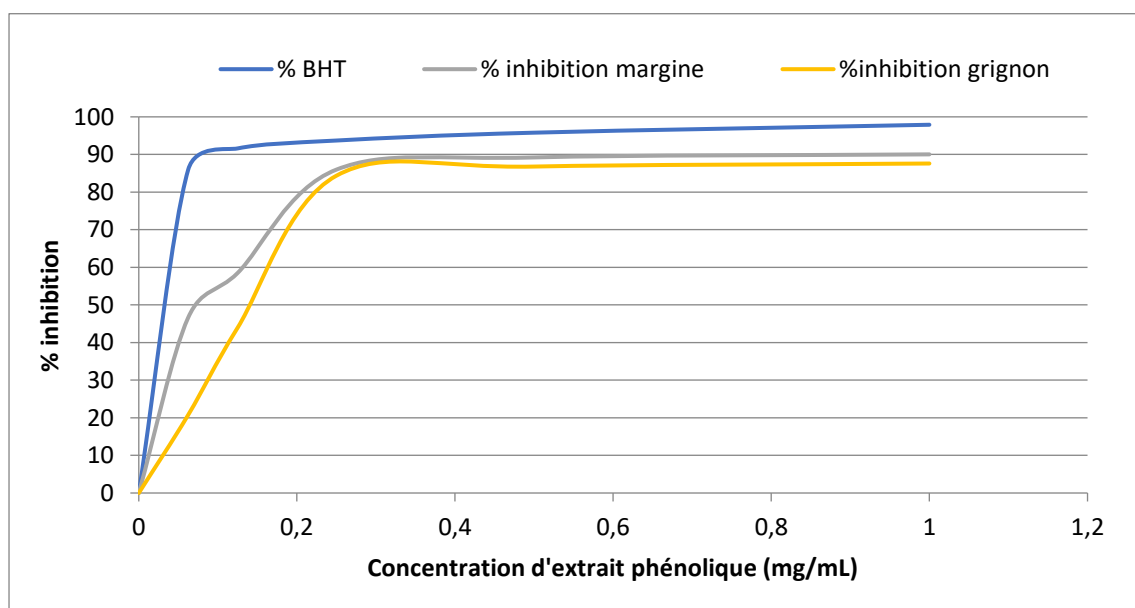


Figure 7 : Pourcentage d'inhibition des radicaux en fonction de la concentration des extraits phénoliques

Pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, deux paramètres ont été évalués : IC_{50} et le pouvoir antiradicalaire EA.

- Calcul d' IC_{50}

IC_{50} est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50 % de la forme réduite du radical DPPH. Ce paramètre prend en considération la concentration de DPPH dans le milieu réactionnel [concentration effective à 50 %, $EC_{50} = (IC_{50}/\text{mg de DPPH/mL})$]. La valeur de chaque IC_{50} exprime la concentration des extraits phénoliques adéquate pour réduire 50 % de

DPPH en solution (Houta et al., 2011). La transformation du radical libre DPPH $\cdot$ en antioxydant DPPH-H s'effectue selon la réaction :



Où AH est un composé capable de céder un proton H au radical DPPH.

- **Calcul du pouvoir antiradicalaire EA** qui est inversement proportionnel à l'IC₅₀ (EA=1/IC₅₀). Les résultats de l'indicateur de l'activité antioxydante, exprimé par le pouvoir antiradicalaire, des extraits phénoliques des sous-produits oléicoles sont présentés dans la figure 8.

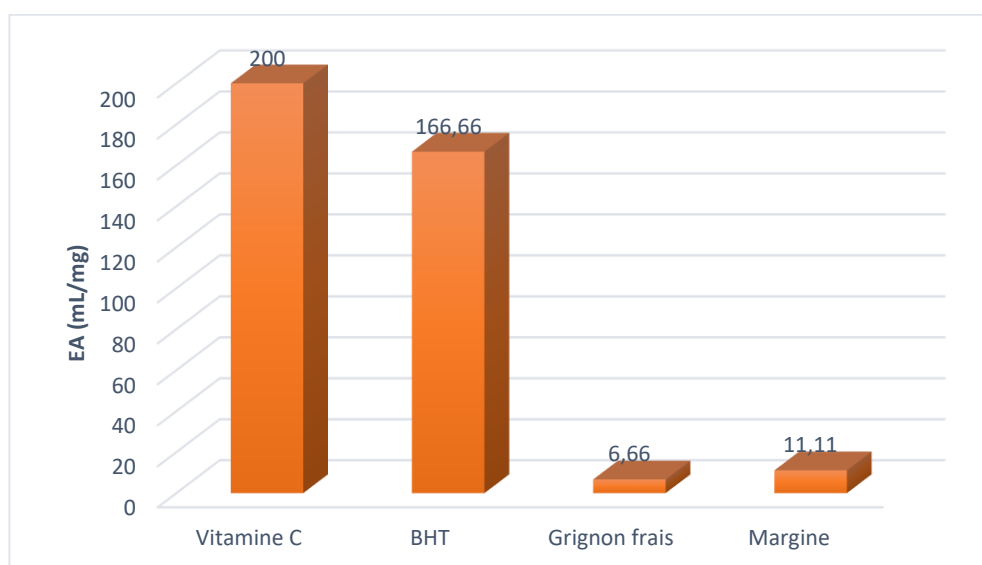


Figure 8 : Pouvoir antiradicalaire des extraits phénoliques des sous-produits oléicoles

L'extrait phénolique des margines représente l'extrait le plus actif, presque une double action, que celui des grignons d'olive avec un IC₅₀ de l'ordre de 0,15 mg/mL et un pouvoir antiradicalaire de 11,11 (figure 8). Ceci pourrait s'expliquer par la différence de concentrations de ces extraits en composés phénoliques dans les deux sous-produits. En effet la capacité de réduction des radicaux libres est largement influencée par la composition phénolique de l'échantillon (You-Cheng et al., 2008).

IV. Evaluation de l'activité antimicrobienne des margines et de leurs extraits phénoliques

IV.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches

Etant donné que la concentration maximale des polyphénols a été enregistrée pour les margines, leur activité antimicrobienne a été étudiée uniquement pour ce sous-produit.

Les germes testés sont deux bactéries : *Escherichia Coli* et *Staphylococcus aureus*, et un champignon : *Candida albicans*.

Les margines inhibent la plupart des germes testés. Ces souches ne présentent pas la même sensibilité contre les margines. Les espèces *Staphylococcus aureus* et *Candida Albican* ont montré une plus grande sensibilité à la concentration inhibitrice de 0,125mg/mL par rapport à celle d'*Escherichia Coli* dont la croissance a été inhibée à 0,25 mg/mL (Tableau 20). Les résultats ainsi obtenus corroborent ceux d'Esmail et al. (2015) qui ont montré que la concentration minimale inhibitrice des margines sur le *Staphylococcus aureus* et *Candida Albican* est 1/8 pour les deux et 1/4 pour l'*Escherichia Coli*.

Tableau 20 : Concentration minimale inhibitrice des margines

Souches testées	Concentrations			
	0,0625 mg/mL	0,125 mg/mL	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL
<i>Escherichia Coli</i>	++	+	-	-
<i>Staphylococcus Aureus</i>	-	-	-	-
<i>Candida albican</i>	+	-	-	-

NB + : présence d'une croissance & - : absence d'une croissance

IV.2. Activité antimicrobienne des polyphénols extraits des margines

Les composés phénoliques extraits des margines sont les principaux facteurs du pouvoir antibactérien. Ceci a été testé par l'effet de ces composés sur la multiplication des souches, *Staphylococcus aureus*, *Candida Albican* et *Escherichia Coli*.

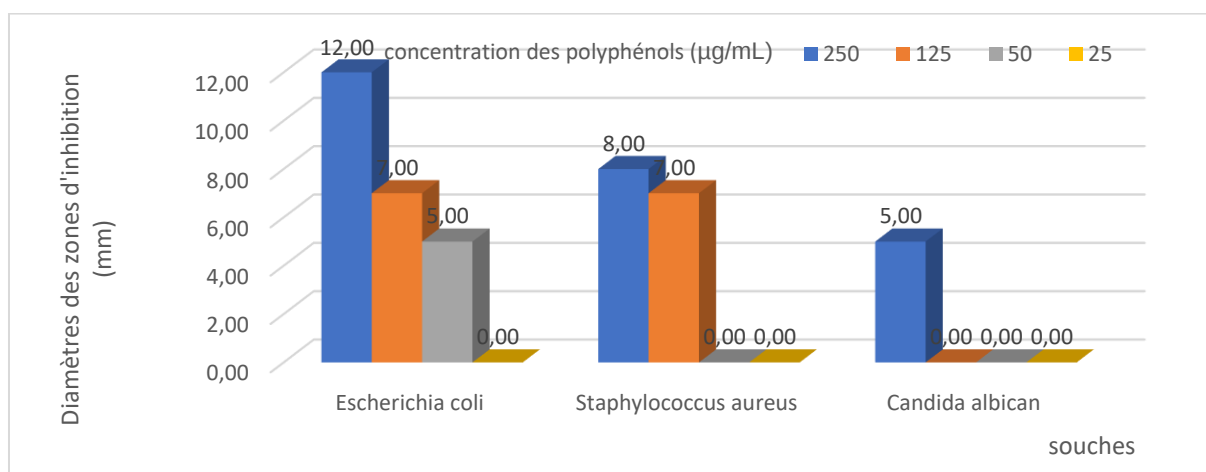


Figure 9 : Effet de la concentration des extraits phénoliques des margines sur l'activité antibactérienne

Le dépouillement des résultats de la figure 9 enregistre que les composés phénoliques confèrent aux margines un pouvoir antibactérien et antifongique car ces composés sont caractérisés par

une très forte réticulation des protéines et dénaturation des protéines-activités. En raison de leur chaîne latérale acide, les acides phénoliques sont beaucoup moins polaires (Esmail et al., 2014). Cette propriété pourrait faciliter le transport de ces molécules à travers la membrane cellulaire, qui est lié à son tour à l'effet inhibiteur plus fort des acides phénoliques.

Basés sur les résultats de cette étude qui a montré que l'extrait phénolique des sous-produits de trituration des olives est actif contre les bactéries et les champignons, nous l'avons exploité pour tester son pouvoir de conservation du beurre.

V. Application des sous-produits oléicoles et de leurs extraits phénoliques dans la fortification du beurre

Pour la commercialisation du beurre, sa durée de vie est essentielle dans la détermination de l'écart entre la production et la consommation (Gharby et al., 2013). En effet, certains microorganismes pathogènes peuvent se développer dans le beurre et conduire des toxi-infections. Aussi, la croissance des bactéries ou des moisissures sur un aliment modifie ses qualités et peut entraîner une putréfaction (modification de l'aspect, odeurs nauséabondes,...). Même si l'aliment est en apparence sain, il peut ainsi communiquer des germes microbiens susceptibles de provoquer, chez le consommateur, une infection alimentaire (prolifération de microbes pathogènes) ou une intoxication (troubles parfois graves provoqués par des toxines produites par ces germes). A cet effet, la conservation des aliments permet de retarder la date de péremption tout en préservant leur comestibilité et leurs qualités nutritives et gustatives.

La fortification du beurre commercial a eu lieu par :

- Les extraits phénoliques des sous-produits oléicoles avec ajout des concentrations bien déterminées.
- Les sous-produits oléicoles brutes dans le but d'éviter le risque de présence des traces de solvant d'extraction dans le produit final, beurre, et d'économiser le prix d'extraction.

Les beurres fortifiés ont été conditionnés dans deux températures 25 °C et 60 °C (température d'accélération d'altération du beurre). Le suivi de leur qualité a eu lieu hebdomadairement pendant 28 jours de conservation par mesure de deux paramètres : chimiques (l'indice de peroxyde et l'acidité) et microbiologique (Flore mésophile totale, *Staphylococcus Aureus*, coliformes et levures et moisissures).

D'après la bibliographie, l'indice de peroxyde augmente progressivement avec l'oxydation primaire jusqu'à ce que le taux de dégradation des hydroperoxydes formés dépasse la formation de nouveaux hydroperoxydes (Marmesat et al., 2009 ; Gharby et al., 2011). Pour le beurre, la norme européenne fixe la valeur maximale de cet indice à 10 meq O₂/Kg des graisses (CODEX Alimentarius Commission, 2003).

L'indice d'acide ou l'acidité libre est très utilisé comme critère de classification commerciale conventionnelle du beurre (Lecerf et al., 2011). En outre, ce facteur fournit des informations sur la modification des beurres par hydrolyse. Les graisses et les acides gras naturels sont essentiellement présents sous forme de triglycérides à 98-99%. L'hydrolyse de ces derniers libère des acides gras qui permettent, par dosage, d'avoir une idée de l'état de dégradation du beurre.

Quant aux risques de contaminations microbiologiques du beurre, ils proviennent généralement de la phase aqueuse car la phase grasse constitue un milieu défavorable au développement microbien. Les levures et les moisissures provenant de la phase aqueuse dégradent la qualité du beurre.

V.1. Fortification du beurre par les extraits phénoliques des sous-produits oléicoles

V.1.1. Indice de peroxyde

Les résultats de l'effet des extraits phénoliques des margines et des grignons d'olive sur l'indice de peroxyde du beurre conservé à 60°C en fonction du temps et de leurs concentrations sont illustrés dans les figures 10 et 11. L'examen des différentes courbes révèle que l'indice de peroxyde le plus élevée est celui de beurre conservé sans additifs. En effet, l'indice de peroxyde était de 2,994 MeqO₂/kg avant d'être soumis à la température de l'étuve (60°C). Après 28 jours de conservation dans les conditions pré-citées, cette valeur a atteint 43 MeqO₂/kg, une augmentation très marquée 14 fois de l'indice de peroxyde initial, après un mois de stockage. L'évolution de cet indice pour les beurres contenant des antioxydants suit un rythme relativement moins prononcé que le témoin. Ceci montre que l'enrichissement du beurre végétal par les polyphénols des margines (figure 10) et des grignons d'olive (figure 11) semble améliorer la stabilité oxydative du beurre.

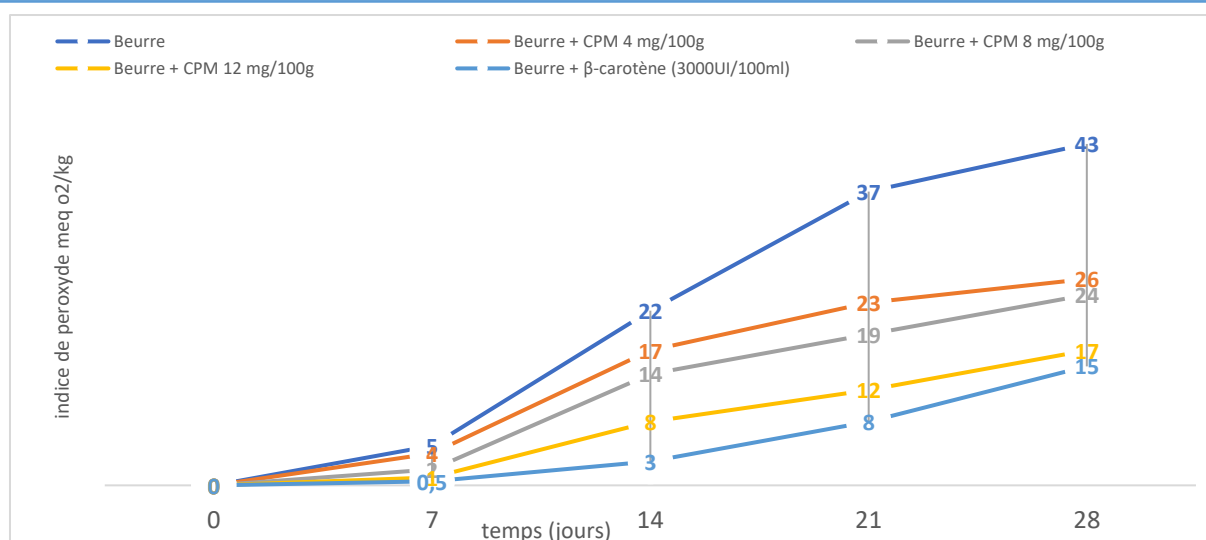


Figure 10 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 60 °C en fonction de la concentration des extraits phénoliques des margines et du temps de conservation

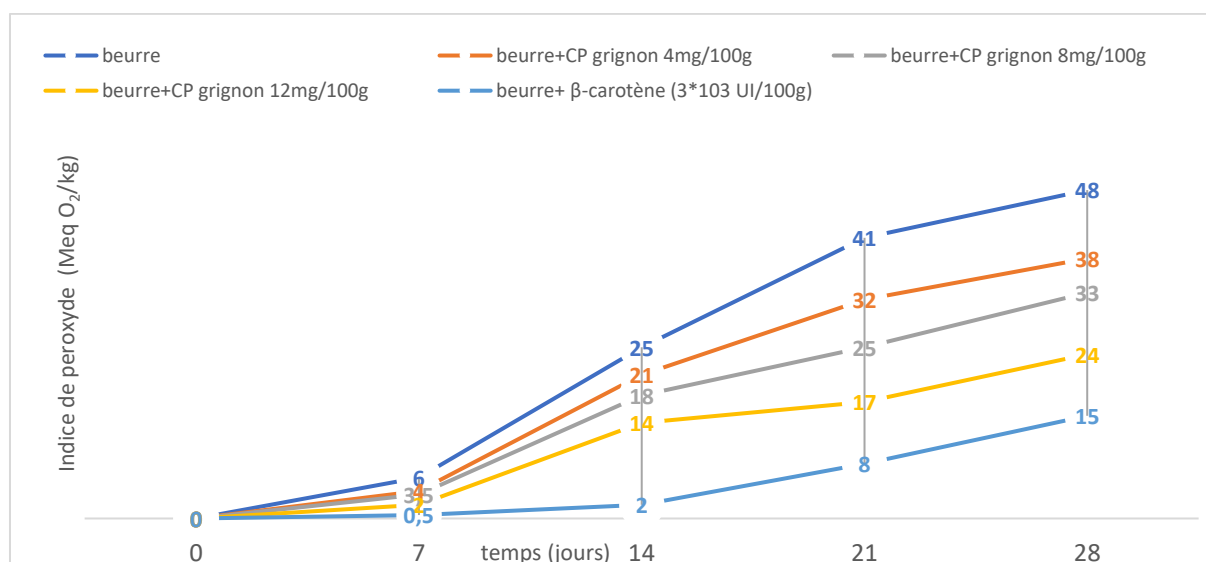


Figure 11 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 60 °C en fonction de la concentration des extraits phénoliques des grignons d'olive et du temps de conservation

V.1.2. Indice d'acide

Les résultats de l'effet des extraits phénoliques des margines et des grignons d'olive sur l'indice d'acide du beurre conservé à 60°C en fonction du temps et de leurs concentrations, relatés dans les figures 12 et 13, montrent que l'acidité augmente de façon linéaire avec une pente très élevée notamment pour le beurre sans conservateur. Les faibles variations de l'acidité pendant la conservation pourraient s'expliquer par le fait que l'hydrolyse des triglycérides n'est pas suffisante pour compenser ou augmenter les groupes d'acides gras libres bloqués par polymérisation ou volatilisés en phase d'oxydation. Les extraits phénoliques issus des margines ont un pouvoir fortifiant beaucoup meilleur que ceux issus des grignons d'olive. La fortification

du beurre par les extraits phénoliques des déchets oléicoles a montré que le beurre traité possède une bonne stabilité par rapport au témoin. Ce qui offre au consommateur un beurre enrichi des antioxydants naturels dont la santé humaine a besoin de plus en plus pour limiter l'action d'oxydation des radicaux libres dans le corps humain. Néanmoins, des questions se posent sur le coût élevé de l'extraction de ces polyphénols et sur les dangers potentiels sur la santé que pourraient engendrer les traces des solvants chimiques utilisés accompagnant les polyphénols. Cela, nous a mené à tester le pouvoir des polyphénols des sous-produits oléicoles brutes dans la fortification du beurre sans passer par la phase d'extraction.

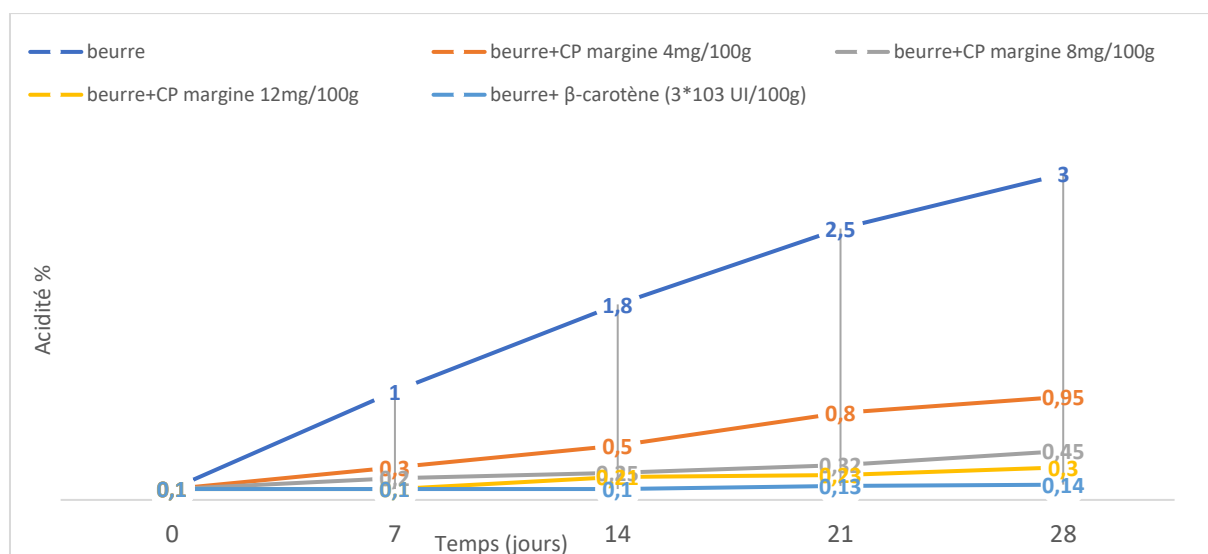


Figure 12 : Acidité du beurre en fonction de la concentration des extraits phénoliques des margines à 60 °C et du temps de sa conservation

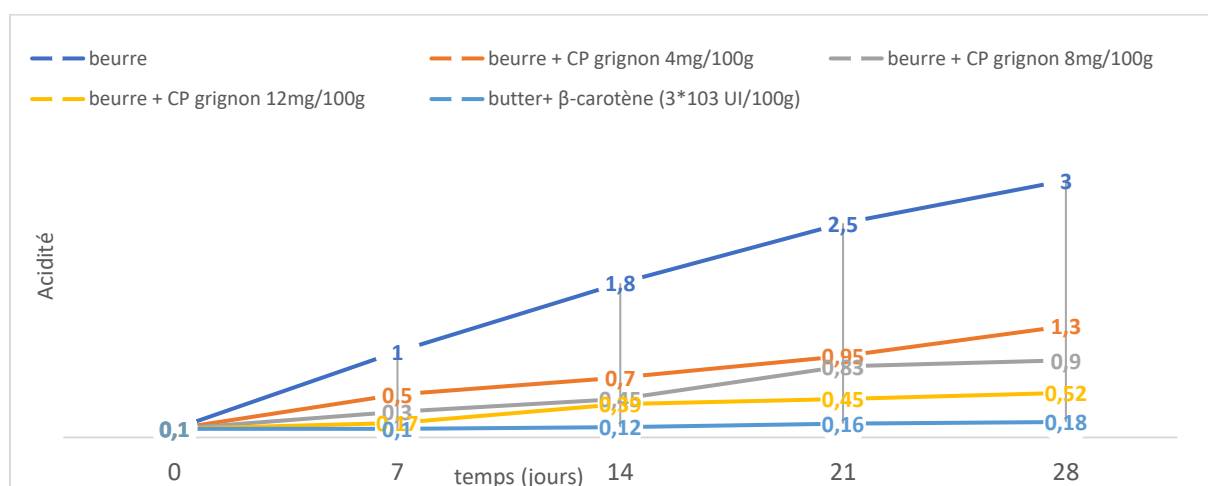


Figure 13 : Acidité du beurre en fonction de la concentration des extraits phénoliques des grignons d'olive à 60 °C et du temps de sa conservation

V.1.3. Fortification du beurre par les déchets oléicoles brutes

Une concentration d'environ 8 mg a été ajouté à 100 g du beurre qui a été conservé pendant un mois dans deux conditions de température 25°C et 60°C. Les indices de peroxydes et d'acides ont été analysés de façon hebdomadaire.

V.1.4. Indice de peroxyde du beurre

V.1.4.1. Indice de peroxyde à 25 °C

La variation de l'indice de peroxyde (IP) du beurre en fonction du temps de conservation à 25°C et de la concentration des sous-produits oléicoles est illustrée dans les figures 14 et 15. La durée totale de conservation a été de 90 jours. Les mêmes observations d'évolution de cet indice ont été constatées pour les deux types de déchets en comparaison avec l'acide ascorbique (témoin positif). Une stabilité de cet indice pendant les premiers 15 jours puis une forte augmentation entre 15 et 30 jours de conservation. Au-delà d'un mois, l'évolution de l'IP est presque linéaire pour tous les ajouts et avec des pentes qui dépendent de la concentration des sous-produits oléicoles ajoutés.

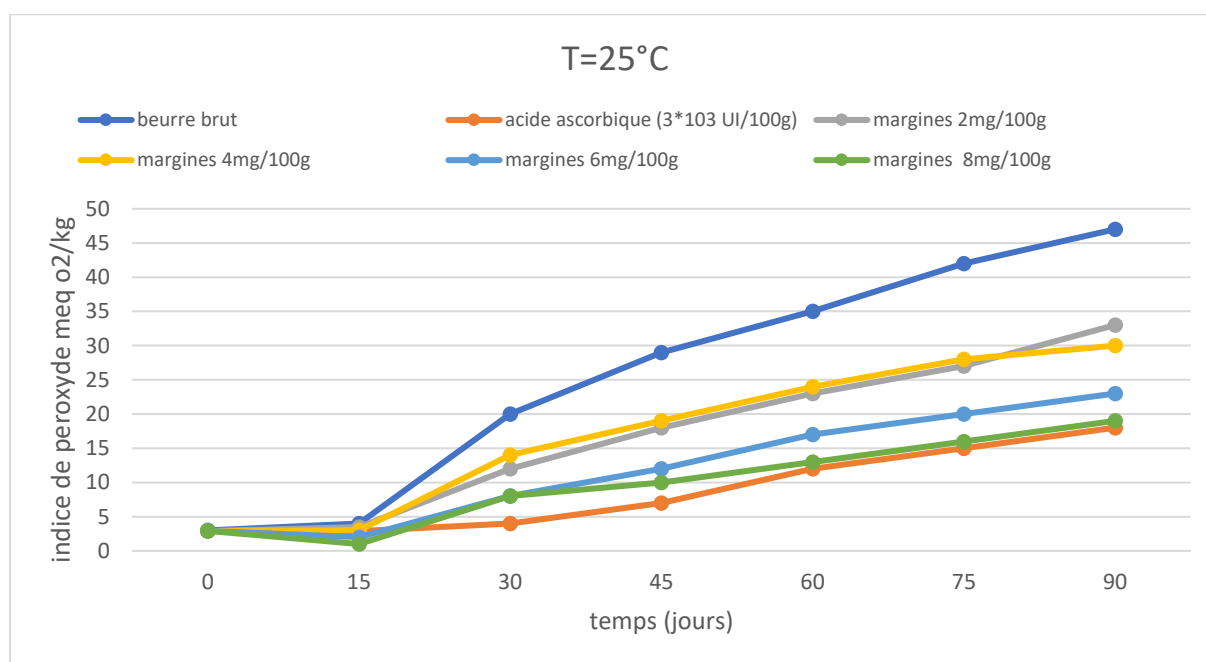


Figure 14 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 25 °C en fonction de la concentration des margines et du temps de conservation

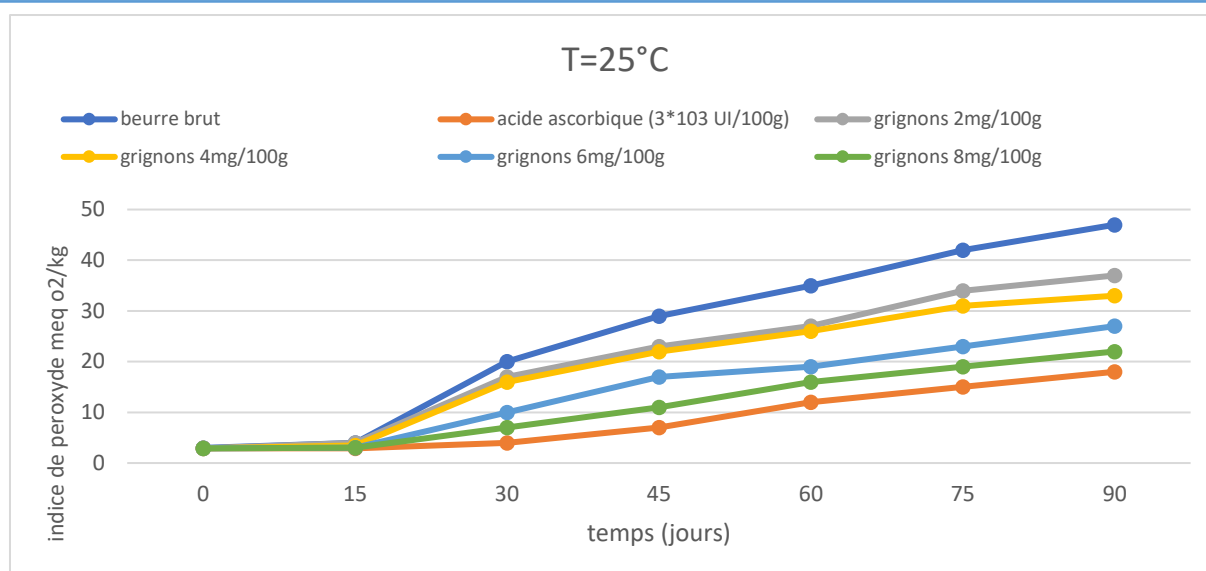


Figure 15 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 25 °C en fonction de la concentration des grignons d'olive et du temps de conservation

La seule différence réside dans la vitesse d'évolution de ce paramètre en fonction du temps qui est manifestée par des pentes des différents droites. En effet, l'addition des margines à 8 mg pour 100 g du beurre a manifesté des résultats de fortification très proches de ceux obtenus par l'addition de $3 \cdot 10^3$ UI d'acide ascorbique considéré comme témoin positif. L'ordre décroissant d'efficacité des additifs sur la résistance à la peroxydation de 100 g du beurre (B) pendant 45 premiers jours est le suivant (ONSSA, 2019):

$$\text{IP B8mg margines} \sim \text{IP B3.103 UI acide ascorbique} > \text{IP B8mg grignons} > \text{norme} = 10 \text{ meqO}_2/\text{kg}$$

Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la formation des peroxydes à partir des acides gras insaturés dépend de leur libération lors de l'hydrolyse, ce qui prouve son augmentation.

V.1.4.2. Indice de peroxyde à 60°C

Les figures 16 et 17 relatent les indices de peroxyde (IP) du beurre brut (témoin négatif) et avec différents ajouts de conservation à 60°C et à différentes concentrations en fonction du temps. Le dépouillement des résultats montre que l'IP du beurre témoin négatif conservé à 60°C a été initialement de 2,9 meq O₂/Kg et a presque doublé puis multiplié par 8 et 12 fois après respectivement 15, 30, et 45 jours de conservation. Pendant les 15 jours qui suivent, l'augmentation de l'IP s'est rétrogradée et a varié uniquement de 10 meq O₂/Kg de plus. Au-delà de deux mois de conservation, l'IP a augmenté linéairement avec une forte pente égale à 1. Il est de 73 meq O₂/Kg pendant 90 jours de conservation ; valeur beaucoup plus grande que la norme qui est de 10 meq O₂/Kg selon la norme ISO 3976/2006 (ONSSA, 2019).

Pour le beurre enrichi par 8 mg de margines ou de grignons d'olive ou par 3.10^3 UI d'acide ascorbique (témoin positif) dans les mêmes conditions de température, l'IP n'a commencé à augmenter qu'après 15 jours de conservation. Au-delà, l'évolution de ce paramètre a été très lente et de façon linéaire avec une pente voisine à 0,22 pendant 3 mois de conservation pour l'ajout des margines (résultats comparables à l'ajout d'acide ascorbique, le témoin positif) et de 0,3 pour celui des grignons d'olive.

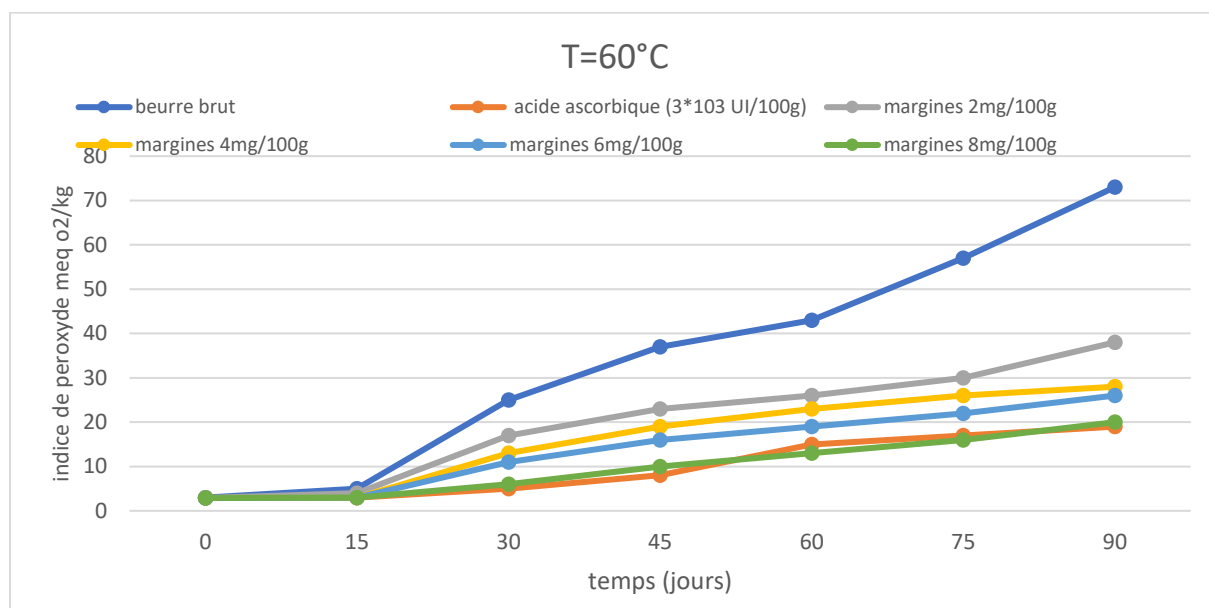


Figure 16 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 60 °C en fonction de la concentration des margines et du temps de conservation

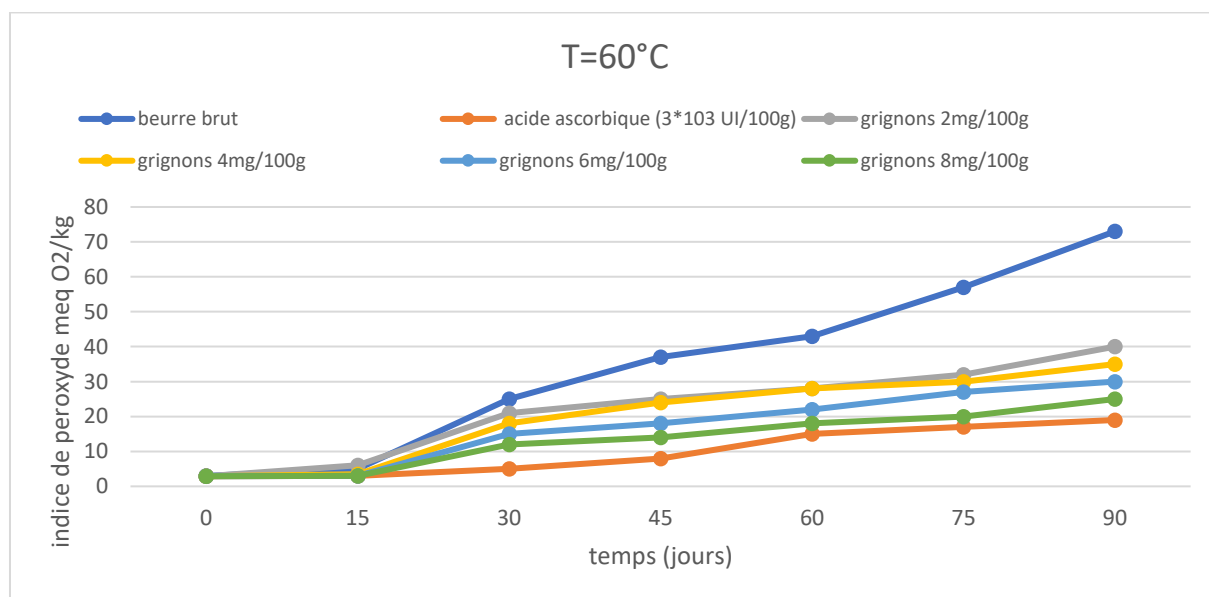


Figure 17 : Indice de peroxyde du beurre conservé à 60 °C en fonction de la concentration des grignons d'olive et du temps de conservation

En effet, plus l'IP est faible plus la stabilité oxydative du beurre au cours de stockage est meilleure. Les composés phénoliques existant dans les sous-produits oléicoles exercent un effet marquant sur le piégeage de l'O₂ actif par la réduction des composés primaires et secondaires générés au cours de l'oxydation. Les résultats obtenus sont comparables voire meilleurs que ceux signalés par Bouhadjra (2009) et Gharby et al. (2014) qui ont prouvé que la stabilité des huiles est bien corrélée avec la teneur en phénols totaux et à la présence d'un taux élevé d'antioxydants naturels, dont les plus importants sont les tocophérols. D'autres études sur l'effet des extraits phénoliques des feuilles et des fruits de l'olivier sur la stabilité oxydative des échantillons d'huile d'olive de variétés différentes ont montré presque les mêmes résultats (Bouaziz et al., 2008 ; Kahouli, 2010 ; Aouidi, 2012 ; Gharby et al., 2014).

V.1.5. Indice d'acide du beurre

V.1.5.1. Indice d'acide à 25°C

Les figures 18 et 19 représentent l'indice d'acide du beurre conservé par les margines et les grignons d'olive à 25°C en fonction du temps et de la concentration d'ajout. Les courbes correspondant à l'évolution de cet indice du beurre brut ou beurre enrichi par 3.10³ UI d'acide ascorbique ayant servi de témoin (négatif et positif respectivement) montrent que les margines ont manifesté le même effet sur la conservation du beurre que l'acide ascorbique jusqu'au 75^{ème} jour. Pour tous les beurres enrichis et conservés à 25°C, l'acidité évolue Significativement en fonction du temps, mais à moindre degré que le beurre brut (témoin négatif) de ce dernier est passé de 0,1% à 3,5%. Pour 100 g de beurre enrichi par 8 mg de margines ou 8 mg de grignons ou 3.10³ IU d'acide ascorbique, l'acidité n'a pas beaucoup évoluée. Elle est passée de 0,1 % à 0,6 %, toujours conforme à la norme NM 08.4.151 (2008). La faible évolution de l'acidité au cours de la conservation pourrait s'expliquer par l'hydrolyse des triglycérides qui n'est pas suffisante pour compenser, voire augmenter les fonctions acides gras libres bloquées par polymérisation ou volatilisées au cours de la phase d'oxydation.

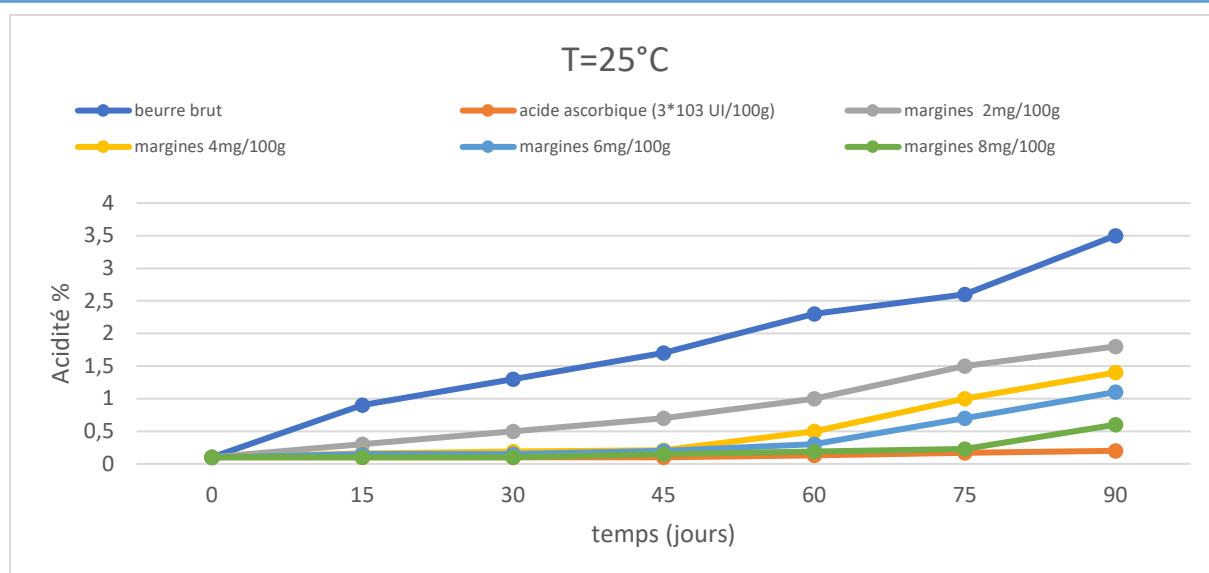


Figure 18 : Acidité du beurre conservé à 25 °C en fonction de la concentration des margines et du temps de sa conservation

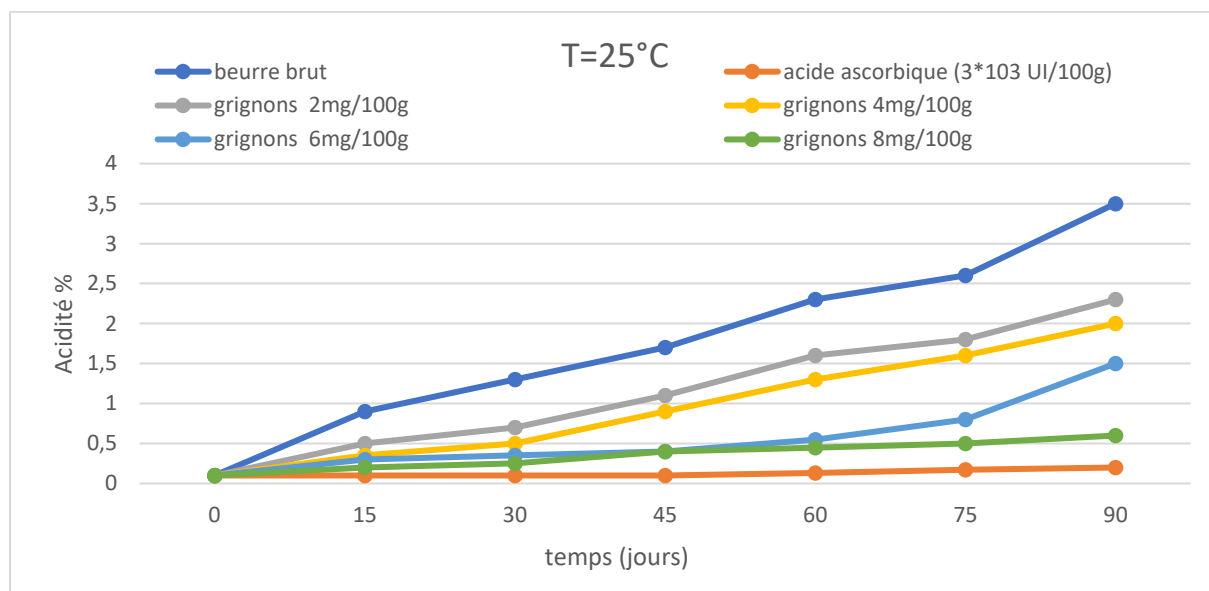


Figure 19 : Acidité du beurre conservé à 25 °C en fonction de la concentration des grignons d'olive et du temps de sa conservation

V.1.5.2. Indice d'acide à 60°C

Les résultats de l'indice d'acide, du beurre brut ou enrichi par les additifs étudiés à différentes concentrations et en fonction du temps (figures 20 et 21) et conservé à 60°C, enregistrent que la température n'a pas beaucoup influencé l'acidité des beurres enrichis. Le cas contraire a été observé pour le beurre brut, l'acidité libre a augmenté rapidement en fonction du temps, notamment après 45 jours de conservation jusqu'à atteindre 10,2% après 90 jours de conservation, 5 fois plus grande que la norme de l'acidité qui de 1,9% selon la norme marocaine NM 08.4.151 (2008).

Quant au beurre conditionné par les sous-produits oléicoles, l'évolution de cet indice est très lente pendant toute la période de conservation et pour tous les types d'ajouts et des concentrations les plus élevées pour les margines et les grignons d'olive. En outre, il a été remarqué qu'à la première période de conservation l'IA demeure constant pour tous les échantillons du beurre enrichi alors qu'il y a une augmentation dès la première semaine pour le beurre témoin (sans additif). Cette stabilité est fort probablement due à l'effet prononcé des composés phénoliques contenus dans les coproduits oléicoles. Cette tendance a été aussi mentionnée par de nombreuses études concernant la stabilité oxydative des huiles végétales (Salta et al., 2007; Bouaziz et al., 2008).

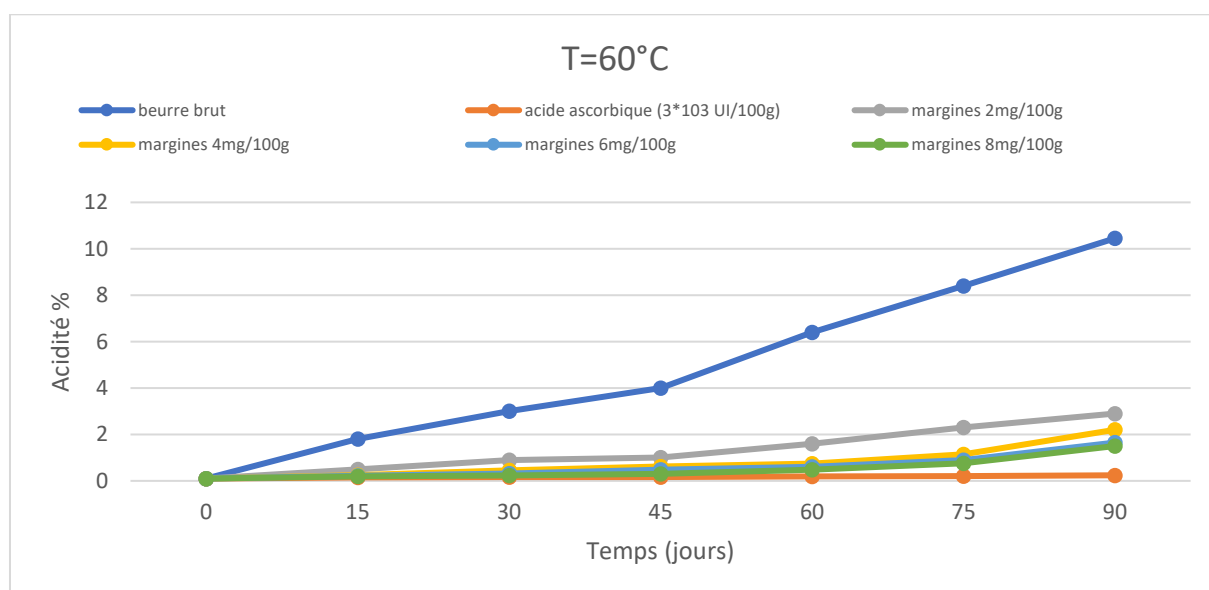


Figure 20 : Acidité du beurre conservé à 60 °C en fonction de la concentration des margines et du temps de sa conservation

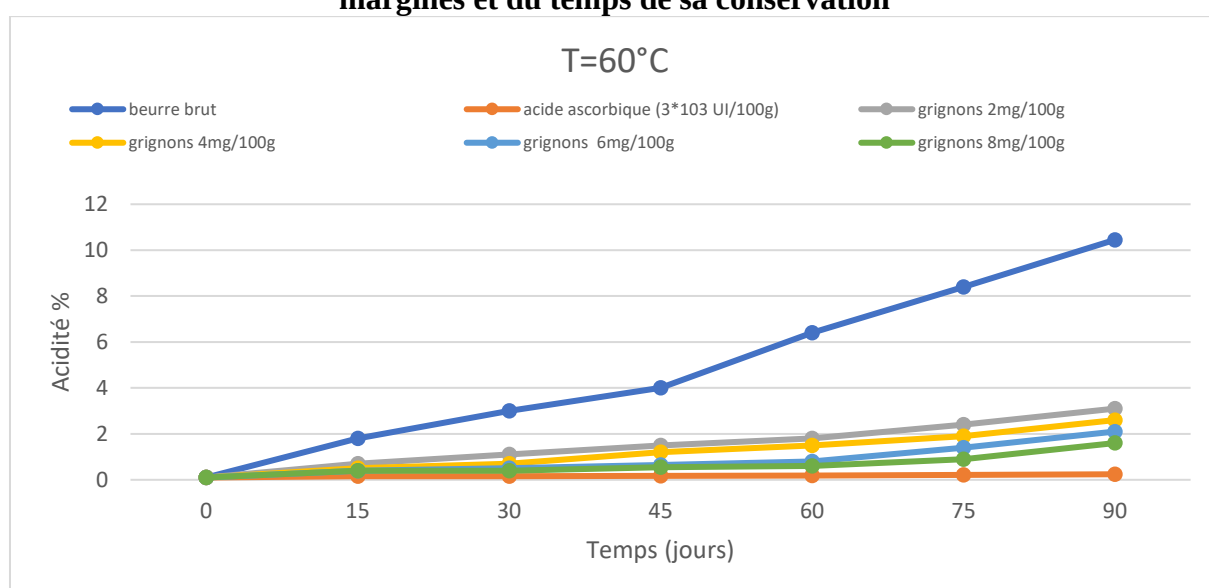


Figure 21 : Acidité du beurre conservé à 60 °C en fonction de la concentration des grignons d'olive et du temps de sa conservation

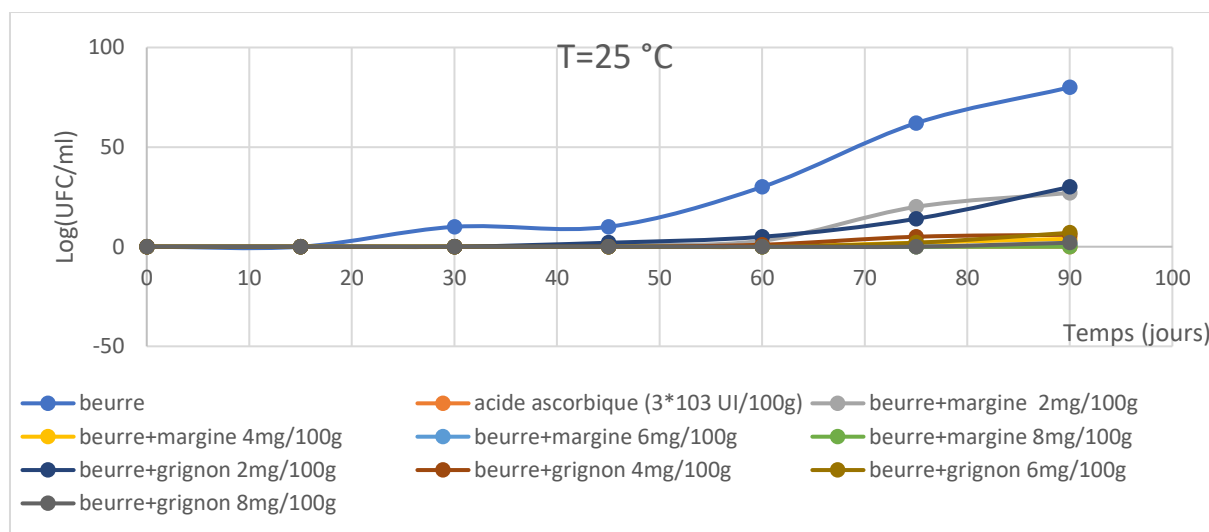
V.1.6. Analyses microbiologiques du beurre

L'activité microbienne du beurre a été évaluée d'une part, par le dénombrement de 3 types de souches : la *flore aérobie mésophile totale (FMAT)*, les *coliformes totaux* et la flore fongique (*levures et moisissures*); et d'autre part, par la recherche des germes pathogènes notamment les *staphylococcus Aureus*.

Les variations des populations des principaux groupes microbiens recherchés au cours de la conservation des beurres témoins et enrichis par les sous-produits oléicoles en fonction du temps et de la concentration des ajouts sont indiquées sur les figures 22, 23 et 24.

V.1.6.1. Flore aérobie mésophile totale

L'étude de l'activité microbienne de la flore aérobie mésophile totale montre que le taux en microorganismes est plus élevé pour le beurre sans aucun additif dont le nombre extrême des germes, atteint de la 1^{ère} au 90^{ème} jours de conservation, est de 1 à 80 (UFC/mL). Pour les beurres enrichis par les sous-produits oléicoles ou par l'acide ascorbique, la FMAT n'a pu apparaître qu'après 50 jours de conservation pour toutes les concentrations et les deux températures.



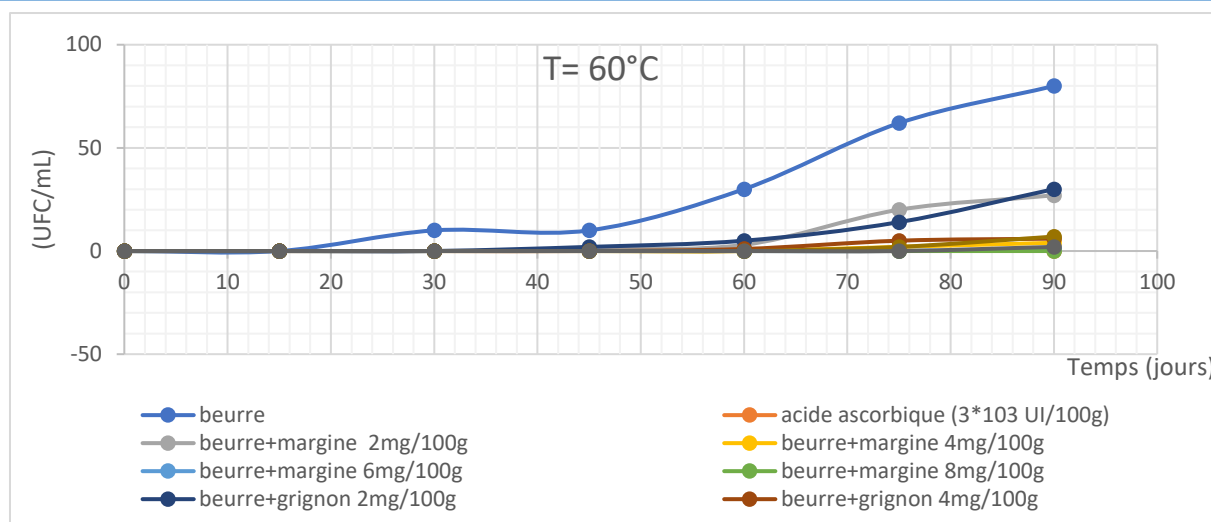


Figure 22 : Evolution des populations de FMAT des beurres en fonction du temps, de la température et de la concentration des sous-produits oléicoles

Par ailleurs, la concentration des margines et des grignons d'olive a une grande influence sur le développement de FMAT dans le beurre. A 8 mg de l'un des deux sous-produits dans 100g de beurre, il y'avait une absence de FMAT jusqu'à 90 jours de conservation. Avec 6 mg des sous-produits oléicoles/100g de beurre, les résultats sont comparables à ceux de l'effet d'ajout de l'acide ascorbique vis-à-vis de la croissance de la FMAT. Pour 2 mg d'ajout des margines ou des grignons d'olive, le développement de ces microorganismes dans le beurre n'a eu lieu qu'à partir du 60^{ème} jour de conservation et il n'est que 30 (UFC/mL) pour les deux températures de conservation ; presque 3 fois inférieur à la FMAT dénombré dans le beurre brut.

Les résultats ainsi obtenus sont conformes à la norme $< 10^2$ (UFC/mL). Ce qui montre une bonne qualité microbiologique qui s'explique par un respect et une application vigoureuse des pratiques de fabrication et d'hygiène pour tous les types du beurre avec et sans additifs (ISO 4833, 2003). Toutefois, l'ajout de ces sous-produits, riches en polyphénols, au beurre a assuré une meilleure conservation et allongeant la date de leur conservation (Makhloufi, 2013).

V.1.6.2. Coliformes totaux

Les résultats de dénombrement des *coliformes* dans le beurre brut ou enrichi à deux températures en fonction du temps, illustrés dans la figure 23, révèlent que l'apparition des coliformes totaux n'a eu lieu qu'après 45 et 60 jours de conservation du beurre brut respectivement à 60°C et 25°C.

La température a un léger effet sur le développement des coliformes totaux. A 25°C, les sous-produits oléicoles ont inhibé l'apparition des coliformes totaux dans le beurre quelle que soit leur concentration. A 60°C, les faibles concentrations des additifs n'ont pas pu les inhiber mais en restant toujours inférieures à la norme des coliformes totaux dans le beurre (ISO 5541-1/1986, ONSSA 2019). Ceci fait penser à un environnement défavorable à toute croissance microbienne et/ou même à une survie de la flore initiale du beurre (0 à 10 (UFC/ml)). En effet, l'absence des coliformes dans le produit final indique la bonne pratique d'hygiène pendant tout le processus de fabrication.

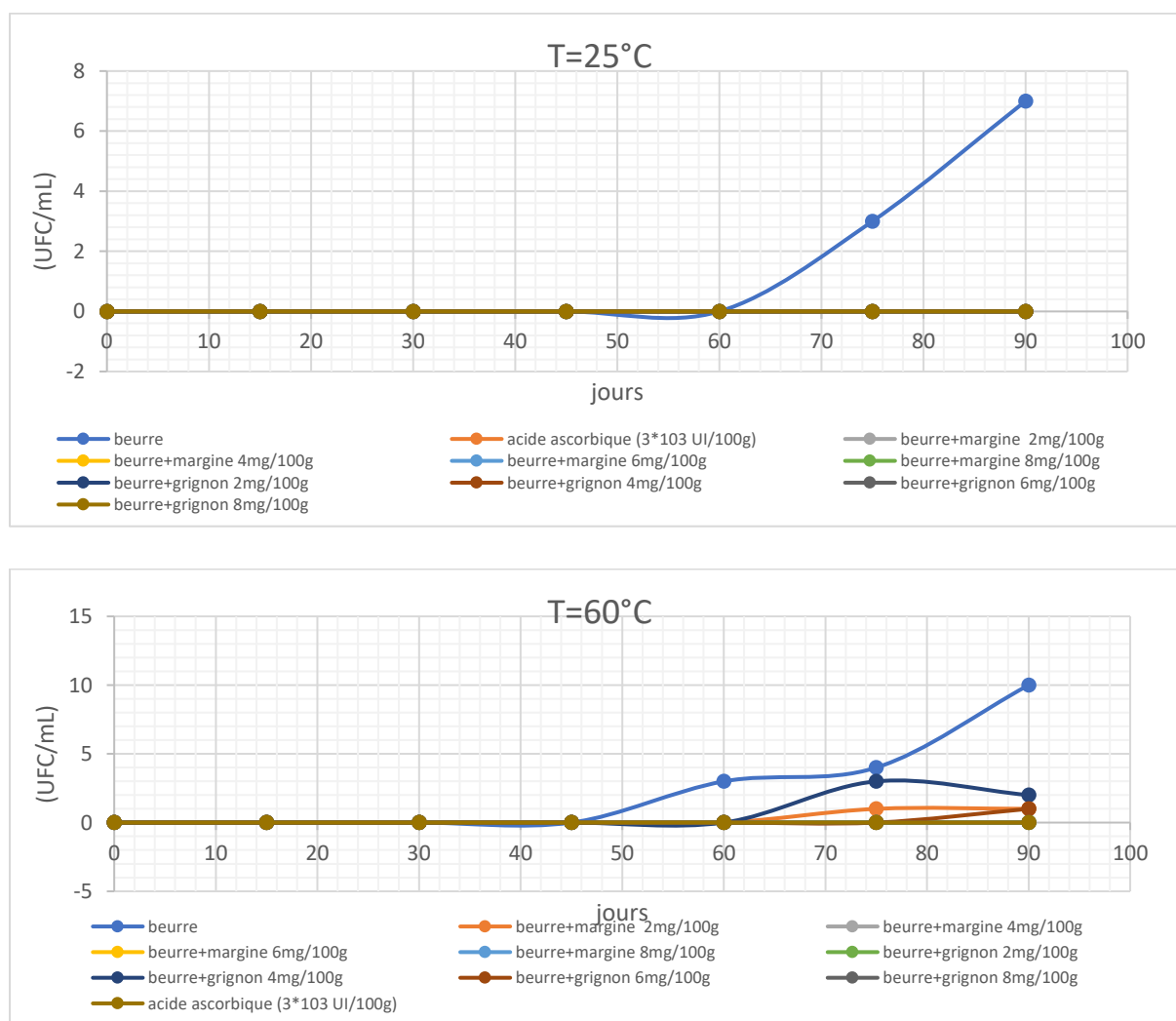


Figure 23 : Evolution des populations des coliformes totaux des beurres en fonction du temps, de la température et de la concentration des sous-produits oléicoles

V.1.6.3. Levures et moisissures

Les résultats de dénombrement de la flore fongique en fonction du temps sont illustrés dans la figure 24 pour les différents types du beurre conservé aux températures 25°C et 60°C. L'examen des différentes courbes dénote que les *moisissures* et les *levures* n'ont pas fait l'objet d'une

numération pendant 45 jours de conservation. Au-delà, le développement de ces levures et moisissures est peu manifesté dans le beurre brut tout en restant très inférieur à la norme ISO 5541-1/1986 (ONSSA 2019). Cela se traduit par le fait qu'il est de qualité satisfaisante par rapport aux normes exigées, due à l'application d'un traitement thermique efficace (pasteurisation) et la présence des polyphénols dans les sous-produits oléicoles qui a des propriétés fongistatiques et bactériostatiques (remplacés dans les industries du beurre par acide ascorbique et les sels).

De même que les coliformes totaux et la flore aérobie mésophile totale (FMAT), la température a un peu d'effet sur le développement des levures et des moisissures et pourrait réduire le temps de la conservation du beurre.

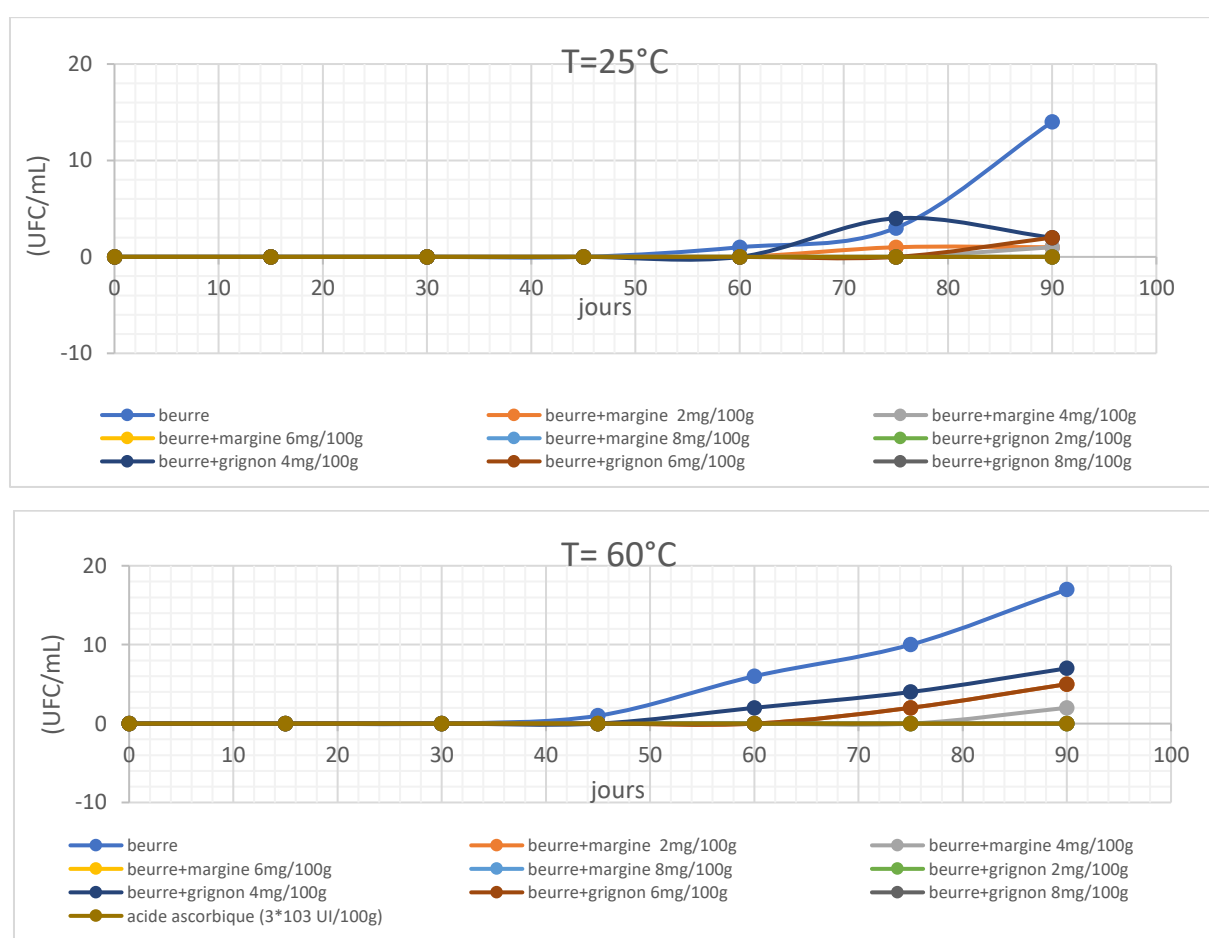


Figure 24 : Evolution des populations des levures et moisissures des beurres en fonction du temps, de la température et la concentration des sous-produits oléicoles

V.1.6.4. *Staphylococcus aureus*

Les germes pathogènes tels que le *Staphylococcus aureus* ne sont pas tolérables dans le beurre. Ce germe est un pathogène majeur ; il pourrait causer des infections mammaires. Ces dernières

s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait (Rainard, 2006).

Les résultats obtenus montrent que le seuil de contamination en *Staphylocoque* est conforme à la norme ISO 6888-1 (ONSSA, 2019) pour tous les échantillons du beurre du premier au dernier jour du prélèvement ; une absence totale de ce germe.

VI. Conclusion

L'étude menée sur la stabilité du beurre par les sous-produits oléicoles relate que ces derniers sont riches en polyphénols qui leur procure la caractéristique d'antioxydants. Ces sous-produits ont été testés à différentes concentrations (2, 4, 6 et 8 mg/100g du beurre) et dans deux conditions de conservation différentes en termes de température (25 °C et 60 °C). La stabilité a été évaluée par des tests chimiques en termes d'acidité et d'indice de peroxyde, et microbiologiques par la recherche de la flore aérobie mésophile totale (*FMAT*), les *Staphylococcus Aureus*, les coliformes totaux et les levures, et moisissures.

Les résultats enregistrés révèlent que l'addition de 80 mg des margines à 1 kg du beurre lui confère une résistance contre l'oxydation au cours de son stockage à 25°C et à l'étuve à 60 °C pendant 45 jours. Cela a été traduit par les faibles valeurs des indices d'acidité et de peroxyde des échantillons traités par rapport au témoin.

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques des margines contre les souches ; *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* indiquent que ceux issus des margines ont un effet antibactérien.

Les margines sont riches en polyphénols que les grignons d'olive et l'activité antioxydante des polyphénols des margines est significative que celle des polyphénols des grignons d'olive ; grâce à leur forte concentration en Oleuropéine. De ce fait, le reste des travaux a été consacré aux margines.

Les substrats issus de l'extraction des polyphénols des margines ont été valorisés par la filière de biométhanisation dans le chapitre suivant.

CHAPITRE IV

VALORISATION DES RESIDUS DE L'EXTRACTION DES POLYPHENOLS DES MARGINES ET DES RESIDUS DE LEUR TRAITEMENT POUR LA PRODUCTION DU BIOGAZ

I. Introduction

Nous avons montré que les margines sont plus riches en polyphénols que les grignons d'olive (chapitre II). A cet effet, leur extraction serait une solution prometteuse à l'échelle industrielle vue leurs propriétés bioactives élevées notamment antioxydantes. Toutefois, cette opération génère des quantités importantes de résidus ; l'extraction de 3,65 g/L de polyphénols génère 750 mL de résidus. Leur traitement par digestion anaérobie et production du méthane serait une alternative intéressante que leur rejet dans le milieu naturel.

Ce chapitre relate le traitement de deux types de sous-produits issus de traitement des margines par la biométhanisation et l'évaluation de leur capacité calorifique après avoir décrit l'approche méthodologique appliquée :

- Le premier concerne les résidus de traitement des margines par un procédé physico-chimique combinant l'adsorption à l'électrocoagulation dans les conditions optimales déterminées dans un travail antécédent de notre Laboratoire LIEME (Majbar et al., 2019).
- Le deuxième correspond au traitement des margines par extraction des polyphénols (Mikdame et al., 2016).

Le même traitement de biométhanisation et dans les mêmes conditions a été effectué sur les margines brutes ayant servi de témoin.

II. Matériaux et méthodes

II.1. Matériaux

Pour la valorisation énergétique, trois matériaux ont été utilisés dans ce chapitre, les margines brutes (MB), les boues de leur traitement par électrocoagulation-adsorption (BT) et les boues de l'extraction des polyphénols des margines (MSP).

Pour le traitement des margines par adsorption sur le matériau adsorbant, nous avons utilisé la sciure de bois d'eucalyptus traitée thermiquement puis activée par voie acide.

II.2. Approvisionnement et échantillonnage

- Marges

Les margines ont été prélevés du bassin du stockage d'une unité de trituration des olives par trois phases, située à Meknassa Ben-Ali à 8 km de la ville de Taza (figure27) par la méthode composite. Le bassin a été réparti en 16 zones, un prélèvement de 5 L de chaque zone à différentes profondeurs a eu lieu. Le tout a été mélangé et agité manuellement pour avoir un échantillon homogène qui a été conservé à froid dans un conteneur de 100 L. le mélange est agité avant toute utilisation.

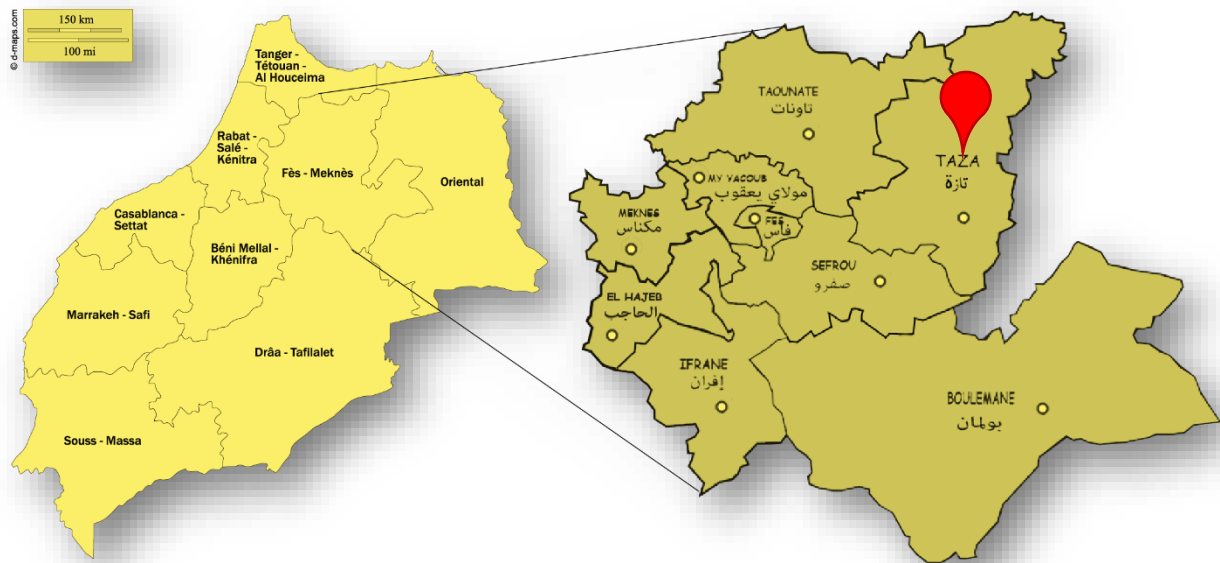


Figure 25 : Zone de prélèvement des margines brutes

- **Boues des margines traitées par un procédé combiné**

Les margines brutes ont été traitées par électrocoagulation dans les conditions optimales de pH, d'intensité de courant, du temps, de tension et de puissance, puis par adsorption sur le charbon de la sciure de bois d'eucalyptus en réacteur statique dans les conditions optimales de masse d'adsorbant, de pH, de la charge d'adsorbant et du temps d'agitation. A la fin de la réaction, le mélange a été filtré par une membrane de 0,45µm et les boues ont été récupérées, analysées puis conservées dans une boîte hermétique et placées dans un réfrigérant à 4°C.

- **Boues des margines traitées par l'extraction des polyphénols**

Elles ont été récupérées puis analysées et conservées dans les mêmes conditions que les autres boues.

- **Sciure de bois d'eucalyptus**

La sciure de bois est constituée des chutes de matière suite au découpage ou au façonnage du bois. Après avoir séché la sciure de bois dans une étuve à 105 °C pendant 24 heures, elle a été broyée et tamisée. Ensuite, elle a été traitée chimiquement par l'acide phosphorique à 85 % pendant 6 h à 85 °C, puis thermiquement dans un four à moufle, à 400 °C pendant 4 h (Majbar et al., 2019).

II.3. Méthodes

II.3.1. Caractérisation des matériaux

II.3.1.1. Caractérisation physico-chimique

Les trois matériaux (MB, BT, MSP) ont été caractérisés selon les normes AFNOR édictées par Rodier (RODIER, 2009). Les méthodes d'analyse des paramètres pH, Conductivité, Humidité, Matière sèche, Matière organique, Matière grasse, Densité, Carbone organique, Azote total Kjeldahl, Concentration des polyphénols sont représentées dans le tableau 3 du chapitre II. Quant aux mesures de la demande chimique en oxygène DCO et la demande biologique en oxygène DBO₅, paramètres de pollution, elles ont été déterminées par les méthodes présentées dans le tableau 21.

Tableau 21 : Méthodes d'analyse de la DCO et la DBO₅

Normes	Méthodes	Appareil	Expressions des résultats
DCO NF T90-101	- Etape 1 : Oxydation de la matière par excès de dichromate de potassium K ₂ Cr ₂ O ₇ , cette étape s'effectue à ébullition en milieu acide H ₂ SO ₄ en présence de sulfate d'argent (Ag ₂ SO ₄) (catalyseur d'oxydation) et de sulfate de mercure (HgSO ₄) (complexation des chlorures). - Etape 2 : Dosage de l'excès de dichromate par une solution de sulfate de fer et d'ammonium.	- Système de minéralisation spécial DCO Thermoréacteur HI 839800 - Spectrophotomètre UV-visible ANACHEM TYPE 220	$\text{DCO}(\text{mg O}_2/\text{L}) = \frac{8000}{V}$ V: volume d'échantillon (mL)
DBO₅ NFEN ISO 5815-1 (2019)	La valeur de la demande biologique en O ₂ pendant 5 jours représente la quantité en g d'O ₂ nécessaire aux microorganismes mis en incubation avec l'échantillon pour oxyder les matières organiques à 20°C à l'obscurité sous agitation pendant 5 jours. Les microorganismes qui se trouvent dans l'échantillon consomment l'oxygène et un gaz carbonique (CO ₂) se forme. Celui-ci est absorbé avec l'hydroxyde de sodium (NaOH), il s'ensuit une dépression.	DBO ₅ -mètre de type OXITOP Etuve réfrigérée pour détermination DBO ₅ (Armoire thermoregulatrice à T = 20 °C Lovibond)	La mesure est lue directement dans le DBO mètre en mg/L

II.3.1.2. Méthodes de caractérisation des boues par spectroscopie

- Spectroscopie infrarouge à transformées de Fourier (FTIR)

Cette technique est basée sur l'absorption, par les matériaux, des ondes électromagnétiques qui vont exciter les mouvements de vibration des liaisons chimiques. C'est une analyse qualitative qui permet l'identification des groupements fonctionnels des matières organiques. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a été largement utilisée comme technique de caractérisation des déchets organiques et des boues (El Fels et al., 2014).

Les spectres IR ont été balayés sur une gamme de longueur d'onde entre 500 et 3900 cm^{-1} dans un spectromètre type NICOLET iS10 de Thermo Fisher Scientific (Madison, WI USA) équipé d'un SMART iTR.

- **Diffraction des rayons X (RDX)**

La technique de diffraction des rayons X est une technique de caractérisation des matériaux cristallins, autorisant ainsi de déterminer la structure et les phases d'un matériau. Cette technique est aussi utilisée pour caractériser les déchets organiques notamment les boues de station d'épuration (Boutchich et al., 2015). Le diffractomètre utilisé lors de ce travail est de type PAN-Critical X'Pert Pro, équipé d'une source monochromatique Cu-K α (1.541874 Å).

- **Microscopie Electronique à Balayage couplée à une analyse EDX (MEB/EDX)**

La morphologie des boues a eu lieu par microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à une analyse EDX.

La MEB est une technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière.

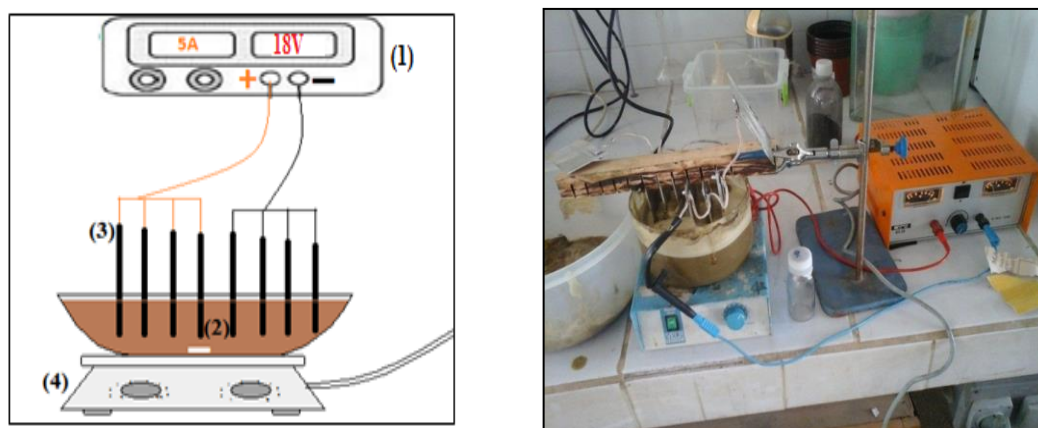
Le couplage de MEB/EDX, permet de donner la microanalyse de la margine, c'est à dire, la détermination de sa composition chimique en pourcentage atomique et/ou massique.

II.3.2. Traitement combiné des margines

Le traitement combinant l'adsorption à l'électrocoagulation a été effectué dans les conditions optimales obtenues dans un travail antérieur réalisés par l'équipe de recherche du laboratoire d'Ingénierie d'Electrochimie, de Modélisation et d'Environnement (LIEME) (Majbar et al., 2019).

II.3.2.1. Electrocoagulation

Les expériences de l'électrocoagulation ont été menées dans une cellule électrochimique d'un litre. La cellule comportait 8 plaques d'aluminium chacune d'une surface totale de 70 cm^2 , soit une longueur de 10 cm et une largeur de 7cm disposées en parallèles à une distance de 1 cm et alimentées par un courant continu d'intensité de 5A, de tension de 18V et de puissance de 90W (Rais et al., 2017 ; Majbar et al., 2019). Après électrocoagulation, les effluents traités ont été placés dans une cuve de décantation pour éliminer les boues formées.



- 1 : Générateur de courant
- 2 : Cellule électrolytique
- 3 : électrodes en aluminium
- 4 : Agitateur magnétique

Figure 26 : Mode opératoire de traitement des margines par électrocoagulation

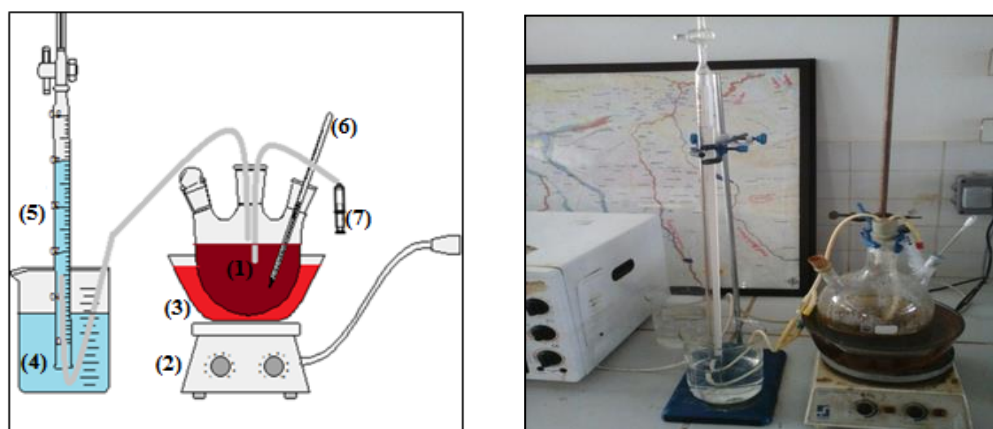
II.3.2.2. Adsorption

Afin d'améliorer le traitement des margines prétraités, un second traitement par adsorption sur la sciure de bois d'eucalyptus activée par voie acide a eu lieu. Les conditions optimales de traitement appliquées consistent à agiter en réacteur statique 500 mL de margines prétraitées par 1,2 g de charbon de sciure de bois d'eucalyptus pendant 270 min, temps déterminé par l'étude cinétique, après avoir ajusté le pH du milieu à 3 (Majbar et al., 2019). Le mélange a été décanté pendant 1 heure puis filtré. Le filtrat, correspondant aux margines traités, a été analysé et les boues ont été récupérés puis conservés à 4°C dans un sac en plastique hermétiquement fermé.

II.3.3. Traitement biologique des margines par biométhanisation

Le pilote de la digestion anaérobie des deux boues de traitement des margines (MSP, BT) et des margines brutes (MB) a été réalisé par un système constitué d'un fermenteur de 2 litres, maintenu à une température mésophile de 37 °C tout au long de la digestion (figure 27).

Les opérations d'échantillonnage ont été effectuées manuellement en utilisant une seringue. Le biogaz produit a été mesuré selon le principe du déplacement d'une solution basique (NaOH 5M + eau de chaux). L'expérience se poursuit jusqu'à ce que la production de biogaz tende vers zéro.



- 1: ballon contenant les margines à fermenter (500 mL)
 2 : plaque chauffante
 3 : bain-marie
 4 : solution de (NaOH 5M + eau de chaux) pour capter CO_2 et H_2S
 5 : burette qui permet de détecter le volume des gaz dégagés
 6 : thermomètre pour contrôler la température
 7 : seringue pour l'échantillonnage

Figure 27 : Mode opératoire de traitement des margines par digestion anaérobie

III. Traitement des margines par électrocoagulation-adsorption

III.1. Caractérisation physico-chimique des margines brutes

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des margines, présentés dans le tableau 22, relatent qu'elles sont acides et se caractérisent par une concentration de substances dissoutes assez élevées en raison d'une part, des sels ajoutés aux olives pour leur conservation avant broyage ; et d'autre part de leur richesse en minéraux dissous.

Tableau 22 : Caractéristiques physico-chimiques des margines brutes

	Valeur	Normes des rejets dans les cours d'eau (Arrêté n° 13.2942, 2013)
pH	$4,43 \pm 0,05$	5,5 - 8,5
EC (mS.cm^{-1})	$8,56 \pm 0,02$	2 700
Densité	1,05	ND
MM (%)	$25,25 \pm 5,46$	ND
MO (%)	$74,75 \pm 5,46$	ND
CO (%)	$43,36 \pm 3,16$	ND
Matière grasse (g/L)	7,67	30
NTK (mg/L)	$0,0030 \pm 0,0004$	150
DBO_5 ($\text{mg d'O}_2.\text{L}^{-1}$)	$5650,0 \pm 0,5$	500
DCO ($\text{mg d'O}_2.\text{L}^{-1}$)	$96070,00 \pm 0,51$	1 200
Polyphénols (g.L^{-1})	$3,45 \pm 0,68$	0,005

Elles ont une densité voisine à celle de l'eau et une charge organique biodégradable DCO/DBO₅ $\cong 17$ supérieures à la norme de rejet des effluents liquides dans les cours d'eau (DCO/DBO₅ inférieur à 3) (Arrêté n° 13.2942, 2013).

III.2. Traitement des margines par électrocoagulation

Lors de l'électrocoagulation, une différence de potentiel est appliquée entre l'anode soluble d'Aluminium et la cathode, des ions aluminiums et hydroxyle sont générés respectivement à l'anode et à la cathode. Ce processus est suivi d'une oxydation in situ et d'une précipitation ultérieure sous forme d'hydroxyde d'aluminium.

Les principales demi-réactions susceptibles de se produire aux électrodes sont [21] :

À l'anode :



À la cathode en milieu basique : $2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{HO}^- + \text{H}_2$

Les résultats de traitement des margines par électrocoagulation dans les conditions suscitées sont illustrés dans le tableau 23 et la figure 28. L'examen des différents résultats montre que le taux d'abattement de la charge polluante globale des margines est d'environ 40%. Les margines prétraités sont presque neutre. Leur charge minérale et azotée a été réduite de presque la moitié. Cependant, cette méthode n'a pu abaisser les polyphénols que de 25,79% et le rapport DCO/DBO₅ que de 3,44% et ne pourrait pas être une méthode très efficace pour traiter les margines. Leur composition finale ne leur permet pas d'être rejetées dans les cours d'eau. Un traitement supplémentaire nous a été nécessaire.

Tableau 23 : Caractéristiques physico-chimiques des margines après électrocoagulation

PARAMETRES	VALEUR
pH	6,51 $\pm$ 0,05
EC (mS.cm-1)	3,63 $\pm$ 0,02
NTK (g .L-1)	0 ,0013 $\pm$ 0,0004
DBO5 (mg d'O2.L-1)	3898,0 $\pm$ 0,5
DCO (mg d'O2.L-1)	52108,00 $\pm$ 0,51
Matière grasse (g/L)	4,01
Polyphénols (g.L-1)	1,95 $\pm$ 0,68

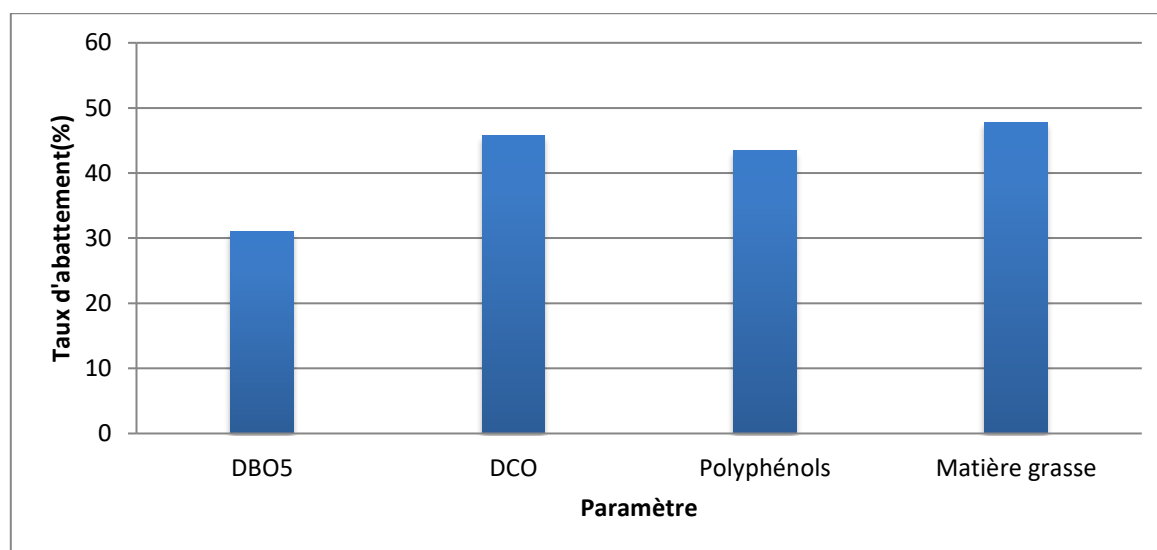


Figure 28 : Efficacité de traitement des margines par électrocoagulation

III.3. Traitement des margines prétraitées par adsorption sur le charbon de la sciure de bois d'eucalyptus activée par voie acide

Les margines pré-traitées par électrocoagulation ont subi un second traitement par adsorption en réacteur statique sur le charbon de la sciure de bois d'eucalyptus dans les conditions optimales suscitées. Les résultats du tableau 24 et de la figure 29 révèlent que le traitement combiné des margines par électrocoagulation/adsorption a permis la réduction de la charge organique non biodégradable de plus que la moitié, les composés phénoliques de 65,78%, la matière grasse près de 66 % et aussi de la couleur noire à une couleur jaune pale. Mais le taux de l'azote kjeldhal n'a presque pas évolué si on tient compte de l'incertitude de mesure. Toutefois, leur charge finale n'est pas conforme aux normes de rejet des effluents dans les eaux de surface (B.O., 2016).

Tableau 24 : Caractéristiques physico-chimiques des margines traitées par électrocoagulation-adsorption

PARAMETRES	VALEUR
EC (mS.cm ⁻¹)	6,23 ± 0,02
NTK (g .L ⁻¹)	0,0017 ± 0,0004
DBO ₅ (mg d'O ₂ .L ⁻¹)	2583,0 ± 0,5
DCO (mg d'O ₂ .L ⁻¹)	19069,00 ± 0,51
Matière grasse (g/L)	2,16
Polyphénols (g.L ⁻¹)	1,21 ± 0,68

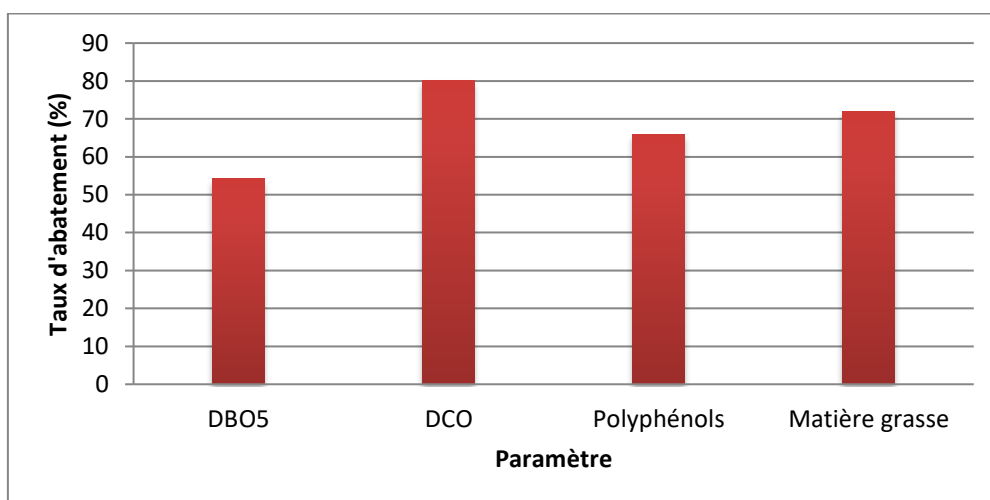


Figure 29 : Les taux d'abattement pour les différents paramètres après électrocoagulation-adsorption

III.4. Caractérisation des boues de traitement des margines

Les boues générées par le traitement combinant l'adsorption à l'électrocoagulation des margines ont été caractérisées, en premier lieu, par les mêmes paramètres physico-chimiques mesurés auparavant, auxquels ont été ajoutés quelques éléments traces métalliques Al, Fe, Zn, Cr, Na et Mg (tableau 25). En deuxième lieu, elles ont été analysées par spectroscopie infrarouge (figure 30), diffraction des rayons X (figure 31) et microscopie électronique à balayage (figure 32).

Tableau 25 : Caractéristiques physico-chimiques des boues de traitement des margines

PARAMETRE	VALEUR
pH	6,47 ± 0,05
Conductivité (ms /cm)	6,45 ± 0,02
MM(%)	34,28 ± 5,46
MO (%)	65,72 ± 5,46
CO (%)	52,42 ± 3,16
Matière grasse (g/L)	4,76
DBO ₅ (mg d'O ₂ /L)	9561
DCO (mg d'O ₂ /L)	4560,00 ± 0,51
Polyphénols (g /L)	1,42 ± 0,68
Al (mg /L)	531, 3
Fe (mg /L)	7,885
Zn (mg /L)	6,015
Cr (mg /L)	3,26
Na (mg /L)	356,385
Mg (mg /L)	509,1

Les boues récupérées après traitement des margines sont de couleur noire, neutres, chargées en matières organiques et minérales, un grand pourcentage de la charge éliminée des margines a été absorbée dans les boues. Elles sont chargées de plus de certains métaux (Al, Na et Mg) issus des réactions ayant lieu entre les polluants des margines et les électrodes en aluminium, et du relargage du charbon de la sciure de bois d'eucalyptus.

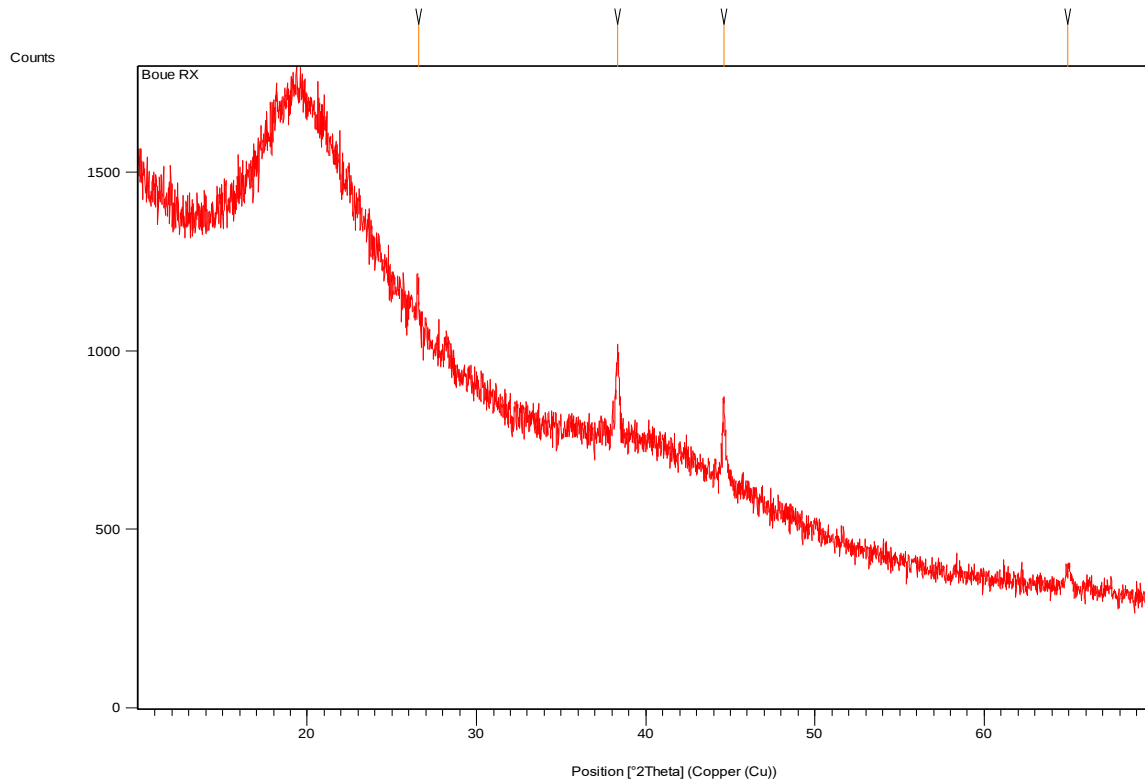
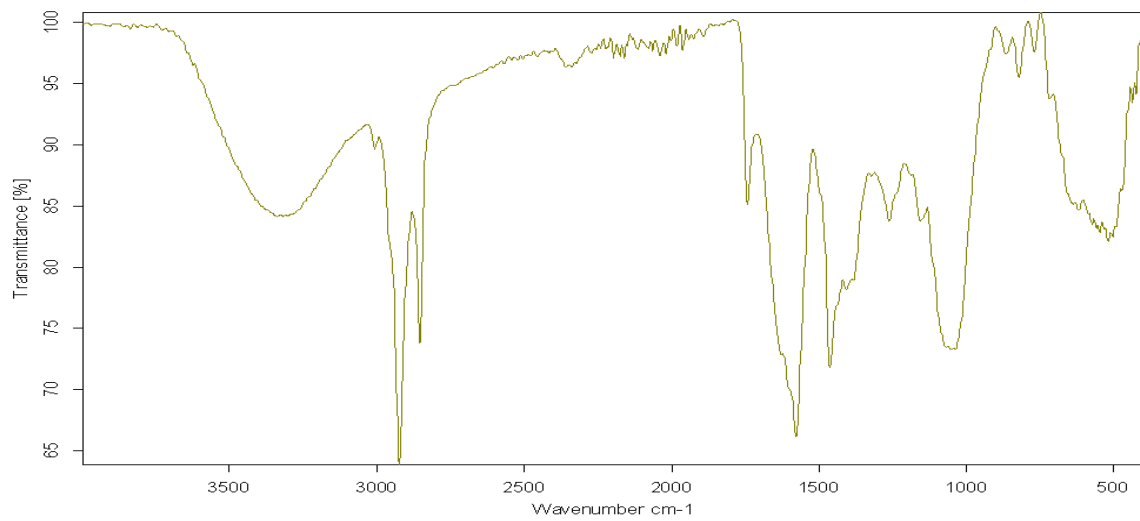


Figure 30: Diffractogramme des boues de traitement des margines

L'analyse DRX des boues issus de traitement des margines par électrocoagulation-adsorption (figure 30) dénote une nature amorphe. L'existence des deux petits pics est due au bruit de fond du diffractomètre.



C:\SPECTRES\2018\FSDMLIEME\Taleb mustapha\17-05-2018\Boue infrarouge.0

Boue infrarouge

17/05/2018

Seite 1 von 1

Figure 31: Spectre infrarouge des boues de traitement des margines

L'observation de la morphologie des boues de traitement en microscopie électronique à balayage (MEB) (figure 32) montre la formation d'agrégats denses, la taille des pores de 3 μm de diamètre, la diminution de la turbidité du liquide interstitiel.

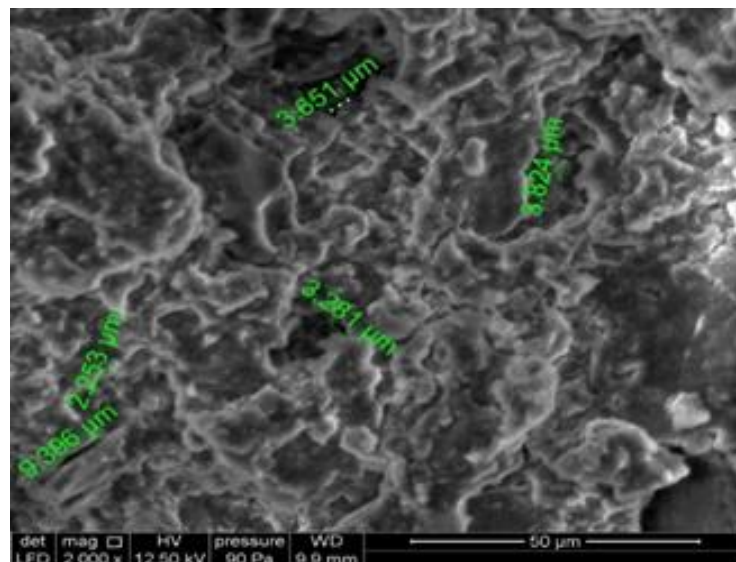


Figure 32: Morphologie des boues de traitement des margines vu au microscope électronique à balayage

IV. Valorisation énergétique des boues des margines traitées

IV.1. Caractérisation des boues des margines traitées

Les boues des margines traitées par des méthodes physico-chimiques (extraction des polyphénols ou électrocoagulation/adsorption) ont été valorisées pour la production du méthane par digestion anaérobie. Les résultats obtenus ont été comparés avec ceux de traitement des margines brutes par la même méthode et dans les memes conditions.

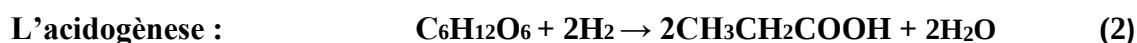
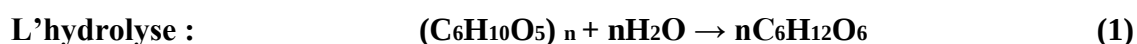
La caractérisation des différents substrats (les deux boues et les margines brutes) relate une modification des milieux de culture qui serait la résultante d'une variation de pH, une diminution des matières grasses et une réduction de polyphénols. Leur richesse en matières organiques les a préconisés à être traités par digestion anaérobie (tableau 26).

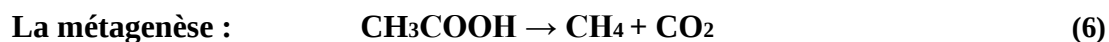
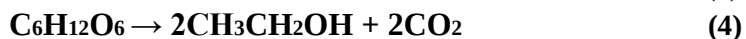
Tableau 26 : Caractérisation des substrats utilisées dans la biométhanisation

Paramètre	Boues d'extraction des polyphénols (MSP)	Boues de traitement des margines par électrocoagulation/adsorption (BT)	Margines brutes (MB)
Ph	5,06 ± 0,03	6,47 ± 0,05	4,43 ± 0,05
Conductivité (mS /cm)	9,35 ± 0,01	6,45 ± 0,02	8,56 ± 0,02
MM (%)	ND	34,28 ± 5,46	25,25 ± 5,46
MO (%)	ND	65,72 ± 5,46	74,75 ± 5,46
CO (%)	ND	52,42 ± 3,16	43,36 ± 3,16
Matière grasse (g/L)	0,5	4,76	7,67
DBO ₅ (mg d'O ₂ .L ⁻¹)		9561	5650,0 ± 0,5
DCO (mg d'O ₂ .L ⁻¹)	3661,0 ± 0,4	4560,00 ± 0,61	96070,00 ± 0,51
Polyphénols (g .L ⁻¹)	0,45 ± 0,55	1,42 ± 0,68	3,45 ± 0,68

IV.2. Traitement des substrats par biométhanisation

La digestion anaérobie des différents substrats a débuté par hydrolyse pour former des acides gras à longue chaîne et de la glycérine, puis ces produits ont été transformés par les bactéries en H₂, acétates et dioxyde de carbone qui ont été transformés en méthane et en dioxyde de carbone par des méthanogènes selon les réactions suivantes :





La figure 33 illustre les valeurs moyennes des productions cumulées de méthane en fonction du temps pour les différents substrats (MSP : boues d'extraction des polyphénols, MB : margines brutes et BT : boues de traitement des margines par électrocoagulation/adsorption). Pour tous les substrats, la production de méthane a augmenté après 5 jours de fermentation, puis, une phase de latence et une augmentation jusqu'à stabilisation de la production à une valeur maximale.

Pour les margines brutes, le grand volume du méthane produit a eu lieu entre 3 et 8 jours à raison environ de 40 cm³/L/j. Au-delà, la production est très lente et n'a eu lieu qu'après 15 jours de fermentation et avec un taux de 5 cm³/L/j. la quantité maximale du méthane obtenue est de 300,7 cm³/L pendant 30 jours.

Quant aux boues obtenues après extraction des polyphénols, après le 3^{ème} jour, la production du méthane a été presque linéaire avec une pente très faible jusqu'au 21^{ème} jour où la production a augmenté à raison de 35 cm³/L/j pendant 14 jours. Le maximum du méthane, 700 cm³/L, a été atteint après 35 jours de fermentation, plus que le double de la quantité produite par les margines brutes. Cela semble être dû à la présence des polyphénols qui inhibent la survie des microorganismes responsables de la digestion anaérobie et par conséquent la production du biogaz (Antonio et al., 2017).

Pour les boues de traitement des margines par électrocoagulation/adsorption, du 3^{ème} jour au 17^{ème} jour, le méthane a été produit avec une quantité de 55 cm³/L/j ; plus 2 fois supérieure à celle obtenue par les boues générées de l'extraction des polyphénols des margines. Ceci pourrait être expliqué par le fait que l'hydrolyse et l'acidification des lipides ne se font pas dans un pH inférieur à 6 car l'accumulation des protons H⁺ implique le blocage de l'activité méthanogène (Rajagopal et al., 2013) ; le pH des boues générées par l'extraction des polyphénols est de l'ordre de 5,06 contre un pH de 6,47 pour les boues issues de traitements des margines par électrocoagulation/adsorption. En plus, une conductivité élevée pourrait aussi inhiber la biométhanisation ; 9,35 pour les boues issues de l'extraction des polyphénols. Après le 17^{ème} jour, le développement des microorganismes méthanogènes a été rétrogradé et la production du méthane a été de 10 cm³/L/j jusqu'au 43 jours de fermentation où les boues ont été épuisées.

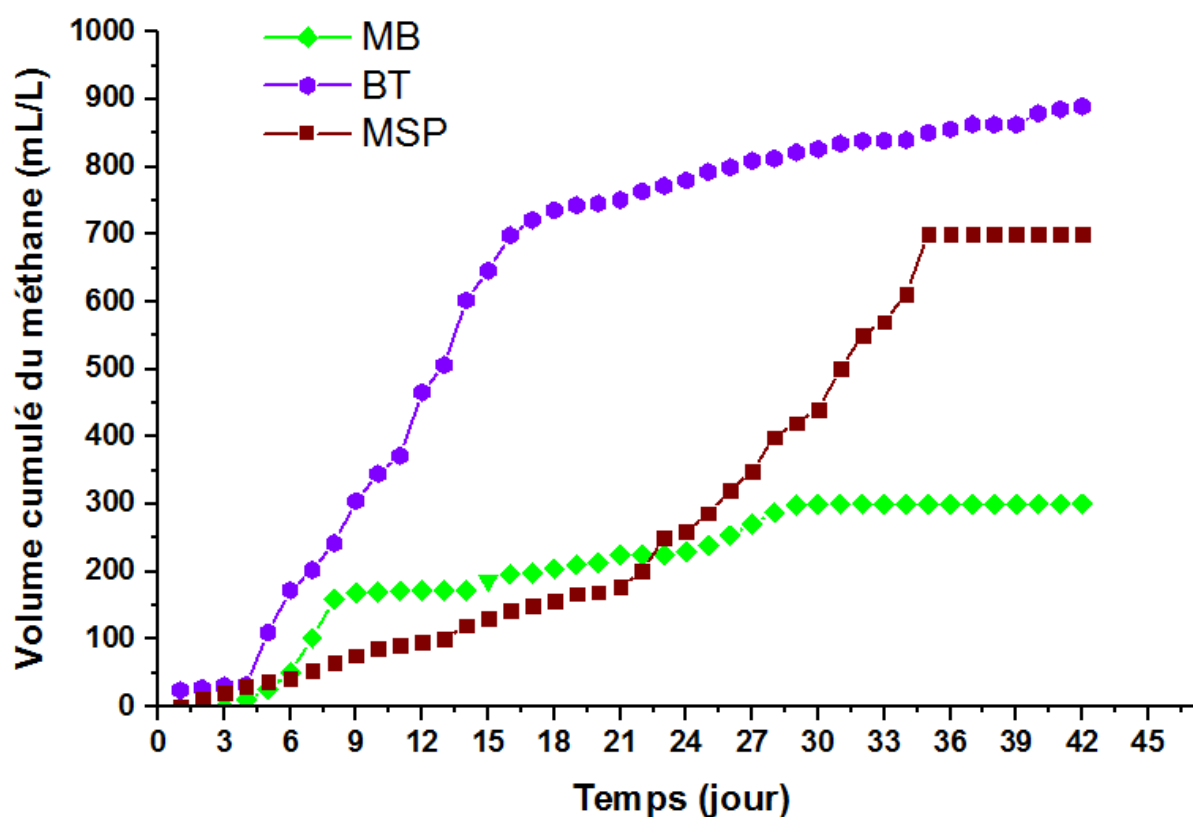


Figure 33 : Evolution du volume cumulé de méthane produit des différents substrats

MB : Margines brutes **BT** : boues de traitement des margines par électrocoagulation/adsorption **MSP** : boues de l'extraction des polyphénols

L'examen des résultats présentés dans le tableau 27 enregistre que la fermentation des boues issues de l'extraction des polyphénols, des margines brutes et des boues de traitement des margines par électrocoagulation/adsorption produisent du biogaz avec une grande teneur en méthane et des traces de sulfate. Ce qui encourage la valorisation des différentes boues étudiées dans la production d'énergie.

Tableau 27 : Composition volumique du biogaz

Gaz (%)	Margines brutes	Boues de traitement	Boues d'extraction des polyphénols
Méthane CH ₄	72,55	75,32	75,21
Dioxyde de carbone CO ₂	27,40	24,60	24,77
Sulfure d'hydrogène H ₂ S	Traces	traces	Traces

IV.3. Estimation du méthane produit en énergie

L'équivalent d'un mètre cube de méthane en énergie électrique dépend de plusieurs facteurs ; à savoir :

- Le taux du méthane dans le gaz
- La qualité du gaz (absence d'impuretés)
- La méthode et les conditions de transformation

Rappelons que le watt heure (Wh) est l'unité de mesure de l'énergie consommée ou fournie pendant une heure par un appareil dont la puissance est évaluée à 1 Kilowattheure.

Le coefficient de conversion d'un mètre cube, m^3 , de gaz en kilowattheure, KWh, est compris entre 9 et 12,5 KWh/ m^3 sachant qu'une puissance de 1watt mise en jeu pendant une seconde, libère une énergie de 1 Joule, Donc 1Wh correspond à 3600 Joules.

Le tableau 28, représentant l'équivalent d'un mètre cube de méthane en différentes sources d'énergie, dénote que la qualité d'énergie produite dépend fortement de la source du combustible et de son pouvoir calorifique (figure 34). De même pour la qualité du méthane produit par digestion anaérobie.

Tableau 28 : Equivalent énergétique de 1 m^3 de méthane

Combustible	Charbon	Pétrole	Fuel	Bois	Gaz naturel	Méthanol	Electricité
Equivalent de 1 m^3 de CH_4	1,3 Kg	1,5 L	1 L	2,5	0,94 m^3	1,7 L	9,7 KWh

Tableau 29 : Quantité du méthane produit par tonne de déchet

Déchets	V_{CH_4} (m^3 /tonne)	Equivalent en (KWh)	Equivalent en énergie (Mjoule)
Effluent d'élevage	14	140	504
Déchets organiques de grandes Surfaces	70	650	2340
Cultures	80	780	2808
Marges brutes	0,3	3	10,8
Boues des marges traitées par électrocoag./adsorp.	0,85	8,5	30,6
Boues d'extraction des polyphénols des marges	0,7	7	25,2

En comparant les quantités du méthane produites par les marges brutes ou les boues de leurs traitements ou celles des autres déchets (tableau 29), nous constatons une production comprise entre 3 et 8,5 $m^3(CH_4)$ /tonne de marges ou de boues. Ce sont des quantités qui apparaissent très faibles ;

mais pourrait servir à plusieurs utilisations (éclairage, télévision, ordinateur,...) vue le tonnage élevé des margines produites jusqu'à l'heure ci notamment avec la stratégie nationale du plan Maroc vert qui vise, d'une part, à produire de 2 millions de tonnes d'olives soient 750.000 tonnes de margines; et d'autre part, de réduire 3,7 MtCO₂ à partir de la production de 4 500 GWh (MDENV, 2014). Il est à signaler que les conditions opératoires de digestion anaérobie influencent énormément sur la quantité et la qualité du méthane produit.

IV.4. Effet de la biométhanisation des margines et de leurs boues sur les paramètres physico-chimiques en fonction du temps

La digestion anaérobie des substrats étudiés a été proposée pour obtenir un procédé en boucle fermée, puisqu'elle permet de fournir de l'énergie et de stabiliser la matière organique afin d'éviter les risques environnementaux. Le suivi de quelques paramètres physico-chimiques en fonction du temps a eu lieu pour évaluer le processus de biométhanisation, la biodégradabilité des substrats (MSP, MB, BT) et leur potentiel énergétique. Les paramètres contrôlés sont le pH, la conductivité, la DCO, les lipides totaux et la concentration des polyphénols (figures de 34 à 38).

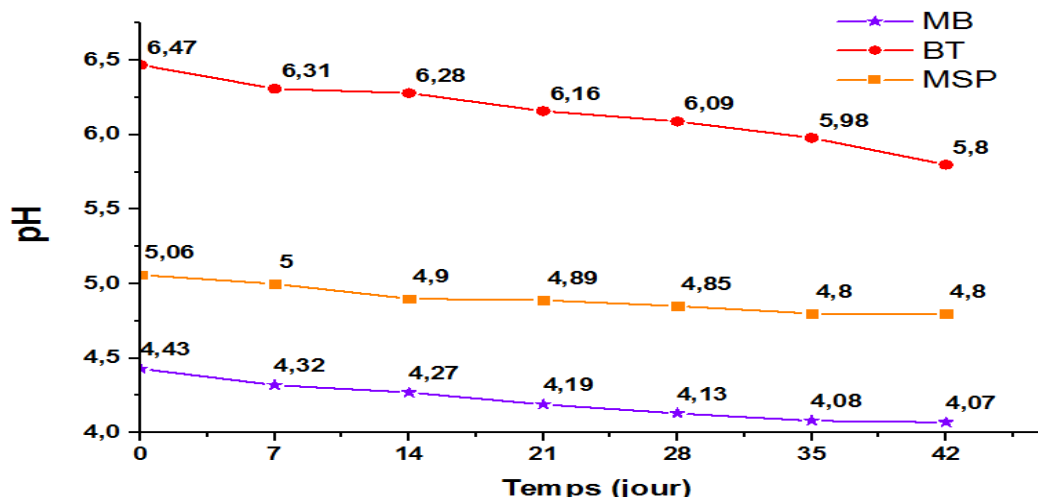


Figure 34 : Evolution du pH des substrats en fonction du temps

Selon les courbes de la figure 34, nous avons remarqué une légère diminution du pH dès le premier jour pour les 3 substrats, attribuée probablement à une oxydation incomplète de la matière organique conduisant à la production d'acides gras organiques en conditions anaérobies avec l'accumulation de l'acide gras volatil et la libération du proton H⁺. En effet, le pH du milieu a un grand impact sur la cinétique microbienne et sur la qualité et la quantité du méthane produit. Jain et al. (2015) ont montré que le pH basique inhibe la digestion anaérobie. L'équilibre de la digestion dépend de la non-accumulation des produits intermédiaires de dégradation. Ainsi, les réactions d'hydrolyse et d'acidification des lipides ne peuvent avoir lieu

qu'à un pH inférieur à 6, du fait de l'accumulation des protons H^+ qui bloque l'activité méthanogène.

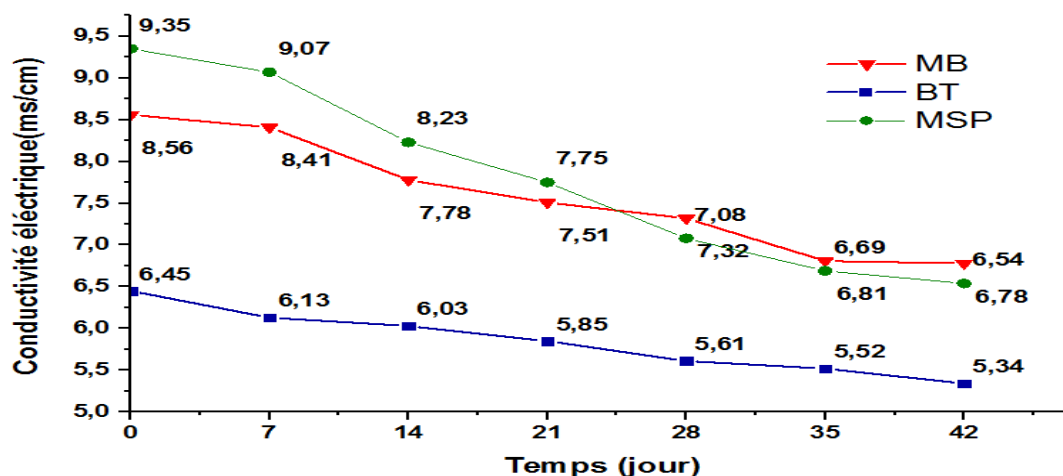


Figure 35 : Evolution de la conductivité des MB, BT et MSP en fonction du temps

Les courbes de la figure 35 relatent que la conductivité élevée des substrats initiaux pourrait provoquer une diminution de la matière sèche en diminuant la disponibilité de l'azote, en plus de sa toxicité pour certains micro-organismes (Rajagopal et al., 2013).

Les résidus des boues traitées ont initialement la conductivité la plus faible qui diminue linéairement et faiblement en fonction du temps que celles des autres substrats qui sont plus grandes et pendant les 7 premiers jours, elles diminuent très lentement. Au-delà, les conductivités décroissent rapidement dû à la consommation des sels minéraux du milieu par les bactéries.

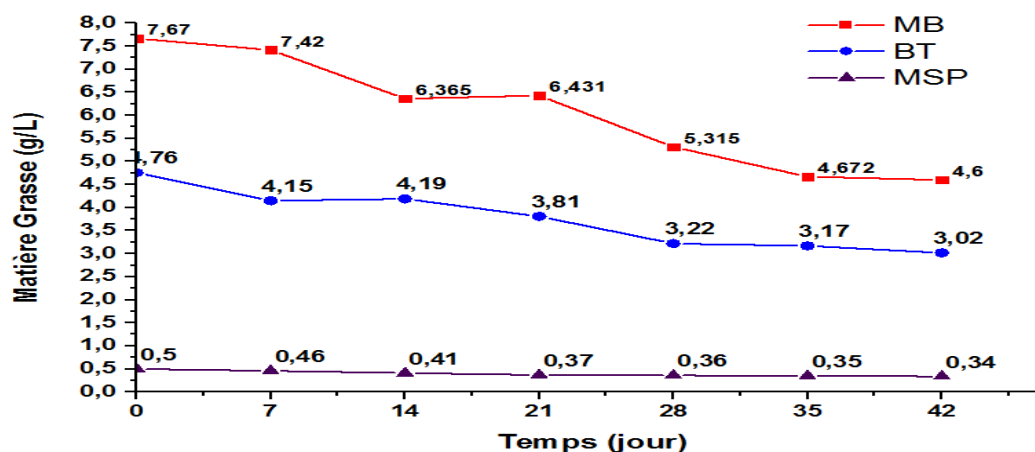


Figure 36 : Evolution de la teneur en matière grasse de MB, BT et MSP margines en fonction du temps

La figure 36 présente l'évolution de la matière grasse (MG) des résidus des boues en fonction du temps de digestion. L'analyse des résultats enregistre que la teneur en MG diminue avec le

temps de digestion anaérobie dès le premier jour pour les résidus des boues des margines traitées par électrocoagulation/adsorption ou par extraction des polyphénols et des margines brutes. Au delà de 7 jours, la pente de la décroissance est très forte pour les margines brutes et les boues des traitées par extraction des polyphénols. Ce qui reflète le bon déroulement des 3 réactions de dégradation de la matière organique en milieu anaérobie jusqu'au 35^{ème} jour les margines brutes. Il est à noter que la MG des résidus des boues des margines traitées par méthode physicochimique varie très peu car la totalité des lipides est éliminé lors de leur traitement.

La figure 37 illustre la réduction des polyphénols des résidus des boues de traitement des margines par électrocoagulation/adsorption et des margines brutes en fonction du temps de digestion. Les résultats montrent que les concentrations des polyphénols varient de la même façon que la matière grasse et avec les mêmes étapes d'évolution. Les polyphénols ont été dégradés par des bactéries acétogènes et des bactéries oxydantes de l'hydrogène, ce qui a augmenté la production du biogaz à partir des boues de traitement par électrocoagulation/adsorption plus que les margines brutes (René Moletta, 2011).

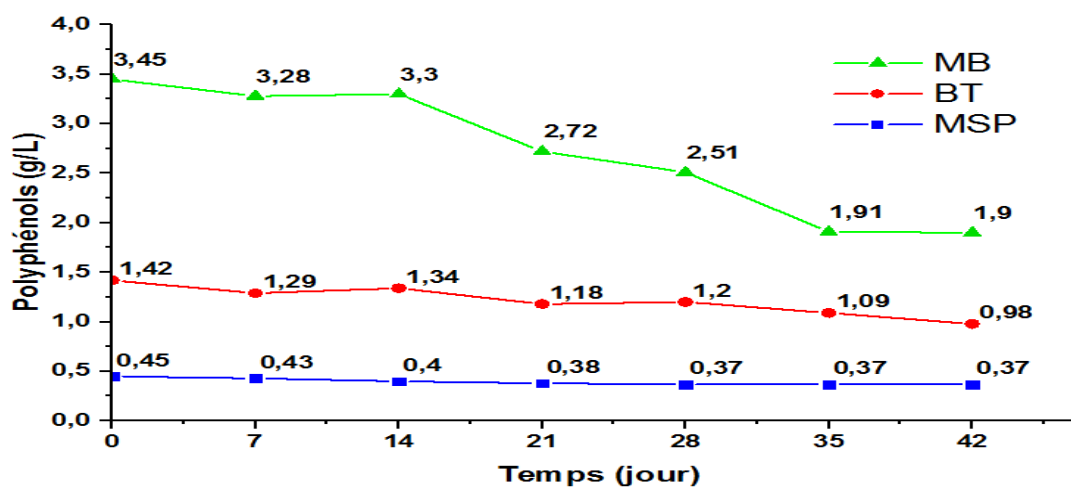


Figure 37 : Evolution de la teneur en polyphénols des MB, BT et MSP en fonctions du temps

Dans le cas de MB, l'activité méthanogénique a été inhibée par la présence des polyphénols difficilement dégradables. Leur élimination a pour effet d'améliorer la digestion puisque l'extraction des polyphénols a enrichi les margines en méthanol et acétate qui sont des substrats des bactéries méthanogéniques (Ennouri et al. 2016). Ceci a été manifesté par une légère augmentation de la production du méthane (figure 33) à partir des boues de traitement par électrocoagulation/adsorption et des boues de l'extraction des polyphénols, et une diminution de la charge organique non biodégradable (figure 38) de plus que la moitié et de 40%

respectivement pour les boues de traitement par électrocoagulation/adsorption et les boues d'extraction des polyphénols, la charge initiale est presque le 1/3 de celles des margines brutes et elle n'est réduite que de 20% pendant toute la période de la digestion anaérobie.

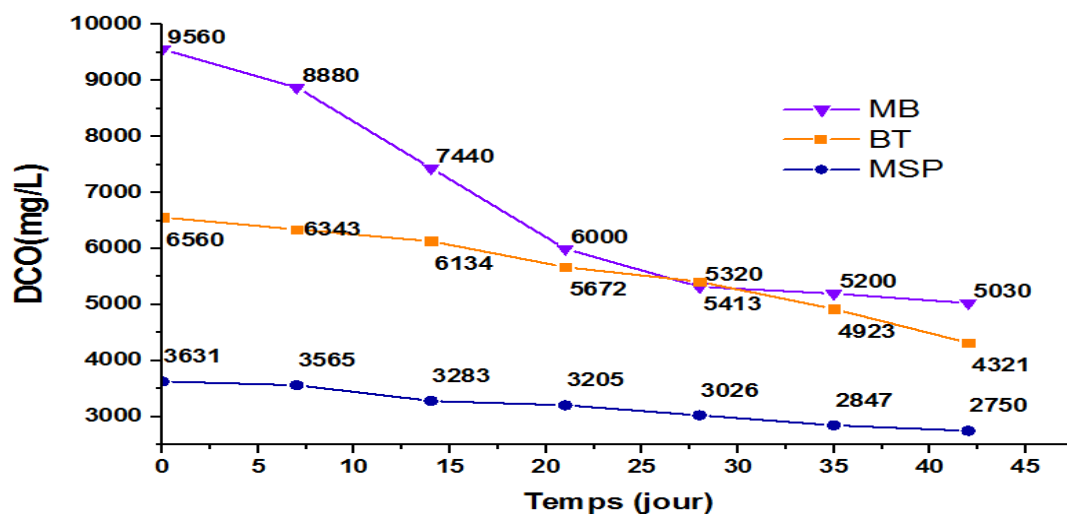


Figure 38 : Evolution de la demande chimique en oxygène des MB, BT, et MSP en fonction du temps

La biométhanisation permet, d'une part, l'abatement de la matière organique polluante par la diminution du taux de la DCO, la DBO5 et de la teneur en polyphénols (figure 39) et d'autre part, la production de l'énergie sous forme de biogaz. Ce gaz est estimé être le méthane puisque les autres gaz libérés : H_2S , CO_2 , ... sont absorbés par la solution d'hydroxyde de calcium.

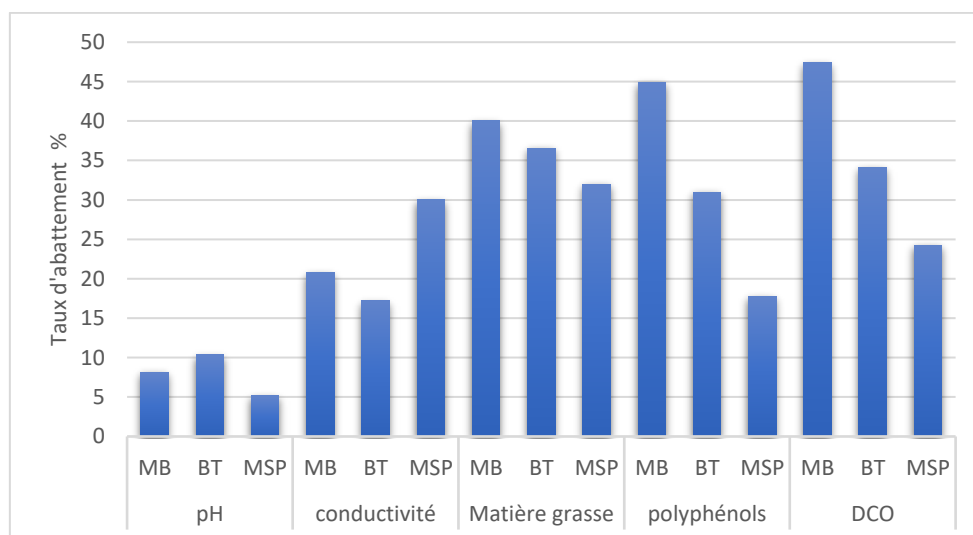


Figure 39 : Taux d'abattement pour les différents paramètres après biométhanisation

V. Conclusion

La valorisation énergétique des boues de traitement des margines par électrocoagulation/adsorption ou des boues de l'extraction des polyphénols est une opération prometteuse malgré les faibles quantités de méthane produites par les différents substrats en comparaison avec d'autres déchets fermentescibles. Ainsi, le biogaz obtenu par les boues de traitement sont composés d'environ de 75 % de méthane, 3 fois supérieure à que celui obtenu par la biométhanisation des margines brutes, ayant servi de témoin.

Economiquement, la biométhanisation des margines après extraction des polyphénols pourrait être considérée comme une option de gestion intéressante car elle répond aux critères de l'environnement en termes de production des antioxydants naturels et de l'énergie. Cette solution constitue une opportunité de valoriser ce sous-produit qui est relancée dans le cadre de la politique du plan Maroc vert et qui vise à faire du secteur agricole un levier du développement socio-économique. Nonobstant, cette méthode de valorisation génère elle aussi des boues épuisées qui nécessitent une valorisation, ceci fera l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE V

VALORISATION DES BOUES DE TRAITEMENT DES MARGINES PAR BIOMETHANISATION PAR LA FILIERE DE COMPOSTAGE

I. Introduction

La biométhanisation des margines et des résidus de leur traitement s'accompagne d'une production importante de boues résiduelles. Ces boues se caractérisent par leur charge en matières organiques et en éléments minéraux qui sont susceptibles de constituer un apport intéressant pour les sols et les cultures. L'utilisation directe de ces boues présente de nombreux risques et contraintes liés à leur manipulation et à leur emploi, en raison d'une présence éventuelle des agents pathogènes. Ces résidus doivent donc être conditionnés chimiquement et/ou biologiquement avant toute utilisation en agriculture.

Plusieurs travaux antécédants ont approuvé que le compostage constitue une technique biologique simple, qui permet une valorisation de ces déchets en agriculture à condition de déterminer une composition adéquate des substrats à composter.

Cette partie vise, d'une part, la valorisation des boues issues de traitement des margines par biométhanisation par co-compostage en milieu aérobie ; et d'autre part, l'évaluation de la qualité du compost produit à partir de ces boues.

Pour cela, deux andains ont été réalisés avec les mêmes substrats de départ : l'un nous a servi de témoin et le deuxième avec une proportion bien étudiée de la boue de traitement des margines.

Le suivi de la dégradation biologique des deux mélanges a été effectué par la mesure hebdomadaire des paramètres :

- Physico-chimiques (pH, conductivité électrique, température, rapport C/N et polyphénols) afin d'évaluer la composition et la qualité de la transformation du mélange en fonction du temps.
- Biologiques par les tests de phytotoxicité.
- Spectroscopiques afin d'évaluer leur taux de maturation en fonction du temps (E2/E3, E2/E4, E4/E6).

L'évaluation de la qualité des composts en aval a été faite par l'analyse des éléments fertilisants, les éléments traces métalliques et par le pouvoir antifongique des jus des compost.

La qualité agronomique des composts ainsi élaborés a été évaluée par analyse des éléments fertilisants, des éléments traces métalliques et par étude de leur potentiel antifongique dans la lutte biologique contre les champignons *Penicillium digitatum* et *Tavelure de pecher*.

II. Matériaux et méthodes

II.1. Matériaux

Les boues engendrées par le traitement des différents résidus et des margines brutes ont été co-compostées avec autres substrats, à savoir les déchets organiques ménagers, les fientes de volailles et les déchets obtenus après extraction des huiles essentielles des plantes médicinales. Les déchets organiques ménagers utilisés sont essentiellement des ordures ménagères fermentescibles, de cuisine, des épluchures de légumes, de fruits et des herbes de jardin. Les déchets ont été déposés à l'air libre afin d'éviter l'anaérobiose et la mauvaise odeur. Ensuite, ils ont été coupés en morceaux de moyenne taille afin d'éviter le colmatage et par conséquent entrainer l'asphyxie par les micro-organismes.

Les déchets des plantes médicinales sont un mélange de feuilles de plantes aromatiques et médicinales. Ils ont été approvisionnés de l'Agence Nationale Des Plantes Médicinales Et Aromatiques de Taounate, traitant surtout le *thym*, l'*origan*, la *lavande* et le *ciste*. Ces sous-produits ont été séchés à l'air libre plusieurs jours après avoir subis une hydrodistillation pour en extraire les huiles essentielles. Ce mélange a été débarrassé manuellement des résidus difficiles à broyer (environ 30 %).

Les fientes de volailles ont été apportées des fermes de la région de Taza.

Les boues de traitement des margines ont été celles générées par la biométhanisation.

II.2. Méthodes

II.2.1. Caractérisation des substrats

Tous les déchets ont été caractérisés par mesure des paramètres physicochimiques selon les normes AFNOR (NFU 44-051) vitées par (Rodier et al., 2009). Le pH et la conductivité électrique ont été mesurés sur un extrait aqueux des substrats (1g : 10 mL d'eau distillée) à température ambiante par un multi-paramètre Type CONSORT – Modèle C535. Les teneurs en humidité ont été déterminées en séchant 100 g de compost à 105°C pendant 48 h (El Fels et al., 2014).

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = 100 \times (P_f - P_s) / P_f$$

Avec : P_f = poids frais (g) et P_s = poids sec (g)

Le taux de la matière organique a été déterminé après calcination des échantillons séchés au four de type Eurotherm 2116 pendant 4 heures à 550 °C.

$$MO (\%) = 100 \times (P_s - P_c) / P_s$$

La teneur totale en carbone organique (CO) a été déduite à partir du taux de la matière organiques (MO).

$$CO (\%) = MO (\%) / 1,724$$

L'azote total Kjeldahl (NTK) a été analysé selon la norme AFNOR 25663 (janvier 1994) (méthode après minéralisation au sélénium (indice de classement T90110)).

II.2.2. Elaboration du compost

Les matières premières ont été mélangées et mises en deux andains sous forme de trapèze en plein air afin d'être co-compostées. Les andains diffèrent par leur composition initiale ; un andain avec boue (B) et un andain sans boue qui nous a servi de témoin (T).

Les proportions des matières premières ont été calculées selon les méthodes décrites par Proietti et al. et Majbar et al. (2017 ; 2018) pour obtenir une caractérisation physico-chimique du mélange initial conforme à la norme des déchets à composter NFU STANDARD NFU 44-095. La composition des mélanges obtenus est telle que 25 % de chaque substrat pour l'andain B et 33% pour le témoin T.

Le taux d'humidité des deux andains a été ajusté à environ 50-60 % (Zakarya et al., 2018). Cette opération a été refaite pendant le retournement des andains aux premiers jours de dégradation jusqu'à ce que leur couleur vire vers le brun et la température de la phase thermophile commence à diminuer.

II.2.3. Caractérisation physicochimique des composts

Les mêmes paramètres caractéristiques des substrats ont été mesurées pour les mélanges B et T et pour le suivi de leur évolution en fonction du temps.

La température a été mesurée tous les jours à différents niveaux de l'andain par un Multi-paramètre analyser Type CONSORT – Modèle C535. Les andains ont été remis à la main une fois tous les trois jours au début du compostage, puis une fois tous les 7 jours et enfin une fois par 15 jours, pour l'aération. Des échantillons frais homogènes ont été prélevés dès le premier jour t_0 des mélanges après retournement.

Les paramètres métalliques ont été analysés par spectrométrie à plasma à couplage inductif ICP type J.P.SELECTA. S.A; à la Cité de l'Innovation de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah – Fès ; après avoir minéralisé les échantillons.

II.2.4. Tests de maturation des composts

Ces tests ont été effectués par spectrométrie UV-visible type SHIMADZU UV-1800 à double faisceaux dont les longueurs d'onde sont comprises entre 200 et 800. La ligne de base a été établie en utilisant de l'eau milli Q (mQ). Les analyses ont été réalisées à leurs pH authentiques sans ajustement à une valeur définie, et faites dans des cuves en quartz à température ambiante. 3 rapports d'absorbances ont été mesurées à différentes longueurs d'ondes, E2/E3, E2/E4 et E4/E6 afin d'évaluer le taux de production de l'acide humique et la diminution de celui de l'acide fulvique (Rigobello et al., 2017).

II.2.5. Tests de phytotoxicité

Au cours du processus de compostage, la phytotoxicité des composts a été évaluée par la détermination de l'indice de germination.

10 g du compost frais ont été dilués dans 50 mL d'eau distillée. La suspension est mise dans une étuve à l'obscurité à 25°C pendant 72 heures. Finalement, la suspension a été centrifugée à 9000 tr/min. 10 graines de cresson ont été dispatchées uniformément sur un papier filtre placé dans une boîte de pétri et humidifié par 10 mL d'extrait de compost où l'eau distillée est prise comme témoin. Trois répétitions ont été faites pour chaque échantillon de compost et les boîtes de pétri ont été incubées à 25°C pendant 3 jours.

Le test de phytotoxicité a été calculé comme le produit du pourcentage de graines viables. Il a été réalisé en surveillant l'émergence des semences, le nombre de graines germées pendant 24 h et la croissance des racines après 72 h, en utilisant l'équation suivante (Mari et al., 2003) :

$$GI\% = \frac{GB}{BT} \times \frac{LB}{LT} \times 100$$

Avec : **GB** : nombre des graines germées par l'extrait aqueux ;

GT : nombre de graines germées par où l'eau distillée ;

LB : longueur des racines du cresson germé par l'extrait de compost ;

LT : longueur des racines du cresson germé par l'eau distillée.

II.3. Application des jus des composts pour la lutte biologique

Le jus des deux composts T et B ont été appliqués pour tester la lutte biologique contre deux champignons pathogènes : *Penicillium digitatum* et *Tavelure de pecher*.

Le *Penicillium digitatum* est un champignon responsable de 80% des pourritures d'agrumes. Il est présent dans le monde entier et peut attaquer toutes les espèces d'agrumes. On les retrouve principalement dans les stations de conditionnement mais il attaque les agrumes dès la récolte, dans le verger, et se propage très vite s'il n'est pas détecté à temps.

La **Tavelure de pecher** est un champignon qui infecte principalement les abricots et les pêchers par temps humide. Ce sont principalement les fruits qui sont touchés, mais parfois également les rameaux herbacés. La tavelure du pêcher forme un grand nombre de taches brun noir sur les fruits.

II.3.1. Préparation des jus de compost

Le jus de compost a été préparé par dissolution de 20 g de compost dans 80 mL d'eau distillée. Le mélange a été fermenté à température ambiante pendant 5 jours. Après la fermentation, le mélange a été centrifugé pendant 15 min à une vitesse de 8000 rpm, puis filtré avec un papier filtre stérile. Le filtrat obtenu est appelé jus de compost qui nous a servi pour l'étude du pouvoir antifongique des composts produits.

II.3.2. Etude du pouvoir antifongique : Technique des puits

Le pouvoir antifongique des jus de composts préparés a été testé *in vitro* en utilisant la méthode des puits. Cette méthode repose sur le dépôt des jus de compost dans des puits créés préalablement sur un milieu Plate Count Agar (PCA), ensemencé par une suspension fongique qui provient de culture de champignons fraîches : ***Penicillium digitatum* et tavelure de pecher**. L'ensemencement a été réalisé par étalement à la surface du milieu de culture de la suspension fongique. Les boîtes de petri ont été incubées à 37°C pendant 72 h. Trois répétitions ont été effectuées pour la reproductibilité des résultats.

L'action inhibitrice des jus de compost se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par la mesure du diamètre des zones d'inhibition.

Pour déterminer la relation entre les différents paramètres de contrôle du processus de co-compostage, nous avons fait appel aux tests statistiques.

II.4. Analyse statistique

Les tests statistiques appliqués dans cette étude sont en nombre de trois : le test de student, l'analyse de corrélation et l'analyse en composantes principales.

- **Le test de Student** : permet d'étudier la comparaison entre les profils d'évolution des paramètres de co-compostage pour les deux matrices B et T.

- **L'analyse de corrélation** : permet d'évaluer le degré d'association entre les différents paramètres d'évolution du processus de co-compostage. La détermination de la matrice de corrélation se définit comme une étape préliminaire pour l'analyse en composante principale.

- **L'analyse en composantes principales (ACP)** : permet d'étudier la corrélation entre les différents paramètres du processus de co-compostage et mettre en évidence les paramètres les plus influençant sur le processus.

III. Caractérisation des substrats et de leur mélange à t_0

Les résultats de la caractérisation physicochimique des substrats (tableau 30) montrent que les fientes de volaille sont basiques, ont un rapport C/N de 10. Les déchets des plantes médicinales se caractérisent par un taux d'azote le plus élevé et un faible rapport C/N de 29,8. Quant aux boues de traitement des margines, elles sont peu acides avec un pH de 5,8, possèdent un faible taux de carbone organique 0,43%, ce qui donne un rapport C/N de 53,75.

Tableau 30: Caractérisation des substrats utilisés pour leur compostage

Paramètres	Boues de méthanisation	Déchets des plantes médicinales	Déchets verts	Fientes de volaille	Norme d'utilisation de la boue dans les composts (NFU 44-095)
Ph	5,80 ± 0,01	5,10 ± 0,01	7,01 ± 0,03	6,93 ± 0,01	ND
CE (mS/cm)	5,00 ± 0,01	26,80 ± 0,01	34,86 ± 0,01	3,75 ± 0,5	ND
Densité	ND	ND	0,25 ± 0,01	0,33 ± 0,02	ND
Salinité (g/l)	ND	ND	24,01 ± 0,02	46,0 ± 0,1	ND
Humidité (%)	ND	ND	16,80 ± 0,36	72,88 ± 0,5	ND
MS (%)	95,60 ± 1,19	ND	80,2 ± 0,2	71,1 ± 0,5	≥ 50
MO (%)	63,05 ± 0,05	95,08 ± 0,50	49,5 ± 0,8	75,70 ± 1,02	≥ 20
Matière grasse (%)	3,1	12,03	52	17,64	ND
C org (%)	0,43 ± 0,02	55,15 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,2 ± 0,02	—
NTK	0,0008 ± 0,0003	1,85 ± 0,02	0,008 ± 0,001	0,02 ± 0,004	—
C/N (%)	53,75	29,81	11,25	10	—
Polyphénols (g /L)	1,05 ± 0,88	ND	ND	ND	ND
Al (mg /L)	528,3	ND	ND	ND	ND
Fe (mg /L)	7,8	ND	ND	ND	ND
Zn (mg /L)	6	ND	ND	ND	300
Cr (mg /L)	3,4	ND	ND	ND	100
Na (mg /L)	353,4	ND	ND	ND	ND
Mg (mg /L)	509	ND	ND	ND	ND

Les mélanges préparés (B et T) à partir des différents substrats se caractérisent initialement à $t = 0$ par les caractéristiques mentionnées dans le tableau 31.

Tableau 31: Caractérisation des mélanges T et B à t_0

	Température (°C)	pH	Conductivité (mS.Cm ⁻¹)	MO%	CO %	NTK %	C/N
Mélange B	25	6,9± 0,1	1,15	94,76	54,26	2,77	19,59
Mélange T	25	6,9± 0,1	2	95,32	53,87	2,73	19,70

IV. Suivi du processus de compostage

Le suivi du déroulement du processus de compostage des mélanges T et B a été effectué en fonction du temps par la mesure des paramètres physico-chimiques : température, pH, conductivité électrique, rapport C/N, matière organique et teneur en composés phénoliques. Les tests de maturité et de stabilité des composts T et B ont été accomplis par la détermination de l'indice de germination et du taux d'acide humique formé en fonction du temps.

IV.1. Température

Au cours du compostage des mélanges T et B, la température est en forte corrélation avec l'activité microbienne. Elle a permis de mettre en évidence les 4 phases classiques du compostage (Figure 40).

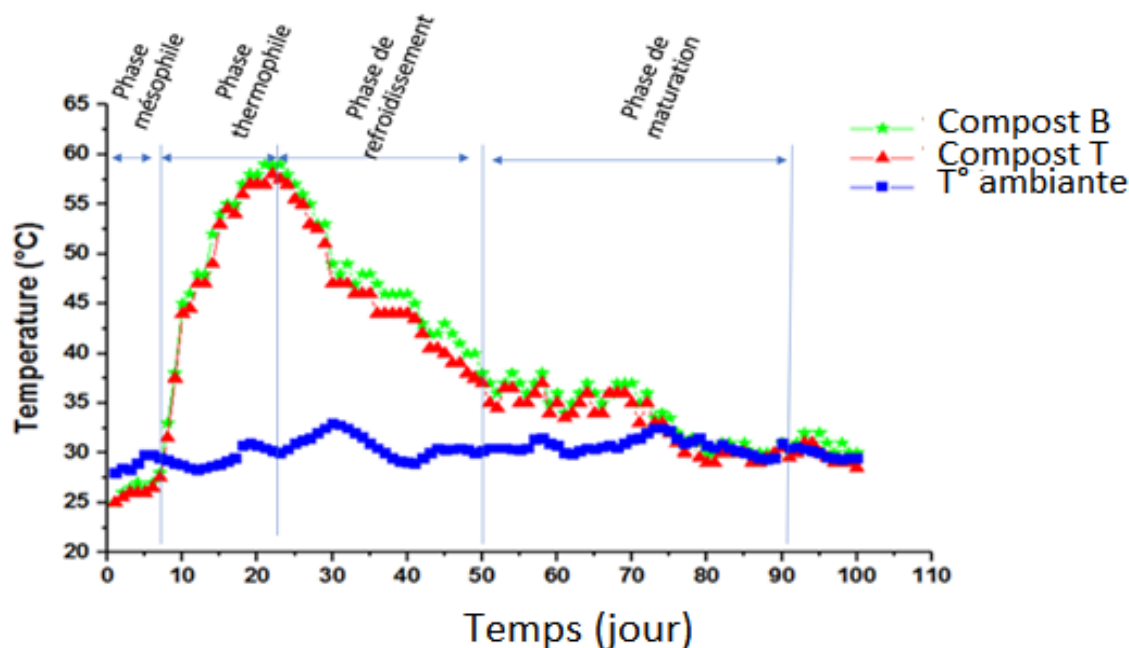


Figure 40 : Evolution de la température des mélanges T et B au cours du processus de compostage

Selon la figure 40, la phase initiale est la phase mésophile du compostage où la matière première est envahie par des microorganismes mésophiles (bactéries et champignons), qui absorbent des molécules simples constituant le mélange telles que les sucres simples, les acides aminés, les alcools...et transforment une partie des polymères : protéines, acides nucléiques, amidon,

pectine, hémicellulose, cellulose, etc. Leur activité a engendré une élévation de température de 25 °C à 28 °C pour les deux mélanges T et B, la phase mésophile a duré près d'une semaine.

La phase thermophile est caractérisée par une augmentation de la température jusqu'à environ 59 °C pour les deux mélanges et a duré presque 16 jours pour B et 13 jours pour T. En effet, l'augmentation de la température est le résultat, d'une part, d'une activité microbienne intense qui résulte de la dégradation des molécules simples présentes dans les substrats ; et d'autre part, de l'inertie de la masse du compost, qui lui donne un pouvoir auto-isolant et maintient une température élevée à l'intérieur de l'andain.

La phase de maturation se distingue par une diminution de la température ambiante dans les deux andains où la flore microbienne est dominée par les organismes mésophiles. La baisse de température est due à l'appauvrissement du milieu en composés organiques facilement métabolisables ; et à la persistance de composés résistants à la dégradation (lignine, cellulose ...). Elle est dominée par les réactions d'humification qui consistent en la polymérisation des composés organiques vers des composés plus stables appelés " Humus " (Lahlou et al., 2017). La maturation des deux composts T et B a duré 3 semaines et a commencé à se stabiliser à partir de la 7^{ème} semaine ; Au-delà de la 11^{ème} semaine, les deux composts sont stables et matures.

Tableau 32 : Test de Student pour les profils de température des deux mélanges T et B

Température	Différences appariées				T	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95 % de la différence			
				Inférieure Supérieure			
Compost_B - Compost_T	0,9000	0,7121	0,1839	0,5056 1,2944	4,895	14	0,000

L'analyse statistique des résultats de l'évolution de la température en fonction du temps des deux composts dénote une légère différence entre le profil de température des andains B et T, confirmée par le test de Student ($p < 0,05$) (tableau 32). Ceci montre l'apport des boues à la composition du mélange ; notamment lorsqu'il s'agit de grandes quantités.

IV.2. pH

Au cours du processus de Co-compostage, la valeur du pH pour les deux mélanges T et B s'est stabilisée autour de la neutralité entre 7,2 et 7,3 pendant la 1^{ère} semaine (figure 42). Une légère diminution du pH a été notée pour le compost témoin dans la deuxième semaine. Elle s'explique par la production d'acides et la dissolution du carbone organique dans le milieu où se produit la dégradation des molécules simples de glucides et de lipides. L'augmentation du pH de 6,8 à

7,25 pour le mélange B et de 6,9 à 7,33 pour le témoin Test due à l'ammonification et à la production d'ammoniac à partir de la dégradation des amines (protéines, bases azotées, etc.), et pourrait également due à la libération des bases existantes dans les déchets organiques. Une augmentation du pH indique aussi une dégradation des acides organiques ou une oxydation des composés phénoliques (Gigliotti et al., 2012). Le pH se stabilise à partir de la 8^{ème} semaine pour les deux composts T et B. Cela signifie que les boues utilisées n'ont presque pas d'effet sur la fonction des microorganismes thermophiles pour la dégradation des amines. Enfin, la stabilisation du pH, autour de 7 pour les deux composts, prouve le pouvoir tampon de l'humus pendant la maturation.

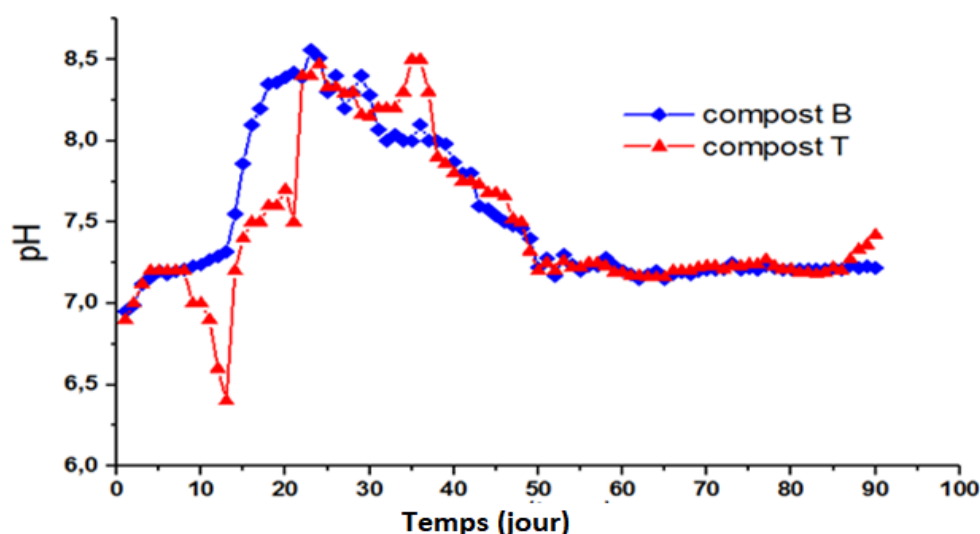


Figure 41: Evolution du pH au cours du processus de compostage des mélanges T et B

Tableau 33: Comparaison des moyennes du pH des mélanges T et B par le test de Student

Ph	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart- type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Compost_B - Compost T	0,1507	0,3438	0,0888	-0,0397	0,3411	4,697	14	0,002

La comparaison entre les deux profils du pH (tableau 33) montre une différence significative du pH ($p < 0,05$) entre l'andain B et T. Cela pourrait être dû à la nature des substrats initiaux compostés et les effluents utilisés pour l'humidification des andains.

IV.3. Conductivité électrique

La figure 42 illustre l'évolution de la conductivité électrique (CE) des mélanges T et B en fonction du temps de leur transformation. Le dépouillement des deux courbes relate que la CE des deux mélanges T et B augmente progressivement jusqu'à la 2^{ème} semaine puis se stabilise

pendant la 3^{ème} semaine. Au-delà, la CE diminue de 20% pour le mélange T et de 40 % pour B jusqu'à la 6^{ème} et 9^{ème} semaine respectivement.

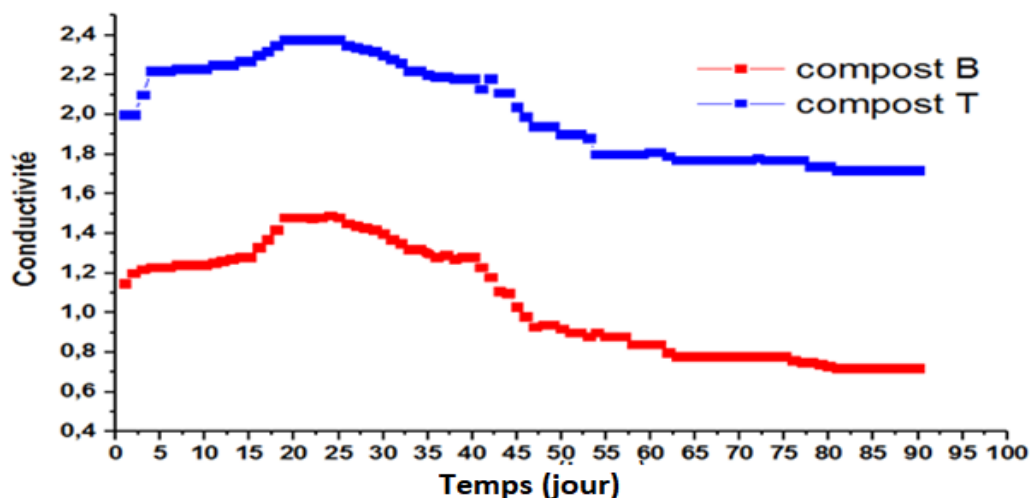


Figure 42 : Evolution de la conductivité électrique au cours du processus de compostage

Dans la phase de maturation, la conductivité du compost T tend à diminuer et à se stabiliser à $1,72 \text{ mS.cm}^{-1}$. Alors que celle du compost B, elle a été stabilisée à une valeur de $0,72 \text{ mS.cm}^{-1}$ à la fin du processus de compostage. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que le compost B est riche en éléments fermentescibles qui dégagent plus de chaleur par unité de masse et inhibe légèrement l'activité des microorganismes en raison de la réduction de l'espace dans le compost. Les valeurs obtenues de la conductivité à la fin du processus de compostage prouvent l'excès d'aération du compost ; ce qui a influé sur la concentration des sels et la conductivité. Selon la norme de qualité d'un compost mature, la limite maximale autorisée de la CE est de 4000 mS/cm (Abu Khayer Md et al., 2013). Cela signifie que les composts B et T pourraient être appliqués comme un amendement organique à diverses cultures.

L'analyse statistique (tableau 34) confirme aussi les résultats obtenus et révèle une différence significative entre les deux profils de l'évolution de la CE.

Tableau 34 : Comparaison des moyennes des conductivités des mélanges T et B par le test de Student

Conductivité	Différences appariées					T	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart- type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Compost_B - Compost_T	-0,9220	0,0592	0,0153	-0,9548	-0,8892	-60,334	14	0,000

IV.4. Rapport C/N

La figure 43 représente l'évolution du rapport C/N des mélanges T et B en fonction du temps. L'évolution de ce rapport est directement liée à la biodégradation de la matière organique et du changement de la couleur des mélanges vers celle de la terre, ce qui entraîne une diminution du taux de carbone total associée à l'augmentation de la concentration d'azote.

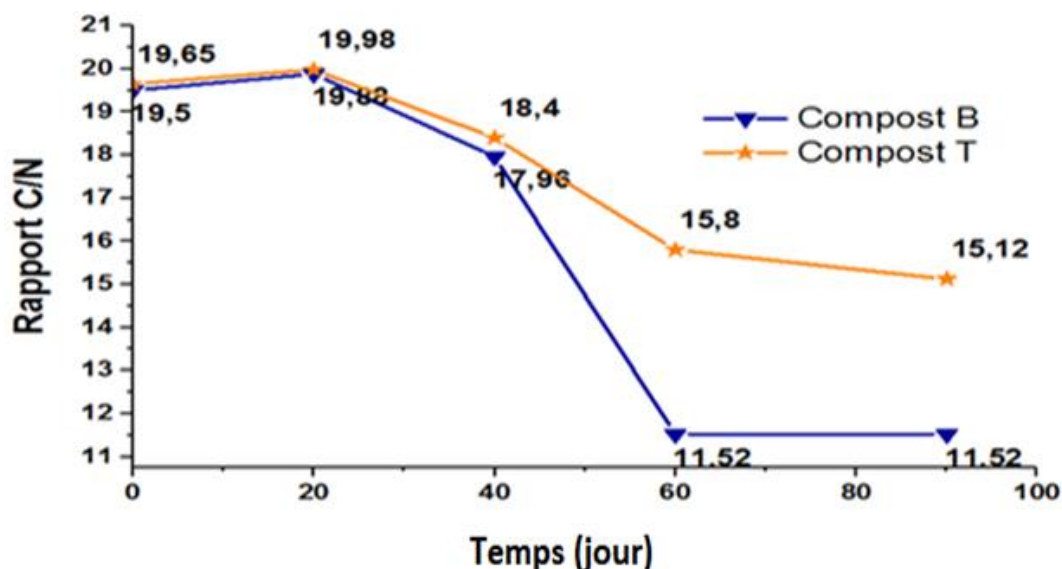


Figure 43 : Evolution du rapport C/N au cours du processus de compostage des mélanges T et B

Le rapport C/N à la fin du co-compostage est de 15,12 et 11,52 pour les composts T et B respectivement (Figure 43). Ce qui montre une bonne maturité des deux composts obtenus après 3 mois. La différence entre les rapports C/N des deux composts justifie la bonne minéralisation des composés du compost à boues grâce à la biodégradation accélérée du carbone organique. Cette variation pourrait aussi être due d'une part à la nature des molécules d'azote et de leur capacité à être minéralisées et d'autre part à la nature des composés carbonés présents dans les substrats à composter (Altieri et al., 2011 ; Lahlou et al., 2017).

Tableau 35 : Comparaison des moyennes du rapport C/N des mélanges T et B par le test de Student

C/N		Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
		Moyenne	Ecart- type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
					Inférieure	Supérieure			
	Compost_B - Compost_T	-1,7187	1,8963	0,4896	-2,7688	-,6685	-3,510	14	0,003

Une différence significative a été observée entre les différents profils de l'évolution du rapport C/N et entre les deux mélanges pour les teneurs et pour le taux comme l'indique le test de Student (tableau 31).

V. Matière organique

La figure 44 représente l'évolution des taux de la matière organique des 2 mélanges T et B en fonction du temps.

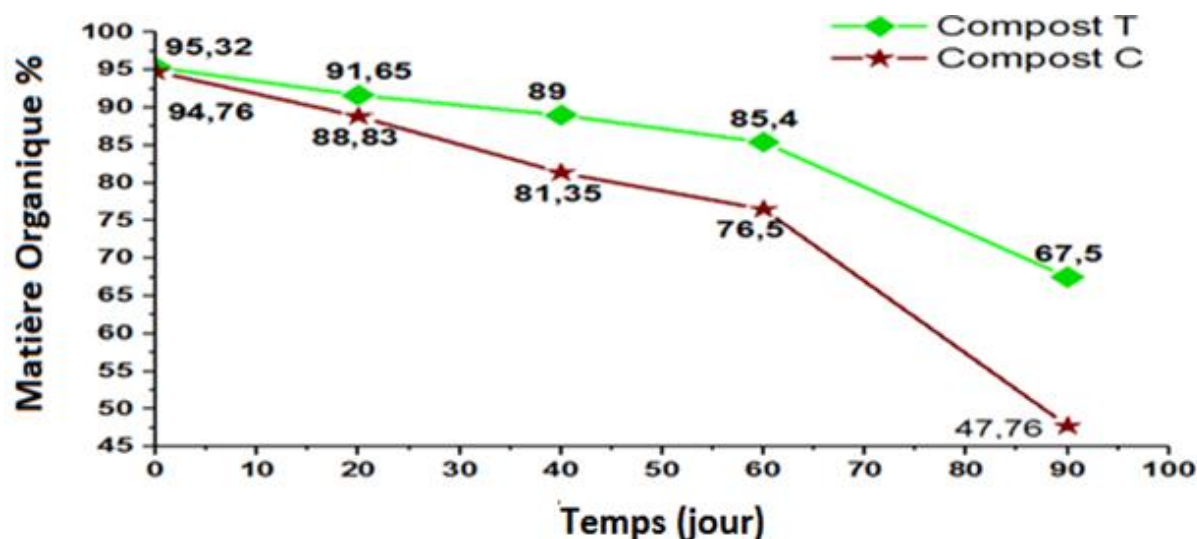


Figure 44 : Dégradation de la matière organique des mélanges T et B au cours du processus de compostage

L'analyse des résultats montre que les deux andains se caractérisent initialement par un taux élevé de matière organique qui avoisine 95 %. Au cours du processus du compostage, ce taux a diminué progressivement jusqu'au 60^{ème} jour avec un pas près de 3 % pour le mélange T et de 7% pour le mélange B. Cette dégradation est mise en évidence lors du compostage par une perte de masse des mélanges initiaux et une réduction manifeste des volumes de déchets co-compostés. Au cours du dernier mois d'évolution, la dégradation de la matière organique a été très rapide et a décru de 18% et 29% pour les mélanges T et B respectivement. La différence s'explique la grande activité microbienne des résidus des boues permettant la transformation rapide de la matière organique en substances humiques stables. La faible perte de la MO observée pour le témoin pourrait être liée à la présence de composés organiques relativement stables (Michailides et al., 2011; Tortosa et al., 2012).

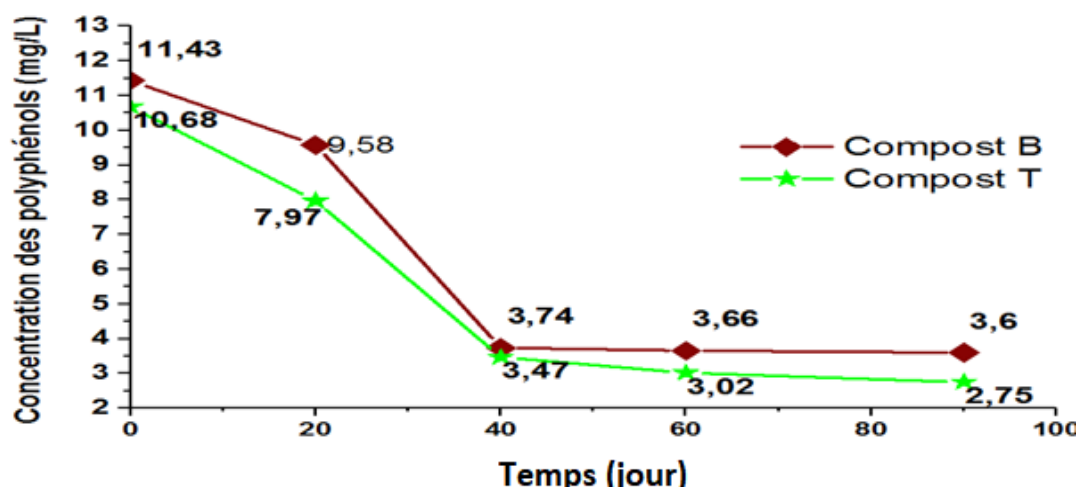
Tableau 36 : Comparaison des moyennes de la MO des mélanges T et B par le test de Student

MO	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart- type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Compost_B - Compost T	-7,9347	6,8798	1,7764	-11,7446	-4,1248	-4,467	14	0,001

Une différence significative est observée entre les profils de l'évolution des taux de la matière organique des deux mélanges comme l'indique le test de Student (tableau 36). Ce qui nous a permis de déduire que la dégradation de la matière organique au cours du processus de co-compostage dépend principalement de la nature et de la composition des déchets co-compostés.

V.1. Composés phénoliques

Le suivi de la dégradation des composés phénoliques au cours du processus de compostage a été réalisé pour évaluer la phytotoxicité des mélanges T et B en fonction du temps. La figure 45 représente la dégradation des composés phénoliques au cours du processus de co-compostage dans les deux andains. L'examen des deux courbes révèle une forte diminution de la concentration en composés phénoliques au cours de la première phase de compostage qui a été accentuée pendant la phase thermophile, près de 68 % pour les deux mélanges. A la fin du processus de compostage, une diminution de 70 % et de 75 % des composés phénoliques enregistré pour respectivement les mélanges B et T. Ces résultats pourraient être attribués à l'activité des microorganismes au cours du processus de co-compostage principalement de la flore indigène durant les phases mésophile et thermophile.

**Figure 45 : Evolution des polyphénols des mélanges T et B au cours du processus de compostage**

D'après Abu Khayer et ses collaborateurs (2013), les champignons sont les principaux agents de la dégradation des polyphénols dans le compost car ils utilisent la polyphénoloxydase, en particulier pendant la phase thermophile. Cependant, ils ont découvert que la polyphénoloxydase pourrait également être active pendant la phase initiale d'activation du compostage ou après la phase thermophile. Ces auteurs ont aussi signalé la capacité des enzymes oxydoréductrices, y compris les laccases, les peroxydases et les tyrosinases, à éliminer les composés polyphénoliques des margines par polymérisation et réactions d'oxydation. Par conséquent, les enzymes oxydoréductrices des microorganismes ou des tissus végétaux agissent sur les composés phénoliques pour produire des substrats très réactifs qui réagissent entre eux ou avec d'autres substrats, comme les sucres, les protéines et les acides gras, et entraînent la formation de substances comparativement moins toxiques et biodisponibles. Par conséquent, la réduction de la concentration des polyphénols observée lors du compostage est probablement couplée à la formation de substances humiques (HS), qui regroupe à la fois des réactions de dégradation et de condensation. Il convient de noter que le mécanisme précis de l'humification reste en grande partie inconnu, bien que l'on suppose que les monomères sont convertis en polymères ayant un poids moléculaire élevé et une faible solubilité et que ces polymères sont très résistants à la dégradation biologique (AitBaddi et al., 2009).

Tableau 37 : Comparaison des moyennes dégradation des polyphénols des mélanges T et B par le test de Student

Polyphénols	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Compost_B - Compost_T	0,8257	0,4577	0,1182	0,5723	1,0792	6,987	14	0,000

Aucune différence significative n'est observée entre les différents profils de l'évolution de la dégradation des polyphénols comme l'indique le test de Student (tableau 37).

V.2. Maturité et qualité des composts T et B : Indice de germination

Au cours du processus de compostage, la phytotoxicité des mélanges étudiés a été évaluée par le contrôle de l'indice de germination du cresson en fonction du temps.

Il a été observé que pour les 40 premiers jours (figure 46), l'IG est relativement faible, reflétant un compost non mature. Cette période de compostage coïncide aux phases mésophile et thermophile au cours des quelles se produisent la dégradation de la matière organique et le

dégagement des acides organiques à faibles poids moléculaires. Au cours de ces phases existent des concentrations élevées en ammoniacque et en polyphénols, considérées comme des substances phytotoxiques inhibant la germination des graines.

A partir du 2^{ème} mois de compostage, l'indice de germination a augmenté progressivement. Il indique la réduction des composés toxiques et la formation des substances humiques stables, pendant la phase de refroidissement. La valeur finale de l'IG est d'environ 99 % pour le compost B reflétant sa maturité et l'absence de la phytotoxicité (Sellami et al., 2008; Zhang et al., 2014; Cui et al., 2017).

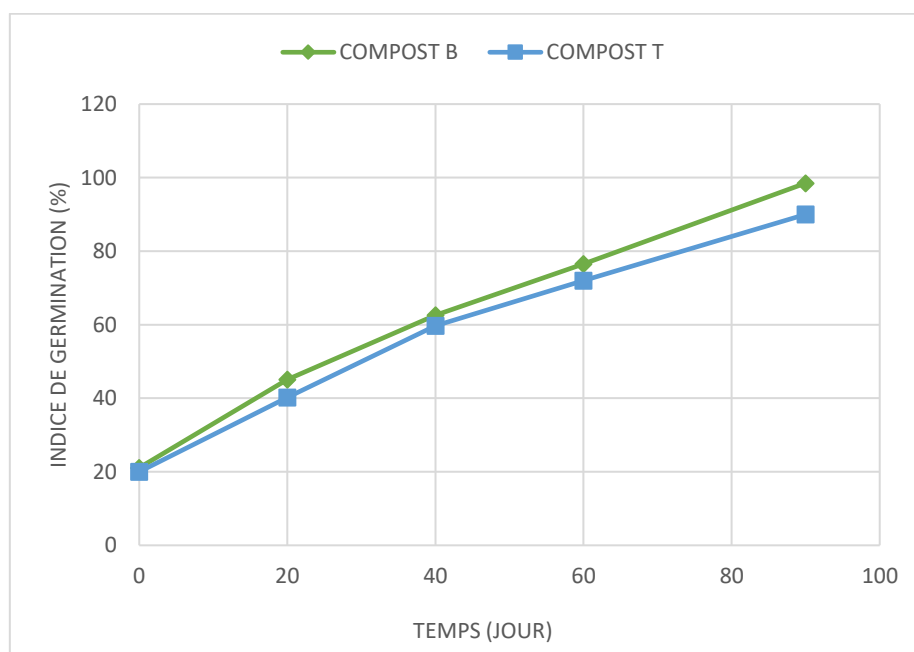


Figure 46 : Indice de germination du cresson imbibé par les mélanges T et B

V.3. Substances humiques

La présence des substances humiques dans les mélanges T et B a été évaluée par mesure des rapport E2/E3, E2/E4 et E4/E6 en fonction du temps.

V.3.1. Rapport E2/E3

Le rapport E2/E3 est lié à la taille moléculaire et au degré d'aromaticité de la matière organique. Il augmente quand l'aromaticité et la taille moléculaire des substances humiques diminuent (Rigobello et al., 2017).

Une augmentation du rapport E2/E3 des deux mélanges a été observée jusqu'à la 3^{ème} semaine (Figure 47) puis il a diminué légèrement jusqu'à la 6^{ème} semaine pour le mélange B. Au delà, ce rapport a augmenté légèrement jusqu'à la fin du compostage. Les valeurs finales expliquent une diminution de la taille moléculaire des substances humiques observée notamment pour le compost B.

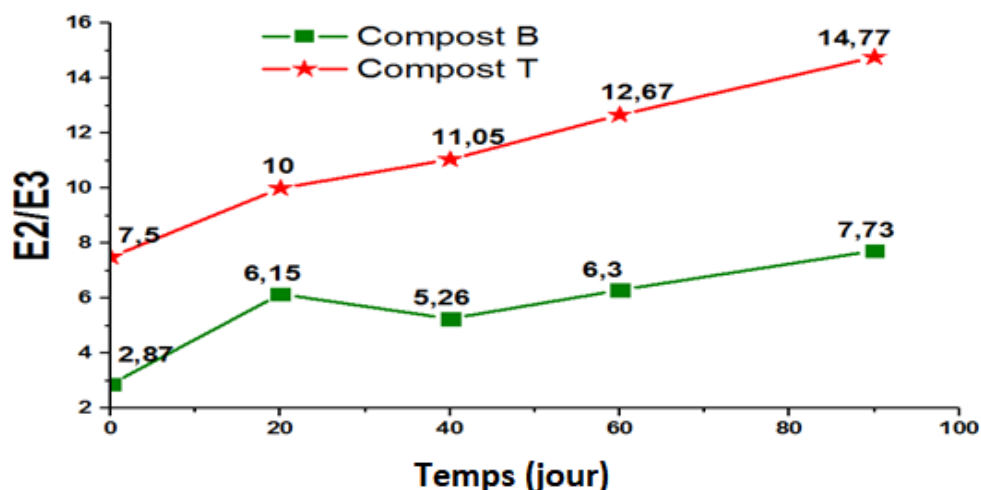


Figure 47 : Rapport E2/E3 au cours du processus de co-compostage des mélanges T et B

V.3.2. Rapport E2/E4

L'indice E2/E4 est un indicateur des proportions relatives à la présence de la lignine (Guo et al., 2017). Il indique la relation entre les molécules organiques faiblement et partiellement humidifiées (Cerdán et al., 2016).

Après une forte augmentation du rapport E2/E4 les 3 premières semaines de co-compostage, il a diminué dans le compost B (figure 48) à cause probablement d'une dépolymérisation intense et une dégradation des composés phénoliques (Lim et Wu, 2015). Après la 9^{ème} semaine, ce rapport a légèrement augmenté, ce qui explique la formation des substances humiques (Guo et al., 2017).

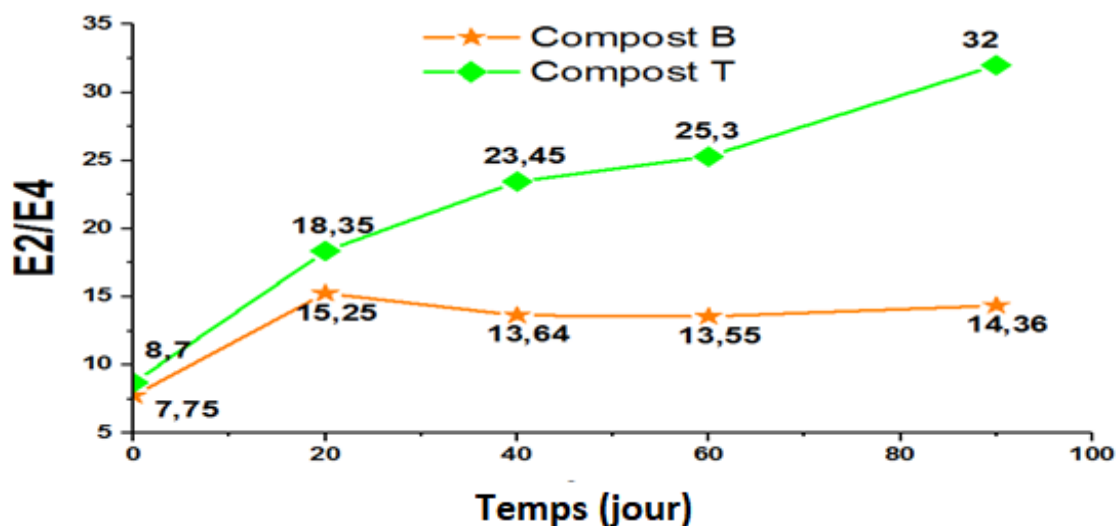


Figure 48 : Rapport E2/E4 au cours du processus de co-compostage des mélanges T et B

V.3.3. Rapport E4/E6

Le rapport E4/E6 est un paramètre lié au degré d'humification. Une valeur inférieure à 5 pour le matériau humifié indique la prédominance des acides humiques (Bhat et al., 2017) et une valeur supérieure à 5, témoigne la prédominance des acides fulviques. En effet, le rapport fournit des informations sur la taille et le poids moléculaire pour E4 et le degré de condensation aromatique et de polymérisation pour E6 (fuentes et al., 2016).

Pendant les 21 premiers jours du compostage des eux mélanges (figure 49), E4/E6 a augmenté, puis a diminué chez le compost B en raison de l'humification des matières organiques et de la synthèse des substances humique. Après 40 jours de compostage, ce rapport a de nouveau augmenté pour finir par diminuer à la fin du processus et atteint une valeur de 2, supérieure à celle obtenue pour le compost témoin. Ceci explique que le compost B est le plus mature et contient des substances humiques plus complexes.

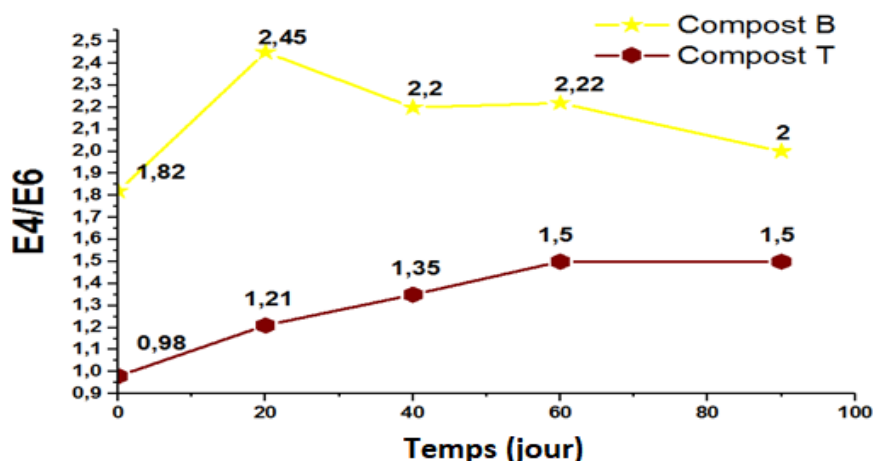


Figure 49 : Rapport E4/E6 au cours du processus de co-compostage des mélanges T et B

VI. Analyse en composantes principales des paramètres de contrôle des composts T et B

Pour étudier l'influence des paramètres physico-chimiques de contrôle des mélanges B et T sur l'évolution du processus de co-compostage, une analyse de corrélation en composantes principales entre ces paramètres a été établie. Cela permettra de dégager les principaux facteurs qui influencent le processus.

La corrélation entre les résultats des paramètres physico-chimiques pendant le processus de compostage a été établie sur une matrice (Tableau 38). Les résultats révèlent une corrélation positive et importante entre la température et le pH pour les deux mélanges et aussi entre les rapports E2/E4 et E4/E6. Pourtant, au cours des premières phases du processus de Co-compostage (mésophile et thermophile), l'activité intense des microorganismes entraîne une

augmentation de la température accompagnée d'une minéralisation de la matière organique et une libération des acides organiques et des sels minéraux se traduisant par un changement de pH du milieu d'où les corrélations observées entre la température et le pH.

Aussi, nous constatons une corrélation significative entre MO, le rapport C/N et la dégradation des composés phénoliques. Cela est dû au fait que l'activité des microorganismes lors du processus de co-compostage conduit à une diminution du taux de carbone associée à l'augmentation de la concentration en azote entraînant ainsi la réduction du rapport C/N et la biodégradation de la matière organique. Cette activité contribue aussi à la réduction des taux des composés phénoliques contenus dans les mélanges.

D'autre part, une forte corrélation négative est notée entre l'indice de germination et le rapport E2/E3 montrant que cet indice dépend principalement des taux des composés phytotoxiques. Ces résultats permettent de confirmer les hypothèses supposant la présence des acides organiques, dus à la biodégradation de la matière organique au cours des premières phases de co-compostage qui inhibent la germination des graines et la croissance des plantes et que les fortes concentrations en composés phénoliques présentent un effet phytotoxique.

Tableau 38 : Matrice de corrélation entre les différents paramètres de contrôle du processus de co-compostage et l'indice de germination pour des mélanges T et B

	T°	pH	CE	C/N	MO	POLYPHENOL	IG	E2/E3	E2/E4	E4/E6
T°	1									
pH	0,986**	1								
CE	0,705**	0,729**	1							
C/N	0,443	0,493	0,941**	1						
MO	0,289	0,254	0,791**	0,812**	1					
POLYPHENOL	0,059	0,082	0,630*	0,771**	0,717**	1				
IG	-0,101	-0,109	-0,750**	-0,875**	-0,927**	-0,893**	1			
E2/E3	0,248	0,235	-0,482	-0,686**	-0,814**	-0,693**	0,898**	1		
E2/E4	0,667**	0,645**	-0,047	-0,338	-0,479	-0,582*	0,666**	0,876**	1	
E4/E6	0,695**	0,649**	0,332	0,088	0,100	-0,128	0,100	0,339	0,601*	1

CORRELATION DE PEARSON

L'analyse en composantes principales (ACP) montre que seule deux composantes de l'ACP expliquent la quasi-totalité de l'information ou de la variabilité (Figure 50).

La projection sur le plan de ces variables (Figure 50), donne une affinité des variables le long de chaque axe et elle fait ressortir trois groupes :

- Le groupe 1 porté positivement sur l'axe 1 montre que la conductivité électrique, la matière organique, le rapport C/N, les composés phénoliques varient dans le même sens.

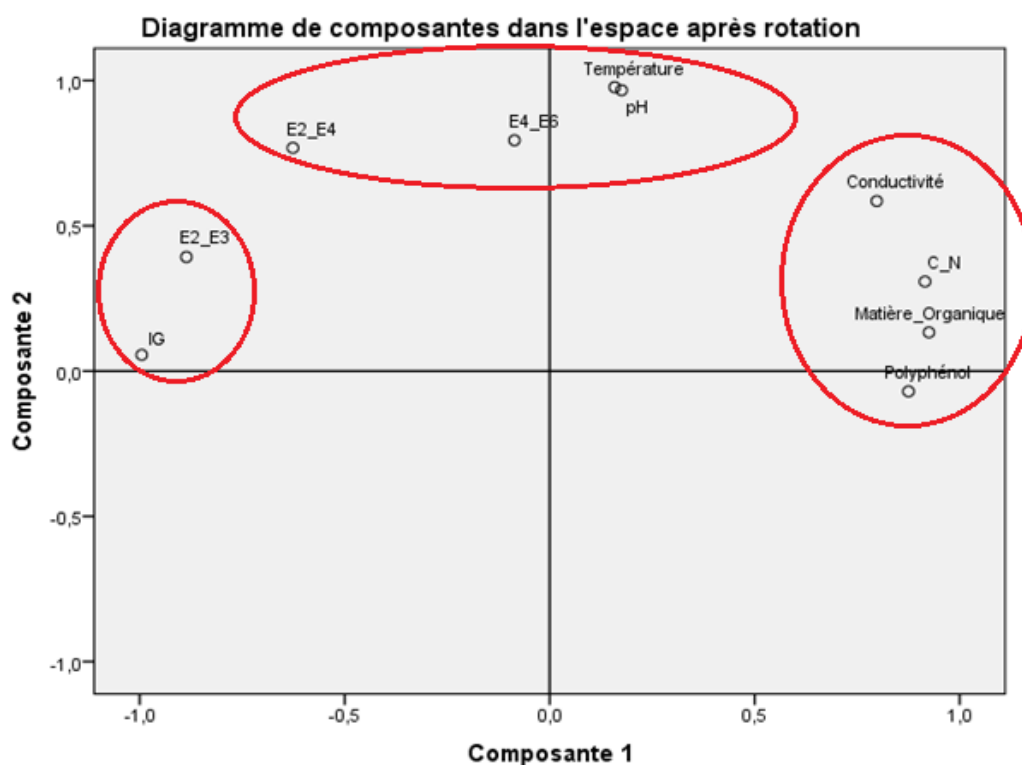


Figure 50 : Analyse en composantes principales des paramètres de contrôle des mélanges T et B au cours du processus de co-compostage

- Le groupe 2 situé sur la partie positive de l'axe 2, est formé de la température, du pH, E2/E4 et E4/E6.
- Le groupe 3 s'oppose au groupe 1 puisqu'il est porté négativement sur l'axe 2 et renferme l'indice de germination et E2/E3.

L'Analyse en Composantes Principales justifie les résultats de corrélation et nous a permis de conclure que le rapport C/N, la dégradation de la matière organique et les composés phénoliques ont une importante influence sur le processus de co-compostage et donc de la qualité de compost produit, en plus de pH et de la température.

VII. Caractérisation des composts T et B matures

La maturité d'un compost se décrit par la mesure de plusieurs paramètres physico-chimiques, bactériologiques et phytotoxiques qui doivent se stabiliser en restant constant après une période bien déterminée de compostage des substrats. Aussi, un compost immature peut contenir des quantités excessives d'ammoniac libre, d'acides organiques particuliers ou d'autres composés hydrosolubles notamment les éléments traces métalliques qui peuvent empêcher ou retarder la germination des graines et le développement des racines (Abu Khayer et al. ; 2013). De ce fait, les composts qui vont être appliqués aux terres agricoles devront être exempts de toute substance potentiellement phytotoxique.

Concernant la qualité et les tests de stabilité des composts B et T matures, ils ont été évalués par mesure des paramètres physico-chimiques (pH, conductivité et le rapport C/N), des éléments minéraux fertilisants (N, P, K, Mg, Ca, Fe, Na et Mn) et des éléments traces métalliques (Al, Cd, Ni, Cr, Cu et Zn) (tableau 39).

Tableau 39 : Caractérisation physico-chimique des composts T et B matures

Paramètres	COMPOST T	NORMES NFU44-051 (LIMITS)	COMPOST B	NORMES NFU44-095 (LIMITS)
pH	7,2	ND	7,3	ND
Conductivité (mS.cm-1)	0,72	ND	1,72	ND
C/N ratio	15,12	>8	11,52	>8
Eléments minéraux et fertilisants (g/kg)				
P	1.3893	ND	0.5212	ND
K	3.4896	ND	1.0533	ND
Mg	3.7072	ND	0.7635	ND
Ca	20.527	ND	4.4835	ND
Fe	2.4358	ND	0.5379	ND
Na	1.2209	ND	0.4628	ND
Mn	0.1626	ND	0.0701	ND
Métaux lourds (mg/kg)				
Al	3.2400	18	0,5930	18
Cd	0,0851	3	0,0851	3
Ni	0,1179	62	0,1132	60
Cr	0,0388	120	0,0306	120
Cu	0,0445	300	0,0343	300
Zn	< 0,01	500	< 0,01	600

La comparaison de la composition des composts T et B avec les normes françaises NFU44-051 et NFU44-095 révèle qu'après 3 mois de co-compostage des résidus des boues de traitement ou valorisation des margines, les produits obtenus pourraient être utilisés comme amendement organique aux terres agricoles sans aucun risque de contamination système/plante conformément aux normes suscitées. Les composts ainsi produits pourraient être classés dans la catégorie A des composts (Compaoré et al., 2010).

En effet, la diminution de leur charge métallique pourrait être d'une part, le résultat de la lixiviation de ces métaux par l'eau produite lors de la dégradation de la matière organique et par la lixiviation lors de l'humidification des andains ; d'autre part, de la solubilisation et/ou la transformation de ces éléments en une autre forme moins toxique à cause de la variation du pH

et de la conductivité du milieu au cours du processus de compostage. En outre, la diminution du taux des métaux lourds pourrait être fortement liée à une décomposition de la matière organique pendant la phase thermophile et que ces derniers précipitent et deviennent immobiles en présence des carbonates. En général, les métaux lourds sont immobilisés par adsorption sur la matière organique ce qui décrit leur concentration (Compaoré et al., 2010).

Par ailleurs, la présence du phosphore, calcium, magnésium, fer et sodium dans l'amendement organique a un rôle très important dans la croissance de la plante. Le phosphore favorise la vigueur au démarrage et stimule la croissance du système racinaire qui va plus rapidement explorer les réserves en phosphore du sol. Les racines des plantes absorbent le phosphore sous forme d'ions phosphoriques H_2PO_4^- ou HPO_4^{2-} . Quant au calcium, il facilite le travail du sol et la pénétration des racines. Il agit aussi sur la structure et sur sa stabilité en favorisant l'humidification et la stabilisation du complexe argilo-humique. Le calcium régularise le pH des sols et favorise les échanges des ions. Pour le magnésium, il pourrait exister sous forme de carbonate ou de sulfate et il est assimilé sous forme d'ions Mg^{2+} . Le magnésium permet aux plantes de fixer le gaz carbonique de l'air et de le transformer en sucres. Avec le potassium, le magnésium contribue à la neutralisation des acides organiques. Il intervient aussi dans de nombreuses réactions enzymatiques concernant le métabolisme des sucres. Avec le calcium, il entre dans les parois cellulaires dont il contribue à assurer la stabilité. La présence du fer et du manganèse dans les amendements facilite la photosynthèse. Ce sont des composants essentiels de nombreuses enzymes, concernant la synthèse des protéines, particulièrement de la chlorophylle. Un autre rôle particulier du manganèse et du fer est associé respectivement à la dernière étape de réduction du nitrate dans les feuilles, et à la fixation d'azote de l'air par la symbiose. Leur carence induit une forte chlorose (jaunissement des feuilles). Le sodium régule l'eau de la plante, comme le potassium, il a un effet sur la croissance, le développement et la productivité.

Pour le compost témoin, le seul élément métallique ayant une concentration légèrement élevée par rapport à tous les autres éléments présents est l'aluminium (3,24 g/Kg), valeur très inférieure à celle fixée par la norme NFU 44-051.

VIII. Pouvoir antifongique des jus des composts T et B

VIII.1. Cas du champignon *Penicillium digitatum*

La figure 51 illustre l'activité antifongique des jus de composts T et B contre le champignon *Penicillium digitatum*.

Les résultats obtenus attestent une activité antifongique contre ce champignon remarquable pour les jus des composts B et T (figure 54). Plus la concentration du jus des deux composts augmente plus l'effet antifongique augmente. Cependant, la meilleure inhibition a été notée chez le compost T.

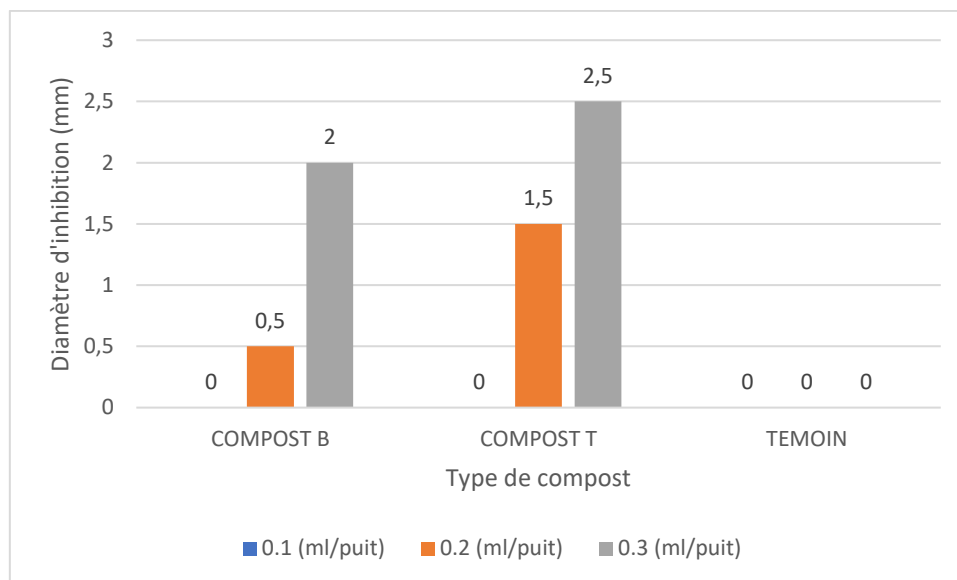


Figure 51: Pouvoir antifongique des jus des composts sur la croissance de *Penicillium digitatum*

L'application des jus de compost réagit en inhibant la croissance mycélienne du champignon et aussi en changeant son aspect dû à son stress (Figure 52).

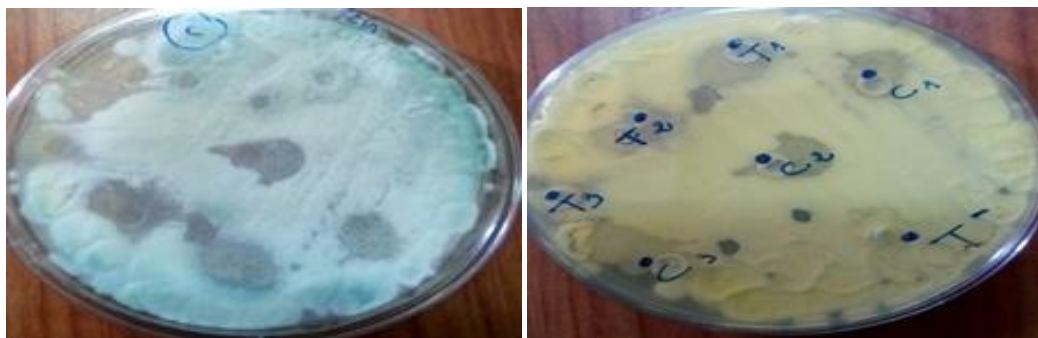


Figure 52 : Effet de différentes concentrations des jus des composts T et B sur la croissance du champignon *Penicillium digitatum*

C1 : 0,1 mL/puit du compost B
 C2 : 0,2 mL/puit du compost B
 C3 : 0,3 mL/puit du compost B
 T : 0,3 mL/puit de l'eau distillée

T1 : 0,1 mL/puit du compost T
 T2 : 0,2 mL/puit du compost T
 T3 : 0,3 mL/puit du compost T

VIII.2. Cas du champignon *tavelure de pecher*

Le pouvoir antibactérien des jus des composts a été aussi testé sur *le champignon tavelure de pecher*. Ce test montre que l'ensemble des jus appliqués contre l'activité fongique de *tavelure de pecher* (Figure 53) ont réagi favorablement. Cependant, ils diffèrent entre eux par le diamètre des zones d'inhibition. Un diamètre assez élevé a été noté chez le jus de compost T pour deux concentrations (0,2 et 0,3 mL/puit), dû fort probablement à la nature des déchets compostés.

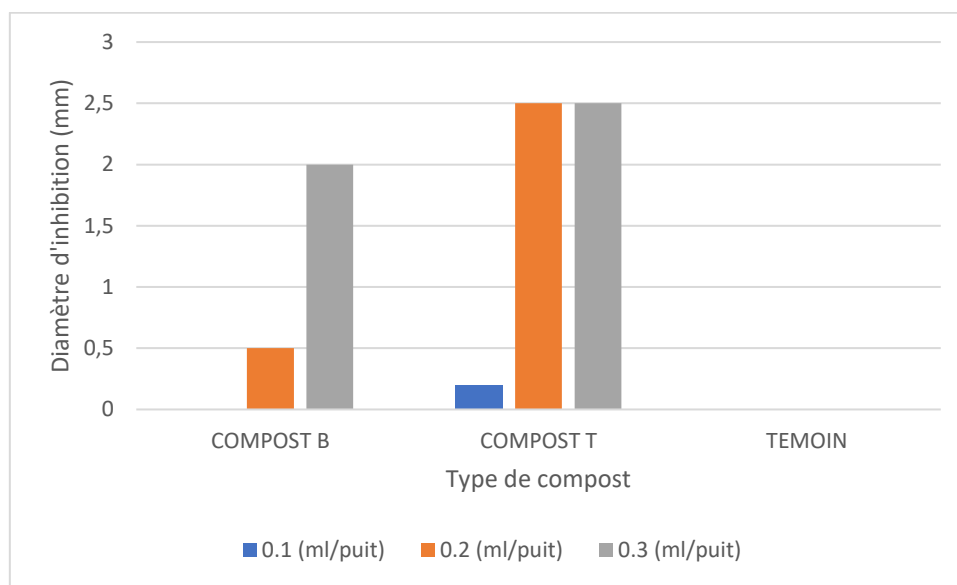


Figure 53 : Pouvoir antifongique des jus des composts sur la croissance de *Tavelure de pecher*

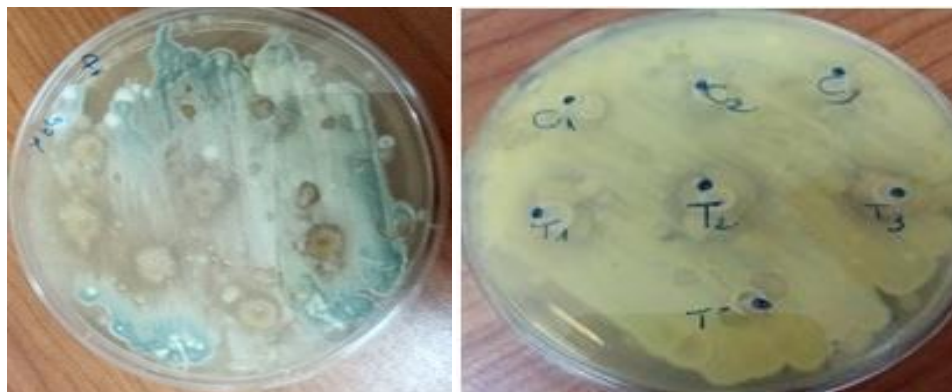


Figure 54 : Effet de différentes concentrations des jus des composts T et B sur la croissance du champignon *Tavelure de pecher*

C1 : 0,1 mL/puit du compost B
 C2 : 0,2 mL/puit du compost B
 C3 : 0,3 mL/puit du compost B
 T : 0,3 mL/puit de l'eau distillée

T1 : 0,1 mL/puit du compost T
 T2 : 0,2 mL/puit du compost T
 T3 : 0,3 mL/puit du compost T

IX. Conclusion

Les boues digérées de la biométhanisation des margines et de leur traitement se sont caractérisées par leur richesse en matière organique et en azote, leur rapport C/N élevé et leur faible charge en éléments toxiques (éléments traces métalliques). Ceci a préconisé leur valorisation dans la filière de compostage avec d'autres substrats (déchets des plantes aromatiques et médicinales, déchets organiques ménagers et fientes de volailles).

Conformément à la norme des boues à appliquer dans la filière de compostage, deux mélanges de substrats et de compositions différentes ont été réalisés, l'un avec des boues (B) et l'autre sans boues (T) constituant le témoin. Les mélanges des substrats initiaux à $t = 0$ pour la production des composts B et T sont légèrement basiques, riches en carbone, en azote et en matière organique. Le suivi du processus de compostage a été réalisé par des mesures hebdomadaires de température, pH, conductivité, matière organique, carbone et azote pendant 3 mois. La phase mésophile des deux composts B et T a été obtenue après une 1 semaine. La phase thermophile a eu lieu au 16^{ème} jour pour le compost B et au 13^{ème} jour pour le compost T. La maturation des deux composts a débuté à la 7^{ème} semaine. La présence de ce type de boues n'a presque pas d'effet sur le temps du compostage, mais a un effet sur la réduction du rapport C/N et de la matière organique et sur la composition du compost en éléments fertilisants (P, K, Mg, Ca, Fe, Na et Mn) et en composés humiques. De ce fait, son pouvoir antifongique contre les deux champignons *Penicillium digitatum* et *tavelure de pecher* est à moindre degré que celui du compost témoin.

Le compostage des boues est un traitement vraisemblablement intégral et efficace des boues. Il nécessite la définition d'une norme marocaine et de son application pour le développement de la filière.

CONCLUSION GENERALE

La présente étude avait pour objectif la valorisation intégrale des déchets oléicoles par deux procédés différents. Le premier concernait l'extraction optimale des polyphénols et valorisation des extraits dans la conservation du beurre. Le deuxième se focalisait sur la production du méthane par digestion anaérobie à partir des résidus de deux types de traitement physicochimiques des margines : électrocoagulation/adsorption et extraction des polyphénols.

Les boues résultantes de tous les traitements des margines ont été valorisées par la filière de compostage avec les déchets organiques ménagers, les déchets des plantes médicinales et les fientes de volailles.

Le procédé d'extraction des polyphénols des déchets oléicoles a été optimisé par le plan d'expériences. Plusieurs facteurs ont été étudiés ; type et volume de solvant, méthode d'extraction. Les conditions opératoires les plus prometteuses sont le solvant l'acétate d'éthyle avec une dose de V/V et sous l'effet d'ultrason. Les taux des composés phénoliques sont de 1,15mg/mg et 3,65 mg/mL pour respectivement les grignons d'olive et les margines. L'analyse des extraits phénoliques obtenues par la chromatographie en phase liquide HPLC couplée à la spectroscopie de masse a enregistré la présence de l'oleuropéine comme composé principale et l'a quantifié avec une concentration de 2,673 µg/g et de 45,508 µg/g dans les extraits phénoliques respectivement des grignons d'olives et des margines.

La suite de l'étude a été consacrée aux margines vue sa charge élevée en polyphénols.

Les extraits phénoliques des margines ont été appliqués pour tester leur pouvoir antibactérien sur 3 souches (*Staphylococcus aureus*, *Candida Albican* et *Escherichia Coli*) et leur pouvoir antioxydant sur la stabilité du beurre. Les résultats montrent qu'ils ont un effet antibactérien, antioxydant et conservateur du beurre avec une concentration optimale de 80 mg/kg de beurre pendant 45 jours à une température ambiante 25°C.

Les substrats générés après extraction des polyphénols des margines ont été valorisés par la digestion anaérobie pendant 43 jours pour produire le méthane qui était de 0,7 m³/tonne des margines. Les résultats ainsi obtenus ont été comparés à la biométhanisation des margines brutes et des margines traitées par électrocoagulation puis par adsorption et ont montré que le volume le plus élevé du biogaz produit est celui-ci de ce dernier résidu. Leur équivalent en énergie dans l'ordre croissant des substrats est : 3 < 7 < 8,5 Kwh/ tonne pour respectivement les margines brutes, les margines sans polyphénols, et les résidus de traitement des margines.

Economiquement, la biométhanisation des margines après récupération des polyphénols doit être considérée comme une option de gestion intéressante, qui permet d'obtenir un bénéfice économique important des antioxydants naturels et de l'énergie.

La caractérisation des boues générées par la biométhanisation des margines et de leur traitement dénote leur richesse en matière organique et en azote et leur faible concentration en éléments toxiques. Ce qui a préconisé leur valorisation dans la filière de compostage avec d'autres substrats (déchets des plantes aromatiques et médicinales, déchets organiques ménagers et fientes de volailles).

Deux andains ont été réalisés avec les mêmes substrats de départ avec des proportions bien étudiées : l'un sans boue qui a servi de témoin et l'autre avec boue des différents traitements des margines. Le suivi de la dégradation biologique des deux mélanges a été effectué par la mesure hebdomadaire des paramètres physico-chimiques (pH, conductivité électrique, température, rapport C/N et polyphénols), biologiques (test de phytotoxicité) et spectroscopiques pour évaluer la formation des composés humiques (E2/E3, E2/E4, E4/E6) jusqu'à leur maturation et stabilisation.

Après environ 3 mois de digestion, les produits obtenus sont riches en éléments fertilisants et ont une composition conforme aux normes françaises NFU 44-051 et NFU 44-095 relatives respectivement aux amendements organiques urbains et avec boues. Les deux composts se caractérisent par un rapport C/N de 11,52 pour le compost à boues contre 15,2 pour le témoin, une réduction des polyphénols de près 60 %. Ceci prouve que la présence de la boue parmi les substrats a augmenté les taux de dégradation de la matière organique, de polymérisation de l'acide humique et du degré de maturité.

L'Analyse en Composantes Principales a été réalisée pour montrer les corrélations entre les paramètres caractérisant les composts. Elle a montré que le rapport C/N, la dégradation de la matière organique et les composés phénoliques ont une importante influence sur le processus de co-compostage et donc de la qualité de compost produit, en plus de pH et de la température.

En plus des propriétés agronomiques positives des composts, les jus élaborés à partir des composts matures ont un pouvoir antifongique contre deux champignons (*Penicillium digitatum* et *tavelure de pecher*).

En guise de conclusion, les margines pourraient être traitées de façon intégrale. Après extraction des polyphénols, les margines pourraient être traitées par biométhanisation pour la production du méthane et donc de l'énergie. Les boues générées pourraient être co-compostées avec

d'autres substrats organiques biodégradables qui appoetent une valeur ajoutée suplimentaire sans risque d'impacts négatifs ni sur l'environnement ni sur la santé humaine.

Les résultats de cette étude pourraient constituer une base de donnée pouvant aider les autorités à développer des normes et des standards d'une part, de substitution des produits toxiques conservateurs d'aliments par des extraits phénoliques naturels des margines ; et d'autre part, d'utilisation des boues dans les composts pour l'amendement des sols en l'absence de normes marocaines spécifiques au domaine de l'utilisation de composts de diverses origines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Aberkane D., Azara A., Toudert A. Z., Chitour. Ch.Ed. (2015). Les biocarburants: Un potentiel à valoriser. 19ème Journée de l'Energie: Alger sous thème: Les ressources pétrolières au service du développement durable de l'Algérie.
- Abu Khayer Md.M.B.C., Christos S.A., Dimitrios V.V., Stavros P. (2013). Olive mill waste composting: A review. *International Biodeterioration&Biodegradation* 85.108e119.
- Aguilera M., Quesada M.T., Guerra delAguila V., Morillo JA., Rivadeneyra MA., Ramos-Cormenzana A., Monteoliva-Sanchez M. (2008). Characterisation of *Paenibacillus jamilaes* trains that produce exopolysaccharide during growth on and detoxification of olive millwastewaters. *BioresourceTechnol*, 99 :5640–4.
- Ait Baddi G., Cegarra J., Merlina G., Revel J.C., Hafidi M. (2009). Qualitative and quantitative evolution of polyphenolic compounds duringcomposting of an olive-mill waste-WS mixture. *Journal of Hazardous Materials* 165, 1119e1123.
- Akar T., Tosun I., Kaynak Z., Ozkara E., Yeni O., Sahin E.N., Akar S.T. (2009). An attractive agro-industrial by-product in environmental clean up: Dyebiosorption potential of untreated olive pomace. *J Hazard Mater*. 166 :1217–25.
- Altieri R., Esposito A., Nair T., (2011). Novel staticcompostingmethod for bioremediation of olive mill waste. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65, 786e789.
- Altieri R., Esposito A., Parati F., Lobianco A., Pepi M. (2009). Performance of olive millsolid waste as a constituent of the substrate in commercial cultivation of *Agaricusbisporus*. *Int BiodeteriorBiodegrad*. 63 :993–7.
- Altioek E., Baycin D., Bayraktar O., Ulku S. (2008). Isolation of polyphenolsfrom the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silkfibroin. *Separation and Purification Technology*, 62(2), 342–348.
- Amrane S., Amrane F., Belhadi D. (2017). Mémoire du master : Effet des margines et du grignon d'olive sur la croissance des rhizobiums.
- Antonio S., Fernando G. F., Guillermo R.G., Juan FernaB., Rafael B. (2017). Biomethanization of olive millsolid waste after phenols recovery through low-temperature thermal pre-treatment. *Waste Management*. Volume 61, Pages 229-235.
- Aouidi. (2012). Etude et valorisation des feuilles d'olivier *Olea europea* dans l'industrie agroalimentaire. Thèse de doctorat en génie biologique. Université de Carthage (Tunisie). p 213.
- Arrêté n° 13.2942 du 7 Octobre 2013 portant fixation des Valeurs Limites Généralesde rejet.
- Asli A.E., Qatibi A.I. (2009). Ethanol production from olive cake biomasssubstrate. *BiotechnolBioproc Eng*. 14 :118–22.
- Atalia K.R., Buha D.M., Bhavsar K.A., Shah N.K. (2015). A Review on Composting of Municipal Solid Waste. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)* e-ISSN: 2319-2402, p- ISSN: 2319-2399. Volume 9, Issue 5 Ver. I, PP 20-29.
- Azbar N., Keskin T., Yuruyen A. (2008). Enhancement of biogas production from olive mill effluent (OME) by co-digestion. *BiomassBioenerg*. 32 :1195–201.

Aziz A., Elandalousi E.H., Belhalfaoui B. (2009). Efficiency of succinylated-olive stone biosorbent on the removal of cadmium ions from aqueous solutions. *Colloids Surf B*. 73 :192–8.

B

Baccar R., Bouzid J., Feki M., Montiel A. (2009). Preparation of activated carbon from Tunisian olive-waste cakes and its application for adsorption of heavy metal ions. *J Hazard Mater*. 162 :1522–9.

Barbera A.C., Maucieri C., Cavallaro V., Ioppolo A., Spagna G. (2013). Effects of spreading olive mill wastewater on soil properties and crops: a review. *Agricultural Water Management* 119(0), 43-53.

Barry A.I. et Diarra A. (2018). *Traitement Des Margines Par Energie Solaire*.

Ben Abbou M., Rheribi R., El Haji M., Rais Z., Zemzami M. (2014). Effect of using olive mill wastewater by electrocoagulation process on the development and germination of tomato seeds. *Phys. Chem. News* 74, 37–43.

Benamraoui F. (2015). Élimination des colorants cationiques par des charbons actifs synthétisés à partir des résidus de l'agriculture. Diplôme de Magister. Ferhat Abbas Setif 1.

Bernou A. (2015). Essai de traitement des effluents d'huileries d'olives par l'adsorption et combinaison avec le procédé Fenton. Mémoire de master.

Berrios M., Martin M.A., Martin A. (2012). Treatment of pollutants in wastewater: adsorption of methylene blue onto olive-based activated carbon. *J Ind Eng Chem*. 18 :780–4.

Bhat A.S., Singh J., Vig A.P. (2017). Instrumental characterization of organic wastes for evaluation of vermicompost maturity. *Journal of Analytical Science and Technology*, 8(2), 1-12.

Blázquez G., Hernáinz F., Calero M., Martín-Lara M.A., Tenorio G. (2009). The effect of pH on the biosorption of Cr (III) and Cr (VI) with olive stone. *Chem Eng J*. 148 :473–9.

Blázquez G., Martín-Lara M.A., Dionisio-Ruiz E., Tenorio G., Calero M. (2012). Oppor biosorption by pine cone shell and thermal decomposition study of the exhausted biosorbent. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. Volume 18, Issue 5, Pages 1741-1750.

Blika P.S., Stamatelatos K., Kornaros M., Lyberatos G. (2009). Anaerobic digestion of olive mill wastewater. *Global NEST J*. 11(3) :364–72.

Bouaziz M., Fki I., Jemai H., Ayadi M., Sayadi S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition; stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108, 253–262.

Bouhadjra (2009). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou (Algérie), p 122.

Boutchich G.E.K., Tahiri S., Mahi M., Gallart-Mateu D. (2015). Characterization of activated sludge from domestic sewage treatment plants and their management using composting and co-composting in aerobic silos. *J. Mater. Environ. Sci*. 6, 2206–2220.

Bulletin officiel n°6506 (2016). Loi 36-15 relative à l'eau.

Bulletin officiel n°6080 (2012). Loi 23-12 modifiant la loi 28-00 relative à la gestion des déchets et leur élimination.

C

- Cerdán M., Sánchez-Sánchez A., Jordá J.D., Amat B., Cortina J., Ruiz-Vicedo N., El-Khattabi M. (2016). Characterization of water dissolved organic matter under woody vegetation patches in semi-arid Mediterranean soils. *Science of the Total Environment*, 553, 340–348.
- 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 Ecosyst Environ.* 138 :293–8.
- Chouchene A. (2010). Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique. Thèse de doctorat. Haute Alsace.
- CODEX Alimentarius Commission. (2003). Stan 33, 1981, revised 2.
- Compaoré E. et Nanéma L.S. (2010). Compostage et qualité du compost de déchets urbains solides de la ville de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. *TROPICULTURA*, 2010, 28, 4, 232-237.
- Conseil national de l'environnement. (2009). Les instruments juridiques aux services de l'environnement au Maroc.
- Cui H-Y., Zhao Y., Chen Y-N., Zhang X., Wang X-Q., Lu Q., Jia L-M., Wei Z-M. (2017). Assessment of phytotoxicity grade during composting based on EEM/PARAFAC combined with projection pursuit regression. *Journal of Hazardous Materials*, 326, 10-17.

D

- Dareioti MA, Dokianakis SN, Stamatelatos K, Zafiri C., Kornaros M. (2010). Exploitation of olive mill wastewater and liquid cow manure for biogas production. *Waste Manage.* 30 :1841–8.
- Dermeche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F., Michaud P. (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry* 48(10), 1532-1552.
- Dias AA., Rui M., Bezerra A., Pereira N. (2004). Activity and elution profile of laccase during biological decolorization and dephenolization of olive mill wastewater. *Bioresource Technology*. Volume 92, Issue 1, March 2004, Pages 7-13.
- Direction Régionale d'Agriculture Fès-Meknès (2018). Production oléicole au Maroc.
- Direction Régionale d'Agriculture Fès-Meknès (2020). Production oléicole au Maroc.
- Donoso-Bravo A., Ortega-Martinez E., Ruiz-Filippi G. (2016). Impact of milling, enzyme addition, and steam explosion on the solid waste biomethanation of an olive oil production plant. *Bioprocess. Biosyst. Eng.* 39(2), 331-340.

E

- El-Abbassi A., Khayet M., Kiai H., Hafidi A., García-Payo M.C. (2013). Treatment of crude olive mill wastewaters by osmotic distillation and osmotic membrane distillation. *Sep. Purif. Technol.* 104, 327–332.

- El Fels L., Zamama M., El Asli A., Hafidi M. (2014). Assessment of biotransformation of organic matter during co-composting of sewage sludge-lignocellulosic waste by chemical, FTIR analyses, and phytotoxicity tests. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 87, 128–137.
- El Fels L., Hafidi M., Ouhdouch Y. (2016). *Artemia salina* as a new index for assessment of acute cytotoxicity during co-composting of sewage sludge and lignocellulose waste. *Waste Management*, 50, 194–200.
- El Hajjouji H., Pinelli E., Guiresse M., Merlina M., Revel JC., Hafidi M. (2007). Assessment of the genotoxicity of olive mill waste water (OMWW) with the *Vicia faba* micronucleus test. *MutatRes.* 634 :25–31.
- El Yamani M., Ghabbour N., Sakar E.H., Rharrabti Y. (2017). Olive Oil Waste waters from Northern Morocco: Physicochemical Characterization and Antibacterial activity of Polyphenols. *J. Mater. Environ. Sci.* 8, 2667–2378.
- Ennouri H., Miladi B., Zahdiaz S., Fernandez L.A., Solera R., Hamidi M., Boulla gui H. (2016). Effect of thermal pretreatment on the biogas production and microbial communities balance during anaerobic digestion of urban and industrial waste activated sludge. *J. biotech.* 2016.04.076.
- Esfandyari Y., Mahdavi Y., Seyedsalehi M., Hoseini M., Safari GH, et al. (2015). Degradation and biodegradability improvement of the olive mill wastewater by peroxide electrocoagulation/ electrooxidation-electroflotation process with bipolar aluminum electrodes. *Environ Sci Pollut Res Int* 22 : 6288-6297.
- Esmail A., Abed H., Firdaus M., Chahboun N. (2014). Étude physico-chimique et microbiologique des margines de trois régions du Maroc (Ouzazane, Fès Boulman et Béni Mellal) [Physico-chemical and microbiological study of oil mill wastewater (OMW) from three different regions of Morocco (Ouzazane, Fes Boulman and Béni Mellal)]. *J. Mater. Environ. Sci.* 5, 121–126.
- Esmail A., Chahboun N., Mennane Z., Amiyare R., Abed H., Barrahi M., Qebibo A., Ouhssine M., Berny E. H. (2015). Étude de l'activité antimicrobienne des margines issues de Fès Boulman vis-à-vis de souches pathogènes. *Sci.* 6 (3) 869-876.

F

- Fels, L.E., Hafidi, M., and Ouhdouch, Y. (2016). Date palm and the activated sludge co-composting actinobacteria sanitization potential. *Environ. Technol.* 37, 129–135.
- Fereidoon S. and Priyatharini A. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*. Volume 18, Part B, Pages 820-897.
- Fezzani B., Ben Cheikh R. (2010). Two-phase anaerobic co-digestion of olive mill wastes in semi-continuous digesters at mesophilic temperature. *Bioresour Technol.* 101 :1628–34.
- Fuentes M., Baigorri R., González-Gaitano G., García-Mina J.M. (2016). New methodology to assess the quantity and quality of humic substances in organic materials and commercial products for agriculture. *Journal of Soils and Sediments*: 1-11.

G

- Gharby S., Harhar H., Kartah B., Chafchaoui I., Sibawayh Z., Charrouf Z. J. (2013). Chemical Characterization and oxidative stability of two monovarietal virgin olive oils (Moroccan Picholine and Arbequina) grown in Morocco, *J. Mater. Environ. Sci.* 4 (6) 935-942.
- Gharby S., Harhar H., Guillaume D., Haddad A., Matthäus B., Charrouf Z. (2011). Oxidative stability of edible argan oil: A two-year study. *LWT - Food Science and Technology* 44.
- Gharby S., Harhar H., Bouzoubaa Z., Roudani A., Chafchaoui I., Kartah B., Charrouf Z. (2014). Effect of Polyphenol extracts from margins on the stability of sunflower oil. *Journal of Material and Environment Science*, 5, 464-469.
- Ghasimi D.S.M., Aboudi K., De Kreuk M., Zandvoort M.H., Van Lier J.B. (2016). Impact of lignocellulosic-waste intermediates on hydrolysis and methanogenesis under thermophilic and mesophilic conditions. *Chem. Eng. J.* 295, 181–191.
- Gigliotti G., Proietti P., Said-Pullicino D., Nasini L., Pezzolla D., Rosati L., Porceddu P.R. (2012). Co-composting of olive husks with high moisture contents: organic matter dynamics and compost quality. *International Biodeterioration and Biodegradation* 67, 8e14.
- Guan X., He D., Ma J., Chen G. (2010). Application of permanganate in the oxidation of micropollutants: a mini review. *Front Environ Sci Eng China.* 4(4) :405–13.
- Guo X., Huang J., Lu Y., Shan G., Li Q. (2017). The influence of flue gas desulfurization gypsum additive on characteristics and evolution of humic substance during co-composting of dairy manure and sugar cane press mud. *Bioresource Technology*, 219, 169–174.

H

- Hanafi F., Mountadar M., Etahiri S., Fekhaoui M., Assobhei O. (2013). Biodegradation of Toxic Compounds in Olive Mill Wastewater by a Newly Isolated Potent Strain: *Aspergillus Niger* van Tieghem. *Journal of Water Resource and Protection* 5, 768-774.
- Hanato H., Kagawa T., Yasuhara J. and Okuda T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effect. *Chemical and Pharmaceutical Bul.* volume 36, pp. 1090-1097.
- Houta O., Akrouf A., Neffati M., Amri H. (2011). Phenolic Contents, Antioxidant and Antimicrobial Potentials of *Crithmum maritimum* Cultivated in Tunisia Arid Zones. *Journal of Biologically Active Products from Nature* ISSN Print: 2231-1866 Online: 2231-1874. *JBAPN* 1 (2) pp 138 – 143.

I

- International standard ISO 3960 fourth edition 15-7-2007. Animal and vegetable fats and oils- determination of peroxide value – Iodometric (visual) and point determination.
- International standard ISO 660 third edition 15-6-2009. Animal and vegetable fats and oils- determination of acid value and acidity.
- ISO Norme Internationale. (2005). Méthode ISO 7251 :2005 : Microbiologie des aliments méthode horizontale, pour le dénombrement des coliformes.

ISO Norme Internationale. (2008). Méthode ISO 21527 :2008(f) : Microbiologie des aliments-méthode horizontale, pour le dénombrement des levures et moisissures. Edition : 2.

ISO 4833 Norme Internationale. (2003). Méthode ISO 4833 :2003 : Microbiologie des aliments – méthode horizontale pour le dénombrement des miro-organismes-technique par comptage des colonies a 30°C.

Italian Republic, (2010). Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della Legge, n.88. Gazzetta Ufficiale.

J

Jain S., Jain Sh., Wolf I.T., Lee J., Tong Y.W. (2015). A comprehensive review on operating parameters and different pre-treatment methodologies for anaerobic digestions of municipal solid waste. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 52, 142–154.

Jiang JQ., Durai HB., Winzenbacher R., Petri M., Seitz W. (2015). Drinking water treatment by in situ generated ferrate (VI). *Desalin Water Treat.* 55(3) :731–9.

Jorfi K., El Idrissi I., Mounsif M., Keli A. (2014). Dégradabilité des grignons d'olive et pulpe de caroube et effet de leur incorporation sur les performances d'engrais élément des agneaux. In: Chentouf M. (ed.), López-Francos A. (ed.), Bengoumi M. (ed.), Gabiña D. (ed.). *Technology creation and transfer in small ruminants: roles of research, development services and farmer associations*. Zaragoza: CIHEAM / INRAM / FAO. p. 85-89.

K

Kabran G., Ambeu N., Mamyrbékova-Békro JA. (2012). Total Phenols and Flavonoids in Organic Extracts of Ten Plants used in Traditional Therapy of Breast Cancer in Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research* ISSN 1450-216X Vol.68 No.2, pp. 182-190.

Kachouri F., Setti K., Ksontini H., Mechmeche M., Hamdi M. (2016). Improvement of antioxidant activity of olive mill wastewater phenolic compounds by *Lactobacillus plantarum* fermentation, Desalination and Water Treatment, vol. 57, no. 56, pp. 27125–27137.

Kahouli (2010). Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l'huile de canola chauffée. *Maîtrise en génie agroalimentaire*. Université Laval, p 111.

Kalmis E., Nuri A., Hasan Y., Fatin K. (2010). Feasibility of using olive mill effluent (OME) as a wetting agent during the cultivation of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* on wheat straw. *Bioresour Technol* 99:164-169.

Kavvadias V., Doula MK., Komnitsas K., Liakopoulou N. (2010). Disposal of olive oil mill wastes in evaporation ponds: effects on soil properties. *J Hazard Mater.* 182 :144–55.

Khoufi S., Aloui F., Sayadi S. (2016). Treatment of olive oil mill wastewater by combined process electro-Fenton reaction and anaerobic digestion. *Water Research*. Volume 40, Issue 10, Pages 2007-2016

Khoufi S., Louhichi A., and Sayadi S. (2015). Optimization of anaerobic co-digestion of olive mill wastewater and liquid poultry manure in batch condition and semi-continuous jet-loop reactor. *Bioresour. Technol.* 182, 67–74.

Kimouche K. (2008). Etude de quelques plans d'expériences associées aux surfaces de réponse [en ligne]. Master en mathématiques. Algérie : Université Mentouri Constantine, 92 p.

Koçer O., Acemioğlu B. (2016). Adsorption of Basic green 4 from aqueous solution by olive pomace and commercial activated carbon: process design, isotherm, kinetic and thermodynamic studies", *Desalination and Water Treatment*. Taylor & Francis, 57(35), pp. 16653–16669.

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 Water Treat.* 57, 2982–2995.

L

Lafka T-A., Lazou AE., Sinanoglou VJ., Lazos ES. (2011). Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes. *Food Chem.* 125 :92–8.

Lahlou K., Ben Abbou M., Majbar Z., Zaytouni Y., Karzazi O., El-Hajjaji F., Taleb M., El Haji M., Rais Z. (2017). Recovery of sludge from the sewage treatment plant in the city of Fez (STEP) through the composting process. *J. Mater. Environ. Sci.* 8, 4582–4590.

Lakhtar H., Ismaili-Alaoui MA., Perraud-Gaime I., Philippoussis A., Roussos S. (2010). Screening of strains of *Lentinula edodes* grown on model olive mill wastewater in solid and liquid state culture for polyphenol biodegradation. *Int Biodeterior Biodegrad.* 64 :167–72.

Larid I., Elaichi K. (2019). Etude de profil chimique des polyphénols extraits à partir des margines : Essais de biodégradation et de biotransformation avec la microflore indigène et sélectionnée. *univ-blida.dz*:8080.

Lecerf J-M. (2011). *Médecine des maladies Métaboliques* 3 ; 257-2 62.

Liu Q., Yang X. (2010). "Optimization of ultrasonic-assisted extraction of chlorogenic acid from *Folium eucommiae* and evaluation of its antioxidant activity." *Journal of Medicinal Plants Research* 4(23): 2503-2511.

Lim S.L., Wu T.Y. (2015). Determination of maturity in the vermicompost produced from palm oil mill effluent using spectroscopy, structural characterization and thermogravimetric analysis. *Ecological Engineering*, 84, 515–519.

M

Madani T., Monerie Y., Pagano S., Péliou C., Wattrisse B. (2015). Identification inverse de paramètres élastoplastiques à partir de mesures de champs. 22ème Congrès Français de Mécanique, Aug 2015, Lyon, France.

Magdich S., Jarboui R., Ben Rouina B., Boukhris M., Ammar E. (2012). A yearly spraying of olive mill wastewater on agricultural soil over six successive years: Impact of different application rates on olive production, phenolic compounds, phytotoxicity and microbial counts. *Sci Total Environ.* 430 : 209–16.

Majbar Z. et Rais 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 en chimie à l'Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès.

- Majbar Z., Lahlou K., Ben Abbou M., Ammar E., Triki A., Abid W., Nawdali M., Bouka H., Taleb M., El Hajji M. and Rais Z., (2018). Co-composting of Olive Mill Waste and Wine-Processing Waste: An Application of Compost as Soil Amendment. *Hindawi Journal of Chemistry*. Volume 2018, 9 pages.
- Makhloufi A. (2013). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L.) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. These de doctorat en biologie à l'Université Aboubaker Belkaid Faculté des sciences.
- Mari I., Ehaliotis C., Kotsou M., Balis C., Georgakakis D. (2003). Respiration profiles in monitoring the composting of by-products from the olive oil agro-industry. *Bioresour. Technol.* 87, 331– 336.
- Marmesat S., Morales A., Velasco J., Ruiz-Méndez M.V., Dobarganes M. (2009). Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation. *Grasas y Aceites*, 60 (2), 155-160, ISSN: 0017-3495.
- Martinez-Garcia G., Johnson AC., Bachmann RT., Williams CJ., Burgoyne A., Edyvean RGJ. (2009). Anaerobic treatment of olive mill wastewater and piggery effluents fermented with *Candida tropicalis*. *J Hazard Mater.* 164 : 1398–405.
- Mechri B., Cheheb H., Boussadia O., Attia F., Ben Mariem F., Braham M., Hammami M. (2011). Effects of agronomic application of olive mill wastewater in a field of olive trees on carbohydrate profiles, chlorophyll a fluorescence and mineral nutrient content. *Environ Exp Bot.* 71 :184–91.
- Meksi N., Haddara, Hammamia S., Mhenni MF. (2012). Olive mill wastewater: a potential source of natural dyes for textile dyeing. *Ind Crop Prod.* 40 : 103–9.
- Menad M. (2012). Modélisation de la prévision de la résistance en compression des ciments Portland à base de pouzzolanes [en ligne]. Master en génie civil. Algérie : Université Hassiba Ben Bouali de Chlef. 107.
- Hammouch M., Benkhail O. (2011). Procédé de traitement thermique des margines et installation des nouveaux bassins d'évaporation dans la région de Séfrou.
- Michailides M., Christou G., Akratos C.S., Tekerlekopoulou A.G., Vayenas D.V., (2011). Composting of olive leaves and pomace from a three-phase olive mill plant. *International Biodeterioration and Biodegradation* 65, 560e564.
- MDENV (Ministère délégué auprès du Ministre de l'Energie, des Mines, de l'Eau et de l'Environnement, chargé de l'Environnement), 2014. L'engagement du Maroc dans la lutte contre les effets du changement climatique.
- Mikdame H., EL hafidi B., Mtarfi N., Ben Abbou M., Elmadani FZ., Rais Z., (2019). Energy valorisation of olive waste water, their sludge and traitement by methane production. *Mor. J. Cem.* 7 N2. 383-391.
- Mikdame H., Rais Z., Errachidi F., Taouda H., Chabir R. (2016). The Fortification's Feasibility of the Butter by the Polyphenols Present in the Olive Waste. *Int. J. Eng. Res. Sci.* 2, 1–5.
- Mnif A., Tabassi D., Ali MBS., Hamroun B. (2015). Phenol removal from water by AG reverse osmosis membrane. *Environ Prog Sustain Energy.* 34 :982–9.
- Mohammadi S., Kargari A., Sanaeepur H., Abbassian K., Najafi A., Mofarrah E. (2015). Phenol removal from industrial wastewaters: a short review. *Desalin Water Treat.* 53:2215–34.

Mouzaoui K., Yazzag L., Moulti-Mati F. (2014). Composés phénoliques des grignons d'olive provenant d'huileries traditionnelle et moderne : Essai de purification de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol. Sciences & Technologie C – N°40, pp.9-15.

N

Nasr M., Shahawy A.E. (2016). Artificial Intelligence for Electrocoagulation Treatment of Olive Mill Wastewater. J. BioremediationBiodegrad. 7, 1–8.

Normes relatives aux commissions de normalisation instituées au niveau de l'ONSSA. Mise à jour : Octobre 2019.

Ntaikou I., Kourmentza C., Koutrouli EC., Stamatelatou K., Zampraka A., Kornaros M., Lyberatos G. (2009). Exploitation of olive oilmillwastewater for combinedbiohydrogen and biopolymers production. BioresourceTechnol. 100 :3724–30.

O

Ochando-Pulido J.M., Stoller M., Di Palma L., Martinez-Ferez A. (2014). Threshold performance of a spiral-wound reverse osmosis membrane in the treatment of olive mill effluents fromtwo-phase and three-phase extraction processes, Chemical Engineerring and Processing: Process Intensification, 83, 64-70.

ONSSA, (2019). Normes relatives aux commissions de normalisation instituée au niveau de l'ONSSA.

Ouabou E., Anouar A., and Hilali S. (2014). Élimination des polluants organiques présents dans la margine d'huile d'olive par filtration sur colonne d'argile et sciure de bois d'eucalyptus. J. Appl. Biosci. 75, 6232 – 6238.

Ouabou E., Anouar A., Hilali S. (2014). Traitement de la margine brute d'huile d'olive par distillation suivi de neutralisation par la chaux. J. Appl. Biosci. 79, 6867 – 6872.

P

Petrov N., Budinova T., Razvigorava M., Parra J., et Galiatsatou P. (2008). Conversion of olive wastes to volatiles and carbonadsorbents. Biomass and Bioenergy. Volume 32, Issue 12, Pages 1303-1310.

R

Raederstorff D. (2009). Antioxidant Activity of Olive Polyphenols in Humans: aReview. International Journal for Vitamin and Nutrition Research. 79, pp. 152-165.

Rahmani M., Zrira S. (2017). Examen national de l'export vert du Maroc : produits oléicoles, romarin et thym.

Rainard P., Riollet C. (2006). Innateimmunity of the bovine mammary gland. VeteraninaryResearch, 37 ; p.369 et p.400.

- Rais Z., El Haji M., Benabbou M., Majbar Z., Lahlou K., Taleb M., Zaytouni Y., Rheribi R., Bouka H., and Nawdali M. (2017). Margine : traitement, valorisation dans la germination des graines de tomate et dans la filière de compostage. *Rev. Sci. L'eau J. Water Sci.* 30, 57–62.
- Rajagopal R., Massé D.I., Singh G. (2013). A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresour. Technol.* 143, 632–641.
- Rocio O., Hua L., Jason S., Veronica G., Jeffrey A. (2019). Evidence for a Dystrophin Missense Mutation as a Cause of X-Linked Dilated Cardiomyopathy. *Circulation* Volume 95, Issue 10, 20 May 1997, Pages 2434-2440.
- Ryan D., Prenzler P.D., Lavee S., Antolovich M., Robards K. (2003). Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's Mammoth. *J Agric Food Chem* ;51 :2532-8.
- René M. (2011). Livre : la méthanisation 2ème édition.
- Rigobello E.S., Campos S.X., Azevedo E.R., Dantas A.D.B., Vieira E.M. (2017). Comparative characterization of humic substances extracted from freshwater and peat of different apparent molecular sizes. *Ambiente & Água*, 12, 775-785.
- Rincon B., Borja R., Martin M.A., Martin A. (2009). Evaluation of the methanogenic step of a two-stage anaerobic digestion process of acidified olive mill solid residue from a previous hydrolytic–acidogenic step. *Waste Manage.* 29 :2566–73.
- Rincón B., Borja R., Martín M.A., Martín A. (2010). Kinetic study of the methanogenic step of a two-stage anaerobic digestion process treating olive mill solid residue. *Chem Eng J.* 160 :215–9.
- Rocio O., Hua L., Jason S., Veronica G., Jeffrey A. (2019). Evidence for a Dystrophin Missense Mutation as a Cause of X-Linked Dilated Cardiomyopathy. *Circulation* Volume 95, Issue 10, 20 May 1997, Pages 2434-2440.
- Rodier J., Legube B., Merlet N. (2009) *L'Analyse d'eau*. 9ème édition.
- Ryan D., Prenzler P.D., Lavee S., Antolovich M., Robards K. (2003). Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's Mammoth. *J Agric Food Chem* ;51 :2532-8.
- Salta F.N., Mylona A., Chiou A., Boskou G., Andrikopoulos N.K. (2007). Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International*, 13, 413–421.
- Sbai G., Loukili M. (2015). Traitement des margines par un procédé couplant la coagulation floculation et la voie électrochimique. *Eur. Sci. J.* ESJ 11.
- Schaffer S., Müller W.E., Eckert G.P. (2010). Cytoprotective effects of olive mill waste water extract and its main constituent hydroxytyrosol in PC12 cells. *Pharmacol Res.* 62 :322–7.
- Sellami F., Hachicha S., Chtourou M., Medhioub K., Ammar E. (2008). Maturity assessment of composted olive mill wastes using UV spectra and humification parameters. *Bioresource Technology*, 99, 6900–6907.
- Sklavos S., Gatidou G., Stasinakis A.S., Haralambopoulos D. (2015). Use of solar distillation for olive mill wastewater drying and recovery of polyphenolic compounds. *J Environ Manag.* This article used a

solar distillator to investigate the simultaneous solar drying of olive mill wastewater and recovery of phenolic compounds in the distillate. 162 :46–52.

Souilem S., El-Abbassi A., Kiai H., Hafidi A., Sayadi S., Galanakis C.M. (2017). Chapter 1 - Olive oil production sector: environmental effects and sustainability challenges. In *Olive Mill Waste*, (Academic Press), pp. 1–28.

Stasinakis AS., Elia I., Petalas AV., Halvadakis CP. (2012). Review on the fate of emerging contaminants during sludge anaerobic digestion. *Bioresour Technol*. Volume 121, Pages 432-440.

Subasi A., Yilmaz A. S., Binici H., (2009). Prediction of early heat of hydration of plain and blended cements using neuro-fuzzy modelling techniques. *Expert Systems with Applications*, vol. 36, n°. 3, Part 1, pp. 4940–4950.

T

Tayoub G., Sulaiman H., Alorfi M. (2015). Oleuropein concentration in some Syrian olive oil mill wastewater. *Journal of Natural Products* 8.

Tinsson W. (2010). *Plan d'expériences : constructions et analyses statistiques*. Heidelberg-Allemagne : Springer. 532 p. ISBN : 978642114717.

Tortosa G., Albuquerque J.A., Ait-Baddi G., Cegarra J. (2012). The production of commercial organic amendments and fertilisers by composting of two-phase olive mill waste ("alperujo"). *Journal of Cleaner Production* 26, 48e55.

V

Valta K., Aggeli E., Papadaskalopoulou C., Panaretou V., Sotiropoulos A., Malamis D., Moustakas K., Haralambous K.J. (2015). Adding Value to Olive Oil Production Through Waste and Wastewater Treatment and Valorisation: The Case of Greece. *Waste Biomass Valorization* 6(5), 913-925.

Van der Wurff A.W.G., Fuchs J.G., Raviv M., Termorshuizen A. (2016). *Handbook for composting and compost use in organic horticulture*.

W

Wang C., Dong D., Wang H., Müller K., Qin Y., Wang H., Wu W. (2016). Metagenomic analysis of microbial consortia enriched from compost: new insights into the role of Actinobacteria in lignocellulose decomposition. *Biotechnology Biofuels*, 9(22), 2-17.

Y

Yaakoubi A., Chahlaoui M., Rahmani M., Elyachoui Y., Oulhote. (2009). Effet de l'épandage des margines sur la microflore du sol ; *Agro solutions*, 20.

Yahiaoui N. (2012). Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif. *Diplôme de Magister*. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. P : 129.

Yangui T, Sayadi S, Gargoubi A, Dhouib A. (2010). Fungicidaleffect of hydroxytyrosolrichpreparationsfrom olive millwastewateragainstVerticilliumdahliae. Crop Protection. 29 :1208–13.

Yates BJ., Zboril R., Sharma VK. (2014). Engineering aspects of ferrate in water and wastewatertreatment- a review. J Environ SciHealth Part A: Tox Hazard Subst Environ Eng. 49(14) :1603–14.

You-Cheng H., Wen-Huei C., Chee-Shan C., Jiunn-WangL., Chin-Jung H., Fung-Jou L., Yi-Chen C., Hseng-KuangH., Jia-Jiuan W., Hsin-Ling Y. (2008). Antioxidantactivities of toonasinensisleavesextractsusingdifferentantioxidantmodels. Food And chemicaltoxicology,46, 105–114 .

Z

Zahari A., Tazi A., Azzi M. (2014). Optimisation des conditions de traitement des margines par un superoxydant K3FexMnyO8 [Optimization of treatment conditions of Olive Oil Mill Wastewater by superoxidant. J. Mater. Environ. Sci. 5 (2) 484-489 Zahari et al ISSN : 2528-2028 CODEN : JMESCEN.

Zakarya I.A., Khalib S.N.B., Mohd Ramzi N. (2018). Effect of pH, temperature and moisture content duringcomposting of ricestrawburning at differenttemperaturewithfood waste and effective microorganisms. E3S Web Conf. 34, 02019.

Zaier H., Chmingui W., Rajhi H., Bouzidi D., Roussos S., RhoumaA. (2017). Caractérisation physico-chimique et microbiologique des margines de différentes régions de la Tunisie (Nord, Sahel, Sud). J. New Sci. Agric. Biotechnol. 48, 2897–2906.

Zhang L., Sun X. (2014). Changes in physical, chemical, and microbiologicalpropertiesduring the two-stage co-composting of green waste withspentmushroom compost and biochar. BioresourceTechnology, 171, 274–284.