

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité: Sciences Alimentaires
Option: Corps Gras



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Caractéristiques physico-chimiques des
marges issues de deux systèmes
d'extraction**

Présenté par:

AMIAR Fatima & ZOUAOUI Nassima

Soutenu le: **12 Juin 2016**

Devant le jury composé de:

Mme LEHOUCHE R.	MCB	Présidente
Mr TAMENDJARI A.	Prof.	Encadreur
Mme HASSISSENE N.	MAB	Examinatrice

Année universitaire: 2015 / 2016

Remerciements

Nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné, la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Tout d'abord, on tient à remercier notre encadreur: Mr Tamendjari A. Pour son implication dans nos recherches, son aide lors de l'élaboration de notre problématique et son suivi durant la finalisation de ce projet. Son soutien, sa grande disponibilité, le temps qu'il nous a consacré et ses compétences dans ce domaine nous a permis de mener à bien ce travail.

Nous vifs remerciements vont également aux membres du jury qui ont acceptés d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

- Mme Lehouche R; de nous avoir fait l'honneur de juger ce travail et de présider le jury.*
- Mme Hassissene N: pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous tenons à remercier:

- Mme KHERBACHI. Technicienne de laboratoire Biochimie pour sa compréhension et sa gentillesse.*
- Mr Remdani; M^{elle} Louilache et Mr Bouchenoua*

On voudrait remercier aussi toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à nos recherches et l'élaboration de ce mémoire.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à l'aide d'ALLAH tout puissant
A mes très chers parents, qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui :*

VAVA et YEMMA

A mes frères : Mouhand, ALI, Lyes, Mouris et Rabah

Qui ont été toujours à mes cotés

A mes sœurs : Lynda, Kahina et soraya

Et leurs époux : Khelifa, nourdine B et Nourdine A

A ma belle sœur: Hassiba

A mes nièces et neveux : Samira, Mliha, yasmine, Manel, Maria, Asma,

Malek, Fawzi, Bilal, Hsinou et Rayane

A mes cousins et cousines

(VAVA Houhou, Djidji)

A la mémoire de: Mon cousin (Hafid), Setti lala et Chacha

A mes amies : Sabiha, Narima, Ouahiba, Fatma, Ryma, zineb, souhila,

Kahina, Samara, Sihem et Riane

A mes ami(e)s de la promotion: 2015-2016

Et à tous mes proches sans exception

Fatima

Dédicace



J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu tout puissant:

A Mes très chers parents qui m'ont soutenue tout au long de mon parcours, en leur souhaitant une longue et heureuse vie et que je remercie infiniment pour leur aide et conseils.

A mes frères et sœurs surtout ma petite sœur BIBA.

A tous mes proches et toute la famille ZOUAOUI.

A tous ce qui m'ont aidée de près ou de loin dans la réalisation de ce travail surtout M^r Madjid Hamroune et sa famille.

A tout mes amis (es) sans exception.

A mes copines de chambre 1000 lits (F301).

A ma binôme fatima et sa famille.

A Tous mes enseignants.

A la promotion Sciences Alimentaires 2015/2016.



Nassima



Liste des tableaux

Synthèse bibliographique		
Tableaux	Titres	Pages
Tableau I	Valeurs minimales et maximales des minéraux et métaux lourds déterminées sur les margines issus de deux systèmes d'extraction de l'huile.	5
Tableau II	Structure des monomères phénoliques rencontrés dans les margines.	7

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Figure 01	Processus d'extraction de l'huile d'olive.	3
Figure 02	Structure de noyau phénol.	6
Figure 03	Structure de base des flavonoïdes.	7
Figure 04	Effets biologiques des polyphénols.	10
Figure 05	Réaction d'un anti-oxydant avec le radical DPPH.	17
Figure 06	Acidité de l'huile résiduelle des margines.	19
Figure 07	Indice de peroxyde de l'huile résiduelle des margines.	20
Figure 08	Extinction spécifique à 232 et 270 nm de l'huile résiduelle des margines.	21
Figure 09	Teneur en composés phénoliques de l'huile résiduelle des margines.	21
Figure 10	Teneurs en <i>Ortho</i> -diphénols de l'huile résiduelles des margines.	22
Figure 11	Teneurs en huile résiduelle des margines.	23
Figure 12	Valeurs de pH et de l'acidité des margines.	24
Figure 13	Conductivité des margines.	25
Figure 14	Taux d'humidité des margines.	25
Figure 15	Taux de matière sèche margines.	26
Figure 16	Taux de matière en suspension des margines.	27
Figure 17	Teneur en composés phénoliques totaux des margines.	28
Figure 18	Teneurs en <i>ortho</i> -diphénols des margines.	29
Figure 19	Teneurs en flavonoïdes des margines issues par deux systèmes d'extraction.	30
Figure 20	Teneurs en tanins des margines.	30
Figure 21	Activité antiradicalire contre le DPPH des extraits phénoliques des margines.	31
Figure 22	Pourcentage d'inhibition contre le DPPH des extraits phénoliques des margines.	32

Les abréviations utilisées

ANOVA: Analyse de Variance

COI: Conseil Oléicole International.

CPT: Composés Phénoliques Totaux

DCO: Demande Chimique en Oxygène

DPPH: radical 2,2 Diphenyl 1-Picryl-Hydrazyl

EAC: Equivalent d'Acide Caféique

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

EAT: Equivalent d'Acide Tannique

EPS: Exopolysaccharides

EQ: Equivalent de Quercétine

MES: Matière En Suspension

Meq: Milliéquivalent

MS : Matière sèche

mS/cm: Milli siémens/centimètre

nm: Nanomètre

pH: Potentielle d'Hydrogène

tr/min: Tour par Minute

UV: Ultra-violet

Sommaire

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction	01
Synthèse Bibliographique	
I - Généralités sur l'oléiculture.....	02
I-1-L'olivier	02
I-2-Les olives.....	02
I-3-L'oléiculture mondiale.....	02
I-4- Procédés d'extraction	02
I-4-1- Procédé discontinu physique par pression.....	02
I-4-2- Procédé continu par centrifugation.....	03
I-4-2-1- Système d'extraction continu avec centrifugation à trois phases.....	03
I-4-2-2- Système d'extraction continu avec centrifugation à deux phases.....	03
I-5- Huile d'olive.....	04
I-6- Sous produits d'extraction de l'huile d'olive	04
II- Les margines.....	04
II-1- Origine.....	04

II-2- Caractéristique physico-chimiques.....	04
II-3- Caractéristiques microbiologiques	05
II-4- Composition	05
II-5- Fraction minérale	05
II-6- Fraction organique.....	06
II-7- Composés phénoliques des margines	06
II-7-1- Les monomères phénoliques	06
II-7-2- Les polymères phénoliques.....	07
II-8- Effets biologiques des polyphénols.....	08
II-9- Valorisation des margines	09
II-9-1- Production de compost.....	09
II-8-2- Production d'antioxydants	09
II-8-3- Production des Exopolysaccharides (EPS).....	09
II-8-4- Production d'enzymes.....	10
II-8-5- Production de biogaz.....	10

Matériel et méthodes

I- Matériel et méthodes	11
I-1- Matériel végétal.....	11
II- Les Analyses effectuées sur l'huile résiduelle.....	11
II-1- Les analyses physico-chimiques	11
II-1-1- Mesure de l'acidité	11
II-1-2- Mesure de l'indice de peroxyde	12

II-1-3- Détermination de l'extinction spécifique dans l'UV	12
II-2-2- Extraction des polyphénols totaux	13
II-2-3-Dosage des composés phénolique totaux.....	13
II-2-4- Dosage des <i>ortho</i> -diphénols	14
III-Les Analyses effectuées sur les margines	14
III-1-Les analyses physico-chimiques.....	14
III-1-1-Détermination de taux de matière grasse.....	14
III-1-2-Détermination du pH.....	14
III-1-3-Mesure de l'acidité.....	14
III-1-4-Détermination de la conductivité	15
III-1-5-Détermination de taux d'humidité et de la matière sèche.....	15
III-1-6- Mesure de la matière en suspension (MES).....	15
III-2-2-Extraction des composés phénoliques des margines.....	15
III-2-3-Dosage des composés phénoliques par colorimétrie	15
III-2-4- Dosage des <i>ortho</i> -diphénols	15
III-2-5-Dosage des flavonoïdes	15
III-2-6-Dosage des tanins condensés	16
III-2-7-Mesure du pouvoir antioxydant.....	17
IV – Analyse statistique	18

Résultats et Discussion

I-1- L'huile résiduelle.....	19
I-1-1- Les paramètres physico-chimiques.....	19

I-1-1-1- L'acidité.....	19
I-1-1-2-Indice de Peroxyde.....	20
I-1-1-3- L'absorbance dans l'ultraviolet.....	20
I-1-2-Composés phénoliques totaux de l'huile résiduelle.....	21
I-1-3-Les <i>ortho</i> -diphénols de l'huile résiduelle.....	22
I-2-Les analyses effectuées sur les margines.....	23
I-2-1-Les paramètres physico-chimiques.....	23
I-2-1-1- Taux de matière grasse.....	23
I-2-1-2-Mesure de pH et détermination de l'acidité.....	23
I-2-1-3-Conductivité.....	24
I-2-1-4-Détermination de taux d'humidité et de matière sèche.....	25
I-2-1-5- Détermination de taux de matière en suspension.....	27
I-2-2-Composés phénoliques totaux (CPT).....	27
I-2-3- <i>Ortho</i> -diphénols.....	29
I-2-4- Les flavonoïdes.....	29
I-2-5- Les tanins.....	30
I-2-6-Le pouvoir antioxydant.....	31
Conclusion	33

Références Bibliographiques

Annexes

INTRODUCTION

L'olivier est une plante emblématique de la Méditerranée. En effet, il n'est pas étonnant que la plupart de la superficie mondiale dédiée à cette culture se trouve, justement, dans le Bassin méditerranéen. C'est dans cette région que se concentre 95 % de la production mondiale et 85 % de la consommation mondiale (**Mili, 2006**).

Avec le développement du secteur oléicole, les systèmes d'extraction de l'huile d'olives traditionnels sont remplacés par des équipements modernes. Cette amélioration est moins coûteuse et permet l'extraction de l'huile en continu dans les phases successives par centrifugation et séparation de l'huile des sous-produits. En plus de sa production principale (huile d'olive vierge et huile de grignons), l'industrie oléicole génère deux résidus, l'un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons) (**Martin Garcia et al., 2003 ; Chiofalo et al., 2004**). Dans le procédé discontinu, cette quantité d'eau ajoutée est relativement faible (environ 40 %), mais dans le système en continu, elle varie de 70 à 110 % par rapport à la quantité d'olive. Il est particulièrement riche en matière organique (**Mekki et al., 2007**). En outre, le potentiel de pollution élevé de cet effluent est généralement attribué à sa teneur élevée en composés phénoliques (**Capasso et al., 1992**). Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la quantité, la qualité et la composition physico-chimique des margines, y compris: le climat et les conditions du sol, des cultivars d'oliviers, la variété d'olive, la maturité des fruits, le lieu et l'âge de la croissance, les variations annuelles, la période de récolte, le temps et les conditions de stockage des olives et les procédés d'extraction d'huile (**Kiril Mert et al., 2010**).

La présente étude a pour but de caractériser différents paramètres de margines (pH, conductivité, acidité, humidité, matière sèche et matière en suspension) de différentes régions issues par deux systèmes d'extraction: l'un par pression et l'autre par centrifugation à trois phases et de déterminer leurs teneurs en divers substances anti oxydantes (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, *ortho*-diphénols et tanins).

Pour cela, notre travail est subdivisé en 3 parties :

- La synthèse bibliographique, cette dernière inclut des généralités sur l'olivier, différents processus d'extraction, composition des margines et leur valorisation.
- La partie expérimentale présente le matériel et les méthodes utilisées pour effectuer les différents tests.
- La dernière partie est consacrée aux résultats obtenus et ainsi que leurs interprétations.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I-Généralités sur l'oléiculture

I-1-l'olivier

L'olivier est un arbre à tronc droit souvent fissuré à écorce grise et aux petites feuilles opposées vertes argentées auquel le climat méditerranéen convient parfaitement (hiver doux, automne et printemps pluvieux, été chaud, sec et une grande luminosité). Il est représenté par deux espèces, sous une forme sauvage oléastre (*Olea europaea*, variété Sylvestris) et sous une forme cultivée, olivier (*Olea europaea*, variété Sativa) (Argenson *et al.*, 1999).

I-2-Les olives

L'olive est une drupe à noyau à mésocarpe charnu, indéhiscente (ne s'ouvrant pas). Sa forme est ovoïde ou ellipsoïde. Ses dimensions sont très variables suivant les variétés. La paroi de ce fruit est constituée : de l'épicarpe (peau) solidement attaché à la pulpe. A maturation, l'épicarpe passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive tournante) puis à la coloration noirâtre (olive noire) (Bianchi, 2003).

I-3-L'oléiculture mondiale

Le patrimoine oléicole mondial compte actuellement environ 750 millions d'oliviers cultivés sur une superficie de 9,23 millions d'hectares. Les pays méditerranéens comptent 715 millions d'oliviers sur une superficie d'environ 8.16 millions d'hectares (El Hajjouji, 2007). L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier. Elle se positionne après l'Union Européenne, Tunisie, Turquie, Syrie et Maroc qui sont par ordre d'importance, soit 94,5 % du patrimoine oléicole mondial (COI, 2015). L'oléiculture algérienne est principalement localisée dans la Kabylie et la région oranaise. Le patrimoine oléicole algérien est estimé à 32 millions d'oliviers. La production en huile d'olive représente environ 1,4 % de la production mondiale (COI, 2015).

I-4-Procédés d'extraction

I-4-1- Procédé discontinu physique par pression

La pression est le procédé d'extraction de l'huile le plus ancien. La pâte est répartie en couche sur des scourtins, disques en fibre naturelle ou synthétique, faisant office d'armature et permettant la filtration lors de la pression. Ces disques sont empilés les uns sur les autres pour être ensuite pressés. On obtient deux phases: une phase liquide (l'huile et l'eau de végétation (margines), et une solide les grignons (pulpe et noyaux) qui reste entre les scourtins (Fig1). Les presses utilisées de nos jours sont des presses hydrauliques (Benyahia et Zein, 2003).

I-4-2- Procédé continu par centrifugation

Il est développé afin d'améliorer les rendements et de la productivité des huileries.

I-4-2-1- Système d'extraction continu avec centrifugation à trois phases

L'extraction de l'huile d'olive se fait à travers des phases successives contrairement au procédé discontinu. Les olives sont lavées, broyées, mélangées avec de l'eau chaude et malaxées pour former la pâte d'olive qui est ensuite diluée. Les phases liquides et solides sont séparées par centrifugation donnant les grignons et le mout. Le mout subit à son tour une centrifugation pour séparer l'huile des effluents d'huileries d'olive. Et donc les trois phases sont : Huile, Margines et Grignon (Roig *et al.*, 2006).

I-4-2-2- Système d'extraction continu avec centrifugation à deux phases

Ce procédé ne nécessite pas l'ajout d'eau pour la séparation des phases huileuse et solides contenant le grignon et les margines. Ce système permet d'extraire une huile d'olive de bonne qualité sans production d'effluents d'huileries d'olive. Son seul inconvénient est la production de grignon humide (Roig *et al.*, 2006).

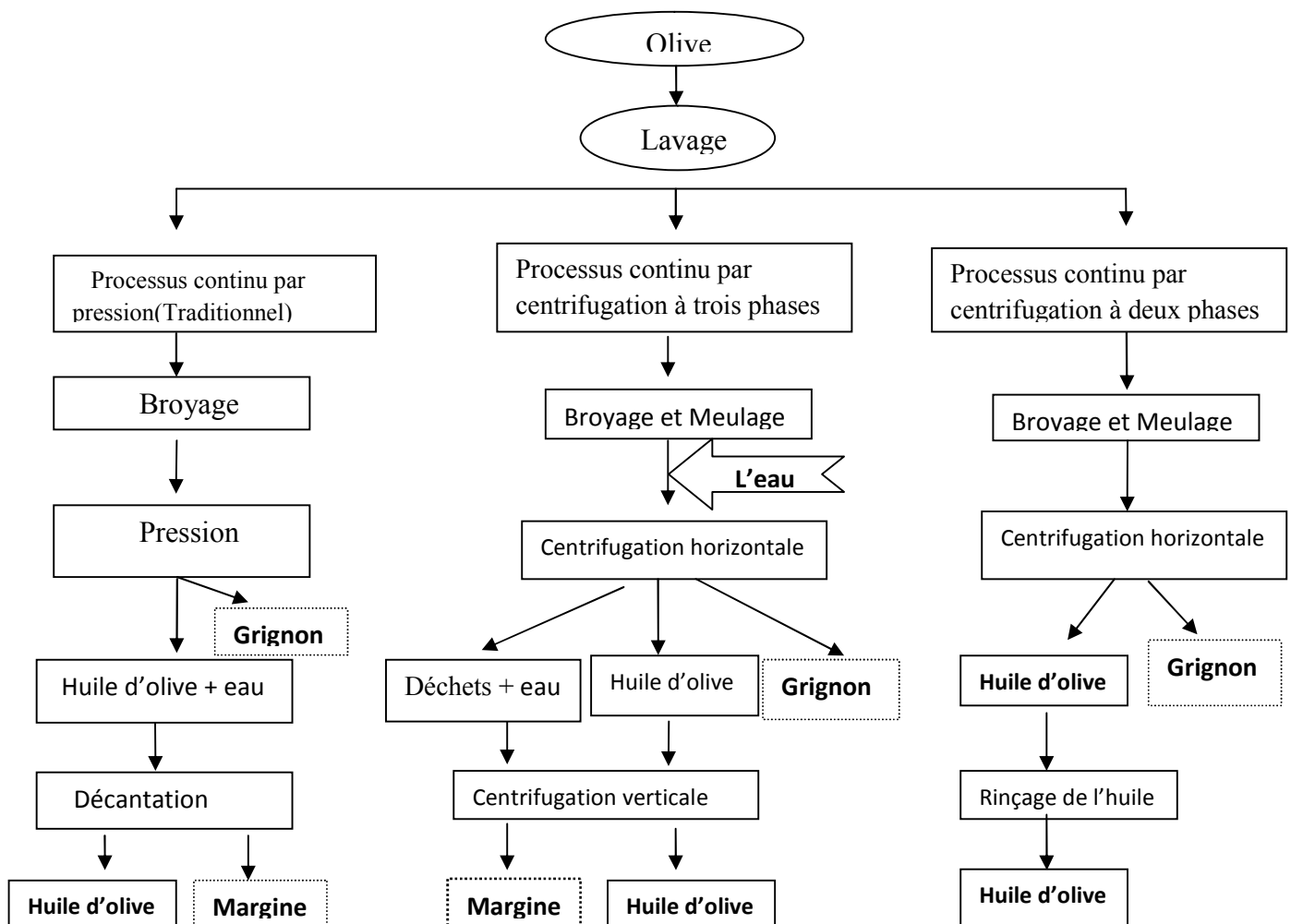


Figure 1 : Processus d'extraction de l'huile d'olive (Morillo *et al.*, 2009)

I-5- Huile d'olive

L'huile d'olive est une des principales composantes du régime dit « méditerranéen », connu pour son action bénéfique sur la santé. Elle est caractérisée par sa composition particulière en acides gras, en composés mineurs appartenant à la fraction insaponifiable des huiles végétales (COI, 2009). La qualité des huiles d'olive est un ensemble de caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques permettant le classement des huiles en différentes catégories, cette qualité est influencée par plusieurs facteurs, tels que les techniques culturales, l'apport hydrique, la période de récolte, les techniques d'extraction et les conditions de stockage (Pinatel *et al.*, 2004).

I-6- Sous produits d'extraction de l'huile d'olive

Le processus de trituration des olives produit principalement l'huile d'olive vierge et l'huile de grignon (huile secondaire extraite par des solvants organiques) et engendre deux résidus l'un liquide, les margines et l'autre solide, les grignons. Les olives contiennent environ 20% d'huile, 30% de grignons et 50% d'eau de végétation (Aissam, 2003).

II- Les margines

II-1- Origine

Les margines sont obtenues lors de l'extraction de l'huile d'olive à partir de l'eau contenue dans le fruit, ajoutée au cours du broyage et des étapes de trituration. La qualité et la quantité des margines dépendent de l'opération d'extraction d'huile d'olive. Elles sont aussi influencées par la variété d'olives, la saison de récolte, le taux de maturation des fruits et les conditions climatiques (Fiorentino *et al.*, 2003). Les différentes techniques d'extraction d'huile d'olive aboutissent à la formation des margines en quantités variables, allant de 400 à 500 L/tonne d'olives pour les unités traditionnelles et une tonne de margines /tonne d'olives pour les unités modernes (Achak *et al.*, 2009).

II-2- Caractéristiques physico-chimiques

Les margines ont une couleur brun à brun-rougeâtre, d'aspect trouble (Mebirouk, 2002). Ces effluents ont une forte charge saline et sont très acides, riches en matières organiques et en polyphénols peu biodégradables (Ait Baddi *et al.*, 2003). Ces eaux sont caractérisées par un pH de 4,5 à 5 et une conductivité de l'ordre de 10 mS/cm, due surtout aux ions Potassium, Chlorure, Calcium et Magnésium. La DCO (demande chimique en oxygène) peut varier de 50 à 220 g/l (Anderson *et al.*, 2003).

II-3- Caractéristiques microbiologiques

Les études microbiologiques effectuées sur plusieurs échantillons de margines ont confirmé l'absence totale de micro-organismes pathogènes. Donc ces effluents ne posent aucun problème hygiénico-sanitaire. Les levures et les champignons sont capables de s'y développer mieux que les bactéries (Aissam, 2003).

II-4- Composition

En général, les margines présentent une composition chimique très complexe et hétérogène:

- ✓ 83-88 % d'eau;
- ✓ 10,5-15% de matière organique;
- ✓ 1,5-2% de matières minérale;
- ✓ 1,25-2,4% de matières azotées totales;
- ✓ 0,03-1% de matières grasses;
- ✓ 1,0-1,5% de polyphénols.

Malgré le traitement des margines tout au long du processus, les margines finales contiennent toujours des résidus huileux qui n'ont pu être séparés lors des centrifugations verticales. Elles contiennent une variété de composés organiques et minéraux, de nature et de concentration très différentes. Cette variabilité dépend de la nature des olives, de leur degré de maturation, des pratiques culturales et du procédé utilisé pour l'extraction d'huile d'olive (Mulinacci *et al.*, 2001).

II-5- Fraction minérale

Les margines contiennent des quantités significatives de sels minéraux, leur teneur varie de 4 à 42 g/L pour celles issues de l'extraction par pression et 0,4 à 12,5 g/L pour celles de centrifugation (COI, 2008). Le tableau suivant montre les valeurs minimales et maximales des minéraux et des métaux lourds déterminées sur les margines issues de deux système d'extraction de l'huile.

Tableau I: Valeurs minimales et maximales des minéraux et métaux lourds déterminées sur les margines issues de deux systèmes d'extraction de l'huile (COI, 2008).

Éléments (g/L)	Procédé d'extraction de l'huile	
	Pression	Centrifugation
Potassium	1500-5000	630-2500
Calcium	58-408	47-200
Sodium	38-285	18-124
Magnésium	90-336	60-180
Fer	16,48-86,40	8,80-31,50
Manganèse	2,16-8,90	0,87-5,20
Cuivre	1,10-4,75	1,16-3,42

Zinc	1,60-6,50	1,42-4,48
Plomb	0,40-1,85	0,35-0,72

II-6- Fraction organique

Les margines comportent deux fractions organiques:

- une fraction insoluble constituée essentiellement de pulpes d'olives qui représente la matière en suspension et colloïdale.
- une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient les sucres, les composés azotés, les vitamines, les acides organiques, les lipides et les composés phénoliques (Fki *et al.*, 2005).

II-7- Composés phénoliques des margines

Les polyphénols sont molécules bioactives présentes dans les plantes, aux structures très hétérogènes ayant pour point commun la présence d'au moins un noyau aromatique (groupement phénol) sur le quel sont présents plusieurs groupements hydroxyles (-OH) (Crozier *et al.*, 2004). La figure suivante montre la structure de noyau phénol (Figure 02).

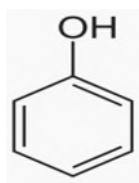


Figure 02: Structure de noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les composés phénoliques des margines proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction. Ils sont très divers et leur structure est très variable, ils sont plus solubles dans les eaux de végétation, ce qui explique leur concentration élevée dans les margines (Ranalli, 1991). La couleur des margines est fonction de l'état de dégradation des composés phénoliques et des olives dont ils dérivent (Hamdi et Ellouz, 1993).

II-7-1- Les monomères phénoliques

Différents monomères aromatiques ont été identifiés dans les margines tels que:

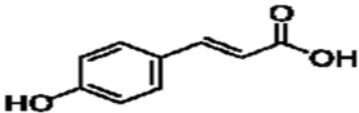
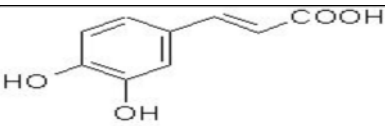
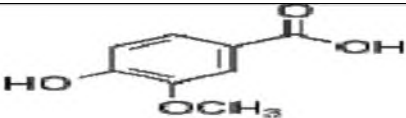
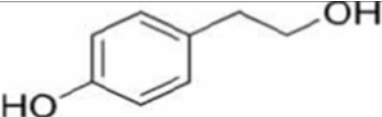
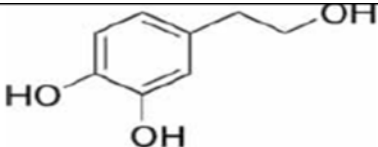
➤ Acides phénoliques

Ce sont les monomères les plus abondants dans les margines, ce qui explique leur acidité. Les principaux monomères sont: acide cinnamique (105 mg/L), acide p-coumarique (117 mg/L), acide caféique (140 mg/L), acide férulique (95 mg/L), acide vanillique (20 mg/L) (De Marco *et al.*, 2007).

➤ **Les alcools phénoliques**

Les principales molécules des margines sont le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) à une teneur de 210,6 mg/L et l'hydroxytyrosol (3,4- dihydroxyphenylethanol) à une teneur de 315,9 mg/L (**De Marco et al., 2007**). Comme l'indique la figure ci-dessous (**Tableau II**)

Tableau II: Structure des monomères phénoliques rencontrés dans les margines.

Composés phénoliques	Structure	Références
Acide <i>p</i> -coumarique		(D'Annibale et al., 2004 ; El Hajjouji et al., 2007)
Acide caféique		(D'Annibale et al., 2004; El Hajjouji et al., 2007)
Acide vanillique		(Azabou et al., 2007)
Tyrosol		(Fki et al., 2005; Ergül et al., 2009)
Hydroxytyrosol		(Fki et al., 2005; Ergül et al., 2009)

II-7-2- Les polymères phénoliques

Plusieurs polyphénols sont identifiés:

➤ **Les flavonoïdes**

Sont des substances généralement colorées, (*flavus* signifie: jaune en latin) (**Aruoma et al., 2003**). Ils ont tous la même structure chimique de base (**Figure 03**).

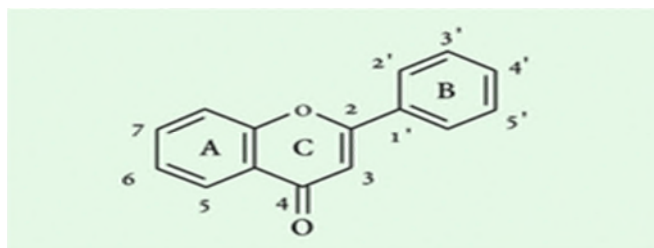


Figure 03 : Structure de base des flavonoides (**Aruoma et al., 2003**).

Un carbone de propane diphénylique et deux noyaux aromatiques (benzéniques), liés entre eux par une chaîne linéaire de trois carbones. Il a été montré que les margines contiennent un ensemble de flavonoïdes tels que: lutéoline-7-glucoside, l'héspéridine, la catéchine, les glycosides de cyanidine (**Ghedira, 2005**).

➤ Les tannins

Leur structure est très complexe, résultant de la condensation de certaines formes simples (**Macheix et al., 2005**). Ils sont classés conventionnellement en:

-Tannins hydrolysables: ils sont constitués par une molécule estérifiée par l'acide gallique ou un de ces dérivés. Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique.

-Tanins condensés: appelés aussi flavotanins. Ils sont formés par la polymérisation de la catéchine à différents degrés. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3 000. Le catécholmélaniquinique est le flavotanin le plus retrouvé en quantité élevée dans les margines (**Monties, 1980**).

➤ Caroténoïdes

Représentent un ensemble de pigments naturels très répandus dans la nature, ils dérivent chimiquement d'une structure de base formée par l'enchaînement linéaire de huit unités isopréniques (**Faure et al., 1999**).

II-8- Effets biologiques des polyphénols

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique (**Crozier et al., 2010**). De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires, les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (**Manach et al., 2005**). Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 1997**). Ces composés montrent des activités antioxydantes (**Gomez-Caravaca et al., 2006 ; Xiuzhen et al., 2010**), anticarcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, antithrombotiques analgésiques, antibactériennes, antiviraux (**Babar Ali et al., 2007**), anti-allergènes, vasodilatatrices (**Falleh et al., 2008 ; Hodgson et Croft, 2010**).

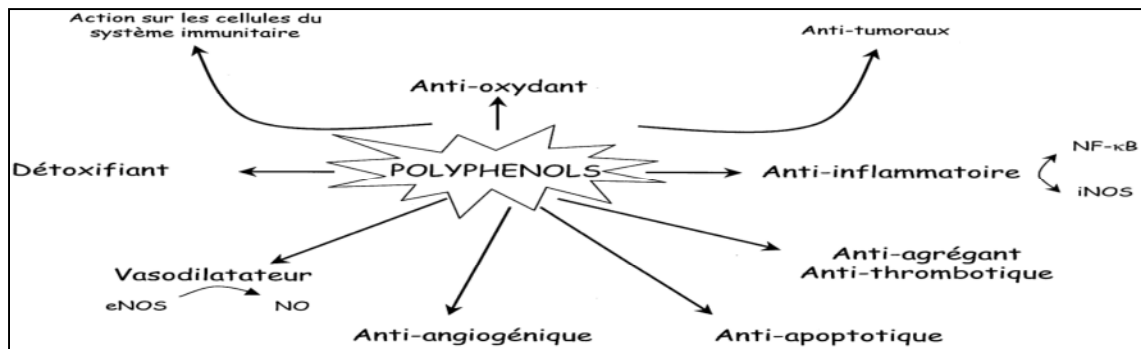


Figure 04: Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II-9- Valorisation des margines

Compte tenu de leur pourcentage en matière organique (10 à 25%) et de leur composition chimique, les margines seules ne peuvent constituer un produit de valeur ajoutée intéressante. Enrichies, mélangées à d'autres résidus agricoles, concentrées, séchées et/ou purifiées, elles peuvent être valorisées et employées pour la production de certains composants de valeur ajoutée. Au cours des dernières décennies, des études de plus en plus nombreuses ont été conduites par plusieurs chercheurs avec la vision de développer différentes applications de valorisation des margines en vue de limiter leur effet polluant (Obeid *et al.*, 2005).

II-9-1- Production de compost

Il s'obtient généralement par dégradation aéro-anaérobie de la substance organique, des résidus liquides (margines) qui a pour but de fixer les éléments fertilisants sur les substances carabinés pour restituer au sol en fonction des besoins de la plante. L'avantage du compost est l'absence des métaux lourds et de microorganismes pathogènes présentant des concentrations élevées en minéraux (Seirra *et al.*, 2007).

II-9-2- Production d'antioxydants

Parmi les composés phénoliques les plus extraits on distingue l'acide caféique, le tyrosol et l'acide 4-hydroxy-benzoïque. Tous ces composés sont caractérisés par une forte activité antioxydante et sont, par conséquent, d'un grand intérêt dans le domaine cosmétique et industries pharmaceutiques et dans la transformation des aliments. Après filtration pour éliminer les solides en suspension, tous les composés d'un intérêt potentiel peuvent être récupérés par des procédés physico-chimiques tels que ultrafiltration, nanofiltration et l'osmose inverse (Saladino *et al.*, 2001).

II-9-3- Production des Exopolysaccharides (EPS)

L'utilisation commerciale des exopolysaccharides fongiques tels que, par exemple: scléroglycane et schizophyllane pourrait être encouragée par le développement de processus fermentaires éventuellement en utilisant les déchets (marginés) (Crognale *et al.*, 2003).

II-9-4- Production d'enzymes

Les margines peuvent être utilisées comme milieu pour la production d'enzymes en utilisant les micro-organismes; les lipases microbiennes et les laccases (D'Annibale *et al.*, 2006).

II-9-5- Production de biogaz

L'application du processus de la digestion anaérobie des margines permet de transformer environ 80% des substances organiques en biogaz (65 à 70% de méthane) (Khoufi *et al.*, 2006).

MATERIEL ET METHODES

I- Matériel et méthodes

I-1-Matériel végétal

- **Les margines:** Deux types des margines sont utilisées. Cinq échantillons sont issus des presses traditionnelles de différentes régions (Beni-maouche, Bouhamza, Tazmalt, Tibane et Timezrit) et deux échantillons sont issus des unités de centrifugation à trois phases (Akbou et Brouira) la fin novembre 2015 et fin janvier 2016.
- **Huile résiduelle des margines:** certains échantillons des margines (Beni-maouche, Tazmalt, Tibane et Timezrit) contiennent une teneur d'huile dénommée (**Huile résiduelle**).

II-Les Analyses effectuées sur l'huile résiduelle

II-1- Les analyses physico-chimiques

II-1-1-Mesure de l'acidité

L'acidité est déterminée selon la méthode décrite dans la réglementation **CEE/2568/91**.

- **Principe:** Consiste au titrage des acides gras libres présents par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.
- **Mode opératoire:** Un échantillon de 5g est solubilisé dans 20ml d'un mélange (V/V) di éther-éthanol à 95%. Le mélange est titré en agitant avec une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 0,1N jusqu'à virage de l'indicateur coloré (phénolphtaléine) vers le rose persistant pendant au moins 10 secondes. Un essai témoin (sans matière grasse) est réalisé dans les mêmes conditions.

$$A(\%) = (v - v_0) * N * P / 10 * m$$

V: volume en ml de la solution de KOH nécessaire pour neutraliser l'éthanol.

V₀: volume en ml de la solution de KOH à blanc.

N: normalité de la solution KOH à 0,01N .

m: masse molaire (g/ml) de l'acide oléique =282g/ml.

P: prise d'essai en g.

II-1-2- Mesure de l'indice de Peroxyde

- **Principe:** L'indice de peroxyde est le nombre d'équivalent d'oxygène actif par kilogramme d'huile oxydant l'iodure de potassium avec libération de l'iode.
- **Mode opératoire:** Le protocole décrit dans le règlement CEE/2568/91 a été adopté pour la détermination de cet indice. 2g d'huile sont mis en solution dans 10 ml de chloroforme. 15ml d'acide acétique et 1ml d'une solution saturée d'iodure de potassium (KI) sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 1minute. Après réaction pendant 5minute à l'obscurité, 75ml d'eau distillée sont ajoutés et l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,01N en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur coloré. Un essai témoin est réalisé dans les mêmes conditions.

L'indice de peroxyde est déterminé selon la formule suivante:

$$IP = N \cdot (V - V_0) \cdot 1000 / m \text{ (meq d'O}_2\text{/kg)}$$

N: normalité de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Vet V_0 : volume en ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ nécessaire pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à blanc respectivement.

m: masse en gramme de la prise d'essai.

II-1-3- Détermination de l'extinction spécifique dans l'UV

- **Principe :** l'extinction spécifique dans l'UV a été déterminée selon la méthode décrite par le COI. (1996).
- **Mode opératoire:** Après filtration des échantillons d'huile à travers le sulfate de sodium anhydre, une masse de 0.25g est été introduite dans une fiole de 25ml et le cyclohexane à été ajouté jusqu'au trait de jauge. L'absorbance des échantillons d'huiles filtrées a été mesurée à deux longueurs d'ondes 232 et 270 nm.

Les coefficients d'extinctions à 232 et 270nm sont exprimés par l'équation suivante:

$$E_{1\text{cm}\lambda}^{1\%} = A_{\lambda} / C \cdot I$$

E: Extinction spécifique à la longueur d'onde λ .

A_λ : Absorbance mesurée à la longueur d'onde λ .

C: Concentration de la solution en grammes par 100 millilitres.

L: Épaisseur de la cuve en centimètre.

II-2-2- Extraction des polyphénols totaux

- **Principe :** l'extraction des polyphénols en phase solide est réalisée en suivant le protocole de **Favati *et al.* (1994)**.
- **Mode opératoire:** Il consiste à l'introduction d'un échantillon de 1g d'huile dissout dans 10 ml d'hexane à travers une colonne d'octadecyl (C18) préalablement activée avec 6 ml de méthanol et 10 ml d'hexane. Les composés phénoliques sont récupérés par élution de la colonne avec du méthanol.

II-2-3-Dosage des composés polyphénols

- **Principe:** Le réactif Folin Ciocalteu, consiste en une solution Jaune acide; contenant un complexe polymérique d'ions formés à partir d'hétéro polyacides phospho-molybdiques ($H_3PMO_{12}O_{40}$) et phospho-tungstiques ($H_3PW_{12}O_{40}$). Il oxyde les phénols en ions phénolates en milieu alcalin et réduit partiellement ces hétéropolyacides d'où la formation d'un complexe molybdotungstene bleu La coloration bleuâtre obtenue est proportionnelle à la quantité de phénols présente (**Ribéreau Gayon , 1968**).
- **Mode opératoire:** L'estimation de la teneur en composés phénoliques est réalisée selon la méthode de **Favati *et al.* (1994)**. Dans des fioles de 20 ml, sont mélangés 2 ml d'extrait méthanolique, 5ml d'eau distillée et 0,5ml de réactif Folin-Ciocalteu. Après 3min de réaction, 4ml d'une solution de carbonate de sodium à 10% sont ajoutés et le volume est ajusté à 20ml avec de l'eau distillée. Après 90 min d'incubation à l'obscurité, la solution est centrifugée et l'absorbance est mesurée à 765 nm.

La concentration en composés phénoliques des extraits de l'huile est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard (**Annexe I**). Les concentrations en polyphénols totaux des extraits méthanoliques d'huile d'olive sont exprimées en mg d'E.A.G /Kg.

II-2-4- Dosage des *ortho*-diphénols

- **Principe :** Le contenu *Ortho*-diphénolique a été déterminé suivant le protocole figuré (Arnow, 1937).
- **Mode opératoire:** un volume d'extrait méthanolique de 400 μ l a été mélangé avec trois solutions ajoutées dans l'ordre suivant: solution A (HCl de 0,5 M, 400 μ l), solution B (NaNO₂ de 1,45 M - Na₂MoO₄ de 0,4 M, 400 μ l), solution C (NaOH de 1 M, 400 μ l). L'absorbance de l'échantillon a été mesurée à 500 nm et le contenu *ortho*-diphénolique a été déterminé en se référant à une courbe d'étalonnage (**Annexe II**). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide caféique.

III-Les Analyses effectuées sur les margines

III-1-Les analyses physico-chimiques

III-1-1-Détermination de taux de matière grasse

- **Principe:** consiste à la détermination de taux de matière grasse.
- **Mode opératoire:** on mesure 100ml de margines à l'aide d'une éprouvette puis on la laisse décanter pendant 24 heures, on déduit le taux d'huile résiduelle remonté exprimée en g/L.

III-1-2-Détermination du pH

- **Principe:** Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres (H) contenue dans l'huile d'olive AFNOR (1983).
- **Mode opératoire:** Avant d'effectuer une mesure, on règle la température du pH mètre, rincer la sonde à l'aide d'eau distillée, puis l'essuyer. On prend 100 ml des margines à analyser dans un erlenmeyer, on plonge la sonde dans la solution et on lit le pH.

III-1-3-Mesure de l'acidité

- **Principe:** l'acidité est mesurée par un pH mètre étalonné avec des solutions tampons 4,7.

- **Mode opératoire:** 10 ml de margines ont été transvasés dans des béchers de 100 ml. Le titrage est réalisé par une solution de NaOH (0,1N) et continuer jusqu'à obtention du pH 8 (Esmail *et al.*, 2014).

$$\text{L'acidité en } ^\circ\text{D} = 10V$$

V: volume de NaOH versé.

III-1-4-Détermination de la conductivité

- **Principe :** le but de ce test est la détermination des espèces ionisantes (Rodier, 1984).
- **Mode opératoire:** après avoir lavé l'électrode et étalonné avec une solution de KCl, on procède à la mesure de la conductivité.

III-1-5-Détermination de taux d'humidité et de la matière sèche

- **Principe :** elle est déterminée en calculant la différence entre le poids de l'échantillon humide et celui de l'échantillon séché (Tovar *et al.*, 2002).
- **Mode opératoire:** un échantillon de 20g a été séché à 105 C° pendant 24h, puis refroidi dans un dessiccateur. La teneur en eau est exprimée en pourcentage de masse:

$$\text{Humidité (\%)} = (P - P_s) / (P - P_o)$$

$$\text{MS(\%)} = 100 - \text{Humidité(\%)}$$

P: poids du creuset + échantillon avant séchage.

P_s: poids du creuset + échantillon après séchage.

P: poids du creuset vide.

III-1-6- Mesure de la matière en suspension(MES)

- **Principe :** elle est déterminée par filtration sur des filtres de porosité 0,45 µm de diamètre.
- **Mode opératoire :** la teneur en matière en suspension est déterminée par différence de poids du filtre avant et après filtration et séchage à l'étuve à 105°C pendant 24h selon Rodier (1996).

$$\text{MES} = \text{PF} - \text{PS} / \text{PF}$$

PF: poids frais

PS: poids sec

III-2-2-Extraction des composés phénoliques des margines

- **Principe :** les composés phénoliques des margines délipidées ont été extraits par la méthode d'extraction liquide-liquide qui utilise l'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction.
- **Mode opératoire:** (100: 100, ml/ml). Après centrifugation pendant 10 min (4000 tr/min), le mélange est complètement séparé en deux phases. La phase organique riche en composés phénoliques (surnageant) est récupérée puis, soumise à une évaporation sous vide dans un évaporateur rotatif (**Leouifoudi *et al.*, 2015**).

III-2-3-Dosage des composés phénoliques

On a procédé selon le même protocole décrit par la méthode : **Favati *et al.* (1994) (Annexe III)**.

III-2-4- Dosage des *ortho*-diphénols

On a procédé suivant le même protocole déjà décrit par : (**Arnou, 1937) (Annexe II)**.

III-2-5-Dosage des flavonoïdes

- **Principe :** le protocole de **Kim *et al.* (2003)** a été utilisé.
- **Mode opératoire :** 0,4 ml d'eau distillée, 0,03ml de nitrite de sodium et 0,02ml de chlorure d'aluminium sont ajoutés à 0,1ml d'extrait, le tout est laissé à l'obscurité pendant 5 minutes. Après addition de 0, 2ml d'hydroxyde de sodium (1M) et de 0,25ml d'eau distillée, l'absorbance est lue à 510nm et la teneur en flavonoïdes est exprimée en meq de quercétine /100 ml en se référant à une courbe d'étalonnage (**Annexe IV**).

III-2-6-Dosage des tanins condensés

- **Principe :** les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide tel que décrite par (**Ba *et al.*, 2010**).

IV – Analyse statistique:

Les résultats représentent une moyenne de trois essais. Une analyse de la variance, **ANOVA** par le logiciel **STATISTICA** est utilisée pour une comparaison des résultats et le degré de signification des données est estimé à la probabilité **P<0,05**. Le test de Newman et Keuls est utilisé pour la comparaison intergroupe entre les échantillons.

RESULTATS ET DISCUSSION

I-Résultats et discussion

I -1- L'huile résiduelle

I -1-1- Les paramètres physico-chimiques

I-1-1-1- L'acidité

Les valeurs de l'acidité sont représentées dans la figure suivante :

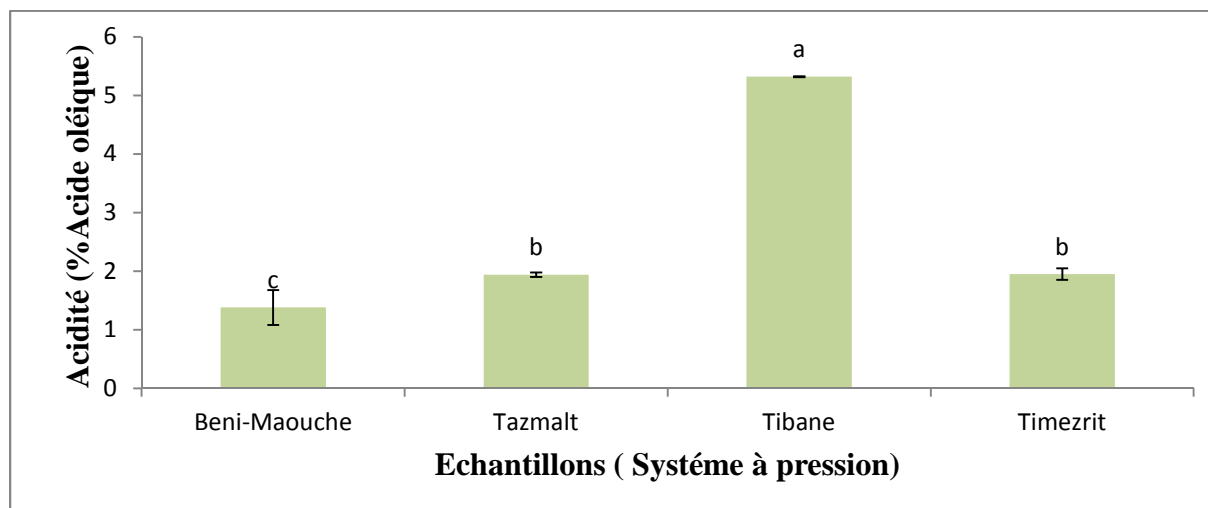


Figure 06: Acidité de l'huile résiduelle des margines.

*Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines.
Les barres verticales représentent les écarts types.*

L'étude statistique a révélé que les valeurs de l'acidité des margines diffèrent significativement ($p < 0,05$). L'acidité libre de l'huile résiduelle des margines de différentes régions étudiées se situe entre (1,38 et 5,32 %). Sur la base de ces résultats et selon la norme commerciale du Conseil Oléicole International, aucune huile analysée n'est du type extra vierge (acidité inférieur à 0,8 %). Les échantillons provenant de Béni-Maouche, Timezrit et Tazmalt ont des acidités respectivement de 1,38%, 1,95% et 1,94%, peuvent être classées dans la classe des huiles d'olive vierge. Par contre, l'huile issue des margines de la région de Tibane dont l'acidité est de l'ordre de 5,32% peut être classée dans la catégorie des huiles vierges impropres à la consommation (COI, 2011). Les acidités élevées que nous avons obtenues peuvent être expliquées par l'état de maturité très avancé des fruits et à l'insuffisance de précautions prises lors de la récolte ou du stockage des olives ce qui entraîne la détérioration des fruits et par conséquent l'augmentation de la teneur en acides gras libres, sous l'action des lipases (Chimi, 2001).

Nos résultats sont légèrement inférieurs à ceux obtenus par Elkacmi *et al.* (2016) l'huile résiduelle des margines issues par système à presse (3,397%).

I-1-1-2-Indice de peroxyde

L'étude statistique a révélée que les valeurs de l'indice de peroxyde de l'huile résiduelle des margines différent significativement ($p < 0,05$) entre les échantillons (figure 2):

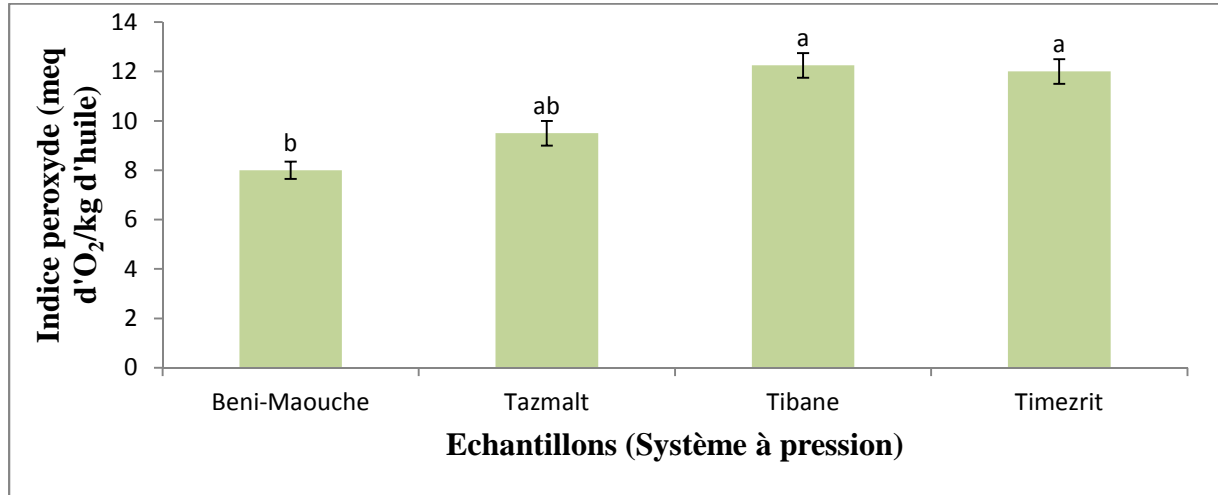


Figure 07: Indice de peroxyde de l'huile résiduelle des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines.

Les barres verticales représentent les écarts types.

L'indice de peroxyde des huiles est compris entre des valeurs allant de 8 à 12,25 meq O₂/kg d'huile. La plus petite valeur est enregistrée pour l'échantillon de Beni-Maouche (8 meq O₂/kg d'huile) alors que la plus grande valeur est observée pour l'échantillon de Tibane (12,25 meq O₂/kg d'huile). Ces valeurs restent inférieures à la limite établie par la norme commerciale du Conseil Oléicole International pour les huiles d'olives (20 meq O₂ actif / kg d'huile olive), cette différence est due principalement à l'état d'oxydation de l'huile suite aux conditions de récoltes et post récoltes des olives (**Meftah et al., 2014**).

Elkacmi et al. (2016) ont rapporté des valeurs similaires pour des huiles résiduelles des margines issues par pression dans la région de Fès.

I-1-1-3- L'absorbance dans l'ultraviolet

Les valeurs des extinctions spécifiques obtenues pour les échantillons étudiés en ultraviolet à 232 nm et à 270 nm sont présentées sur la figure ci dessous:

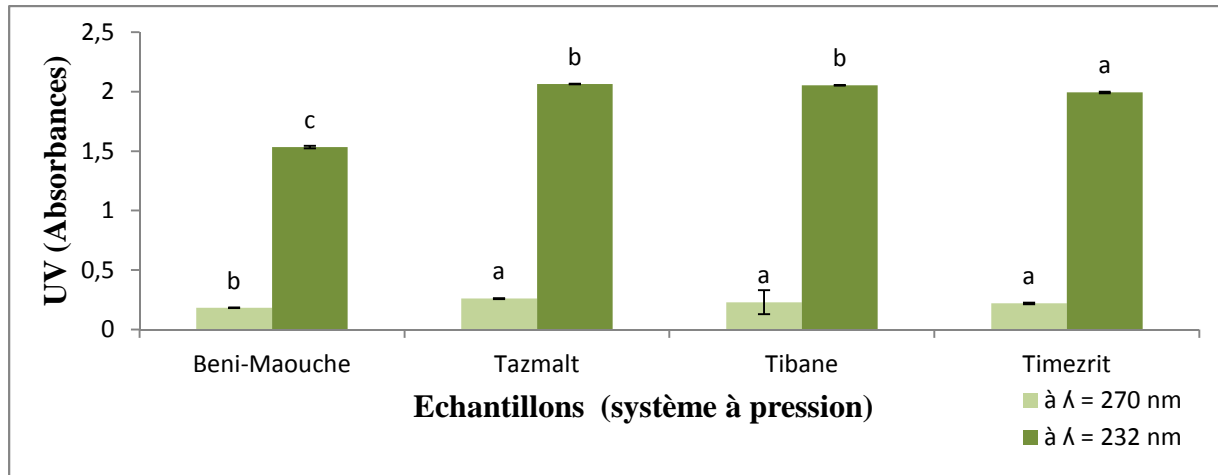


Figure 08: Extinction spécifique à 232 et 270 nm de l’huile résiduelle des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression.

Les barres verticales représentent les écarts types.

L’étude statistique a révélé que les valeurs de l’extinction spécifique des l’huiles différent significativement ($p < 0,05$). Les valeurs de K_{232} et K_{270} obtenues pour les échantillons de Beni-Mouche, Tazmalt et de Timezrit indiquent qu’elles n’excèdent pas les limites fixées par le conseil oléicole international pour les huiles d’olives vierges et fines respectivement inférieures ou égales à 2,60 et 0,25. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces résultats: une récolte tardive des olives, ou bien à une exposition excessive des olives et de l’huile extraite à l’oxygène de l’air et à la lumière (Tanouti *et al.*, 2011).

I-1-2-Composés phénoliques totaux de l’huile résiduelle

Les teneurs en composés phénoliques de l’huile résiduelle des margines issues par pression sont montrées dans la figure suivante:

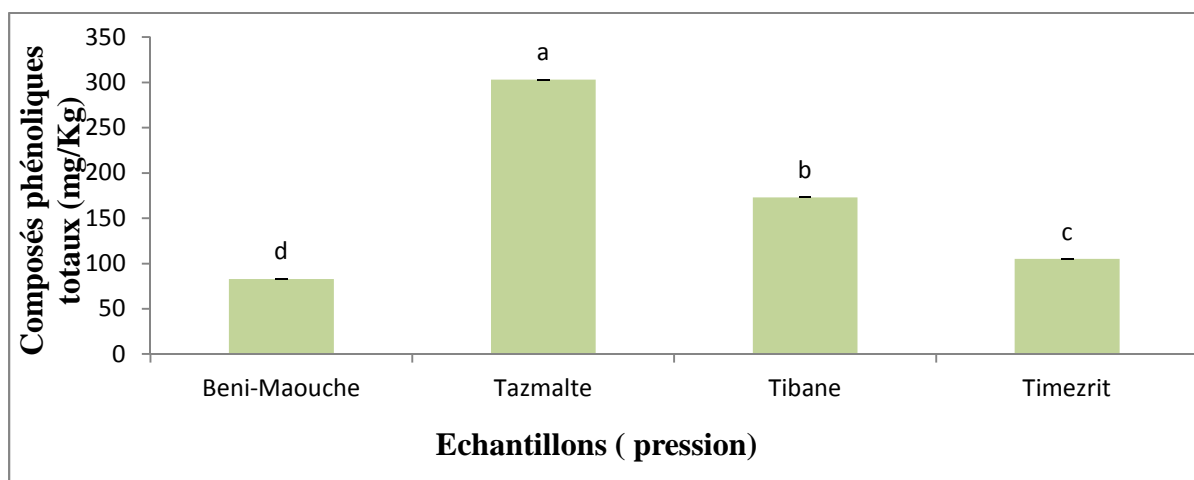


Figure 09: Teneur en composés phénoliques de l’huile résiduelle des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression.

Les barres verticales représentent les écarts types.

L'étude statistique montre que les valeurs des composés phénoliques de l'huile diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les échantillons. Les huiles étudiées contiennent des quantités différentes de composés phénoliques qui varient entre (83,02 et 303,04 mg EAG/kg). La plus grande valeur est enregistrée pour l'échantillon de Tazmalt (303,04 mg EAG/kg), et la plus faible est notée pour l'échantillon de Béni-Maouche (83,02mg EAG/kg). Les variations des teneurs observées peuvent être dues à la différence du degré de maturité des olives avant trituration (récolte précoce des olives), à la variété cultivée et à la zone géographique (**Garcia *et al.*, 2003**). Certains composés relativement hydrosolubles peuvent passer dans les margines (**Chimi *et al.*, 2006**).

Nos valeurs sont situées dans la fourchette obtenue par **Meftah *et al.* (2014)** (179,9 à 281,35 mg/kg) à l'exception des échantillons de Tazmalt et Béni-Maouche.

I-1-3-Les *ortho*-diphénols de l'huile résiduelle

La figure 5 montre les teneurs en *ortho*-diphénols des différents échantillons.

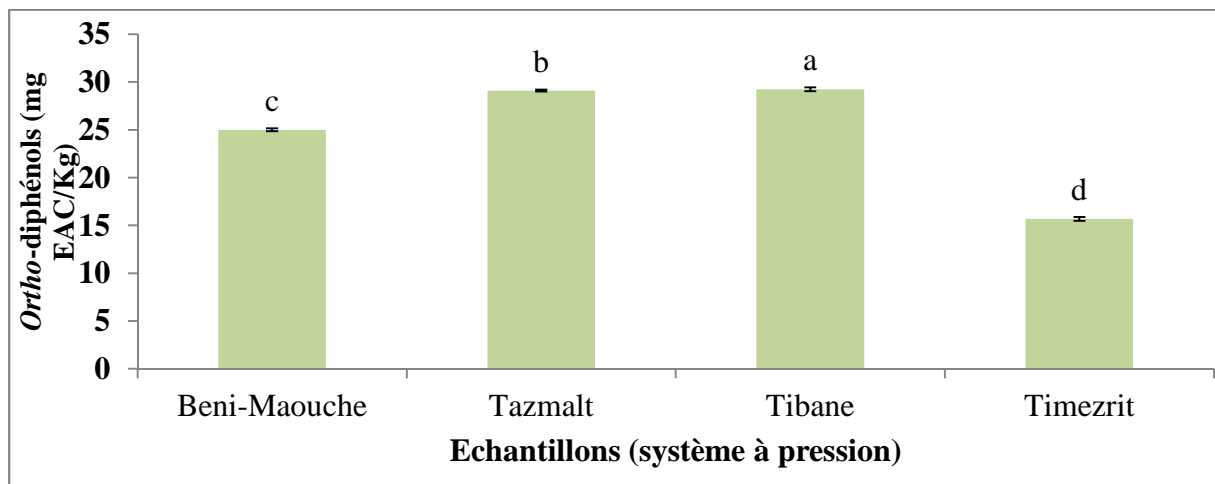


Figure 10: Teneurs en *Ortho*-diphénols de l'huile résiduelles des margines.

*Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression
Les barres verticales représentent les écarts types.*

Les teneurs en *ortho*-diphénols des huiles étudiées varient entre 15,6 et 29,2 mg EAC/Kg. La plus grande valeur est enregistrée pour l'échantillon de la région de Tibane (29,2mg EAC/kg) et la plus faible valeur est notée pour l'échantillon de la région de Timezrit (15,6mg EAC/kg). Des différences significatives sont notées entre les différents échantillons. Cette variabilité des *ortho*-diphénols est fonction du profil variétal (**Ucella *et al.*, 1994**).

Les huiles résiduelles étudiées renferment des teneurs sont (2,7 à 4,5 mg/100g). proches de celles obtenues par **Haddam *et al.* (2014)**.

I-2-Les analyses effectuées sur les margines

I-2-1-Les paramètres physico-chimiques

I-2-1-1- Taux de matière grasse

La teneur en huile résiduelle de nos échantillons est montrée dans la figure suivante :

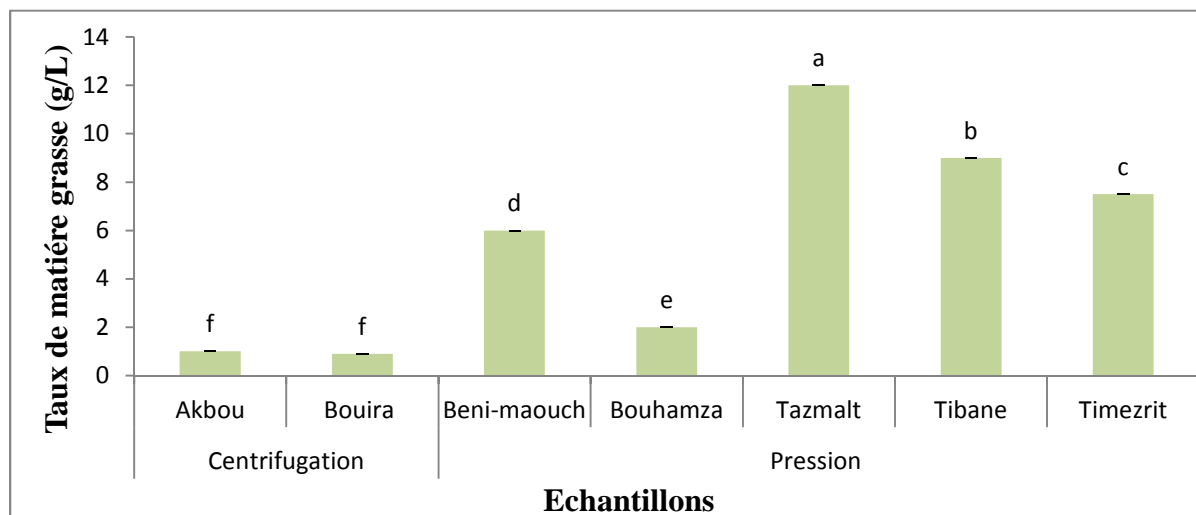


Figure 11: Teneurs en huile résiduelle des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines.

Les barres verticales représentent les écarts types.

L'étude statistique montre que les teneurs des margines en huile résiduelle diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les échantillons. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées pour les échantillons issus de système à presse: Tazmalt, Tibane, Timezrit et Beni-Maouche dont la teneur est respectivement 12g/L, 9g/L, 7,5g/L et 6g/L. Des teneurs inférieures sont obtenues pour le système centrifugation à trois phases: Akbou (1g/L), Bouira (0,9g/L). Il est en ressort de nos résultats que le système centrifugation à trois phases est plus efficace pour l'extraction d'huile d'olive comparativement au système traditionnel, ce qui est en accord avec les résultats de **Mebirouk (2002)**.

Khoufi et al. (2008) ont noté des teneurs de l'ordre $12 \pm 1,7$ g/L d'huile résiduelle pour des margines issues au système discontinu.

I-2-1-2-Mesure de pH et détermination de l'acidité

Les valeurs de pH et de l'acidité sont illustrées dans la figure suivante:

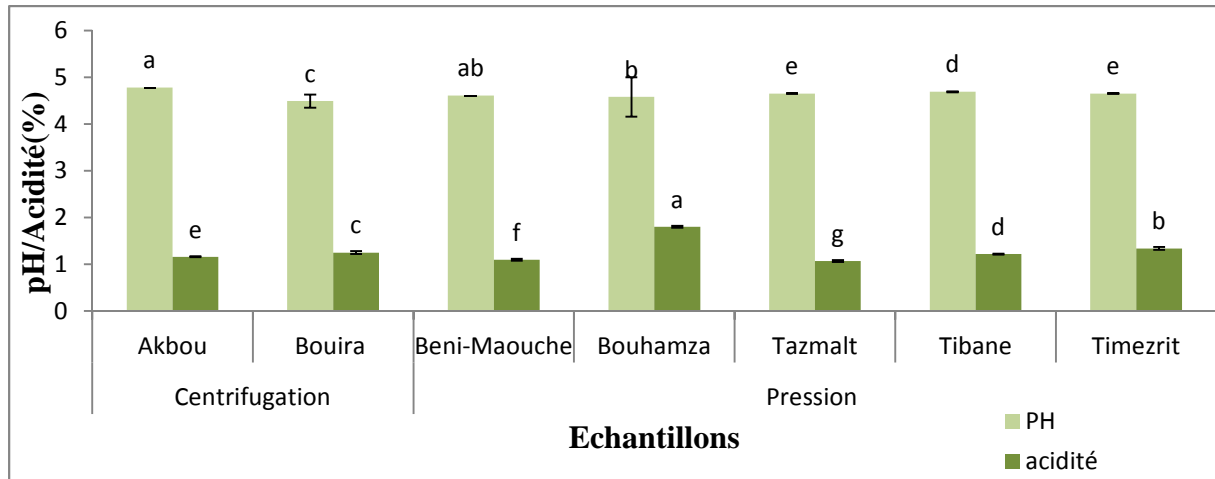


Figure 12: Valeurs de pH et de l'acidité des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation

Les barres verticales représentent les écarts types.

L'étude statistique montre que les valeurs de pH et de l'acidité des margines diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les deux processus d'extraction et au sein du même procès. Les valeurs de pH enregistrées pour les deux systèmes d'extraction sont proches l'une de l'autre (4,49 à 4,78). Ces valeurs faibles de pH sont dues à la richesse des margines en acides organiques (acides phénoliques, acide gras, etc). Le changement de la couleur initiale des margines du marron vers noir très sombre serait le résultat des réactions d'auto-oxydation et de polymérisation qui transforment les alcools phénoliques en acides phénoliques (**Assas *et al.*, 2009**).

Les valeurs de pH que nous avons obtenues correspondent à celles citées dans la littérature (4,5 à 6) (**Assas *et al.*, 2009**); il en est de même pour l'acidité (**Esmail *et al.*, 2014**). **Yaakoubi *et al.* (2009)** ont noté des pH de 4,76 et 4,92 respectivement pour les margines de presse et les margines de centrifugation.

I-2-1-3-Conductivité

La conductivité électrique constitue un indicateur du degré de la minéralisation globale des eaux. Elle dépend de la concentration des ions (surtout Cl^- , Mg^{2+} , Ca^{2+} et K^+) et de la température.

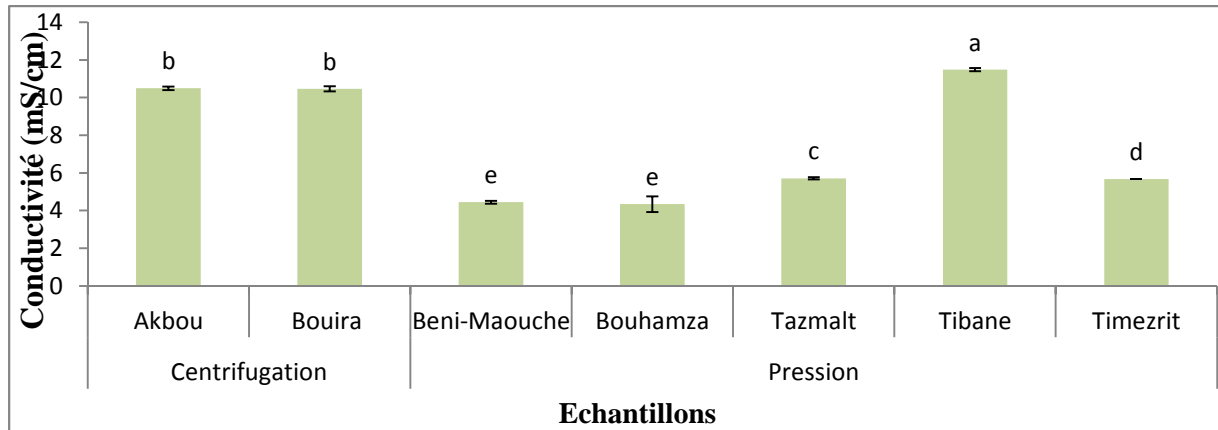


Figure 13: Conductivité des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois phases. Les barres verticales représentent les écarts types.

L'étude statistique montre que la conductivité des margines est affectée significativement ($p < 0,05$). Les résultats montrent qu'à l'exception des margines de Tibane, les margines issues du système à pression (Bouhamza, Beni-maouche, Timezrit et Tazmalt) sont largement inférieures (presque la moitié) à celles obtenues par le système à trois phases (Akbou et Bouira). Ces variations peuvent être liées à la concentration des substances dissoutes, leur nature et aussi due au salage pratiqué pour conserver les olives jusqu'à trituration (Achak *et al.*, 2008).

Les margines étudiées renferment des valeurs inférieures à celles indiquées par Di Serio *et al.* (2008) (18 et 50 mS/cm) et proches de celles enregistrées par Yaakoubi *et al.* (2009) pour des systèmes d'extraction similaires aux nôtres.

I-2-1-4-Détermination de taux d'humidité et de matière sèche

Les teneurs en eau sont représentées dans la figure suivante :

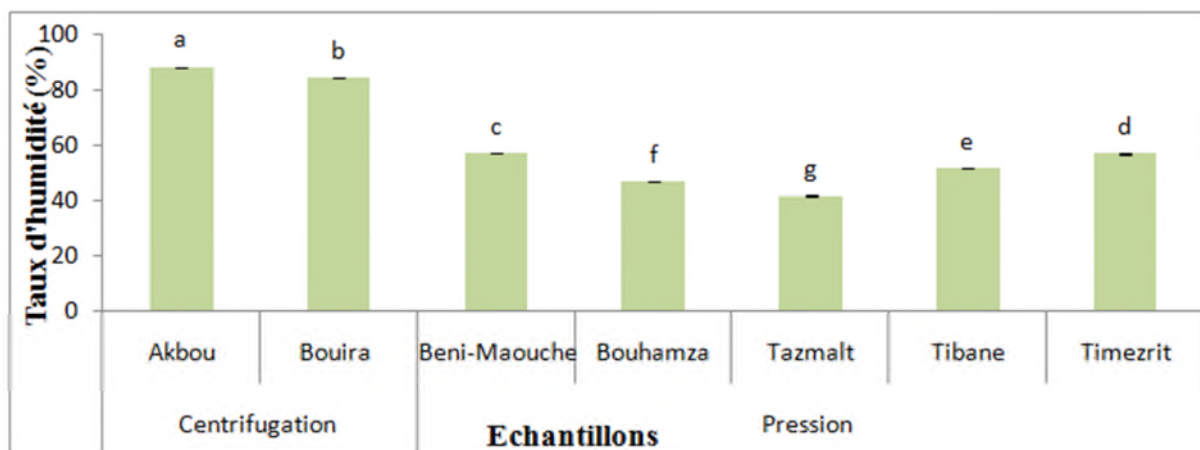


Figure 14: Taux d'humidité des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois phases. Les barres verticales représentent les écarts types.

L'étude statistique montre que les teneurs des margines en composés phénoliques diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les échantillons étudiés. Des teneurs de l'ordre 88,48% et 84,47% sont obtenues pour le système centrifugation, largement supérieures à celles enregistrées pour le système traditionnel. Ces résultats peuvent être expliqués par: les unités de trituration dotées d'équipements relativement modernes, le processus de production met en jeu l'addition de grande quantité d'eau (Vitolo *et al.*, 1999).

Ouabou *et al.* (2014) ont noté des valeurs proches (86%, 87,3% et 87,6%) pour des margines provenant de trois unités de trituration traditionnelles du Maroc. Sbai et Loukli, (2015) ont noté des teneurs inférieures pour des margines prélevées dans une huilerie semi moderne à Fès (15%).

Les teneurs en matière sèche sont représentées dans la figure ci-dessous:

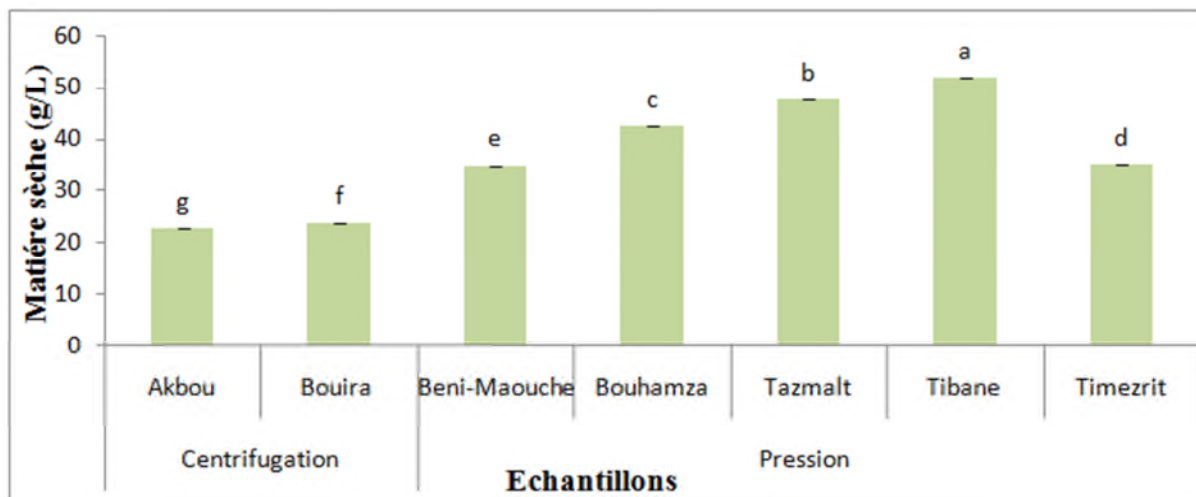


Figure 15: Taux de matière sèche des margines

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois phases. Les barres verticales représentent les écarts types.

Les résultats obtenus montrent que les margines testées contiennent des concentrations variables en matières sèches totales (22,60 à 47,69 g/L). Les plus grandes valeurs sont enregistrées pour les margines issues par pression: Tazmalt (47,69g/L), Bouhamza (42,59g/L), Tibane (38,62g/L), Timezrit (35,00g/L) et Béni-Maouche (34,84g/L); par contre celles issues par centrifugation renferment des valeurs moyennes: Bouira (23,67g/L) et Akbou (22,60g/L). Ceci peut être expliqué par le fait que la dilution des pâtes d'olives avec de l'eau chaude, requise par le système de centrifugation, se traduit par une dilution des eaux de végétation produites Achak *et al.*(2008).

Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **Achak *et al.*, (2008)** dont la valeur maximale est de 56,75g/L, pour des margines brutes issues dans une huilerie moderne à Marrakech. **Yaakoubi *et al.* (2009)** ont noté des valeurs de 37,4 g/L et 74,95 g/L respectivement pour des margines de centrifugation et de pression.

I-2-1-5- Détermination de taux de matière en suspension

Les résultats obtenus pour la matière en suspension des margines étudiés sont illustrés dans la figure ci-dessous:

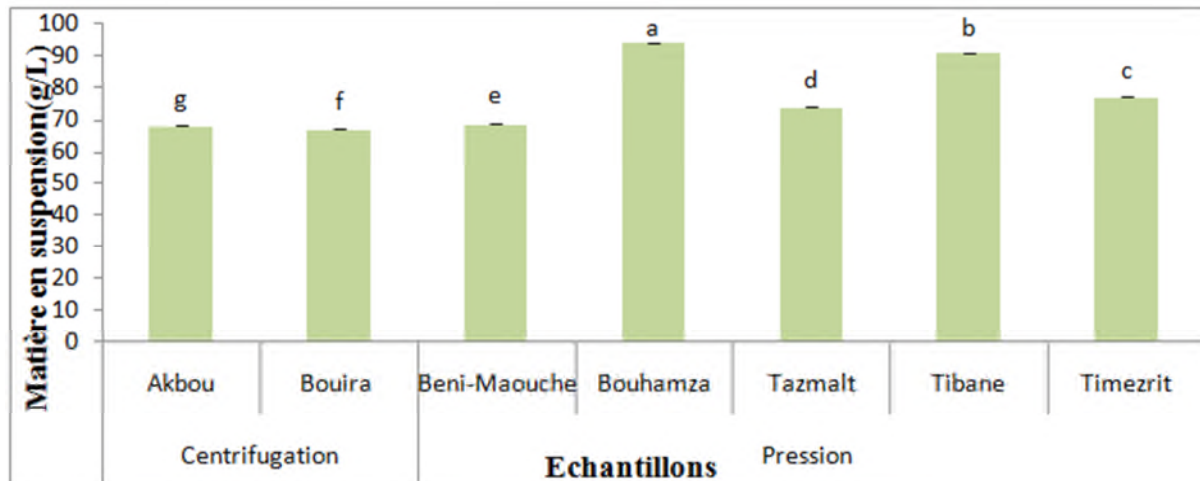


Figure 16: Taux de matière en suspension des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois phases. Les barres verticales représentent les écarts types.

Les résultats obtenus varient entre 67g/L à 94 g/L. Des différences significatives sont notées entre les échantillons des margines issues des deux systèmes d'extraction. Les valeurs les plus faibles sont notées pour les échantillons issus du système centrifugation à trois phases qui pourraient être expliquées par la quantité importante d'eau utilisé dans ce système.

Nos résultats dépassent ceux obtenus par **Hanafi *et al.*, (2009)** qui ont noté des valeurs de 213 mg/L pour les margines issues des unités de trituration traditionnelle au Maroc. El **Abassi *et al.* (2012)** ont signalé des valeurs proches des nôtres; 87 g/l pour les margines issues des systèmes semi-moderne et 48 g/l pour celles issues du système moderne.

I-2-2-Composés phénoliques totaux (CPT)

Les teneurs des composés phénoliques totaux sont représentées dans la figure suivante:

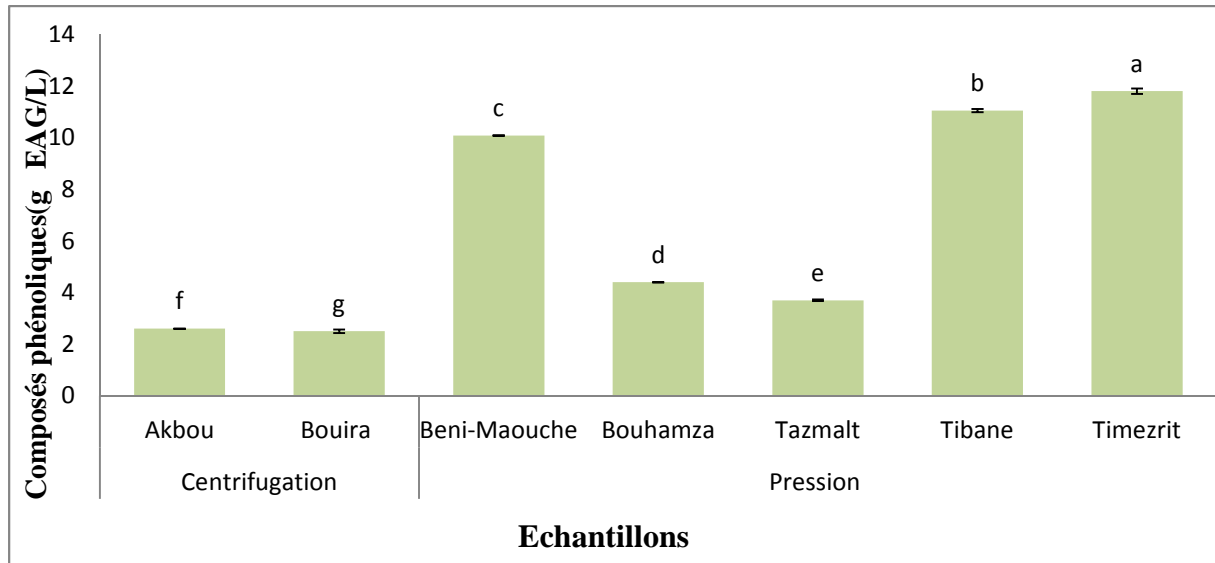


Figure 17: Teneur en composés phénoliques totaux des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois phases. Les barres verticales représentent les écarts types.

L'étude statistique montre que les teneurs des margines en composés phénoliques diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les échantillons étudiés. Les margines testées contiennent des quantités notables en composés phénoliques qui varient de 2,5 à 11,81 g EAG/L. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées pour les margines issues par pression: Timezrit (11,83g EAG/L), Tibane (11,06g EAG/L) et Beni-Maouche (10,09g EAG/L). Toutefois des teneurs moins élevées sont notées pour les margines de la région de Bouhamza (4,40g EAG/L) et Tazmalt (3,70g EAG/L) issues du même système. Les margines issues par centrifugation renferment les teneurs les plus faibles: Akbou (2,60g EAG/L) et Bouira (2,50g EAG/L). Cette différence entre les deux systèmes peut être due à la composition des margines qui varie qualitativement et quantitativement en fonction de la variété d'olive, de la durée de stockage des olives et du procédé d'extraction de l'huile d'olive (Davies *et al.*, 2004; Ergül *et al.*, 2009).

Les margines analysées renferment des teneurs en composés phénoliques situées dans l'intervalle indiqué par Ben Sassi *et al.* (2006) (5,5 à 12 g/L de margines) dans les effluents des huileries d'olive au Maroc. Pour Yaakoubi *et al.* (2009), les margines de presse sont plus riches en composés phénoliques (17,07 g/L) que les margines de centrifugation (7,315 g/L). Abassi *et al.* (2012) ont signalé aussi des différences importantes entre le système semi-moderne (9,82 g/L) et le système moderne (6,11 g/L).

I-2-3-Ortho-diphénols

Les teneurs en *ortho*-diphénols des margines analysées sont illustrées dans la figure ci après:

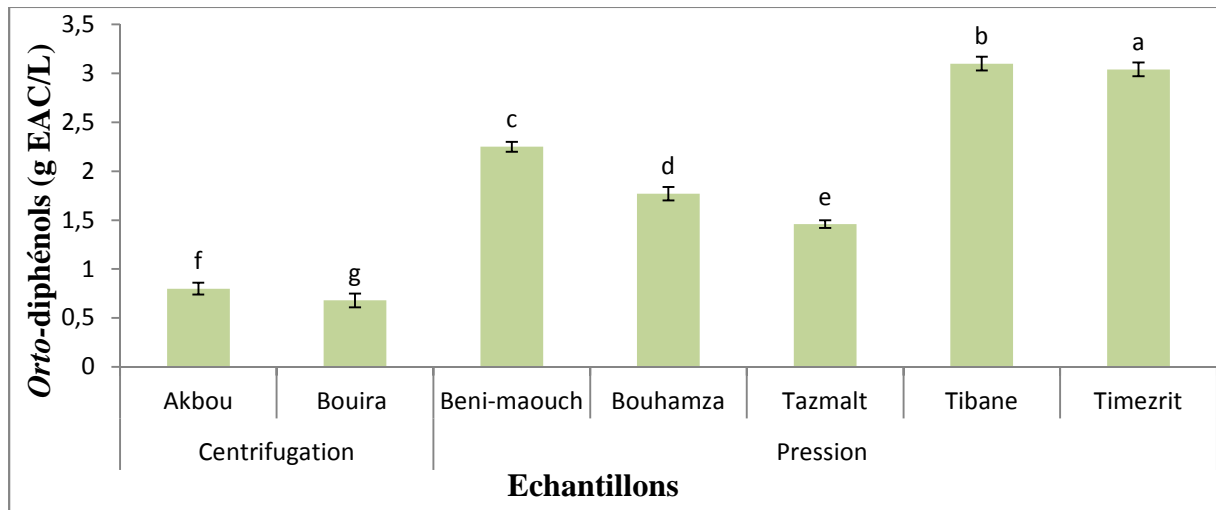


Figure 18: Teneurs en *ortho*-diphénols des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois phases. Les barres verticales représentent les écarts types.

Des différences significatives sont notées entre les différents échantillons et ce pour les deux systèmes. Les résultats obtenus varient entre (0,68 à 3,1 g EAC/L), dont les teneurs les plus élevées sont obtenus pour les margines issues par pression alors que les plus faibles sont enregistrées pour les margines issues par centrifugation. Ces différences de concentrations peuvent être dues à leur grande sensibilité au processus d'oxydation des composés phénoliques (**Brenes et al., 1992**), mais aussi à divers facteurs tels que: la période de récolte des olives et/ou cultivar (**Criadoet al., 2004; Vinha et al., 2005**).

Les margines analysées renferment des teneurs inférieures de celles enregistrées par **Mekki et al. (2007)** pour des margines fraîches issues par centrifugation à trois phases du sud de Tunisie. **Khoufi et al. (2008)** ont noté des teneurs de 6640,0 mg/L pour des margines issues de système traditionnel.

I-2-4- Les flavonoïdes

Les concentrations en flavonoïdes sont illustrées dans la figure suivante :

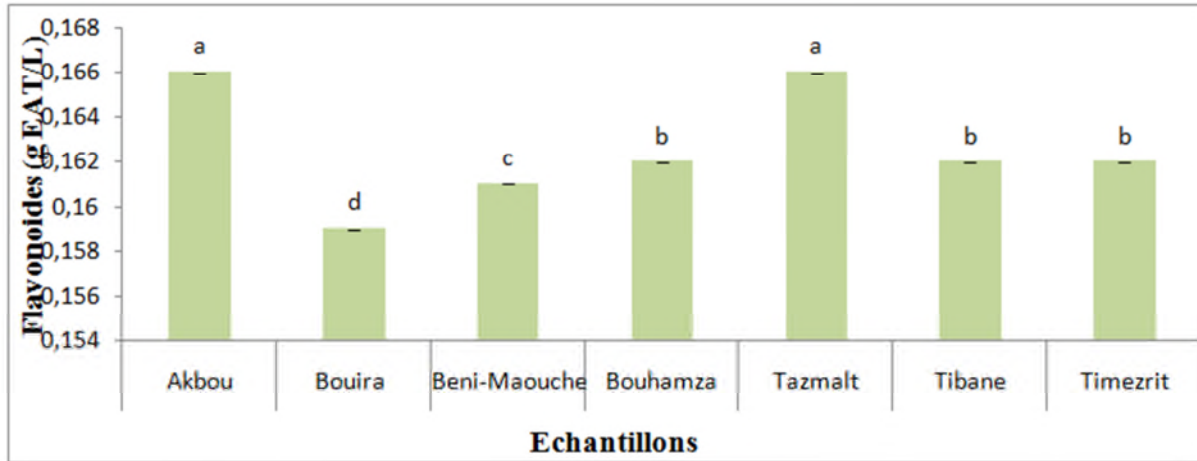


Figure 19: Teneurs en flavonoïdes des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois phases. Les barres verticales représentent les écarts types.

Les teneurs en flavonoïdes des margines étudiés varient entre (0,159 à 0,166 g EQ/L). Les plus grandes valeurs sont enregistrées dans les régions suivantes: Akbou et Tazmalt (0,166 g EQ/L), suivie de Bouhamza, Timezrit et Tibane (0,162 g EQ/L). La plus faible est enregistrée pour la région de Bouira (0,159 g EQ/L).

Les margines analysées renferment des teneurs inférieures à celles enregistrées par **Abassi et al. (2012)** pour des margines issues par deux systèmes d'extraction: semi moderne et moderne (2,71 et 6,56 g/L).

I-2-5- Les tanins

Les concentrations en tanins sont illustrées dans la **figure (15)**.

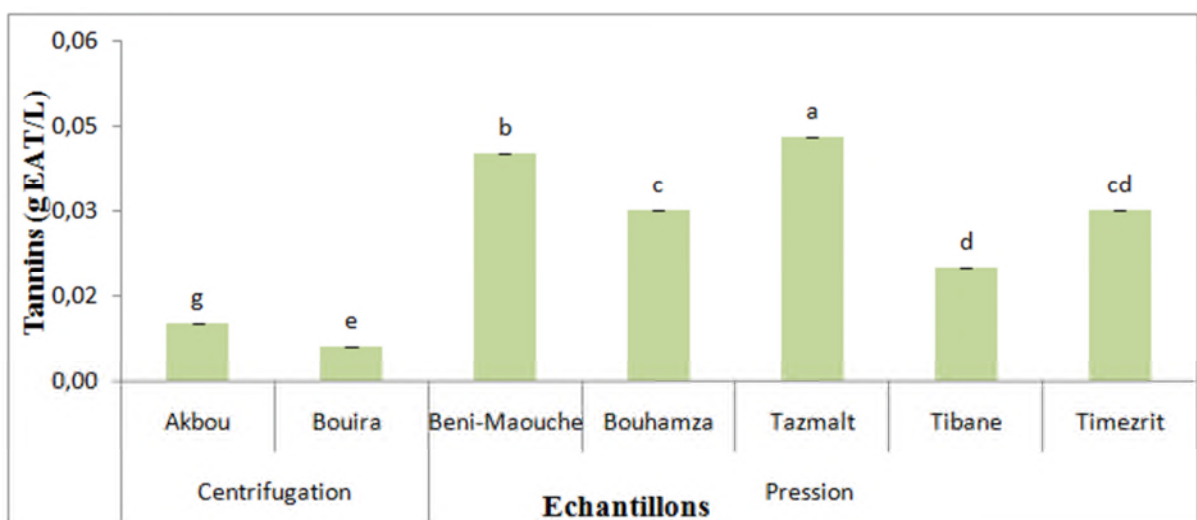


Figure 20: Teneurs en tanins des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois phases. Les barres verticales représentent les écarts types.

L'étude statistique révèle que les teneurs des margines en tanins diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les échantillons étudiés. Les résultats obtenus montrent que nos échantillons renferment des quantités faibles en tanins (0,033 à 0,43g EAT/L). Les plus grandes valeurs sont enregistrées pour les margines issues par pression Tazmalt (0,43g EAT/L), Beni-Maouche (0,04g EAT/L), Tibane (0,02g EAT/L), Timezrit et Bouhamza (0,03g EAT/L), alors que les valeurs plus basses sont notées pour les margines issues par centrifugation Bouira (0,006 EAT/L) et Akbou (0,003g EAT/L). Ceci est peut être expliqué par le caractère de solubilité de ces composés dans la phase aqueuse qui peut être plus importante dans le cas de système par pression.

Les margines étudiées renferment des teneurs inférieures à celles rapportées par **Bouknana et al. (2014)**, pour des margines issues par systèmes d'extraction traditionnel 0,62-1,2 g/L et moderne (0,12-0,65 g/L).

I-2-6-Le pouvoir antioxydant

Les valeurs obtenues sont représentées dans la figure suivante:

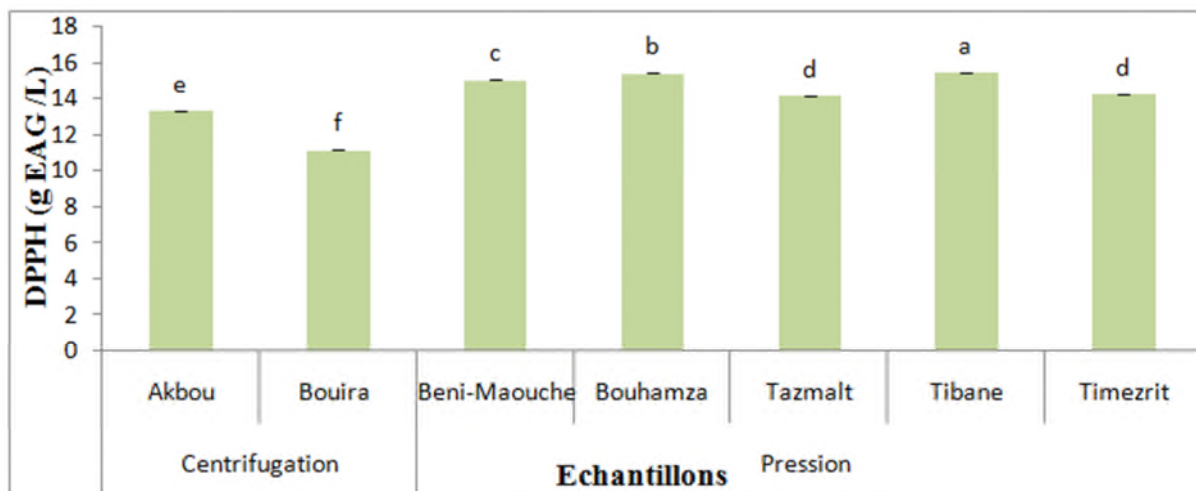


Figure 21: Activité antiradicalire contre le DPPH des extraits phénoliques des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois. Les barres verticales représentent les écarts types.

Les résultats obtenus montrent que l'activité antiradicalire contre le DPPH est affectée significativement. Les margines issues par pression présentent des activités légèrement plus élevées par rapport à celles obtenues par système de centrifugation. **Allouche et al. (2004)** ont noté une bonne corrélation entre le potentiel antioxydant et la teneur en polyphénols

totaux, notamment les biophénols identifiés à propriétés antioxydantes élevées tel l'hydroxytyrosol.

En comparant les activités antioxydantes des margines issues de zones montagneuses et celles issues des plaines **Leouifoudi et al. (2015)**. Ont noté des activités très importantes pour les margines de zones montagneuses.

Les pourcentages d'inhibition contre le DPPH des extraits phénoliques des margines sont représentés dans la figure suivante:

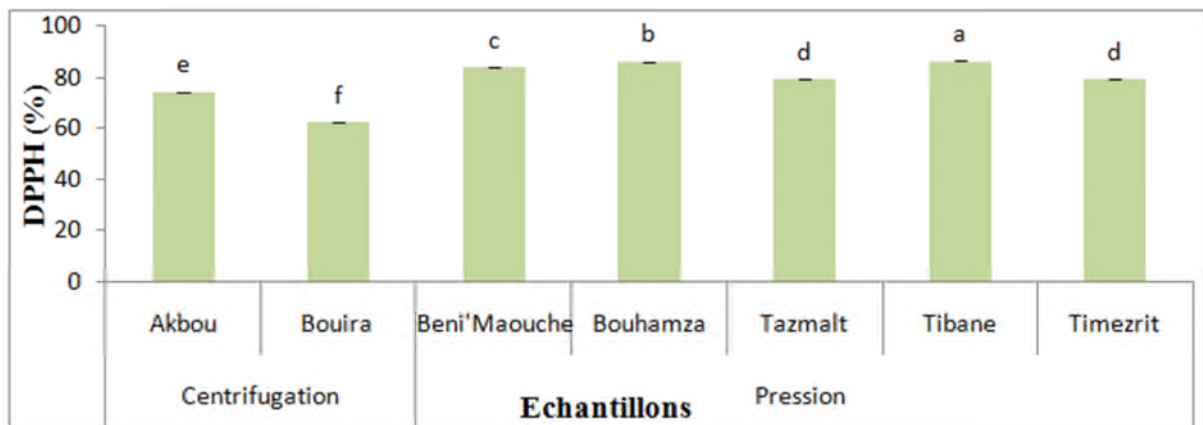


Figure 22: Pourcentage d'inhibition contre le DPPH des extraits phénoliques des margines.

Les lettres indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les margines issues par pression et par centrifugation à trois. Les barres verticales représentent les écarts types.

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est enregistré pour les margines issues par pression mais reste proches de celles obtenues pour les margines issues par centrifugation à trois phases. **Leouifoudi et al. (2015)** en comparant les activités antioxydantes des margines issues de zones montagneuses et celles issues des plaines, ont noté des activités très importantes pour les margines de zones montagneuses 95 % et 97% de la capacité antioxydante.

Conclusion

L'objectif de notre étude est de caractériser quelques échantillons des margines issues par deux systèmes d'extraction: discontinu (presse) et continu (centrifugation à trois phases).

D'après les analyses physico-chimiques, les margines issues du système de pression sont plus riches en huile résiduelle par rapport au système de centrifugation. Cette huile se caractérise par une acidité qui diffère entre les échantillons dont la plus faible valeur est de 1.38%. La teneur en composés phénoliques est aussi variable entre les échantillons (83.02 à 303.04 mg EAG/Kg).

Les margines issues de deux systèmes d'extraction de l'huile d'olive se caractérisent par un pH acide (4.49 à 4.78) et chargées en matière en suspension. Les margines issues du système de pression sont plus riches en matières sèches, composés phénoliques (3,7- 11,81 g/L), orthodiphénols (1,46- 3,1 g/L) et tanins (0,02- 0,043 g/L) que les margines du système de centrifugation. Cette richesse en différents composés phénoliques contribue à une activité antioxydante importante contre le radical DPPH.

Les résultats obtenus démontrent que les margines en particulier celle du système à pression possèdent un pouvoir antioxydant important vu leurs teneurs élevées en composés phénoliques, d'où l'intérêt de les valoriser par extraction et incorporation dans les produits alimentaires afin d'augmenter la stabilité des aliments en empêchant la peroxydation des lipides. L'enrichissement de l'huile de table par ces composés phénoliques naturels au lieu d'utiliser des antioxydants industriels peut être envisagé. D'autre part, il y a nécessité de développer les méthodes de traitement et d'épuration de ces effluents qui sont nuisibles à l'environnement.

En plus du traitement des margines, les recherches montrent aussi qu'il faudrait s'orienter vers l'utilisation de techniques de production plus appropriées, comme des procédés d'extraction d'huile continus à 2 phases, au lieu de 3 phases. De tels systèmes permettent non seulement d'économiser de l'eau (moins d'eau injectée avant extraction) mais aussi de réduire les quantités de margines produites.

A

- Abbassi E. A., Kiai H. and Hafidi A. (2012). Phenolics profile and antioxidant activities of olive mill wastewater. *Food chemistry*, 132 :406-412.
- Achak M. Ouazzani N. Yaacoubi A. et Laila Mandi. (2008). Caractérisation des margines issues d'une huilerie moderne et essais de leur traitement par coagulation-floculation par la chaux et le sulfate d'aluminium. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 22(3) : 421-433.
- AFNOR (1983). Recueil de normes françaises : *eau, méthodes d'essai*, 2^{ème} édition, Paris, France, 621 .
- Aissam H. (2003). Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Microbiologie de l'environnement. Thèse de 3ème cycle. Université sidi Mouhamed Ben Abedallah de Fès, Maroc, 162.
- Ait Baddi G. Hafidi M. Gilard V. et Revel J. C. (2003). Characterization of humic acids produced during composting of olive mill wastes, elemental and spectroscopic analyses (FTIR and ¹³C NMR), *Agronomy*, 23 (7). 661-666.
- Allouche N. FKi I. et Sayadi S. (2004). Toward a high yield recovery of antioxidant and purified hydroxytyrosol from olive mill wastewaters. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 52(2): 267-273.
- Anderson M. Elliott M et Hickson C. (2003). Factory-scale proving trials using combined mixtures of three by-product wastes (including incinerated sewage sludge ash) in clay building bricks. *Journal Chemistry Technology Biotechnology*, 77: 345-351.
- Argenson C. Reigis S. Jourdin J.M. et Vaysse P. (1999). L'olivier. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, 204: 07-09.
- Arnou L. E. (1937). Colorimetric determination of the components of 3,4 dihydroxyphenylalaninetyrosine mixtures. *The Journal of Biological Chemistry*.118:531-537.
- Aruoma O. I. Bahorun T. et Jen L.S. (2003). Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. *Mutation Research*, 544: 203-215.
- Assas N. Ayed L. Marouani L. et Hamdi M. (2009). Biodegradation of different molecular-mass polyphenols derived from olive mill wastewaters by *Geotrichum candidum*, *International Biodeterioration et Biodegradation*, 63:407-413.
- Azabou S. Najjar W. Gargoubi A. Ghorbel A. et Sayadi S. (2007). Catalytic wet peroxide photo-oxidation of phenolic olive oil mill wastewater contaminants: Part II. Degradation and

Références bibliographiques

detoxification of low-molecular mass phenolic compounds in model and real effluent. *Applied Catalysis: Environmental*, 77: 166-174.

B

Ba K. Tine E. Destain J. Cisse N. et Thonart P. (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnological Agronomy Society Environmental*, 14:131-139.

Babar A M. Hahn E. J. et Paek K.Y. (2007). Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*, 12: 607-621.

Bahorun T. (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritia*, 83-94.

Ben Sassi A. Boularbah A. Jaouad A. Walker G et Boussaid A. (2006). A comparison of Olive oil Mill Wastewaters (OMW) from three different processes in Morocco. *Process Biochemistry*, 41: 74-78.

Benyahia N. et Zein K. (2003). Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. 2^{ème} conférence internationale Swiss Environmentale Solution, Lausanne Swiss.

Bianchi G. (2003). Lipides and phenols in table olive. *Journal Lipid Science Technology*, 105: 229-242.

Brenes M. (1992). Elaboracion aceitunas denominadas green ripe olive con variedades espanolas. *Grasas y aceites*, 56 (3): 188-191.

Bouknana D. Hammoutia B. Salghid R. Jodehe S. Zarrouka A. Warade I. Aounitia A. et Sbaab M. (2014). Physicochemical characterization of olive oil mill wastewaters in the eastern region of morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (4) :1039-1058.

C

Capasso R. Cristinzio G. Evidente A. et Scognamiglio F. (1992). Isolation, spectroscopy and selective phytotoxic effects of polyphenols from vegetable waste waters. *Phytochemistry*, 31:4125– 4128.

Références bibliographiques

- CEE/2568/91. Communauté Economique Européenne Règlement (CEE) N°2568.91 de la commission du 11 juillet 1991. Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignins ainsi qu'une méthode d'analyse y'afférente, 27 :33.
- Chiofalo B., Liotta L., Zumbo A., Chiofalo V., *Small Ruminant Research*, 55 (2004) 169-176.
- Chimi H. (2001). Qualité des huiles d'olive au Maroc, enquête national et analyses au laboratoire, Transfert de technologie en agriculture-bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, 79 :4.
- Chimi H. (2006). Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité, Transfert de technologie en agriculture-bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, 141: 1-4.
- COI. (1996). Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet .Conseil Oléicole international /T20/Doc 19 6 juin 1996, Madrid.Espagne.
- COI. (2008). International course on water management and irrigation of olive orchards. Limassol-Cyprus, 20.
- COI. (2009). Norme commercial applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignon d'olive. COI/NCn°3 / Rev.4.
- COI/Doc. No. 1. Novembre. (2011). Guide pour la détermination des caractéristiques des olives à huile.
- COI. (2015). Statistique de la production d'huile olive. Novembre 2015.
- Criado M.N. Morello J. et Romero M.P. (2004). Effect of growing area on pigment and phenolic fraction of virgin olive oil of the arbequina variety in Spain. *JAOCS*, 81: 633-640.
- Crognale S. Federici F. et Petruccioli M. (2003). β -Glucan production by *Botryosphaeria rhodina* on undiluted olive-mill wastewater *Biotechnology Letters*, 25: 2013-2015.
- Crozier A. Jaganath I.B. and Clifford M.N. (2004). Dietary phenolics, chemistry, bioavailability and effects on health. *National Product Reports*, 26(8) : 1001-43.
- Crozier A. Del Rio D. et Clifford M.N. (2010). Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. *Molecular Aspects of Medicine*, 31: 446-467.

D

- D'Annibale A. Casa R. Pieruccetti F. Ricci M. et Marabottini R. (2004). *Lentinula edodes* removes phenols from olive-mill wastewater: impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability. *Chemosphere*, 54: 887-894.

Références bibliographiques

D'Annibale A. Giovannozzi Sermanni G. Federici F. et Petruccioli M. (2006). Olive mill wastewaters: a promising substrate for microbial lipase production. *Bioresource Tecnology*, 97: 1828-1833.

Davies L. C. Vilhena A. M. Novais J.M et Martins-Dias S. (2004). Olive mill wastewater characteristics : modelling and statistical analysis. *Journal Grasas y Aceites*, 55(3):233-241.

De Marco E. Savarese M. Paduano A. et Sacchia R.(2007). Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food chemistry*, 104: 858-867.

Di Serio M. G. Lanza B. Mucciarella M. R. Russi F. Iannucci E. Marfisi P. Et Madeo A. (2008). Effect of olive mill wastewater spreading on the physic-chimical and microbiological characteristics of soil. *International Biodeterioration et Biodegradation*, 62: 403- 407.

E

Abbassi E.A. Kiai H. et Hafidi A. (2012). Phenolics profile and antioxidant activities of olive mill waswater. *Food chemistry*, 132 :406-412.

El Hajjouji H. (2007). Evolution des caractéristiques physico-chimiques, spectroscopiques et écotoxicologiques des effluents d'huileries d'olive au cours de traitements biologique et chimique. Thèse de doctorat. Laboratoire Ecologie fonctionnelle et Environnement Université de Marrakech, 148.

Elkacmi P. Kamil N. Bennajah M. et Said Kitane S. (2016). Extraction of Oleic Acid from Moroccan Olive Mill Wastewater. *BioMed Research International*, 9.

Ergül F.E. Sargin S. Ongen G et Sukan F.V. (2009). Dephenolisation of olive mill wastewater using adapted *Trametes versicolor*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63: 1-6.

Esmail A. Abed H. Firdaous M. Chahboun N. Mennane Z. El Hassan Berny E.H. et Ouhssine M. (2014). Physico-chemical and microbiological study of oil mill wastewater (OMW) from three different regions of Morocco (Ouazzane, Fes Boulman and Béni Mellal). *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (1) :121-126.

F

Falleh H. Ksouri R. Chaieb K. Karray-Bouraoui N. Trabelsi N. Boulaaba M. et Abdelly C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L.organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 372-379.

Références bibliographiques

Faure H. Fayol V. Galabert C. Grolier P. Le Moel G. Steghens J-P. Van Kappel A. et Nabet F. (1999). Carotenoid: Metabolism and physiology. *Annals Biology Clinic*, 57: 169-183.

Favati F. Caporale G. and Bertuccioli M. (1994). Rapide determination of phenol content in extra virgin olive oil. *Grasasy Aceites*, 45 :68-70.

Fiorentino A. Gentili A. Isidori M. Monaco P. Nardelli A. Panella A. et Fabio T. (2003). Environmental effects caused by olive mill waste waters: Toxicity comparison of low-molecular-weight phenol compounds. *Journal Agricultural. Food Chemistry*, 51:1005-1009.

Fki I. Allouche N. et Sayadi S. (2005). The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93: 197-204.

G

Garcia A. Brenes M. Garcia P. Romero C et Garrido A. (2003). Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*, 216 (6):520-525.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structures, propriétés biologiques, rôle prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3 (04): 162-169.

Gomez-Caravaca A.M. Gomez-Romero M. Arraez-Roman D. Segura-Carretero A. et Fernandez-Gutierrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:1220-1234.

H

Haddam M. Chimi H et Amine A. (2014). Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. *Published by EDP Sciences*, 21(5).

Hamdi M. et Ellouz R. (1993). Treatment of detoxified olive mill wastewaters by anaerobic filter and aerobic fluidized bed processes. *Environmental Technology*,14: 183-188.

Hanafi F. Sadif N. Assobhei O. et Mountadar M. (2009). Traitement des margines par électrocoagulation avec des électrodes plates en aluminium. *Revue Des Sciences De L'eau / Journal of Water Science*, 22(4) :473.

Hodgson J. M. et Croft K.D. (2010). Tea flavonoids and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, 31: 495–502.

K

Khoufi S. Aloui F. et Sayadi S. (2006). Treatment of olive oil mill wastewater by combined process electro-Fenton reaction and anaerobic digestion. *Water Research*, 40: 2007-2016.

Références bibliographiques

Khoufi S. Aloui F. et Sayadi S. (2008). Extraction of antioxidants from olive mill wastewater and electro-coagulation of exhausted fraction to reduce its toxicity on anaerobic digestion. *Journal of Hazardous Materials*, 151: 531-539.

Kim D-O. Chun O.K. Kim Y.J. Moon H-Y et Lee C.Y. (2003). Quantification of polyphenols and Their Antioxidant Capacity in Fresh plums. *Journal Agricultural. Food Chemistry*, 51: 6509-6515.

Kiril Mert B. Yonar T. Yalili Kilie M. et Kestioglu K. (2010). Pre-treatment studies on olive oil mill effluent using physicochemical, Fenton and Fenton-like oxidations processes. *Journal of hazardous materials*, 174:122–128.

L

Leouifoudi I. Harnafi H. et Ziad A. (2015). Olive Mill Waste Extracts: Polyphenols Content Antioxidant and Antimicrobial Activities. Hindawi Publishing Corporation Advances in Pharmacological Sciences, 2015 : 11.

M

Macheix J.J. Fleuriet A. et Jay-Allmend C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Collection biologie. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne, 192.

Manach C. Mazur A. et Scalbert A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 16 : 1–8.

Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51 :304–315.

Martin Garcia A.I. Moumen A. Yanez Ruiz D.R. et Molina A.E. (2003). Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 107: 61-74.

Mebirouk M. (2002). Rejets des huileries, Développement d'un procédé intégré pour la biodégradation des polyphénols dans la margine, CMPP News, (11).

Meftah H. Latrache H. Hamadi F. Hanine H. Zahir H. et El louali M. (2014). Comparaison of the physico-chemical characteristics of the olive oil coming from different zones in Tadla Azilal area (Morocco). *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(2). 641-646.

Mekki A. Dhoub A. Aloui F. et Sayadi S. (2007). Polyphenols and phytotoxicity in soil amended by olive mill wastewaters. *Journal of Environmental Management*, 84(2): 134-140.

Références bibliographiques

Mili S. (2006). Olive oil marketing on non-traditional markets: prospects and strategies. *New Medit*, 5-27.

Molyneux P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakari Journal sciens Technology*, 26(2): 211-219.

Monties B. Catesson A. Barnoud F. Joselean J.P. Mercier C. Thibant J.F. Metche M. et Jamin G. (1980). Les tannins des végétaux. Offset, 252-288.

Morillo J. A. Antizar-Ladislao B. Monteoliva- Sanchez M. Ramos-Cormenzana A. et Russell N. J. (2009). Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology*, 82: 25-39.

Mulinacci N. Romani A. Galardi C. Pinelli P. Giaccnerini C. Vincieri F. et Agric J. (2001). Polyphenolic Content in Olive Oil Waste Waters and Related Olive Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (8):3509–3514.

O

Obied H. Allen M. Bedgood D. Prenzler P. Robards K. et Stockmann R. (2005). Bioactivity and analysis of biphenols recovered from olive mill wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4): 823-837.

Ouabou E., Anouar A. et Hilali S. (2014). Traitement de la margine brute d'huile d'olive par distillation suivi de neutralisation par la chaux. *Journal of Applied Biosciences*. 79:6867 – 6872.

P

Pinatel C. Petit C. Ollivier D. et Artaud J. (2004). Outil pour l'amélioration organoleptique des huiles d'olive vierges. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 11(3) : 217-222.

R

Ranalli A. (1991). L'effluent des huiles d'olives : propositions en vue de son utilisation et son épuration. Références aux normes italiennes en la matière. *Olivae*, 39: 18-34.

Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux, *Facultad de Agronomía*. Dunod. Paris.254.

Rodier J. (1984). L'analyse de l'eau eaux naturelles, eaux de mer, 7ème édition Dunod, Rordas Paris, France, 1365.

Rodier J. (1996). L'analyse de l'eau naturelle, eaux résiduaires, eau de mer, 8ème Edition, Denod, Paris, 1383.

Roig A. Cayuela M.L. et Sanchez-Monedero M.A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*, 26: 960-969.

S

Saladino R. Bernini R. et Mincione E. (2001). Innovation. Environmental oxidative catalysis for processing of agroindustrial wastewaters, *La Chimica e l'Industria*, 83:34-38.

Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Editions Tec et Doc Lavoisier, 02-11.

Sbai G. et Loukli M. (2015). Traitement électrochimique des margines et identification des composés avant et après traitement par chromatographie en phase gazeuse couplée par spectroscopie de masse. *Larhyss Journal*, 22:139-152.

Seirra J. Marti E. Garau A. M. et Cruanas S. (2007). Effects of the agronomic use of oil mill wastewater: Field experiment. *Science of the total Environment*, 378: 90-94.

T

Tanouti K. Serghini Caid H. Abid M. Mihamou A. Khiar M. Hachem M. E. Bahetta Y. et Elamrani A.(2011). “Isly Huile d'Olive Vierge Analyse des Triglycérides et Composition en Acides Gras“. *Les technologies de laboratoire*, 23 :58-63.

Tovar J. Romo P. Girona J. et Motilva M.J. (2002). L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive (*Olea europaea* L cv Arbequina) fruit grown under different irrigation regimes, *Journal of the science of food and Agriculture*. 82:892-898.

U

Ucella N Casuscelli F. De Nino A. Gallo F.R. Procopio A. et Romeo G. (1994). Olive biophenols: novel ethnic and technological approach. *Research and Innovation in Agrifood Industry*, 1: 178–191.

V

Veillet S. Tomao V. et Chemat F. (2010). Ultrasound assisted maceration : An original procedure for direct aromatization of olive oils flavored by selected Tunisian aromatic plants. *Food and chemical Toxicology*, 47: 2619.

Vinha A.F., Ferreres F., Silva B.M. Valentao P., Goncalves A., Pereira J.H., Oliveira M.B., Seabra R.M. and Andrade P.M. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olives fruits (*olea europea* L) influence of cultivar and geographical origin. *Food chemistry*. 89: 561-568.

Vitolo S. Petarca L. et Bresc B. I. (1999). Treatment of olive oil industry wastes. *Bioresouce Technology*, 67:129-137.

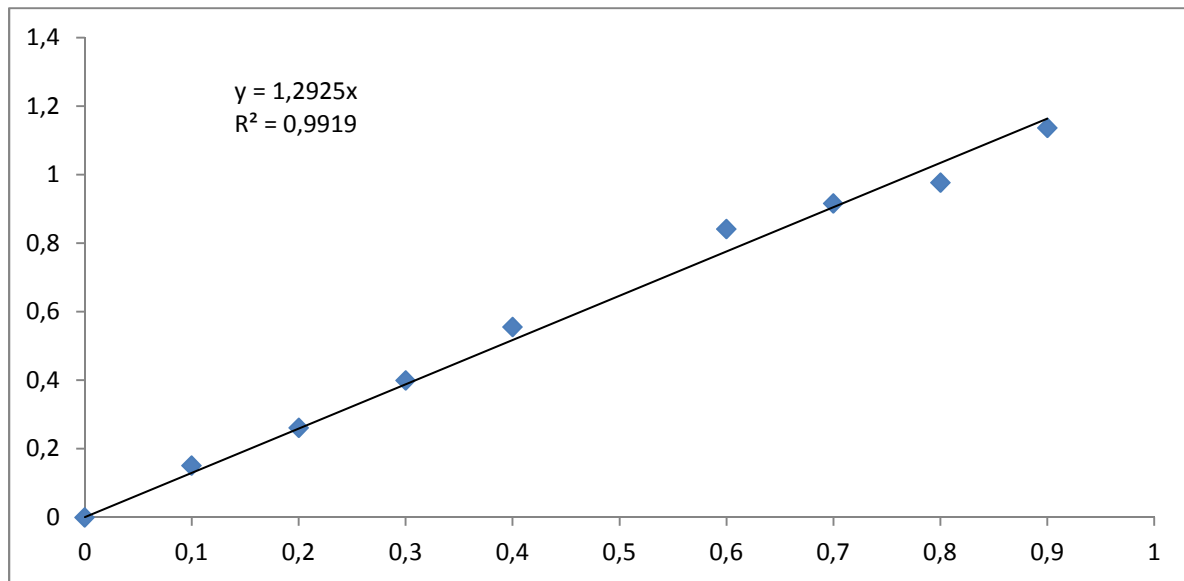
X

Xiuzhen H. Tao S. et Hongxiang L. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Science*, 8 : 950-988.

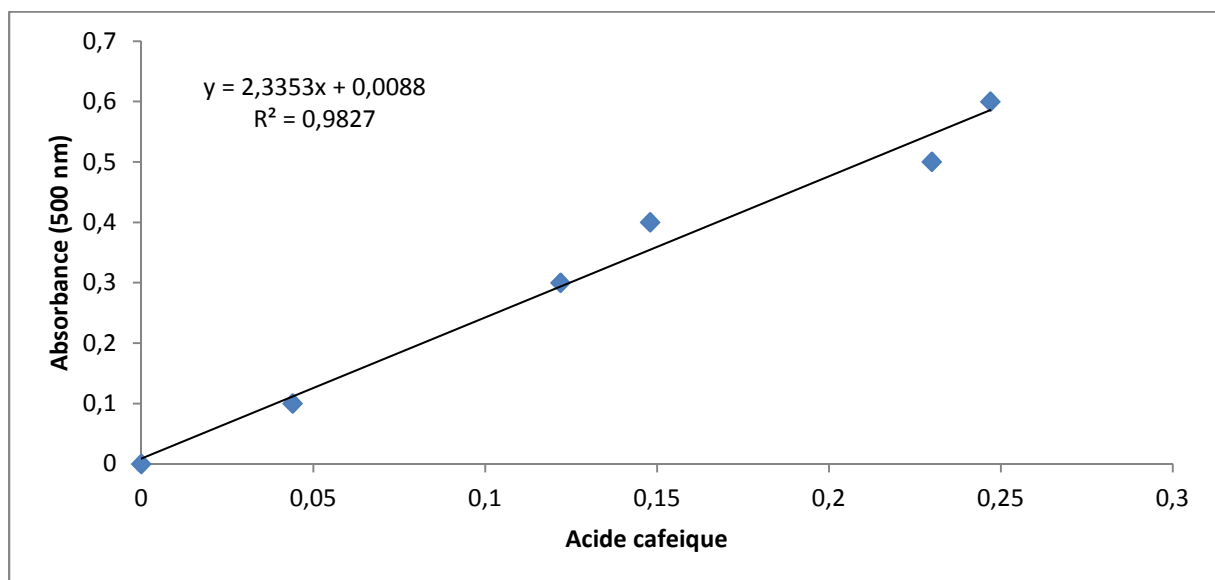
Y

Yaacoubi A. Chahlaoui A. Rahmani M. Ouhssine M. Chaouch A. (2009), Comparative study of the characteristics of olive-mill waste water according to the extraction process and storage duration of olives. *Physical and Chemical News (PCN)*,47: 120-125.

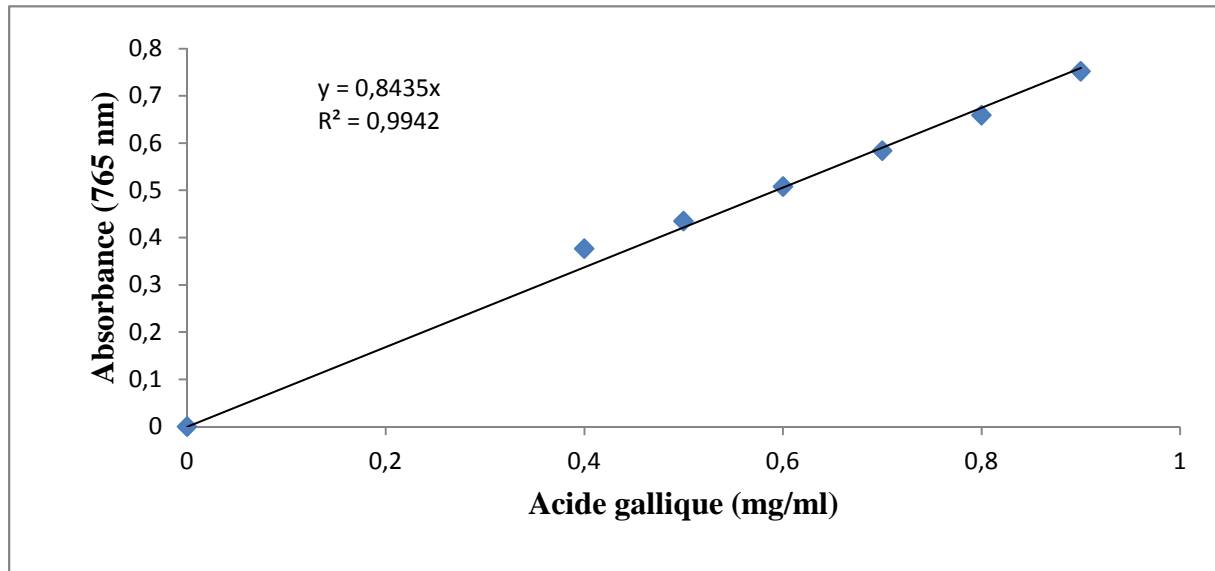
ANNEXES



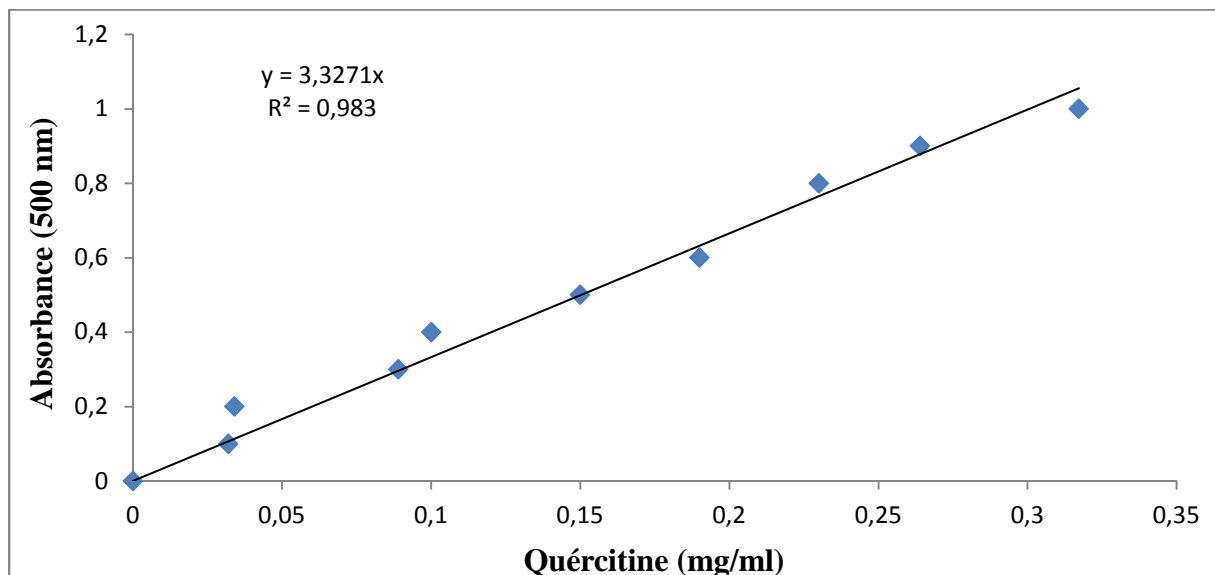
Annexe I: Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux de l'huile résiduelle des margines.



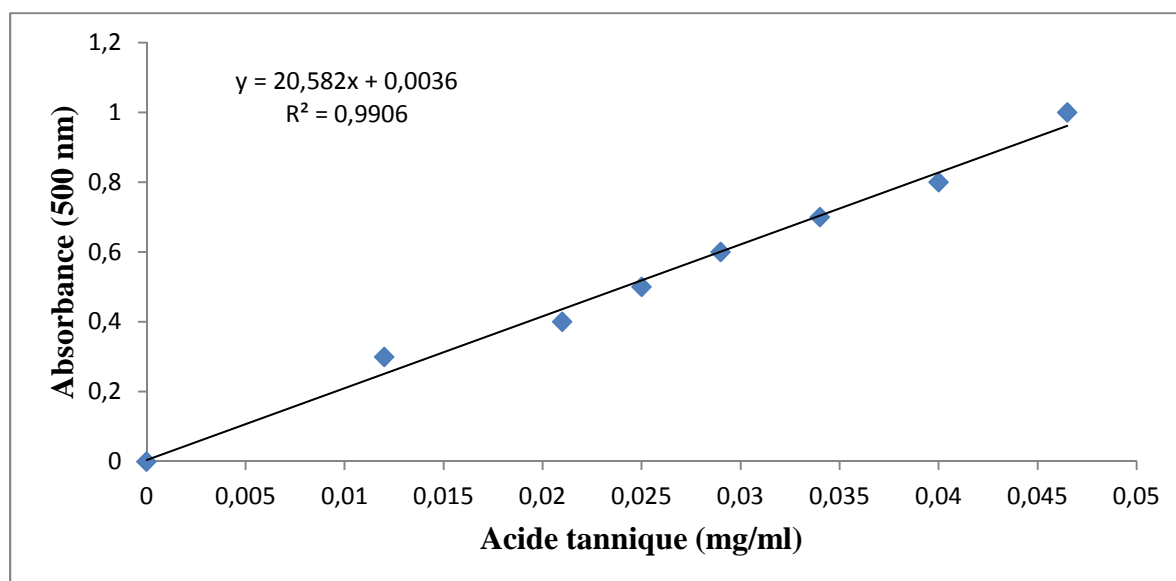
Annexe II: Courbe d'étalonnage des *ortho*-diphénols.



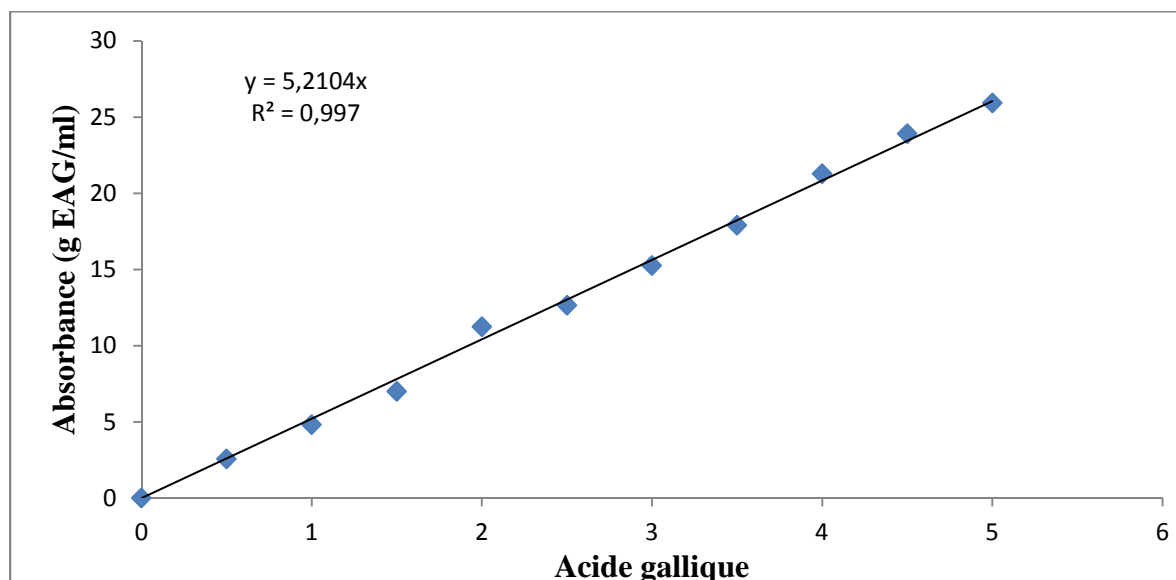
Annexe III: Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux des margines.



Annexe IV: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.



Annexe V: Courbe d'étalonnage des tannins.



Annexe VI: Courbe d'étalonnage de DPPH.

Annexe VII: Matériels et Appareils utilisés:

Matériels	Les appareils
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ampoule à décanté ➤ Béchers ➤ Burette graduée ➤ Cuve en verre et en quartz ➤ Colonne d'octadecyl (C18) ➤ Embouts ➤ Entonnoir ➤ Eprouvette graduée 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Balance de précision (OHAUS) ➤ Centrifugeuse (Hettich ZENTRIFUGEN) ➤ Conductimètre ➤ Dessiccateur ➤ Etuve (Mettler) ➤ Micropipette ➤ Plaque magnétique agitatrice

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Erlenmeyer ➤ Fiole jaugé ➤ Papier filtre ➤ Pipette graduée ➤ Tube à essaie ➤ Spatule 	<ul style="list-style-type: none"> (VELP SCIENTIFICA) ➤ pH-mètre ➤ Réfrigérateur (Condor) ➤ Rota Vapeur (BOUECO Germany) ➤ Spectrophotomètre (UV-Vis spectrophotometr, Spectro Scan 50) ➤ Vortex (VELP SCIENTIFICA)
---	---

Annexe VIII: Solvants et réactifs utilisés:

Réactifs/Solvants	Marque	Pays fabricant
Acide acétique	BIOCHEM Chemopharma	Quebec
Acétate d'ethyle	BIOCHEM Chemopharma	France
Acide caféique	SIGMA-ALDRICH	Germany
Acide Tannique	SIGMA-ALDRICH	Germany
Amidon	SIGMA-ALDRICH	Germany
Carbonate de sodium	SIGMA-ALDRICH	Germany
Chloroforme	BIOCHEM Chemopharma	EC (France)
Chlorure d'aluminium	BIOCHEM Chemopharma	USA
Cyclohexane	BIOCHEM Chemopharma	Quebec
DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)	SIGMA-ALDRICH	Germany
Folin Ciocalteu	BIOCHEM Chemopharma	France
Hydroxyd acide (Hcl)	/	Montréal
Hydroxyde de sodium	BIOCHEM Chemopharma	Quebec
Hydroxyde de potassium (KoH)	BIOCHEM Chemopharma	Quebec
Iodure de potassium (KI)	BIOCHEM Chemopharma	Quebec
Kcl	/	France
Molybdate de sodium	/	Italie
Méthanol	BIOCHEM Chemopharma	Quebec
Nitrite de sodium	/	/

Phénol phtaléine	SIGMA-ALDRICH	EC
Quercétine	Riedel-de-Haën	Germany
Sulfate de sodium	SIGMA-ALDRICH	Espagne
Thiosulfate de sodium	BIOCHEM Chemopharma	Georgia
Vnilline	SIGMA-ALDRICH	Germany

Résumé

Le but de la présente étude est la caractérisation des margines issues de deux systèmes d'extraction : pression et centrifugation à trois phases. Les margines étudiées proviennent de différentes régions. Les analyses physico-chimiques sont réalisées sur l'huile résiduelle et sur les margines. L'acidité, conductivité, taux d'humidité, matière en suspension, matière sèche, teneur en différents composés phénoliques et activité antioxydante contre le radical DPPH ont été réalisés.

Les résultats obtenus montrent que ces margines sont très humides, acides et surchargées en espèces ionisantes. Ces sous produits constituent une excellente source d'antioxydants naturels notamment ceux issus du système à pression. Leur valorisation et traitement doivent être encouragés.

Mots clés: Margines, systèmes d'extraction, huile résiduelle, antioxydants, caractérisation.

Abstract

The purpose of this study is the characterization of the olive oil wastewater issued from two extraction systems: pressure and centrifugation three phases. The studied wastewater was collected from different regions. The physicochemical analyzes were performed on the residual oil and the olive oil wastewater. The acidity, conductivity, moisture content, suspended solids, dry matter content of various phenolic compounds and antioxidant activity against DPPH radical were carried out. The results show that these margins are very wet, acidic and overloaded with ionizing species. These by-products are an excellent source of natural antioxidants particularly those derived from the system pressure. Their recovery and treatment should be encouraged.

Key words: olive oil wastewater, extraction system, residual oil, characterization, antioxidants.