



*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 DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER ACADEMIQUE**

**FILIERE : Sciences Biologiques**

**OPTION: Microbiologie appliquée**

**Thème**

**Etude bibliographique sur l'effet anti-  
microbien de l'extrait polyphénolique  
issu des margines**

**Présenté par :**

**Meriem BOUHMAMA et Romaiassa TAHRI.**

*Soutenu le 18 /06/2023*

**Devant le jury composé de :**

**Président : Dr. TABEL Rachid (MCB) Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela**

**Encadreur : Dr. DOUAOUYA Lilia (MCA) Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela**

**Examinatrice: Dr. BOUTARFA Soumia (MCB) Univ. Abbès Laghrouour – Khenchela**

**Année universitaire  
2022/ 2023**

## **REMERCIEMENTS**

**ON REMERCIE DIEU LE TOUT PUISSANT DE NOUS AVOIR DONNÉ  
LA SANTÉ ET LA VOLONTÉ D'ENTAMER ET DE TERMINER  
CE MÉMOIRE.**

**TOUT D'ABORD, CE TRAVAIL NE SERAIT PAS AUSSI RICHE  
ET**

**N'AURAIT PAS PU AVOIR LE JOUR SANS L'AIDE DE  
L'ENCADREMENT DE MME **DOUA OUYA LILIA**, ON LUI  
REMERCIÉ**

**POUR LA QUALITÉ DE SON ENCADREMENT EXCEPTIONNEL,  
POUR SA PATIENCE, SA RIGUEUR ET SA DISPONIBILITÉ DURANT  
NOTRE PRÉPARATION DE CE MÉMOIRE.**

**NOUS REMERCIONS **DR. THABET RACHID** D'AVOIR  
ACCEPTÉ DE JURER NOTRE TRAVAIL EN TANT QUE  
PRÉSIDENT**

**NOUS REMERCIONS **DR. BOUTARFA SOUMIA** D'AVOIR ACCEPTÉ  
D'EXAMINER CE TRAVAIL**

# DÉDICACE

**À MES TRÈS CHERS PARENTS**

**À MON CHER MARI**

**À MES DEUX ANGES **MIRALE & SAFOUANE****

**MES FRÈRES ET MES SŒURS**

**À TOUTE MA FAMILLE ET MA BELLE-FAMILLE**

**À LA DEUXIÈME MAMAN DE MON FILS**

****SAFOUANE****

**À MON GENTIL BINÔME **ROMAISSA****

**MERIEM**

# DÉDICACE

**JE DÉDIE MON MODESTE TRAVAIL**

**À MON PÈRE ALI QUI M'A SOUTENU ET ENCOURAGÉ DURANT MES ANNÉES  
D'ÉTUDE.**

**À L'ÂME DE MA CHÈRE MÈRE CAR ICI ELLE A RÉALISÉ UN DE SES RÊVES  
ALORS MERCI DE M'AVOIR DONNÉ CETTE VIE .MERCI, MA MERVEILLEUSE  
MÈRE, QUE DIEU AIT PITIÉ DE TOI ET TE FASSE REFUGE AU PARADIS.**

**UN GRAND MERCI À MES SŒURS POUR LEUR SOUTIEN DANS  
L'ACCOMPLISSEMENT DE CE TRAVAIL**

**À MES FRÈRES ET MA FAMILLE ET À TOUS CEUX QUI M'AIMENT**

**À MES MEILLEURES AMIES NOUR EL HOUDA, FARIDA, YASMINE ET  
AMIRA**

**À MON BINÔME ET MON AMIE MERIEM, QUE DIEU TE DONNE LA FORCE  
POUR ATTEINDRE TES RÊVES ET TES SOUHAITS.**

**À TOUT LES MEMBRES DE PROMO ET MES COLLÈGUES.**

**ROMAÏSSA**

## Table des matières

Titre	Page
<b>Remerciements</b>	
<b>Résumé</b>	<b>I</b>
<b>Abstract</b>	<b>II</b>
<b>ملخص</b>	<b>III</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>IV</b>
<b>Liste des figures</b>	<b>V</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>VI</b>
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre I : L'oléiculture</b>	<b>02</b>
1. Généralités sur l'olivier	02
2. Historique	03
3. Description botanique	03
4. Classification et systématique	05
5. La production oléicole	05
5.1. La production oléicole mondiale	05
5.2. La production et le secteur oléicole Algérienne	06
6. Du fruit d'olive à l'huile d'olive	08
6.1. Nettoyage	08
6.2. Broyage et malaxage	08
6.3. Extraction	08
6.3.1. Système discontinu	09
6.3.2. Système continu à trois phases	09
6.3.3. Système continu à deux phases	11
7. Les principaux sous-produits de l'oléiculture	11
7.1. Huile d'olive	11
7.2. Grignons d'olives	12
7.3. Margines	12
<b>Chapitre II : Les margines</b>	<b>13</b>
1. Généralités sur les margines	13
1.1. Définition	13
1.2. Caractéristiques des margines	13
1.2.1. Caractéristiques physico-chimiques	13
1.2.2. Caractéristiques biologiques	14
1.2.3. Caractéristiques microbiologiques	14
1.3. Composition des margines	15
1.3.1. Fraction organique	15
1.3.2. Fraction minérale	17
1.4. Effets des margine	18
1.4.1. Effet des margines sur l'environnement	18
1.4.2. Effet des margines sur les plantes	19
1.4.3. Effet des margine sur l'eau	19
1.4.4. Effet des margine sur l'air	20
2. Procédés du traitement des margines	20
2.1. Traitement chimique	21
2.2. Traitement physique	21

2.3. Traitement biologique	22
3. Procédés de valorisation des margines	23
3.1. Production de biogaz	23
3.2. Compostage des margines	24
3.3. Production des protéines d'organismes unicellulaires (POU)	24
3.4. Production d'enzymes	25
3.5. Epannage	25
3.6. Utilisation en alimentation animale	25
<b>Chapitre III : Les composés polyphénoliques</b>	<b>26</b>
1. Généralités sur les composés phénoliques	26
1.1. Définition	26
1.2. Distribution	27
1.3. Biosynthèse	27
1.4. Structure	28
1.5. Classification	28
1.5.1. Alcools phénoliques	29
1.5.2. Acides phénoliques	29
1.5.3. Coumarines	30
1.5.4. Quinones	30
1.5.5. Xanthones	31
1.5.6. Stilbènes	31
1.5.7. Flavonoïdes	31
1.5.8. Lignanes	31
1.5.9. Lignines	32
1.5.10. Tanins	32
1.6. Procédés d'extraction des composés phénoliques	32
1.7. Les rôles des composées phénoliques	33
2. Les composées phénoliques des margines	33
2.1. Monomères aromatiques	33
2.2. Les polymères phénoliques	34
2.3. Propriétés biologiques des polyphénols	35
2.3.1. Propriétés antioxydantes	35
2.3.2. Propriétés antimicrobiennes	35
<b>Chapitre IV : Activité antimicrobienne des margines</b>	<b>36</b>
1. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antimicrobienne	36
1.1. Méthode de diffusion en disque	36
1.2. Méthode de dilution	36
1.2.1. En milieu liquide	37
1.2.1. En milieu solide	37
1.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	37
1.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	38
2. L'activité antimicrobienne des margines	38
<b>Conclusion</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>46</b>

### *Résumé*

La margine constitue un problème environnemental pour les pays qui produisent de l'huile d'olive dont l'Algérie. Ces effluents issus de l'extraction huileuse, posent de sérieux problèmes de pollution par leur concentration élevée en matières organiques, elles sont souvent rejetées dans les eaux des fleuves sans aucun traitement préalable mais qui pourraient être considérés comme une source potentielle de produits naturels de haute valeur ajoutée, en raison de leur teneur en composés phénoliques et d'autres antioxydants naturels. La valorisation des polyphénols des margines offre une double opportunité d'obtenir des biomolécules actives et de réduire la toxicité de ces effluents. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail était une étude bibliographique rétrospective de l'effet antimicrobien des extraits phénoliques issus des margines, qui a mis au point un effet antibactérien vis-à-vis 16 souches pathogènes résistantes aux antibiotiques, du Gram positif et négatif possédant en plus un effet synergique ainsi qu'une activité antifongique importante contre *Aspergillus niger* et les champignons telluriques causant le dépérissement des arbres. Cette étude indique l'intérêt de la margine comme étant une matière locale biologique douée d'une activité antimicrobienne remarquable, pouvant servir dans l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire ou en agriculture.

**Mots clés :** Margines, Polyphénols ; Effet antimicrobien, Effet antibactérien, Effet antifongique.

***Abstract***

Olive mill wastewater is an environmental problem for olive oil-producing countries such as Algeria. These effluents from oil extraction pose serious pollution problems due to their high concentration of organic matter, which is often discharged into river water without any prior treatment. However, they could be considered a potential source of natural products with high additive value due to their content of phenolic compounds and other natural antioxidants. The valorization of olive mill wastewater polyphenols offers a dual opportunity to obtain active biomolecules and reduce the toxicity of these effluents. In this context, the aim of this work was a retrospective bibliographical study of the antimicrobial effect of phenolic extracts derived from margins, which revealed an antibacterial effect against 16 antibiotic-resistant pathogenic strains, both Gram-positive and Gram-negative, with a synergistic effect, as well as significant antifungal activity against *Aspergillus niger* and telluric fungi causing tree dieback. This study indicates the interest in olive mill wastewater as a local biological material endowed with remarkable anti microbial activity that can be used in the pharmaceutical, agri-food, and agricultural industries.

**Keywords :** Olive mill wastewater, polyphenols, antimicrobial effect, antibacterial effect, antifungal effect.

## ملخص

المياه النباتية هي مشكلة بيئية للبلدان المنتجة لزيت الزيتون، بما في ذلك الجزائر. تسبب هذه النفايات السائلة الناتجة عن استخراج الزيت مشاكل خطيرة من التلوث بسبب تركيزها العالي من المواد العضوية ، و التي غالبًا ما يتم تصريفها في مياه الأنهار دون أي معالجة مسبقة ولكن يمكن اعتبارها مصدرًا محتملاً للمنتجات الطبيعية ذات الإضافات العالية القيمة ، بسبب محتواها من المركبات الفينولية ومضادات الأكسدة الطبيعية. يوفر تثمين واسترداد البوليفينول من المياه النباتية فرصة مزدوجة للحصول على جزيئات حيوية نشطة وتقليل سمية هذه النفايات السائلة. في هذا السياق ، كان الهدف من هذا العمل دراسة ببيولوجرافية بأثر رجعي للتأثير المضاد للميكروبات للمستخلصات الفينولية المستخرجة من المياه النباتية ، والتي كشفت عن تأثير مضاد للجراثيم ضد 16 سلالة ممرضة مقاومة للمضادات الحيوية ، موجبة وسالبة الجرام مع تأثير تآزري بالإضافة أيضا لنشاط مهم مضاد للفطريات ضد *Aspergillus niger* والفطريات الترابية التي تسبب موت الأشجار. تشير هذه الدراسة إلى أهمية المياه النباتية باعتبارها مادة بيولوجية محلية تتمتع بنشاط ملحوظ في مجال مضادات الميكروبات ، والتي يمكن استخدامها في صناعة الأدوية ، الأغذية الزراعية أو في الزراعة.

**الكلمات المفتاحية:** النفايات السائلة، البوليفينول، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات

*Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	La classification botanique de l'olivier	<b>05</b>
<b>02</b>	Répartition de la production mondiale de l'huile d'olive pour la campagne oléicole 2009-2010	<b>06</b>
<b>03</b>	Principales variétés d'olivier en Algérie	<b>07</b>
<b>04</b>	Caractéristiques biologiques des margines	<b>14</b>
<b>05</b>	Composition chimique générale des margines	<b>15</b>
<b>06</b>	Les principaux composés phénoliques des margines	<b>17</b>
<b>07</b>	Composition minérale des margines	<b>18</b>
<b>08</b>	Utilisation des levures pour la production de POU à partir des margines	<b>25</b>
<b>09</b>	Principaux composés phénoliques polymériques retrouvés dans les margines	<b>34</b>
<b>10</b>	Activité antimicrobienne des margines brutes et leurs extraits phénoliques	<b>39</b>
<b>11</b>	Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique	<b>41</b>
<b>12</b>	Résultats de l'activité antibactérienne des margines vis-à-vis des souches à la collection Américaine (ATCC).	<b>41</b>

## Liste des figures

N°	Titre	Page
01	L'arbre d'olive	02
02	Les principales parties d'un olivier	05
03	Schéma des trois procédés d'extraction de l'huile d'olive	10
04	Bilan annuel des produits et sous-produits de l'industrie oléicole en Algérie	11
05	Conséquences environnementales des rejets de margines dans le milieu naturel	20
06	Structure d'unité de base des polyphénols	27
07	La voie du Shikimate est au centre de synthèse de divers métabolites primaires et secondaires.	28
08	Acides hydroxybenzoïques	29
09	Acides hydroxycinnamiques (phénylpropanoïdes)	30
10	Les principales coumarines	30
11	Structure du resvératrol	31
12	Halo d'inhibition de croissance bactérienne sur gélose (antibiogramme)	38
13	Activité antimicrobienne de l'extrait phénolique vis-à-vis des souches testées	40
14	Activité antibactérienne de la margine en différentes dilutions vis-à-vis les souches multi-résistantes aux antibiotiques.	42
15	(a) Effet inhibiteur de polyphénols de la margine Zarazi sur <i>Fusarium solani</i> , (b) Mycélium de <i>Fusarium solani</i> dégradé sous l'effet de polyphénol de la margine Zarazi	43

*Liste des abréviations*

<b>CMB</b>	Concentrations minimales bactéricides.
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice.
<b>CP</b>	Composés phénoliques.
<b>CS</b>	Chalconesynthase .
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demande biologique en oxygène pendant 5 jours
<b>DCO</b>	Demande chimique en oxygène.
<b>HPLC</b>	Chromatographie Liquide à Haute Performance
<b>MADR</b>	Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
<b>MES</b>	Matières en suspension.
<b>MH</b>	Muller Hinton
<b>OMWW</b>	Olive mill wastewater
<b>PAL</b>	Phénylalanine ammonia-lyase.
<b>PDA</b>	L'agar de dextrose de pomme de terre.
<b>POU</b>	Productions des protéines d'organismes unicellulaires.
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire
<b>UASB</b>	Up-flow Anaerobic Sludge Blanket.



# INTRODUCTION

### *Introduction*

L'industrie oléicole est une activité économique importante, concentrée principalement dans les pays méditerranéens qui tiennent environ 95% de la production mondiale. Le patrimoine oléicole Algérien est estimé à 32 millions d'oliviers, ce qui représente 4,5% du patrimoine mondial. Depuis 2014, l'offre Algérienne d'huile d'olive a augmenté de 1,8% sur un an. Avec 92 mille tonnes métriques en 2019, le pays était classé au 6ème rang en comparant les autres pays en matière d'approvisionnement (COI, 2020). L'accroissement de la production oléicole et l'introduction des techniques modernes pour l'extraction de l'huile ont placé l'olivier dans une position délicate de pollueur potentiel, phénomène qui a pris de l'ampleur avec l'avènement des systèmes continus de trituration à trois phases utilisant beaucoup d'eau. La margine constitue un problème environnemental pour les pays qui produisent de l'huile d'olive dont l'Algérie où les margines ne subissent en général aucun traitement et sont souvent déversés dans la nature (Achak *et al.*, 2008). Il en résulte un impact négatif sur l'environnement qui se traduit par le colmatage des sols, la pollution des eaux superficielles et souterraines et le dégagement de mauvaises odeurs. Ces problèmes environnementaux sont attribués à la richesse de ces effluents en matière organique et en particulier en polyphénols. Ce critère a amené les chercheurs à mettre au point de nombreux procédés de valorisation et d'exploitation des margines dans divers domaines : compostage, agriculture et même dans l'industrie pharmaceutique (Bouknana *et al.*, 2014).

Les margines sont riches en poly phénols issus de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction. Cette famille chimique se caractérise par des propriétés antimicrobiennes (Esmail *et al.*, 2015), hypolipidémiques, hypocholestérolémiantes et anti-cancérogènes (Gharby *et al.*, 2014).

Ce mémoire s'inscrit donc dans cet axe général dont nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qu'il s'agit d'une synthèse bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre des généralités sur l'olivier, l'extraction d'huile d'olive et les principaux sous-produits de l'oléiculture, le deuxième chapitre est consacré à l'étude des caractéristiques physico-chimiques et biologiques des margines ainsi que son effet sur l'environnement. Le troisième chapitre décrit la famille des polyphénols, leur extraction et leurs propriétés biologiques, et le dernier chapitre expose les méthodes d'évaluations du pouvoir antimicrobien *in vitro* focalisant sur les travaux antérieurs récents de l'effet antibactérien et antifongique des polyphénols issus de margines.



# **Chapitre I**

## **L'oléiculture**

### 1. Généralités sur l'olivier

L'olivier, arbre unique en Méditerranée, a été considéré depuis la nuit des temps comme symbole de la sagesse, de la richesse de la paix et de la gloire, Cet arbre pousse les climats tempérés et est connu pour être très rustique (Fig01), s'adaptant facilement aux climats rocheux, ingrats, caillouteux et arides. Il se caractérise par une longue durée de vie. Il est même considéré comme immortel, et se propage très facilement par multiplication végétative. L'olivier est de 6 à 15 m de hauteur, à tronc rugueux et tortueux et à écorce grisâtre et crevassée. Les feuilles ne tombent jamais avec une durée de vie de trois ans. Elles sont persistantes lancéolées, leur situation sur le rameaux est opposé, la surface supérieure de la feuille est vert foncé brillant, et la surface inférieure semble argentée à cause des fleurs .Les petites fleurs blanches à quatre pétales apparaissent généralement en grappes émergeant de l'aisselle des feuilles. Le fruit qui est l'olive est une drupe charnue et huileuse de forme ovale il se compose d'un épicarpe fin et lisse qui recouvre un mésocarpe (la pulpe) est d'un noyau ou endocarpe. Elle pèse de 2 à 12 g, bien que certaines variétés puissent peser jusqu'à 20 g (Yakhlef, 2019).



Figure 01 : L'arbre d'olive (Dominique, 2011).

## 2. Historique

L'olivier appartient à la famille des oléacées, et est cultivé principalement dans la région méditerranéenne depuis au moins 3500 ans avant notre ère. Il était dans l'antiquité grecque et romaine, un emblème de fécondité et un symbole de paix et de gloire. Le nom scientifique de l'arbre "Olea" vient d'un mot qui signifiait "huile" chez les grecques de l'antiquité. La culture de l'olivier prend son origine de la frontière Irano-Syrienne (**Nora et al., 2012**). Dans la culture arabo-islamique, l'olivier est un arbre particulier. Il fait partie des arbres mentionnés dans le Coran et fait l'objet de révérence, d'autant plus que ses vertus déjà mentionnées dans le Coran ont été confirmées par des études scientifiques (**Bardoulat, 2004**). L'origine de l'olivier se perd dans la nuit des temps, son histoire se confond avec des civilisations qui ont vu le jour autour de bassin méditerranéen, et ont pendant longtemps régi les destinées de l'humanité et marqué de leur empreintes la culture occidentale (**COI, 2000**).

## 3. Description botanique

L'olivier est une espèce d'arbre à croissance lente et tolérante à la sécheresse avec une très longue durée de vie d'environ 500 ans. Originaire de la région méditerranéenne, il pousse rythmiquement dans les régions tempérées s et peut prospérer dans une variété de conditions environnementales déterminées par son tronc. En raison de sa capacité à se développer latéralement et du fait que ses racines sont moins susceptibles d'être détruites (**Benguendouz, 2019**). C'est un arbre pléomorphe, avec des différences entre les feuilles larvaires et adultes de taille moyenne. Au tronc noueux, très rameux, à l'écorce brune crevassée, au bois dur et dense, a une grandeur moyenne peut éteindre à une hauteur de 15 jusqu'à 20 mètres, et vivre très longtemps. S'adapte parfaitement aux conditions .Climat subtropical sec, hivers doux, automnes au printemps pluvieux, étés chauds et secs, une grande luminosité et la température comprise entre 13 et 22 °C (**Selaimia, 2018**). L'olivier se caractérise par le système aérien suivant (Fig02):

### ➤ Feuille:

Sont simples, entières, à pétiole court et à limbe lancéolé qui se termine par un mucron, elles sont petite taille (3 à 8 cm de long et de 1 à 2,5 cm de large). Les feuilles sont opposées et persistantes, leur durée de vie est de l'ordre de 3 ans (**Benguendouz, 2019**). Elles possèdent des propriétés nettement xérophytiques (épiderme supérieur fortement cuisiné et épiderme inférieur recouverts de poils) (**Gharabi, 2018**).

En raison de la structure de leurs feuilles, les oliviers sont plus tolérants au manque de pluie et à l'évaporation, et peuvent être plantés avec succès de manière économique dans les zones où les précipitations annuelles moyennes ne dépassent pas 200 à 400 mm (**Wiesman, 2009**).

➤ **Tronc :**

Le tronc est jaunâtre puis vire au brun très clair. Il présente un diamètre irrégulier (jusqu'à 2 m de diamètre) avec une forme qui évolue d'une manière dynamique selon le degré de développement. Il est très dur, compacte, court, et port des branches, assez grosses, tortueuses, et lisse. Sa structure se varie selon les variétés et les conditions de milieu (**Chafaa, 2013**).

➤ **Les fleurs :**

Les fleurs sont regroupées en petites grappes dressées (3 à 5 mm) à l'aisselle des feuilles. La fleur est composée de 4 sépales, 4 pétales, 2 étamines et 2 carpelles. Elles sont hermaphrodites c'est-à-dire qu'il est composé d'organes mâles et femelles (deux étamines + un pistil) (**Labdaoui, 2017**). Les fleurs d'olivier sont groupées en inflorescence en grappes (de 10 à 40 fleurs). La longueur du stade de floraison de l'olivier se situe entre avril et juin, selon les conditions climatiques dominantes. La floraison se produit lorsque la température météorologique est établie à une température supérieure à 20 °C (**Wiesman, 2009**).

➤ **Fruits :**

Le fruit de l'olivier est une drupe globuleuse, changeant généralement de couleur du vert au violet ou presque noir, lorsqu'elle est complètement mûre, à mésocarpe charnu, indéhiscente, à noyau (**Chafaa, 2013**). La pulpe dense (représente 80% du poids total du fruit), la forme est allongée, ovale et évolue selon les variétés (1 à 4 cm de longueur et de 0.60 à 2 cm de diamètre), dont l'huile est un composant essentiel de plante. Riche en acides gras insaturés, en vitamine E et en polyphénols. Alors, un arbre produit en moyenne 15 à 50 kg d'olives, il peut donner 3 à 10 l d'huile d'olive selon les variétés (**Boukroune, 2018**).

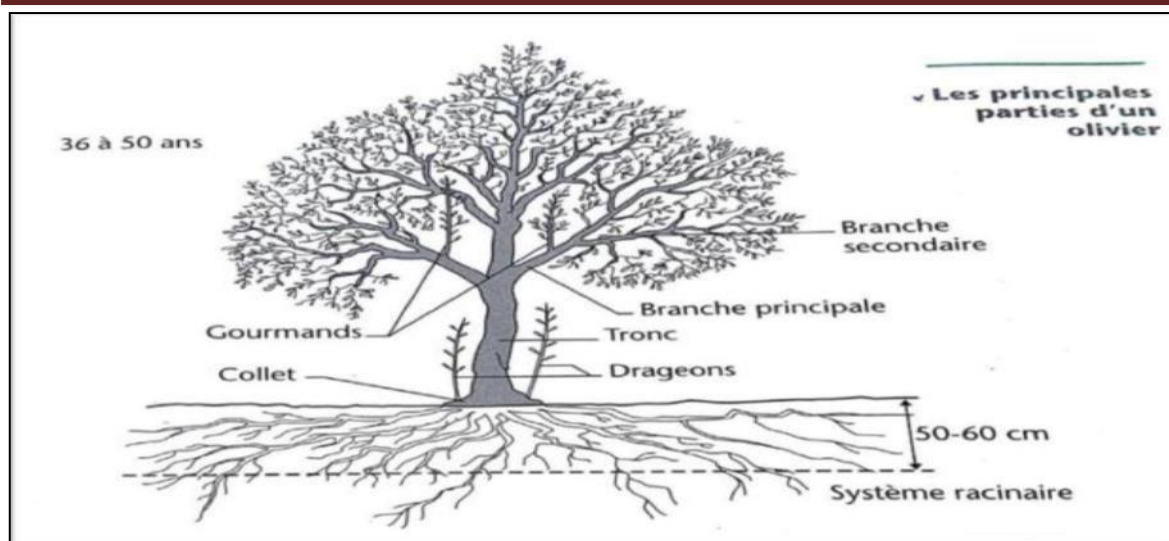


Figure 02 : Les principales parties d'un olivier (Argenson, 1999).

#### 4. Classification et systématique

L'olivier appartient à la famille des *Oleaceae* et au genre *Olea* (Tab01). Ce dernier comporte 33 espèces différentes, réparties sur la surface du globe, dont l'*Olea europea* L., cultivée en méditerranée, qui se divise à son tour en deux sous-espèces : *Olea europea sylvestris* ou l'olivier sauvage qui se présente naturellement sous forme des arbustes épineux portant principalement des petits fruits et *Olea europea sativa* ou l'olivier cultivé constitué de diverses variétés améliorées multipliées par bouturage ou greffage (Green, 2002).

Tableau 01 : La classification botanique de l'olivier (Green, 2002).

Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Equisetopsida</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Oleaceae</i>
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Olea europea</i> L.

#### 5. La production oléicole

##### 5.1. La production oléicole mondiale

Le patrimoine mondial de l'olivier couvre actuellement une superficie de 9,23 millions d'hectares avec environ 750 millions d'oliviers. Les pays méditerranéens comptent 715 millions d'oliviers sur une superficie d'environ 8,16 millions d'hectares. Elle représente 95%

du patrimoine oléicole mondial et fournit 95% de la production mondiale d'huile d'olive (Tsagariki, 2007). Parmi les pays producteurs européens, l'Espagne a une production d'huile d'olive très significativement élevée. Il est à noter que les principaux pays producteurs sont généralement les principaux consommateurs de l'huile d'olive (Tab02).

**Tableau 02:** Répartition de la production mondiale de l'huile d'olive pour la campagne oléicole 2009-2010 (COI, 2009).

Pays	Production (1000t)	Production (%)
Espagne	1200	41.6
Italie	540	18.7
Grèce	348	12.1
Portugal	50	1.7
France	5	0.2
<b>Total Europe</b>	2148.4	74.6
Syrie	150	5.2
Turque	147	5.1
Tunisie	140	4.9
Maroc	95	3.3
Algérie	50	1.7
<b>Totale monde</b>	2881.5	

### 5.2.La production et le secteur oléicole Algérienne

L'olivier est l'un des arbres fruitiers méditerranéen qui occupe une place importante dans l'économie agricole, dont, la superficie dédiée au secteur oléicole, qui se répartie dans plusieurs régions : Tizi-Ouzou, Béjaia, Bouira, Boumerdas. La plupart des oliveraies sont situées dans des zones de montagne, sur des terrains accidentés et marginaux, peu fertiles. Le reste des oliveraies sont situées dans les plaines occidentales du pays. Avec plus de 500.000 hectares de terres agricoles réservées aux oliviers, l'Algérie est l'un des premiers producteurs mondiaux d'huile d'olive. Selon les données officielles de Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR), les oliveraies algériennes couvrent 431634 hectares et sont plantées de 60632901 oliviers. Au cours des 20 dernières années Ces dernières années, la

superficie cultivée en olive sa considérablement augmenté, passant de 168080 hectares en 2000 à 294200 hectares en 2010 et 431634 hectares en 2019. Il s'agit d'une augmentation de 75% par rapport à 2010 et de 156,8 % par rapport à 2000.

Cette dernière a entraîné l'augmentation des rendements en huile d'olive, notamment avec la création des nouvelles zones productrices au sud et aux régions septiques du pays (COI, 2021). Cependant, le nombre d'olivier sa également connu un grand développement. En 2000, le nombre était de 16702610, est passé à 36335782 en 2010 et a atteint 60632901 en 2019. Cela représente une augmentation de 117,5% par rapport à 2010 et de 263 % par rapport à 2019.

En 2020, sa production a baissé à 89.500 tonnes. Les prévisions de la production nationale pour l'année 2021 sont, par ailleurs, assez pessimistes. En cause, les conditions climatiques défavorables, et surtout, les gigantesques feux de forêts qui ont ravagé cet été le nord du pays. Selon les estimations du Conseil oléicole international, bien qu'avec des données provisoires, la production mondiale de campagne 2020/21 atteindrait en Algérie de 90.000 t (-28,7%) (COI, 2021). Les principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie sont présentées dans le tableau ci-dessous (Tab 03).

**Tableau 03 : Principales variétés d'olivier en Algérie (Mendil et Sebai, 2006).**

Régions	Variétés	Utilisation	Rendement des huiles
Bejaïa	Limli	Huile	20 à 24 %
	Bouchouk	Huile et Table	22 à 26 %
	Soummam		
	Tefah	Huile et Table	18 à 22 %
	Azeradj	Huile et Table	24 à 28 %
Mitidja	La Rougette de Mitidja	Huile	18 à 22 %
Jijel	Hamra	Huile	18 à 22 %
Tébessa	Ferkani	Huile	28 à 32 %
Khenchela	Abani	Huile	16 à 20 %
Constantine	Grosse du Hamma	Huile et Table	16 à 20 %
Mascara	Sigoise	Huile et Table	18 à 22 %
Guelma	Blanquette de Guelma	Huile	18 à 22 %
Cherchell	Longue de Miliana	Huile et Table	16 à 20 %
Kabylie	Chemlal	Huile	18 à 22 %

## 6. Du fruit d'olive à l'huile d'olive

La production d'huile d'olive a toujours été le but principal de la culture de l'olivier (Fig03). Les méthodes d'extraction ont évolué mais le processus d'extraction de l'huile reste toujours le même. Il comprend quatre opérations principales : lavage des fruits, Broyage, malaxage et enfin extraction ou séparation des phases: gras (huile), solide (grignons) et aqueuse (eau de végétation ou margines) (**Benlemlih et Ghanam, 2012**).

### 6.1. Nettoyage

Le nettoyage des olives commence par effeuillage qui se fait généralement par aspiration afin d'éliminer les brindilles et les feuilles, suivi par un lavage pour éliminer les matières étrangères (saletés, moisissures...) adhérentes aux olives. Plusieurs lavages sont nécessaires pour obtenir un produit complètement exempt de tout contaminant (**Chimi, 2006**). Ces dernières opérations sont essentielles car d'une part elles protègent les broyeurs métalliques et d'autre part elles préviennent les modifications des propriétés organoleptiques de l'huile (couleur foncée, odeur, amrtume) (**Aissam, 2003**).

### 6.2. Broyage et malaxage

Dans ce processus, la paroi et les tissus de l'olive sont détruits, libérant les gouttelettes d'huile contenues dans les vacuoles des cellules de l'olive. Le broyage est effectué à l'aide de moulins à pierre (équipement traditionnel), de marteaux ou de disques (équipement moderne) (**Veillet, 2010**). Le malaxage consiste en un broyage lent et continu de la pâte d'olives, à température spécifique, afin de libérer le maximum d'huile en brisant les vacuoles qui sont restées entières durant la phase de broyage et d'amasser les gouttelettes d'huile en gouttes plus grosses. Le temps de mélange est généralement de 15 à 30 minutes (**Aissam, 2003**).

### 6.3. Extraction

Le broyage et le malaxage aboutissent à la formation d'une pâte homogène qui facilite l'extraction de l'huile d'olive. Cette dernière contient de la matière solide et des fluides. La matière solide appelée grignons d'olives est formée de débris de noyaux, d'épiderme, et de parois cellulaires, alors que la partie fluide est composée d'huile et des margines. Les systèmes de séparation des phases (grasse, solide et aqueuse) utilisés sont au nombre de trois, le système discontinu d'extraction par presse, le système d'extraction continu à trois phases et le système d'extraction continu à deux phases (**Benlemlih et Ghanam, 2012**).

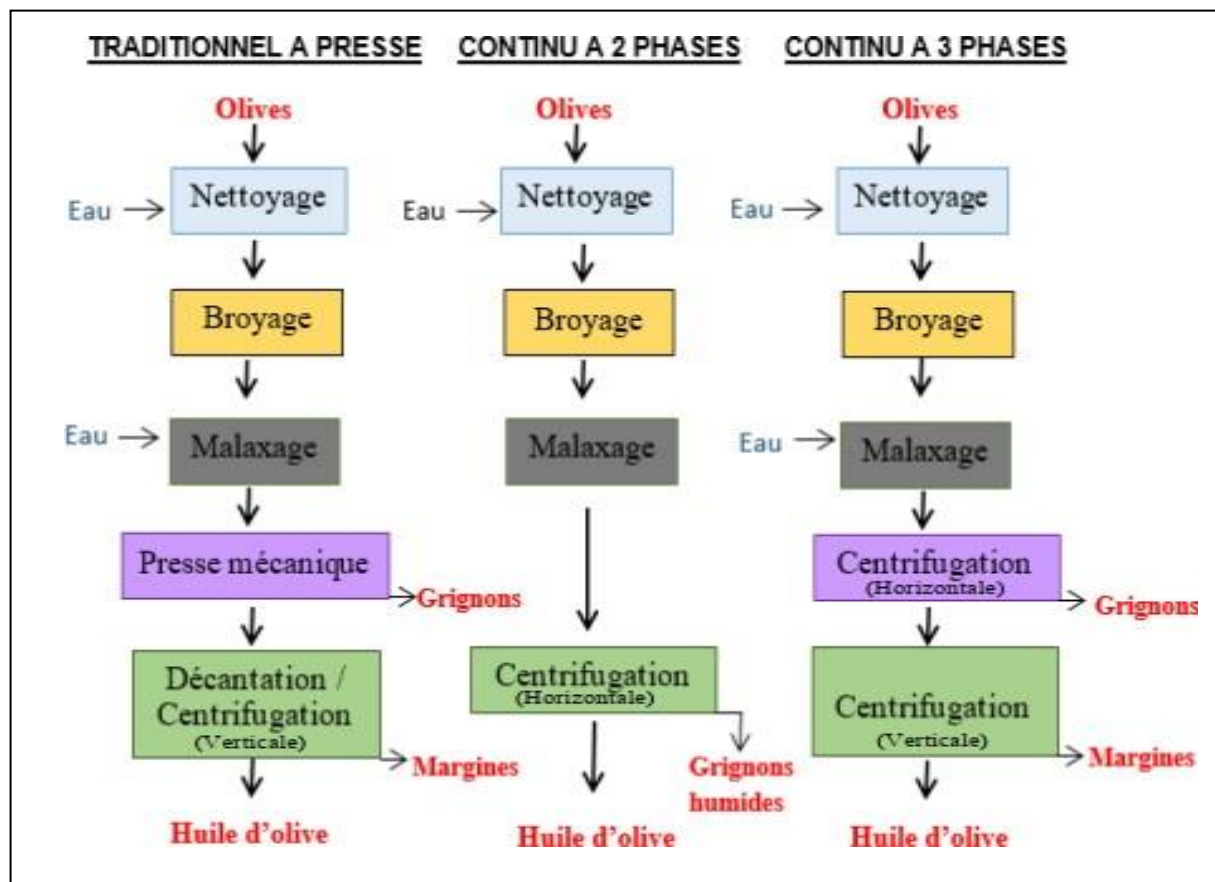
### 6.3.1. Système discontinu

Le système discontinu est la méthode la plus traditionnelle d'obtention de l'huile d'olive. Il utilise des presses métalliques à vis ou bien des presses hydrauliques. La pâte obtenue par mélange est empilée sur des disques de matériau filtrant (toile ou, plus récemment, fibre plastique) appelés scourtins à raison de 5 à 10 kg par scourtin. Ces disques sont empilés les uns sur les autres pour être ensuite pressés. Ces disques sont empilés les uns sur les autres et pressés. Le processus de pressage prend au moins 45 minutes. Il est à noter que les scourtins doivent être lavés, selon la norme internationale en vigueur, à raison d'une fois par semaine pour éviter d'augmenter l'acidité de l'huile d'olive (**Benyahia et Zein, 2003**). Après l'étape de pression, on procède à une décantation naturelle du liquide obtenu dans des bassins, l'huile remonte à la surface et les margines sont récupérées en bas. Contrairement au système continu, où la séparation des phases (grasse et aqueuse) se fait par une centrifugation, ici la séparation est basée sur la différence de densité entre l'huile et l'eau de végétation (**Benyahia et Zein, 2003**). Les grignons d'olives, contenant environ 4% d'huile, restent quant à elles emprisonnés dans les scourtins (**Veillet, 2010**). Les opérations de broyage et de pressage de la pâte des olives, conduites en pleine air, peuvent entraîner l'altération de l'huile de cette pâte qui est exposée à l'air libre durant environ une heure. En effet, l'auto-oxydation de l'huile déclenchée par la présence de l'air provoque la décomposition des acides gras insaturés et par conséquent la formation des hydro peroxyde qui peuvent se décomposer pour produire des produits volatils conduisant à un état de rancissement de l'huile. Un autre inconvénient de ce système, c'est qu'il génère des quantités importantes de margines (60 à 70 L par 100 Kg d'olives). Néanmoins, l'avantage du système de presse est l'obtention d'une huile non piquante et riche en polyphénols (**Hamadi, 2006**).

### 6.3.2. Système continu à trois phases

Contrairement au procédé discontinu, cette méthode permet une extraction successive de l'huile d'olive. La pâte d'huile provenant du malaxage est soumise à une centrifugation donnant trois fractions : les grignons, les margines et l'huile d'olive (**Nefzaoui, 1987**). Ce système d'extraction a permis de surmonter les multiples inconvénients associés à l'extraction par pression dont la réduction des coûts de transformations et le temps de stockage des olives et donc une huile d'olive avec une acidité plus faible. Cependant, ce système consomme une grande quantité d'eau chaude ce qui fait que l'huile extraite se trouve appauvrie en composés aromatiques et en composés phénoliques avec comme conséquences

une résistance plus faible à l'oxydation. Ces composés passent partiellement dans les margines générées en grandes quantités (Chimi, 2006).



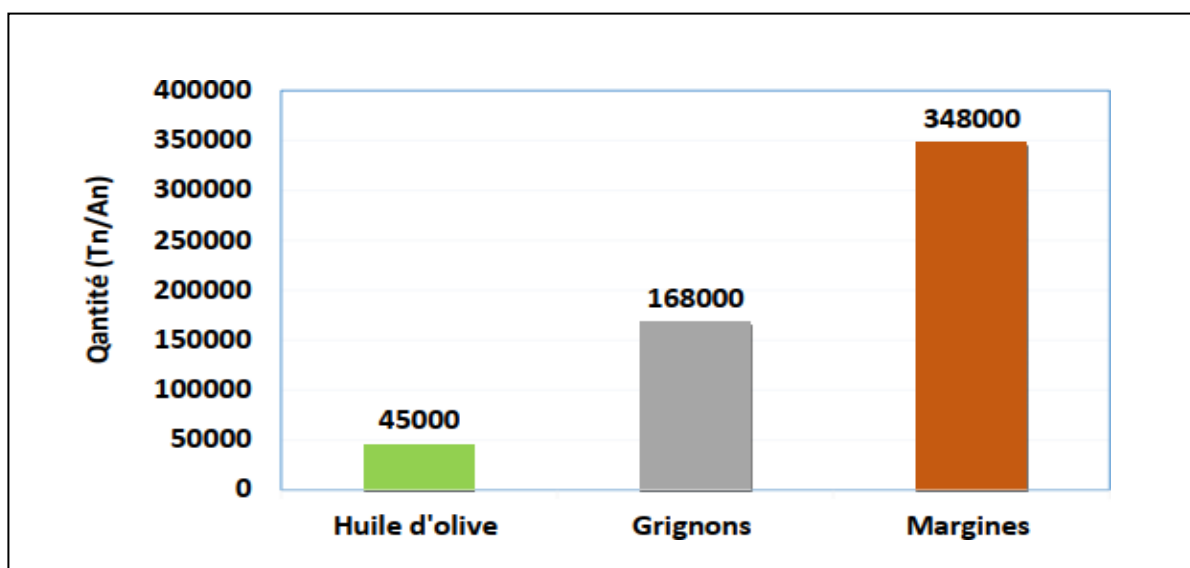
**Figure 03** : Schéma des trois procédés d'extraction de l'huile d'olive (Zbakh et El Abbassi, 2012).

### 6.3.3. Système continu à deux phases

Le décanteur à deux phases a été conçu pour pallier les inconvénients des deux systèmes précédents. En pratique, il s'en différencie par une moindre utilisation d'eau. La centrifugation sépare deux fractions seulement, une fraction huileuse et une fraction solide de consistance pâteuse appelée grignons-humides ou grignons à deux phases contenant les grignons d'olives et les margines. Ce système permet d'obtenir une huile riche en polyphénols totaux et avec un rendement légèrement plus élevé en comparaison avec les huiles obtenues avec le décanteur conventionnel à trois phases et le système d'extraction par presse. En outre, ce système est plus respectueux de l'environnement (procédé écologique) car il ne procède pas à l'augmentation des volumes d'effluent liquides (Benyahia et Zein, 2003).

## 7. Les principaux sous-produits de l'oléiculture

L'industrie oléicole, en plus de la production d'huile d'olive engendre deux types de sous-produits, l'un liquide, représenté par des eaux de végétation ou margines et l'autre solide représenté par les noyaux d'olives ou grignons. De plus, l'olivier, à travers la taille génère des feuilles, des brindilles et du gros bois (Nefzaoui, 1991). Les olives contiennent environ 20% d'huile, 30% de grignons et 50% de margines (Fig04). Ces dernières résultent de l'eau contenue dans le fruit (olives) et l'eau de production ajoutée lors du processus de trituration (Achak *et al.*, 2009).



**Figure 04 :** Bilan annuel des produits et sous-produits de l'industrie oléicole en Algérie (Khodja, 2011).

### 7.1. Huile d'olive

L'huile d'olive vierge est l'huile obtenue à partir du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques et dans des conditions, notamment thermiques, n'entraînant pas d'altération de l'huile, à l'exception des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. L'huile d'olive vierge ne doit avoir subi aucun autre traitement que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (COI, 2003). L'huile d'olive vierge comprend diverses appellations : vierge extra, ou vierge fine, vierge courante et vierge lampante. L'appartenance à une catégorie est définie en fonction de l'évaluation de quelques paramètres de qualité de l'huile d'olive à savoir: l'acidité, l'indice de peroxyde, l'absorbance dans l'UV et les caractéristiques organoleptiques (Fedeli, 1999). L'intérêt pour l'huile d'olive a été accru depuis la découverte de sa richesse en

vitamines liposolubles et en polyphénols qui sont des antioxydants. Elle constitue également une source importante d'acides gras poly-insaturés essentiels car non synthétisables par le corps humain (Veillet, 2010).

### **7.2.Grignons d'olives**

Le grignon est le résidu solide obtenu à partir de la pulpe et des graines d'olives, elles représentent environ un tiers du poids des olives fraîches triturées. Les grignons peuvent être transformés en un produit destiné à l'alimentation animale, engrais et la fabrication de savon, ou subir une extraction chimique afin de produire de l'huile de grignons d'olive (Labdaoui, 2017).

### **7.3.Margines**

Les margines présentent un liquide résiduel aqueux, de couleur brune rougeâtre, d'aspect trouble et d'une odeur spécifique d'huile d'olive. Elles sont caractérisées par un pH acide de 4-5 et d'une conductivité électrique élevée due aux ions potassium (4g/L), chlorure calcium et magnésium. La couleur noire est due à la présence de polyphénols (Rodis, 2002).



# **Chapitre II**

## **Les margines**

## 1. Généralités sur les margines

### 1.1. Définition

La margine ou l'eau de végétation est l'effluent issu de l'extraction de l'huile d'olive en quantités variables, allant de 400 à 500 L/tonne d'olives pour les unités traditionnelles. C'est un liquide d'aspect trouble et de coloration brun-rougeâtre à noire. Sa couleur noire est due à la présence des polyphénols. Son odeur, à l'état frais, rappelle celle de l'huile d'olive mais elle peut devenir gênante lors des phénomènes de rancissement ou de fermentation anaérobie. La qualité et la quantité de la margine dépend de l'opération d'extraction d'huile d'olive, des conditions climatiques et de la variété de l'olivier (Yahai, 2021). Elles sont caractérisées par un pH acide variant de 4 à 5, une conductivité élevée, et approximativement 90 % d'eau, gorgé de matière minérales et matière organique et en particuliers les polyphénols qui rendent ces effluents très toxiques et difficilement dégradables. C'est pour ça que les margines posent de grands problèmes pour leur élimination (Chkhi et Nazef, 2018).

### 1.2. Caractéristiques des margines

#### 1.2.1. Caractéristiques physico-chimiques

Les principales caractéristiques des margines sont comme suit :

➤ **L'acidité**

Les margines présentent un caractère très acide, leur pH varie entre 4 et 5,5. Cette faible valeur de pH est due à leur richesse en acides organiques (Zaier et al., 2017).

➤ **Conductivité électrique**

Les margines ont une forte charge saline due au chlorure de sodium, lié au salage pratiqué pour conserver les olives avant broyage, leur conductivité varie de 5 à 40 ms/cm (Zaier et al., 2017).

➤ **Les matières en suspension**

Les margines sont très chargées en MES qui sont dûes aux matières organiques et minérales lors du lavage et broyage des olives (Chikhi et Nazef, 2018).

➤ **Les matières minérales**

Elles représentent les éléments minéraux que contiennent les margines (Chikhi et Nazef, 2018).

➤ **Les matières volatiles**

La margine est riche en substances volatiles. Cela est dû à son contenu élevé en matière organique.

### ➤ Les composés phénoliques

Les margines contiennent divers composés phénoliques avec des structures différentes. Issus de l'hydrolyse enzymatique des glucides, des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction. Sa teneur varie entre 3 et 5 g/L et elle peut même dépasser 9 g/L (**Esmail et al., 2014**).

### ➤ Le taux de graisse

La concentration d'huile résiduelle contenue dans les margines est très variable cela dépend de la méthode d'extraction utilisée. Varie entre 0.02 et 1% (v/v). L'acide oléique est l'acide gras le plus abondant à 65% par rapport à la totalité d'huile (**Chikhi et Nazef, 2018**).

## 1.2.2. Caractéristiques biologiques

Il existe plusieurs paramètres biologiques intervenant dans la caractérisation des margines telle que la demande chimique en oxygène et la demande biologique en oxygène (**Borja, 1992**) selon le (Tab 04).

**Tableau 04:** Caractéristiques biologique des margines (**Gueham et Harikeche, 2019**)

Paramètres	Valeurs
DCO	100 à 220 Kg /m <sup>3</sup>
DBO <sub>5</sub>	100 kg /m <sup>3</sup>
Polyphénols	1.2 g/l

## 1.2.3. Caractéristiques microbiologiques

Très peu de micro-organismes peuvent se développer dans les margines. Ceux-ci sont principalement de la levure et des champignons. Des analyses microbiologiques ont montré que les levures et les champignons sont capables de s'y développer mieux que les bactéries. Ces micro-organismes tolèrent la salinité élevée et le pH acide de ces eaux usées, et résistent plus que les bactéries aux substances phénoliques. Les études microbiologiques ont été réalisées sur plusieurs échantillons de margines ont confirmé l'absence complète de micro-organismes pathogènes. Donc, ces effluents ne posent aucun problème hygiénico-sanitaire (**Aouadi, 2012; Touati et Berdoud, 2021**). Ces effluents agissent sur les bactéries en dénaturant les protéines cellulaires et en altérant les membranes, Ils peuvent inhiber

également l'activité des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote dans le tube digestif des ruminants en inhibant leur activité enzymatique (**Bendjedou et Selaimia, 2020**).

- Parmi les levures, on trouve : *Trichosporium cutaneum*, *Cryptococcus albidus* ainsi que les genres *Rhodotorula sp*, *Candida sp* et *Saccharomyces sp* (**Aouadi , 2012**).

- parmi La flore fongique (Champignons) se compose essentiellement:

*Aspergillus flavius*, *Aspergillus candidus*, *Penicillium negricans* , *Alternaria sp* possèdent la capacité de dégrader les phénols à faible concentration (**Aissam, 2003**).

- La flore bactérienne regroupe les bactéries qui résistent aux polyphénols particulièrement les bactéries à Gram-négatif. *Pseudomonas sp* , *Bacillus megaterium* (**Aissam, 2003**).

### 1.3.Composition des margines

La composition chimique des margines est très variable, elle dépend de nombreux facteurs, notamment le type d'extraction de l'huile (presse ou centrifugation), mais aussi des conditions climatiques, la situation géographique, la variété d'olives, le stade de maturation des olives, le temps, les technologies et le lieu de stockage des olives avant leur broyage (**Yakhlef,2019**). Le Tableau 05 montre les valeurs de la composition générale des margines

**Tableau 05** : Composition chimique générale des margines (**Bendjedou et Selaimia, 2020**)

Composant	Valeur (%)
Eau	83 – 88
Matière organique	10.5 – 15
Matières minérales	1.5 – 2
Matières azotées totales	1.25 – 2.4
Matières grasses	0.03 – 1
Polyphénols	1 – 1.5

#### 1.3.1.Fraction organique

Les margines comportent deux fractions organiques. Fraction in soluble constituée essentiellement de pulpes d'olive représentée par les matières en suspension et colloïdales, et une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient les sucres, les lipides, les acides organiques et les composés phénoliques (**Aouadi, 2021**).

➤ **Les glucides**

Les composés ligno-cellulosiques et les pectines jouent un rôle important dans la texture des olives; ils représentent respectivement environ 0,6 à 3 % du poids de la pulpe fraîche. Outre, la cellulose et la pectine issues de la pulpe d'olives, plusieurs autres sucres simples sont présents : saccharose, arabinose, mannose, raffinose, glucose et xylose (**Aouadi, 2021**).

➤ **Les vitamines**

Plusieurs vitamines ont été identifiées. Les plus fréquentes sont les vitamines du groupe D, les vitamines du groupe B et en particulier la vitamine PP avec une concentration moyenne de 124 mg/kg de margines (**Leulmi, 2011**).

➤ **Les acides organiques**

Les principaux acides organiques rencontrés dans les margines sont les acides fumarique, glycérique, lactique, malique et malonique (**Aouadi, 2021**). Leur teneur varie entre 0,5 et 1,5% (**Chikhi et Nazef, 2018**).

➤ **L'huile**

La concentration d'huile contenue dans les margines varie de 0.03 à 1% et dépend du procédé d'extraction utilisé. L'acide oléique est l'acide gras le plus abondant avec une valeur de 65% des acides gras totaux de l'huile (**Chikhi et Nazef, 2018**).

➤ **Composés azotés**

La fraction azotée est représentée principalement par les protéines avec une concentration variant entre 1,2 et 2,4% (p/v). Presque tous les acides aminés sont présents dans les margines, Les plus abondants sont l'acide aspartique, l'acide glutamique, la proline et la glycine (**Aissam, 2003**).

➤ **Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux (Tab06). La structure de ces composés varie, des molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules hautement polymérisées (tanins condensés) (**Brik et al., 2022**) . Ils sont caractéristiques des huiles d'olives vierges et leur confèrent des propriétés particulières (stabilité oxydative, saveur...). Ils sont issus de l'hydrolyse enzymatique des

glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction (Chikhi et Nazef, 2018).

**Tableau 06:** Les principaux composés phénoliques des margines (Leulmi, 2011).

Les différents types des polyphénols			
Monomères aromatiques		Composés phénoliques a haut poids moléculaires principalement les tanins	
Acides phénoliques	Alcools phénoliques	Tanins hydrolysables	Tanins condensés (flavotanin)
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acide caféique</li> <li>- Acide p-coumarique</li> <li>- Acide protocatéchuique</li> <li>- Acide vanillique</li> <li>- Acide 4-hydroxyphénylacétique</li> <li>- Acide syringique</li> <li>- Acide p-hydroxybenzoïque</li> <li>- Acide vétratrique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>4-Hydroxyphényléthanol</li> <li>- 3,4-dihydroxyphényléthanol</li> <li>- Syringaldéhyde</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Esters d'acides phénoliques</li> <li>- Esters d'acides phénoliques et sucres</li> <li>- Glucosides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Le catécholmélanine</li> </ul>

### 1.3.2.Fraction minérale

La fraction minérale (Tab07), est comprise entre 0,61 et 39 g/l et constituée principalement de potassium, ce qui a conduit plusieurs chercheurs à tester leur pouvoir fertilisant. Les métaux lourds, tels que l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le sélénium (Se), le cuivre (Cu), le chrome (Cr), le mercure (Hg) et le nickel (Ni) sont présents, pour la plupart à l'état de traces (Touati et Berdoud, 2021).

Tableau 07: Composition minérale des margines (Aissam, 2003).

Elément	Concentration (mg/l)
Orthophosphates (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	800,6
Chlorures (Cl <sup>-</sup> )	270,2
Sulfate (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	16,68
Sodium (Na <sup>+</sup> )	5370,9
Potassium (K <sup>+</sup> )	15295,5
Calcium (Ca <sup>2+</sup> )	1167,6
Magnésium (Mg <sup>2+</sup> )	410,3
Fer (Fe)	103,4
Aluminium (Al)	8,34
Chrome (Cr <sup>-</sup> )	0,66
Nickel (N)	3,36
Cobalt (Co)	1,33
Manganèse (Mn)	1,66
Cadmium (Cd)	0,83
Oxyde de silicium(SiO <sub>2</sub> )	41,7
Zinc (Zn)	10,0

#### 1.4.Effets des margines

##### 1.4.1.Effet des margines sur l'environnement

Le rejet des margines est un problème majeur dans les pays méditerranéens. Ces eaux fortement polluées causent des graves dommages à l'environnement. L'absence de méthodes de traitements adaptées pousse les propriétaires de moulins à huile à rejeter ces eaux dans la nature sans aucun contrôle ou à surcharger le réseau d'égouts avec des substances toxiques. La concentration et la charge en matières organiques ne peut qu'entraîner un dysfonctionnement des stations d'épuration (Aouadi, 2012). Le pouvoir polluant des margines est dû à des causes diverse, parmi lesquelles nous soulignons les principales :

-Le pH, qui est la première cause directe de la mort des poissons lorsque la margine est rejetée dans les rivières.

-La teneur en matière grasse, qui provoque la formation d'une couche à la surface de l'eau empêchant sa correcte oxygénation et le passage de la lumière solaire, et faisant obstacle au développement normal de la faune et la flore au sein des fleuves.

-Les substances phénoliques sont partiellement toxiques et inhibent la formation de Micro-organismes en présence et en l'absence d'oxygène (Khermane et Ahmiem, 2020).

La matière organique présente dans la margine provoque des effets phytotoxique sur les oliviers. Il provoque une toxicité pour certains micro-organismes. Les acides, la matière

minérale et les substances organiques aboutissent à une destruction de la capacité d'échange cationique du sol, par la suite, une réduction de sa fertilité. La microflore bactérienne du sol peut être détruite suite à l'acidification du milieu. D'autre part le caractère visqueux de la margine entraîne la formation d'un dépôt huileux qui provoque l'imperméabilisation du sol dans un premier lieu et son asphyxie par la suite (**Yahai, 2021**).

#### 1.4.2.Effet des margines sur les plantes

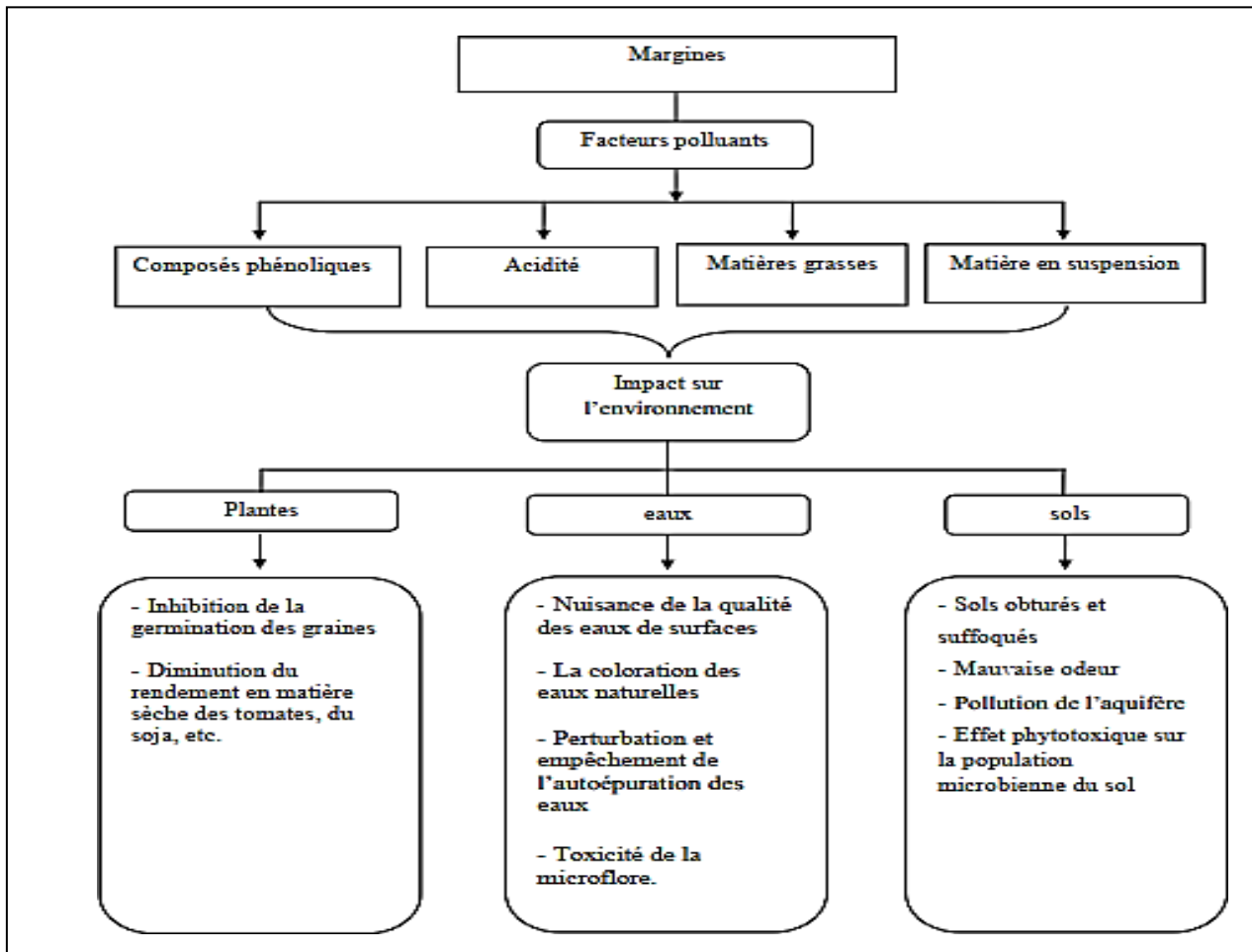
Les composés phénoliques sont les principales cause de la phytotoxicité des margines. L'application directe des margines bruts réduite les rendements en matière sèche des tomates et du soja et inhibe la germination de certaines graines comme le pin, la tomate et l'atriplex. Les résidus de pesticides présents dans les effluents d'huileries d'olive peuvent également être nocifs pour les plantes. Par conséquent, utilisez l'agriculture par application directe des déchets des moulins à huile d'olive à des implications désastreuses pour l'eau, le sol, les micro-organismes et les plantes. D'où la nécessité de traiter ces effluents afin de pallier aux problèmes environnementaux qu'ils engendrent. Dans ce sens, plusieurs travaux ont été effectués pour remédier à ce problème (**Aouadi, 2012**).

#### 1.4.3.Effet des margines sur l'eau

Les margines sont peu dégradables à cause des substances phytotoxiques et antimicrobiennes (phénols, acides gras, etc.) qu'ils contiennent (**Aouadi, 2012**). Souvent rejetés dans des récepteurs naturels sans aucun traitement préalable, les margines nuisent fortement à la qualité des eaux de surfaces. La coloration des eaux naturelles due aux tannins est l'un des effets les plus visibles de la pollution. Les margines déversées dans l'eau réduisent sa disponibilité en oxygène. Ce phénomène est accentué par la forte concentration des sucres réducteurs, qui peuvent stimuler la respiration microbienne, ce qui induit un déséquilibre de la totalité de l'écosystème (**Brik et al., 2022**). La forte teneur en phosphore contenus dans ces margines génère le processus d'eutrophisation, La teneur en matière grasse provoque la formation d'une couche imperméable à la surface de l'eau empêchant sa correcte oxygénation et le passage de la lumière (**Chikhi et Nazef, 2018**). L'épandage des effluents d'huileries d'olive, très riches en éléments azotés, sur les sols peut également poser des problèmes environnementaux. En effet, les nitrates peuvent polluer les nappes situées dans ou à proximité de la zone d'épandage et souiller la qualité de l'eau potable (**Benyahia et Zein, 2003**).

#### 1.4.4.Effet des margines sur l'air

La margine est généralement rejetée dans les eaux naturelles ou sur le sol et/ou stockée dans des bassins d'évaporation mal aménagés. Cet effluent subit une fermentation naturelle et libère des gaz irritants, tels que le méthane, le dioxyde de soufre et l'hydrogène sulfuré (Fig05). Ce fait entraîne une pollution olfactive considérable notamment pendant la saison de production d'huile d'olive (Aouadi, 2021).



**Figure 05** : Conséquences environnementales des rejets de margines dans le milieu naturel. (Leulmi, 2011).

## 2. Procédés du traitement des margines

Il y a assez de recherche fondamentale et appliquée pour réduire le degré de pollution de margine. On peut classer les techniques de traitement en :

### ➤ Traitement chimique

- La coagulation-floculation
- Electrocoagulation

➤ **Traitement physique**

- L'adsorption
- Procédé des membranes (ultrafiltration, osmose inverse)

➤ **Traitement biologique**

- La transformation aérobie
- La digestion anaérobie

### **2.1. Traitement chimique**

Le traitement chimique des margines effectué pour réduire l'intensité de leur coloration. Peut être utilisé comme prétraitement ou traitement de finition après purification biologique. Ces techniques sont basées généralement sur les phénomènes de coagulation-floculation ou d'adsorption.

➤ **Coagulation-floculation**

Elle consiste à traiter les margines avec des produits tensioactifs ou certains coagulants. Ce type de traitement, reste le plus complet et certainement le moins coûteux par rapport à la masse de matières éliminées. Ce processus peut être utilisé après traitement biologique pour éliminer les matières en suspension et les polluants résiduels (**Benamar, 2020**). L'inconvénient majeur de ce traitement réside dans le fait qu'on a un simple transfert de la pollution de l'état soluble à l'état boueux. En plus, la plupart des composés organiques contenus dans les margines sont difficiles à précipiter (**Aissam, 2003**).

➤ **Electrocoagulation**

L'électrocoagulation est une technique dérivée de la coagulation-floculation. Son avantage est qu'elle permet de générer, in situ, des ions pouvant assurer la déstabilisation électrostatique à pH acide ou neutre. Elle a également l'avantage d'éliminer certaines pollutions (turbidité, matières colloïdales, couleur, métaux lourds), par adsorption sur les floes d'hydroxyde métallique qui se forment lorsque le pH est basique. Les principaux avantages du procédé d'électrocoagulation sont, la compacité des installations, le volume des boues plus faible et l'élimination des particules colloïdales de petites tailles (**Benamar, 2020**).

### **2.2. Traitement physique**

Les procédés de traitement physique des margines sont des opérations de séparation de matières minérales et organiques solubles et insolubles de leur phase aqueuse.

### ➤ L'adsorption

L'élimination des matières en suspension (MES) est très importante (90%). Par ailleurs, le taux de réduction de la DCO totale et de la DCO dissoute était respectivement de 90 et 92 %. En outre, l'élimination de l'azote est très importante, le développement du biofilm a permis une élimination remarquable des TKN (Kjeldahl-nitrogen) (91%), NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (97 %), NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (99 %) et PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (99%), ont révélé que la filtration de la margine sur un filtre à base d'argile et la sciure du bois peut être un traitement efficace et moins onéreux. Les taux d'abatteurs de la salinité, la DCO, les composés phénoliques, la DBO<sub>5</sub> et la turbidité étaient de : 14 %, 42 %, 57 %, 66 % et 98 % respectivement (**Ouabou et al., 2014 ; Yahai, 2021**).

### ➤ Procédés des membranes

Les procédés à membranes tel que l'ultra filtration et l'osmose inverse, est couramment utilisée pour traiter certains courants liquides résiduaux, ceci permettant d'éliminer les polluants de l'eau en générant un courant liquide et un courant concentré (**Brik et al., 2022**).

### ➤ Ultrafiltration

Ce procédé basé sur la filtration à travers une membrane permettant la rétention de macromolécules de poids moléculaire supérieure à 500. La séparation se fait sous l'effet d'un gradient de pression de 3 à 10 bar. C'est une technique qui est actuellement utilisée à l'échelle industrielle pour le traitement des margines. Les tests d'ultrafiltration ont donné un liquide limpide (**Benamar, 2020**).

### ➤ Osmose inverse

L'osmose inverse est le processus de séparation d'une solution en deux phases : l'une concentrée et l'autre diluée sous une pression allant jusqu'à 80 bar. Des essais de traitement des margines ont été réalisés par cette technique limpide, les margines obtenues étaient limpides et incolores (**Benamar, 2020**).

## 2.3. Traitement biologique

Les techniques de traitement biologique des margines basées sur les processus aérobie et anaérobie à l'aide des microorganismes (bactéries, champignons, levures) pour oxyder et dégrader la matière organique polluante en métabolites simples (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> et les composés aliphatiques). Cependant, l'effet antioxydant des polyphénols reste le facteur limitant pour ces procédés (**Brik et al., 2022**).

### ➤ La transformation aérobie

Les effluents d'huileries d'olive, se caractérisent par une très forte charge en matière organique, ils ne peuvent pas être traités directement par voie aérobie. De ce fait plusieurs

auteurs ont recommandé de les diluer avant leur traitement, soit avec l'eau, soit avec des eaux usées domestiques. Plusieurs chercheurs, ont recommandé de diluer les effluents d'huileries d'olive 70 fois avec de l'eau claire non polluée lors de leur épuration avec les boues activées (**Benamar, 2020**). Plusieurs études ont été réalisées sur le traitement aérobie des margines, par des cultures pures de micro-organismes tels que *Aspergillus niger*, *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii*, *Aspergillus terreus*, *Phanerochaete chrysosporium* et *Pleurotus ostreatus*, Les tests de toxicité réalisés sur les microtox et sur la germination de quelques plante sont montré une diminution de la toxicité des margines traitées par ces micro-organismes (**Aissam, 2003**). D'autres travaux ont prouvé l'efficacité du traitement aérobie par des cultures mixtes. Une dégradation considérable de deux composés phénoliques les plus représentatifs dans les margines (tyrosol et l'acide caféique) a été obtenue en utilisant les micro-organismes isolés des margines (**Aissam, 2003**).

#### ➤ La digestion anaérobie

Le traitement anaérobie peut être aussi utilisé pour le traitement des margines, tel qu'il demande peu d'énergie et produit peu de rejets que le traitement biologique aérobie. Le compost produit est utilisable pour l'agriculture, ce qui diminue le cout supplémentaire de traitement des boues. Les métabolites produits sont : le gaz carbonique, le méthane et de l'eau. Elle permet une réduction de la DCO de l'ordre de 40% A 85% (**Bendjedou et Selaimia, 2020**).

### 3. Procédés de valorisation des margines

Les margines sont riches en matière organique, en sels minéraux notamment en potassium, en magnésium et en phosphore. De nombreux travaux ont été réalisés pour la valorisation et l'utilisation de ces effluents à l'agriculture, la biotechnologie, la pharmacie et l'industrie alimentaire (**Aouadi, 2021**).

Il y'a plusieurs méthodes différentes de valorisation des margines: Production de biogaz, compostage des margines, production des protéines d'organismes unicellulaires (POU), production d'enzymes, épandage, utilisation en alimentation animale.

#### 3.1.Production de biogaz

L'application du procédé de la digestion anaérobie aux margines permet de transformer environ 80% des matières organiques en biogaz (65 à 70% de méthane).Ainsi, la fermentation

méthanique permet la dépollution des margines tout en produisant de l'énergie. Une grande variété d'applications de processus pour la bio méthanisation des eaux usées, des boues et des déchets solides a été développée. Ils varient du simple stockage en plein air au traitement dans un réacteur à réservoir complètement agité, en passant par la co-digestion avec d'autres matrices organiques, jusqu'aux traitements dans des digesteurs spéciaux, en tant que réacteurs UASB (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket) et avec différentes conditions de processus (temps de rétention, taux de chargement, températures, etc.) pour maximiser la production de biogaz( **Aouadi, 2021**).

### **3.2.Compostage des margines**

En agriculture, le compostage est l'une des principales technologies de recyclage des margines pour permettre la récupération des nutriments dans le sol (**Aouadi, 2021**).Le compostage des margines a été réalisé traditionnellement en Espagne dans des bassins d'évaporation. La technique consiste à ajouter aux margines toutes sortes de résidus secs, agricoles ou forestiers, et le mélange subit une fermentation aérobie-anaérobie. Ensuite, un séchage partiel et un conditionnement sous forme de pellette sont effectués. Le produit ainsi obtenu est utilisé comme engrais (**Aissam, 2003**). L'avantage du compost formé à partir des margines est l'absence des micro-organismes pathogènes à fortes concentrations de phosphore et en potassium contrairement aux déchets solides urbains (**Aouadi, 2012**).

### **3.3.Production des protéines d'organismes unicellulaires (POU)**

L'obtention des protéines unicellulaire constitue une des solutions optimales pour la valorisation des margines. La plupart des procédés appliqués sont basés sur l'utilisation des levures capables de transformer les substances organiques en biomasse à haut contenu en protéines et vitamines de grande valeur pour l'alimentation animale et même humaine (**Aouadi, 2021**), dont les principaux travaux de production de levures-aliments sont reportés dans le tableau ci-dessous ( **Aissam, 2003**) :

**Tableau 08** : Utilisation des levures pour la production de POU à partir des margines

Souche	Biomasse (g /L)
<i>Torulopsisutilis</i>	13
<i>Saccharomyces lipolitica</i>	18-26
<i>Saccharomyces et Candida</i>	20-26
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30

### 3.4. Production d'enzymes

Les margines peuvent être utilisés comme milieu pour la production d'enzymes en utilisant des microorganismes (Aouadi ,2021), La culture de *Cryptococcus albidus* sur les margines pendant 48 heures élimine un taux important de la matière organique tout en produisant de la biomasse et des enzymes (13 UV.ml<sup>-1</sup>). Cette production peut atteindre 29,5 UV.ml<sup>-1</sup> si on élimine les polyphénols par floculation-clarification, L'addition de 2 litres d'une solution de ces enzymes concentrées par ultrafiltration (90 UV/ml) pendant un cycle de broyage augmente le rendement de l'huile de 84,3 à 90,7% (Aissam, 2003), les principales enzymes produites sont : Les pectinases employés pour l'élaboration des jus de fruits ,les laccases : après purification, cette enzyme est utilisée dans le traitement des eaux usées grâce à son haut pouvoir de dégradation (Chikhi et Nazef, 2018) .

### 3.5. Epannage

L'épandage agricole par les margines à faible concentration améliore la fertilité du sol : Leur forte charge organique améliore la structuration du sol en favorisant l'activité microbienne leurs richesses en éléments minéraux induit à une augmentation de la conductivité électrique des sols en fonction de la concentration en marge (Chikhi et Nazef, 2018).

### 3.6. Utilisation en alimentation animale

Les margines ont été utilisés directement comme boisson pour le bétail. Elles ont été distribuées sous forme d'eau de boisson à des volailles (Khermane et Ahmiem, 2020). Ces expériences ont montré un abaissement du taux de mortalité de ces animaux et une diminution de leur coût par kilo de viande produite (Aouadi, 2021), Cependant, cette pratique reste à risque, en raison des taux élevés en sodium et en composés phénoliques pouvant engendrer un effet antitryptique (Aissam, 2003).



# **Chapitre III**

## **Les composés phénoliques**

## 1. Généralités

### 1.1. Définition

Le métabolisme des plantes est constitué de métabolites primaires (glucides, acides aminés, lipides et acides nucléiques) et de métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont à la base de la machinerie moléculaire de toutes les cellules, tandis que les métabolites secondaires sont des molécules qui ne se trouvent pas dans les tissus spécifiques, ou à des stades du développement spécifique. De plus, les métabolites secondaires appartiennent à différents groupes chimiques dont les trois grandes classes sont les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes (**Lahmadi, 2021**), ces molécules sont pourvues de différents rôles dans la plante, notant les agressions climatiques; stress biotique (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Ils contribuent aussi à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (**Visioli et al., 2000**).

Le terme «polyphénols» est utilisé fréquemment pour désigner l'ensemble des composés phénoliques (CP) des végétaux (**Yakhlef, 2019**). En fait, le terme « polyphénols » devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols; ce qui exclurait alors les mono phénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale «composés phénoliques» concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (**Zerrouk, 2020**).

Les CP sont des substances naturelles caractéristiques du métabolisme secondaire des plantes. Ils n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction) mais participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales (**Merghem, 2009**). C'est pourquoi 80% des composés phénoliques sont essentiellement localisés dans les tissus épidermiques de la plante. Ce sont des constituants végétaux, généralement des pigments, qui sont responsables de la couleur des feuilles en automne et des couleurs des fleurs et des fruits (jaune, orange, rouge, etc.). Ils sont associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison, formation de tubercules (**Aouadi, 2012**). Il s'agit des dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés (**Ghanimi, 2015**), la figure 06 montre la structure d'unité de base des polyphénols :

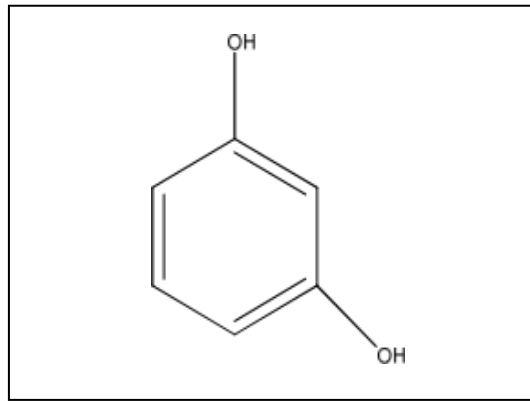


Figure 06 : Structure d'unité de base des polyphénols (Ghanimi, 2015)

### 1.2. Distribution

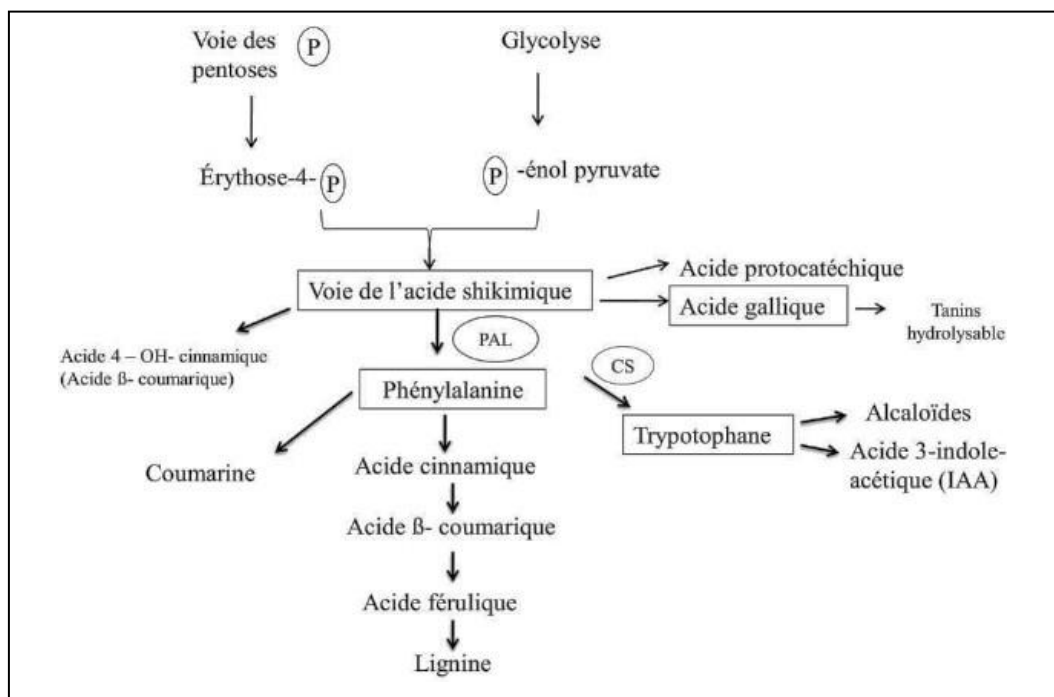
Les CP sont largement rencontrés dans le règne végétal. Chez l'homme, l'alimentation est la principale source des composés phénoliques ils représentent des composants importants des propriétés sensorielles des plantes (couleur, propriétés organoleptiques et nutritionnelles) (Macheix *et al.*, 2005). Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols (Middleton *et al.*, 2000).

### 1.3. Biosynthèse

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

**La voie de Shikimate** : conduit à la formation des monosaccharides aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarine (Yakhlef, 2019).selon la figure 07

**La voie d'acétate** : qui conduit à des poly B-coesters (poly acétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones (Naczk et Shahidi, 2004).



**Figure 07** : La voie du Shikimate est au centre de synthèse de divers métabolites primaires et secondaires. PAL=phénylalanine ammonia lyase. CS=chalcone synthase (**Lahmadi, 2021**)

#### 1.4. Structure

L'élément fondamental qui caractérise les CP est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement attaché au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou fonctionnellement impliqué. Les CP se trouvent généralement liés aux sucres et aux acides organiques (**Crozier et al., 2008**). Les principaux composés phénoliques n'existent pas à l'état libre, mais sous forme d'esters ou d'hétérosides. Les CP vont des molécules simples telles que les acides phénoliques aux composés hautement polymérisés de plus de 30 000 daltons tels que les tanins (**Merghem, 2009**).

#### 1.5. Classification

La complexité des différents composés phénoliques présentés dans les plantes (complexité du squelette de base, degré de modifications de squelette et les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules comme les glucides, lipides, protéines et autres métabolites secondaires) implique de regrouper ces composés en de nombreuses classes. Les alcools et les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les lignanes sont considérés comme les principales classes des composés phénoliques (**Muanda, 2010**).

### 1.5.1. Alcools phénoliques

Tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol, etc. sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone, que l'on retrouve dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, ont été montré pour sa toxicité vis-à-vis des microorganismes (Cowan, 1999).

### 1.5.2. Acides phénoliques

Ils comprennent les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1), suivis des dérivés d'esters hydroxycinnamiques (C6-C3) (Barboni, 2006).

#### ➤ Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques ont une structure C6-C1, constituée d'un cycle benzénique relié par une chaîne aliphatique monocarbonée. On retrouve l'acide vanillique, l'acide hoya, l'acide gentisique et l'acide gallique (Fig 08). Le composant principal est l'acide gallique et sa teneur est de 100 à 230 mg/kg (Chira *et al.*, 2008).

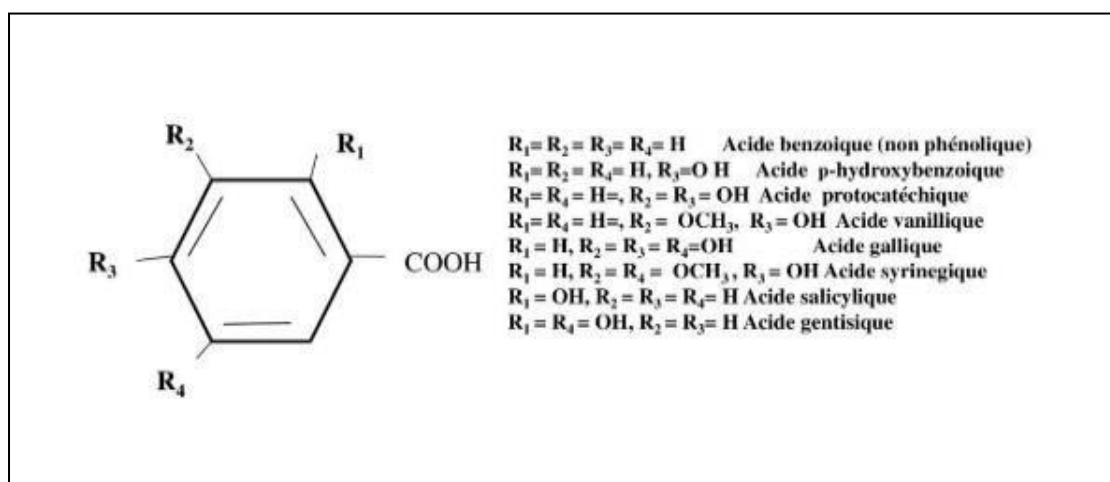


Figure 08 : Acides hydroxybenzoïques (Lahmadi, 2021)

#### ➤ Acides hydroxycinnamique

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe dont la structure est très importante. Il a un cycle aromatique attaché à trois carbones C6-C3 (Fig09), par exemple: l'acide caféique, l'acide férulique, l'acidep-coumarique (ses isomères o- et m-coumariques) et l'acide sinapique. Ces acides existent rarement à l'état libre, existent généralement sous forme d'esters ou de glycosides (Balasundram *et al.*, 2006).

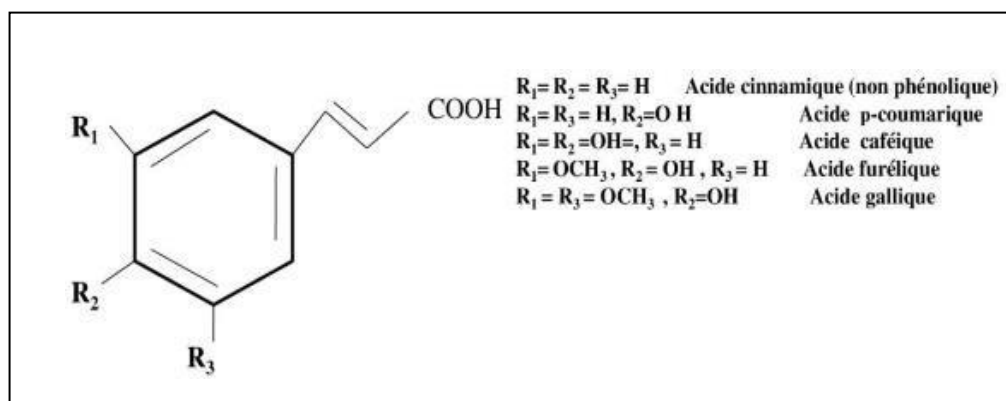


Figure 09 : Acides hydroxycinnamiques (phénylpropanoïdes) (Lahmadi, 2021)

### 1.5.3. Coumarines

Les coumarines sont dérivées de l'acide hydroxycinnamique par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines les plus importantes (Umbelliférone, esculetine et scopolétine) (Fig10), se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999).

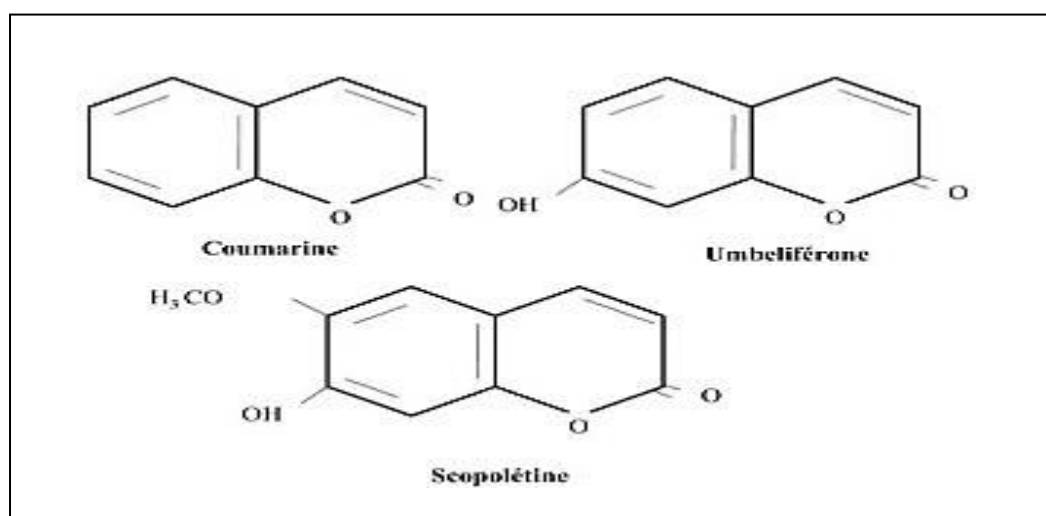


Figure 10: Les principales coumarines (Lahmadi, 2021)

### 1.5.4. Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques (C6-C4). Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa- 2,5 diénique (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto

cyclohexa-3,5- diénique (ortho-quinones).Elles sont ubiquitaire dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont très réactifs (Yakhlef, 2019).

### 1.5.5.Xanthones

Un composant phénolique possédant une structure hétérocyclique (C6-C1-C6) très similaire aux flavonoïdes. Les xanthones se trouvent principalement dans les plantes supérieure (Ferreira, 2017).

### 1.5.6.Stilbènes

Ces dérivés hydroxylés sont des composés formés de deux noyaux aromatiques attachés par un groupe éthylénique (C6-C2-C6). Le resvératrol (Fig11), un des stilbènes les plus connus, se trouve dans le raisin ainsi que le vin (Ghanimi, 2015).

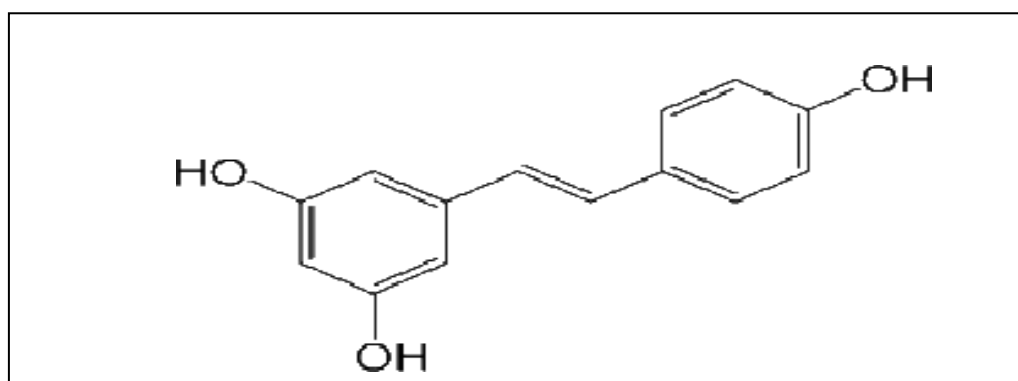


Figure 11 : Structure du resvératrol (Ghanimi, 2015)

### 1.5.7.Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils participent à l'apparition de divers pigments jaunes, orangés et rouges de différents organes de végétaux (Yakhlef, 2019). Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (Aissani,2022).Ils jouent divers rôles dans les plantes entant que métabolites secondaires, notamment en étant impliqués dans les processus de protection contre les UV, la pigmentation ,la stimulation des nodules fixateurs d'azote et la résistance aux maladies (Chira *et al.*, 2008).

### 1.5.8.Lignanes

Les lignanes représentent une classe importante de substances naturelles du règne végétale. Ce sont des dimères ramifiés de phénylpropènes. Sont formés par dimérisation de trois

alcools: alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique. Le sécoisolaricirésinol et le matairésinol sont les principaux lignanes d'origine végétale (**Ghanimi, 2015**).

#### 1.5.9.Lignines

Un composant phénolique à structure complexe constitué de polymères monolignols (C6C3) n. La lignine forme le troisième groupe de composés le plus abondant après la cellulose et l'hémicellulose dans les écosystèmes végétaux et terrestres (**Ferreira, 2017**).

#### 1.5.10.Tanins

Ces composantes contiennent des dérivés phénoliques qui se lient aux protéines. Il existe deux catégories de tanins: les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Lahmadi, 2021**).

##### ➤ Les tanins hydrolysables

Ce sont des esters de glucose et d'acide gallique. Ils se distinguent d'abord par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique). Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide (l'acide élлагique) (**Yakhlef, 2019**).

##### ➤ Les tanins condensés

Ils sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+) catéchine ou de ses nombreux isomères. Les liaisons entre les flavonoïdes ne sont pas hydrolysées, mais sont oxydées par des acides forts libérant des anthocyanidines (**Lahmadi, 2021**).

#### 1.6.Procédés d'extraction des composés phénoliques

L'extraction des polyphénols est l'opération d'isolement de constituants végétaux spécifique sa fin d'isoler et d'analyser ce produit. L'organisme peut être solide ou liquide et le produit d'extraction est un liquide (solvant), Il existe plusieurs techniques d'extraction des composés phénoliques par solvant telles que la décoction, la percolation, la macération, extraction par soxhlet, extraction par ultrasons, extraction assistée par ultrason, extraction sous haute pression hydrostatique, extraction par fluide supercritique ou par eau sous critique, extraction assistée par micro-ondes (**Lahmadi, 2021**), L'efficacité de l'extraction au solvant est influencée par le type du solvant, le pH du milieu d'extraction qui détermine le degré de solubilité des substances solubles, le nombre d'extraction et le volume du solvant utilisé ainsi que la taille et la forme des particules, la température (25-55°C) (**Brik et al., 2021**). Les solvants les plus couramment utilisés pour l'extraction de CP des margines sont, l'éthanol, l'acétone, l'eau, l'acétate d'éthyle, le méthanol, le propanol, le diméthyl formamide et leurs combinaisons. Les méthodes utilisées pour les produits et les sous-produits de

l'olivier impliquent une extraction solide-liquide, pour les grignons d'olives, ou liquide-liquide, pour huile d'olive et les margines (Yakhlef, 2019).

### 1.7. Les rôles des composés phénoliques

Comme toutes les composées secondaires, les phénols sont impliqués étroitement dans les rôles défensifs de la plante :

-Dissuader les prédateurs : par les odeurs repoussant les herbivores, les plantes toxiques (éduquent) les herbivores à les éviter pour ne pas être broutées.

-Attirer les pollinisateurs : Non seulement la couleur, mais aussi l'odeur attirent les insectes.

Ces composés jouent aussi un rôle important dans la qualité alimentaire des fruits et déterminent aussi leurs saveurs (Aouadi, 2012).

## 2. Les composés phénoliques des margines

Les composés phénoliques des margines sont très divers et leur structure est très diverse. Ils proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction (Esmail *et al.*, 2015).

Cependant, la solubilité dans l'huile est beaucoup plus faible que dans l'eau des plantes, ce qui explique la concentration plus élevée dans les margine (Aouadi, 2012).

### 2.1. Monomères aromatiques

Plusieurs monomères aromatiques ont été identifiés dans les margines par des techniques de chromatographie (HPLC ou CPG).

Ils sont principalement représentés par des alcools et des acides phénoliques (Bouabida, 2020). Parmi les acides phénoliques identifiés:

-Acide caféique (trans), acide caféique (cis), acide p-coumarique, acide protocatéchuïque, acide vanillique

-Acide 4-hydroxyphénylacétique, acide protocatéchuïque, acide syringique et acide p-hydroxybenzoïque

-Acide p-hydroxyphénylacétique, acide vétratrique, acide vanillique, acide 3,4,5

-Triméthoxybenzoïque, acide syringique et acide caféique

-Les alcools phénoliques ont été aussi cités: Le 4-hydroxyphényl alcool, 3,4-dihydroxyphényl éthanol. Ces alcools sont parfois associés à des glucosides comme le 4-diglycoside B (3,4 dihydroxyphényl) éthanol.

D'autres composés phénoliques ont été identifiés: oleuropéine, L-caféyl- glucose, tirosol, hydroxytirosol, apéginine, lutéoline. L'oleuropéine dont la concentration peut

atteindre jusqu'à 2 % du poids d'olives, est très abondante dans les margines (Esmail *et al.*, 2015).

### 2.2. Les polymères phénoliques

Les polyphénols identifiés dans les margines sont essentiellement les anthocyanes et les tanins et leurs concentrations peuvent atteindre jusqu'à 12g/l. Les tanins sont des polyphénols aux structures complexes et sont généralement classés en tanins hydrolysables et tanins condensés (Aouadi, 2012). Les tannins hydrolysables sont composés de trois groupes (Tab09):

- Esters d'acides phénoliques,
- Esters d'acides phénoliques et sucres,
- Glucosides sont le groupe le plus courant et l'acide gallique est le plus important.

L'action de l'enzyme tannase chez *Aspergillus niger* hydrolyse ce type de tanins en glucose et en acide gallique. Les gallotanins sont les plus représentatifs de ce groupe.

Les tanins condensés, appelés aussi flavotanins. Ils sont formés à des degrés divers par la polymérisation des catéchines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3 000. Le catéchol mélaninique est le flavotanin le plus courante et la plus abondante trouvée dans les margines. Les flavotonines sont souvent associées aux anthocyanes. En présence de milieux alcooliques et d' $\text{HCl}_5\text{N}$ , des pigments rouges anthocyaniques se forment et se dégradent (cyanidine) (Aissam, 2003).

En ce qui concerne la lignine, aucun auteur n'a cité la présence de ce polymère dans les margines, bien que les pulpes d'olives soient très riches en composés lignocellulosiques. Il est actuellement démontré que la lignine est un hétéro polymère .formé par la polymérisation oxydative de trois monomères dérivés de l'alcool hydroxycinnamique: le 4-hydroxycinnamate, le 4-hydroxy - 3 méthoxycinnamate (coniférylate) et le 3,5 - diméthoxy - 4- hydroxycinnamate (sinapylate) (Hamdi, 1991).

**Tableau 09** : Principaux composés phénoliques polymériques retrouvés dans les margines (Bouabida, 2020)

Composés phénoliques à haut poids moléculaires principalement les tanins	
Tanins hydrolysables	Tanins condensés (flavotanin)
Esters d'acides phénoliques	Le catécholmélaninique
Esters d'acides phénoliques et sucres Glucosides	

## 2.3. Propriétés biologiques des polyphénols

### 2.3.1. Propriétés antioxydantes

Les acides phénoliques sont également connus pour leurs effets antioxydants en neutralisant les radicaux libres, limitant ainsi certains dommages oxydatifs qui contribuent à diverses maladies. De plus, de nombreux polyphénols sont connus pour leurs propriétés antifongiques, anti-inflammatoires, antivirales, anticancéreuses et leur faible toxicité (Aissani, 2022). Ils permettent de prévenir et de traiter les maladies cardiovasculaires, le diabète, les cancers, l'inflammation, les maladies neuro dégénératives, et le vieillissement. Et jouent un rôle important dans le renforcement du système immunitaire et la protection de certains tissus et organes contre les dommages oxydatifs : foie, cerveau, globules sanguins, muscles et artères (Brik *et al.*, 2021).

### 2.3.2. Propriétés antimicrobiennes

Les margines contiennent plusieurs composés phénoliques qui ont des propriétés phytotoxiques et antimicrobiennes. L'effet inhibiteur des CP des margines a été montré contre la sporulation des bactéries telluriques ainsi que la croissance des bactéries Gram positives et Gram négatives (Yakhlef, 2019).



## **Chapitre IV**

### **Activité antimicrobienne des margines**

## 1. Evaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ième</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. L'activité antimicrobienne d'une substance peut être mise en évidence, *in vitro*, par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide (Elkalamouni ,2010). Depuis leur découverte au 20<sup>ème</sup>siècle, les antimicrobiens (antibiotiques et médicaments apparentés) ont permis de réduire considérablement la menace de maladies infectieuses. Ils ont également contribué à la grande progression de l'espérance de vie observée dans la dernière partie du 20<sup>èmesiècle</sup>. Cependant, ces progrès ont été remis en question suite à l'émergence d'un phénomène de résistance au sein des populations bactériennes. Ce phénomène naturel consécutif à l'utilisation de ces médicaments est accéléré par une utilisation inappropriée. Les composés phénoliques sont actuellement l'objet de nombreuses études car ils ont reconnus pour leur différentes activités biologiques, et ils sont rapportés pour des propriétés pharmacologiques intéressantes et variées, à savoir leurs propriétés anti-inflammatoires, anti cancéreuse anti athérosclérose anti-agrégation plaquettaire, anti allergique, inhibitrice d'enzymes, antioxydants et anti radicalaires antivirale, antifongique et antibactérienne (Boussaa,2013).

### 1.1.Méthode de diffusion en disque

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencés avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones d'inhibition autour des disques. L'utilisation de la méthode de diffusion en milieu solide (milieu Muller- Hinton) pour l'activité antibactérienne et (milieu Sabouraud) pour l'activité antifongique (Biyitiet *al.*,2004).

### 1.2.Méthode de dilution

Ces méthodes peuvent être appliquées en gélose ou en bouillon, dont le but est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/mL ou mg/litre). Cependant, la CMI ne représente pas toujours une valeur absolue. La « véritable » CMI est un point entre la plus basse concentration qui empêche la croissance de la bactérie et la concentration inférieure immédiate (Elkalamouni, 2010).

Il existe une relation simple entre les diamètres des zones d'inhibition et les CMI mesurées par les techniques de dilution. Cette relation, appelée droite de concordance ou droite de régression dont la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai (Azzi, 2016).

### 1.2.1. En milieu liquide

L'inoculum bactérien est distribué dans des cupules (méthode de micro dilution) ou dans une série de tubes (méthode de macro dilution) contenant l'agent antimicrobien. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'agent antimicrobien où aucune croissance n'est visible (Azzi, 2016).

### 1.2.2. En milieu solide

Des dilutions de l'antibiotique à tester sont incorporées dans un milieu gélosé coulé en boîtes de pétri. La surface de la gélose est ensemencée avec un inoculum des souches dont on veut mesurer la CMI. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par la concentration d'antibiotique présente dans la première boîte dont la culture est stérile pour la souche donnée (Hnich, 2017).

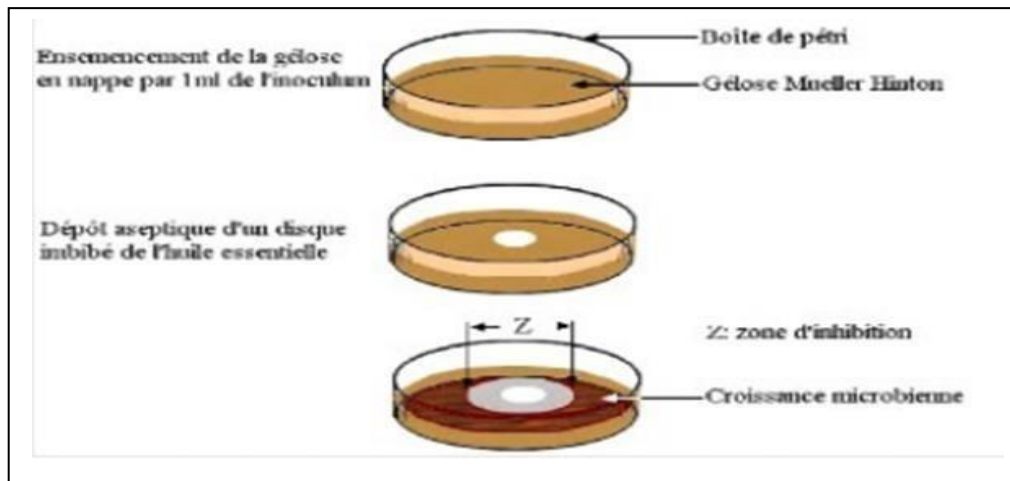
### 1.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (C.M.I.) se définit comme étant la plus faible concentration d'un antibiotique inhibant totalement la prolifération d'un nombre défini de bactérie. Une solution contenant des concentrations connues des farcions à tester est diluée dans un volume connu de gélose de MH en surfusion; après solidification, une suspension bactérienne est déposée à la surface du milieu gélifié (Kamagate *et al.*, 2014).

Pour les champignons filamenteux, les CMI ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu gélosé. Les souches testées ont été cultivées dans l'agar de dextrose de pomme de terre (PDA), dans des boîtes de Pétri, pendant 5-7 jours. Les extraits testés, dissous dans du DMSO à 1%, ont été utilisés à différentes concentrations. Chaque concentration a été mélangée avec le milieu PDA semi-solide et stérile et ensuite versé dans des boîtes de Pétri stériles (15 ml dans chaque plaque). Un disque de 6 mm de diamètre de la gélose recouverte de mycélium a été placé sur la surface de la gélose. Les plaques ont été incubées pendant 5-7 jours à 28 °C. Deux répétitions ont été faites pour chaque test. L'amphotéricine B a été utilisée comme composé de référence (Basli *et al.*, 2012).

### 1.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Des repiquages sur boîtes de Pétri sont coulés de milieu sélectif de chaque bactérie à partir de la boîte positive de la CMI (absence de la croissance) de chaque fraction testée. Les boîtes sont portées à l'incubation pendant 24 heures dont la température dépend de la souche en question. L'absence de croissance après 24 heures d'incubation à 37 °C (Fig12), indique un effet bactéricide (Basli *et al.*, 2012).



**Figure12 :** Halo d'inhibition de croissance bactérienne sur gélose (antibiogramme) (Chabenat, 2017).

## 2. L'activité antimicrobienne des margines

Les margines constituent une source précieuse de bio-phénols naturels, douées d'une activité antibactérienne remarquable, pouvant servir dans l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire ou en agriculture. Dans les margines d'olive, seuls quelques microorganismes sont capables à se développer, précisément ce sont les moisissures et les levures qui se composent essentiellement de, *Aspergillus candidus*, *Penicillium negrican* et *Alternari* ainsi que *Trichosporium cutaneium*, *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorula sp* *Candida sp* et *Saccharomyces sp*. La flore bactérienne est représentée par les bactéries qui résistent aux polyphénols particulièrement les bactéries à gram négatif ; *Pseudomonas sp* et *Bacillus megaterium* (Aissam, 2003). Dans la majorité des cas il y a absence totale des microorganismes pathogènes, et ils ne posent donc aucun risque hygiéno-sanitaire. Le pouvoir antimicrobien des margines est le résultat de l'action exercée par les composés phénoliques et les pigments bruns ou catéchol-mélaninique (Hamdi, 1991), les margines contiennent plusieurs composés phénoliques qui ont des propriétés phytotoxiques et antimicrobiennes. Les composés phénoliques des margines sont très divers et leur structure est très variable. Ils proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe

d'olive au cours du processus d'extraction. Leur solubilisation dans l'huile est cependant bien inférieure à celle dans les eaux de végétation, ce qui explique leur concentration élevée détectée dans les margines, elles agissent sur les bactéries en dénaturant leurs protéines cellulaires et en altérant leurs membranes cytoplasmiques (Ranalli, 1991). L'activité bactéricide des margines est attribuée à leur contenu phénolique, notamment, à la forme dialdéhyde du décarboxyméthyl-élécolate (EDA-like) qui a présenté une CMB de 150 mg/L contre *Staphylococcus aureus*. L'effet inhibiteur des CP des margines a été montré contre la sporulation des bactéries telluriques ainsi que la croissance des bactéries Gram positives et Gram négatives (Roila et al., 2016).

L'analyse immédiate des margines fraîches est donc toujours la situation idéale, en raison des modifications possibles dans leur composition chimique lors de la manipulation de l'échantillon (Bianco et al, 2003). Plusieurs auteurs ont recommandé l'utilisation des margines brutes, filtrées et stérilisés comme agents antibactériens et antifongiques, ces eaux de végétation ont présenté des résultats similaires à leurs extraits phénoliques (Tab10) :

**Tableau 10 :** Activité antimicrobienne des margines brutes et leurs extraits phénoliques

Microorganisme	Espèce	Référence
Algues	<i>Ankistrodesmus braunii</i>	(DellaGreca et al., 2001)
Champignons	<i>Fusarium solani</i>	(Yangui et al., 2008)
	<i>Botrytis cinerea</i>	(Vagelas et al., 2009)
	<i>Aspergillus flavus</i>	(Senani-Oularbi et al., 2018)
Bactéries	<i>Clavibacter michiganensis</i>	(Özdemir, 2009)
	<i>Pseudomonas syringae</i>	(Capasso et al., 1995 ; Özdemir, 2009)
	<i>Corynebacterium michiganense</i>	(Capasso et al., 1995)
	<i>Bacillus subtilis</i>	(Obied et al., 2007b)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	(Roila et al., 2016).
	<i>Proteus sp.</i>	(Obied et al., 2007b
	<i>Enterococcus faecalis</i>	; Tafesh et al., 2011)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(Esmail et al., 2015 ;
	<i>Escherichia coli</i>	Larif et al., 2015 ;
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Leouifoudi et al., 2015)
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	(Tafesh et al., 2011)
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	(Krid et al., 2011)	

Les margines brutes ont, cependant, montré un très bon effet bactéricide à large spectre. Cette activité antibactérienne est en parfaite corrélation avec la teneur en polyphénols totaux trouvée dans chaque échantillon. Les polyphénols constituent les composés responsables de cet effet bactéricide (Fig13). Cela est confirmé par le test des margines

ultrafiltrés et leur extrait phénolique contre *S. aureus*. Les margines ultrafiltrés ont présenté une CMB similaire à celle des margines non-filtrées. Alors que, l'extrait phénolique des margines s'avère moins actif par rapport aux margines brutes. Ces résultats sont intéressants et suggèrent l'utilisation des margines brutes, micro-filtrées et diluées comme désinfectants. Cette proposition découle de certaines pratiques observés dans la région de la Kabylie où les mammites des vaches sont traitées par application directe des margines brutes (Yakhlef, 2019)

La méthode de diffusion sur milieu gélosé a permis la mise en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique envers des microorganismes pathogènes (Tab11). L'apparition croissante, en particulier dans les hôpitaux, de bactéries pathogènes résistantes, en particulier *S. aureus*, à une large gamme d'agents antimicrobiens, y compris toutes sortes de  $\beta$ - lactames, a rendu le traitement plus difficile. La résistance croissante aux antibiotiques représente le principal facteur justifiant la nécessité de trouver et/ou de développer de nouveaux agents antimicrobiens. Ainsi, de nombreuses études se sont focalisées sur les agents antimicrobiens et sur les propriétés antimicrobiennes des principes actifs d'origine végétale (Ozdemir, 2009).



*Agrobacterium tumefaciens*  
*faecalis*'

*Escherichia coli*

*Enterobacter*

**Figure 13 :** Activité antimicrobienne de l'extrait phénolique vis-à-vis des souches testées (Larid et Elaichi, 2019)

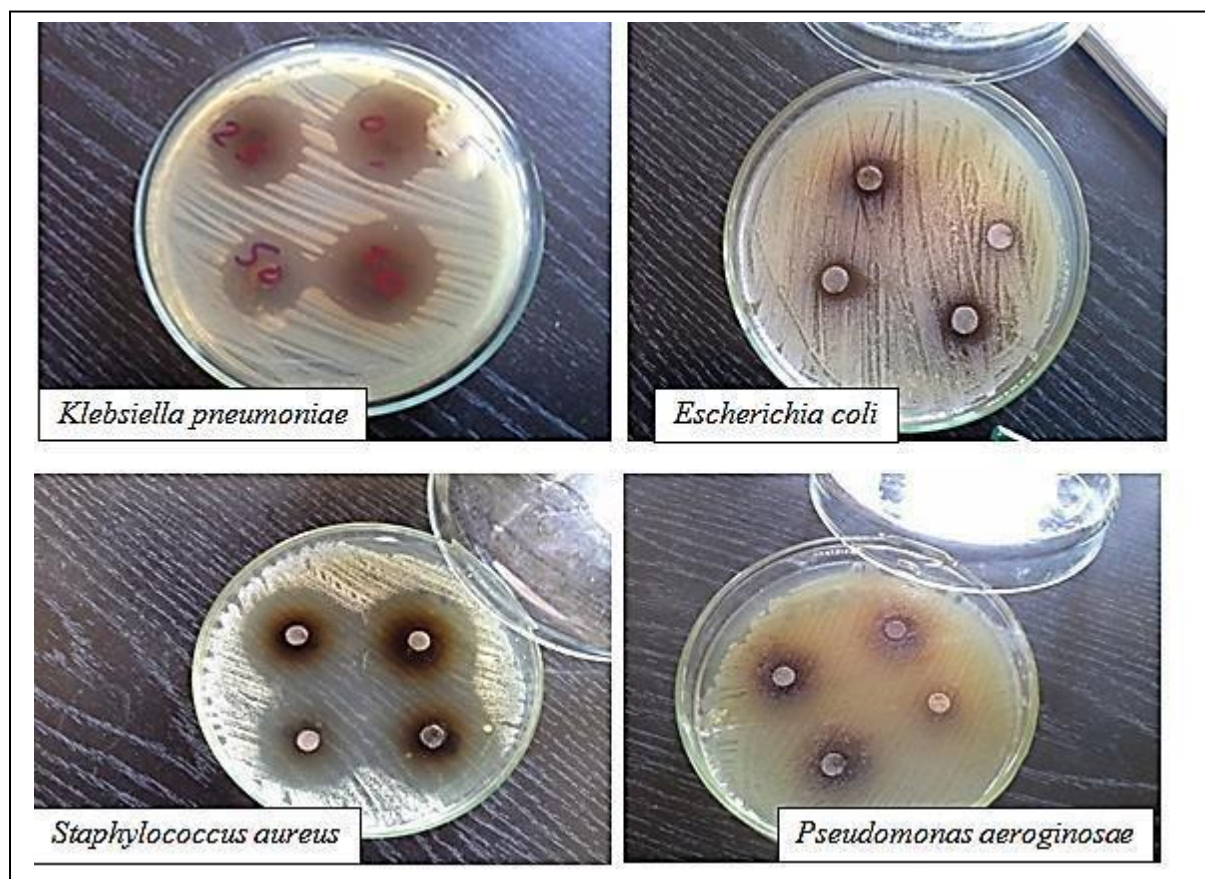
**Tableau 11** : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique

Microorganismes	Activité	Références
<i>Escherichia coli</i> ATCC25921	+	<b>Larid et Elaichi,2019</b>
<i>Enterobacter faecalis</i>	+	
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> ATCC23308	+	
<i>Clavibacter michiganensis</i>	+	<b>Yakhlef,2019</b>
<i>Pseudomonas syringae</i>	+	
<i>Corynebacterium michiganense</i>	+	
<i>Bacillus subtilis</i>	+	
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (CECT 378)	+	
<i>Enterococcus feculis</i> (CECT 481)	+	
<i>Proteus sp.</i>	+	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	
<i>Klebsiella pneumonia</i>	+	
<i>Escherichia coli</i> (CECT 434)	+	
<i>Staphylococcus aureus</i> (CECT 239).	+	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	+	

Six bactéries pathogènes multi-résistantes aux antibiotiques, isolées à partir des infections cutanées et urinaires et qui inclus des souches appartenant à la collection américaine ATCC, ont été testées par Ismail et ses collaborateurs (2015), dont les résultats sont illustrés dans le tableau 12 et la figure suivants:

**Tableau 12** : Résultats de l'activité antibactérienne des margines vis-à-vis des souches à la collection Américaine (ATCC).

Groupe microbienne	Souches testées	Zones d'inhibition (mm)
Gram <sup>-</sup> Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25921	15
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22
	<i>Enterobacter cloacae</i>	13
Gram <sup>-</sup> Non Entérobactéries	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	19
	<i>Acinetobacter sp.</i>	20
Gram <sup>+</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	23



**Figure 14:** Activité antibactérienne de la marge en différentes dilutions vis-à-vis les souches multi-résistantes aux antibiotiques.

Les composés phénoliques peuvent inhiber également l'activité des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote dans le tube digestif des ruminants en inhibant leur activité enzymatique (Hattenschwiler et Vitousek, 2000). Selon plusieurs études, les interactions synergiques entre les différents composés peuvent être à l'origine de l'activité beaucoup plus prononcée que celle prévue pour les principaux composés (Zhiri et Baudoux, 2005; Viuda-Martos *et al.*, 2008).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins) forment un groupe de polyphénols les plus importants photochimiques. De point de vue quantitatif et qualitatif, des différences remarquables sont notées entre les résultats obtenus par différents auteurs dans l'étude de la composition de l'acide phénolique de la marge (Dhiman *et al.*, 2012).

Quant à l'activité antifongique, Abu-Lafi et ses collègues (2017) ont testé l'extrait polyphénolique issu des margines sur des champignons et des levures, dont il s'est avéré efficace contre la levure *Candida albicans* qui cause la candidose (muguet), avec une zone d'inhibition de 23 mm. L'extrait phénolique s'est également révélé efficace contre *Aspergillus*

*niger*, le champignon filamenteux qui présente une croissance de diamètre de la colonie d'environ 20 % par rapport au contrôle positif.

Le dépérissement est une maladie causée par des champignons telluriques qui empruntent la voie des racines pour coloniser les vaisseaux conducteurs de l'arbre attaqué et entraîner des symptômes de flétrissement qui peuvent aboutir à la mort de l'arbre, l'emploi des produits pour la lutte chimique a engendré des effets secondaires préjudiciables à l'homme ainsi qu'à son environnement. Pour remédier à cela, la lutte biologique s'avère l'alternative. Pour cela, 3 espèces fongiques pathogènes (*Fusarium solani*, *F. oxysporum* et *Rhizoctonia solani*) ont été isolées et identifiées à partir des oliviers du sud Tunisien.

Pour le test antifongique, Bouzoumita et ses collaborateurs (2015) ont trouvé que les polyphénols extraits des margines des variétés tunisiennes (Zarazi, Zalmati, Chémlali) ont réduit modérément la croissance mycélienne (Fig15).



**Figure 15:** (a) Effet inhibiteur de polyphénols de la marge zarazi sur *Fusarium solani*, (b) Mycélium de *Fusarium solani* dégradé sous l'effet de polyphénol de la marge Zarazi

Les composés phénoliques sont également caractérisés par une très forte réticulation des protéines et dénaturation des protéines-activité, les études d'activité antimicrobienne présentent une différente sensibilité vers les composés phénoliques et les acides phénoliques (Ciafardini et ZulloB ,2003), (Sousa *et al.*,2006).En raison de leur chaîne latérale acide, les acides phénoliques sont beaucoup moins polaires, cette propriété peut faciliter le transport de ces molécules à travers la membrane cellulaire, ce qui pourrait être lié à son tour à l'effet inhibiteur plus fort des acides phénoliques(Esmail *et al.*, 2014). D'autre part, ils sont connus

pour interagir avec les lipides de la membrane par une neutralisation du potentiel électrique de la membrane après la pénétration de la molécule. Leur activité est probablement due à leur capacité à se complexer avec les protéines extracellulaires et solubles et de se complexer avec les parois des cellules bactériennes, comme c'est le cas pour les quinones. Aussi les flavonoïdes sont plus lipophiles et peuvent également perturber les membranes microbiennes (Dhiman, 2012).



**CONCLUSION**

### Conclusion

A l'heure actuelle, la production de l'huile d'olive génère des quantités énormes des sous-produits, particulièrement les eaux de lavage "Margines", ce qui engendre un impact négatif sur l'environnement dû à son pouvoir d'inhiber le développement des plantes et de certains microorganismes. Ces effluents issus de l'extraction de l'huile d'olive, qui ont peu de valeur économique en Algérie et constitue un polluant puissant déversé dans la nature sans aucun traitement préalable, pourrait être considéré comme une source potentielle de produits naturels en raison de leur teneur en composés phénoliques.

Au terme de ce travail, nous avons pu éclairer tous les aspects liés au thème du mémoire, en présentant les concepts bibliographiques et à la lumière de la lecture des études des travaux antérieurs sur la valorisation des margines en focalisant sur l'effet antimicrobien des polyphénols extraits, on a mis au point :

- Une activité antibactérienne de large spectre d'action contre des souches pathogènes du Gram positif et négatif à savoir : *Escherichiacoli*, *Enterobacter faecalis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringae*, *Corynebacterium michiganense*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterococcus feculi*, *Proteus sp.*, y compris des souches multi-résistantes aux antibiotiques telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ;
- Un effet antibactérien synergique lors de l'accompagnement de plus d'un extrait phénolique ;
- Une activité contre la levure *Candida albicans* causant la candidose et antifongique contre *Aspergillus niger* ;
- Une inhibition de la croissance mycélienne des champignons telluriques causant le dépérissement des oliviers.

Notre recherche rétrospective nécessite des études pratiques plus approfondies concluant plusieurs points à savoir:

- Caractérisation qualitative des polyphénols extraits des margines par des méthodes de séparation performantes (HPLC, RMN, CL/SM, CG/SM...) ;
- L'effet sur les plantes et leur protection contre certaines maladies ;
- L'effet dans l'industrie pharmaceutique et l'utilisation comme probiotique par exemple .
- L'effet sur la supplémentation nutritionnelle.



**Références**  
**Bibliographiques**

*Références bibliographiques*

**A**

**Abu-Lafi S., Al-Natsheh M.S. , Yaghmoor R., Al-Rimawi F. (2017).** Enrichment of Phenolic Compounds from Olive Mill Waste water *In Vitro* Evaluation of Their Antimicrobial Activities .Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 9 p.

**Achak M., Ouazzani N., Mandi L. (2009).** Traitement des margines d'une huilerie moderne par infiltration-percolation sur un filtre à sable. Revue des sciences de l'eau, Journal of Water Science; 22: 421-433.

**Aissam H. (2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de Doctorat .Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (Fes, Maroc).

**Aissani F. (2022).** Caractérisation phytochimique, valorisation biologique et toxicologique des différents extraits d'une espèce Algérienne *Sonchus oleraceus* L. Thèse De Doctorat. Université 8 Mai 1945 Guelma.

**Aouadi A. (2012).** Impact du contenu phénolique extrait de margines issues de deux mode de trituration sur la méthanogènes ruminale in vitro. Mémoire de Magister. Université de Tébessa.

**Aouadi A. (2021).** Valorisation nutritionnelle et environnementale d'un sous-produit oléicole 'margines' via la réduction de la méthanogène ruminale. Thèse de Doctorat. Université L'Arbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.

**Azzi M. (2016).** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de *Lavandula multifida*. L. Mémoire de Master. Université de Tlemcen.

**B**

**Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry. 99(1):191-203.

**Barboni T. (2006).** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse de Doctorat. Université de Corse-Pascal-Paoli (France).

**Bardoulat M. (2004).** L'olivier, trésor de santé: un arbre, un fruit, une huile aux vertus millénaires, Alpen .Ed.sam. 94 p.

**Basli A., Chibane M., Madani K., Oukil N.(2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Des f. Springer-Verlag France. 03 p.

**Benamar A. (2020).** Etude de la qualité des eaux de la rivière Oum Er Rbia : Approche analytique et chimométrique, et traitement des effluents par voie physicochimique et biologique .Thèse de Doctorat. Université Sultan Moulay Slimane.

**Bendjedou M., Selaimia A.(2020).**Analyses et traitement des effluents des huileries d'olives. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma.

**Benguendouz A. (2019).** Caractérisation nutritionnelle, toxicologique et aptitudes technologiques de «*Sardine pilchardus*» pêchée dans la côte Algérienne. M. Selsel et Attou Ghalem. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

**Benyahia N., Zein K. (2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. 2ème Conférence Internationale Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries. Lausanne (Suisse), 7p.

**Benyahia N., Zein K. (2003).**Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. Contribution spéciale de Sustainable Business Associates (Suisse) à SESEC II: 2-7.

**Bianco A., Buiarelli F., Cartoni G. P., Coccioli F., Jasionowska R., Margherita P. (2003)** Analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry of biophenolic compounds in olives and vegetation waters. *Journal of Separation Science*; 26(5): 409–416.

**Biyiti L. F., Meko'o DJ.L., Tamze V., Amvam Z. P. H. (2004).** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm. Méd.Trad.Afr.*14 p.

**Bouabida N. (2020).** Etude des propriétés biologiques des composés phénoliques issus de sous-produits oléicoles. Mémoire de Master. Université KasdiMerbah Ouargla.

**Bouknana D., Hammouti B., Salghi R., Jodeh S., Zarrouk A., Warad I., Aouniti A., Sbaa M. (2014).**Physicochemical Characterization of Olive Oil Mill Wastewaters in the eastern region of Morocco, *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (4): 1039-1058.

**Boukroune H. (2018).** L'oléiculture en petite Kabylie: améliorer la qualité du produit participe au développement durable de la filière Devant. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif. 186 p.

**Boussaa A. (2013).** Séparation des composés phénoliques de *Pulicaria odora* par chromatographie et étude de leurs activités antimicrobiennes. Mémoire de Magister.

Université A.MIRA-BEJAIA.Algérie.

**Bouzoumita A., Chaira N., Nahdi S., Ferchichi A.(2015)** .Etude du pouvoir antifongique des extraits polyphénoliques de la margine. Revue des Régions Arides n° 38.

**Brik A., Boualague M., Zerouk H. (2022)**.Caractérisation physico-chimique et étude *in vitro* des activités biologiques des polyphénols extraits des margines. Mémoire de Master. Université Abbes Laghrour, Khenchela.

### C

**Capasso R., Evidente A., Schivo L., Orru G., Marcialis M.A., Cristinzio G. (1995)**. Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. Journal of AppliedBacteriology; 79: 393-398.

**Chabenat H. (2017)**.Potentialité *in vitro* de 10 huiles essentielles, seules ou en association, dans le traitement des infections bactériennes cutanées. Thèse de doctorat. Université de limoges.

**Chafaa S. (2013)**. Contribution à l'étude de l'entomofaune de l'olivier, *Olea europaea* et de la dynamique des populations de la cochenille violette *Parlatoriaoleae colvée.*, 1880 (*Homoptera: Diaspididae*) dans la région de Batna. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique – EL- Harrach. 168 p.

**Chikhi C., Nazef M. (2018)**.Traitement et valorisation des margines. Mémoires de Master. Université Mouloud Mammeride Tizi-ouzou.

**Chimi H. (2006)**.Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. Bulletin mensuelle d'information et de liaison du PNTTA (Maroc), 7p.

**Chira K., Suh J.-H., Saucier P.-L. (2008)**. Les polyphenols du raisin Phytonutrition fondamentale. Phytonutrition fondamentale.6: 75–82

**Ciafardini, G. C. U. I., & Zullo, B. A. (2003)**. Antimicrobial activity of oil-mill waste water polyphenols on the phytopathogen *Xanthomonas campestris* spp. Annals of Microbiology, 53(3), 283-290.

**Conseil Oléicole International (C.O.I.) (2003)**. Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Disponible sur <http://www.internationaloliveoil.org/documents/viewfile/3619-normaf/5>

**Conseil Oléicole International (C.O.I.) (2009)**.Production mondiale d'huile d'olive. Disponible sur [http:// www.internationaloliveoil.org/](http://www.internationaloliveoil.org/)

**Cowan M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 12: 564-570.

**Crozier A., Clifford M., Ashihara H. (2008).** Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. 1-6

### D

**De Coi, B. (2000).** Method of aligning a light curtain. Google Patents .8 p.

**Della Greca M., Monaco P., Pinto G., Pollio A., Previtera L., Temussi F. (2001).** Phytotoxicity of low-molecular weight phenols from olive mill wastewaters. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; 67: 352-359.

**Dominique B. (2011).** L'olivier de toute éternité. Équinoxe.

### E

**El Kalamouni Ch. (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.

**Esmail A., Abed H., Firdaous M., Chahboun N., Mennane Z. (2014).** study of oil mill wastewater (OMW) from three different regions of Morocco, *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (1), 121-126.

**Esmail A., Chahboun N., Mennane Z., Amiyare R., Abed H., Barrahi M., Qebibo A., Ouhssine M., Berny E. (2015)** .Study of antimicrobial activity of olive mille wastewater (omww) from fezboulmanagaint some pathogenic strains. 6 (3): 869-876.

### F

**Fedeli E. (1999).** Qualité (stockage, conservation et conditionnement de l'huile), réglementation et contrôle. Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oléotechnique. Conseil Oleicole International. 1-20.

**Ferreira I.C.F.R., Martins N., Barros L. (2017).** Phenolic Compounds and Its Bioavailability: *In Vitro* Bioactive Compounds or Health Promoters. *Advances in Food and Nutrition Research*. 82: 1-44

**Fiestas Ros d'Ursinis J A. Borja R. (1992).** Use and treatment of olive millwastewater: current situation and prospects in Spain. *Grasas y aceites*, 2: 101-106.

### G

**Gharabi D. (2018).** Effet du stress salin sur le comportement physiologique et morphobiochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et

introduites non greffés et greffés sur oléastre. Thèse de doctorat. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès .166 pages

**Gharby S., Harhar H., Bouzoubaa Z., Roudani A., Chafchaoui I., Kartah B., Charrouf Z. (2014).**Effect of Polyphenol extracts from margins on the stability of sunflower oil. J. Mater. Environ. Sci. 5(2): 464-469.

**Ghnimi W. (2015).** Etude phytochimique des extraits de deux *Euphorbiacées*: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acetyl-cholin-estérase. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine (France) et Université de Carthage (Tunisie).

**Green P. S. (2002).** A Revision of *Olea* L. (*Oleaceae*), Kew Bulletin; 57 (1): 91-140.

**Gueham S., Harikeche S. (2019).** Vérification d'un système de traitement des margines. Mémoires de Master. Université de Jijel.

### H

**Hamadi C. (2006)** Technologie d'extraction des huiles d'olives et gestion de sa qualité. Ministère de l'Agriculture et du développement rural et des pêches maritimes, Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA (Maroc); 141: 1-4.

**Hamdi. M (1991).** Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de l'extraction de l'huile d'olive. Thèse de l'université de Provence. Marseille, France.

**Hättenschwiler, S., & Vitousek, P. M. (2000).** The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. Trends in ecology & evolution, 15(6), 238-243.

**Hnich H. (2017).** La Résistance Bactérienne : Mécanismes et Méthodes de détection au laboratoire. Thèse de Doctorat en Médecine. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Maroc.

### K

**Kamagate A., Kone D., Coulibaly N.T., Brou E., Sixou M. (2014).** Etude comparative de différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies strictes de la flore sous-gingivale. Odonto-Stomatologie Tropicale. 09p.

**Khermane T., Ahmiem H. (2020).** Les margines: Etat de l'art sur leur production, leur composition, leurs impacts environnementaux et leurs traitements et valorisation. Mémoire de Master. Université A. Mira-Bejaia.

**Khodja I. (2011).** Valorisation des sous-produits de l'activité oléicole; 8p.

**Krid S., Bouaziz M., Triki M.A., Gargouri A., Rhouma A. (2011).** Inhibition of olive knot disease by polyphenols extracted from olive mill waste water. *Journal of Plant Pathology*; 93 (3): 561-568.

### L

**Labdaoui D., (2017).** Impact socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases et possibilités de sa diffusion dans la région de Bouira (Algérie). Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostganem.

**Lahmadi S. (2021).** Composition phénolique, activité antioxydante et biologique des extraits d'*Euphorbia granulata* Forssk. Et *Euphorbia retusa* Forssk. Thèse de Doctorat. Université Mohamed Khider Biskra.

**Larid I ; Elaichi K. (2019).** Etude de profil chimique des polyphénols extraits à partir des margines: Essais de biodégradation et biotransformation avec la microflore indigène et sélectionnée. Thèse de doctorat. Université BLIDA1.

**Larif M., Ouhssine M., Soulaymani A., Elmidaoui A. (2015)** Potential effluent oil mills and antibacterial activity polyphenols against some pathogenic strains. *Res Chem Intermed*; 41:1213-1225.

**Leouifoudi I., Harnafi H., Ziyad A. (2015)** Olive mill waste extracts: Polyphenols content, antioxidant, and antimicrobial activities. *Advances in Pharmacological Sciences* ; 1-11.

**Leulmi N. (2011).** La valorisation nutritionnelle des margines et de leur impact sur la réduction de la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Mémoire de magister.. Université de Constantine.

### M

**Macheix J.J., Christian J.A., Allemand J. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Collection biologie, Presses polytechniques, Romandes .192p.

**Mendil, M., & Sebai, A. (2006).** Catalogue national des variétés de l'olivier. *Revue Olivae*, 59, 36.

**Merghem, R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine, 107-133.

**Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4): 673-751.

**Muanda F. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat. L'université Paul Verlaine-Metz (France).

### N

**Naczki M., Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2):95–111.

**Nefzaoui A. (1991).** Valorisation des sous-produits de l'olivier. Fourrages et sous-produits méditerranéens (Zaragoza) CIHEAM ; 101-108.

### O

**Obied H.K., Bedgood Jr. D.R., Prenzler P.D., Robards K. (2007).** Bioscreening of Australian olive mill waste extracts: Biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities. *Food and Chemical Toxicology*; 45: 1238-1248.

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

**Özdemir Z. (2009).** Growth inhibition of *Clavibacter michiganensis sub sp michiganensis* and *Pseudomonas syringae pv* tomato by olive mill wastewaters and citric acid. *Journal of Plant Pathology*; 91: 221-224.

### R

**Ranalli A. (1991).** The effluent from olive mills: Proposals for re-use and purification with reference to Italian legislation. *Olivae*, 37, 30-39.

**Rodis P. S., Karathanos V. T., Mantzavinou A. (2002)** Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 50: 596-601.

**Roila R., Branciari R., Ranucci D., Ortenzi R., Urbani S., Servili M. (2016).** Antimicrobial activity of olive mill wastewater extract against *Pseudomonas fluorescens* isolated from mozzarella cheese. *Italian Journal of Food Safety*; 5: 57-60.

### S

**Selaimia R. (2018).** Etude de l'huile d'olive d'Algérie. Thèse de doctorat. Université 8 Mai 1945 Guelma.

**Senani-Oularbi N., Riba A., Moulti-Mati F. (2018)** .Inhibition of *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin B1 production by olive mill wastewater. *Bioscience Research*; 15 (1): 369-380.

**Sousa, A., Ferreira, I. C., Calhelha, R., Andrade, P. B., Valentão, P., Seabra, R., Pereira, J. A. (2006).** Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives ‘*alcaparra*’. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14(24), 8533-8538.

T

**Tafesh A., Najami N., Jadoun J., Halahlih F., Riepl H., Azaizeh H. (2011)** Synergistic Antibacterial Effects of Polyphenolic Compounds from Olive Mill Wastewater. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 1-9.

**Touati A., Berdoud A. (2021).** Etude rétrospective de l’effet synergique antibactérien des extraits phénoliques issus de l’eau de lavage des huiles oléicoles. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah-Ouargla

**Tsagariki E., Lazarides H.N., Konstantinos B.P.(2007).** Olive mill waste water treatment. *Springerlink*; 133-157.

V

**Vagelas I., Kalorizou H., Papachatzis A., Botu M. (2009)** .Bioactivity of olive oil mill wasterwater against plant pathogens and post-harvest diseases. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*; 23 (2): 1217-1219.

**Veillet S. (2010).** Enrichissement nutritionnel de l’huile d’olive: Entre Tradition et Innovation. Thèse de Doctorat, Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse, Marseille (France).

**Visioli. F, Borsani. L, Galli.C. (2000).** Di et and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research*, 47(3), 419-425.

W

**Wiesman Z. (2009).** Desert olive oil cultivation: advanced biotechnologies: Academic Press.395 p.

Y

**Yahia Z. (2021).** Réduction de la charge polluante de la marge des huileries d’olives par procédé de photo d’oxydation avancée. Thèse de Doctorat. Université M’Hamed bougara Boumerdes.

**Yakhlef W. (2019).** Caractérisation des profils phénoliques et évaluation de l’activité antibactérienne du contenu phénolique de margines mono-variétales. Thèse de Doctorat .Université Larbi Ben M’hidi Oum El-Bouaghi.

**Yangui T., Dhouib A., Rhouma A., Sayadi S. (2009).** Potential of hydroxytyrosol-rich composition from olive mill waste water as a natural disinfectant and its effect on seeds vigor response. *Food Chem*; 117: 1-8.

Z

**Zaier H., Chmingui W., Rajhi H., Bouzidi D., Roussos S., Rhouma A. (2017).** Physico-chemical and microbiological characterization of olive mill wastewater (OMW) of different regions of Tunisia (North, Sahel, South), JN Sciences.

**Zbakh H., El Abbassi A. (2012).** Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. Journal of functional food; 4: 53-65.

**Zerrouki Kh.(2020).** Profil phénolique de quelques ressources végétales et pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

**Zhiri, A., & Baudoux, D. (2005).** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies: aromathérapie scientifique. Luxembourg: Édition Inspir Development.

# **Etude bibliographique sur l'effet anti-microbien de l'extrait polyphénolique issu des margines**

## ***Résumé***

La margine constitue un problème environnemental pour les pays qui produisent de l'huile d'olive dont l'Algérie. Ces effluents issus de l'extraction huileuse, posent de sérieux problèmes de pollution par leur concentration élevée en matières organiques, elles sont souvent rejetées dans les eaux des fleuves sans aucun traitement préalable mais qui pourraient être considérés comme une source potentielle de produits naturels de haute valeur ajoutée, en raison de leur teneur en composés phénoliques et d'autres antioxydants naturels. La valorisation des polyphénols des margines offre une double opportunité d'obtenir des biomolécules actives et de réduire la toxicité de ces effluents. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail était une étude bibliographique rétrospective de l'effet antimicrobien des extraits phénoliques issus des margines, qui a mis au point un effet antibactérien vis-à-vis 16 souches pathogènes résistantes aux antibiotiques, du Gram positif et négatif possédant en plus un effet synergique ainsi qu'une activité antifongique importante contre *Aspergillus niger* et les champignons telluriques causant le dépérissement des arbres.

Cette étude indique l'intérêt de la margine comme étant une matière locale biologique douée d'une activité antimicrobienne remarquable, pouvant servir dans l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire ou en agriculture.

**Mots clés :** Margines, Polyphénols ; Effet antimicrobien, Effet antibactérien, Effet antifongique.

**Réalisé par**

**Meriem BOUHMAMA et RomaiSSa TAHRI.**

**Sous la direction de**

**Dr. DOUAOUYA Lilia**