



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

FILIERE : Biotechnologie

OPTION: Biotechnologie Végétale

Thème

**Valorisation du lactosérum comme
biostimulant**

Présenté par :

- **ARZI NOUARA**
- **HADFI OUALAA INTISSAF**

Mémoire de Master académique soutenu devant le jury composé de :

Président	Dr. ADDAD Dalila	MCA	Univ. Abbès Laghrou – Khenchela
Encadreur	Pr. KADI Kenza	Pr	Univ. Abbès Laghrou – Khenchela
Examineur	Dr. MEKERSI Nawal	MCB	Univ. Abbès Laghrou – Khenchela

Année universitaire :

2024/2025

Remerciement

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Allah Tout-Puissant pour m'avoir donné la force, la patience et la persévérance pour mener à bien ce travail.

Je remercie très sincèrement l'ensemble du jury qui a accepté de juger ce travail :

- Dr. ADDAD Dalila, Présidente du jury, pour son intérêt et ses remarques constructives,
 - Dr. MEKERSI Nawal, examinatrice, pour sa lecture attentive et ses précieux commentaires,
- Pr. KADI Kenza, encadrante, pour sa supervision, son accompagnement scientifique rigoureux, sa bienveillance et ses conseils avisés tout au long de cette étude.
- Dr. Boumaaza pour ses efforts et ses orientations précieuses, qu'il nous a toujours généreusement accordées
 - Je n'oublie pas de remercier tous les enseignants du Département des Sciences Agronomiques, ainsi que mes collègues et amis pour leur soutien moral.

Dédicace

"واخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين"

À moi-même,

Pour avoir tenu bon, malgré les doutes, les épreuves et les nuits blanches. Pour chaque pas vers ce rêve, pour chaque page écrite avec espoir et fatigue mêlés... sois fière.

À mes très chers parents,

Pour vos sacrifices silencieux, votre patience infinie et votre amour inconditionnel. Vous êtes ma source de force et de sérénité. Ce travail est avant tout le fruit de vos prières et de votre soutien.

À mon frère Amer,

Merci pour ta présence discrète mais précieuse, pour ton soutien constant et ta fierté silencieuse qui me touche profondément.

À mes sœurs Noura, Samira et Kawthar,

Merci pour vos encouragements, vos mots doux et votre présence rassurante à chaque étape de ce parcours. Vous êtes mon refuge et mon inspiration.

À mes nièces, mes petites coccinelles adorées – les filles de mon frère et de ma sœur,

Vous êtes ma joie, ma douceur quotidienne, et mes petites étoiles. Ce travail vous est dédié avec tout l'amour que vous m'apportez sans le savoir.


À mes amis(es) sincères,

Merci d'avoir été là, dans les rires comme dans les doutes. Vous avez coloré ce parcours de belles émotions.

À tous ceux et celles qui ont cru en moi,

Ce mémoire vous est dédié avec tout mon cœur.



Dédicace de fin d'études 

Louange à Dieu, en premier et en dernier.

Louange à Celui par qui les bienfaits s'accomplissent.

Louange à Dieu pour la force dans la faiblesse, la patience dans la difficulté, et la lumière dans les moments d'obscurité.

Ô mon Dieu, à Toi la louange jusqu'à ce que Tu sois satisfait, à Toi la louange lorsque Tu es satisfait, et à Toi la louange après la satisfaction.

À ma mère et à mon père,

à ceux qui m'ont appris l'amour inconditionnel,

à ceux qui ont été mon pilier, mon soutien, ma prière constante et mon refuge dans les moments les plus durs...

Merci pour tout.

À mes frères bien-aimés :

Amir, Adam, Wahid et Bilal

Vous avez été les sourires au milieu de la fatigue, la force silencieuse, et l'énergie quand tout semblait lourd.

Vous êtes bien plus que des frères, vous êtes une bénédiction dans ma vie.

À ma chère sœur Retaj,

la tendresse cachée dans les petits gestes, la complice de tous les jours... Merci d'avoir coloré mes journées.

À mes amis, collègues et camarades,

merci pour les souvenirs partagés, le soutien dans les moments durs, et les rires dans les journées longues.

À ma chère encadrante,

merci pour votre patience, vos conseils, et votre confiance. Vos encouragements ont été une lumière dans mon parcours.

Et enfin,

à tous ceux que je n'ai pas pu nommer mais qui occupent une grande place dans mon cœur...

Merci.

Merci d'avoir été cette lumière sur un chemin que je croyais parfois emprunter seule.

Avec humilité et fierté,

L'étudiante oualaa

Promotion 2025

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction Générale	1

Partie bibliographique

Chapitre I: Les margines

I.1. Définition des margines d'olives	5
I.2. Systèmes d'extraction de l'huile d'olive.....	5
I.3. Composition physico-chimique des margines.....	5
I.4. Composition phénolique des margines	6
I.5. Activités biologiques des composés phénoliques.....	7
I.6. Valorisation des margines	8

Chapitre II: lactosérum

II. Le lactosérum.....	10
II.1. Définition et origine du lactosérum.....	10
II.2. Composition physico-chimique du lactosérum.....	10
II.3. Propriétés nutritionnelles et biologiques des protéines de lactosérum.....	10
II.4. Impact environnemental du lactosérum non valorisé	10
II.5. Voies de valorisation du lactosérum.....	11
II.5. 1. Valorisation alimentaire	11
II.5. 2. Valorisation biotechnologique	11
II.5. 3. Valorisation agricole	12
II.5. 4. Applications agroalimentaires du lactosérum et de ses constituants	13

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

1. Matériel biologique utilisé.....	17
1.1. Lactosérum utilisé.....	17
1.2. Margines utilisés.....	18
2. Formulation des biostimulants à base du lactosérum et margines.....	19
3. Les paramètres mesurés pour la caractérisation des biostimulants.....	20
3.1. Teneur en matière organique (MO) et minérale (MM)	20
3.2. Teneur en eau (H).....	15
3.3. Teneur en solide totale (matière sèche (MS))	15
3.4. Teneur en azote total Kjeldahl (N)	16
3.5. Demande Biologique en Oxygène sur 5 jours (DBO ₅).....	17
3.6. Teneur en cations : Ca ⁺² , K ⁺ , Na ⁺	18
3.7. Dosage des polyphénols totaux (PP) par la méthode de Folin-Ciocalteu.....	19
3.8. Dosage des flavonoïdes (Flav)	21
3.9. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des biostimulants	22
4. Application des biostimulants formulés sur la germination des graines.....	25
Résultats et discussion	
1. Analyses de la variance des résultats obtenus	27
2.2. Teneur en eau (H) et en matière sèche (MS).....	29
2.3. Teneur en azote total Kjeldahl (N)	31
2.4. Demande Biologique en Oxygène sur 5 jours (DBO ₅).....	32
2.4. Teneurs en cations : Ca ⁺² , K ⁺ , Na ⁺	34
2.5. Dosage des polyphénols totaux (PP)	36
2.6. Dosage des flavonoïdes (Flav)	38
2.7. Analyse spectroscopique Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des biostimulants et de l'eau	39
3. Evaluation de l'effet des biostimulants formulés sur la germination des graines du colza	50
4. Analyse de la composante principale ACP	51
Conclusion Générale	57
References Bibliographiques	59

Résumé

المخلص

Abstract

Liste des tableaux

Tableau 1: Paramètres physico-chimiques des margines (Zbakh et ElAbbassi, 2012)	6
Tableau 2: Principaux polyphénols des margines (Gueboudji et al ., 2023).....	7
Tableau 3: Activités des composés phénoliques majeurs des margines (Senani-Oularbi, 2018)	7
Tableau 4: Valorisation biotechnologique du lactoserum	12
Tableau 5: Utilisation du lactoserum dans le secteur agricole	12
Tableau 6: Valorisation agroalimentaire du lactioserum.....	14
Tableau 7: Paramètres physicochimiques des margines utilisées	18
Tableau 8: différentes formulations de biostimulants	19
Tableau 9: Caractéristiques du lactosérum utilisé	27
Tableau 10: Carrés moyennes des paramètres physicochimiques des biostimulants formulés	28
Tableau 11: Teneur en matière minérale et organique des biostimulants formulés	28
Tableau 12: Teneur en eau (H) et en matière sèche (MS)	30
Tableau 13: la teneur en azote (N)	32
Tableau 14: la moyenne de la demande Biologique en Oxygène sur 5 jours (DBO ₅).....	32
Tableau 15: les moyennes de la teneur en cations échangeables dans les différents biostimulants..	34
Tableau 16: Teneur en polyphénols (Méthode de Folin-Ciocalteu).....	36
Tableau 17: Teneur en flavonoïdes	38
Tableau 18: Comparaison structuré Principales bandes FTIR	49
Tableau 19: Effet des biostimulants formulés sur le pourcentage de germination du colza var. Zitna	50

Liste des figures

Figure 1 : Diagramme adapté de fabrication du fromage et les niveaux de soutirage des lactosérums (Lachebi et Yelles, 2018).	18
Figure 2: Formulation des biostimulants à base du lactosérum et margines.....	20
Figure 3:Teneur en matière organique (MO) et minérale (MM)	15
Figure 4: Teneur en solide totale (matière sèche (MS)).....	16
Figure 5: Demande Biologique en Oxygène	18
Figure 6:Dosage des polyphénols totaux (PP) par la méthode de Folin-Ciocalteu	19
Figure 7: la courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 725 nm.....	20
Figure 8: Dosage des flavonoïdes (Flav)	21
Figure 9: Courbe étalonnage de la quercétine	22
Figure 10: Différentes étapes et accessoires de spectroscopie FTIR.....	24
Figure 11:: Le spectre FTIR de l'eau	41
Figure 12: Spectre FTIR de la formulation 75 % margines + 25 % lactosérum (75M+25L-7).....	42
Figure 13: Spectre FTIR et spectre dérivé secondaire du lactosérum	43
Figure 14: Spectre FTIR et spectre dérivé secondaire de la formulation 75 % margines + 25 % lactosérum (75M+25L-7).	45
Figure 15: Spectre FTIR et spectre dérivé secondaire de la formulation 75 % lactosérum + 25 % margines (75L+25M-7).....	47
Figure 16: Spectre FTIR et spectre dérivé secondaire de la formulation 50 % lactosérum + 50 % margines (50%L+50%M-7).	48
Figure 17: Projection des variables (paramètres) sur le plan factoriel F1-F2	54
Figure 18::Projection des traitements (individus) sur le plan factoriel F1-F2	55

Liste des abréviations

DBO5 : Demande biologique en oxygène sur 5 jours

DCO : Demande chimique en oxygène

MS : Matière sèche

MO : Matière organique

MM : Matière minérale

EE : Eau extractible

PP : Polyphénols

Flav : Flavonoïdes

EAG : Équivalent acide gallique

EQ : Équivalent quercétine

Introduction Générale

Introduction Générale

Le développement industriel mondial a contribué à des avancées significatives, mais s'accompagne également d'effets néfastes sur l'environnement et la santé publique. Conscients de ces enjeux, les écologistes et biologistes ont depuis longtemps cherché à limiter l'impact de la pollution industrielle, notamment dans des secteurs fortement générateurs de déchets comme l'industrie laitière.

Parmi ces rejets, le lactosérum constitue une source majeure de pollution. Ce sous-produit de la fabrication fromagère, riche en lactose, protéines solubles, vitamines hydrosolubles, lipides et minéraux, représente un substrat idéal pour la prolifération microbienne, ce qui en fait un déchet hautement polluant (Michel, 1986). Sa demande biochimique en oxygène (DBO), pouvant atteindre 35 à 60 g/L, compromet gravement les écosystèmes aquatiques (Panesar, 2007 ; Boudjema, 2009).

Face à ce problème, plusieurs voies de valorisation du lactosérum ont été explorées, notamment en alimentation humaine et animale, mais aussi dans le domaine biotechnologique, pour la production d'enzymes, de vitamines, d'alcools ou encore d'acide lactique, un composé d'intérêt dans l'agroalimentaire et la pharmacie. L'acide lactique se présente sous deux formes optiques : L(+) et D(-) (Macwan et al., 2016). La forme L-lactique, métabolisée naturellement chez l'homme, est préférée dans les produits alimentaires, contrairement à l'isomère D-lactique, potentiellement toxique (Narayanan, 2004 ; Zhang, 2007). La fermentation microbienne permet de produire efficacement l'acide lactique à partir de substrats bon marché comme le lactosérum, avec un rendement élevé (Djukic-Vukovic, 2012). Pourtant, ce sous-produit reste souvent sous-exploité et éliminé sans valorisation (Brandelli et al., 2015, Hamli et al., 2024).

Grâce à ses propriétés fonctionnelles et nutritionnelles, plusieurs procédés physico-chimiques et biotechnologiques ont été développés pour transformer le lactosérum en produits à valeur ajoutée utilisés dans divers secteurs : alimentation infantile, pâtisserie, boissons, plats cuisinés, etc. (Onwulata et Huth, 2009). Toutefois, la valorisation du lactosérum varie selon sa nature : les lactosérums doux sont plus adaptés à une valorisation industrielle que les lactosérums acides, souvent plus difficiles à traiter et à sécher (Schuck et al., 2004 ; Guo, 2019).

Parallèlement, un autre résidu problématique retient l'attention : les margines, issues de l'extraction de l'huile d'olive. Ces effluents, produits à hauteur de 8,4 millions de m³ par an à l'échelle mondiale, sont fortement chargés en composés phénoliques, en matières organiques et en solides, ce qui les rend toxiques pour les sols et les milieux

aquatiques (Nadour, 2015 ; Gueboudji et al., 2021 et 2022). En Algérie, la production atteint environ 200 000 tonnes par an. Bien que divers procédés de traitement existent (filtration, coagulation, électrocoagulation, etc.)(Harrat et al., 2024, ils restent coûteux, partiellement efficaces et négligent souvent la fraction huileuse riche en composés bioactifs (Bedouhene et al., 2017).

Dans une perspective de développement durable, la valorisation conjointe du lactosérum et des margines représente une solution prometteuse. Utilisés comme biostimulants, ces deux sous-produits peuvent favoriser la croissance des plantes et améliorer leur résistance au stress. Les margines (olive millwastewater), notamment, a démontré un effet positif sur la croissance végétale et l'activité antioxydante, grâce à sa richesse en composés phénoliques (Faraloni et al., 2023; Kadi et al., 2020). Combiné au potentiel nutritionnel du lactosérum, cela ouvre de nouvelles perspectives pour leur utilisation en agriculture.

Cette étude vise à valoriser deux effluents agro-industriels majeurs – le lactosérum et les margines – en les utilisant comme biostimulants dans le domaine agricole, afin de promouvoir la germination et la croissance des plantes en particulier (*Brassica napus* L., variété ZITNA), tout en contribuant à une gestion durable des déchets.

Partie bibliographique

Chapitre I

Les margines

I.1. Définition des margines d'olives

Les margines, également appelées eaux de végétation, sont les effluents liquides issus du processus d'extraction de l'huile d'olive. Elles proviennent à la fois de l'eau naturellement contenue dans les olives et de celle ajoutée lors des étapes de broyage et de trituration. Ces rejets sont une source majeure de pollution dans le bassin méditerranéen en raison de leur forte charge organique, de leur toxicité et de leur acidité modérée (Jeguirim et al., 2012).

Cependant, les margines sont aussi riches en composés bioactifs, notamment en polyphénols naturels. Ces derniers présentent des propriétés biologiques intéressantes : activités antimicrobienne, hypolipémiante, hypocholestérolémiante et anticancérogène (Gharby, 2013 ; Ouabou et al., 2014).

I.2. Systèmes d'extraction de l'huile d'olive

a. Système discontinu par presse ou super-presse

Les unités traditionnelles (maâsras) exercent une pression d'environ 100 kg/cm², tandis que les unités semi-modernes atteignent 200 kg/cm² et les unités modernes jusqu'à 400 kg/cm².

b. Système continu à deux phases

Ce système sépare l'huile et le grignon humide (mêlé aux eaux de végétation) par centrifugation.

c. Système continu à trois phases

Deux centrifugations successives permettent d'isoler les trois fractions : huile, margines et grignons (https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf, s. d.).

I.3. Composition physico-chimique des margines

Les margines sont issues de la dégradation des tissus de l'olive lors du processus d'extraction. Elles présentent une couleur brun-rose à noire, une odeur caractéristique, un aspect trouble, une forte conductivité et un pH variant entre 3 et 6 (Kadi et al., 2020). Leur composition dépend de nombreux facteurs : variété d'olive, stade de maturité, conditions pédoclimatiques, stockage et méthode d'extraction.

Chapitre I Les margines

Elles contiennent :

- 83 à 94 % d'eau
- 4 à 16 % de matières organiques
- 0,4 à 2,5 % de substances minérales

Les matières organiques sont majoritairement des sucres (glucose, xylose, arabinose...), polyalcools, acides organiques (fumarique, lactique...), polyphénols, lipides et acides aminés (notamment aspartique et malonique) (Aggoun et al., 2016).

Tableau 1: Paramètres physico-chimiques des margines (Zbakh et ElAbbassi, 2012)

Paramètre	Valeur
pH	4,7 - 5,7
Conductivité (mS/cm)	5 - 41
DCO (g/l)	16,5 - 190
DBO5 (g/l)	41,3 - 46
Matières organiques (g/l)	16,7 - 81,6
Polyphénols (g/l)	0,002 - 11,5

I.4. Composition phénolique des margines

Les polyphénols sont des métabolites secondaires très répandus dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures identifiées (Hennebelle et al., 2004). Dans l'olive, la majorité de ces composés hydrophiles migrent vers les margines et les grignons, laissant seulement 1 à 2 % dans l'huile.

Environ 53 % des polyphénols totaux se retrouvent dans les margines. L'hydroxytyrosol est le principal monomère phénolique, issu de la dégradation enzymatique de l'oleuropéine durant la maturation du fruit (De Marco et al., 2007).

Chapitre I Les margines

Principaux composés phénoliques :

- **Acides phénoliques et alcools** : acide caféique, vanillique, gallique, p-coumarique, hydroxytyrosol, tyrosol, oleuropéine
- **Secoiridoïdes** : ligstroside, verbascoside
- **Flavonoïdes** : lutéoline, lutéoline-7-glucoside
- **Polyphénols à haut poids moléculaire** : tanins (hydrolysables, condensés), anthocyanes, lignine

Tableau 2: Principaux polyphénols des margines (Gueboudji et al ., 2023)

Type	Exemples
Monomères aromatiques	Tyrosol, hydroxytyrosol
Acides phénoliques	Acide caféique, vanillique, syringique
Tanins	Tanins hydrolysables, catéchols, flavotanins

I.5. Activités biologiques des composés phénoliques

Tableau 3: Activités des composés phénoliques majeurs des margines (Senani-Oularbi, 2018)

Composé	Activités	Références
Hydroxytyrosol	Antioxydant, cardioprotecteur, anti-inflammatoire, antimicrobien, chemopréventif	Manna et al. (1999), Zrelli et al. (2011), etc.
Oleuropéine	Antioxydant, antihypertenseur, antiviral	Visioli et al. (1998), Bedouhene et al. (2017)

Tyrosol	Antioxydant, cardioprotecteur	anti-inflammatoire, Briante et al. (2001)
----------------	----------------------------------	---

I.6. Valorisation des margines

a. Extraction d'antioxydants naturels

Les polyphénols extraits (acide caféique, tyrosol, etc.) présentent une activité antioxydante supérieure à celle du BHA et BHT, et sont intéressants pour l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Saladino et al., 2001).

b. Production de biogaz

La digestion anaérobie permet de convertir jusqu'à 80 % de la matière organique en biogaz, avec un taux de méthane de 65–70 % (Khoufi et al., 2006).

c. Utilisation comme fertilisants

Grâce à leur richesse en minéraux, les margines peuvent fertiliser les sols. Toutefois, leur acidité et salinité doivent être contrôlées (Fiestas Ros de Ursinos, 1982 ; Nefzaoui, 1991).

d. Cosmétologie naturelle

Les extraits de feuille d'olivier riches en flavonoïdes, dont l'oleuropéine, présentent un fort potentiel antioxydant, dépassant même celui de la vitamine E. Leur exploitation dans la cosmétique naturelle est prometteuse, notamment dans un contexte de rejet des produits d'origine pétrochimique et animale (Gilbert et Yvette, 2007).

Chapitre II

lactosérum

II. Le lactosérum

II.1. Définition et origine du lactosérum

Le lactosérum, également appelé petit-lait, est le liquide résiduel obtenu après la coagulation du lait lors de la fabrication du fromage ou de la caséine. Ce sous-produit représente environ 85 à 95 % du volume initial du lait et renferme près de 55 % des nutriments d'origine, incluant le lactose, les protéines solubles, les minéraux et les vitamines hydrosolubles (Smithers, 2008 ; Siso, 1996). On distingue deux types principaux de lactosérum :

- le lactosérum doux, issu de la coagulation enzymatique du lait,
- le lactosérum acide, issu de la coagulation acide.

II.2. Composition physico-chimique du lactosérum

Le lactosérum est riche en composés bioactifs. Il contient entre 0,6 et 0,8 % de protéines solubles, principalement la β -lactoglobuline, l' α -lactalbumine, la sérumalbumine, les immunoglobulines et la lactoferrine (Marshall, 2004). Il renferme également environ 4,5 à 5 % de lactose, 0,5 à 0,6 % de minéraux (calcium, potassium, phosphore) et de faibles quantités de lipides (Pescuma et al., 2010). Cette composition confère au lactosérum un potentiel nutritionnel et fonctionnel élevé.

II.3. Propriétés nutritionnelles et biologiques des protéines de lactosérum

Les protéines de lactosérum sont reconnues pour leur haute valeur biologique : elles fournissent tous les acides aminés essentiels et sont facilement digestibles. Lors de l'hydrolyse enzymatique ou de la digestion gastro-intestinale, elles libèrent des peptides bioactifs aux effets variés : antihypertenseurs, antioxydants, antimicrobiens, immunomodulateurs, voire anticancéreux (Korhonen&Pihlanto, 2006 ; Pihlanto, 2006 ; Hernández-Ledesma et al., 2008).

II.4. Impact environnemental du lactosérum non valorisé

Le lactosérum constitue un déchet agroalimentaire à fort pouvoir polluant en raison de sa teneur élevée en matières organiques. Sa demande biologique en oxygène (DBO) varie de 35 000 à 60 000 mg/L, ce qui peut provoquer une pollution significative des eaux superficielles s'il est rejeté sans traitement adéquat (Prazeres et al., 2012). Cette

problématique environnementale a incité les industries laitières à adopter des stratégies de valorisation durables.

II.5. Voies de valorisation du lactosérum

II.5. 1. Valorisation alimentaire

Le lactosérum, sous-produit de l'industrie fromagère, constitue une source de nutriments à haute valeur ajoutée. Grâce aux techniques de séparation membranaire comme l'ultrafiltration et la nanofiltration, on obtient des concentrés et isolats protéiques (WPC, WPI) largement utilisés dans la nutrition sportive, les laits infantiles et les compléments alimentaires, en raison de leur excellente digestibilité et qualité nutritionnelle (Smithers, 2008).

II.5. 2. Valorisation biotechnologique

Le lactose contenu dans le lactosérum est un excellent substrat de fermentation microbienne, permettant la production de divers bioproduits :

- Bioéthanol (via *Kluyveromyces* spp.)
- Acide lactique et citrique
- Polyhydroxyalcanoates (PHA)
- Protéines unicellulaires, enzymes, arômes et gommes
Ces composés trouvent des applications dans les secteurs pharmaceutique, cosmétique, alimentaire et des bioplastiques (Panesar et al., 2007 ; Yadav et al., 2015).

Tableau 4: Valorisation biotechnologique du lactosérum

Produit	Procédé ou microorganisme	Références
Bioéthanol	<i>Kluyveromyces</i> spp.	Siso, 1996
Enzymes	Fermentation fongique	Garcia-Garibay et al., 1987
Gomme xanthane	<i>X. campestris</i>	Papoutsopoulou et al., 1994
Arômes	Fermentations diverses	Jiang, 1993

II.5.3. Valorisation agricole

Le lactosérum est utilisé :

- En alimentation animale (porcs, veaux, bovins) pour ses apports en lactose et protéines solubles, améliorant croissance et santé digestive.
- Comme fertilisant organique, enrichissant les sols en matière organique et nutriments essentiels.

Tableau 5: Utilisation du lactosérum dans le secteur agricole

Utilisation	Description	Références
Alimentation porcine/bovine	Source énergétique et protéique	Alonso-Fauste et al., 2012
Veaux sevrés	Remplacement partiel de l'eau	Boudier&Luquet, 1989
Fertilisation	Amélioration de la structure du sol	De Souza et al., 2010 ; Macwan et al., 2016

II.5. 4. Applications agroalimentaires du lactosérum et de ses constituants

A. Industrie laitière

- Fabrication de laits infantiles
- Substitution du lait écrémé dans les yaourts et fromages fondus
- Production de fromages secondaires (ex : Ricotta)

B. Industrie des boissons

- Formulation de boissons protéinées acides et diététiques, stables et enrichies en protéines

C. Produits glacés

- Substitution du lait ou du sucre dans glaces et sorbets

D. Boulangerie et pâtisserie

- Utilisation pour la réaction de Maillard (arôme et couleur)
- Substitut partiel de l'œuf, amélioration de la texture

E. Confiserie

- Enrichissement protéique des bonbons, chocolats et caramels

F. Produits carnés

- Incorporation dans saucisses, surimi, charcuteries pour leur texture et liant

G. Produits diététiques et infantiles

- Formulations riches en acides aminés essentiels, faciles à digérer

H. Autres usages

- **Lactose** comme exhausteur de goût
- **Protéines** dans les desserts fonctionnels

Tableau 6: Valorisation agroalimentaire du lactiosérum

Secteur	Exemples d'usage	Références
Laitiers	Laits infantiles, fromages	Apria, 1973 ; Vignola, 2002
Boissons	Boissons protéinées	Morr, 1989 ; De Boer, 1977
Glaces	Substitution du lait/sucre	Apria, 1973
Boulangerie	Arôme, texture, substitut œuf	De Wit, 1981 ; Apria, 1980
Confiserie	Enrichissement protéique	Vrignaud, 1983 ; Boutin, 1998
Carnés	Saucisses, salaisons	Grandadan, 1977 ; Sanderson, 1988
Diététiques	Aliments riches en protéines	Morr, 1982 ; Modlers, 1985b

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel biologique utilisé

1.1. Lactosérum utilisé

Les échantillons utilisés dans cette étude proviennent de l'unité laitière et fromagère, le lactosérum est de type doux (tableau 7), du premier soutirage lors de la fabrication du fromage de type Camembert selon le schéma de la figure 1, les échantillons ont été prélevés au niveau de la cuve de coagulation, dans des bouteilles en plastique stériles et conservés à 4°C jusqu'à l'analyse et le traitement.

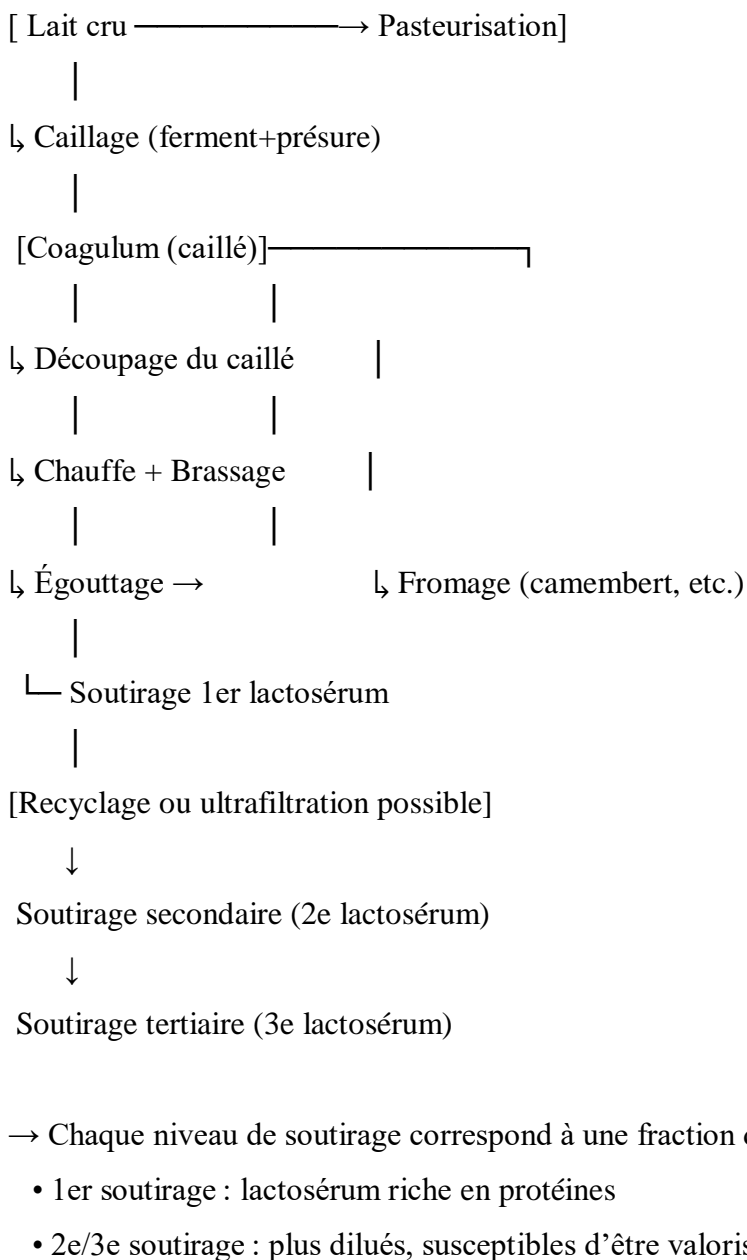


Figure 1 : Diagramme adapté de fabrication du fromage et les niveaux de soutirage des lactosérums (Lachebi et Yelles, 2018).

1.2. Margines utilisés

Les margines utilisées ont été prélevés à partir du bassin de décantation d'une huilerie moderne de fabrication Italienne située dans la région Baghay (Wilaya de Khenchela)

L'extraction de l'huile à froid s'est déroulée selon un processus fermé des olives issues de la région de Khenchela de la récolte de 2023.

Les margines de couleur rouge-marron ont été prélevés le mois de Novembre 2024 et ont été acheminées au laboratoire dans des bouteilles de 5 L, puis stockées à l'obscurité à une température de 4°C pour garder les même caractéristiques physico-chimiques des margines jusqu'à leur utilisation.

Tableau 7: Paramètres physicochimiques des margines utilisées

Paramètre	Valeurs
pH	5.05
Conductivité électrique (ms/cm)	4.83
Acidité	65
Humidité%	93.74
Matière sèche (g/l)	15.19
Solide total en suspension (g/l)	10.20
Azote total	0.0812
Matière organique	90.9
Matière minéral (mg/l)	31.833
Composé phénolique (g/l)	0.8

Les margines analysées présentent un caractère fortement acide, avec un pH de 5,05 et une acidité élevée de 65 °D, ce qui témoigne de leur potentiel corrosif et de leur impact environnemental négatif en cas de rejet non maîtrisé. Leur forte humidité (93,74 %) et leur faible teneur en matière sèche (15,19 g/L) indiquent une charge organique diluée mais persistante. La conductivité électrique relativement élevée (4,83 mS/cm) reflète une concentration importante en sels dissous. Les solides totaux en suspension (10,20 g/L) confirment la charge polluante importante, tout comme la matière organique (90,9 %) et la forte concentration en composés phénoliques (0,8 g/L), connus pour leur toxicité vis-à-vis de la flore microbienne et de

l'environnement. Par ailleurs, la teneur en azote total (0,0812 g/L) et en matière minérale (31 833 mg/L) souligne la complexité chimique des margines, avec un mélange de nutriments et de composés potentiellement nuisibles. Ces caractéristiques confirment la nécessité de traitements adaptés pour une valorisation ou un rejet contrôlé de ces effluents.

2. Formulation des biostimulants à base du lactosérum et margines

Les biostimulants formés dans cette étude sont comme suit :

Tableau 8: différentes formulations de biostimulants

Biostimulant	Formulation
B1	Margines 0%+ Lactosérum 100%
B2	Margines 25%+ Lactosérum 75%
B3	Margines 50%+ Lactosérum 50%
B4	Margines 75%+ Lactosérum 25%
B5	Margines 100%+ Lactosérum 0%

Le tableau présente différentes formulations de biostimulants obtenues par mélange de deux sous-produits agro-industriels : les margines (effluents issus de l'extraction de l'huile d'olive) et le lactosérum (sous-produit de la fabrication du fromage). Cinq formulations sont proposées selon des proportions croissantes de margines et décroissantes de lactosérum :

- **B1** correspond à une formulation composée uniquement de lactosérum (100 %) sans aucune margine.
- **B2** associe 25 % de margines à 75 % de lactosérum, introduisant ainsi une faible proportion de margines dans le mélange.
- **B3** représente un mélange équilibré à parts égales (50/50) entre les deux composés.
- **B4** inverse le rapport de B2, avec 75 % de margines et 25 % de lactosérum.
- **B5** est constitué exclusivement de margines (100 %), sans aucun ajout de lactosérum.

Cette gradation permet d'évaluer l'effet synergique ou antagoniste des deux matrices selon leurs proportions, tant sur le plan physicochimique que biologique, dans une optique de valorisation comme biostimulants agricoles.



Figure 2: Formulation des biostimulants à base du lactosérum et margines

3. Les paramètres mesurés pour la caractérisation des biostimulants

3.1. Teneur en matière organique (MO) et minérale (MM)

Principe

Lorsque l'échantillon, préalablement séché, est incinéré à 550°C, la matière organique se consume et le reste constitue la matière minérale se trouvant sous forme de cendres blanches.

Mode opératoire

Une quantité de la matière sèche préalablement obtenue est pesée dans des creusets en porcelaine préalablement tarés, puis incinérée dans un four à moufle à de 550 °C pendant une semaine. Les creusets sont ensuite placés dans un dessiccateur pendant, au minimum une demi-heure. Les débris sont constitués des cendres qui, par opposition, fournissent la matière organique présente dans l'échantillon. Le taux de cendres présentes calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ MM} = (P3 - Tc / P2 - Tc) * 100$$

- **P2** : poids de creuset après dessiccation.
- **P3** : poids de creuset après incinération.
- **Tc** : poids de creuset vide.

La teneur en matière organique est calculée comme suit :

$$\% \text{ MO} = 100 - \% \text{ cendres}$$



Figure 3: Teneur en matière organique (MO) et minérale (MM)

3.2. Teneur en eau (H)

- **Principe :** La teneur en eau est déterminée par séchage de l'échantillon dans une étuve à une température spécifique (généralement 105°C) jusqu'à poids constant. La perte de poids représente la quantité d'eau présente dans l'échantillon.
- **Manipulation:**
 - Une quantité connue d'échantillon frais est pesée.
 - L'échantillon est placé dans une étuve à 103°C pendant 24 heures (le texte mentionne également un séchage répété pendant 30 minutes dans un dessiccateur).
 - L'échantillon séché est refroidi dans un dessiccateur et pesé.
 - La teneur en eau est calculée en pourcentage du poids initial de l'échantillon.

3.3. Teneur en solide totale (matière sèche (MS))

- **Principe :** Représente la quantité totale de matière solide restante après l'élimination de l'eau de l'échantillon. Elle est déterminée par séchage de l'échantillon jusqu'à poids constant.
- **Manipulation :**
 - L'échantillon est séché dans une étuve jusqu'à poids constant. Le pourcentage de solide totale est calculé en utilisant la formule :

$$MS\% = 100\% - \%H_2O$$



Figure 4: Teneur en solide totale (matière sèche (MS))

3.4. Teneur en azote total Kjeldahl (N)

- **Principe** : La méthode de Kjeldahl est une méthode d'analyse chimique pour déterminer la quantité d'azote organique et inorganique lié dans des substances chimiques. Elle comprend trois étapes principales :
 - **Digestion** : L'échantillon est chauffé dans de l'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) avec un catalyseur (tel que le sulfate de cuivre ou le sélénium) pour convertir l'azote organique en sulfate d'ammonium ($(NH_4)_2SO_4$).
 - **Distillation** : Une base forte (telle que l'hydroxyde de sodium NaOH) est ajoutée au digestat pour convertir le sulfate d'ammonium en ammoniac (NH_3). L'ammoniac libéré est distillé et recueilli dans une solution acide standard (telle que l'acide borique ou l'acide sulfurique).
 - **Titration** : La quantité d'ammoniac recueillie est titrée avec une solution acide ou basique standard pour déterminer la quantité d'azote dans l'échantillon original.
- **Manipulation**:
 - Utilisation de 5 ml de l'échantillon.
 - Ajout de 10 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) et d'une petite quantité de sélénium comme catalyseur.
 - Chauffage du mélange jusqu'à ce qu'il devienne clair.

Matériel et méthodes

- Distillation de l'ammoniac produit dans une solution d'acide borique (H_3BO_3) en présence d'un indicateur coloré.
- Titration de l'ammoniac absorbé dans l'acide borique avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 0,1N jusqu'au changement de couleur de l'indicateur.

Le pourcentage d'azote est calculé en fonction du volume d'acide chlorhydrique consommé

3.5.Demande Biologique en Oxygène sur 5 jours (DBO₅)

Principe :

La DBO₅ (Demande Biologique en Oxygène sur 5 jours) représente la quantité d'oxygène dissous consommée par les micro-organismes aérobies pour dégrader la matière organique biodégradable contenue dans un échantillon, à une température de 20°C, pendant cinq jours, dans l'obscurité.

Manipulation :

La mesure a été réalisée à l'aide d'un appareil DBO-mètre de marque VELP Scientifica, placé dans une enceinte thermostatée (AQUA LYTIC), conformément à la norme AFNOR T90-103.

Les échantillons de margines pures ont été dilués au 1/100 avec de l'eau distillée pour réduire l'effet toxique des polyphénols sur la flore microbienne.

Les filtrats ont été dilués au 1/10.

Deux pastilles de NaOH ont été placées dans le couvercle de chaque bouteille afin d'absorber le CO₂.

Les bouteilles ont ensuite été incubées pendant 5 jours à 20°C dans l'obscurité.

La DBO₅ est déterminée automatiquement par l'appareil, correspondant à la quantité d'oxygène consommée.

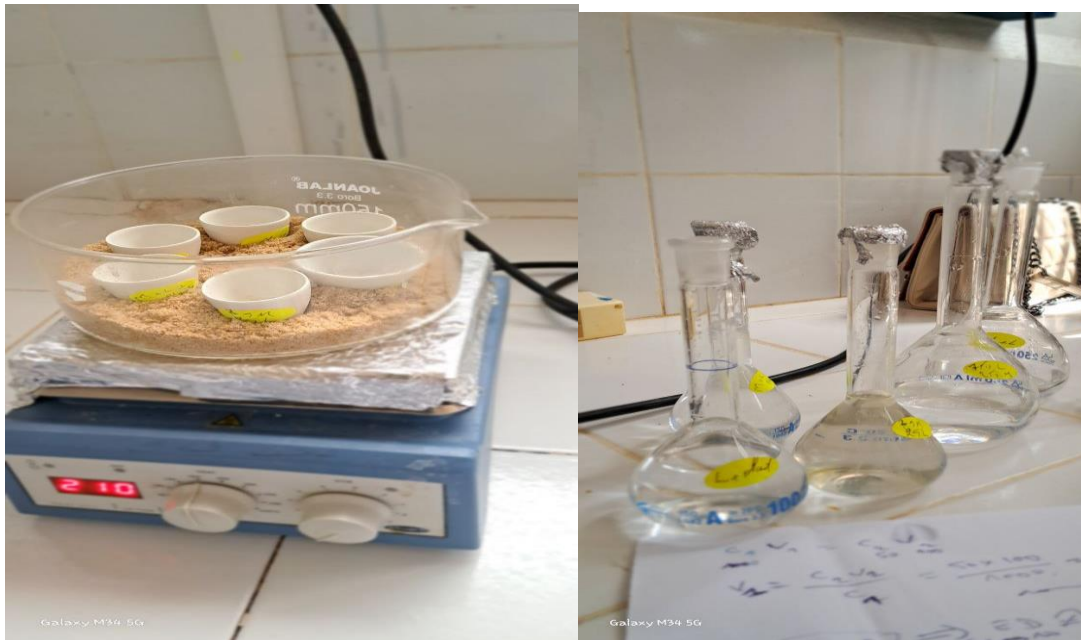
Matériel et méthodes



Figure 5: Demande Biologique en Oxygène

3.6. Teneurs en cations : Ca^{+2} , K^+ , Na^+

✓ Mode opératoire



Pour chaque échantillon, 1g de solution a été pesé dans une capsule en porcelaine et on les met dans le four à moufle pour subir une calcination pendant 2h à température de 220°C et 6h à température de 550°C , et 2ml d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés dans chaque capsule après refroidissement. Ensuite on chauffe les substrats dans un bain à sable

Matériel et méthodes

jusqu'à l'évaporation totale de l'acide. De plus, 5ml d'HCl(N/10) ont été ajoutés et on filtre les solutions obtenues dans des fioles jaugées de 100ml et on ajoute l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. On passe les échantillons dans le photomètre à flamme après avoir passé les solutions d'étalonnage appropriées à chaque élément minéral.

3.7. Dosage des polyphénols totaux (PP) par la méthode de Folin-Ciocalteu

- **Principe :** Cette méthode repose sur une réaction d'oxydoréduction. Les composés phénoliques présents dans l'échantillon réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu (un mélange d'acides phosphomolybdique et phosphotungstique) dans des conditions alcalines. Les phénols réduisent le réactif, formant des complexes de couleur bleue dont l'absorbance peut être mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde spécifique (généralement 760 nm). L'intensité de la couleur bleue est directement proportionnelle à la concentration des composés phénoliques dans l'échantillon. Les résultats sont généralement exprimés en équivalents d'acide gallique (EAG) par unité de poids ou de volume de l'échantillon.
- **Manipulation :**
 - Le protocole est basé sur la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (Mäkkär et al., 1993).
 - Les composés phénoliques réagissent avec le réactif dans un milieu alcalin.
 - L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde maximale de 760 nm.
 - Un exemple mentionne le mélange de 50 µl d'extrait phénolique avec 950 µl d'eau distillée (cette étape fait partie de la préparation de l'échantillon pour la réaction).

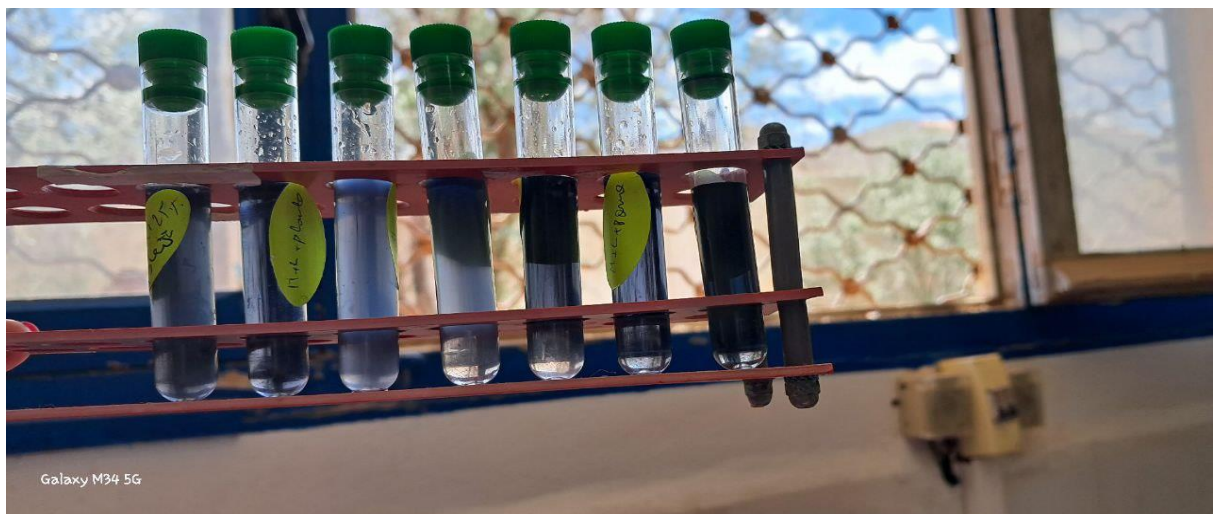


Figure 6: Dosage des polyphénols totaux (PP) par la méthode de Folin-Ciocalteu

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

- **Principe** : Une courbe d'étalonnage est un graphique montrant la relation entre les concentrations connues d'un étalon (ici, l'acide gallique) et les lectures obtenues par l'instrument de mesure (ici, l'absorbance spectrophotométrique). Cette courbe est utilisée pour déterminer la concentration d'une substance inconnue dans des échantillons réels. Une série de solutions étalons d'acide gallique à différentes concentrations est préparée, et leur absorbance est mesurée après réaction avec le réactif de Folin-Ciocalteu de la même manière que pour les échantillons. L'absorbance est tracée en fonction de la concentration, et une équation linéaire est obtenue.
- **Manipulation (selon le texte et la figure)** :
 - Préparation de 500 µl de solution de Folin-Ciocalteu (1N) et 2,5 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3 20%).
 - Incubation du mélange réactionnel pendant 30 minutes à température ambiante à l'obscurité.
 - Mesure de l'absorbance à 725 nm.
 - Préparation d'une gamme étalon en utilisant différentes concentrations d'acide gallique (0,001 à 0,025 mg/ml).
- La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par une solution étalon de l'acide gallique à différentes concentrations, d'où on a calculé la teneur en polyphénols qui est exprimé en mg équivalent par la matière sèche (mg EAG/g), en appliquant l'équation linéaire de la courbe est $y = 11.6x + 0.1739$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9975$.

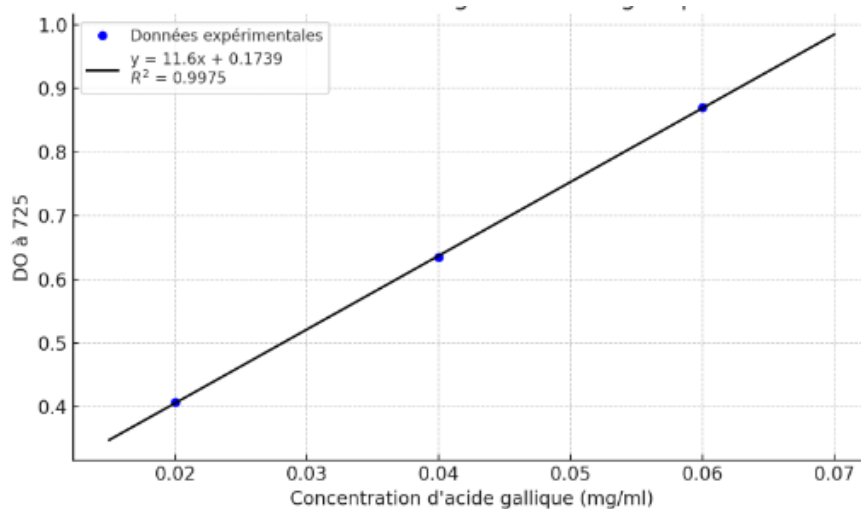


Figure 7: la courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 725 nm

3.8. Dosage des flavonoïdes (Flav)

- **Principe :** Cette méthode repose généralement sur la formation d'un complexe coloré entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium (AlCl_3). L'aluminium réagit avec les groupes cétone et hydroxyle adjacents dans la structure des flavonoïdes pour former des complexes jaunes dont l'absorbance peut être mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde spécifique (généralement autour de 420 nm). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des flavonoïdes. Les résultats sont souvent exprimés en équivalents de quercétine (EQ) par unité de poids ou de volume de l'échantillon.
- **Manipulation:**
 - Les flavonoïdes totaux sont déterminés en utilisant le chlorure d'aluminium (AlCl_3 2%).
 - La procédure implique le mélange de 250 μl d'extrait phénolique dilué dans 500 μl d'eau distillée avec 75 μl d' AlCl_3 .
 - La densité optique (DO) est mesurée à 420 nm.
 - Les concentrations sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage de quercétine.



Figure 8: Dosage des flavonoïdes (Flav)

La courbe d'étalonnage de la quercétine

Principe : Similaire à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, la courbe d'étalonnage de la quercétine est utilisée pour estimer la concentration des flavonoïdes dans les échantillons. Une

Matériel et méthodes

série de solutions étalons de quercétine à différentes concentrations est préparée et traitée de la même manière que les échantillons avec le chlorure d'aluminium. L'absorbance est tracée en fonction de la concentration pour obtenir une équation linéaire. La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par une solution étalon de quercétine à différentes concentrations, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes qui est exprimé en mg équivalent par la matière sèche (mg EQ/g). L'équation linéaire de la courbe est : $y=0.052 X+0.097$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.952$.

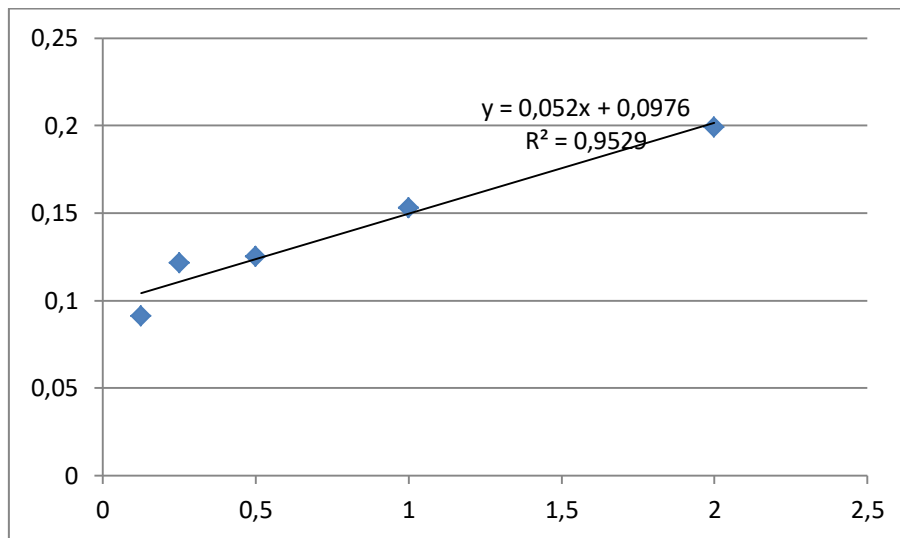


Figure 9: Courbe étalonnage de la quercétine

3.9. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des biostimulants

Les biostimulants formulés ont été soumis à une analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) à l'aide d'un spectromètre Perkin-Elmer (Perkin-Elmer, USA). Les techniques spectroscopiques représentent des expériences très intéressantes de par les renseignements qu'elles peuvent apporter en complémentarité aux analyses par diffractions des rayons X. Par techniques spectroscopiques on entend des représentations schématiques qui reflètent les propriétés d'absorbance ou de transmittance de la matière vis-à-vis d'une excitation par le biais de photon, d'électrons, ... l'on parle d'interaction rayonnement-matière). L'exploitation de la réponse émise par la matière renseigne sur ses propriétés, ses constituants, etc.

Les analyses peuvent être effectuées sur des métaux, des oxydes, des céramiques, des polymères, des nanomatériaux, des poudres, des verres, des biomatériaux, des semi-conducteurs que ces matériaux soient cristallins ou amorphes et sur des profondeurs allant de

Matériel et méthodes

quelques 1nm (XPS : X-ray photoelectronspectroscopy), et jusqu'à 1µm (AES : Auger électron spectroscopy).

La spectrométrie infrarouge permet d'identifier les composés organiques et inorganiques, qu'ils soient cristallins ou amorphes. Elle saisit seulement les mouvements (vibrations par exemple) des atomes les uns par rapport aux autres. Elle connaît un regain d'intérêt avec l'apparition des spectromètres à transformée de Fourier.

La spectrométrie infrarouge permet d'identifier les composés organiques et inorganiques, qu'ils soient cristallins ou amorphes. Elle saisit seulement les mouvements (vibrations par exemple) des atomes les uns par rapport aux autres. Elle connaît un regain d'intérêt avec l'apparition des spectromètres à transformée de Fourier. L'analyse des produits inorganiques peut se faire de manière très efficace, sur de faibles quantités par micro-prélèvement (~30 mg), à condition d'avoir des produits soigneusement broyés.

Mode opératoire et accessoires de spectroscopie FTIR

10-100 mg d'échantillon, végétal, oxydes, hydroxyde, sulfure ou carbonate sont prélevés (poudre, ou oxyde grattée), ou même liquide.

L'échantillon est mélangé (pendant au moins une minute) dans un mortier en Agathe avec ~100 mg de KBr,

Le mélange est introduit dans le moule avant pastillage,

Le mélange a été ensuite comprimé-pastillé dans presse hydraulique (à une pression de 10 Tonnes),

La pastille est ensuite extraite du moule pour être placée dans un porte échantillon,

L'appareillage analyse préalablement un spectre background relatif à l'atmosphère qui règne dans la salle d'analyse,

Une fois l'échantillon placé dans l'appareil,

Les spectres de transmission ont été obtenus, après une 20 de secondes. Tous les spectres

infrarouges sont des rapports d'absorbance ($A = -\log \left(\frac{I}{I_0} \right)$) en fonction des nombres d'ondes incidentes.

Matériel et méthodes



Figure 10: Différentes étapes et accessoires de spectroscopie FTIR

4. Application des biostimulants formulés sur la germination des graines

L'application des biostimulants a été réalisée *in vitro*, en conditions du laboratoire dont la température est de 25°C, en utilisant du coton imbibé avec les différentes solutions diluées des formulations biostimulantes (dilution 1/10). Les graines non traitées de colza (*Brassicanapus* L., variété ZITNA), préalablement sélectionnées et fournies par l'ITGC de Lkhroub (wilaya de Constantine), ont été placées sur le coton humidifié avec les biostimulants B1 à B5, correspondant à diverses proportions de margines et de lactosérum, ainsi qu'un témoin arrosé uniquement à l'eau distillée. Chaque traitement a été réalisé en trois répétitions, ce qui permet d'assurer la fiabilité des données. Cette méthode permet de suivre précisément le comportement germinatif des graines en réponse aux biostimulants, tout en minimisant l'influence de facteurs externes.

5. Analyse statistique

Pour promouvoir les travaux réalisés, tous les résultats obtenus sont soumis à une analyse de variance suivie d'une analyse des moyennes sur la base de la petite différence significative (5%) afin de mettre en évidence les groupes homogènes. Les analyses statistiques des caractéristiques physicochimiques des biostimulants formulés ont été effectuées par le logiciel SAS 9.1.3 et celles des pourcentages de germination ont été effectuées. Les résultats des essais effectués sont exprimés sous forme d'écart-type moyen SD. La différence les biostimulants est déterminée par le test Student pour les comparaisons individuelles ou ANOVA suivi du test Dunnett / Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de p 0.05 sont considérées comme statistiquement significatives. L'analyse des composants principaux de la fraction soluble est effectuée par le logiciel EXCEL STAT (version 2014).

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Analyses de la variance des résultats obtenus

Analyses de la variance des résultats des paramètres physicochimiques mesurés des différents biostimulants formulés (Tableau 10) a montré qu'il y a des différences très hautement significatives entre les biostimulants testés en ce qui concernent les paramètres physicochimiques suivant : teneur en MM, MO, MS, H, N, Ca²⁺, Na⁺, K⁺, PP, Flav, DBO5 et aussi des différences très hautement significatives de pourcentages de germination en fonction des biostimulants formulés (P≤0.0001).

Tableau 9: Caractéristiques du lactosérum utilisé

Paramètre	Valeur mesurée
pH	6.20
Acidité (Dornic)	16,10 °D
Extrait Sec Total (EST)	72.98 g/L
Matières grasses (MG)	1.00 g/L
Protéines	3.10 g/L
Lactose	57.25 mg de P/L
DCO	84 480 mg O ₂ /L
DBO ₅	40 000 mg O ₂ /L

Le lactosérum analysé présente un pH de 6,20 et une acidité de 16,10 °D, caractéristiques d'un lactosérum doux issu de la coagulation enzymatique. Sa richesse en matières dissoutes est illustrée par un extrait sec total de 72,98 g/L, témoignant d'un fort potentiel nutritionnel. La teneur en protéines solubles (3,10 g/L) et en lactose (57,25 g/L) confirme l'intérêt de ce sous-produit pour des valorisations alimentaires ou biotechnologiques, notamment dans la production de concentrés protéiques, de peptides bioactifs ou par fermentation microbienne. La faible teneur en matières grasses (1,00 g/L) le rend également adapté à des formulations allégées. Cependant, les valeurs très élevées de la demande chimique en oxygène (DCO : 84 480 mg O₂/L) et de la demande biologique en oxygène sur 5 jours (DBO₅ : 40 000 mg O₂/L) révèlent un pouvoir polluant important, nécessitant une gestion appropriée pour éviter des impacts environnementaux sévères. Ce

Résultat et discussion

profil physico-chimique souligne à la fois le potentiel de valorisation du lactosérum et la nécessité d'un traitement durable.

Tableau 10: Carrés moyennes des paramètres physicochimiques des biostimulants formulés

sources	D	MO	MM	H	MS	N	PP	Flav	DBO ₅
Effet du biostimulant	4	14.16 6***	1.248 ***	17.890 9***	16.23 7***	0.2015 ***	0.079 2***	0.00003 62***	296981 5.77***
Erreur	10	0.008	0.001	0.238	0.185	0.0018	0.000	0.00000	5216.27
		78	04		2	2	24	002	

sources	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	% germination
Effet du biostimulant	1536.06***	3279.73***	1921.50***	3480.066***
Erreur	6.26	30.46	8.60	7.733

*** : très hautement significative à 1%.

2. Analyse physicochimique des biostimulants formulés

2.1. Teneur en matière minérale (MM) et organique (MO)

Tableau 11: Teneur en matière minérale et organique des biostimulants formulés

Biostimulant	MO (g/L)	Groupes homogènes (PPDS=0.1705)	MM(g/L)	Groupes homogènes (PPDS=0.0587)
B1 : Margines Lactosérum 100%	0%+ 2.80	D	1.2	D
B2 : Margines Lactosérum 75%	25%+ 2.92	D	0.67	E
B3 : Margines	50%+ 5.6	B	1.43	C

Résultat et discussion

Lactosérum 50%				
B4 : Margines 75%+	7.746	A	1.73	B
Lactosérum 25%				
B5 : Margines 100%+	3.16	C	2.41	A
Lactosérum 0%				

L'analyse du tableau met en évidence l'évolution des teneurs en matières organiques (MO) et en matières minérales (MM), exprimées en g/L, dans cinq formulations de biostimulants (B1 à B5) issues de mélanges variables de margines et de lactosérum. La teneur en MO augmente globalement avec la proportion croissante de margines, atteignant un pic à 7,78 g/L pour B4 (75 % margines), avant de diminuer à 3,18 g/L pour B5 (100 % margines), probablement en raison d'une saturation ou d'une perte de composés organiques volatils. Concernant les matières minérales, la valeur la plus faible est observée pour B2 (0,675 g/L), malgré sa composition intermédiaire, tandis que B5 atteint la concentration maximale (2,4 g/L), soulignant la richesse minérale des margines. Les formulations B3 et B4 se distinguent par un bon équilibre entre MO et MM, suggérant une complémentarité intéressante entre les deux résidus pour une valorisation agronomique optimale.

Par ailleurs, la composition en minéraux de la margarine et du lactosérum diffère considérablement en raison de leurs origines distinctes. La margarine, dérivée d'huiles végétales, présente une minéralité variable, souvent due à un enrichissement artificiel. À l'inverse, le lactosérum, sous-produit de la fabrication du fromage, est naturellement riche en protéines et en minéraux essentiels comme le calcium (environ 0,9 %), le phosphore, le magnésium et le potassium. Les protéines du lactosérum contribuent également à un profil complet en acides aminés. Ainsi, comparé à la margarine, le lactosérum constitue une source plus naturelle et plus riche en nutriments, notamment pour les apports minéraux (Weber et al., 2021 ; Guillén et al., 2016).

2.2. Teneur en eau (H) et en matière sèche (MS)

Le tableau présente les variations de la teneur en humidité (H) et en matière sèche (MS) de différentes formulations de biostimulants élaborées à partir de mélanges de margines d'olive et de lactosérum dans des proportions variables.

Résultat et discussion

Les résultats révèlent une augmentation progressive de l'humidité avec la hausse de la proportion de margines dans le mélange. Ainsi, la formulation **B1** (100 % lactosérum) affiche une humidité de **89,65 %**, tandis que la formulation **B5** (100 % margines) atteint **95,74 %**. Cette évolution confirme que les margines présentent une teneur en eau plus élevée que le lactosérum, ce qui est en accord avec les données de la littérature. Cette forte teneur en eau peut être attribuée à deux facteurs principaux : d'une part, à l'humidité naturellement présente dans les olives, et d'autre part, à l'eau ajoutée lors du processus d'extraction de l'huile d'olive (Procida et Ceccon, 2006). Nos résultats concordent avec ceux rapportés pour des margines issues d'huileries modernes en Tunisie, dont l'humidité varie entre 83 et 94 % (Noubigh et al., 2007).

Inversement, la teneur en matière sèche diminue de manière progressive avec l'augmentation du pourcentage de margines, passant de **10,35 %** dans la formulation B1 à **4,26 %** dans la formulation B5. Cette diminution s'explique par la faible concentration en matières solides des margines, qui sont essentiellement constituées d'eau et de composés solubles provenant de la trituration des olives. La teneur en matière sèche des margines observée dans cette étude (environ 4,60 %) est nettement inférieure à celle rapportée par Achak et al. (2008), qui l'estimaient à **56,75 %**. Cette divergence pourrait s'expliquer par divers facteurs, notamment les conditions climatiques et géologiques, le stade de maturité des olives au moment de la récolte, ainsi que la quantité d'eau ajoutée au cours des procédés d'extraction (El-Abbassi et al., 2011).

Tableau 12: Teneur en eau (H) et en matière sèche (MS)

Bioestimulant	H (%)	Groupes homogènes (PPDS=0.8887)	MS (%)	Groupes homogènes (PPDS=0.7831)
B1 : Margines 0%+ Lactosérum 100%	89.35	E	10.64	A
B2 : Margines 25%+ Lactosérum 75%	91.72	C	8.28	C
B3 : Margines 50%+ Lactosérum 50%	90.36	D	9.64	B
B4 : Margines 75%+	93.36	B	6.64	D

Résultat et discussion

Lactosérum 25%					
B5 :	Margines	95.17	A	4.83	E
100%+	Lactosérum				
0%					

2.3. Teneur en azote total Kjeldahl (N)

Le tableau présente l'évolution de la teneur en azote total (N %) dans cinq formulations de biostimulants résultant de mélanges à proportions variables de lactosérum et de margines d'olive.

Une diminution progressive du taux d'azote est clairement observée à mesure que la proportion de margines augmente dans le mélange. La formulation **B1** (100 % lactosérum) affiche la teneur en azote la plus élevée (**0.85 %**), tandis que la formulation **B5** (100 % margines) enregistre la valeur la plus faible (**0.14 %**). Les formulations intermédiaires (B2 à B4) suivent cette tendance, avec des valeurs décroissantes allant de **0.60 % à 0.30 %**, traduisant l'effet de dilution du lactosérum par les margines.

Cette variation s'explique par les caractéristiques biochimiques spécifiques à chaque sous-produit:

- Le lactosérum, sous-produit liquide issu de la coagulation du lait, est riche en protéines solubles, notamment l'alpha-lactalbumine, les bêta-lactoglobulines et divers peptides bioactifs. Ces composés représentent la principale source d'azote organique et confèrent au lactosérum une forte valeur azotée, bénéfique pour la nutrition des plantes.
- À l'opposé, les margines d'olive, produites lors de la trituration des olives, sont constituées majoritairement d'eau, de composés phénoliques, d'acides organiques et de sucres solubles, mais pauvres en protéines, et donc en azote. Cette faible concentration en azote est confirmée par nos analyses, qui révèlent une teneur en protéines de 0.471 %. Cette valeur reste inférieure à celle rapportée par Leouifoudi et al. (2014), soit 1.24 g/L, mais se rapproche des résultats de Lopes et al. (2009) pour des margines portugaises (0.30 %).

Résultat et discussion

Par ailleurs, il est important de préciser que le pourcentage d'azote a été déterminé à partir du volume d'acide chlorhydrique consommé lors du dosage, selon les méthodes classiques de titration Kjeldahl.

Sur le plan agronomique, cette diminution de la teneur en azote total peut influencer l'efficacité des formulations en tant que biostimulants, notamment en ce qui concerne l'apport nutritionnel azoté, essentiel à la croissance végétative. Cependant, les margines, bien que déficitaires en azote, contiennent des composés bioactifs (notamment des polyphénols) susceptibles de jouer un rôle important dans la stimulation des défenses naturelles des plantes et leur résistance aux stress abiotiques.

Tableau 13: la teneur en azote (N)

Bioestimulant	N (%)	Groupes homogènes (PPDS=0.0776)
B1 : Margines 0%+ Lactosérum 100%	0.85	A
B2 : Margines 25%+ Lactosérum 75%	0.6	B
B3 : Margines 50%+ Lactosérum 50%	0.4	C
B4 : Margines 75%+ Lactosérum 25%	0.3	D
B5 : Margines 100%+ Lactosérum 0%	0.14	E

2.4. Demande Biologique en Oxygène sur 5 jours (DBO₅)

Tableau 14: la moyenne de la demande Biologique en Oxygène sur 5 jours (DBO₅)

Bioestimulant	(g/l)	Groupes homogènes (PPDS=131.3)
B1 : Margines 0%+ Lactosérum 100%	3363.67	A
B2 : Margines 25%+ Lactosérum 75%	2750.67	B

Résultat et discussion

B3 :	Margines	50%+	1950.56	C
Lactosérum 50%				
B4 :	Margines	75%+	1702	D
Lactosérum 25%				
B5 :	Margines	100%+	773	E
Lactosérum 0%				

L'évaluation de la DBO₅ des différentes formulations de biostimulants met en évidence une corrélation négative entre la proportion de margines et la biodégradabilité du mélange. Le traitement composé uniquement de lactosérum (B1) présente la DBO₅ la plus élevée (3363,67 mg/g), traduisant une activité microbienne intense. Cette forte biodégradabilité est attribuée à la richesse du lactosérum en composés facilement assimilables tels que les sucres, les protéines et les matières azotées. Ces observations sont en accord avec les données de la littérature, qui qualifient le lactosérum de substrat hautement fermentescible.

À l'inverse, l'augmentation progressive de la part de margines dans le mélange entraîne une baisse significative de la DBO₅, atteignant un minimum de 773 mg/g pour le traitement B5 (100 % margines). Cette diminution est probablement due à la présence de composés phénoliques et d'autres substances antimicrobiennes dans les margines d'olive, reconnus pour leur faible biodégradabilité. Plusieurs études ont démontré que la faible teneur en azote et la forte charge organique récalcitrante des margines limitent l'activité des micro-organismes aérobies.

L'application du test PPDS (PPDS= 131.3) a permis d'identifier cinq groupes homogènes, confirmant que les différences entre formulations sont statistiquement significatives. Cela souligne l'influence déterminante de la composition du biostimulant sur sa biodégradabilité. La tendance observée laisse entrevoir un potentiel d'ajustement des proportions en fonction des objectifs de valorisation biologique, que ce soit pour le compostage, l'épandage agricole ou d'autres usages.

Le lactosérum, riche en eau, lactose, protéines et minéraux, contribue de manière significative à la DBO₅ en raison de sa forte teneur en matière organique biodégradable (Ramos et al., 2021 ; Tobar et al., 2023). Son intégration dans des formulations alimentaires, telles que la margarine, constitue une voie de valorisation intéressante permettant la réduction de son impact environnemental et l'amélioration potentielle du profil nutritionnel du produit

Résultat et discussion

final (Hameed et al., 2023). Toutefois, l'effet sur la DBO_5 dépendra des proportions employées et des traitements technologiques appliqués.

En somme, ces résultats mettent en lumière l'intérêt d'un compromis entre margines et lactosérum, afin de maintenir une activité biologique suffisante tout en réduisant la charge polluante. À cet égard, les traitements intermédiaires B2 (25 % margines) et B3 (50 % margines) se révèlent particulièrement prometteurs. Ils associent une biodégradabilité encore relativement élevée à une incorporation significative de margines, offrant ainsi une voie de valorisation durable de ces sous-produits agro-industriels.

2.4. Teneurs en cations : Ca^{+2} , K^+ , Na^+

Tableau 15: les moyennes de la teneur en cations échangeables dans les différents biostimulants

Bioestimulant	Ca^{+2} (mg/L)	Groupes homogènes (PPDS=4.55 4)	K^+ (mg/L)	Groupes homogènes (LSD=10.04 2)	Na^+ (mg/L)	Groupes homogènes (PPDS=0.077 6)
B1 : Margines 0%+ Lactosérum 100%	100.66	A	148	E	14	E
B2 : Margines 25%+ Lactosérum 75%	84.66	B	164.45	D	22.33	D
B3 : Margines 50%+ Lactosérum 50%	75	C	182	C	43	C
B4 : Margines 75%+ Lactosérum	56.67	D	207.33	B	62.3	B

Résultat et discussion

25%						
B5 : Margines	43.33	E	230.66	A	73.4	A
100%+						
Lactosérum						
0%						

Les résultats obtenus mettent en évidence une influence marquée de la composition des biostimulants sur les teneurs en cations essentiels (Ca^{2+} , K^+ , Na^+). Une tendance inverse est observée entre la concentration en calcium et celles en potassium et sodium, selon la proportion de margines incorporée dans le mélange.

Calcium (Ca^{2+})

La concentration en calcium décroît significativement avec l'augmentation des margines. Le traitement B1 (100 % lactosérum) affiche la plus forte teneur en Ca^{2+} (100,66 mg/L), tandis que le traitement B5 (100 % margines) présente la plus faible (43,33 mg/L). Cette différence reflète la richesse du lactosérum en minéraux, en particulier en calcium, élément indispensable au développement des plantes. Le test de comparaison (PPDS = 4.554) révèle cinq groupes homogènes distincts, confirmant la significativité des écarts entre les formulations. En effet, le lactosérum, dont la teneur en calcium est naturellement élevée, contribue à enrichir les mélanges en cet élément, ce qui n'est généralement pas le cas des margines (Kwiecień et al., 2012).

Potassium (K^+)

À l'opposé du calcium, la concentration en potassium augmente avec la part croissante de margines dans les formulations. Le traitement B5 atteint la valeur maximale (230.66 mg/L), contre 148 mg/L pour B1. Cette élévation s'explique par la nature des margines, sous-produits riches en potassium en raison de leur origine végétale (olive). L'analyse statistique (PPDS = 10.042) distingue cinq groupes homogènes, confirmant la significativité des différences. Dans le domaine alimentaire, les protéines de lactosérum peuvent contenir jusqu'à 13 mg/g de potassium (Lisboa & Sousa, 2020), et le remplacement partiel du sodium par le potassium dans des produits comme le fromage a montré un impact sur la texture et la fonctionnalité (El-Bakry et al., 2011), effets qui pourraient également concerner les formulations de margarine enrichies.

Résultat et discussion

Sodium (Na⁺)

La concentration en sodium suit la même tendance que celle du potassium, augmentant fortement avec l'ajout de margines. Le traitement B1 présente la teneur la plus faible (14 mg/L), tandis que B5 dépasse les 73 mg/L. Ce phénomène s'explique par la présence fréquente de résidus salins dans les margines. La PPDS (0.0776) permet aussi de différencier clairement les traitements en cinq groupes significativement distincts. En termes nutritionnels, les teneurs en sodium dans les suppléments de lactosérum peuvent varier de 0.30 à 5.9 mg/g, influençant la composition finale de produits comme la margarine selon le type de lactosérum utilisé (Lisboa & Sousa, 2020). De plus, l'ajout de sel émulsifiant au cours du procédé de fabrication peut accentuer ces variations (El-Bakry et al., 2011).

Ces observations montrent que le lactosérum contribue à enrichir les biostimulants en calcium, tandis que les margines augmentent les niveaux de potassium et de sodium. Ce profil ionique peut être ajusté en fonction des besoins agronomiques ou des objectifs de formulation en industrie agroalimentaire. L'ajout de lactosérum dans des produits tels que la margarine peut ainsi améliorer le profil nutritionnel, mais pourrait également entraîner des variations de texture et de stabilité, influençant la qualité finale et la perception des consommateurs.

2.5. Dosage des polyphénols totaux (PP)

Tableau 16: Teneur en polyphénols (Méthode de Folin-Ciocalteu)

Bioestimulant	PP (mg EAG/g)	Groupes homogènes (PPDS=0.0286)
B1 : Margines 0%+ Lactosérum 100%	0	E
B2 : Margines 25%+ Lactosérum 75%	0.12	D
B3 : Margines 50%+ Lactosérum 50%	0.22	C
B4 : Margines 75%+ Lactosérum 25%	0.32	B
B5 : Margines 100%+ Lactosérum 0%	0.413	A

Résultat et discussion

Le tableau présenté illustre l'évolution de la teneur en polyphénols totaux, exprimée en mg d'équivalents acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g), dans cinq formulations de biostimulants issues de mélanges variables de lactosérum et de margines d'olive.

Les résultats montrent une augmentation progressive de la teneur en polyphénols totaux en fonction de la proportion croissante de margines dans les mélanges :

- La formulation **B1** (100 % lactosérum) présente une absence totale de polyphénols (0 mg EAG/g), ce qui est attendu, puisque le lactosérum, sous-produit de la coagulation du lait, est naturellement dépourvu de composés phénoliques.
- À l'opposé, la formulation **B5** (100 % margines) enregistre la concentration maximale de polyphénols (0.335 mg EAG/g), confirmant la richesse intrinsèque des margines en métabolites secondaires d'origine végétale.
- Les formulations intermédiaires (B2 à B4) révèlent des teneurs croissantes allant de 0.12 à 0.31 mg EAG/g, proportionnelles au taux d'incorporation des margines.

Cette variation s'explique par les propriétés biochimiques distinctes de chaque sous-produit :

- Les margines, issues du processus de trituration des olives, sont reconnues pour leur teneur élevée en composés phénoliques tels que l'hydroxytyrosol, le tyrosol, et l'oleuropéine. Ces composés, bien documentés dans la littérature, jouent un rôle clé dans l'activité antioxydante, antimicrobienne et biostimulante.
- En revanche, le lactosérum ne contient pas naturellement de polyphénols. Sa contribution est essentiellement protéique et nutritive, avec un intérêt agronomique lié à sa richesse en azote.

D'un point de vue fonctionnel, les formulations enrichies en margines (notamment **B4 et B5**) se démarquent par leur potentiel biostimulant supérieur, grâce à la présence accrue de polyphénols. Ces composés peuvent :

- Stimuler les mécanismes de défense des plantes,
- Améliorer la tolérance au stress oxydatif,
- Favoriser une meilleure résilience face aux contraintes environnementales.

Résultat et discussion

Ces données soulignent l'intérêt d'une approche combinée, où les margines apportent une valeur fonctionnelle (polyphénols), tandis que le lactosérum enrichit le mélange en éléments nutritifs essentiels (protéines, azote).

2.6. Dosage des flavonoïdes (Flav)

Le tableau présente la teneur en flavonoïdes totaux, exprimée en mg d'équivalents quercétine par gramme (mg EQ/g), dans différentes formulations obtenues par mélange variable de margines d'olive et de lactosérum.

Tableau 17: Teneur en flavonoides

Biostimulant	Flavonoides (mg EQ/g)	Groupes homogènes (PPDS=0.0002)
B1 : Margines 0%+ Lactosérum 100%	0	D
B2 : Margines 25%+ Lactosérum 75%	0.00012	D
B3 : Margines 50%+ Lactosérum 50%	0.00197	C
B4 : Margines 75%+ Lactosérum 25%	0.00318	B
B5 : Margines 100%+ Lactosérum 0%	0.0085	A

Les résultats révèlent une augmentation progressive de la concentration en flavonoïdes en fonction de la proportion croissante de margines dans le mélange :

- La formulation B1 (100 % lactosérum) ne montre pas de flavonoïdes détectables, ce qui est cohérent avec la nature du lactosérum, un sous-produit laitier dépourvu de ces composés phénoliques spécifiques.
- La teneur en flavonoïdes augmente graduellement dans les formulations B2 à B5, passant de 0.00012 mg EQ/g (25 % margines) à 0.0085 mg EQ/g (100 % margines).

Résultat et discussion

- Cette tendance traduit la présence croissante de flavonoïdes, composés bioactifs caractéristiques des margines d'olive, riches en métabolites phénoliques végétaux tels que les flavonols, flavones et flavanones.

L'augmentation des flavonoïdes s'explique par l'origine végétale des margines, tandis que le lactosérum, produit laitier, n'en contient pas. La faible teneur globale en flavonoïdes peut être attribuée à plusieurs facteurs :

- une extraction partielle des flavonoïdes selon les conditions et solvants employés,
- la dilution des margines dans le mélange,
- ainsi que des variations liées à la nature même des margines, influencées par la variété d'olives, leur stade de maturation et les procédés d'extraction.

Les formulations à forte teneur en margines (B4 et B5) offrent ainsi un potentiel antioxydant supérieur, grâce à la présence des flavonoïdes reconnus pour leur rôle dans la protection des plantes contre le stress environnemental et la stimulation de mécanismes physiologiques bénéfiques.

2.7. Analyse spectroscopique Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des biostimulants et de l'eau

Les analyses FTIR réalisées sur différents biostimulants formulés à base de lactosérum, margines d'olive ou de leurs mélanges révèlent des signatures spectrales distinctes mais complémentaires, traduisant la richesse chimique et la diversité fonctionnelle de ces formulations. Les spectres sont analysés en comparant les principales zones d'absorption infrarouge.

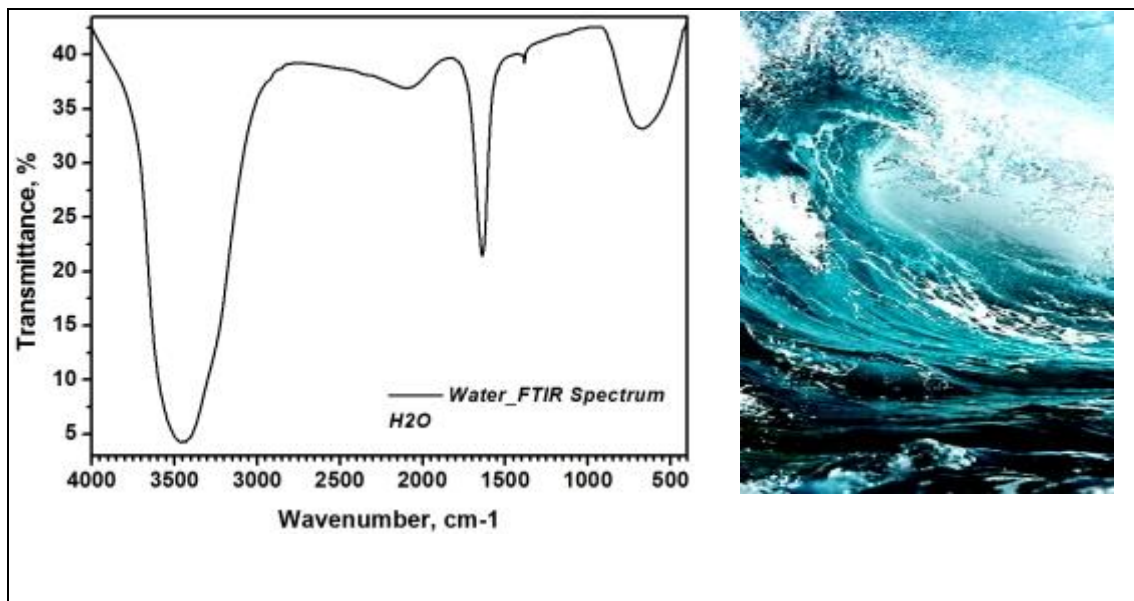
Analyse FTIR de l'eau

Le spectre FTIR de l'eau (H₂O) présenté révèle des bandes caractéristiques confirmant sa structure moléculaire. La large bande intense observée autour de 3400 cm⁻¹ correspond à la vibration d'élongation (stretching) des liaisons O-H, fortement élargie en raison des interactions par liaisons hydrogène entre les molécules d'eau. Une seconde bande nette vers 1640 cm⁻¹ est attribuée à la vibration de déformation angulaire (bending) de la liaison H-O-H, signature typique de l'eau liquide. Enfin, la zone comprise entre 500 et 1000 cm⁻¹ montre des bandes moins intenses pouvant être associées à des vibrations secondaires ou à des

Résultat et discussion

interactions intermoléculaires. L'ensemble du spectre est conforme à celui attendu pour l'eau pure, permettant de valider sa présence et sa structure à partir des signatures vibratoires spécifiques des liaisons O–H.

La figure présente le spectre FTIR de l'eau dans la région 1000–1500 cm^{-1} (noir), accompagné de sa dérivée seconde (bleu) afin d'améliorer la résolution des pics peu marqués. Le spectre FTIR classique montre une bande principale autour de 1400 cm^{-1} , attribuée à la vibration de déformation angulaire (bending) de la liaison H–O–H, caractéristique de l'eau liquide. Cette bande, bien que visible, apparaît relativement large et peu définie. L'ajout de la dérivée seconde accentue les inflexions du spectre, permettant de mieux distinguer la position exacte des pics et de détecter des transitions vibratoires masquées dans le spectre de transmittance brute. Cette approche analytique est particulièrement utile pour analyser des composés fortement hydratés ou présentant des signaux faibles dans cette zone spectrale, améliorant ainsi la précision de l'interprétation des liaisons spécifiques au sein de la molécule d'eau.



Résultat et discussion

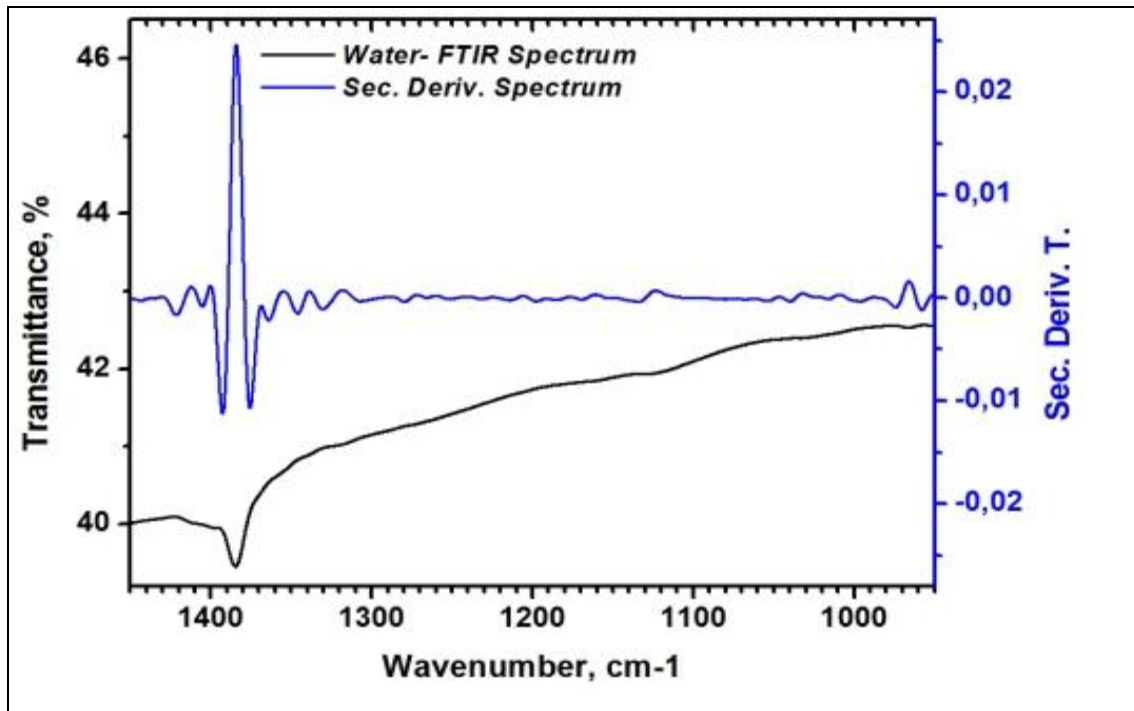


Figure 11:: Le spectre FTIR de l'eau

Analyse FTIR du biostimulant B5 (100% les Margines)

Les deux figures représentent les spectres FTIR (et dérivés) du mélange 75 % margines d'olive et 25 % lactosérum (échantillon 75M+25L-7), illustrant la présence de diverses fonctions chimiques caractéristiques. Sur la première figure, on observe une large bande intense autour de 3300 cm^{-1} , typique des vibrations d'élongation (O–H) des groupes hydroxyles, ce qui indique la présence d'eau, d'alcools ou de composés phénoliques. Une bande nette vers 2920 cm^{-1} correspond aux vibrations asymétriques C–H des chaînes aliphatiques. La bande intense autour de 1630 cm^{-1} est généralement attribuée aux vibrations de type C=O (groupes carbonyles) ou à la déformation de l'eau liée. Les bandes situées dans la région $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ sont liées aux vibrations C–O des alcools, acides ou esters. La seconde figure, qui montre le spectre FTIR entre 1450 et 1000 cm^{-1} avec sa dérivée seconde, met en évidence avec plus de clarté les pics fins masqués dans le spectre brut, facilitant l'identification de signaux faibles ou chevauchés. Cette région montre des contributions importantes des liaisons C–O et des vibrations dans les cycles aromatiques ou les sucres. Ensemble, ces spectres confirment la richesse chimique du mélange, intégrant des composés phénoliques, des acides organiques et des biomolécules complexes d'origine végétale (margines) et laitière (lactosérum).

Résultat et discussion

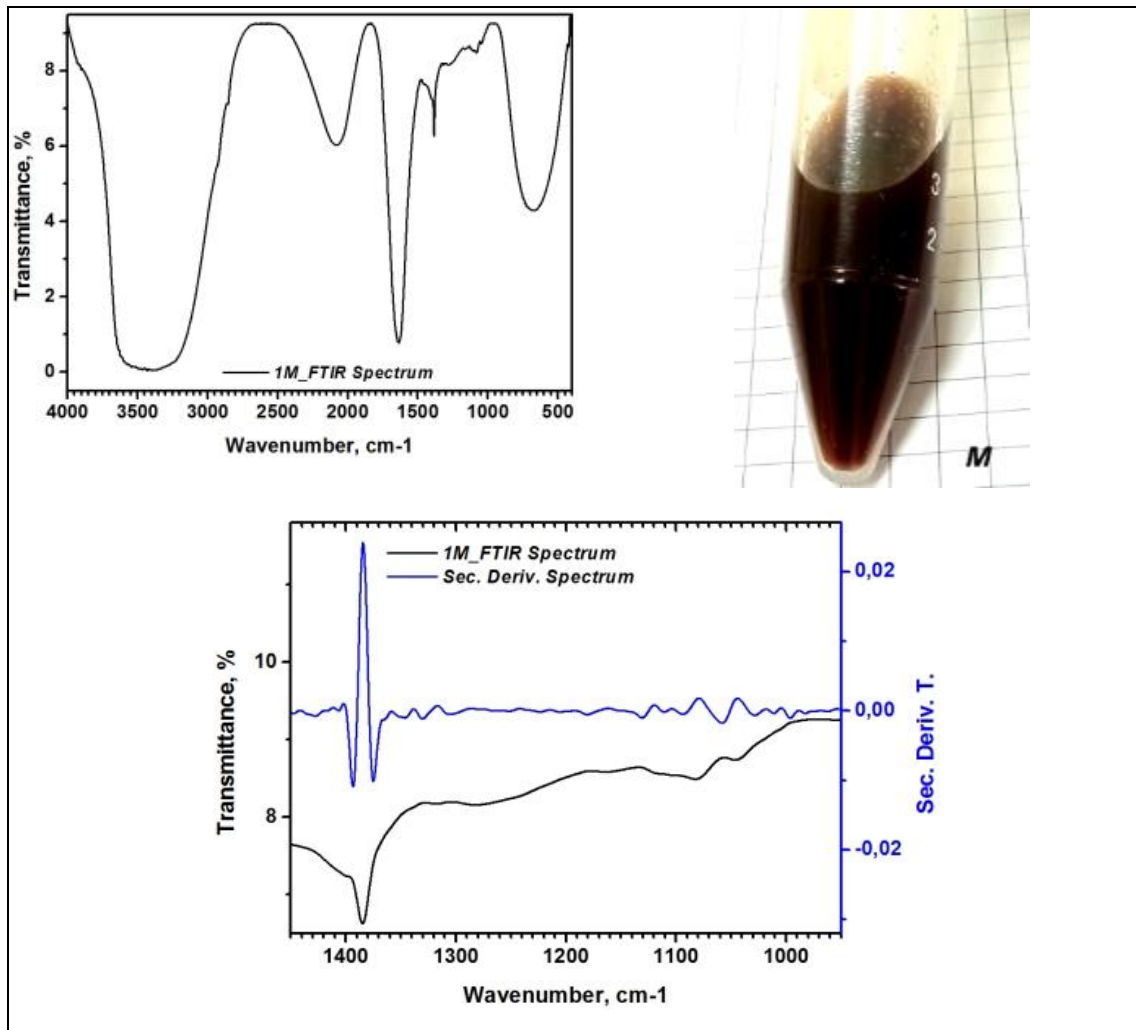


Figure 12: Spectre FTIR de la formulation 75 % margines + 25 % lactosérum (75M+25L-7).

Analyse FTIR du biostimulant B1 (100% Lactosérum)

La figure représentant le spectre FTIR de l'échantillon L-8 (lactosérum seul) révèle plusieurs bandes caractéristiques indiquant la présence de divers groupements fonctionnels issus des composants du lactosérum. La large bande intense observée autour de 3300 cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'élongation des liaisons O-H, typiques de l'eau et des groupes hydroxyles présents dans les protéines et les sucres. La bande proche de 2920 cm^{-1} reflète les vibrations C-H aliphatiques, suggérant la présence de chaînes carbonées issues des acides gras ou composés organiques. Le pic net autour de 1630 cm^{-1} est associé aux vibrations de type C=O (groupes carbonyles) ou aux liaisons amides des protéines. Les bandes situées entre 1000 et 1100 cm^{-1} correspondent aux vibrations C-O des sucres, des esters ou des acides organiques. Ce spectre met en évidence les principaux constituants du lactosérum, notamment les

Résultat et discussion

protéines, les sucres et l'eau, reflétant la nature complexe de ce sous-produit laitier riche en composés organiques hydrophiles.

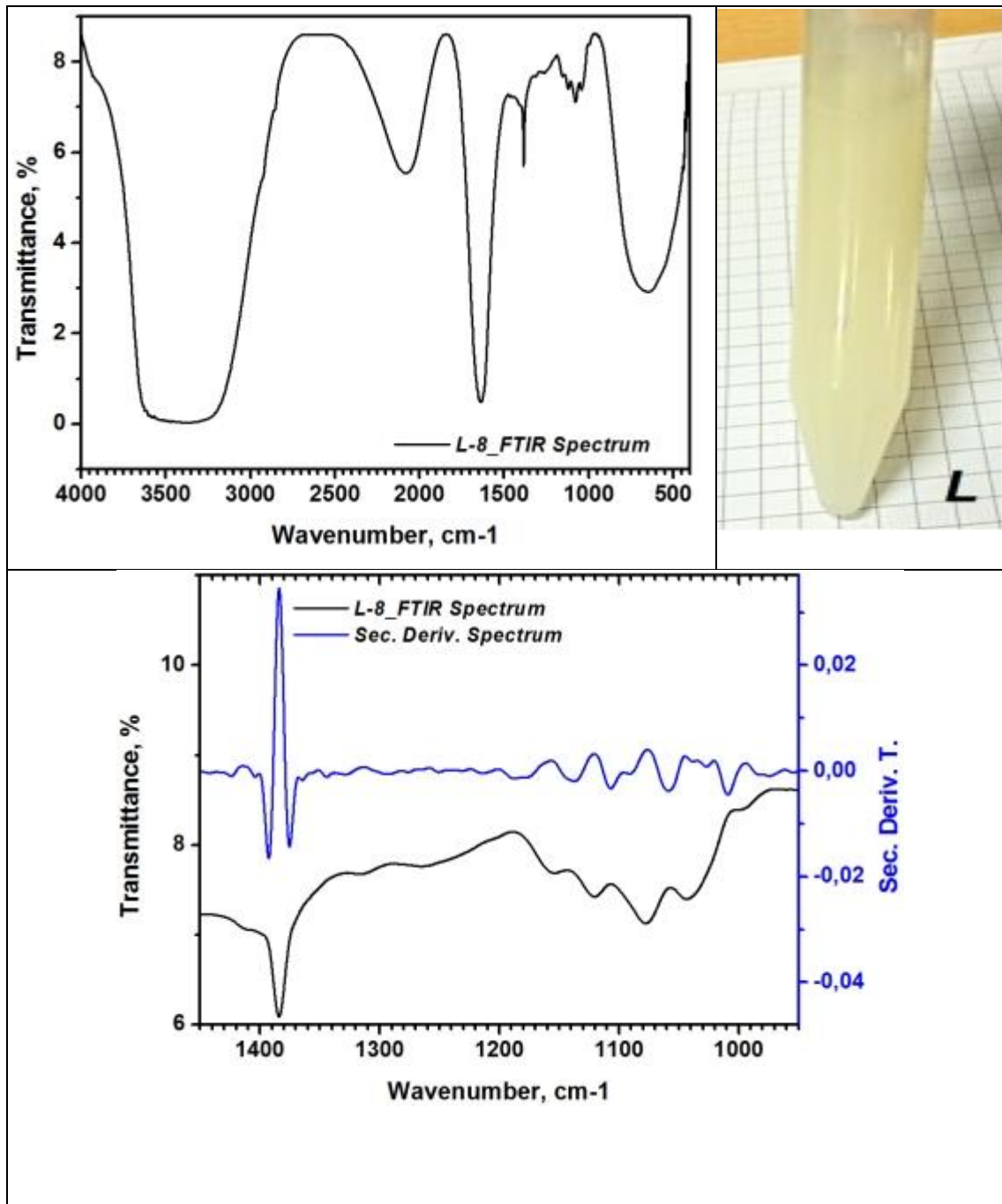


Figure 13: Spectre FTIR et spectre dérivé secondaire du lactosérum .

Analyse FTIR du biostimulant B4 (25% Lactosérum + 75% Margine)

L'analyse conjointe du spectre FTIR brut (Figure 1) et du spectre dérivé de second ordre (Figure 2) du matériau 75M+25L-7 met en évidence plusieurs bandes caractéristiques révélant la présence de divers groupements fonctionnels. La bande large observée entre 3400 et 3200

Résultat et discussion

cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'élongation des liaisons O–H, indiquant la présence de groupes hydroxyles (alcools, phénols) ou d'eau physiquement adsorbée, ce qui est courant dans les matériaux contenant des polysaccharides ou des argiles. Les bandes autour de 2920–2850 cm^{-1} correspondent aux vibrations des groupements méthyle ($-\text{CH}_3$) et méthylène ($-\text{CH}_2-$), typiques des chaînes aliphatiques. Vers 1650–1600 cm^{-1} , la bande est attribuée aux vibrations C=O (groupes carbonyles ou amides) ou à la déformation de l'eau (H–O–H), souvent présentes dans les biopolymères. Entre 1420 et 1380 cm^{-1} , on note la vibration de déformation du groupe CH_3 ou COO^- , généralement observée dans les sels d'acides organiques. La région 1100–1000 cm^{-1} montre des vibrations d'élongation asymétriques caractéristiques des liaisons Si–O–Si ou C–O–C, indiquant la présence de silicates ou de polymères avec des ponts éther ou ester. Enfin, les bandes observées entre 520 et 470 cm^{-1} sont associées aux vibrations de flexion des liaisons Si–O ou Al–O, typiques des composés à base d'argile. Le spectre dérivé de second ordre, quant à lui, permet une meilleure résolution dans la région 1450–1000 cm^{-1} , en confirmant notamment la présence de la bande nette à 1415 cm^{-1} liée au groupe COO^- symétrique, et en révélant plusieurs pics supplémentaires associés aux liaisons C–O, C–C et Si–O. Cette analyse détaillée suggère que le matériau présente une structure composite complexe combinant des éléments organiques (comme la lignine ou l'amidon) et inorganiques (comme les silicates), le spectre dérivé jouant un rôle clé dans la mise en évidence de bandes superposées non visibles dans le spectre brut.

Résultat et discussion

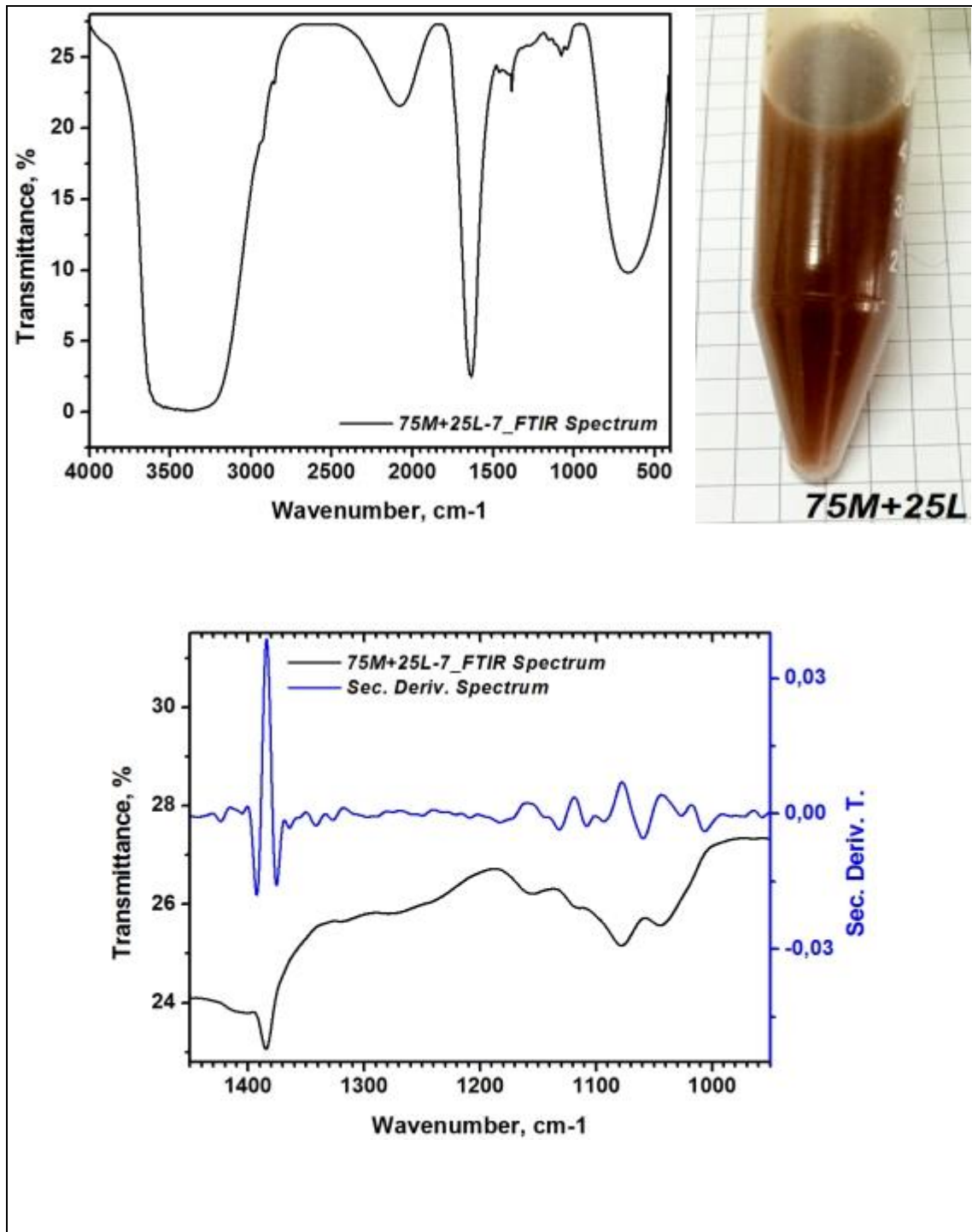


Figure 14: Spectre FTIR et spectre dérivé secondaire de la formulation 75 % margines + 25 % lactosérum (75M+25L-7).

Analyse FTIR du biostimulant B2 (75% Lactosérum + 25% Margines)

La figure présente l'analyse FTIR d'un échantillon désigné **75L+25M**, vraisemblablement constitué de 75 % de lignine (ou d'un dérivé lignocellulosique) et de 25 % d'un autre composant, tel qu'un polysaccharide ou un métal, sous forme solide ou colloïdale comme en

Résultat et discussion

témoigne la solution brun-rouge visible en haut à droite. Le spectre FTIR (en haut à gauche) met en évidence plusieurs bandes caractéristiques : une large absorption autour de 3400 cm^{-1} correspondant aux groupes hydroxyles (O–H), un signal à 2920 cm^{-1} lié aux vibrations C–H aliphatiques, un pic intense à 1710 cm^{-1} suggérant des fonctions carbonyles (acides ou esters), ainsi qu’une série de bandes entre 1600 et 1030 cm^{-1} attribuables aux cycles aromatiques, aux liaisons C–O–C (éthers, esters) et C–O (alcools, polysaccharides). L’analyse par dérivée seconde (en bas) permet de mieux distinguer les pics faiblement résolus, notamment une vibration marquée à 1360 cm^{-1} , indicatrice de groupements méthyle caractéristiques de la lignine ou de dérivés carboxyliques. Ces observations confirment une forte présence de lignine, avec des signaux suggérant une interaction structurée — probablement sous forme de complexes lignine-métal ou lignine-polysaccharide. La zone 1200 – 1000 cm^{-1} , riche en vibrations C–O et C–O–C, renforce l’hypothèse d’une structure composite, potentiellement fonctionnelle pour des applications en matériaux biosourcés, adsorption ou catalyse.

Résultat et discussion

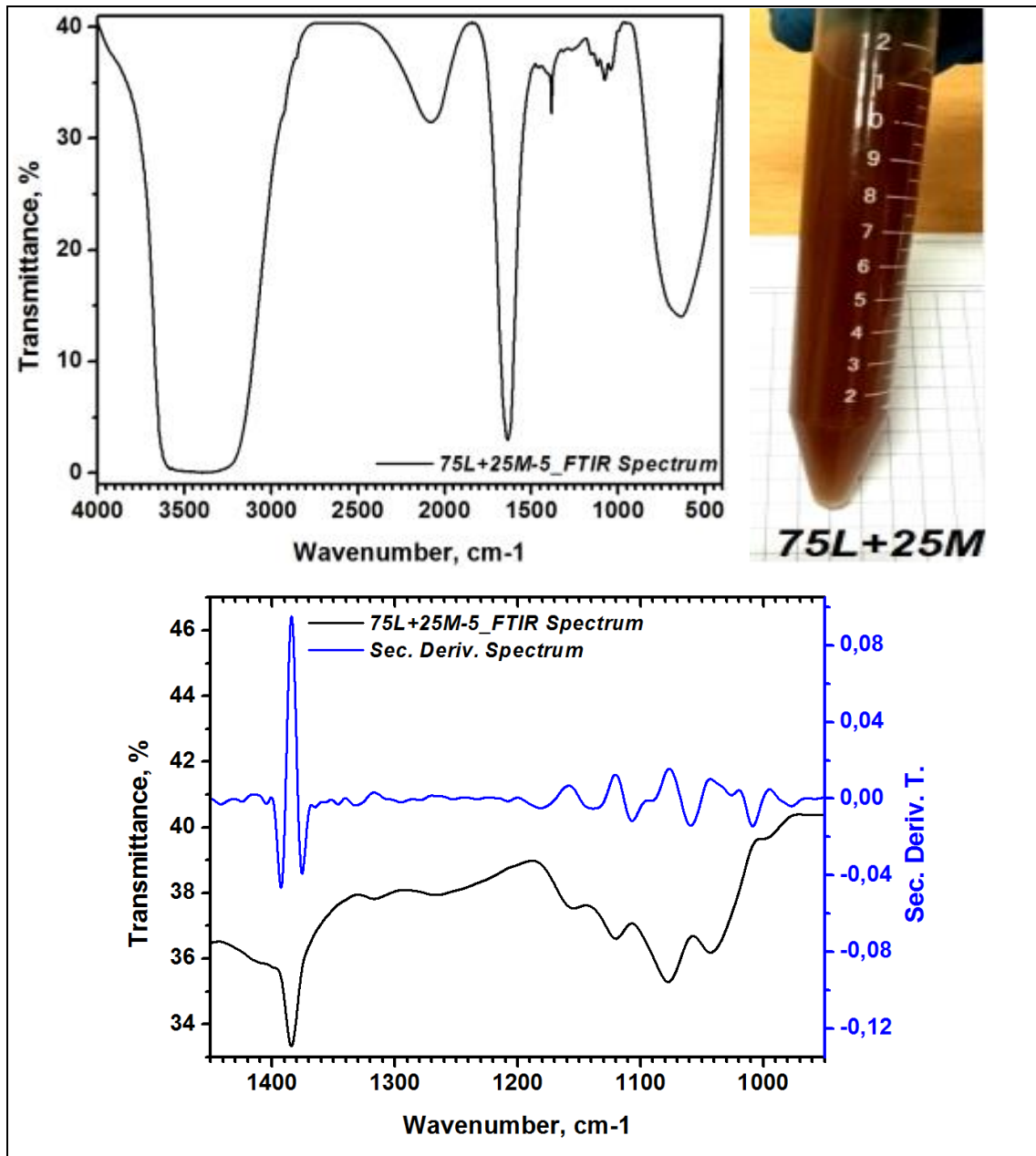


Figure 15: Spectre FTIR et spectre dérivé secondaire de la formulation 75 % lactosérum + 25 % margines (75L+25M-7).

Analyse FTIR du biostimulant B3 (50%Lactosérum + 50%Margines)

L'échantillon **M+L₉** correspond à un mélange de lignine (L) et d'un métal (M), configuration typique des systèmes hybrides bio-inorganiques étudiés pour leurs propriétés adsorbantes, antioxydantes ou catalytiques. L'analyse FTIR révèle plusieurs bandes caractéristiques : une large absorption autour de 3400 cm^{-1} indiquant des groupes hydroxyles (O-H), une bande à 2920 cm^{-1} correspondant aux C-H aliphatiques, et un pic marqué vers

Résultat et discussion

1710 cm^{-1} , témoin de fonctions carbonyles (acides, esters ou liaisons métal–oxygène). On observe également une zone d'absorption complexe entre 1270 et 1030 cm^{-1} , associée aux vibrations C–O–C, typiques des éthers ou esters de lignine, et aux liaisons potentielles M–O–C. La dérivée seconde du spectre (en bleu) met en évidence des pics fins masqués, notamment un minimum net à 1360 cm^{-1} (déformation CH_3), ainsi que plusieurs signaux entre 1200 et 1000 cm^{-1} , renforçant l'hypothèse d'une forte complexation métal–lignine. Comparé à l'échantillon 75L+25M, M+L_9 présente une transmittance plus faible (30–35 %) et une densité spectrale plus riche dans la zone C–O–C, suggérant une structuration chimique plus aboutie. Ces résultats indiquent une meilleure coordination du métal avec la lignine, traduite par une intensité accrue dans les bandes caractéristiques et une dérivée spectrale plus structurée, ce qui témoigne d'un potentiel supérieur pour des applications fonctionnelles comme l'adsorption ou la catalyse.

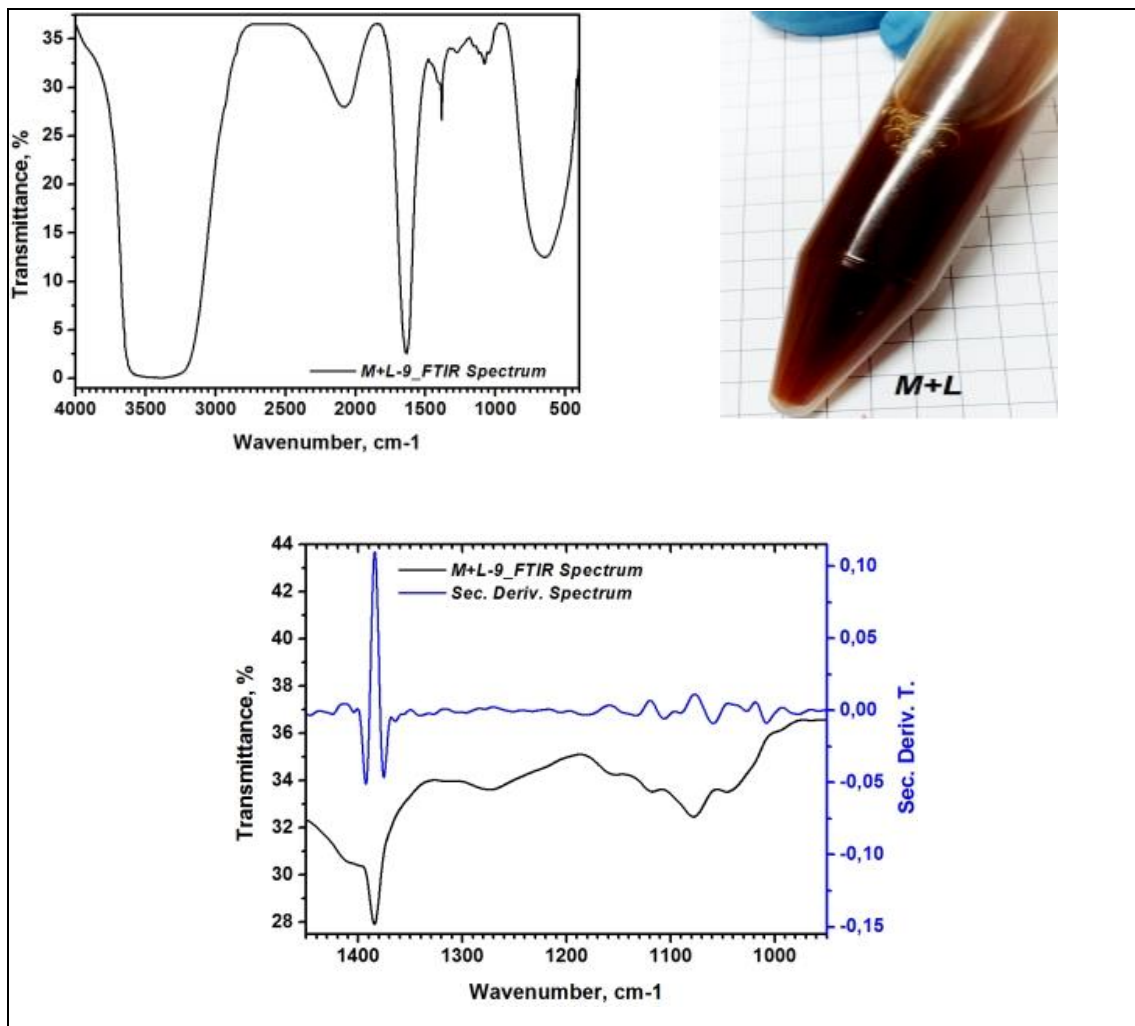


Figure 16: Spectre FTIR et spectre dérivé secondaire de la formulation 50 % lactosérum + 50 % margines (50%L+50%M-7).

Résultat et discussion

Comparaison structurée

Tableau 18: Comparaison structurée Principales bandes FTIR

Formulation	Principales bandes FTIR	Interprétations
Eau pure	~3400 cm ⁻¹ ; ~1640 cm ⁻¹	O–H (stretch) et H–O–H (bending)
100% Lactosérum (L-8)	3300 ; 2920 ; 1630 ; 1000–1100 cm ⁻¹	O–H, C–H, C=O, C–O → sucres, protéines
100% Margines (B5)	3300 ; 2920 ; 1630 ; 1000–1100 cm ⁻¹	O–H, C–H, C=O, C–O, phénols, acides
75%M + 25%L (B4)	3400–3200 ; 2920–2850 ; 1650–1600 ; 1100–1000 ; <600 cm ⁻¹	Liaisons C=O, CH ₃ , C–O–C, Si–O, COO ⁻ , spectre composite (organique-inorganique)
75%L + 25%M (B2)	3400 ; 2920 ; 1710 ; 1600–1030 ; 1360 cm ⁻¹	Forte signature ligninique, esters, composites C–O–C, C–O
50%L + 50%M (B3)	3400 ; 2920 ; 1710 ; 1270–1030 ; 1360 cm ⁻¹	Complexes métal–lignine, coordination avancée, spectre plus dense





Éléments clés de la comparaison

- **O–H et C–H** : présents dans toutes les formulations, reflètent la teneur en eau et composés organiques (protéines, phénols, alcools).
- **C=O et amides** : signal fort autour de 1630–1710 cm⁻¹, accentué dans les échantillons riches en margines (acides organiques) et en protéines (lactosérum).
- **C–O, C–O–C** : spectres composites, typiques des esters, sucres, phénols, lignine.
- **Zones <1000 cm⁻¹** : plus marquées dans B4 (75M+25L), indiquant des composés inorganiques comme les silicates (vibrations Si–O, Al–O).
- **Dérivée seconde** : améliore la résolution des bandes superposées, notamment autour de 1360 cm⁻¹ (CH₃), zone discriminante pour la présence de lignine ou de groupements carboxyliques.



Résultat et discussion

3. Evaluation de l'effet des biostimulants formulés sur la germination des graines du colza (*brassica napus L.* appartient de la famille *brassicaceae*)

Tableau 19: Effet des biostimulants formulés sur le pourcentage de germination du colza var. Zitna

Biostimulant	Germination (%)	Groupes homogènes (LSD= 5.0592)
B1 : Margines 0%+ Lactosérum 100%	 <p>4%</p>	E
B2 : Margines 25%+ Lactosérum 75%	 <p>42%</p>	C
B3 : Margines 50%+ Lactosérum 50%	<p>64.66%</p> 	B
B4 : Margines 75%+ Lactosérum 25%	 <p>80%</p>	A

Résultat et discussion

<p>B5 : Margines 100%+ Lactosérum 0%</p>	<p>6.33%</p> 	<p>E</p>
<p>Témoin : Eau</p>	<p>20%</p> 	<p>D</p>

Le taux de germination est calculé par la formule:

$$\left(\frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre total de graines semées}} \right) \times 100$$

L'application de biostimulants dilués à 1/10, élaborés à partir de différentes proportions de lactosérum et de margines d'olive, a induit une stimulation significative de la germination des graines après 24 heures, comparativement au témoin hydrique (eau seule), dont le taux de germination n'a atteint que **4 %**. Parmi les formulations testées, **B4 (75 % margines + 25 % lactosérum)** a généré la réponse la plus marquée, avec **80 %** de graines germées, suivie de **B3 (50 % margines + 50 % lactosérum)** avec **64,66 %**.

Ces résultats soulignent l'effet bénéfique de l'ajout de margines, notamment à forte concentration, sur l'amorçage de la germination. Ce pouvoir stimulant est attribué à leur teneur élevée en composés phénoliques, minéraux essentiels (K, P, Mg) et acides organiques, reconnus pour améliorer les processus métaboliques et enzymatiques impliqués dans la germination (Tiyayon & Duangmal, 2018). Les acides organiques présents peuvent également modifier le pH du milieu et optimiser la biodisponibilité des nutriments, rendant ces derniers plus accessibles aux graines en phase de germination (Herradi et al., 2018). De son côté, le lactosérum apporte des nutriments hydrosolubles tels que des protéines, acides aminés, lactose et vitamines, susceptibles de soutenir l'activité enzymatique et la croissance embryonnaire.

Résultat et discussion

L'efficacité accrue de la formulation **B4** semble ainsi résulter d'un effet synergique entre les constituants bioactifs des margines (phénols, acides gras, sucres complexes) et ceux du lactosérum, favorisant l'imbibition, la respiration cellulaire et les mécanismes métaboliques primaires nécessaires à la levée de dormance. À l'opposé, la faible efficacité de l'eau seule met en évidence l'importance des signaux et nutriments exogènes pour initier et soutenir la germination.

Ces observations démontrent le potentiel agronomique prometteur des biostimulants naturels issus de coproduits agroalimentaires, en particulier les formulations riches en margines, comme alternatives durables pour stimuler la germination et améliorer l'établissement des cultures dans une optique d'agriculture écologique et circulaire.

4. Analyse de la composante principale ACP

Dans le cadre de cette étude, nous avons évalué l'effet de biostimulants formulés à partir de différents pourcentages de margines et de lactosérum sur plusieurs paramètres physicochimiques ainsi que sur le pourcentage de germination du colza (variété Zitna). Les variables analysées comprennent : l'humidité(H), la matière organique (MO), les polyphénols totaux (PP), les flavonoïdes (Flav), la matière minérale (MM), l'azote Kjeldahl total (N), la matière sèche (MS), les ions calcium (Ca^{2+}), sodium (Na^{++}), potassium (K^+), la demande biologique en oxygène à 5 jours (DBO_5), ainsi que le pourcentage de germination du colza variété Zitna.

L'analyse factorielle en composantes principales (ACP) a permis de projeter les variables et les individus sur deux axes principaux expliquant **94,86 %** de la variance totale, dont **78,24 %** pour l'axe 1 (F1) et **16,62 %** pour l'axe 2 (F2). Cette forte proportion de variance expliquée traduit une structuration significative des données dans le plan factoriel.

L'axe F1 regroupe positivement des variables telles que la matière minérale (MM), l'humidité(H), les ions potassium (K^+) et sodium (Na^{++}), ainsi que les teneurs en flavonoïdes (Flav) et en polyphénols (PP), constituant ainsi un premier groupe de variables fortement corrélées. En revanche, un second groupe, incluant la matière sèche (MS), la DBO_5 , le calcium (Ca^{2+}) et l'azote total (N), est corrélé négativement à F1 mais positivement à F2. Un troisième groupe, composé de la matière organique (MO) et du pourcentage de germination,

Résultat et discussion

montre une corrélation positive avec F1 et négative avec F2, soulignant l'influence combinée de la qualité organique et de la réponse biologique (germination).

Le facteur F1 est identifié comme l'axe principal de structuration, regroupant les paramètres clés liés à la charge organique et minérale (MM, MO, CE, Na⁺, DBO₅), tandis que le facteur F2 semble refléter l'influence de paramètres tels que l'humidité, qui jouent un rôle déterminant dans le processus de germination puisque l'absorption de l'humidité augmente la taille des vacuoles a contribué à améliorer l'état hydrique des graines, facilitant ainsi le processus de germination de la plante *Brassica napus* (Lechowska et al., 2019).

La projection des biostimulants dans le plan F1-F2 permet de distinguer trois groupes distincts:

- **Le premier groupe**, corrélé positivement avec les deux axes, est représenté par le biostimulant **B5**, caractérisé par les valeurs les plus élevées en MM, H, K⁺, Na⁺⁺, Flav et PP. Ce profil suggère un biostimulant riche en composés minéraux et antioxydants.
- **Le deuxième groupe**, corrélé négativement à F1 et positivement à F2, inclut **B1 et B2**, qui se distinguent par leurs teneurs élevées en MS, DBO₅, Ca²⁺ et N. Ces biostimulants semblent plus concentrés en matière sèche et en éléments organiques persistants.
- **Le troisième groupe**, corrélé positivement à F1 et négativement à F2, est représenté par **B4**, qui se démarque par une teneur élevée en MO et un pourcentage de germination supérieur, traduisant une meilleure efficacité biostimulante.

Ces résultats montrent que la composition chimique des biostimulants influence directement leur effet sur la germination, certains favorisant l'enrichissement minéral, d'autres la stimulation organique, avec des impacts distincts sur la réponse biologique du colza.

Résultat et discussion

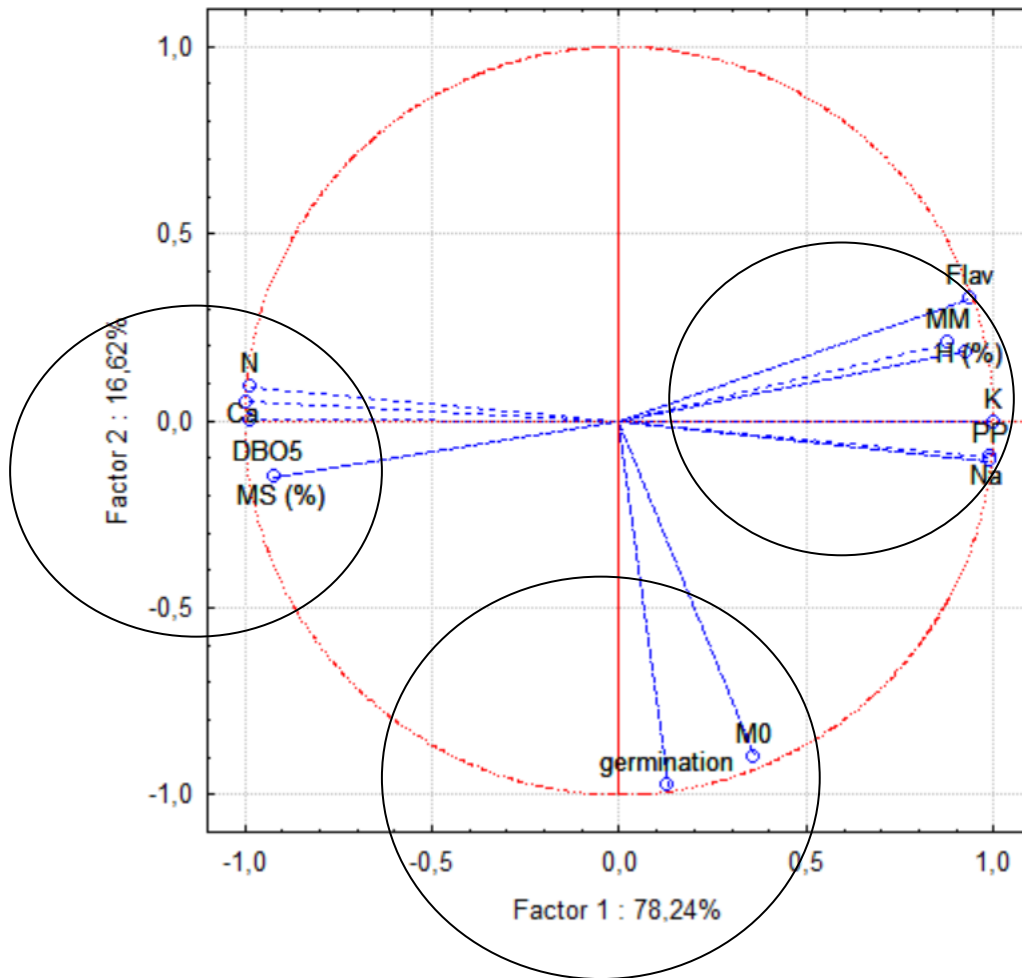


Figure 17: Projection des variables (paramètres) sur le plan factoriel F1-F2

Résultat et discussion

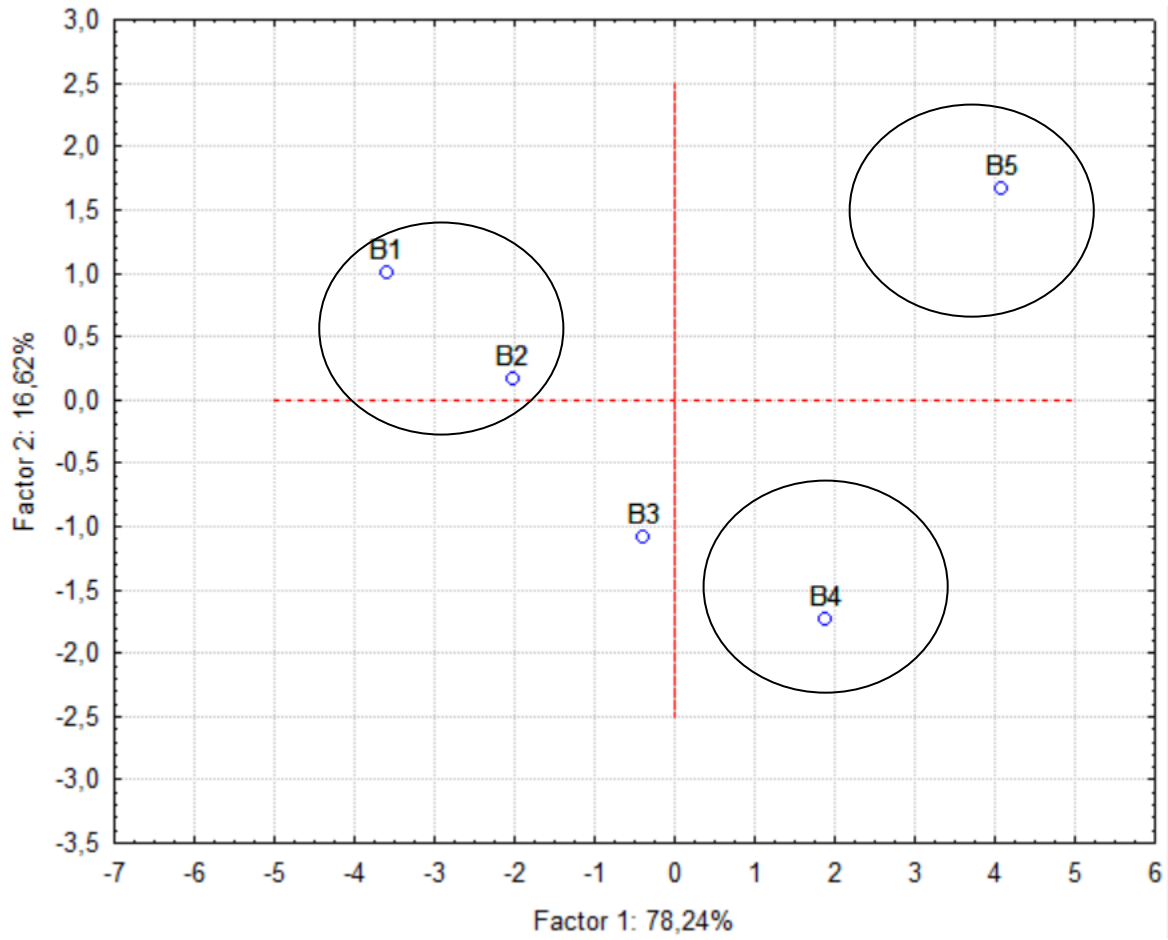


Figure 18:Projection des traitements (individus) sur le plan factoriel F1-F2

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Cette étude a permis de mettre en évidence l'intérêt de la valorisation croisée de deux sous-produits agro-industriels majeurs : le lactosérum et les margines. En combinant les propriétés nutritives du lactosérum à la richesse fonctionnelle des margines, notamment en composés phénoliques, des formulations de biostimulants ont été élaborées et caractérisées sur les plans physico-chimique et agronomique.

Les résultats expérimentaux montrent que les formulations équilibrées, notamment B3, présentent un bon compromis entre richesse organique, biodégradabilité et efficacité biostimulante. Ce travail s'inscrit ainsi dans une démarche de valorisation durable et circulaire des déchets, en promouvant des solutions écologiques et économiquement viables pour l'agriculture.

L'analyse FTIR comparative met en évidence la complémentarité structurale et fonctionnelle des formulations étudiées. Le lactosérum contribue principalement par ses protéines et sucres solubles, tandis que les margines d'olive apportent des phénols, des acides organiques et des structures aromatiques complexes. Les mélanges, notamment 50%L-50%M (B3), présentent des spectres plus denses et structurés, témoignant d'une complexation chimique avancée, en particulier dans les formulations bio-inorganiques.

Ces résultats soutiennent la valorisation conjointe des deux sous-produits comme biostimulants multifonctionnels, adaptés à des applications environnementales ou agronomiques innovantes.

Les perspectives ouvertes par cette recherche sont nombreuses : extension à d'autres cultures, tests en conditions de terrain, optimisation des procédés d'extraction et de formulation. Enfin, cette valorisation des déchets offre une alternative concrète pour la protection de l'environnement et la promotion d'une agriculture plus verte

Références Bibliographique

Références Bibliographiques

- Abad-Garcia, B., et al. (2007). Extraction des polyphénols. *J. Chromatogr. A*.
- Aggoun, M., et al. (2016). Polyphenols des margines. *Revue Maghrébine*.
- Agrimaroc. (s. d.). Bulletin technique de l'agriculture. Consulté le 10 juillet 2025, à l'adresse https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf
- Ait Baddi, G., et al. (2008). Propriétés des extraits de margines. *WasteManag.*
- Apria, J. (1973). *Techniques d'exploitation des sous-produits laitiers*. Éditions Techniques Agricoles, Paris, 215 p.
- Apria, J. (1980). *Le lactosérum : valorisation et utilisation*. Éditions Techniques Agricoles, Paris, 198 p.
- Boudjema, B. (2009). Pollution de l'environnement par les effluents laitiers. *Rev. Agro Environ.*
- Boutin, L. (1998). *Technologies agroalimentaires : procédés et applications*. Lavoisier, Paris, 450 p.
- Brandelli, A., et al. (2015). Whey processing and applications. *Food Research International*, 73, 254–262.
- De Marco, E., et al. (2007). Olive polyphenols in wastewater. *Food Chemistry*, 104(2), 842–847.
- Djukic-Vukovic, A., et al. (2012). Lactic acid production using waste whey. *Food Chemistry*, 132(1), 197–203.
- El Herradi, E. H., El Adlouni, C., Naman, M., Rochdi, I., Aafrane, A., & Naman, F. (2018). Effet de margines traitées par infiltration-percolation sur la germination et la croissance de quatre espèces végétales. *Journal of Water Science*, 30(2), 89–101. <https://doi.org/10.7202/1042920AR>
- El-Bakry, M., Duggan, E., O'Riordan, E. D., & O'Sullivan, M. (2011). Effect of cation, sodium or potassium, on casein hydration and fat emulsification during imitation cheese manufacture and post-manufacture functionality. *Lwt - Food Science and Technology*, 44(10), 2012–2018. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2011.07.007>
- Faraloni, C., et al. (2023). Olive mill wastewater as biostimulant. *Agriculture*, 13(5), 1064.
- Fiestas Ros de Ursinos, A. (1982). Fertilisation par margines. *INRA Maroc*.
- Gharby, S. (2013). Activités biologiques des composés phénoliques. *Revue Phytothérapie*.

Références Bibliographiques

- Gilbert, J., & Yvette, R. (2007). Cosmétique naturelle à base de feuilles d'olivier.
- Gueboudji, A., et al. (2021). Les margines en Algérie. *Revue des Sciences de l'Environnement*, 5(2), 78–85.
- Guo, M. R. (2019). Whey utilization: From waste to resource. *Dairy*, 1(1), 3–25.
- Hameed, A., Anwar, M. J., Perveen, S., Amir, M. H., Naeem, I., Imran, M., Hussain, M., Ahmad, I., Inayat, S., & Awuchi, C. G. (2023). Functional, industrial and therapeutic applications of dairy waste materials. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 1470–1496. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2213854>
- Hameed, A., et al. (2023). Functional applications of dairy waste. *Int. J. Food Properties*, 26(1), 1470–1496.
- HarratNaassa, **Kadi Kenza**, Gueboudji Zakia, Dalila Addad, Sofia HamliDounia Dib, Sabah Boukeria, Sabrina Lekmine & Nawal Mekersi. (2024). Effect of Infiltration-Percolation Treatment of Olive Mill Wastewater on Cereal Seed Germination. *Water Air Soil Pollut* **235**, 693 (2024). <https://doi.org/10.1007/s11270-024-07488-5>.
- Hernández-Ledesma, B., et al. (2008). Antioxidant properties of peptides derived from whey. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4544–4551.
- https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf, s. d
- Kadi K, Mrah R, Hamli S, Lekmine S, Dib D, Addad D, Boukeria S, Gueboudji Z, Hafsaoui I. (2020). Evaluation of the anticoagulant activity of margins from olives extraction in the Khenchela region. *J. Fundam. Appl. Sci.*, 12(2), 634-649.
- Kadi, K., et al. (2020). Étude physicochimique des margines. *Revue Algérienne de Chimie*.
- Khoufi, S., et al. (2006). Biogaz à partir de margines. *Bioresour. Technol.*
- Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides from food proteins. *Current Pharmaceutical Design*, 12(20), 2553–2563.
- Kwiecień, M., Winiarska-Mieczan, A., Samolińska, W., Kiczorowska, B., & Rusinek-Prystupa, E. (2012). The content of magnesium, calcium, sodium and potassium in infant formulas. *Journal of Elementology*, 22(1), 339–347. <https://doi.org/10.5601/JELEM.2016.21.1.1083>
- Lechowska, K., Kubala, S., Wojtyła, Ł., Nowaczyk, G., Quinet, M., Lutts, S., & Garnczarska, M. (2019). New Insight on Water Status in Germinating Brassica napus Seeds in Relation to Priming-Improved Germination. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 540. <https://doi.org/10.3390/IJMS20030540>

Références Bibliographiques

- Lisboa, T. P., & Sousa, R. A. de. (2020). Sodium and potassium content in sports supplements based on whey protein. 75(1), 34–44. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.V75I1.776>
- Mäkkär, H. P. S., et al. (1993). Quantification of tannins. *J. Sci. Food Agric.*
- Marshall, K. (2004). Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review*, 9(2), 136–156.
- Michel, F. (1986). Le lactosérum: composition et valorisation. *Lait*, 66, 265–288.
- Nadour, M., et al. (2015). Valorisation des margines. *Revue des Bio-Ressources*, 7(1), 54–63.
- Narayanan, N., et al. (2004). Lactic acid fermentation. *Biotechnology Advances*, 22(4), 321–335.
- Nefzaoui, A. (1991). Utilisation agricole des margines. *CIHEAM*.
- Obeid, R., et al. (2005). Extraction des composés antioxydants des margines. *Food Chemistry*.
- Onwulata, C. I., & Huth, P. J. (2009). Whey utilization and food applications. *Journal of Dairy Science*, 92(2), 428–431.
- Ouabou, R., et al. (2014). Propriétés des margines. *Revue Oléiculture*.
- Panesar, P. S., et al. (2007). Fermentation of whey to lactic acid. *Process Biochemistry*, 42(4), 616–623.
- Pescuma, M., et al. (2010). Functional peptides from milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4477–4494.
- Prazeres, A. R., et al. (2012). Cheese whey management. *International Journal of Dairy Technology*, 65(3), 333–342.
- Ramos, G. L. de P. A., Ramos, G. L. de P. A., Guimarães, J. T., Pimentel, T. C., Cruz, A. G., Souza, S. L. Q. de, & Vendramel, S. M. R. (2021). Whey: generation, recovery, and use of a relevant by-product (pp. 391–414). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824044-1.00030-1>
- Ramos, G. L. P. A., et al. (2021). Whey: generation, recovery, and use. Academic Press.
- Rodier, J. (1996). *L'analyse de l'eau*. DUNOD.
- Rodier, J. (1996). *L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*. DUNOD
- Saladino, S., et al. (2001). Antioxidants from margines. *J. Agric. Food Chem.*
- Schuck, P., et al. (2004). Dairy by-product valorization. *Lait*, 84(4), 439–452.

Références Bibliographiques

- Senani-Oularbi, A. (2018). Composés phénoliques : Activités et valorisation. Mémoire de Master, Spécialité Biochimie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Faculté des Sciences Biologiques, 84 p.
- Senani-Oularbi, A. (2018). Composés phénoliques : Activités et valorisation. Mémoire de Master.
- Siso, M. I. G. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey. *BioresourceTechnology*, 57(1), 1–11.
- Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins: From 'gutter-to-gold'. *International Dairy Journal*, 18(7), 695–704.
- Sofia Hamli, Dalila Addad, Nawal Mekersi, **Kenza Kadi**, Zahia Kadi, Dounia Dib, Habiba Dali, Fatima-Zohra Kenza Labbani, Sabah Boukeria, Elhoucine Agoune, Abdelhadi Lahouel. (2024). Short-Term Effects of Olive Mill Wastewater (OMW) Spreading on Faba Bean and Lentil Growth and Soil Quality," *Polish Journal of Ecology*, 72(1-2), 1-13, (25 December 2024) <https://doi.org/10.3161/15052249PJE2024.72.1.001>
- Tiyyon, P., & Duangmal, K. (2018). Changes in chemical composition, minerals, total phenolic compounds and antioxidant activities during germination of sunflower sprout. 1213, 527–532. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2018.1213.79>
- Tobar, E. G., et al. (2023). Production de concentrés protéiques. SSRN.
- Tobar, E. G., Segovia, M. E., Acosta, G. R. S., & Méndez, J. F. (2023). Produccion De Concentrado De Proteinasa Partir Del Suero. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4574586>
- Vrignaud, J. (1983). Manuel pratique de l'industrie laitière. Éditions TEC & DOC, Paris, 320 p.
- Zakia Gueboudji · Kenza Kadi · Maher Mahmoudi · Hédia Hannachi · Kamel Nagaz · Dalila Addad · Leila Ben Yahya · Belgacem Lachehib · Kamel Hessini. (2022). Maceration and liquid–liquid extractions of phenolic compounds and antioxidants from Algerian olive oil mill wastewater. *Environmental Science and Pollution Research* <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22482-2>. (Springer IF 2021 5.053 indexed in scopus)
- Zakia Gueboudji and Kenza Kadi. (2023). Physicochemical Characterization and Estimation of the Pollution Degree of Olive Oil Mill Wastewaters from the Cold Extraction System and the Traditional System. In book: *Wastewater from Olive Oil Production* (pp.143-152). DOI:10.1007/978-3-031-23449-1_6

Références Bibliographiques

- Zbakh, H., &ElAbbassi, A. (2012). Valorisation des margines. *J. Environ. Manag.*, 110, 101–109.
- Zhang, Z. Y., et al. (2007). Microbial production of D-lactic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3), 577–584.

Titre du mémoire: Valorisation du lactosérum comme biostimulant**Nom et prénom: ARZI NOUARA / HADFI OUALAA INTISSAF****Encadreur : Pr. KADI Kenza****Résumé :**

Le lactosérum et les margines sont deux effluents agro-industriels à fort impact environnemental. Leur accumulation représente un danger écologique si aucune solution de valorisation n'est mise en place. Ce travail vise à explorer la valorisation conjointe de ces deux sous-produits en tant que biostimulants pour l'agriculture.

Le lactosérum doux, riche en lactose, protéines solubles et minéraux, a été combiné avec des margines d'olive, connues pour leur teneur en composés phénoliques et matières organiques. Cinq formulations de biostimulants ont été préparées selon différentes proportions (0, 25, 50, 75, 100%) de ces deux résidus. Des analyses physico-chimiques ont été effectuées pour caractériser ces formulations (matière sèche, humidité, azote, DBO5, polyphénols, flavonoïdes, cations, etc.). L'effet de ces biostimulants a ensuite été évalué sur la germination de graines de colza (*Brassica napus* L., variété ZITNA).

Les résultats montrent que l'augmentation de la proportion de margines enrichit les formulations en composés phénoliques et en flavonoïdes, tandis que le lactosérum apporte une richesse en azote et en calcium. La formulation B4 (75% margines, 25% lactosérum) a donné de bons résultats en matière de germination avec 80% après 24h. Ce travail souligne le potentiel prometteur d'une valorisation croisée de deux déchets pour des usages agricoles durables

Mot clé: Valorisation, Biostimulants, Lactosérum, Margines d'olive

عنوان المذكرة تثمين مصّل اللّبن كمحفّز حيوي
الاسم و اللقب : أرزي نوارة / هادفي ولاء انتصاف
المؤطر : أ. قاضي كنزة
الملخص

يُعد مصّل اللّبن ومياه الجفت نفايتين من المخلفات الزراعيّة-الصناعيّة ذات تأثير بيئي كبير. إنّ تراكمهما يمثّل خطراً بيئياً إذا لم يتم وضع حل لتثمينهما. يهدف هذا العمل إلى استكشاف التثمين المشترك لهذين المنتجين الثانويين كمحفّزات حيويّة للزراعة. مصّل اللّبن الحلو، الغني باللاكتوز، البروتينات الذائبة والمعادن، تم دمجّه مع مياه الجفت الزيتونيّة، المعروفة بمحتواها من المركبات الفينوليّة والمواد العضويّة. تم إعداد خمس صيغ من المحفّزات الحيويّة وفقاً لنسب مختلفة (0، 25، 50، 75، 100%) من هذين المخلفين. تم إجراء تحاليل فيزيائيّة وكيميائيّة لتوصيف هذه التركيبيات (المادة الجافة، الرطوبة، النيتروجين، DBO5، البوليفينولات، الفلافونويدات، الكاتيونات، إلخ). بعد ذلك، تم تقييم تأثير هذه المحفّزات على إنبات بذور اللّفت (*Brassica napus* L.، صنف ZITNA).

تُظهر النتائج أنّ زيادة نسبة مياه الجفت تُثري التركيبيات بالمركبات الفينوليّة والفلافونويدات، بينما يوفر مصّل اللّبن ثراءً بالنيتروجين والكالسيوم. وقد أظهرت التركيبيّة (75% B4 جفت، 25% مصّل لبن) نتائج جيّدة من حيث الإنبات بنسبة 80% بعد 24 ساعة. يسلط هذا العمل الضوء على الإمكانيات الواعدة لتثمين نفايتين بشكل مشترك من أجل استخدامات زراعيّة مستدامة.
الكلمات المفتاحيّة : تثمين، المحفّزات الحيويّة، مصّل اللّبن، مياه الجفاف الناتجة عن عصر الزيتون

TITLE: Valorization of Whey as a Biostimulant**FIRST AND FAMILY name: ARZI NOUARA /HADFI OUALAA INTISSAF****Directed by: Pr. KADI Kenza****Summary :**

Whey and olive mill wastewater are two agro-industrial effluents with a significant environmental impact. Their accumulation poses an ecological threat if no valorization solution is implemented. This study aims to explore the joint valorization of these two by-products as biostimulants for agriculture.

Sweet whey, rich in lactose, soluble proteins, and minerals, was combined with olive mill wastewater, known for its content of phenolic compounds and organic matter. Five biostimulant formulations were prepared using different proportions (0, 25, 50, 75, 100%) of these two residues. Physico-chemical analyses were carried out to characterize these formulations (dry matter, moisture, nitrogen, BODs, polyphenols, flavonoids, cations, etc.). The effect of these biostimulants was then evaluated on the germination of rapeseed seeds (*Brassica napus* L., variety ZITNA).

The results show that increasing the proportion of olive mill wastewater enriches the formulations with phenolic compounds and flavonoids, while whey provides nitrogen and calcium. Formulation B4 (75% olive mill wastewater, 25% whey) showed good germination results, with 80% germination after 24 hours. This study highlights the promising potential of cross-valorizing two waste products for sustainable agricultural applications.

Key Word: Valorization, Biostimulants, Whey, Olive mill wastewater