

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

Département de Génie de l'Environnement

Laboratoire de l'Unité de Recherche en Ingénierie et Environnement

PROJET DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement

Thème

# Valorisation de sous produits agroalimentaires

Réalisé et présenté par :

**BENDIEB ABERKANE Amar**

Proposé et dirigé par :

**Pr. GRIB Hocine**

Soutenu le 16/06/2015 devant le jury suivant :

Président de jury : Mr. MAMERI Nabil

Examinateur: Mme. ABDI Haider Nadia

Promoteur : Mr. GRIB Hocine

Co-promotrice : Mme FERGUENE Amel

Professeur, ENP

Professeur, ENP

Professeur, ENP

Doctorante, ENP

Promotion juin 2015

Ecole Nationale Polytechnique (ENP)  
10, Avenue des Frères Oudek, Hassen Badi, BP. 182, 16200 El Harrach, Alger, Algérie  
[www.enp.edu.dz](http://www.enp.edu.dz)

## ملخص:

الهدف من هذا العمل هو تثمين بقايا معاصر زيت الزيتون؛ فإنه ينطوي على إستخراج المركبات الفينولية من ثفل الزيتون و النفايات السائلة لمعاصر الزيتون (الزبار) بإستخدام عدة مذيبات، و تقييمها كميًا و نوعيًا، لهذا إعتدنا على طريقتين لتحديد المركبات الفينولية و درسنا تأثير درجة الحرارة ، الوقت و الكتلة على مردود الإستخراج.

**الكلمات المفتاحية:** ثفل الزيتون، النفايات السائلة لمعاصر الزيتون (الزبار)، إستخراج، مردود، المركبات الفينولية، تثمين.

## Résumé :

L'objectif de ce travail est de la valorisation de sous-produits oléicoles, il consiste à l'extraction des polyphénols à partir des grignons d'olive et les margines d'olives en utilisant deux procédés d'extraction et par différents solvant; et de l'évaluer quantitativement et qualitativement, pour cela nous avons adopté deux méthodes d'analyse de composés phénolique et nous avons étudié l'influence de la température, la masse et la durée sur le rendement d'extraction.

**Mots clés :** Grignon d'olives, margines, extraction, rendement, polyphénols, valorisation.

## Abstract:

The aim of this work is the valorization of olive by-products, it involves the extraction of polyphenols from a solid residue (Olive Mill Solid Waste) and an aqueous effluent (Olive Mill WasteWater) using two extraction's method and various solvent; and evaluate it quantitatively and qualitatively, for that we adopted two analysis's methods of polyphenols compounds and we studied the influence of temperature, mass and time (period) on the extraction yield.

**Keys words:** Olive Mill SolidWaste, Olive Mill WasteWater extraction, yield, polyphenols, Valorization.

## *Remerciements*

*Ce travail a été réalisé au laboratoire de l'Unité de Recherche en Ingénierie et Environnement (l'URIE) du département de Génie l'Environnement de l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger.*

*Je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la force, la puissance, la patience et la volonté pour réaliser ce mémoire « hamdoulillah ».*

*Je voudrais témoigner ma profonde reconnaissance à Monsieur GRIB H., professeur et Directeur du Laboratoire de l'URIE à l'ENP, pour avoir encadré ce travail, Je le remercie pour leur encadrement, disponibilité et conseils au cours de ce travail ainsi que pour ses qualités relationnelles.*

*Je remercie profondément Mme BENSADALLAH L., Mme KHALADI S., HARTI M et Mme CHEMLAL R., pour leurs aides précieux depuis mon arrivé au laboratoire, et de me faire bénéficier de leurs expériences, compétences et la motivation apportée durant la réalisation de ce mémoire.*

*Je remercie vivement Monsieur MAMERI Nabil, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, pour l'honneur qu'il me fait de présider ce jury.*

*Mes remerciements s'adressent également à Mme ABDI Haider Nadia, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, d'avoir acceptée d'examiner ce travail.*

*Mes remerciements et profondes reconnaissances s'adressent également à tous mes collègues ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire notamment (Leila, Mohamed), qui ont fait pour que ce travail se passe dans une agréable ambiance. Une pensée sincère pour vous tous, vous qui deviennent « frères et sœurs » et sont toujours disponibles pour un coup de main, Un grand  
Merci.*

*Mes remerciements et profondes reconnaissances s'adressent également à toute l'équipe du laboratoire d'analyse de l'entreprise pharmaceutique BEKJER de Dar-El-Beida, en particulier Mr.  
Hakim Z.*

*Pour finir j'adresse mes remerciements à ma famille, mes amis, à tous ceux qui contribués à ma formation. Merci pour votre soutien.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

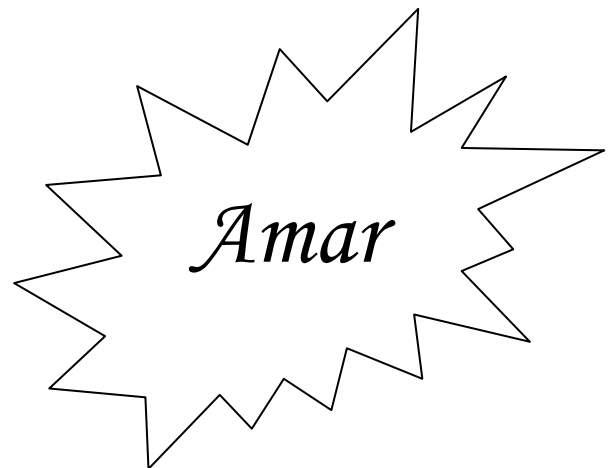
*A mes parents qui m'ont tout donné*

*A mes sœurs et frères*

*A mes cousins et cousines et toute la famille*

*A tous mes amis qui sont pour moi ma deuxième famille*

*Et à tous ceux qui ont contribué à ma formation*



## *Sommaire*

Listes des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale .....	1

### *Chapitre I : Généralités sur l'olive et la production de l'huile d'olives*

I-1 Introduction : .....	3
I-2 Généralités sur la culture d'olive : .....	3
I-2-1 L'olivier : .....	3
I-3-2 Composition de l'olive « Le fruit »: .....	3
I-2-3 Oléiculture au monde: .....	4
I-2-4 Oléiculture en Algérie: .....	6
I-2-4-1 Répartition géographique de la production de l'huile d'olive: .....	6
I-2-4-2 Localisation géographique des huileries : .....	6
I-3 Récolte et Trituration des Olives: .....	6
I-3-1 Récolte : .....	6
I-3-2 Trituration : .....	7
I-4 L'huile d'olive : .....	10
I-4-1 Définition de l'huile d'olive: .....	10
I-4-2 Caractéristiques et composition : .....	10
I-5 Les sous-produits oléicoles : .....	11
I-6 Impact des sous-produits oléicoles sur l'environnement : .....	11
I-6-1 Les grignons d'olive: .....	12
I-6-2 Les margines : .....	12
I-7 Conclusion : .....	13

### *Chapitre II : Les sous-produits oléicoles*

II-1 Introduction : .....	14
II-2 Les grignons d'olive : .....	14
II-2-1 Définition: .....	14
II-2-2 Caractéristiques physicochimiques: .....	14
II-2-2-1 Caractéristiques physiques: .....	14

II-2-2-2 Composition et caractéristiques chimiques: .....	15
II-2-3 Valorisation du grignon d'olive: .....	17
II-3 Les margines : .....	18
II-3-1 Définition: .....	18
II-3-2 Composition et caractéristiques physicochimiques: .....	18
II-3-3 Valorisation des margines : .....	19

### *Chapitre III : Généralités sur les polyphénols et leurs importance*

III-1 Définition : .....	21
III-2 Principales sources de polyphénols : .....	21
III-2-1 Produits alimentaires .....	21
III-2-2 Végétaux .....	21
III-3 Principales classes des composés phénoliques : .....	21
III-3-1 Polyphénols simples : .....	21
III-4-2 Polyphénols complexes: .....	23
III-5 Propriétés chimiques majeurs des composés phénoliques : .....	24
III-6 Rôle des polyphénols .....	25
III-6-1 Rôle des polyphénols dans les plantes.....	25
III-6-2 Activités antibactérienne, antifongique et antivirale .....	26
III-6-3 Activité anti-inflammatoire .....	26
III-7 Polyphénols en tant qu'antioxydants : .....	26
III-7-1 Les antioxydants .....	26
III-7-2 Pouvoir antioxydant des polyphénols : .....	26
III-8 Valorisation et application des polyphénols .....	26
III-8-1 En cosmétologie .....	26
III-8-2 En agroalimentaire .....	27
III-8-3 En pharmacie .....	27
III-8-4 En médecine : .....	27

### *Chapitre IV : Les techniques d'extraction*

IV-1 Introduction .....	29
IV-2 Définition de l'extraction .....	29
IV-3 L'extraction solide-liquide.....	29
IV-3-1 Définition .....	29
IV-3-2 Les différents procédés d'extraction solide-liquide .....	29

IV-3-4 Mécanismes de l'extraction solide-liquide.....	30
IV-3-4-1 Facteurs influençant les performances de l'extraction solide-liquide.....	30
IV-3-6 Différentes techniques d'extraction .....	32
IV-3-6-1 Les technique conventionnelles.....	32
IV-3-6-2 Les technique nouvelles.....	32
IV-3-7 Applications de l'extraction solide-liquide .....	33
IV-4 L'extraction liquide-liquide.....	33
IV-4-1 Définition .....	33
IV-4-2 Les différents méthodes d'extraction liquide-liquide.....	33
IV-4-3 Le processus de l'extraction liquide-liquide.....	34
IV-4-4 Classification des systèmes d'extraction.....	35
IV-4-5 Application de l'extraction liquide-liquide.....	35

### *Chapitre V : Matériels et méthodes*

V-1 Matériel végétal.....	36
V-1-1 Caractérisation du matériel végétal .....	36
V-1-1-1 Grignons d'olive .....	36
V-1-1-2 Les margines .....	37
V-2 Solvants d'extraction et réactifs employés.....	37
V-3 Les procédés d'extraction appliqués .....	38
V-3-1 Extraction des polyphénols.....	39
V-3-2 L'extraction solide-liquide au SOXLHET .....	39
V-3-3 Extraction par DISTILLATION .....	41
V-4 Les techniques d'analyse effectuées .....	42
V-4-1 Analyse par la méthode spectrophotométrique : .....	42
V-4-2 Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	43
V-5 Méthodes de calcul.....	45
V-5-1 Teneur en polyphénols dans l'échantillon.....	45
V-5-2 Rendement d'extraction en polyphénols .....	46

### *Chapitre VI : Résultats et discussion*

VI-1 Introduction .....	47
VI-2 Caractérisation du matériel végétal.....	47
VI-2-1 Caractérisation du grignon d'olive .....	47
VI-2-2 Caractérisation des margines .....	48

<b>VI-3 Analyse des composés phénoliques .....</b>	<b>50</b>
<b>VI-3-1 Dosage des composés phénoliques.....</b>	<b>51</b>
<b>VI-3-1-1 Dosage des polyphénols totaux.....</b>	<b>51</b>
<b>VI-3-1-2 Dosage des échantillons extraits.....</b>	<b>52</b>
<b>VI-3-2 Dosage des composés phénolique des grignons d'olive .....</b>	<b>52</b>
<b>VI-3-2-1 Cinétique d'extraction au SOXLHET .....</b>	<b>52</b>
<b>VI-3-2-2 Influence de la température .....</b>	<b>55</b>
<b>VI-3-2-3 Influence de la durée .....</b>	<b>57</b>
<b>VI-3-2-4 Influence de la masse de la matière végétale.....</b>	<b>58</b>
<b>VI-3-3 Dosage des composés phénolique des margines .....</b>	<b>60</b>
<b>VI-3-3-1 Cinétique d'extraction par DISTILLATION .....</b>	<b>60</b>
<b>VI-3-3-2 Influence de la température .....</b>	<b>62</b>
<b>VI-3-3-3 Influence de la durée d'extraction .....</b>	<b>63</b>
<b>VI-4 Analyse des composés phénolique par HPLC (méthode instrumentale) .....</b>	<b>64</b>
<b>VI-4-1 Préparation des solutions standards .....</b>	<b>64</b>
<b>VI-4-1 Analyse des extraits .....</b>	<b>66</b>
<b>VI-5 Conclusion.....</b>	<b>68</b>
<b>Conclusion générale et perspectives .....</b>	<b>69</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	



## *Liste des tableaux*

Tableau I.1: Composition du fruit.....	4
Tableau I.2 : Evolution de la production mondiale d'huile en 2012/2013.....	5
Tableau I.3 : Propriétés chimiques de l'huile d'olive.....	10
Tableau I.4 : Propriétés physiques de l'huile d'olive.....	11
Tableau II.1 : Caractéristiques du grignon d'olive.....	15
Tableau II.2: Composition chimique indicative des différents types de grignons.....	15
Tableau II.3 : Caractéristiques des grignons bruts issus de divers procédés d'extraction de l'huile.....	16
Tableau II.4 : Composition chimique générale des margines.....	18
Tableau II.5 : Caractéristiques physico-chimiques des margines.....	19
Tableau III.1 : Principales classes de composés phénoliques.....	24
Tableau V.1 : Caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés.....	37
Tableau VI.1 : Caractéristiques du grignon d'olive brute.....	47
Tableau VI.2 : Caractéristiques de la margine étudiée.....	49
Tableau VI.3 : Résultats de la densité optique obtenus.....	51
Tableau VI.4 : Résultats de la DO ainsi que le rendement calculé (grignon d'olive).....	53
Tableau VI.5 : Résultats de la DO ainsi que R% pour l'influence de la température (grignon).....	55
Tableau VI.6 : Résultats de DO ainsi que le R% calculé pour la durée d'extraction (grignon).....	57
Tableau VI.7 : Résultats de la DO et le rendement calculé pour chaque masse (grignon).....	58
Tableau VI.8 : Résultat de la DO et R% d'extraction par DISTILLATION.....	60
Tableau VI.9 : Résultats de la DO et le R% calculé pour l'influence de la température (margine).....	62
Tableau VI.10: Résultats de la DO et le R% calculé pour la durée d'extraction (margine).....	63

## *Liste des figures*

<b>Figure I.1 : Composition de l'olive.....</b>	<b>4</b>
<b>Figure I.2 : Productions mondiales des principales huiles végétales 2012/2013.....</b>	<b>5</b>
<b>Figure I.3: Répartition de la superficie et production d'huile d'olivier 2012/2013.....</b>	<b>6</b>
<b>Figure I.4 : Diagramme d'extraction de l'huile d'olive par les différents systèmes.....</b>	<b>9</b>
<b>Figure III.1 : Structure des acides hydroxycinnamiques et l'acide p-hydroxybenzoïque.....</b>	<b>22</b>
<b>Figure III.2: Squelette de base des flavonoïdes.....</b>	<b>22</b>
<b>Figure III.3 : (a) : Structures de l'hydroxytyrosol, (b) : tyrosol.....</b>	<b>23</b>
<b>Figure III.4 : Structures de l'oleuropéine.....</b>	<b>23</b>
<b>Figure III.5 : Structure de l'ion phénoxyde.....</b>	<b>25</b>
<b>Figure V.1 : (1) les grignons d'olive (2) les margines utilisés.....</b>	<b>36</b>
<b>Figure V.2 : Système d'extraction par SOXHLET.....</b>	<b>40</b>
<b>Figure V.3 : Système d'extraction par DISTILLATION.....</b>	<b>41</b>
<b>Figure V.4 : Schéma du principe de la spectrophotométrie UV-visible.....</b>	<b>42</b>
<b>Figure V.5 : Spectrophotomètre à UV-Visible.....</b>	<b>43</b>
<b>Figure V.6 : Schéma de base d'une chromatographie liquide à haute performance HPLC... </b>	<b>44</b>
<b>Figure V.7 : Appareil HPLC utilisé pour le dosage des polyphénols.....</b>	<b>45</b>
<b>Figure VI.1 : Taux d'humidité du grignon d'olive brute.....</b>	<b>48</b>
<b>Figure VI.2 : Taux d'humidité de la margine étudiée.....</b>	<b>49</b>
<b>Figure VI.3 : Les différentes dilutions de l'acide gallique par la méthode FOLIN-CIOCALTEU.....</b>	<b>51</b>
<b>Figure VI.4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique dans le dosage de FOULIN-CIOCALTEU.....</b>	<b>52</b>
<b>Figure VI.5 : Cinétique d'extractions par SOXLHET des polyphénols par différents solvants (grignon).....</b>	<b>54</b>
<b>Figure VI.6 : Rendement d'extraction par soxlhet en fonction de solvants (grignon).....</b>	<b>54</b>
<b>Figure VI.7 : Influence de la température sur le rendement d'extraction (grignon).....</b>	<b>56</b>
<b>Figure VI.8 : Rendement en fonction du temps d'extraction (grignon).....</b>	<b>58</b>
<b>Figure VI.9 : Rendement d'extraction en fonction de la quantité de grignons utilisé.....</b>	<b>59</b>
<b>Figure VI.10 : Rendement d'extractions par DISTILLATION des polyphénols par différents solvants (margine).....</b>	<b>61</b>
<b>Figure VI.11 : Rendement d'extraction par distillation en fonction de solvants (margine).....</b>	<b>61</b>
<b>Figure VI.12 : Influence de la température sur le rendement d'extraction (margine).....</b>	<b>62</b>
<b>Figure VI.13 : Rendement en fonction du temps d'extraction (margine).....</b>	<b>64</b>
<b>Figure VI.14 : HPLC - Pic de l'acide gallique standard.....</b>	<b>65</b>

<b>Figure VI.15 : HPLC - Pic du phénol standard.....</b>	<b>65</b>
<b>Figure VI.16 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans l'Ethanol (grignon).....</b>	<b>66</b>
<b>Figure VI.17 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans le Méthanol (grignon).....</b>	<b>66</b>
<b>Figure VI.18 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans l'Acétate d'Ethyle (grignon) .....</b>	<b>66</b>
<b>Figure VI.19 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans l'Ethanol (margine).....</b>	<b>67</b>
<b>Figure VI.20 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans le Méthanol (margine).....</b>	<b>67</b>

## *Liste des abréviations*

**Abs** : Absorbance

**AG** : Acide gallique

**C** : Concentration (**mg/l**)

**Cd** : Cendres (**g/l**)

**DBO** : Demande Biologique en Oxygène (**g d'O<sub>2</sub>/l**)

**DCO** : Demande Chimique en Oxygène (**g d'O<sub>2</sub>/l**)

**H** : Humidité (%)

**HPLC** : Chromatographie Liquide Haute Performance

**I** : Intensité lumineuse

**ITAFV** : Institut Technique De L'arboriculture Fruitières Et De La Vigne

**m** : Masse des composés phénoliques extraite en (**mg**)

**MS** : Matière sèche (%)

**MV** : Matière volatile (%)

**R** : Rendement d'extraction (%)

**T** : Température (°C)

**t** : temps (**min, h**)

**Te** : Teneur en composés phénoliques (%)

**UV** : Ultra-violet

**V** : Volume d'extraction (**ml**)

**W** : Teneur en eau (%)

*« Introduction générale et  
présentation du sujet »*

*« Pour votre santé, manger 5 fruits et légumes  
par jour »*

**L**a protection de l'environnement et la maîtrise de l'énergie sont l'un des piliers du développement durable, qui constitue un enjeu majeur pour l'avenir de l'homme et de la planète. Face à cela, la dégradation de l'environnement et les changements climatiques affecteront l'humanité. L'Algérie est l'un des pays qui accorde beaucoup d'importance à l'environnement durable, lequel figure parmi les priorités de son plan de développement économique et social.

Le terme « d'industrie agroalimentaire » désigne l'ensemble des industries de transformation des matières premières, d'origine végétale ou animale et issue de l'agriculture, en produits destinés à l'alimentation humaine ou animale, c'est-à-dire en biens alimentaires. Ce secteur d'activité recouvre une très grande variété de produits et de types d'industrie. L'agroalimentaire rassemble des activités très diverses : l'industrie oléicoles, du poisson, des fruits et légumes, des viandes...etc. dans notre cas d'étude nous sommes intéressées par les industries oléicoles.

Olivier, arbre typique des régions sèches et chaudes, constitue une composante familière des pays du bassin méditerranéen et représente pour beaucoup d'entre eux une des principales cultures traditionnelles. [1]

L'industrie oléicole est une activité économique importante, concentrée principalement dans les pays méditerranéens qui tiennent environ **95%** de la production mondiale, dont **1,7%** pour l'Algérie en 2012. [2]

Comme toutes les industries agro-alimentaires, L'industrie oléicole engendre en plus de l'huile comme produit principal, de grandes quantités de deux sous-produits (résidus) principal tel que les **grignons d'olive** et les **margines**, ces derniers posent de sérieux problèmes à l'environnement dans la plupart des pays oléicoles. Résidus lignocellulosiques dont les effets nocifs dérivent en grande partie de leur contenu en polyphénols. La valorisation de ces résidus est devenue une nécessité pour éviter une pollution de plus en plus cruciale et pour contribuer à améliorer la rentabilité du secteur oléicole.

C'est dans ce cadre que ce travail met l'accent sur la valorisation de sous-produits de l'industrie oléicoles par l'extraction des composés phénoliques (polyphénols) du grignon d'olives et de la marge, de l'évaluer quantitativement et qualitativement, et ceci on utilisant différents solvants et procédés d'extraction solide-liquide et liquide-liquide.

Les polyphénols ont montré des propriétés antimicrobiennes et anti-cancérigènes. [3] Plus particulièrement, ces polyphénols sont identifiés comme des antioxydants naturels de la famille des antioxydants phénoliques largement utilisés en agroalimentaire, pharmacie, médecine et cosmétique...etc. [4]

Notre étude est constituée de deux parties :

Dans la première partie de ce mémoire, nous avons donné une synthèse bibliographique constitué par quatre chapitres, qui rassemble des données essentielles sur :

- ✓ Généralités sur l'olivier et l'huile d'olive (Industries oléicoles);
- ✓ Les sous-produits oléicoles et leur valorisation (Les margines et grignons d'olive);
- ✓ Les composés phénoliques et leur valorisation ;
- ✓ Les techniques de récupérations des polyphénols à partir des rejets d'huileries (Techniques d'extraction).

La deuxième partie est constituée par deux chapitres ; le premier chapitre porte sur le matériel et les méthodes utilisées pour les procédés d'extraction ainsi que les techniques d'analyse effectuées. Et le second comporte une synthèse et une interprétation des résultats ainsi qu'une conclusion générale et perspectives.

# *Chapitre I*

*« Généralités sur l'olive et la  
production de l'huile d'olive »*



## I-1 Introduction :

Les « **huiles d'olive vierges** » Ce sont des purs jus de fruits d'olive, sont obtenues à partir du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques.

Les industries d'huile d'olive est une activité économique importante de plusieurs pays, particulièrement, ceux du bassin méditerranéen. En revanche ces industries, en plus de sa production principale qui est l'huile, laisse deux sous-produits, l'un est solide (les grignons d'olive) et l'autre liquide (les margines). Ces deux résidus ont jusqu'à présent peu de valeur économique dans les pays qui produit de l'huile d'olive.

## I-2 Généralités sur la culture d'olive :

### I-2-1 L'olivier :

L'olivier est classé dans la famille des oléacées. Le genre est appelé Olea et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. [5]

L'olivier cultivé est un arbre ayant des feuilles vertes tout le long de l'année. Ses dimensions et sa forme varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol et la variété. [6]

Un arbre produit en moyenne 15 à 50 kg d'olives, il peut donner 3 à 10L d'huile d'olive selon les variétés. En effet, 100 kg d'olive produisent en moyenne 35 kg de grignons et 100L de margines. [7]

### I-3-2 Composition de l'olive « Le fruit »:

L'olive est le fruit de l'olivier, Sa composition dépend de sa variété, du sol et du climat et les conditions culturales, L'olive est une drupe de forme ovale constituée d'un péricarpe et d'un endocarpe. Ses dimensions sont très variables suivant les variétés. Sa couleur change au cours de son cycle de maturation passant de la couleur verte à la couleur violette ou rouge puis noire à maturité. [8] La **figure I.1** montre la constitution de l'olive.

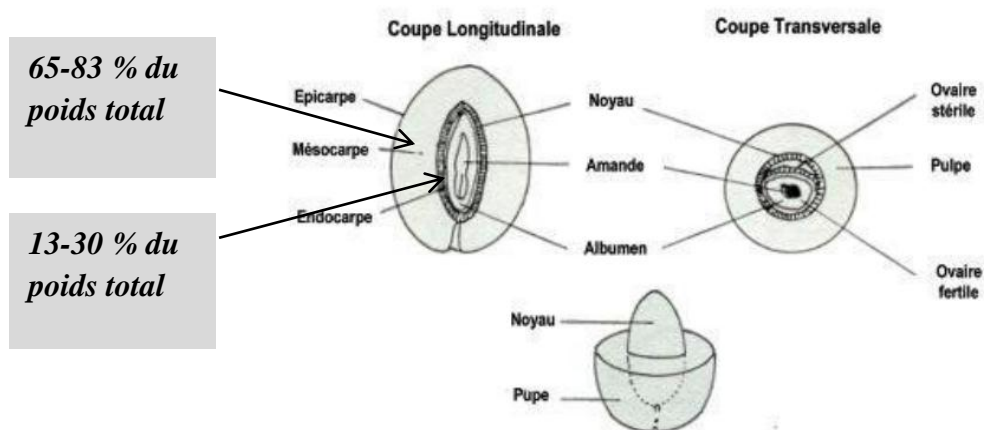


Figure I.1 : Composition de l'olive [9].

Le **tableau I.1** illustre la composition d'un fruit d'olive selon sa structure anatomique. D'un autre part, l'olive et grâce à l'action protectrice des substances antioxydantes (**composés phénoliques**) qui se trouvent en quantité non négligeable qui lui permettent dans une certaine mesure de maintenir un équilibre et lui assurent un effet protecteur contre l'oxydation.

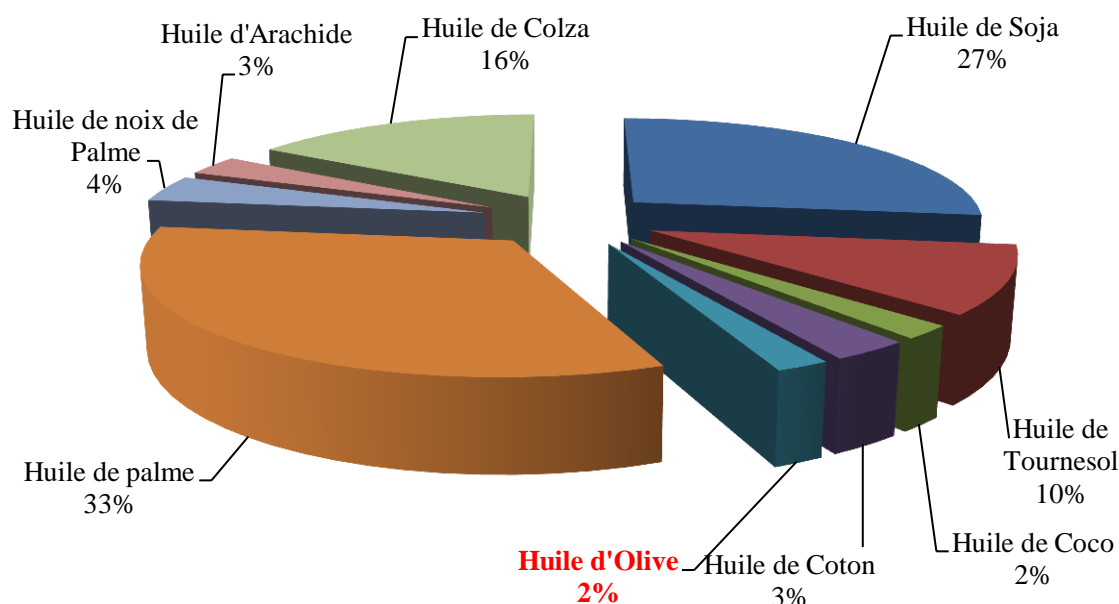
Tableau I.1: Composition du fruit [10].

	Lipides (%)	Protides (%)	Glucides (%)	Cendres (%)	Eau (%)
Coque	5,25	15,60	70,30	4,65	4,20
Pulpe	56,40	6,84	9,90	2,66	24,20
Amadon	12,26	13,80	65,60	2,16	6,18

### I-2-3 Oléiculture au monde:

Le patrimoine oléicole mondial compte environ 930 millions d'oliviers. La surface totale occupée par l'olivier est d'environ **11 millions d'hectares** plantés de près de **1,5 milliards** de pieds. L'Union européenne représente 50 % de ce verger, l'Afrique (Afrique du Nord) 25 %, le Moyen Orient 20 %, le reste se répartissant entre l'Amérique (Californie, Chili, Argentine...), l'Australie et la Chine. [11]

La **figure I.2** montre Productions mondiales des principales huiles végétales 2012/2013.



**Figure I.2 : Productions mondiales des principales huiles végétales 2012/2013. [11]**

La production d'huile d'olive a toujours été concentrée dans les pays du pourtour méditerranéen: Espagne, Portugal, Italie, Grèce, Turquie, Tunisie, Maroc et **Algérie**. A eux seuls ces pays représentent plus de 80% de la production mondiale.

La production mondiale d'huile d'olive pour la campagne **2012/2013** est de **2,718 millions** de tonnes soit une diminution de plus de **20 %** dû principalement à une chute importante de la production espagnole. [11] Si on comparant avec l'année précédente la production mondiale d'huile d'olive s'est élevée à **3,098 millions** de tonnes. [14] Le **Tableau I.2** montre l'évolution de la production mondiale en **2012/2013**.

**Tableau I.2 : Evolution de la production mondiale d'huile en 2012/2013. [11]**

Pays	UE	Turquie	Tunisie	Syrie	Maroc	Algérie	Autres
<b>Production%</b>	63,98	7,17	8,09	7,28	4,68	2,08	7,71

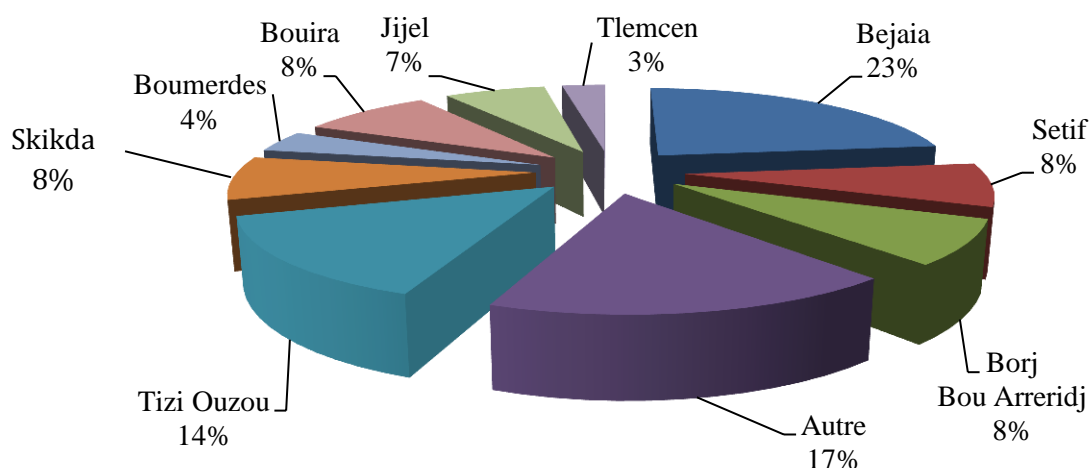
La production de l'union européenne représente près de **75%** de la production mondiale (**Annexe 01**), l'Espagne et l'Italie produisant à elles seules près de **2/3** de l'huile d'olive mondiale.

Durant la campagne **2012/2013**, la production oléicole Algérienne était de **56 000 tonnes** d'huile soit **2,08 %** de production mondiale [11].

## I-2-4 Oléiculture en Algérie:

### I-2-4-1 Répartition géographique de la production de l'huile d'olive:

La campagne oléicole au niveau national, a une superficie à plus de 300.000 hectares en 2012/2013, avec plus de 25.500.000 arbres complantés, dont un peu plus de 16 millions en production.[12] Cette surface est répartie notamment sur les zones Est et Centre-Est du pays en particulier Béjaïa, Tizi Ouzou, Bouira, Bordj Bou Arreridj, Sétif et Jijel (**Figure I.3**), qui est divisée comme suit : au centre : 112.921 ha ; à l'Est : 58.764 ha ; à l'Ouest : 35.192 ha ; et au Sud : 945 ha. La production de l'huile est focalisé à : Béjaïa, Tizi Ouzou et Bouira : 52%.[13]



**Figure I.3: Répartition de la superficie et production d'huile d'olivier 2012/2013. [13]**

### I-2-4-2 Localisation géographique des huileries :

Des données plus récentes collectées par l'ITAFV auprès des Directions des Services Agricoles des wilayas et les chambres (**Juillet 2013**), font ressortir un nombre beaucoup plus important d'huileries qui s'élève à 1680 huileries à travers le territoire national. La wilaya de Tizi Ouzou vient en tête avec un nombre de 464 huileries représentant ainsi 28 % du nombre total des huileries.

## I-3 Récolte et Trituration des Olives:

L'obtention de l'huile d'olive passe par plusieurs étapes :

### I-3-1 Récolte :

Pour fabriquer une huile d'olive riche en arôme, délicatement parfumée, et de bonne qualité, la récolte des fruits est la première étape qui doit être faite soigneusement en

respectant : la période et la méthode de la cueillette. [14]

### **I-3-2 Trituration :**

Le procédé d'extraction de l'huile d'olive consiste à broyer l'olive pour éclater les cellules de la pulpe et libérer l'huile, puis à la séparer par tous les moyens disponibles (pression, centrifugation et percolation). [15,16] Ce processus est réalisé par une succession d'opérations: lavage, broyage, malaxage de la pâte obtenue, puis l'extraction proprement dite.[17]

#### ➤ **Effeuilage et lavage :**

Ces opérations ce sont des opérations préliminaire sont effectuées, dans l'ordre par des appareils automatiques munies d'un système d'aspiration pour l'élimination des feuilles et d'un bassin à circulation forcée d'eau, pour le lavage des olives. L'effeuillage et le lavage ont pour but de débarrasser les olives de toutes les impuretés, qu'elles soient d'origine végétale, comme les feuilles et les brindilles, ou minérale, comme la poussière, la terre, les pierres et autre matières solides. [18]

#### ➤ **Broyage :**

La libération de l'huile des tissus végétaux commence par le broyage des olives. Cette opération a pour but de déchiqueter les cellules de la pulpe et de faire sortir les gouttelettes d'huile des vacuoles de manière à ce qu'elles puissent se réunir et former des gouttes aux dimensions plus grandes qui soient en mesure de se séparer des autres phases, liquides et solides, de pâte. Cette étape est réalisée principalement à l'aide de deux types d'appareils : broyeurs à meules et broyeurs métalliques. [18]

Selon le conseil oléicole international, la durée de broyage ne doit pas dépasser 20 à 30 minutes sinon la pâte deviendrait trop fine et le rendement d'extraction s'en trouverait alors réduit.

#### ➤ **Malaxage :**

L'olive passe dans un malaxeur où s'effectue un chauffage par double enveloppe avec injection d'eau dans certains cas. Les conditions idéales de malaxage sont de 30 à 45 minutes à une température de 30°C. [19] Cette opération a pour but d'homogénéiser la pâte et de détacher les cellules lipidiques. Elle a aussi comme but d'augmenter le pourcentage d'huile « libre » tout en favorisant, d'une part, la réunion des gouttelettes d'huiles en des gouttes plus grosses pour former une phase continue et, d'autre part, la rupture de l'émulsion huile/eau.[18] Cette étape est très importante pour l'amélioration du rendement. [20]

➤ **Séparation des Phases ou Extraction proprement dite :**

La séparation des phases liquides de la phase solide est réalisée à l'aide des différents équipements au sein desquels les olives sont soumises à l'action de forces diverses et qui, en fonction du système d'extraction employé, peuvent être: le pressage, la force centrifuge ou la différence entre les tensions interfaciales (percolation). [21] On distingue :

✓ **Extraction discontinue (par pressage) :**

L'extraction par pression se réalise traditionnellement sur des presses (**figure I.4**) discontinues utilisant pour accessoires des scourtins à disques filtrants, traditionnellement en fibre de coco, et désormais en polyéthylène ou polypropylène, aux armatures rigides d'acier, parfois de plastique. [17,22]

La pâte issue du broyage est empilée sur les scourtins ; à raison de 5 à 10 kg par scourtin. L'application de la pression sur la charge des scourtins doit être réalisée de manière progressive. La durée totale de l'opération de pressage, réalisée en une seule fois, varie entre 45 et 60 mn. [23] La plupart des moulins utilisent désormais des presses hydrauliques. [22] La séparation des deux phases solide-liquide se fait par simple pression alors que l'huile est séparée des margines par décantation naturelle.

✓ **Extraction continue :**

L'extraction de l'huile des olives par centrifugation directe des pâtes intervient par l'effet de la force centrifuge (**3 000 à 4 000 tours /mn**). Cette dernière accentue la différence entre les poids spécifiques des liquides non miscibles et du matériel solide et permet ainsi, la séparation continue et simultanée des différentes phases. [23] Deux technologies sont proposées, on a :

**A- Extraction continue à trois phases :**

L'extraction de l'huile d'olive se fait à travers des phases successives (**figure I.4**) contrairement au procédé discontinu. La pâte issue du malaxage est diluée avec de l'eau avant d'entrer dans le décanteur centrifuge afin que les différentes phases se séparent selon leur densité. [24]

**B- Extraction continue à deux phases :**

Le procédé technologique d'extraction de l'huile d'olives fonctionne avec un système de centrifugation à deux phases (huile et grignons humides) qui ne nécessite pas l'adjonction d'eau pour la séparation des phases huileuses et solides (**figure I.4**). Ce procédé est dit écologique. [23]

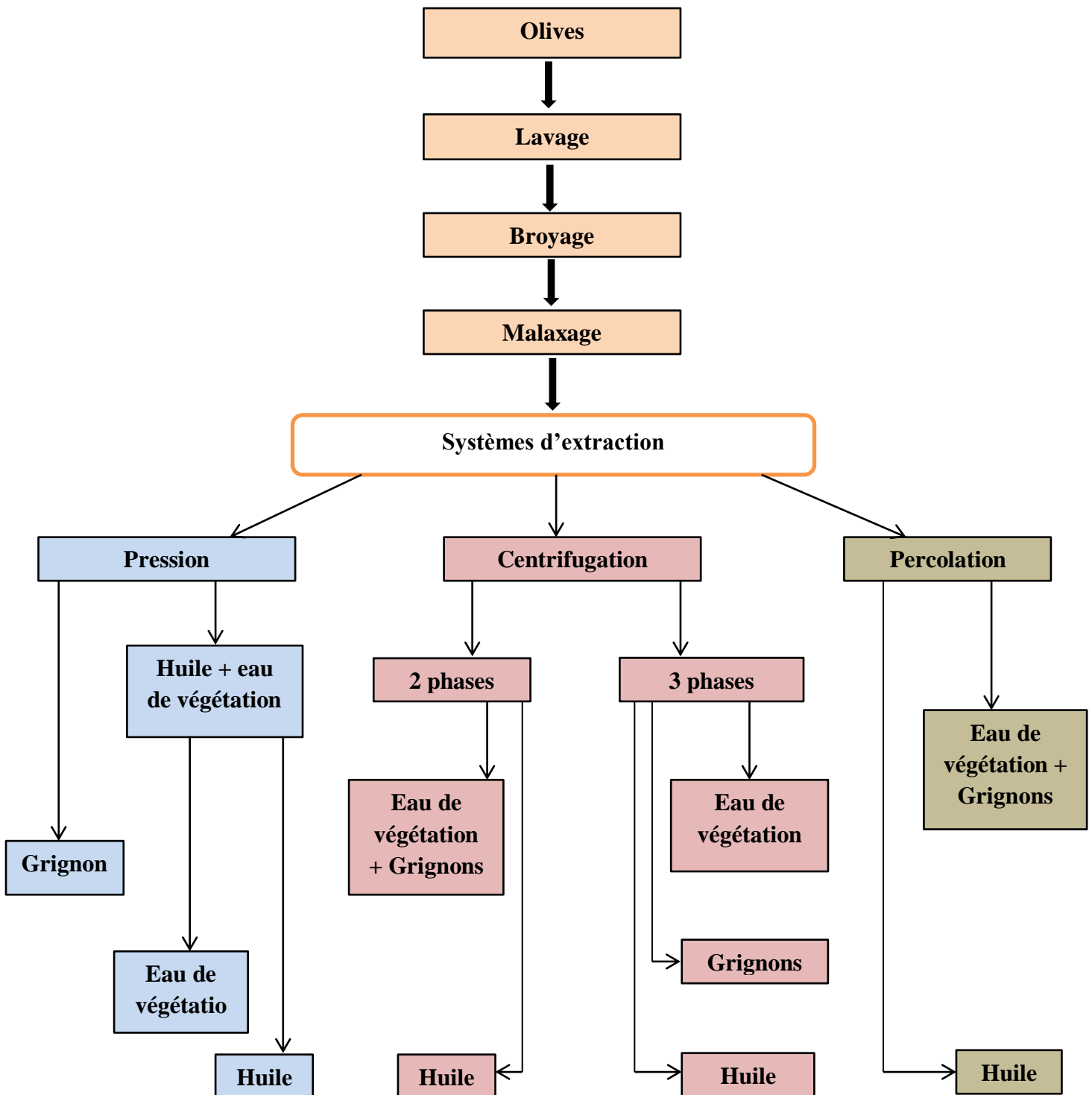


Figure I.4 : Diagramme d'extraction de l'huile d'olive par les différents systèmes. [23]

## I-4 L'huile d'olive :

### I-4-1 Définition de l'huile d'olive:

Selon le conseil oléicole internationale **COI 2003** « l'huile d'olive est une huile obtenue à partir du fruit de l'olive par des procédés physiques sans intervention de solvant, à l'exclusion des huiles obtenues par extraction avec des solvants ou par n'importe quel mélange avec d'autres types d'huile.

### I-4-2 Caractéristiques et composition :

La composition chimique de l'huile d'olive contient des éléments majeurs et mineurs. L'huile d'olive possède une composition nutritionnelle équilibrée en acides gras et en triglycérides (**98 %** du poids total). L'abondance de l'acide oléique, un acide gras mono-insaturé, est la caractéristique qui définit l'huile d'olive en dehors des autres huiles végétales. L'acide oléique ( $C_{18:1n-9}$ ) représente **56 à 84 %** des acides gras de l'huile d'olive [25], tandis que l'acide linoléique ( $C_{18:2n-6}$ ) qui est un acide gras polyinsaturé essentiel pour l'alimentation humaine, représente **3 à 21 %** [25]. Les composants mineurs, représentent environ **2 %** du poids total de l'huile, notamment, plus de **230** composés chimiques, tels que les alcools aliphatiques et triterpéniques, les stérols, les hydrocarbures, les composés volatils et les *polyphénols*.

Néanmoins, c'est la présence de composés phénoliques et d'autres antioxydants particuliers qui confèrent à l'huile d'olive une haute stabilité contre l'oxydation avec une couleur et une saveur unique la distinguant des autres huiles. [26]

**Tableau I.3 : Propriétés chimiques de l'huile d'olive [27]**

Propriétés chimiques	
Indice d'iode	80 - 88
Indice d'acide	0,3 - 1,0
Indice de saponification	185 - 195
Indice de réfraction	1,466 – 1,486



Tableau I.4 : Propriétés physiques de l'huile d'olive [27]

Propriétés physiques	
T° fusion	-3°C
T° ébullition	300°C
Masse volumique	0,914 - 0,918 g.cm <sup>-3</sup>
T° auto-inflammation	343°C
Viscosité dynamique	84 cp (20°C)

### I-5 Les sous-produits oléicoles :

L'industrie oléicole engendre, en plus de l'huile comme produit principal, de grandes quantités de sous-produits solides (**grignons d'olive, feuilles et bois de taille**), et liquides (**margines**).

Les grignons et les margines constituent les principaux sous-produits des huileries d'olive. On remarque que chaque année les pays producteurs de l'huile d'olive produisent une grande quantité de ces déchets (sous-produit). La production de ces deux sous-produits dépend notamment des techniques d'extraction de l'huile à partir d'olive, et pour cela on note :

En moyenne, le traitement de 100 kg d'olives produit environ 20 kg d'huile selon les cas, et en fonction des systèmes d'extraction. Il produit également les quantités suivantes:

- 40 kg de grignon (taux d'humidité environ 50%) et plus de 40 kg d'eaux de végétation si l'on utilise le système traditionnel. [28]
- 55 kg de grignon (taux d'humidité de 50%) et plus 100 kg d'eaux de végétation, si l'on utilise le système continu à trois phases [28].
- 70 Kg de grignons (avec une teneur en humidité de l'ordre de 60%) et jusqu'à 3,5 kg de margines, si l'extraction est effectuée par les systèmes en continu à deux phases.[30]

### I-6 Impact des sous-produits oléicoles sur l'environnement :

Le rejet solide ou liquide des industries productrices d'huiles d'olive est un problème majeur surtout dans les pays du bassin méditerranéen. Ces rejets fortement pollués causent de sérieux dégâts environnementaux.

Les margines et les grignons d'olive représentent la biomasse restante de la trituration des

olives dont l'évacuation et le traitement engendrent des problèmes environnementaux inquiétants dans la plupart des pays oléicoles et plus particulièrement dans les pays des rives Sud et Est de la méditerranée pour ce cas de l'Algérie.

#### **I-6-1 Les grignons d'olive:**

Le grignon d'olive, résidu solide de l'industrie de l'extraction de l'huile d'olive, est disponible en quantités importantes dans tout le bassin méditerranéen avec ces propriétés polluantes toxiques. Son rejet dans la nature constitue une importante source de pollution environnementale.

La majorité des grignons sont rejetés dans la nature et sont source de pollution soit parce qu'ils sont contaminés par des champignons, soit parce qu'ils rejettent des substances toxiques dans l'environnement. Les toxines fongiques ou les composés polyphénoliques qui résistent à la dégradation bactérienne peuvent alors se lixivier, menaçant ainsi la santé humaine et l'environnement. Certaines sources d'eau ont été polluées.

#### **1-6-2 Les margines :**

Les margines sont des eaux considérées très polluantes car fortement chargées en matières organiques, elles affectent particulièrement la qualité des eaux dans lesquelles elles sont déversées. [31]

Ces rejets liquides causent de sérieux dégâts environnementaux. Les mauvaises odeurs, introduites par les margines, ainsi la teneur élevée en polyphénols dans les margines participe fortement à la pollution de l'environnement. Dans ce cas-là on peut noter :

##### **➤ Pollution des eaux :**

Les margines sont peu dégradables, la très forte charge en matières organiques empêche les eaux de s'auto-épurer et la pollution peut s'étendre sur de très longues distances. [32]

L'épandage des margines, très riches en éléments azotés, peut causer une pollution par les nitrates des nappes situées dans la zone ou à proximité de la zone d'épandage. Ce qui affecte dans un autre côté la qualité de l'eau potable.

En effet les margines contiennent des concentrations élevées en phosphores et en phénol et une grande quantité de nutriments dont :

- Les phosphores accélèrent le développement des algues et augmentent la probabilité d'une eutrophisation entraînant un déséquilibre écologique dans les eaux naturelles.

- La présence des phénols, provenant de l'olive et se trouvant dans les margines, provoque une décoloration de ces eaux.
- Alors que, les nutriments entraînent une augmentation des microorganismes qui infectent les eaux et les rendent dangereuses pour la vie aquatique.
- La présence des **polyphénols** inhibe le développement des micro-organismes aussi bien en présence et en absence d'oxygène. [33]
- Le pH : qui est le premier paramètre cause directe de la mort des poissons, lorsque la margine est déversée dans les lits des fleuves.
- La teneur en matière grasse provoque la formation d'une couche à la surface de l'eau empêchant sa correcte oxygénation et le passage de la lumière faisant obstacle au développement normal de la faune et la flore au sein des fleuves.

➤ **Pollution des sols :**

Epandues sur les sols, les margines diminuent la qualité des sols. Les substances toxiques contenues dans ces eaux se fixent dans les sols. Certaines de ces substances telles que les phénols peuvent inhiber l'activité microbienne du sol.

Les acides, les éléments minéraux et les substances organiques aboutissent à une destruction de la capacité d'échange cationique du sol (CEC) [32], et par suite à une réduction de la fertilité du sol.

### **I-7 Conclusion :**

Les sous-produits agroalimentaires des industries oléicoles, tel que Les grignons d'olive ainsi que les margines. Leur déversement dans les milieux naturels provoque sérieux problèmes environnementaux et sont considérés comme principales sources de pollution. Par conséquent, leur valorisation est devenue une nécessité intense de toutes entreprises, ceci va permettre de réduire leurs impacts sur l'environnement.

Les sous-produits des industries oléicoles se sont l'objet du chapitre suivant.

## *Chapitre II*

*« Les sous-produits oléicoles »*

## II-1 Introduction :

L'industrie oléicole, en plus de sa production principale qui est l'huile, engendre la production de deux résidus : un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons d'olive) [34]. Ces effluents ont jusqu'à présent peu de valeur économique en Algérie.

Par rapport aux olives traitées, la production mondiale de grignons bruts est environ de 2,9 millions de tonnes sachant qu'en moyenne 100 kg d'olives traitées engendrent 100 litres de margines, la production mondiale de margine serait de 8,4 millions de mètres cubes. [33]

## II-2 Les grignons d'olive :

### II-2-1 Définition:

Les grignons sont les résidus solides issus de la première pression ou centrifugation et sont formés des pulpes et noyaux d'olives. [31] Il est constitué de l'épicarpe du fruit (pellicule) le mésocarpe (pulpe ou chair de l'olive) et l'endocarpe (coque et amande de noyau).

En général, 100 kg d'olives donnent en moyenne (après trituration par système classique) 33-45 kg de grignon brut (avec une humidité de 25-27 %) qui, après épuisement (extraction de l'huile résiduelle) par solvant donnent 25-26 kg de grignon épais (avec une humidité de 15 %) constitués de 13 à 14 kg de coque et de 12 à 13 kg de pulpe (avec une humidité de 5 à 8 %). [35]

### II-2-2 Caractéristiques physicochimiques:

#### II-2-2-1 Caractéristiques physiques:

Les grignons bruts renferment la coque du noyau, réduite en morceaux, la peau et la pulpe broyée de l'olive, environ 25% d'eau et encore une certaine quantité d'huile peut atteindre les 9,1% qui favorisent leur altération rapide. [36]

Les grignons épais diffèrent essentiellement par une plus faible teneur en huile et une teneur en eau réduite du fait qu'ils ont été déshydratés au cours du processus de l'extraction.[36]

Les grignons épais partiellement dénoyautés sont constitués essentiellement par la pulpe (mésocarpe) et contiennent encore une petite proportion de coques qui ne peuvent être séparées complètement par les procédés de tamisage ou de ventilation utilisés. [36]

### II-2-2-2 Composition et caractéristiques chimiques:

La composition chimique des grignons d'olive varie dans de très larges limites selon le stade de maturité des olives, le procédé d'extraction de l'huile, l'épuisement par les solvants.[33] Cette composition peut se résumer comme suit :

- La teneur en cendres est normalement faible (3 à 5 %). Les teneurs élevées rencontrées sont dues à l'absence de lavage et à la présence des olives ramassées à même le sol. [33]
- Les teneurs en matière azotée varient moins fortement et sont en moyenne de l'ordre de 10 %. [33]
- La teneur en matières grasses est relativement élevée et varie principalement selon le procédé technologique employé. L'épuisement de grignon permet d'avoir un produit dont la teneur oscille entre 3 et 4 % de la MS (matière sèche). Ces matières grasses sont composées principalement d'acide oléique (84 %), stéarique, palmitique, myristique et linolique. [33]
- La teneur en cellulose brute est élevée (32 à 47 %). [33]
- Le grignon d'olive peut contenir jusqu'à **2.5%** de **polyphénols** comme le montre le **tableau II.3**. [35] Ceci on peut consolider par le fait que les grignons contiennent peu de produits de nature phénolique alors que les margines et l'huile en contient des quantités appréciables. [33] Le **tableau II.1** montre les caractéristiques des grignons d'olive.

**Tableau II.1 : Caractéristiques du grignon d'olive. [37]**

Matières organique (%)	Humidité(%)	Hémicellulose(%)	Cellulose(%)	Lignine(%)
2.6	4.8	30.7	36.9	18.5

**Tableau II.2: Composition chimique indicative des différents types de grignons. [36]**

Type	Matière Sèche	% de la Matière Sèche			
		Matières minérales	Mat. Azoté totales	Cellulose brute	Matières Grasses
<b>Grignon brut</b>	75–80	3–5	5–10	35–50	8–15

<b>Gr. gras part. dénoyauté</b>	80–95	6–7	9–12	20–30	15–30
<b>Grignon épuisé</b>	85–90	7–10	8–10	35–40	4–6
<b>Gr. épuisé part. dénoyauté</b>	85–90	6–8	9–14	15–35	4–6
<b>Pulpe grasse</b>	35–40	5–8	9–13	16–25	26–33

**Tableau II.3 : Caractéristiques des grignons bruts issus de divers procédés d'extraction de l'huile. [35]**

Paramètres	Système d'extraction		
	Par pressage	Continue 3-Phases	Continue 2-Phases
Humidité %	27.2	50.23	56.8
Huile %	8.72	3.89	4.65
Composés Phénoliques %	1.5	0.326	2.43
Protéines %	4.77	3.43	2.87
Sucre totaux %	1.38	0.99	0.83
Cellulose %	24.1	17.37	15.54
Hémicellulose %	11.0	7.92	6.63
Carbone total %	42.9	29.03	25.37
Cendres %	2.36	1.7	1.42
Azote %	0.71	0.51	0.43
Phosphore P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	0.07	0.05	0.04
Lignine %	14.1	10.21	8.54
Potassium K <sub>2</sub> O %	0.54	0.39	0.32

### II-2-3 Valorisation du grignon d'olive:

Les grignons d'olive se sont les résidus d'extraction de l'huile d'olive. La valorisation de ces sous-produits oléicoles constitue une source potentielle de revenu complémentaire susceptible de contribuer à l'amélioration de la rentabilité des exploitations oléicoles [17]. Les champs d'application des grignons sont nombreux et variés. On peut citer:

➤ **Extraction de l'huile de grignon :**

L'huile récupérée par solvant à partir du grignon est appelée huile de grignon d'olive. Elle est utilisée pour la consommation humaine après le raffinage. L'huile de grignon d'olive a d'autres usages en industrie notamment pour la fabrication du savon.

➤ **Utilisation comme combustible :**

Avec un pouvoir calorifique de 3500 Kcal/kg, les grignons sont utilisés, comme combustibles, pour alimenter en énergie le secteur oléicole et d'autres secteurs. [38] Cette quantité de chaleur est apportée principalement par la coque qui a un pouvoir calorifique relativement élevé (4000 Kcal/kg). La pulpe n'apporte que peu de calories (1400 Kcal/kg). De plus, la coque représente une fraction sans intérêt pour l'animal, ce qui assure tout l'intérêt du tamisage. [33]

➤ **Charbon actif :**

Le grignon d'olive possède toutes les caractéristiques propices pour qu'il bénéficie, en subissant au préalable des traitements chimiques et thermiques, d'un très important pouvoir adsorbant vis-à-vis des matières organiques.

➤ **Utilisation de grignon comme engrais :**

Les cendres peuvent être utilisées comme engrais en raison de leurs teneurs élevées en oxyde de potassium et en phosphore.

➤ **Ingrédient des matériaux de construction :**

- L'usage du grignon d'olive dans la fabrication de la brique constitue une percée intéressante à plusieurs points de vue ; Il diminue la masse volumique des briques ce qu'il les rend plus légères. Il crée aussi des pores, c'est une caractéristique recherchée aujourd'hui dans le but d'économiser l'énergie car la présence des pores dans les matériaux contribue à diminuer la conductivité thermique et augmente ainsi son pouvoir d'isolation. [39]

- Fabrication des panneaux à particules dans l'industrie du bois ; la coque peut servir aussi au polissage de certaines surfaces métalliques,

➤ **Alimentation des animaux:**

Le grignon ne contenant pas de substances toxiques ou inhibitrices peut servir à l'alimentation des animaux.



## II-3 Les margines :

### II-3-1 Définition:

Les margines ou eaux de végétation sont des effluents liquides générés par la fabrication de l'huile. Généralement, 40 à 50 % de ces eaux proviennent du fruit, le reste de l'eau ajoutée pendant la trituration. Le volume des margines varie avec le système d'extraction. [40] Le pressage de 1 tonne d'olives produit en moyenne 1,5 tonnes de margines avec les modes de production modernes. Les variations constatées dépendent des processus d'extraction : lavage préalable ou non des olives, humidification des pâtes durant le pressage. [31]

Les margines ou eaux de végétation se présentent comme un liquide résiduel aqueux brun. Ce liquide a une odeur agréable mais un goût amer. Cet effluent relativement riche en matières organiques constitue un facteur de pollution qui crée un problème réel à l'industrie oléicole.[36]

### II-3-2 Composition et caractéristiques physicochimiques:

Les margines ont un aspect trouble, une coloration brun-rougeâtre à noire. Cette couleur est fonction de l'état de dégradation des composés phénoliques et des olives dont ils dérivent.[41] Leur odeur rappelle celle de l'huile d'olive, mais elle peut devenir gênante lors des phénomènes de fermentation anaérobie. [42] La composition fondamentale des margines sont mentionnées dans le **tableau II.4**.

Les variations des caractéristiques des margines résultent du type du procédé d'extraction de l'huile, de la qualité et de la variété des olives et de la conduite des opérations d'extraction. [43] Et aussi la période de production.

**Tableau II.4 : Composition chimique générale des margines. [31]**

Composant	Teneur [%]
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	1.0 – 1.5 %

Les margines sont acides et extrêmement chargées en matières organiques qui contiennent essentiellement des sucres, des lipides, des acides organiques, des acides aminés et des composés phénoliques. Le fruit d'olive est très riche en composés **phénoliques** mais

seulement 2 % du contenu total du fruit passe dans la phase huileuse. Le reste se retrouve dans la phase liquide (approximativement 53 %) et dans le grignon. [44]

**Tableau II.5 : Caractéristiques physico-chimiques des margines. [45,81]**

Paramètres	Procédés d'extraction de l'huile	
	Pression	Centrifugation
pH	4.2 - 5.9	
Conductivité ms/cm	18 - 50	
Matières sèches g/l	15.5 - 266.5	9.5 - 161.2
Matières organiques kg/m <sup>3</sup>	Sucre : 50 Huile : 0,3 à 5 Tannins : 8 à 16	
Sodium mg/L	38 - 285	18 - 124
Potassium mg/L	1500 - 5000	630 - 2500
Calcium mg/L	58 - 408	47 - 200
Magnésium mg/L	90 - 336	60 - 180
DBO g O <sub>2</sub> /L	45 - 100	
DCO g/l	100 - 600	
Composés phénoliques g/L	1.0 - 1.5 %	
Cendres g/L	4 - 42	0.4 - 12.5

### II-3-3 Valorisation des margines :

Compte tenu de leur pourcentage en matière organique (10 à 15%) et de leur composition chimique, les margines seules ne peuvent constituer un produit de valeur ajoutée intéressante. Enrichies, mélangées à d'autres résidus agricoles, concentrées, séchées et/ou purifiées, elles peuvent être valorisées et employées pour la production de certains composants de valeur ajoutée.

Les margines peuvent faire l'objet de plusieurs types de valorisation. On peut citer :

- Transformation des substances organiques des margines en biogaz (80% des substances organiques se transforment en biogaz pour donner 65-70% de méthane) par une série de réactions biochimiques effectuées par deux types de bactéries acidogènes et méthanogènes. [46]

- Récupération des composés phénoliques qui peuvent être utilisés en industries

pharmaceutique et cosmétique.

– Production de protéines unicellulaires : ce procédé ne manque pas d'intérêt car il se traduit par une diminution de la DBO (60 à 70%) et l'obtention de 13 kg de levure par mètre cube de margine. En plus, les cellules de levure absorbent le colorant brun des margines qui empêche l'épuration parfaite des eaux polluées.

– Les margines peuvent être utilisées pour obtenir un compost fertilisant pour les sols.[47]

– Possibilités d'utilisation en alimentation animale : d'après [36] a décrit un procédé qui pourrait se révéler intéressant dans certaines conditions et qui est actuellement développé en Italie. Ce procédé qui associe environ:

- 50 kg de margines
- 20 kg de grignon épuisé partiellement dénoyauté
- 12,6 kg de divers résidus et sous-produits agricoles

Permet la production de 29 kg d'aliments.

## *Chapitre III*

*« Généralités sur les polyphénols et  
leur importance »*

### III-1 Définition :

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. [48] On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits.

Les fonctions des composés phénoliques ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement [48], contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement **10000** composés naturels identifiés.

### III-2 Principales sources de polyphénols :

#### III-2-1 Produits alimentaires

Les composés phénoliques sont présents dans la plupart des organes végétaux consommés par l'homme : graines (soja, coton, moutarde, riz, cacao, café...), fruits (raisin, citron, olive...); feuilles : (romarin, thé...), ils se retrouvent également, plus au moins transformés dans les produits industriels issue de ces même végétaux, jus de fruit, vin, bière, café, chocolat...etc.

#### III-2-2 Végétaux

Les composés phénoliques peuvent exister dans les différents organes des végétaux : racines, écorces, bois, feuilles, fleurs, graines.

### III-3 Principales classes des composés phénoliques :

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes. [48]

#### III-3-1 Polyphénols simples :

##### III-3-1-1 Acides phénoliques :

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. [48] Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués.

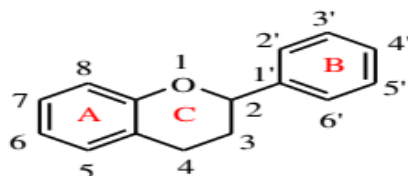
- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique,
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique.



**Figure III.1 : Structure des acides hydroxycinnamiques et l'acide p-hydroxybenzoïque**

### III-3-1-2 Flavonoïdes :

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux. Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (**Figure III.2**). [49] Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...).



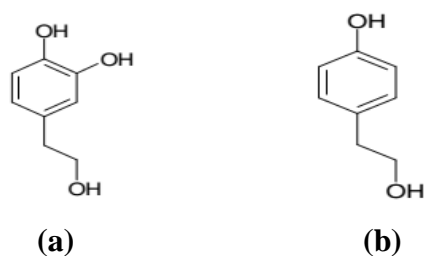
**Figure III.2: Squelette de base des flavonoïdes**

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules (**Tableau III.1**) dont les plus importants polyphénols. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides.

### III-3-1-3 Alcools phénoliques :

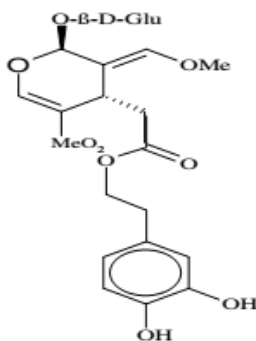
Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphenylethanol) (**Figure III.3**) sont les principales molécules

de cette classe. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique. [48]



**Figure III.3 : (a) : Structures de l'hydroxytyrosol, (b) : tyrosol**

Le principal alcool phénolique de l'olive (responsable de l'amertume du fruit) est l'oleuropéine (**Figure III.4**) (60 à 90 mg/g matière sèche). [48]



**Figure III.4 : Structures de l'oleuropéine.**

#### III-3-1-4 Les stilbènes

Ces composés sont en très petite quantité dans notre alimentation. Le plus connu d'entre eux est le resvératrol qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques de plantes médicinales [50].

#### III-4-2 Polyphénols complexes:

##### III-4-2-1 les tanins :

Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines [48]. Leurs structures chimiques sont en effet variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes. Sur le plan

structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Annexe 04). [48]

### III-4-2-2 Lignines :

Ces composés de haut poids molécules contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation (copolymérisation) de trois alcools phénylpropéniques.

**Tableau III.1 : Principale classes de composés phénoliques. [45, 81]**

Squelette carboné	Classe
$C_6$	Phénols simples
$C_6-C_2$	Acides hydroxybenzoïques
$C_6-C_3$	Acides hydroxycinnamiques Coumarines
$C_6-C_4$	Naphtoquinones
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes
$C_6-C_3-C_6$	Isoflavonoïdes, Flavonoïdes Flavonols Anthocyanes Flavanones Flavanols
$(C_6-C_3)_2$	Lihnanes
$(C_6-C_3)_n$	Lignines
$(C_{15})_n$	Tannins

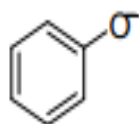
Les différentes structures des composés phénoliques sont détaillées en (Annexe 02 et Annexe 03).

### III-5 Propriétés chimiques majeurs des composés phénoliques :

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques (Phénol de base  $C_6H_5OH$ ). [48]



Une propriété importante des groupements hydroxyles des phénols est leur acidité due à la labilité des protons acides, qui entraîne la formation d'anion phénoxydes (**Figure III.5**) stabilisés par résonance. Cet anion, a la possibilité de perdre un électron pour former un radical; l'électron, lui, pouvant être récupéré par un radical libre. La structure aromatique du radical phénoxyde ainsi formé lui confère une certaine stabilité, donc une réactivité plus faible, en raison de la délocalisation du radical. Il peut, ensuite, réagir avec un autre radical libre. [51]



**Figure III.5 : Structure de l'ion phénoxyde**

Les substitutions les plus rencontrées sur les phénols des végétaux sont principalement la méthylation et la conjugaison avec des esters et des glycosides, lesquels peuvent être acylés. Les polyphénols sont généralement glycosylés dans leur état naturel. [51]

Par conséquent, l'aptitude de certains polyphénols à être naturellement présents sous forme glycosidique dans l'aliment leur octroie une biodisponibilité toute relative. En effet, il a été montré que la glycosylation, la conjugaison et la polymérisation tendaient à diminuer leur absorption intestinale. [51]

## III-6 Rôle des polyphénols

### III-6-1 Rôle des polyphénols dans les plantes

Une des fonctions majeures des polyphénols (**flavonoïdes**) est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs.

On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. D'autre part, les composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne. [52]

### III-6-2 Activités antibactérienne, antifongique et antivirale

Les plantes ont une capacité intrinsèque à synthétiser des métabolites secondaires dont certains sont des composés aromatiques de types phénols. Ces composés jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine. [53]

### III-6-3 Activité anti-inflammatoire

Dans la famille des stilbènes, le resvératrol, a montré des propriétés anti-inflammatoires. Les recherches se tournent actuellement vers la synthèse de produits à base de resvératrol dans le but de diminuer l'utilisation de médicaments synthétiques. [54]

## III-7 Polyphénols en tant qu'antioxydants :

### III-7-1 Les antioxydants

Ils sont des composés naturels ou ajoutés, qui permettent de ralentir le phénomène d'oxydation qui est celui qui fait rouiller les métaux, qui fait flétrir les légumes et les fruits, rancir les graisses. Il modifie le **goût** et la **couleur** des aliments.

### III-7-2 Pouvoir antioxydant des polyphénols :

Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences.

Les composés phénoliques peuvent agir comme des antioxydants de différentes manières. D'après [55] ont permis de mettre en évidence le rôle des composés phénoliques totaux dans la préservation de la qualité de l'huile et surtout de l'acide linoléique qui est resté un acide essentiel pour l'homme. D'après [56] ont étudié l'effet antioxydant d'extraits phénoliques des margines d'olive et d'un antioxydant de synthèse sur les échantillons de l'huile d'olive vierge issue d'une huilerie traditionnelle.

## III-8 Valorisation et application des polyphénols

Les polyphénols de telles propriétés ont donc été exploités, et trouvent des applications dans de nombreux domaines industriels. Nous citons :

### III-8-1 En cosmétologie

L'intérêt des polyphénols en cosmétologie est lié aux propriétés suivantes : propriété antioxydant, le pouvoir anti-inflammatoire, effet antimicrobien, et l'intervention sur l'activité

de nombreuses enzymes. Ces composés phénoliques luttent contre le vieillissement cutané en tant que molécule antiradicalaire et en tant que protecteur des protéines de peau comme l'élastine et le collagène [57].

### III-8-2 En agroalimentaire

D'après [58] Posent le problème de la place des polyphénols dans l'alimentation et soulignent leurs différentes fonctionnalités :

- Action sur la qualité sensorielle des aliments, flaveur, saveur et couleur ;
- Action dans le domaine de la sécurité des aliments, rôle antibactérien ...etc.;
- Action sur l'amélioration de la santé publique, lutter contre les pathologies dégénératives.

On peut utiliser les polyphénols comme des colorants : c'est un intérêt des industries agroalimentaires. On peut citer :

- La curcumine (**E100**) extrait de curcuma responsable de la couleur jaune.
- La bétacyanine extrait principalement de la betterave et responsable de la coloration violette.
- Les anthocyanes (**E163**) sont responsables de la coloration rouge, bleu et violette nombreux fruits, légumes et fleurs...etc.

### III-8-3 En pharmacie

Des médicaments à base des biflavonoïdes comme l'hespéridine sont utilisés dans le traitement des insuffisances veineuses chroniques et la prévention des thromboses post opératoire.

Les polyphénols améliorent le tonus veineux et les drainages lymphatiques, favorisent la circulation capillaire en diminuant le processus inflammatoire et accélèrent la cicatrisation des ulcères veineux.

### III-8-4 En médecine :

Les polyphénols (les tannins) peuvent avoir un effet antimicrobien, anti-mutagène, Protection cardiovasculaire et anti-cancérogène.

L'effet de certains flavonoïdes en médecine humaine est de plus en plus étudié dans le traitement de certaines maladies, et particulièrement pour le contrôle du virus de l'immunodéficience, principal responsable du **SIDA** [59].

Une étude sur le cancer du côlon a également montré que des extraits phénoliques d'huile d'olive semblaient réduire la capacité d'adhésion des cellules cancéreuses, ce qui ralentirait la prolifération du cancer du côlon [60].

## *Chapitre IV*

*« Les techniques d'extraction »*

## IV-1 Introduction

La voie principale d'obtention des composés phénoliques c'est l'extraction des produits végétaux : fruits, légumes, céréales et plantes (feuilles, branches, racines), les sous-produits agroalimentaires : les grignons d'olive, les margines ...etc. Cependant des techniques modernes permettent d'extraire une quantité plus importante en polyphénols.

## IV-2 Définition de l'extraction

Une extraction consiste à retirer (*extraire*) une ou des espèces chimiques d'un milieu solide ou liquide. Suivant ces milieux, il existe plusieurs techniques d'extraction, chacune étant adaptée aux propriétés physiques ou chimiques de l'espèce à extraire.

## IV-3 L'extraction solide-liquide

### IV-3-1 Définition

L'extraction solide-liquide est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire, de séparer, de dissoudre soit par immersion soit par percolation d'un liquide, un ou plusieurs composants (liquide ou solide) mélangés à un solide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide, qui contient la matière à extraire et une phase liquide, le solvant d'extraction [61].

### IV-3-2 Les différents procédés d'extraction solide-liquide [62]

Les opérations d'extraction solide-liquide regroupent plusieurs méthodes, nous citons :

- **La percolation** : Consiste à laisser couler un solvant (généralement très chaud) sur un lit de solides finement divisés. La préparation du café relève de cette opération.
- **La décoction** : C'est l'opération dans laquelle le solide est mis à bouillir dans un liquide en vue d'extraire les parties solubles.
- **L'infusion** : Est une décoction durant laquelle le solvant est chauffé sans être mis en ébullition, suivie du refroidissement du mélange. La préparation du thé est l'exemple type de cette opération.
- **La macération** : C'est la mise en contact plus au moins prolongé à froid d'un solide dans un solvant en vue d'extraire les parties solubles
- **La digestion** : Est une macération à chaud. Cette opération et la macération sont utilisées particulièrement en pharmacie et en parfumerie.

- **L'éluion** : Consiste à enlever un soluté fixé à la surface d'un solide par simple contact avec un solvant. Elle est fréquemment utilisée dans les méthodes d'analyse chromatographique.

#### IV-3-4 Mécanismes de l'extraction solide-liquide [63]

L'extraction solide-liquide est généralement réalisée par contact intime entre le solide et le solvant et séparation mécanique de la solution et du solide. Schématiquement, l'extraction va se dérouler en quatre grandes phases :

1. La diffusion du solvant dans la matrice solide,
2. Le passage du soluté dans le solvant,
3. Le lavage du solide par du solvant frais ou pauvre en soluté,
4. La séparation mécanique du solide et de la solution contenant les solutés.

Les solvants utilisés sont généralement de nature organique, ils peuvent être pur ou mélangés (eau-acétone, eau-méthanol, eau-éthanol, méthanol, l'éthanol, l'eau, l'acétate d'éthyle, l'éther diéthylique, etc...).

##### IV-3-4-1 Facteurs influençant les performances de l'extraction solide-liquide

Plusieurs facteurs interviennent sur les performances de l'extraction par solvant à savoir :

- *Nature et état du solide et du soluté*

Plus la matière est divisée et plus la surface d'échange est grande et plus le parcours moyen du soluté est petit. La fragmentation fine s'impose lorsque le soluté est occlus dans un réseau d'inerte, mais une grande finesse du solide peut devenir un inconvénient quoique la division ne soit pas toujours une règle générale. [64]

- *Influence du soluté*

Le soluté à extraire influence la diffusion de par sa structure moléculaire, sa taille, sa localisation, sa répartition et ses liaisons dans la matière végétale avec d'autres composés. Il a été montré que la vitesse de diffusion diminue quand la taille moléculaire augmente. [65]

- *Influence du solvant [66]*

Un solvant d'extraction est choisi en fonction de :

- ✓ Ses propriétés physiques : densité, viscosité, point d'ébullition, chaleur spécifique ;
- ✓ La solubilité des composants spécifiques dans le solvant ;

- ✓ La régénération du solvant si celui-ci doit être réemployé ;
- ✓ Ses caractéristiques économiques et son prix de revient.

Le solvant doit être sélectif, non toxique, a une capacité de dissolution élevée et peu coûteux.

➤ ***Influence de la température [62]***

Dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction et ceci pour quatre principales raisons :

- ✓ La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation,
- ✓ La gamme des hautes températures usuelles, augmente la solubilité des matières à extraire, elle augmente les coefficients de diffusion,

➤ ***Influence de l'humidité***

En règle générale, les matières végétales sont séchées pour faciliter leur conditionnement et surtout leur stockage. Un surplus d'humidité peut donc détériorer le substrat. De plus, lors de l'utilisation de solvants hydrophobes, la diffusivité est inversement proportionnelle à la teneur en eau du solide [61].

Toutefois un séchage intense peut conduire à la contraction des membranes cellulaires rendant plus difficile le processus d'extraction. Il est donc admis que pour une extraction efficace, l'humidité de la phase solide doit être comprise entre 5 et 10 % [67]

➤ ***Influence de l'agitation***

L'agitation mécanique des particules dans le solvant a un effet favorable sur les performances de l'extraction solide-liquide. En effet, une agitation suffisante permet de maintenir en suspension les particules et d'assurer l'homogénéisation du milieu. Elle permet également de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de la couche limite et d'augmenter ainsi le coefficient de transfert [63].

➤ ***Influence de la durée d'extraction***

Les quantités de substances extraites sont fonction du temps de séjour du matériel au sein du solvant (temps nécessaire à la pénétration du solvant à l'intérieur des vacuoles, dissolution du composé ...etc.). Il est conseillé d'arrêter l'extraction à l'instant où le rendement en produit de meilleure qualité soit maximum [62].



### **IV-3-6 Différentes techniques d'extraction**

Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits de haute valeur ajoutée présents dans les plantes. Ces techniques peuvent être dites conventionnelles (utilisées depuis longtemps) et nouvelles (développées plus récemment) [68]

#### **IV-3-6-1 Les technique conventionnelles**

##### **➤ L'entraînement à la vapeur (Hydrodistillation)**

C'est une technique largement utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. L'avantage de cette technique réside en l'abaissement de la température de distillation ; les composés sont donc entraînés à des températures beaucoup plus basses que leur température d'ébullition, ce qui évite leur décomposition [69].

##### **➤ Le SOXLHET**

C'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. Dans cette technique l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction. Le **SOXLHET** est indépendant de la matrice végétale.

##### **➤ L'extraction en mode batch par agitation**

C'est une méthode simple et efficace mais qui exige des procédures postérieures de filtration et de concentration relativement longues.

##### **➤ L'extraction par SONICATION**

C'est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette technique est facile à mettre en œuvre. La sonication permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels.

#### **IV-3-6-2 Les technique nouvelles**

##### **➤ L'extraction assistée par microondes**

C'est également une alternative aux méthodes d'extraction conventionnelles. Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse et est considérablement rapide.

Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute (100-150 °C). [70]

➤ **L'extraction accélérée par solvants**

C'est une technique brevetée de la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50 – 200 °C) et des pressions (100 – 150 bar) élevées. La pression est maintenue assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée.

➤ **L'extraction avec des fluides supercritiques**

C'est une méthode très attractive qui mérite une attention particulière. Les avantages de cette méthode devant les méthodes conventionnelles sont basées sur une durée d'extraction plus courte, une sélectivité élevée et la facilité d'éliminer le solvant après l'extraction par simple décompression [71].

#### **IV-3-7 Applications de l'extraction solide-liquide [72]**

L'extraction par solvant reste l'une des méthodes les plus utilisées dans les différentes industries qui font appel à des matières premières de nature végétale, on peut citer :

- **L'industrie agro-alimentaire** : Extraction du sucre à partir de la canne à sucre ou de la betterave sucrière, extraction de l'huile à partir du tournesol ;
- **L'industrie pharmaceutique** : Extraction des vitamines à partir des différents fruits, des antibiotiques et des alcaloïdes à partir des plantes ;
- **L'industrie des parfums** : Extraction des huiles essentielles à partir des plantes, fleurs et racines.

### **IV-4 L'extraction liquide-liquide**

#### **IV-4-1 Définition**

L'extraction liquide-liquide est un procédé qui permet la séparation de un ou plusieurs constituants d'un mélange en mettant à profit leur distribution inégale entre deux liquides pratiquement non miscibles [73]. Elle consiste en un transfert de matière entre deux phases liquides non ou partiellement miscibles. Les méthodes d'extraction se basent essentiellement sur le suivi d'équilibre, et donc le transfert de masse ne peut être ignoré.

#### **IV-4-2 Les différents méthodes d'extraction liquide-liquide [74]**

Il existe à ce jour dans la littérature plus de 23 000 articles décrivant des techniques d'extraction liquide-liquide. On peut noter :

#### IV-4-2-1 L'extraction simple

L'extraction simple consiste à extraire en une seule étape le maximum de soluté initialement présent dans une solution par un solvant. Le solvant sera choisi en fonction de son pouvoir dissolvant vis-à-vis le soluté, c'est-à-dire un coefficient de partage favorable au solvant.

#### IV-4-2-2 L'extraction multiple

Les extractions multiples sont employées dans deux cas. On peut noter :

- ✓ Dans le cas où le rendement d'extraction simple n'est pas satisfaisant,
- ✓ Dans le cas où l'extrait n'est pas suffisamment purifié.

#### IV-4-2-3 L'extraction par paire d'ions

Le principe de l'extraction par paire d'ions repose sur l'élimination ou le camouflage de la charge d'un ion par une molécule de charge opposée appelée contre-ion, puisque seules les molécules de charge neutre sont extractibles par les solvants organiques. Ce procédé concerne les molécules pour lesquelles le recul d'ionisation n'est pas suffisant.

#### IV-4-2-4 L'extraction liquide-liquide sur support solide

L'extraction se fait sur un support solide qui est constitué de terre de diatomées. Les diatomées sont des algues unicellulaires entourées d'une coque siliceuse. Les procédures d'extraction se fait par la déposition directement de la matrice sur la cartouche. À ce moment la phase aqueuse de la matrice est adsorbée sur la terre de diatomée.

#### IV-4-3 Le processus de l'extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est réalisée par le contact intime du solvant avec la solution à traiter dans des appareils destinés à mélanger les deux phases (ampoules, colonnes, mélangeurs). La séparation des phases s'obtient par décantation gravimétrique. [61]

Pour réaliser le procédé d'extraction liquide-liquide deux opérations distinctes doivent être effectuées : [61]

- ✓ Le mélange intime de deux phases liquide par brassage (agitation).
- ✓ La séparation des deux phases par décantation auquel peut s'ajouter dans certain cas la mise en œuvre d'une force centrifuge, champ électrique, chauffage...etc.

A l'équilibre, la phase aqueuse est dite « raffinat » et la phase organique « extrait ».

Beaucoup de facteurs indépendants de la nature du solvant sont susceptibles d'influencer l'extraction du soluté. Parmi ces facteurs ont été détaillés (voir paragraphe IV-4-2).

#### IV-4-4 Classification des systèmes d'extraction [61, 75]

Plusieurs systèmes de classification existent dans la littérature. Quatre systèmes d'extraction sont recensés :

- ✓ *Extraction par solvation;*
- ✓ *Extraction par échange de cations;*
- ✓ *Extraction par échange d'anions;*
- ✓ *Extraction par chélation.*

#### IV-4-5 Application de l'extraction liquide-liquide [76, 77].

Les applications industrielles de l'extraction *liquide-liquide* est très vaste, nous citons :

##### 1. Pétrochimique

- ✓ Production d'aromatiques;
- ✓ Purification du Pétrole;
- ✓ Alkylation.

2. *Chimique* : Pour la synthèse de polymères Fibres, Pesticides, Herbicides...

##### 3. Alimentaire et Pharmaceutique

- ✓ Récupération des antibiotiques et Vitamines,
- ✓ Purification des produits génétiques.

4. *Métallurgique* : Pour la récupération et purification des métaux

5. *Nucléaire* : Cette technique est applicable dans le traitement des déchets

##### 6. Environnementale

- ✓ Traitement des eaux polluées,
- ✓ Récupération et recyclage de sous-produits.

# *Chapitre V*

*« Matériels et méthodes »*

Dans ce chapitre, est d'écrit le matériel utilisé et les méthodes suivies lors des procédés expérimentaux. Il consiste à valoriser deux sous-produits agroalimentaire (*les grignons d'olive* et *les margines*) contenant des polyphénols par des techniques d'extraction appropriées.

L'étude expérimentale de ce travail a été menée dans le laboratoire de L'UNITE DE RECHERCHE EN INGENIERIE ET ENVIRONNEMENT du département de génie de l'environnement de l'ENP, les méthodes d'analyse ont été effectuées dans le laboratoire de BEKER de Dar-El-Beida.

### V-1 Matériel végétal

Le matériel utilisé est constitué des grignons d'olive et des margines issue d'une huilerie d'huile d'olives.

Les grignons et les margines ayant fait l'objet de cette étude proviennent de la trituration de l'olive. Les échantillons ont été récupérés en mars 2015 à partir d'une huilerie traditionnelle (extraction par presse) située à AKBOU (Bejaïa).



Figure V.1 : (1) les grignons d'olive (2) les margines utilisés

#### V-1-1 Caractérisation du matériel végétal

Dans ce travail; différentes techniques ont été employées pour caractériser les grignons d'olive et les margines étudiés. Nous citons :

##### V-1-1-1 Grignons d'olive

###### a) L'humidité

L'humidité ou encore teneur en eau désignée par  $W$  d'un échantillon est le rapport entre la masse d'eau contenue dans l'échantillon à sa masse anhydre, si on utilise sa masse totale ce rapport sera désigné par  $W_{MT}$ .

**b) Matière sèche**

La matière sèche (**MS**) est ce que l'on obtient lorsqu'on retire l'eau d'un produit. Le pourcentage de matière sèche est le ratio entre le poids de la matière sèche et la masse de la matière non-sèche (hydratée).

**V-1-1-2 Les margines****a) pH**

Après étalonnage du pH-mètre, l'électrode de mesure est plongée dans un bêcher contenant un volume de 20 à 30 ml de margine et on note le **pH**.

La mesure du **pH** se fait directement dans les effluents d'huileries d'olive bruts à température ambiante.

**b) Teneur en eau et en matière sèche**

La teneur en eau c'est la quantité d'eau exprimée en pourcentage contenue dans un composé solide ou liquide. Les matières sèches (ou extraits secs) : il s'agit du produit résultant de la déshydratation (élimination de l'eau) d'un composé solide ou liquide.

Les autres méthodes de caractérisation sont données dans (**l'annexe 06**).

**V-2 Solvants d'extraction et réactifs employés****a) Solvants**

Nous avons utilisé pour toutes les opérations d'extractions cinq solvants après plusieurs tests sur les solvants disponibles dans le laboratoire. Les caractéristiques physico-chimiques de ces solvants sont données dans le **Tableau V.1**. Le solvant extracteur est choisi de telle sorte que l'espèce chimique à extraire soit le plus possible soluble.

**Tableau V.1 : Caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés**

	Eau	Méthanol	Eth.Acét	Ethanol	Acétone
<b>Formule brute</b>	<b>H<sub>2</sub>O</b>	<b>CH<sub>4</sub>O</b>	<b>C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O</b>	<b>C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O</b>
<b>Masse molaire (g.mol<sup>-1</sup>)</b>	18	32.04	88.12	46.07	58.08
<b>Point de fusion (°C)</b>	0	-97.8	-83	-114	-94.6

<b>Point d'ébullition (°C)</b>	100.02	64.5	77.1	78-78.5	56.1
<b>Densité ( <math>D_4^{20}</math> )</b>	0,9982	0.7915	0.90	0.789	0.783
<b>Densité de vapeur (air = 1)</b>	0.62	1.11	3.04	1.59	2.0
<b>Pressions de vapeur</b>	0.61kPa à 0°C 2.3kPa à 20°C 12.3kPa à 50°C 47.3kPa à 80°C	3,8kPa à 0°C 12,3kPa à 20°C 34,4 kPa à 40°C	9.3-11.3kPa à 20 °C	5.9kPa à 20°C 10kPa à 30°C 29.3kPa à 50°C	24.7kPa à 20°C 54.6kPa à 40°C 112.0kPa à 60°C 226.6kPa à 80°C
<b>Température d'auto-inflammation (°C)</b>	/	464	426 - 460	423-425 ; 363	538

### b) Réactifs employés

Nous avons utilisés dans ce travail des réactifs pour le dosage des polyphénols par la méthode colorimétrique. Tel que :

- Réactif de **FOLIN-CIOCALTEU**.
- **Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4,25%**.

### V-3 Les procédés d'extraction appliqués

Nous avons appliqué deux procédés d'extraction pour extraire les polyphénols à partir de deux rejets d'huileries : les grignons d'olive et les margines, et d'étudier les différents paramètres qui donnent le meilleur rendement d'extraction.

Nous avons effectué deux types d'extraction la première c'est l'extraction solide-liquide celle d'extraction des polyphénols à partir des grignons d'olive ; et la deuxième celle d'extraction liquide-liquide des polyphénols à partir des margines.

Les paramètres que nous avons suivis dans ce présent travail afin d'améliorer le rendement d'extraction pour les deux sous-produits sont les suivants :

1. Le procédé d'extraction ;
2. Le solvant ;
3. La température d'extraction;
4. La durée d'extraction ;



## 5. La masse de l'échantillon (pour les grignons)

Nous avons étudié ces différents paramètres pour choisir le plus approprié; qui nous donne les meilleures conditions d'extraction, dans le but d'avoir un rendement significatif en polyphénols.

### V-3-1 Extraction des polyphénols

Nous avons testé plusieurs solvants: l'Eau, le Méthanol, l'Ethanol, l'Acétone et l'Acétate d'Ethyle, afin de déterminer le solvant qui nous donne le meilleur rendement.

Les conditions opératoires qu'on a fixé pour chaque solvant sont :

- **Grignons** : nous avons fixé une durée d'extraction pendant **3h** pour l'extraction par SOXLHET avec une masse de grignons d'olive de **10 g** et un volume de **200 ml** de solvant ainsi que différentes températures qui assure l'évaporation de nos solvants.
- **Margines** : nous avons fixé une durée d'extraction pendant **3h-30min** par DISTILLATION avec un volume d'échantillon de **10 ml** qui correspond à **9,68 g** en masse de margine (c'est un rejet visqueux) et une température opératoire.

### V-3-2 L'extraction solide-liquide au SOXLHET

#### V-3-2-1 Principe [78]

Le schéma de l'appareil SOXHLET il est composé d'un corps en verre et dans lequel sont placés une cartouche en papier-filtre épais en cellulose où on met le grignon d'olive et d'un tube siphon et un tube d'adduction, l'ensemble est posé sur un ballon contenant le solvant.

Le principe d'extraction est le même que pour toute extraction, mais ici se pose le problème de la diffusion du solvant dans la phase solide, qui peut être très lente. Il faut réaliser un très grand nombre d'extractions successives (cycle) pour obtenir une séparation satisfaisante.

L'extracteur de SOXLHET est un appareil spécialement conçu pour l'extraction en continue solide-liquide. Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition, puis condensé avec le condenseur à boules, dans le réservoir à siphon, contenant le solide à extraire dans une cartouche en papier-filtre épais en cellulose.

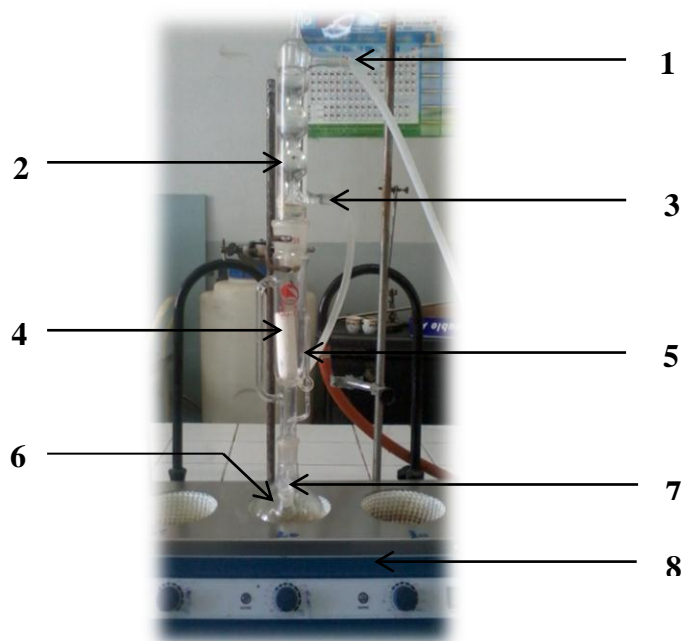
Le contact entre le solvant et le produit dure pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la

facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant. La **figure V.3** montre le système de SOXLHET qu'on a utilisé durant notre travail.

### V-3-2-1 Le protocole expérimental

Le protocole expérimental suivi pour la réalisation de cette extraction est le suivant:

1. Préparation de l'échantillon (grignons d'olive).
2. Peser à l'aide d'une balance électrique digitale la quantité nécessaire de l'échantillon préparé.
3. Mettre l'échantillon dans la cartouche cellulosique.
4. Préparer le volume nécessaire du solvant et le verser en petite quantité dans le ballon.
5. Mettre la cartouche dans le corps en verre.
6. Mettre en marche la chauffe ballon à une température selon les conditions opératoires.
7. Assembler le montage, Les vapeurs du solvant se condensent dans le réfrigérant.
8. A l'aide d'une seringue graduée prélever la quantité désirée de la solution en un instant de temps précis.
9. Après un temps de marche bien déterminé, laisser refroidir le système.
10. A la fin, procéder à l'analyse des polyphénols totaux par la méthode colorimétrique d'écrite par SRISUWAN. [79]



**Figure V.2 : Système d'extraction par SOXHLET**

1. Sortie d'eau de refroidissement.
2. Réfrigérant.
3. Entrée d'eau de refroidissement.
4. Cartouche cellulósique.
5. Corps en verre.
6. Ballon Bicol.
7. Prise de prélèvement.
8. Chauffe ballon.

### V-3-3 Extraction par DISTILLATION

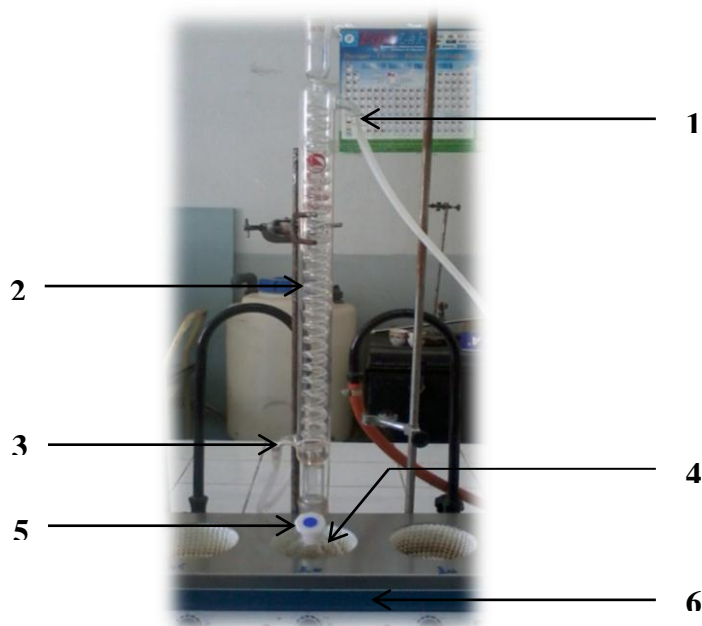
#### V-3-3-1 Principe

Elle consiste à porter le mélange à ébullition (matière solide + solvant) ou (matière liquide + solvant), Dans ce cas les margines sont mis en contact direct avec le solvant dans un ballon et le tout dans un bain thermostat, donc les margines sont mis à bouillir dans un solvant en vue de l'extraction des polyphénols.

#### V-3-3-2 Le protocole expérimental

Le protocole expérimental utilisé pour l'extraction des polyphénols à partir les margine par des solvants volatils et de l'eau est donnée par la **figure V.4**.

Le protocole expérimental suivi pour la réalisation de cette extraction est le même que l'extraction au SOXLHET sauf dans ce cas on met un volume de margine dans le ballon de DISTILLATEUR et en suis les mêmes étapes.



**Figure V.3 : Système d'extraction par DISTILLATION**

1. Sortie d'eau de refroidissement.
2. Réfrigérant.
3. Entrée d'eau de refroidissement.
4. Ballon Bicol.
5. Prise de prélèvement.
6. Chauffe ballon.

#### V-4 Les techniques d'analyse effectuées

Nous avons effectué des techniques d'analyse pour étudier les polyphénols quantitativement et qualitativement. Les techniques d'analyse utilisées sont les suivantes :

- La méthode spectrophotométrique UV-Visible (méthode colorimétrique de **FOLIN-CIOCALTEU** citée dans tous les travaux et publications sur les composés phénoliques),
- La méthode de chromatographie liquide à haute performance (**HPLC**).

##### V-4-1 Analyse par la méthode spectrophotométrique :

Les techniques spectrophotométriques ont pour objectif d'obtenir des informations qualitatives ou/et quantitatives sur l'échantillon à analyser en se basant sur les interactions entre la matière et un rayonnement lumineux. L'interaction matière-rayonnement peut donner lieu aux phénomènes d'absorption.

##### ➤ UV-Visible

La spectrophotométrie UV-visible mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée. Un dispositif monochromateur permet de générer à partir d'une source de lumière visible ou ultraviolette, une lumière  $I_0$  qui traverse alors la cuve contenant la solution à analyser. L'appareil mesure l'intensité  $I$  de la lumière transmise pour déterminer les concentrations des substances absorbantes. La valeur affichée par le spectrophotomètre est l'absorbance à la longueur d'onde étudiée (**figure V.4**).

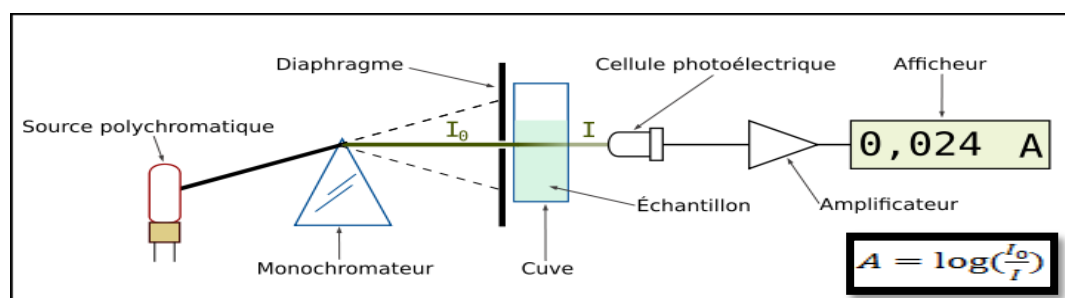


Figure V.4 : Schéma du principe de la spectrophotométrie UV-visible.

L'analyse des polyphénols par la méthode colorimétrique de FOLIN-CIOCALTOU d'écrite par SRISUWAN [79], comme suit :

En présence de phénols, le mélange d'acides phosphotungstique et phosmolybdique est réduit en oxydes bleus de tungstène et de molybdène que l'on détermine par colorimétrie.

La **figure V.5** montre l'appareillage utilisé pour la méthode d'analyse colorimétrique, par le réactif de FOLIN-CIOCALTEU, l'analyse s'est faite au niveau du laboratoire de recherche du département Génie de l'Environnement (**E.N.P**),



**Figure V.5 : Spectrophotomètre à UV-Visible.**

#### **V-4-2 Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)**

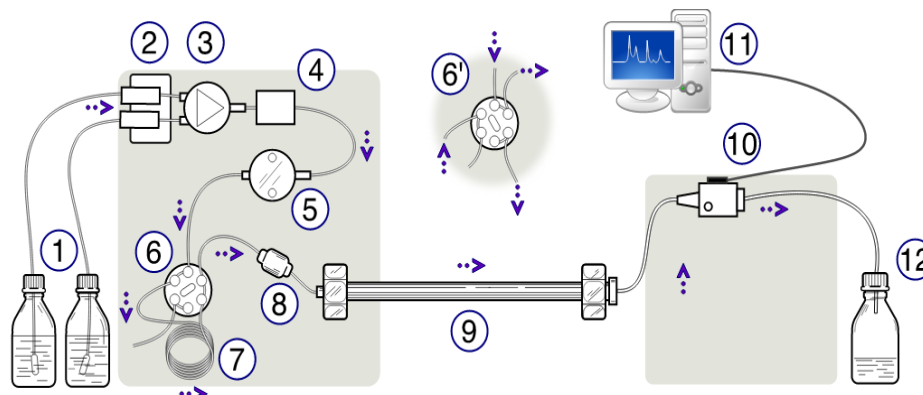
La chromatographie est une technique analytique dont les premières expériences, celles de TSWETT, datent de 1903. Elle permet la séparation d'un ou plusieurs composés d'un mélange pour leur identification et leur quantification.

##### **V-4-2-1 Principe [79, 80]**

La chromatographie en phase liquide est une méthode physico-chimique basée sur des différences d'interaction. Les molécules des produits à séparer (solutés) sont mises en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire contenue dans la colonne chromatographique. Ces interactions provoquent des échanges qui aboutissent à la séparation désirée. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt en permanence le système chromatographique, dont fait partie la colonne.

Les composés en solution se répartissent suivant leur affinité, entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

Le schéma suivant représente une installation de base en HPLC.



**Figure V.6 : Schéma de base d'une chromatographie liquide à haute performance HPLC**

- |   |   |
|---|---|
| 1. Réservoirs des solvants  | 7. Boucle d'injection d' l'échantillon. |
| 2. Dégazeur,  | 8. Pré-colonne (éventuelle),            |
| 3. Valve de gradient d'élution,   | 9. Colonne analytique,                  |
| 4. Doseur de phase mobile (ou éluant),  | 10. Détecteur,                          |
| 5. Pompe à haute pression,  | 11. Acquisition du signal,              |
| 6. - Vanne d'injection en position « Inject »,<br>- Vanne d'injection en position « Load », | 12. Décharge rejets.                    |

#### V-4-2-2 Le matériel et condition chromatographique utilisés sont :

##### ➤ Le matériel utilisé

- Appareil HPLC Agilent S1100,
- Pompe: binaire avec un débit maximal : 5 ml/min, 400 Bar (pression que le système peut supporter),
- Injection: automatique Rhéodyne 7725 muni d'une boucle ( $V_{(injection) \max} = 100\mu\text{L}$ ),
- Dégazeur d'eau: Traditionnel waters IN-LINE degasser.
- Détecteur: DAD (Diode Array Detector).
- Logiciel: Agilent Chemstation.
- Phase stationnaire: C<sub>18</sub>\_15 cm fixé sur SiO<sub>2</sub>.

### ➤ Conditions chromatographique

Nous avons développé une méthode pour l'analyse des polyphénols après plusieurs tests effectués au niveau du laboratoire d'analyse de l'industrie pharmaceutique **BEKER**. L'appareil utilisé est montré dans la **figure V.7**. On a abouti aux conditions de travail suivantes :

- **Débit:** 1 ml/min.
- **Volume d'injection:** 5 $\mu$ L.
- **Température de la colonne :** 22  $\pm$  2 °C.
- **Temps d'injection** = 20 min.
- **Solvant A :** Méthanol : 60% (v/v).
- **Solvant B :** Eau/ACN (Acetonitrile), 20 : 20 (v/v).
- **UV de détection** 254 nm.
- **Spectre d'absorption** 190-400 nm.



**Figure V.7 :** Appareil HPLC utilisé pour le dosage des polyphénols.

## V-5 Méthodes de calcul

### V-5-1 Teneur en polyphénol dans l'échantillon

Tous les résultats obtenus lors de ce travail sont exprimés par rapport à la matière sèche (MS), cette dernière est déterminée en mesurant l'humidité du grignon, sauf les margines on a calculé la teneur en polyphénol par rapport à la quantité initiale de l'échantillon à extraire.

La teneur en composés phénolique dans la matière végétale sèche se calcule par la relation suivante :

$$\mathbf{Te \% = \frac{m_{ext}}{m_{vs}} * 100}$$

Avec :

- $m_{ext}$  : masse de l'extrait,
- $m_{vs}$  : masse de la matière sèche.

La masse de l'extrait est déterminée par les deux méthodes d'analyses précitées.

### **V-5-2 Rendement d'extraction en polyphénol**

Le rendement d'extraction des polyphénols a été calculé par la relation suivante :

$$\mathbf{R \% = \frac{T_{ext}}{T_{total}} * 100}$$

Avec :

- $T_{ext}$  : Teneur en extrait dans l'échantillon en (%),
- $T_{total}$  : Teneur total en polyphénol dans la matière végétale en (%).



# *Chapitre VI*

*« Résultats et discussion »*

## VI-1 Introduction

Avant d'entreprendre l'étude de l'extraction solide-liquide et liquide-liquide des composés phénoliques (**Polyphénols**) à partir des grignons d'olives et des margines respectivement, nous avons d'abord donné dans ce chapitre quelques caractéristiques du matériel végétal.

Nous avons effectué après la caractérisation des échantillons une étude cinétique et paramétrique de l'extraction des polyphénols des grignons d'olives et des margines dont le but est de déterminer les conditions opératoires optimales qui nous permettent d'obtenir une extraction maximale des polyphénols.

## VI-2 Caractérisation du matériels végétal

Les analyses de caractérisation des échantillons ont été effectuées au niveau du laboratoire de L'UNITE DE RECHERCHE EN INGENIERIE ET ENVIRONNEMENT du département de Génie de l'Environnement (*ENP*).

### VI-2-1 Caractérisation du grignon d'olive

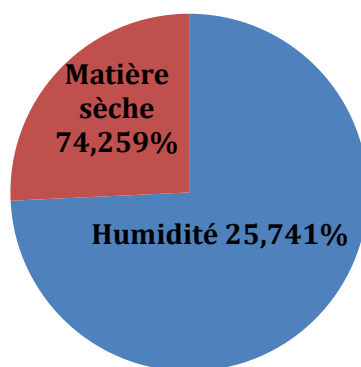
Le **tableau VI.1** présente les caractéristiques physico-chimiques mesurées du grignon d'olive et les valeurs de la littérature correspondantes,

**Tableau VI.1 : Caractéristiques du grignon d'olive brute.**

Paramètres	Teneur en (%) poids/poids	Teneur en (%) poids/poids Citée par les bibliographies [35,36]
Humidité	25,741	27,2
Matière sèche	74,259	75 – 80
Cendres	1,39	2,36
Composés phénoliques	1,5	1,5 - 2,34
Matières volatiles	72,865	/

L'humidité a été calculée par la relation (I) citée en (**Annexe 06**) :

$$\text{D'où :} \quad H (\%) = \frac{10 - 7,4259}{10} * 100 = 25,741 \%$$



**Figure VI.1 : Taux d'humidité du grignon d'olive brute.**

D'après les résultats du tableau VI.1 et la figure VI.1, il en ressort les remarques suivantes :

Les résultats des analyses effectuées sur le grignon d'olive d'AKBOU (Bejaïa) sont presque similaires à ceux donnés par la littérature.

On constate que notre grignon à une faible humidité est presque  $\frac{1}{4}$  humide, due vraisemblablement à la bonne extraction de la matière liquide; et la non exposition à l'air libre et aux aléas climatiques à une longue durée. En effet les grignons sont généralement jetés dans la nature et se retrouvent ainsi exposés au soleil et à la pluie. Le séchage à l'air libre, puis à l'étuve sont nécessaires pour des raisons liées à l'efficacité d'extraction par solvant.

On constate que le grignon caractérisé a un teneur en cendres remarquable et ça nous permet de conclure qu'ils sont un peu riches en minéraux malgré la valeur était un peu faible par rapport à la valeur indiquée par la littérature. La teneur en matière volatile représente **72,865%** de la matière sèche ce qui montre la nature organique de ces grignons.

### **VI-2-2 Caractérisation des margines**

Le **tableau VI.2** présente les caractéristiques physico-chimiques mesurées des margines et les valeurs de la littérature correspondantes.

Tableau VI.2 : Caractéristiques de la margine étudiée.

Paramètres	Valeurs	Valeurs citée par les bibliographies [45, 81, 31]
Humidité (%)	79,6	83 – 88
Matière sèche g/l / (%)	197,4 / 20,4	15,5 - 266,5
Matière volatile (g/l)	195,34	/
Cendres (%)	0,21	1,5 - 2
Teneur en polyphénols (%)	1,3	1,0 – 1,5
pH	4,7	4,2 – 5,9
Conductivité ms/cm	33	18 - 50
DCO (g d'O <sub>2</sub> /l)	390	100 - 600

L'humidité a été calculée par la relation (VI) citée en (annexe 06).

$$\text{D'où:} \quad H (\%) = \frac{68,12 - 60,4140}{68,12 - 58,44} \times 100 = 79,6 (\%)$$

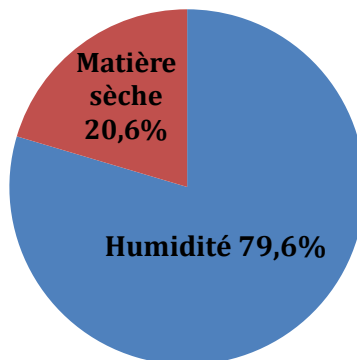


Figure VI.2 : Taux d'humidité de la margine étudiée.

D'après les résultats du tableau VI.2 et la figure VI.2, il en ressort les remarques suivantes :

Les résultats des analyses effectuées sur les margines d'olives issues de l'huilerie d'AKBOU (Bejaïa) sont presque situées dans les gammes données par la littérature.

On constate que ces margines ayant un taux d'humidité élevé, mais si on compare avec la littérature on observe que cette valeur est faible ; cela est due principalement à la teneur élevée en matières sèches.

Les margines sont des effluents acides, en raison de la présence des acides organiques (acides phénoliques, des acides gras, ...). La valeur du pH enregistrée dans notre étude est de l'ordre de **4,7** ; cette dernière appartient à l'intervalle donnée par la littérature (**4,2 à 5,9**), on déduit donc que ces margines sont très acides.

Nous avons noté une teneur en cendre qui est de l'ordre de **0,21%**, ce faible pourcentage indique que les margines contiennent des minéraux.

Les teneurs en matière sèche et en matière volatile sont respectivement **197,4 g/l** et **195,34g/l**, la matière volatile représente presque **98%** de la matière sèche, ce qui montre la nature organique de ces effluents. Ceci peut être expliqué par le fait que ces margines n'ont pas subi une opération de prétraitement avant de les jetés dans l'environnement.

Nous avons enregistré une conductivité élevée **33ms/cm**, cette valeur donne une idée générale sur la teneur élevée en sel et en minéraux présents dans ces effluents, ceci est dû aux pratiques de salage pour la conservation des olives avant la trituration, en plus de la richesse naturelle des margines en sels minéraux dissouts.

La teneur en matière organique exprimée en **DCO** est de **390 g d'O<sub>2</sub>/l**, cette dernière est très élevée par rapport à celle enregistrée dans la littérature dans les cas d'autres types de rejets. En effet, la **DCO** ne dépasse pas **4,02 g d'O<sub>2</sub>/l** dans les effluents d'abattoir qui sont considérés comme les principaux rejets à caractère organique dominant. [82]

### VI-3 Analyse des composés phénoliques

Nous avons procédé à l'extraction des polyphénols à partir des grignons d'olive et les margines dans le but d'établir une cinétique d'extraction pour chaque solvant employé. Pour cela nous avons appliqué deux procédés d'extraction :

- Extraction au **SOXLHET** : a été appliquée pour l'extraction des polyphénols à partir des grignons d'olive.
- Extraction par **DISTILLATION** : a été appliquée pour l'extraction des polyphénols à partir des margines.

L'analyse des échantillons prélevés au cours du temps nous a permis de calculer les concentrations en polyphénols de chaque prélèvement ainsi que le rendement d'extraction pour chaque solvant utilisé. Ce qui va permettre de déterminer le meilleur solvant d'extraction et les meilleurs paramètres.

### VI-3-1 Dosage des composés phénoliques

#### VI-3-1-1 Dosage des polyphénols totaux

Une solution mère d'acide gallique est préparée à une concentration de **1 g/l** dans l'eau [83]. Après nous avons procédé au mode opératoire de la méthode **FOLIN-CIOCALTEU** (Annexe 06).

Des dilutions ont été préparées à partir de la solution mère d'acide gallique, la gamme d'acide gallique est tracée pour des concentrations (**0, 10, 50, 100, 200, 400, 800 et 1000**) **mg/l**. La **figure VI.3** montre les dilutions préparées par cette dernière, à la suite nous avons procédé à la détermination de la densité optique des différentes dilutions.

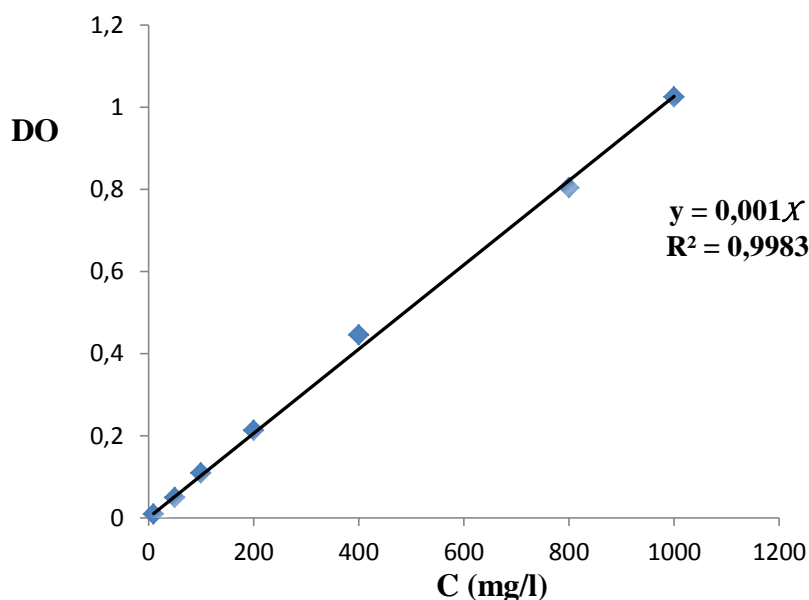


**Figure VI.3 : Les différentes dilutions de l'acide gallique par la méthode FOLIN-CIOCALTEU**

La lecture de la densité optique donne les résultats donnés dans le **tableau VI.3** et la courbe d'étalonnage est représentée sur la **figure VI.4**.

**Tableau VI.3 : Résultats de la densité optique obtenus**

C (mg/l)	0	10	50	100	200	400	800	1000
DO	0	0,008	0,049	0,108	0,213	0,445	0,804	1,024



**Figure VI.4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique dans le dosage de FOULIN-CIOCALTEU**

### VI-3-1-2 Dosage des échantillons extraits

Les valeurs de concentration des extraits seront directement lues à partir de la droite de l'étalonnage établi à l'aide de la solution de référence d'acide gallique, de la forme  $Abs = a \times [AG]$  ( $a$  : représente la pente).

Ces résultats nous ont permis de calculer le rendement ainsi que d'établir la cinétique d'extraction de chaque solvant utilisé dans les deux procédés d'extraction.

### VI-3-2 Dosage des composés phénolique des grignons d'olive

#### VI-3-2-1 Cinétique d'extraction au SOXLHET

L'extraction des composés phénoliques des grignons étudiés par les différents solvants, nous a permis de déterminer les concentrations, les quantités en (mg), les teneurs dans chaque prélèvement ainsi que les rendements des extraits bruts. Les résultats obtenus sont montrés dans le **tableau VI.4** et représentés dans la **figure VI.5**.

Tableau VI.4 : Résultats de la DO ainsi que le rendement calculé (grignon d'olive)

Eau												
Cycle	0	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8			
t (min)	0	72	95	100	120	135	152	166	180			
DO	0	0,051	0,084	0,104	0,122	0,135	0,159	0,163	0,175			
C (mg/l)	0	51	84	104	122	135	159	163	175			
m (mg)	0	10,2	16,73	20,758	24,33	26,87	31,61	32,37	34,72			
T (%)	0	0,1371	0,225	0,279	0,327	0,361	0,425	0,435	0,467			
R (%)	0	9,13	14,99	18,60	21,8	24,07	28,32	29,01	<b>31,11</b>			
Ethanol												
Cycle	0	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C17	
t (min)	0	30	40	46	58	78	86	95	111	139	164	
DO	0	0,048	0,082	0,098	0,153	0,175	0,177	0,18	0,198	0,21	0,27	
C (mg/l)	0	48	82	98	153	175	177	180	198	210	270	
m (mg)	0	9,6	16,26	19,267	29,82	33,81	33,9	34,16	37,24	39,14	49,87	
T(%)	0	0,129	0,219	0,259	0,401	0,454	0,456	0,459	0,501	0,526	0,67	
R (%)	0	8,60	14,57	17,26	26,72	30,3	30,37	30,61	33,37	35,08	<b>44,69</b>	
Méthanol												
Cycle	0	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	
t (min)	0	35	49	67	88	106	122	140	155	169	183	
DO	0	0,02	0,031	0,062	0,063	0,1	0,11	0,129	0,134	0,149	0,152	
C (mg/l)	0	20	31	62	63	100	110	129	134	149	152	
m (mg)	0	4	6,147	12,189	12,28	19,32	21,07	24,48	25,21	27,77	28,07	
T(%)	0	0,0538	0,083	0,1638	0,165	0,26	0,283	0,329	0,339	0,373	0,377	
R (%)	0	3,58	5,50	10,92	11	17,31	18,88	21,94	22,59	24,89	<b>25,16</b>	
Acétone												
Cycle	0	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C19
t (min)	0	21	30	42	53	65	77	88	99	109	159	174
DO	0	0,02	0,031	0,062	0,064	0,069	0,07	0,071	0,072	0,079	0,103	0,106
C (mg/l)	0	20	31	62	64	69	70	71	72	79	103	106
m (mg)	0	4	6,147	12,189	12,47	13,33	13,41	13,48	13,54	14,73	19,02	19,398
T(%)	0	0,0538	0,083	0,1638	0,168	0,179	0,18	0,181	0,182	0,198	0,256	0,2607
R (%)	0	3,5842	5,508	10,922	11,18	11,95	12,01	12,08	12,14	13,19	17,05	<b>17,38</b>
Acétate d'Ethyle												
Cycle	0	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C21
t (min)	0	27	35	41	50	58	64	71	86	93	152	179
DO	0	0,027	0,06	0,069	0,075	0,093	0,103	0,105	0,11	0,119	0,127	0,133
C (mg/l)	0	27	60	69	75	93	103	105	110	119	127	133
m (mg)	0	5,4	12	13,8	15	18,6	20,6	21	22	23,8	25,4	26,6
T(%)	0	0,0726	0,161	0,1855	0,202	0,25	0,277	0,282	0,296	0,32	0,341	0,3575
R (%)	0	4,83	10,75	12,36	13,44	16,67	18,46	18,82	19,71	21,33	22,76	<b>23,83</b>



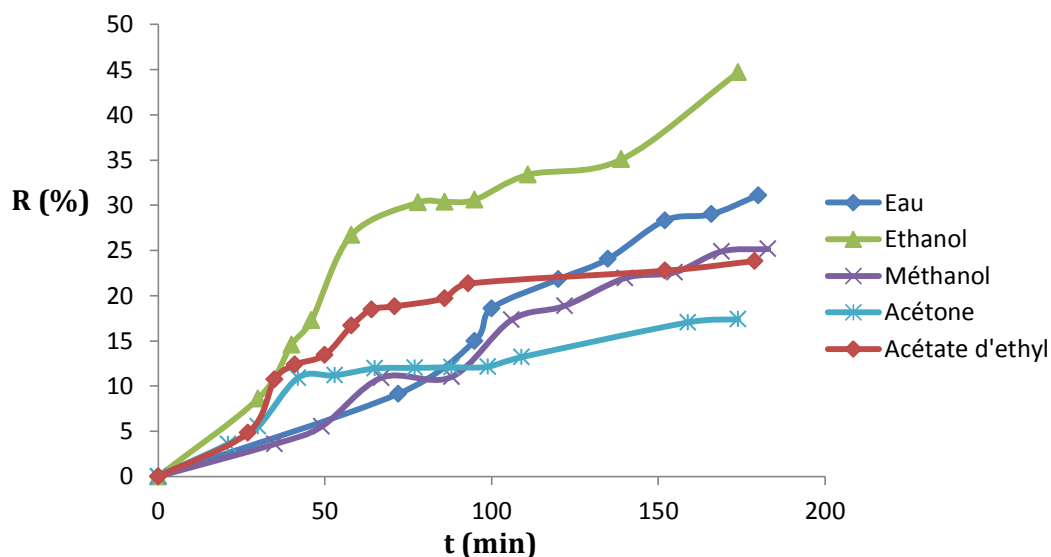


Figure VI.5 : Cinétique d'extractions par SOXLHET des polyphénols par différents solvants (grignon).

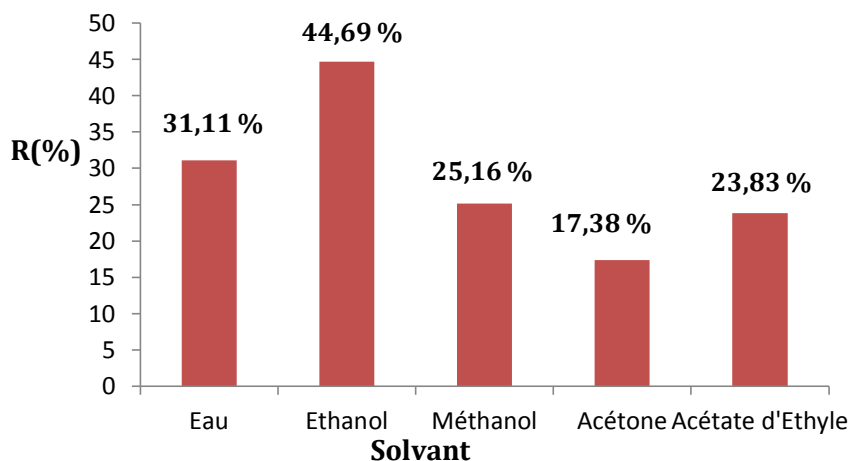


Figure VI.6 : Rendement d'extraction par soxlhet en fonction de solvants (grignon)

On observe sur la figure VI.5 que le rendement en polyphénols croît avec le temps d'extraction. La figure VI.6 montre que l'éthanol produit le meilleur rendement d'extraction  $R_{\text{Ethanol}} = 44,69\%$ , parmi tous les solvants, qui a été suivie par de l'eau  $R_{\text{Eau}} = 31,11\%$ . Cette observation pourrait être expliquée par l'influence des facteurs du transfert de la matière, tel que l'affinité entre les solvants et les polyphénols et la grande solubilité des polyphénols dans ces deux solvants.

D'après les études sur l'extraction des composés phénoliques (l'oleuropéine) qui ont été faites, **Pu-jun Xie et al [85]**, notent que la polarité du solvant joue un rôle important dans le processus d'extraction, un solvant de polarité moyenne était approprié pour extraire les composés phénoliques.

Donc on peut noter que l'éthanol peut facilement pénétrer dans les cellules internes des grignons vers l'élément cible que l'eau en raison de sa polarité inférieure. D'après [86] Il est à noter aussi que l'éthanol pur est le meilleur solvant que l'eau, l'éthanol solubilise correctement les composés phénoliques moyennement polaires. Cette observation permet de constater que l'extraction par l'éthanol est plus efficace que celle faite par l'eau, bien que la polarité de l'eau est plus forte que celle de l'éthanol. Par conséquent, un mélange d'éthanol et d'eau, peut être un solvant idéal pour extraire les éléments phénoliques [85]. D'après **MAKKAR** et **BEKKER** [87], notent que les phénols sont généralement extraits en utilisant des solutions organiques comme solvants, généralement le méthanol ou l'éthanol.

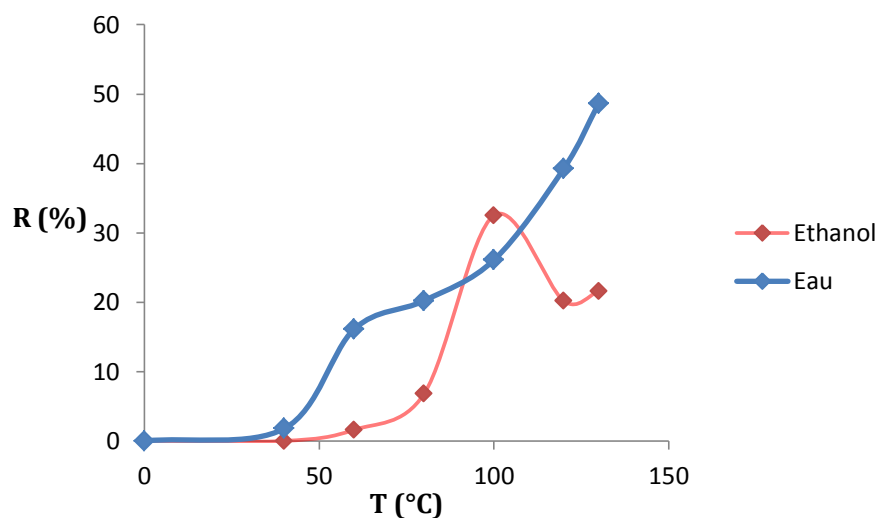
L'éthanol et l'eau sont préférables car ils ont l'avantage d'être non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants [88], Ce qui nous laisse par la suite choisir ces deux solvants pour faire une optimisation des autres paramètres vu qu'ils ont donné un bon rendement d'extraction.

### VI-3-2-2 Influence de la température

Pour étudier l'influence de la température, nous avons effectué une série de prélèvements d'une durée de **3h** pour l'éthanol et l'eau en faisant varier cette dernière, ceci nous a permis d'établir les courbes qui sont représentées dans la **figure VI.7**.

**Tableau VI.5 : Résultats de la DO ainsi que R% pour l'influence de la température (grignon)**

Ethanol							
T (°C)	0	40	60	80	100	120	130
DO	0	0	0,009	0,038	0,182	0,113	0,121
C (mg)	0	0	9	38	182	113	121
m (g)	0	0	1,7982	7,585	36,291	22,51	24,079
T (%)	0	0	0,0242	0,102	0,4878	0,3025	0,3236
R (%)	0	0	1,61	6,79	32,51	20,17	21,57
Eau							
T (°C)	0	40	60	80	100	120	130
DO	0	0,01	0,09	0,113	0,146	0,22	0,273
C (mg)	0	10	90	113	146	220	273
m (g)	0	2	17,982	22,55	29,112	43,824	54,327
T (%)	0	0,027	0,2417	0,303	0,3913	0,589	0,7302
R (%)	0	1,79	16,11	20,21	26,08	39,26	48,68



**Figure VI.7 : Influence de la température sur le rendement d'extraction (grignon)**

En examinant la courbe de l'éthanol, on constate que le rendement d'extraction des polyphénols augmente avec les températures croissantes d'extraction pour les deux solvants. Le rendement maximal d'extraction a été réalisé à une température d'extraction  $T_{\text{optimale}}=100^{\circ}\text{C}$ . Cependant, lorsque la température est passée de  $T_{\text{optimale}}$  jusqu'à  $130^{\circ}\text{C}$ , une légère baisse était évidente, peut être expliquée par la dégradation des composés phénoliques à des températures élevées, **Pu-jun Xie et al [86]** confirment nos résultats en indiquant que l'influence de la température possède une température optimale d'extraction et que l'augmentation de la température dégrade les polyphénols. Ainsi, une température d'extraction optimale de  $100^{\circ}\text{C}$  a été choisie pour toutes les extractions futures.

En examinant la courbe de l'eau, on remarque une évolution rapide du rendement d'extraction entre  $60^{\circ}\text{C}$ - $130^{\circ}\text{C}$ .

On notera que la température joue un rôle assez important dans le rendement de l'extraction, car l'augmentation de la température peut être attribuée par l'augmentation de la solubilité des matières à extraire et l'augmentation du coefficient de diffusion.

### VI-3-2-3 Influence de la durée

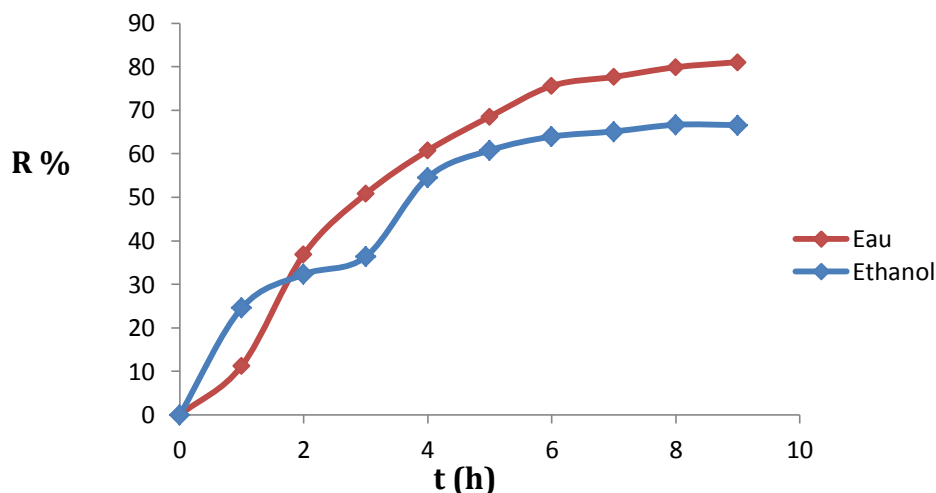
La durée d'extraction dépend du type de solvant et de la matière végétale ainsi que de sa structure et les conditions opératoires (Température, solvant), elle peut être comprise entre **20mn** et **24h** citée dans toutes les publications sur l'extraction.

Pour une extraction de **3h** tous les solvants ont atteint leurs paliers mais ce n'est pas le cas pour l'éthanol et l'eau, donc, l'extraction de ces derniers peut continuer.

L'extraction par l'éthanol et l'eau étant non achevée, et pour cela une expérience a été réalisée pour une durée d'extraction de **9h**. Les résultats sont donnés dans le **tableau VI.6** et représentés sur la **Figure VI.8**.

**Tableau VI.6 : Résultats de DO ainsi que le R% calculé pour la durée d'extraction (grignon)**

Ethanol										
t(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
DO	0	0,137	0,18	0,203	0,305	0,34	0,358	0,365	0,374	0,376
C (mg)	0	137	180	203	305	340	358	365	374	376
m (g)	0	27,37	35,93	40,48	60,76	67,66	71,17	72,49	74,2	74,52
T (%)	0	0,369	0,484	0,546	0,819	0,912	0,959	0,977	1	1,004
R (%)	0	24,59	32,28	36,37	54,59	60,79	63,94	65,13	66,67	<b>66,96</b>
Eau										
t(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
DO	0	0,063	0,206	0,284	0,34	0,384	0,424	0,436	0,449	0,456
C (mg)	0	63	206	284	340	384	424	436	449	456
m (g)	0	12,6	41,16	56,69	67,8	76,49	84,38	86,68	89,17	90,47
T (%)	0	0,169	0,553	0,762	0,911	1,028	1,134	1,165	1,199	1,216
R (%)	0	11,29	36,88	50,79	60,75	68,54	75,61	77,67	79,9	<b>81,07</b>



**Figure VI.8 : Rendement en fonction du temps d'extraction (grignon).**

En examinant les courbes, il en ressort qu'après une durée d'extraction de **6h** la courbe de l'éthanol commence à se stabiliser à un rendement d'extraction voisinant de  $R_{\text{Ethanol}}=66,96\%$ , et de  $R_{\text{Eau}}= 81,07\%$  celle de l'eau ; ça due principalement à l'affinité de ces derniers avec les composés phénoliques et la grande solubilité de ces composés dans ces deux solvants.

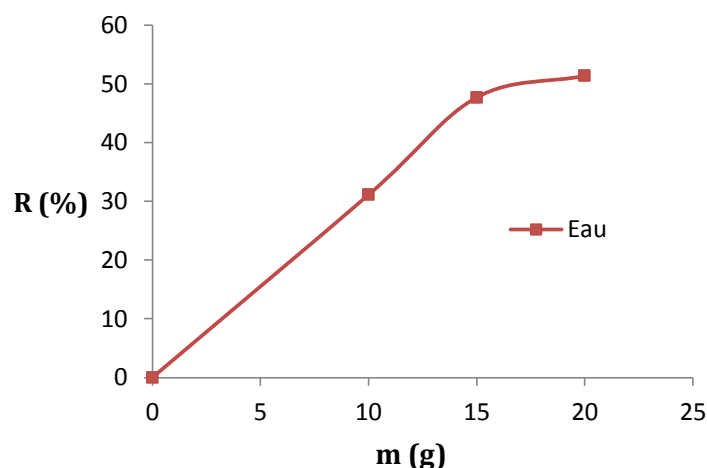
#### VI-3-2-4 Influence de la masse de la matière végétale

Le but recherché dans cette partie est l'étude de l'effet de la masse de grignon sur le rendement d'extraction.

Trois essais ont été effectués pour trois masses différentes de grignons d'olive avec les conditions opératoires suivantes : volume de solvant  $V_{\text{eau}}=200 \text{ ml}$ , durée d'extraction  $t = 3\text{h}$ . Les résultats sont donnés dans le **tableau VI.7** et représentés sur la **figure VI.9**.

**Tableau VI.7 : Résultats de la DO et le rendement calculé pour chaque masse (grignon)**

Eau				
m (g)	0	10	15	20
DO	0	0,175	0,399	0,573
C (mg)	0	175	399	573
m (g)	0	34,72	79,8	114,6
T (%)	0	0,467	0,715	0,77016
R (%)	0	31,11	47,67	<b>51,34</b>



**Figure VI.9 : Rendement d'extraction en fonction de la quantité de grignons utilisé**

On constate que le meilleur rendement est obtenu pour une masse optimale de grignons est de **20 g** avec un rendement d'extraction  $R_{m=20g}=51,34\%$ .

La figure VI.9 montre que plus nous augmentons la masse de grignons plus le rendement d'extraction augmente jusqu'à ce que nous arrivons à la masse optimale. Ceci peut s'expliquer par le fait que lorsque la hauteur de la matière végétale est expansée, l'écoulement du solvant se fait facilement, ce qui permet un meilleur contact entre le grignon et le solvant, par conséquent la quantité d'extrait est plus importante. Dans notre expérience on n'a pas pu aller où delà de **20 g** car notre cartouche ne supportera que  $m_{max} = 20g$ .

Mais au-delà de la masse **20 g** en remarque que si nous augmentions plus la masse de la matière végétale on constate que le régime commence à se stabiliser, et ça peut être expliqué par l'écoulement du solvant se fait difficilement et le contact entre les deux phases est alors amoindri ce qui explique la stabilisation du rendement d'extraction.

On peut conclure que la masse de grignons joue un rôle très important dans l'extraction des polyphénols, car une masse optimale elle permet le meilleur contact du solvant dans la matière végétale.

### VI-3-3 Dosage des composés phénolique des margines

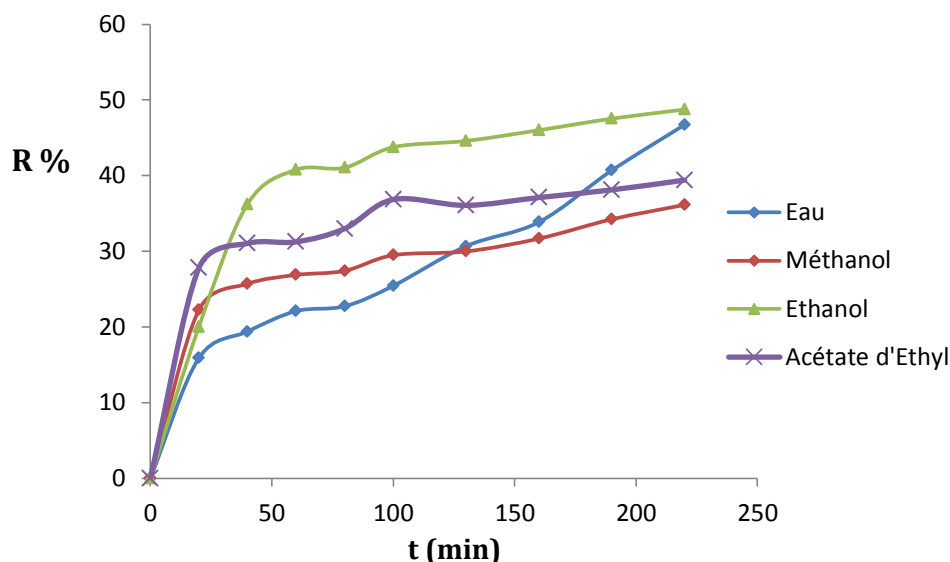
#### VI-3-3-1 Cinétique d'extraction par DISTILLATION

Dans cette partie, nous avons suivi l'évolution des rendements **R%** d'extraction en composés phénolique à partir des margines en fonction du temps d'extraction. Nous prélevons des fractions de distillat à des intervalles de temps choisies.

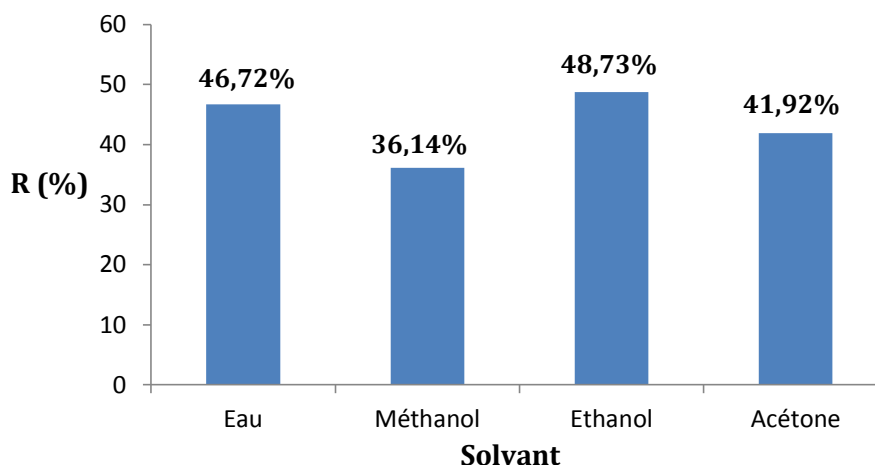
Les résultats sont donnés dans le **tableau VI.8** et représentés dans la **figure VI.10**.

**Tableau VI.8 : Résultat de la DO et R% d'extraction par DISTILLATION**

Eau										
t (min)	0	20	40	60	80	100	130	160	190	220
DO	0	0,1	0,122	0,139	0,143	0,16	0,193	0,213	0,256	0,294
C (mg/l)	0	100	122	139	143	160	193	213	256	294
m (mg)	0	20	24,4	27,8	28,6	32	38,6	42,6	51,2	58,8
T (%)	0	0,207	0,252	0,287	0,295	0,331	0,399	0,44	0,529	0,6074
R (%)	0	15,89	19,39	22,09	22,73	25,43	30,67	33,85	40,69	<b>46,72</b>
Méthanol										
t (min)	0	20	40	60	80	100	130	160	190	220
DO	0	0,14	0,163	0,172	0,177	0,192	0,197	0,21	0,229	0,244
C (mg/l)	0	140	163	172	177	192	197	210	229	244
m (mg)	0	28	32,32	33,82	34,5	37,09	37,73	39,86	43,07	45,482
T (%)	0	0,289	0,334	0,349	0,356	0,383	0,39	0,412	0,445	0,4699
R (%)	0	22,25	25,69	26,87	27,41	29,48	29,98	31,67	34,23	<b>36,14</b>
Ethanol										
t (min)	0	20	40	60	80	100	130	160	190	220
DO	0	0,126	0,23	0,261	0,265	0,285	0,293	0,305	0,318	0,329
C (mg/l)	0	126	230	261	265	285	293	305	318	329
m (mg)	0	25,2	45,61	51,31	51,65	55,06	56,11	57,89	59,82	61,326
T (%)	0	0,26	0,471	0,53	0,534	0,569	0,58	0,598	0,618	0,6335
R (%)	0	20,03	36,24	40,78	41,04	43,76	44,59	46	47,53	<b>48,73</b>
Acétone										
t (min)	0	20	40	60	80	100	130	160	190	220
DO	0	0,121	0,152	0,188	0,229	0,251	0,269	0,274	0,277	0,283
C (mg/l)	0	121	152	188	229	251	269	274	277	283
m (mg)	0	24,2	30,14	36,96	44,63	48,49	51,51	52,01	52,1	52,751
T (%)	0	0,25	0,311	0,382	0,461	0,501	0,532	0,537	0,538	0,545
R (%)	0	19,23	23,95	29,37	35,47	38,54	40,94	41,33	41,4	<b>41,91</b>



**Figure VI.10 : Rendement d'extractions par DISTILLATION des polyphénols par différents solvants (margine)**



**Figure VI.11 : Rendement d'extraction par distillation en fonction de solvants (margine)**

On observe sur la figure VI.10 que le rendement en polyphénols croît avec le temps d'extraction. La figure VI.11 montre que l'éthanol produit le meilleur rendement d'extraction  $R_{\text{Ethanol}} = 48,73\%$ , parmi tous les solvants, qui a été suivie par de l'eau  $R_{\text{Eau}} = 46,72\%$ . Cette observation pourrait être expliquée par l'influence des facteurs de transfert de la matière, tel que l'affinité entre les solvants et les polyphénols et la grande solubilité des polyphénols dans ces deux solvants.



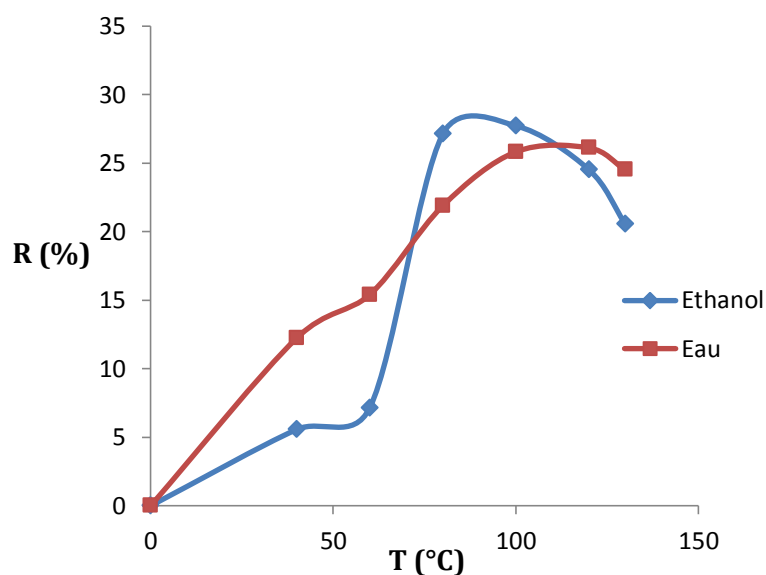
On peut conclure que le rendement pour le procédé d'extraction des polyphénols à partir des margines par DISTILLATION est plus important avec l'éthanol et l'eau, ce qui nous laisse par la suite choisir ces deux solvants pour faire une optimisation des autres paramètres vu qu'ils ont donné un bon rendement d'extraction.

### VI-3-3-2 Influence de la température

Nous avons effectué une série de prélèvements d'une durée de **1h 30 min** pour l'éthanol et l'eau en faisant varier cette dernière, ceci nous a permis d'établir les courbes qui ont représentés dans la **figure VI.12**.

**Tableau VI.9 : Résultats de la DO et le R% calculé pour l'influence de la température (margine)**

Eau							
T (°C)	0	40	60	80	100	120	130
DO	0	0,077	0,097	0,138	0,163	0,165	0,155
C (mg)	0	77	97	138	163	165	155
m (g)	0	15,4	19,38	27,54	32,5	32,868	30,85
T (%)	0	0,159	0,2	0,285	0,336	0,3395	0,319
R (%)	0	12,24	15,4	21,89	26,03	26,11	24,51
Ethanol							
T (°C)	0	40	60	80	100	120	130
DO	0	0,039	0,045	0,171	0,175	0,155	0,13
C (mg)	0	39	45	171	175	155	130
m (mg)	0	7,8	8,991	34,13	34,9	30,876	25,87
T (%)	0	0,078	0,093	0,353	0,36	0,319	0,267
R (%)	0	5,57	7,14	27,12	27,73	24,53	20,56



**Figure VI.12 : Influence de la température sur le rendement d'extraction (margine)**

En examinant les courbes on observe que le rendement d'extraction des polyphénols augmente avec les températures croissantes d'extraction. Le rendement maximal d'extraction des polyphénols par l'éthanol a été réalisé à une température optimale d'extraction de **90°C** et a abouti à **R = 27,73%** et celui de l'eau a été réalisé à une température optimale **115°C** et a abouti à **R = 26,11%**. Cependant, lorsque la température est dépassé l'optimale, une légère baisse était évidente, qui peut être due à la dégradation des composés phénoliques à des températures élevées. Ainsi, une température d'extraction optimale a été choisie pour toutes les extractions futures.

Donc on peut conclure que la température joue un rôle très important dans l'extraction, car la température peut être attribuée par l'augmentation des coefficients du transfert de la matière et la solubilisation des composés phénoliques dans les solvants.

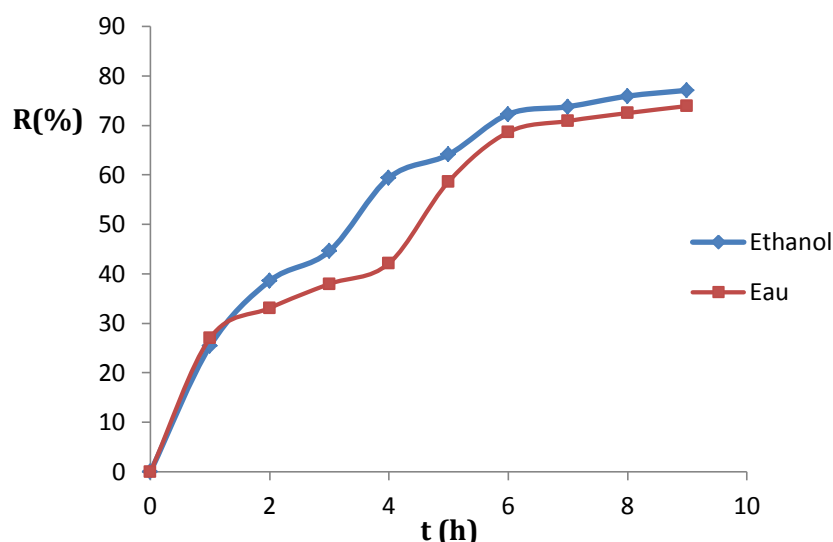
### VI-3-3-3 Influence de la durée d'extraction

Pour une extraction de **3h-30 min** tous les solvants ont atteint leurs paliers mais ce n'est pas le cas pour l'éthanol et l'eau donc, l'extraction de ces derniers peut continuer.

L'extraction par l'éthanol et l'eau étant non achevée, et pour cela une expérience a été réalisée pour une durée d'extraction de **9h**. Les résultats sont donnés dans le **tableau VI.10** et représentés sur la **figure VI.13**.

**Tableau VI.10: Résultats de la DO et le R% calculé pour la durée d'extraction (margine)**

Eau										
t(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
DO	0	0,17	0,21	0,243	0,272	0,382	0,451	0,47	0,485	0,499
C (mg)	0	170	210	243	272	382	451	470	485	499
m (g)	0	34	41,643	47,774	53,013	73,802	86,367	89,206	91,229	93,014
T (%)	0	0,3512	0,4302	0,4935	0,5477	0,7624	0,8922	0,9215	0,9424	0,9609
R (%)	0	27,01	33,09	37,96	42,12	58,64	68,63	70,88	72,49	<b>73,91</b>
Ethanol										
t(h)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
DO	0	0,16	0,243	0,281	0,375	0,405	0,457	0,467	0,481	0,489
C (mg)	0	160	243	281	375	405	457	467	481	489
m (g)	0	32	48,551	56,088	74,775	80,676	90,943	92,84	95,527	97,018
T (%)	0	0,3306	0,5016	0,5794	0,7725	0,8334	0,9395	0,9591	0,9868	1,0022
R (%)	0	25,429	38,582	44,571	59,42	64,11	72,26	73,776	75,91	<b>77,09</b>



**Figure VI.13 : Rendement en fonction du temps d'extraction (margine)**

D'après la figure VI.13 on observe que l'évolution du rendement R% en fonction du temps montre que celui-ci augmente progressivement dans le temps pour atteindre un palier au bout de **6h** pour les deux solvants d'extraction.

En examinant les courbes, il en ressort qu'après une durée d'extraction de **6h** la courbe de l'éthanol commence à se stabiliser à un rendement d'extraction voisinant de  $R_{\text{Éthanol}}=77,09\%$ , et  $R_{\text{Eau}}= 73,91\%$  celle de l'eau ; ça due principalement à l'affinité de ces derniers avec les composés phénoliques et la grande solubilité de ces composés dans ces deux solvants.

#### **VI-4 Analyse des composés phénolique par HPLC (méthode instrumentale)**

Nous avons effectué une analyse quantitative et qualitative par HPLC sur quelques extraits issus du procédé d'extraction par SOXLHET des grignons d'olives et par DISTILLATION celle des margines pour identifier l'acide gallique et le phénol au niveau du laboratoire d'analyse **BEKER** de Dar-El-Beida.

L'analyse qualitative est basée sur la comparaison entre le temps de rétention du pic de l'analyte dans l'échantillon avec l'étalon (standard) pur.

##### **VI-4-1 Préparation des solutions standards**

En premier lieu, nous avons pris nos références (standards) :

1. Solution de l'acide gallique standard : **0,016 g/l**.

## 2. Solution du phénol standard : 0,016 g/l.

En deuxième lieu, on analysant ces deux derniers par **HPLC**. Nous avons développé une méthode pour l'analyse des polyphénols précités dans le chapitre V paragraphe V-4-2-2.

Les analyses des deux étalons nous a permis d'obtenir les chromatogrammes présentés dans les figures suivantes :

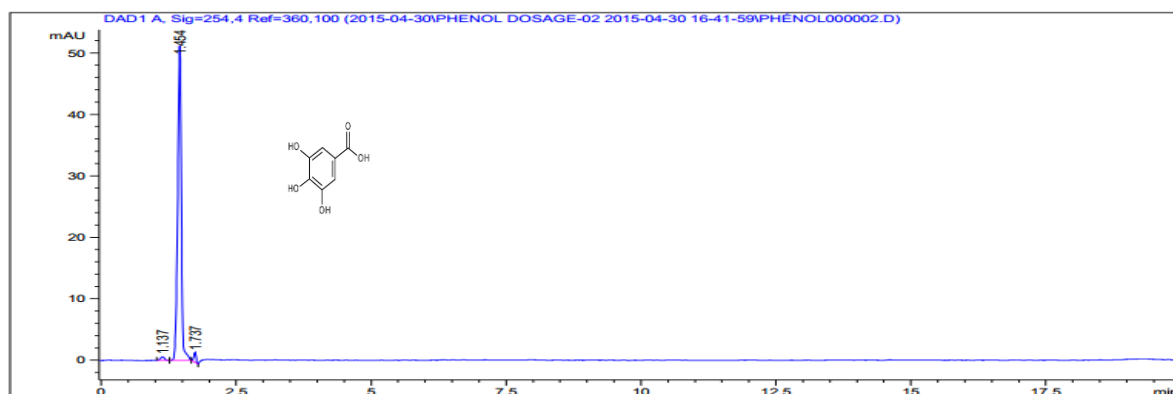


Figure VI.14 : HPLC - Pic de l'acide gallique standard

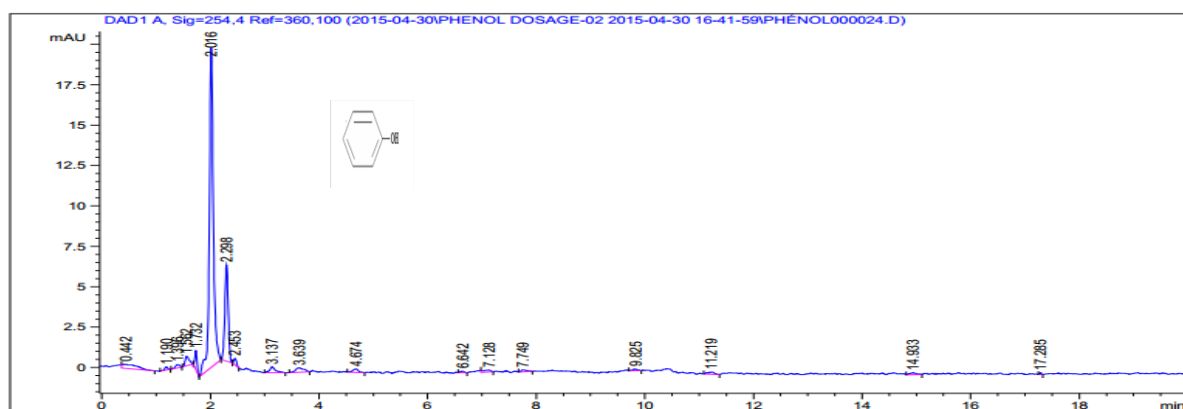
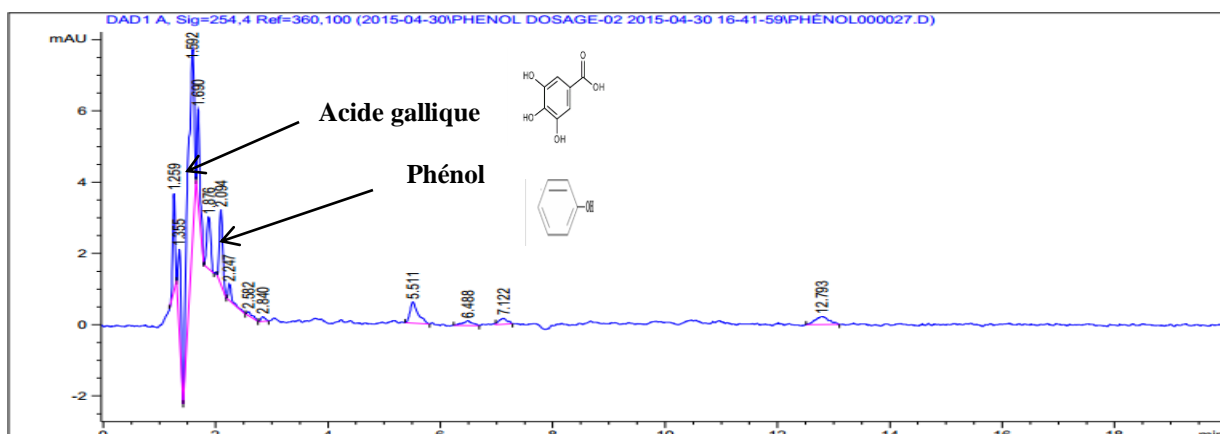


Figure VI.15 : HPLC - Pic du phénol standard

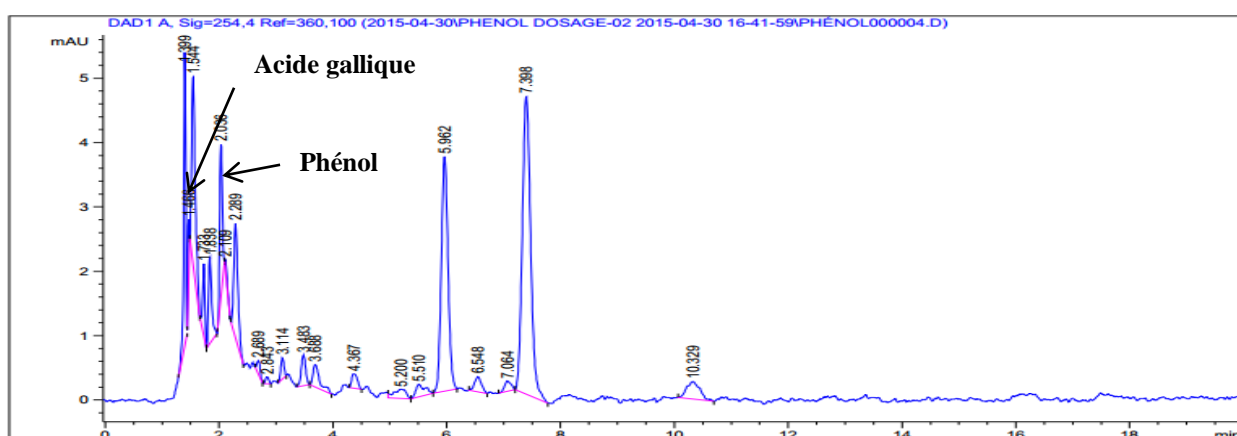
Nous avons utilisé ces deux standards parce qu'ils sont disponibles dans notre laboratoire, les grignons d'olive et les margines contiennent plusieurs composés phénoliques ; dans notre cas d'études nous avons basé sur l'identification de l'acide gallique et le phénol basant sur leurs importance dans différents domaines.

**VI-4-1 Analyse des extraits**

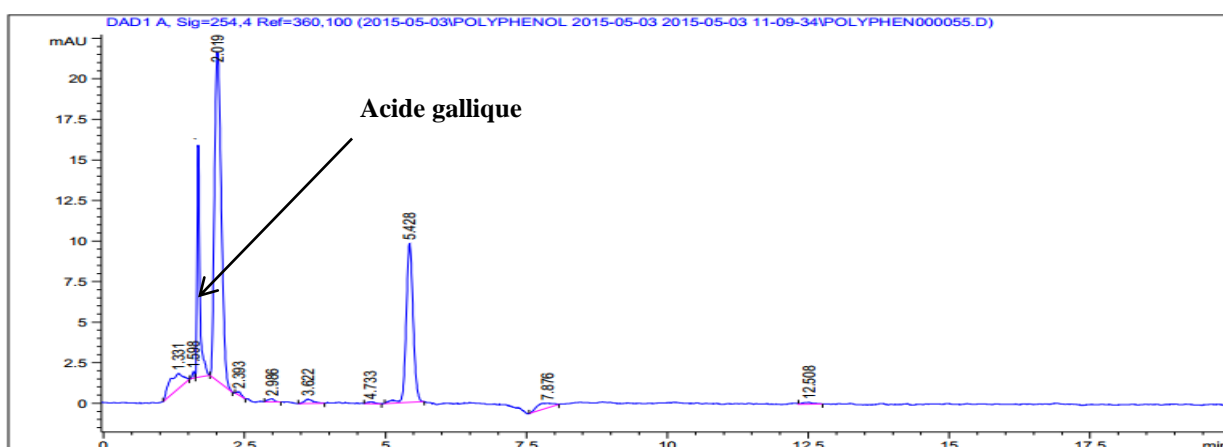
Les résultats d'analyses des échantillons extraits des grignons d'olive et des margines par SOXLHET et DISTILLATION respectivement sont données dans les figures suivantes :



**Figure VI.16 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans l'Éthanol (grignon)**



**Figure VI.17 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans le Méthanol (grignon)**



**Figure VI.18 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans l'Acétate d'Éthyle (grignon)**

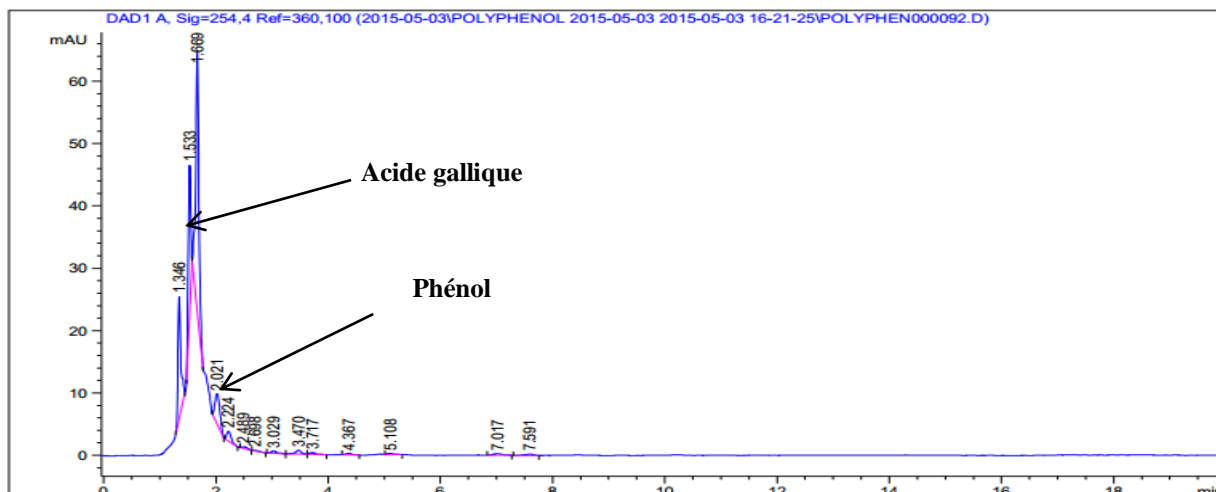


Figure VI.19 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans l'Éthanol (margine)

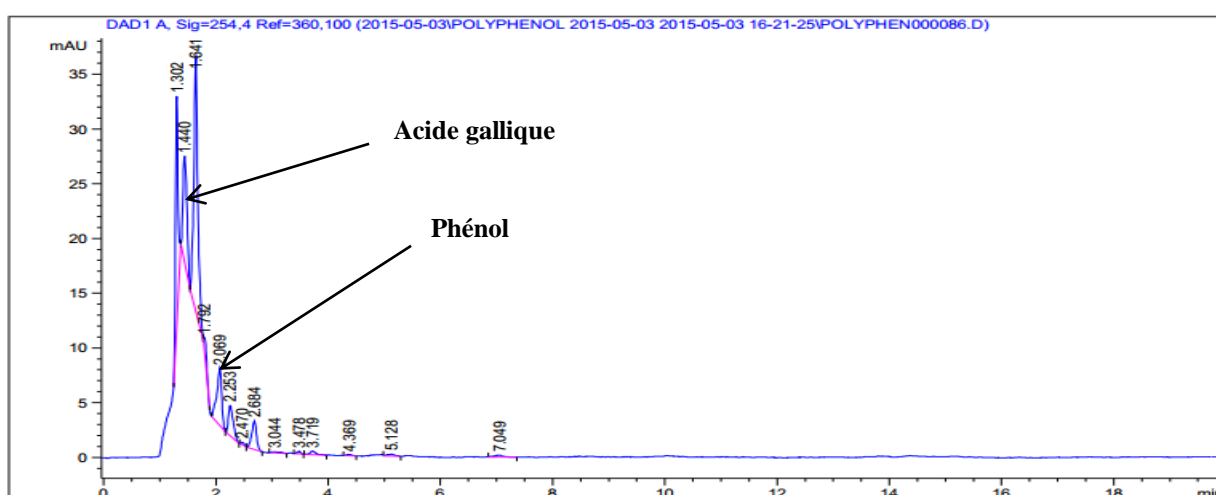


Figure VI.20 : Chromatogramme d'un échantillon extrait dans le Méthanol (margine)

Les chromatogrammes **HPLC** des cinq figures montrent plusieurs pics correspondants à des composés phénoliques car certains polyphénols s'absorbent dans la longueur d'onde **254nm**.

Ces cinq chromatogrammes **HPLC** montrent la présence des composés phénoliques suivants: l'acide gallique et le phénol à une longueur d'onde **254 nm** de détection; car ils ont le même temps de rétention que les solutions standards. Les aires des pics obtenus montrent que les quantités diffèrent d'une variété à une autre et ce même pour deux échantillons d'une même source (les rejets d'huileries).

D'après les figures on remarque la présence d'autres pics ce qui montre la présence d'autres composés phénoliques qui s'absorbent à la même longueur d'onde ; les grands pics montrent

la présence des composés à une forte concentration et les petits pics montrent la présence d'autres composés à une faible concentration.

L'identification de ces composés nécessite des solutions standards mais malheureusement cette tentative n'a pu être réalisée. Il est clair donc que les grignons d'olive et les margines contiennent plusieurs composés phénoliques.

## VI-5 Conclusion

Après avoir utilisé différents procédés d'extraction et différents solvants, nous avons essayé de focaliser nos résultats sur une analyse quantitative et qualitative, et ceci en passant par deux méthodes d'analyse totalement différentes (Classique & Instrumentale).

L'extraction au SOXLHET et par DISTILLATION ce sont deux méthodes commodes et efficaces qui nous ont servi à quantifier les composés phénoliques présents dans les rejets d'huileries ; et aussi pour étudier l'influence des différents paramètres d'extraction, tels que la température, le temps d'extraction, le type de solvant et la masse, ont été évaluées pour obtenir le bon rendement d'extraction.

L'ensemble des résultats qualitatifs obtenus par HPLC confirment ceux obtenus par colorimétrie. Donc l'analyse par HPLC reste la méthode la plus appropriée pour la détection et la quantification de composés phénoliques qui permet d'obtenir de bons résultats.

Donc ces résultats confirment que les rejets d'huileries contiennent différents composés phénoliques qui peuvent être valorisés.

*« Conclusion générale et  
perspectives »*



Ce travail s'articule autour de la valorisation des sous-produits agroalimentaires issus des industries oléicoles (les grignons d'olive et les margines), par l'extraction de composés phénoliques contenus dans ces rejets et de l'évaluer quantitativement et qualitativement.

L'extraction de ces composés à partir des grignons d'olives a été réalisée par le procédé au SOXLHET, et par DISTILLATION celle des margines. L'extraction a été réalisée par plusieurs solvants tels que : l'eau, l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'acétone ; nous avons déduit que ces solvants influent sur le rendement d'extraction des polyphénols.

Au cours de ce travail, nous avons tenté de nous rapprocher des conditions optimales pour les deux procédés d'extraction pour les deux rejets ; pour avoir les meilleures conditions opératoires et de bons rendements d'extraction.

Les cinétiques de l'extraction par solvants démontrent que le rendement maximal est atteint au bout de six heures d'extraction. Les meilleurs solvants de point de vue quantitatif semblent d'être l'éthanol et l'eau. Mais de préférence qu'on travaille avec de l'eau parce qu'elle est la plus économique et moins toxique.

Le meilleur rendement pour l'extraction des polyphénols à partir des grignons a été obtenu en utilisant le procédé d'extraction **SOXLHET** et l'éthanol et l'eau comme solvants qui donnent des rendements **66,99%** et **81,07%** respectivement avec les conditions opératoires ;  $T_{Ethanol} = 100^{\circ}C$ ,  $T_{Eau} = 110^{\circ}C$ ,  $t_{Extraction} = 6h$  avec un volume de solvant  $V=200ml$  et une masse d'échantillon  $m_{grignon}=20 g$ .

Le meilleur rendement pour l'extraction des polyphénols à partir des margines a été obtenu en utilisant le procédé d'extraction par **DISTILLATION** et l'éthanol et l'eau comme solvants qui donnent des rendements **77,09%** et **73,91%** respectivement avec les conditions opératoires ;  $T_{Ethanol} = 90^{\circ}C$ ,  $T_{Eau} = 115^{\circ}C$ ,  $t_{Extraction} = 6h$  avec un volume de solvant  $V=200ml$  et  $V_{margine}=10 ml$ .

Cette étude a déterminé l'importante teneur en composés phénoliques dans les grignons d'olives et les margines ; la quantification de ces derniers a été faite par la méthode colorimétrique; suivi par une étude qualitative par **HPLC**.

Une analyse qualitative par **HPLC** nous a permis de confirmer nos résultats et d'identifier deux molécules polyphénoliques (l'acide gallique et le phénol); la présence d'autres pics

nécessite d'autres solutions étalons ; cela n'est pas été faite, car nous n'avons pas tous les étalons qu'il faut.

Ce travail n'est qu'une contribution à la recherche de nouvelles ressources des extraits aromatiques et la valorisation des déchets agroalimentaires. Donc ces résultats confirment que les rejets d'huileries contiennent différents composés phénoliques qui peuvent être valorisé.

Ce travail ouvre la voie à d'autres travaux de recherches dans le domaine de l'extraction des polyphénols à partir des sous-produits oléicoles en utilisant d'autres méthodes d'extraction, un mélange de solvants pour améliorer le rendement d'extraction, et donc la valorisation de ces sous-produits.

**Perspectives :**

Nous proposons également de tester l'extraction par micro-onde, ultrason, puis l'identification des polyphénols par HPLC en utilisant plusieurs étalons pour déterminer toutes les molécules des éléments polyphénoliques contenus dans les sous-produits oléicoles.

*« Références bibliographiques »*

- [1]. **Halet F., (1999)**, « *Hydrolyse enzymatique des grignons d'olive* » Thèse de Magister ENP.
- [2]. International Olive Oil Council. Site web: <http://www.internationaloliveoil.org/>.
- [3]. **Visioli F, Romani A, Mulinacci, N, Zarini S, Conte D, Vincieri F et Galli C., (1999)**, « *Antioxidants and other biological activities of olive mill waste waters* ». Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, pp 3397-3401.
- [4]. **Mulinacci N, Romani A, Galardi, C, Pinelli, P, Giaccherini C et Vincieri., (2001)** « *Polyphenolic content in olive oil waste waters and related olive samples* ». Journal of Agricultural Food and Chemistry, 49, pp 3509-3514.
- [5]. **Spichiger Rodolphe-Edouard et al., (2002)**. *Botanique systématique des plantes à fleurs*. Edition Presses polytechniques et universitaires romandes. 2<sup>ème</sup> édition, pp 418.
- [6]. **Faostat-FOO., (2001)** *Base de données agricoles*
- [7]. **Chouchene A., (2010)**. « *Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique* » Thèse doctorat, pp 2.
- [8]. **Brousse G, Loussert R. L'olivier. (1978)**. Maisonneuse la rose, Paris.
- [9]. **Nefzaoui A. (1984)** *Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier. In : Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie. Étude FAO production et santé animales* **43**, Rome
- [10]. **Jean-Marie P** « *La culture des oliviers Éditions Artémis* », (2005) 2 -Site : *l'olivier de Provence*.
- [11]. Association française interprofessionnelle de l'Olive – AFIDOL. (2012/2013) Le marché mondial de L'huile d'olive. Mars 2013 - N° 20. <http://huiles-et-olives.fr/>.
- [12]. <http://www.algerie360.com/algerie/l'oleiculture-et-l'industrie-de-l'huile-d'olive-l'orvert/>.
- [13]. Observatoire national des filières agricoles et agroalimentaires. (2014) « *Les potentialités de production et les capacités de trituration de l'huile d'olive* ». pp 1-2-3.
- [14]. **Amouretti. M-C., Comet. G, le livre de l'olivier**, édition Edisud, (1985), pp 173.
- [15]. **Espiard E. (2002)**, « *Introduction à la transformation industrielle des fruits* », éditions TEC et DOC.
- [16]. **Trigui A., « Etude en vue de l'élaboration d'un plan d'action pour l'utilisation énergétique des sous-produits de l'oliveraie tunisienne »**, Projet 00058135 PNUD-Tunisie/ANME,,
- [17]. **Argenson. C et al., (1999)**, *L'olivier*, les Editions Ctifl, pp 204
- [18]. **Cuellar L.R., (1990)**, « *Amélioration de la qualité de l'huile d'olive* », Collection : Manuel pratique (Conseil Oléicole International).
- [19]. <http://www.museodellolivo.com/fr/frpercorsi.htm>
- [20]. **Boskou D., (2010)** « *olive Oil Chemistry and technology* », 2<sup>ème</sup> Edition, AOCS Press, Bioresource Technology 101, pp 6225–6229.
- [21]. **Di Giovacchino. L., (1991)**, « *l'extraction de l'huile des olives par les systèmes de pression de la centrifugation et de percolation : incidence de technologie d'extraction sur le rendement en huile* », *Olivae*, N°36, pp 15.
- [22]. **Foin J, Claude S., (2002)**. *Le guide des huiles d'olive*, édition du Rouergue.
- [23]. **Hammadi C., (2006)**. *Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité*, Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. N° 141, Maroc.

- [24]. **El-Hajjoui H.**, (2007), « *évolution des caractéristiques physico-chimiques, spectroscopiques et écotoxicologiques des effluents d'huileries d'olive au cours de traitements biologique et chimique* », thèse de doctorat, institut polytechnique de Toulouse (France).
- [25]. **Benlemlih M, Ghanam J.** (2012), « *Polyphénols d'huile d'olive, trésors sante* », France, pp 19-22
- [26]. **Boskou D.**, (1996). *Olive oil: Chemistry and Technology*. AOCS Press, Champaign. IL : pp 52–83.
- [27]. **Ollivier D, Pinatel C, Artaud J.**, *Le Nouvel Olivier*, no 44 mars-avril (2005), Base de données FATG-BD01.
- [28]. **Tamburino V, Zimbone S M et Quottrone P.**, (1999). *Accumulation et écoulement des margines sur le sol agricole. Olivae*, 76 : 36-45.
- [29]. **Amirante P, Direnzo L, Dgiovacchino, Brianchi B et Catalano P.** (1993). *Evolution technologique des installations d'extraction de l'huile d'olive, Olivae*, 48
- [30]. **Di-Giovacchino L.**, (1996). *L'influence des systèmes d'extraction sur la qualité de l'huile d'oleve, Olivae*, 63, 52-63
- [31]. **Seraphim P., Maria G.P., Stylianos F., Michael K., George A.**, (2008). Citric acid production by *Yarrowia lipolytica* cultivated on olive-mill wastewater-based media. *Bioresource Technology*, 99, pp 2419–2428.
- [32]. **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 » à l'atelier «Pollution and Development issues in the Mediterranean Basin» ,2ème Conférence Internationale « Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries» (SESEC II), Lausanne, Suisse
- [33]. **Nefzaoui A.**, (1991) «*Valorisation des sous-produits de l'olivier* », LABORATOIRE DE NUTRITION ANIMALE INRA DE TUNISIE.
- [34]. **Nefzaoui. A.**, (1987). *Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits, OLIVAE IV* Tunisie.
- [35]. **Trigui A.**, (2008), PNUD-Tunisie/ANME, « Etude en vue de l'élaboration d'un plan d'action pour l'utilisation énergétique des sous-produits de l'oliveraie tunisienne », Projet 00058135.
- [36]. <http://www.fao.org/>
- [37]. **Derriche R, Berrahmoune K.S.**, (2007). *Valorisation of olive oil cake by extraction of hemicelluloses, Journal of Food Engineering* 78, pp 1149–1154.
- [38]. **Fedeli E.**, (1997) *technologie de production et de conservation de l'huile*, encyclopédie mondiale de l'olivier, pp 253-283
- [39]. **Djadouf S et al.**, (2011) *étude de l'influence des ajouts (grignon d'olive et foin) sur les caractéristiques physico-mécaniques de la brique de terre cuite*, Communication Science & technologie, N° 9. COST.
- [40]. **Hamdi M.**, (1993c). *Valorisation et épuration des effluents des huileries d'olives: l'utilité de la microbiologie industrielle. Olivae*, 46, pp 20-24.

- [41]. **Hamdi M et Ellouz R., (1993).** Treatment of detoxified olive mill wastewaters by anaerobic filter and aerobic fluidized bed processes. *Environmental Technology*. 14: pp 183-188.
- [42]. **Ranalli A., (1991).** L'effluent des huiles d'olives : propositions en vue de son utilisation et son épuration. Références aux normes italiennes en la matière. *Olivae*. 39: pp 18-34.
- [43]. **Mouncif M, Tamoh S, Faid M. et Achkari B. A., (1993).** A study of chemical and microbiological characteristics of olive mill wastewater in morocco. *Grasas y Aceites*. 44: pp 335-338.
- [44]. **Khoufi S, Feki F, Sayadi S., (2007).** Detoxification of olive mill wastewater by electrocoagulation and sedimentation processes. *Journal of Hazardous Materials* 142, 58-67.
- [45]. **Yahiaoui N., (2012)** « *Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif* », thèse magister, Université MOULOUD MAMMERI, TIZI OUZOU.p,9-22
- [46]. **Loulan PY, Thelier Y. (1987).** *Procédé et dispositif de traitement par fermentation méthanique des eaux résiduaires lipidiques*, Brevet français, 2620439.
- [47]. **El Alami B. (2000).** « *Contribution à l'étude de l'activité anti-oxydante de la fraction phénolique des margines* ». Mémoire de 3ème cycle, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc. p 93.
- [48]. **Achat S., (2013)** « *Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques* », thèse doctorat, UNIVERSITE A. MIRA-BEJAIA. pp 5-11.
- [49]. **De Souza R.f, W.F, De Giovani., (2004).** Antioxidant Properties of Complexes of Flavonoids with metal ions. *Redox Report*. 9(2): pp 97-104.
- [50]. **El Gharras, H. (2009).** "Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review." *International Journal of Food Science and Technology* 44(12): pp 2512-2518.
- [51]. **Rezaire A. (2012).**, *Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien Oenocarpus bataua (patawa)*. Thèse doctorat. Université des Antilles et de la Guyane. France. pp 69.
- [52]. **Maillard M. N., (1996).** Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris, pp 148
- [53]. **Xia E. Q, Deng G. F, Guo Y. J et Li H. B., (2011).** "Biological Activities of Polyphenols from Grapes." *International Journal of Molecular Sciences* 11(2): pp 622-646.
- [54]. **Udenigwe, C. C, Ramprasath V. R, Aluko et Jones P. J. H., (2008).** "Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy." *Nutrition Reviews* 66(8): pp 445-454.
- [55]. **Berset C et Bondini L. (2000).** Roles des polyphénols en alimentation et santé humaine. Compte rendu de la journée ACIA de 14 décembre 1991 IAA (12), pp 20-24
- [56]. **Moussaoui R, Siziani D, Youyou D, Sharrock P et Fillo M., (2010).** Antioxidant effect of phenolic compounds recovered from olive mill wastewater of Chemlal variety cultivated in Kabylia (Algeria) on the oxidative stability of virgin olive oil. *Journal of food, Agriculture & Environment* Vol.8(3&4): pp 86-89.
- [57]. **Macheix J.J, Fleuriet A et Jay-Allemand C., (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux (Un exemple de métabolites secondaire d'importance économique)*. Edition technique et documentation, Lavoisier

- [58]. **Berset C et Bondini L., (2000).** *Roles des polyphénols en alimentation et santé humaine.* Compte rendu de la journée ACIA de 14 décembre 1991 IAA (12), pp 20-24
- [59]. **Sartori-Thiel A., (2003).** "Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols." *Science et Agronomie ED 380* Doctorat: 177.
- [60]. **Nkondjock A, Shatenstein B, Maisonneuve P. & Ghadirian P., (2003).** Assessment of risk associated with specific fatty acids and colorectal cancer among French-Canadians in Montreal: a case-control study. *International Journal of Epidemiology.* 32 (2). pp 200-209.
- [61]. **Leybros J., Fremeaux P.,(1990).** *Extraction solide-liquide - Aspects théoriques.* Techniques de l'Ingénieur (traité Génie des procédés), J 2780.
- [62]. **Ben amor B., (2008).** *Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée DIC* » thèse doctorat, pp 3-4.
- [63]. **Cisse M., (2010)** « *Couplage De Procédés Membranaires Pour La Production d'extraits Anthocyaniques : Application À l'hibiscus Sabdariffa* » thèse doctorat, , pp 37-39-40.
- [64]. **Guerrero, M. S.; Torres, J. S.; Nunez, M. J., (2008),** *Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: Optimization and modelling.* *Bioresource Technology,* 99, (5). pp 1311-1318.
- [65]. **Lalou A., (1995).** *Mise au point d'un procédé d'extraction des hémicelluloses à partir d'un substrat végétal lingo-cellulosique : application au cas des coques de tournesol.* Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.
- [66]. **Aguiera J.M., (2003).** Solid-liquid extraction. *Food Sciences and Technology,* 128, pp 35-55.
- [67]. **Ramos A-F, Huesa L-J., (1969).** Generalidades sobre la extracción del aceite del orulo de aceituna mediante disolventes. *Grasas y aceites,* 20(2), pp 85-94.
- [68]. **Luque de Castro M.D and Garcia-Ayuso L.E., (1998).** *Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future,* *Analytica Chimica Acta* 369, pp 1-10.
- [69]. **Carnat A.P, Carnat A, Fraisse D, Ricoux L and Lamaison J. L., (1998).** *The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (Melissa officinalis L. subsp. Officinalis) tea,* *Pharmaceutica Acta Helveticae,* 72 (5), pp 301-305.
- [70]. **Wang L and Waller C. L., (2006).** *Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants,* *Trends in Food Science & Technology,* pp 300 – 312.
- [71]. **Kiriamiti K. H., (2003).** *Extraction de pyrétroïnes par CO2 liquide et supercritique,* PhD Thesis, INP Toulouse.
- [72]. **Trambouze P et Wauquier J.P., (1975)** « Le développement des procédés de raffinage et pétrochimie ». Ed technip,
- [73]. **Gérard C., (1998).** *Extraction liquide-liquide – Présentation générale.* Techniques de l'Ingénieur (traité Génie des procédés), J 2760.
- [74]. **Emuri A, Stanilas G D, Jean Claude A., (2010).** *Annales de toxicologie analytique, Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés,* pp 53-55-56.
- [75]. **Messikh N. (2008)** « *Application des réseaux de neurones pour prédire Le rendement de l'extraction liquide- liquide du Phenol* ». Thèse doctorat, Université BADJI Mokhtar-Annaba.

- [76]. **Treybal RE., (1963).** *Liquid Extraction*. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Mc Graw-Hill,
- [77]. **Cusack RW, GLATZ DJ., (1996).** Apply liquid-liquid Extraction to today's Problems. Chem Eng; pp 94-103.
- [78]. **Khoddami A, Meredith A. Wilkes and Thomas H.R, (2013).** *Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds*. Journal of Molecules, 18, pp 2328-2375.
- [79]. **Srisuwan G., (1988)** « *Extraction solide-liquide en colonne puisée à disque et couronnes : Modélisation et application au cas des tanins* ». Thèse doctorat. INP, Toulouse.
- [80]. **Rouessac F., Rouessac A., (1992).** Analyse chimique – Méthodes et techniques instrumentales modernes -Ed Masson.
- [81]. **Lakhtar H., (2009).** *Culture du *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler sur résidus oléicoles en fermentation en milieu solide : Transformation des polyphénols des margines*, thèse doctorat, université paul cézanne, aix marseille III. pp 9-13
- [82]. **Ouabou E, Hilali S., (2014).** Physico - Chemical Characterization of OMWW City Guisser (Region of Settat Morocco) and Monitoring its Color During the (Oxidation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Natural Evaporation) and the Study of Its Biological Activity Against the *Aspergillus Niger*. International Journal of Engineering Research & Technology (IJERT). pp 1789-1790.
- [83]. **Bouknana B, 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. Journal of Materials and Environmental Science. pp 1044 - 1049.
- [84]. **Aissam H, Sendide K, Benlemlih M., (2001).** Etude et traitement biologique préliminaire de la pollution azotée et phosphorée contenue dans les effluents d'industrie agro-alimentaires. Ann. Chim. Sci. Mat.26, pp 391-396.
- [85]. **Benhammou N., (2011).** « *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien* ». Thèse doctorat. *Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen*. pp 46-55.
- [86]. **Pu-jun Xie, Li-xin Huang, Cai-hong Zhang, Feng You, Yao-lei Zhang., (2015).** «Reduced pressure extraction of oleuropein from olive leaves (*Olea europaea* L.) With ultrasound assistance. Food and Bioproducts Processing. Science direct. pp 33-34.
- [87]. **Clémentine B, Mathieu S, Elena V, Ilonka S., (2012).** *Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.)*. Revue de génie industriel. pp 39.
- [88]. **Potentiel de développement des produits du Moringa., (2001),** Dar es Salaam, Tanzanie.
- [89]. **Jokić S, Velić D, Bilić M, Bucić-Kojić A, Plan inić M. and Tomas S., (2010).** Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. J. Food Sci. vol. 28. pp 206- 212.

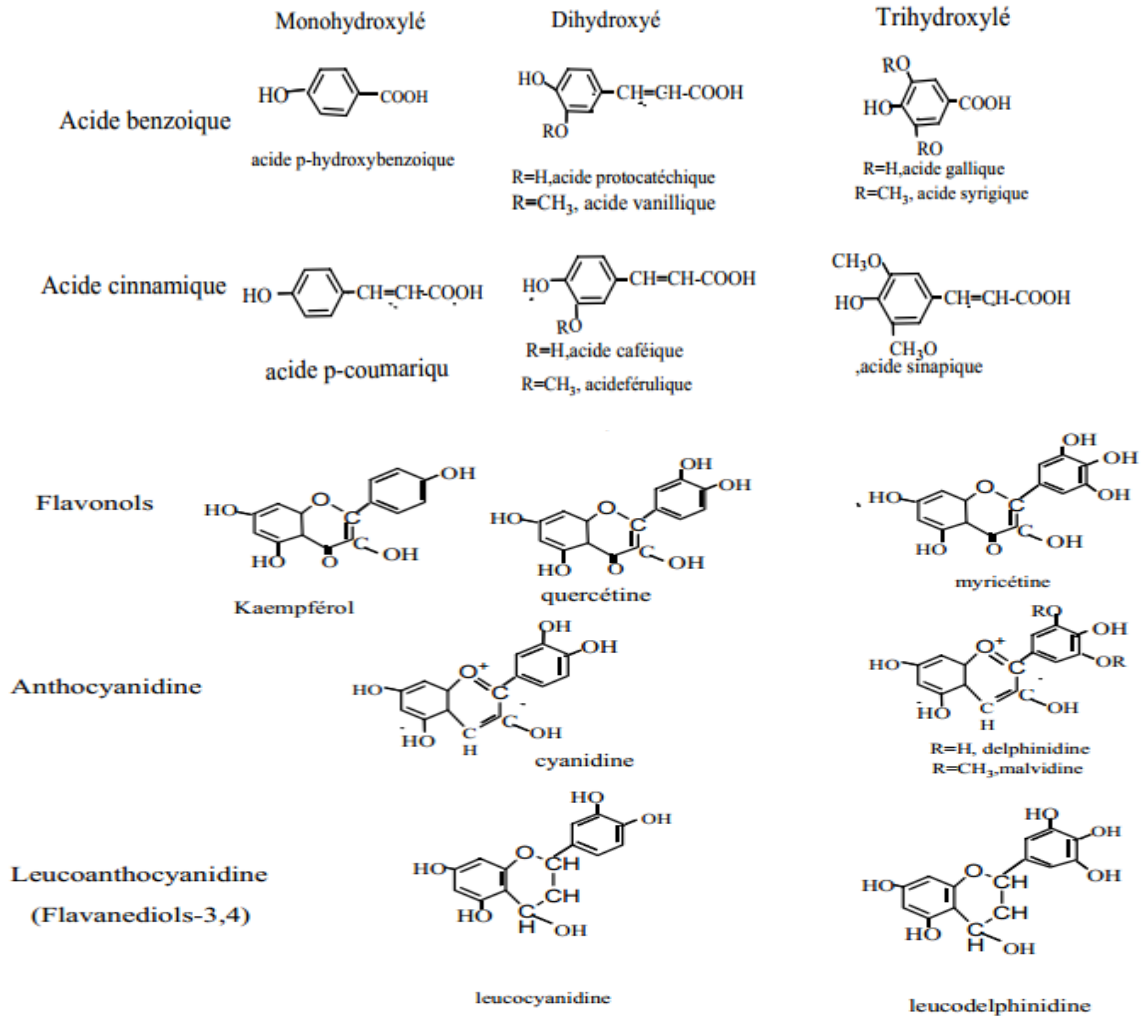


# « *Annexes* »

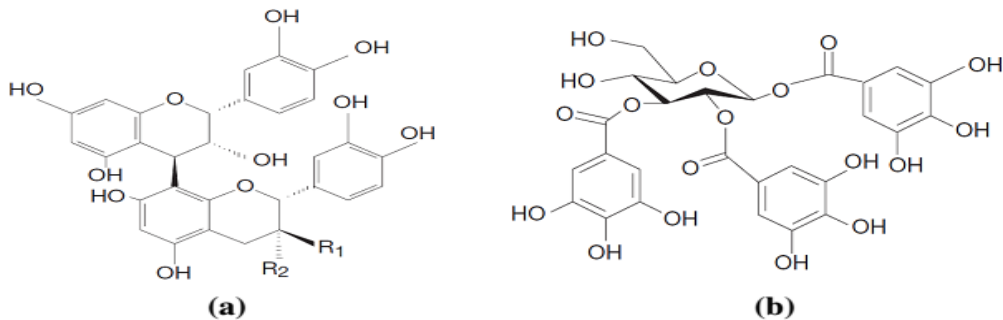
**Annexe 01 : La production mondiale d'huile d'olive (Campagne 2013) [13].**

<b>Pays</b>	<b>Production par tonnes</b>	<b>% Total monde</b>
<b>Union Européenne</b>	1 739 000	63,98
<b>Turquie</b>	195 000	7,17
<b>Tunisie</b>	220 000	8,09
<b>Syrie</b>	198000	7,28
<b>Maroc</b>	100000	3,68
<b>Algérie</b>	<b>56 500</b>	<b>2,08</b>
<b>Libye</b>	15000	0,55
<b>Montenegro</b>	500	0,02
<b>Croatie</b>	4000	0,15
<b>Arabie saoudite</b>	3000	0,11
<b>Australie</b>	19000	0,70
<b>Chili</b>	21500	0,79
<b>Etats-Unis</b>	12000	0,44
<b>Palestine</b>	15500	0,57
<b>Albanie</b>	8500	0,31
<b>Argentine</b>	17000	0,64
<b>Egypte</b>	6500	0,24
<b>Iran</b>	6000	0,22
<b>Israël</b>	13000	0,48
<b>Jordanie</b>	35000	1,29
<b>Liban</b>	18000	0,66
<b>Autres pays producteurs</b>	15000	0,55
<b>Total Monde</b>	<b>2 718 000</b>	

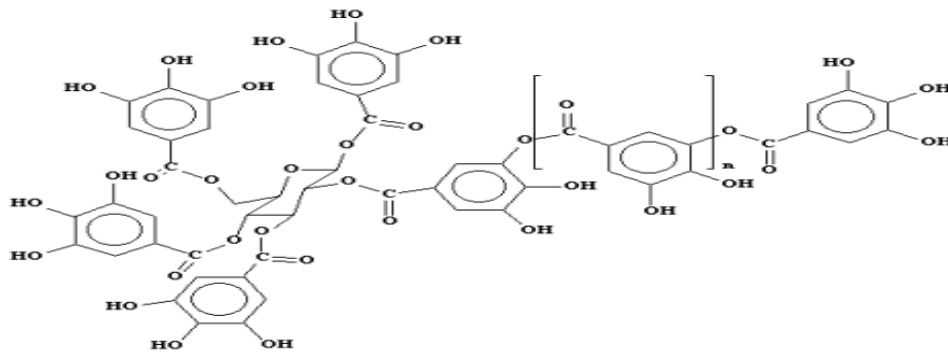
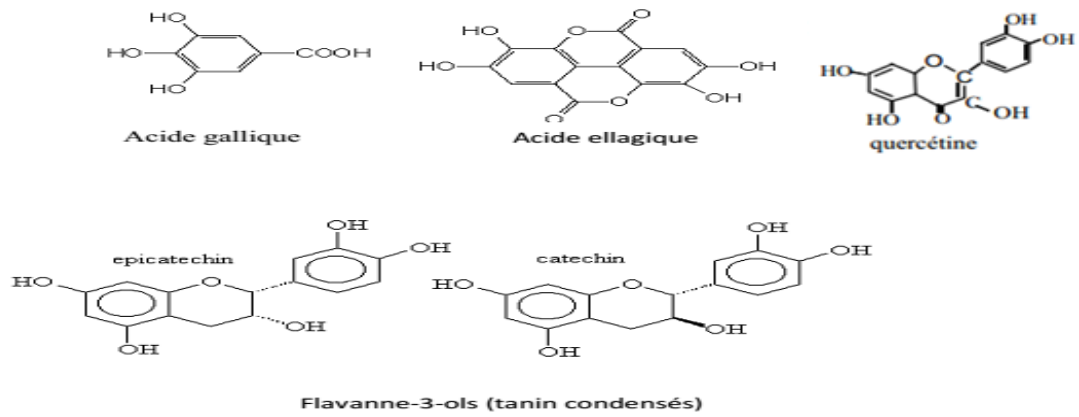
## Annexe 02 : Les principaux polyphénols des végétaux. [45]



## Annexe 03 : Structure des tannins



Structure chimique (a) d'un tannin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallo tannin (tanins hydrolysables) (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose).



### Gallotannin

Annexe 05 : Les polyphénols des sous-produits agroalimentaires (grignons d'olive et margine).

[81]

Composés phénoliques	structure	teneurs
Acide caféique (Mm.l <sup>-1</sup> )		0.32 -1.36
Acide p-coumarique (Mm.l <sup>-1</sup> )		0.19 -0.57
Hydroxytyrosol (mg.l <sup>-1</sup> )		37.9 - 143.34
tyrosol (mg.l <sup>-1</sup> )		8.51 - 9.43
Acide vanillique (mg.l <sup>-1</sup> )		20
Acide ferrulique (mg.l <sup>-1</sup> )		95

## Annexe 06 : Caractérisations des grignons d'olive et les margines

### I. Grignons d'olive

#### 1. l'humidité initiale

Le principe de la détermination de l'humidité initiale du grignon d'olive utilisé et l'humidité après séchage, consiste à prendre une masse  $m_1$  d'échantillon et la porter à une température de  $103\pm 1^\circ\text{C}$  dans une étuve jusqu'à ce que sa masse devienne constante.

L'humidité est calculée en utilisant la relation suivante :

$$\text{Humidité \%} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (\text{I})$$

- $m_1$  : masse de la prise d'essai avant séchage (g) ;
- $m_2$  : masse de la prise d'essai après séchage (g) ;

#### 2. Matière sèche

Les teneurs en matière sèche des grignons d'olive sont déterminées selon le protocole suivant :

- Peser un creuset vide,
- Introduire 10 g des grignons d'olive dans ce creuset et peser l'ensemble,
- Mettre le creuset contenant les grignons dans une étuve portée à  $(100\pm 3)^\circ\text{C}$  jusqu'à obtention d'une masse constante,
- Après refroidissement dans un dessiccateur, procéder à la détermination de la masse de la matière sèche. La teneur en matière sèche est calculée par la relation suivante :

$$MS = m_1 - m_0 \quad (\text{II})$$

- $m_1$  : est la masse de creuset avec la matière sèche ;
- $m_0$  : c'est la masse du creuset vide ;

#### 3. Les cendres

Le grignon d'olive a été incinérés à  $850^\circ\text{C}$  jusqu'à une masse constante dans un four à moufle. La teneur en cendres, exprimée en pourcentage, est donnée par l'équation :

$$\text{Cendre \%} = \frac{m_1 - m_{cr}}{m_2 - m_{cr}} * 100 \quad (\text{III})$$

- $m_{cr}$  : la masse du creuset vide (g).
- $m_1$  : la masse du creuset et des cendres (g).
- $m_2$  : la masse du creuset et la prise de grignons d'olives (g).

#### 4. Matière volatile

La matière volatile (MV) est déterminée en faisant la différence entre la masse de la matière sèche obtenue par évaporation à  $(100\pm 3)$  °C et celle des résidus de cendres issues de la calcination à 850°C jusqu'à une masse constante, est donnée par l'équation :

$$MV = MS(\%) - TC \quad (\text{g}) \quad (\text{IV})$$

- TC : taux en cendre.
- MS : matière sèche.

#### 5. Teneur en polyphénols « Méthodes colorimétrique de FOLIN-CIOCALTEU » [79].

Cette méthode elle est applicable dans le cas des grignons et aussi pour les margines.

##### ➤ Réactifs employés

1. Réactif de **FOLIN-CIOCALTEU**.
2. **Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4.25%**.

##### ➤ Mode opératoire

- 1) On verse dans un erlen Mayer.
  - 0.2 ml d'échantillon dilué autant de fois qu'il est nécessaire.
  - 1 ml de réactif de FOLIN-CIOCALTEU.
  - 20 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4.25%.
- 2) Agité, versé dans un tube à essais.
- 3) Porter au bain - marie à 70°C pendant 20 mn.
- 4) Refroidir sous un courant d'eau froide.

En présence de phénols, le mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique est réduit en oxydes bleus de tungstène et de molybdène que l'on détermine par colorimétrie.

- 5) Analyser au spectromètre à 760 nm par rapport à une solution témoin (eau distillée) en utilisant le spectrophotomètre UV/ Vis. Une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'acide gallique a été préparée [85].

## II. Margine

### c) Conductivité

La sonde du conductimètre, une fois rincé, est plongée dans un bécher contenant 20 à 30 ml de margine à analyser, ceci en prenant soin à ce que les électrodes soient complètement immergées. On agite les margines afin que la concentration ionique entre les électrodes soit

identique à celle du liquide ambiant. On lit la valeur de la conductivité en prenant en compte de la température de mesure.

#### d) DCO

✓ Les solutions utilisées :

- Solution de digestion.
- Solution de réactif acide
- Solution d'acide sulfurique.
- Solution étalon de biphthalate de potassium.

✓ La préparation des échantillons : Les solutions et les échantillons sont traités de la même façon.

- Homogénéiser l'échantillon et les solutions étalons.
- Prélever à l'aide d'une pipette 2,5 ml d'échantillon ou de la solution étalon et l'introduire dans le tube en verre.
- Ajouter lentement 1,5 ml de la solution de digestion dans chaque tube.
- Ajouter lentement 3,5 ml de réactif acide, visser fermement le bouchon.
- Mélanger le tout à l'aide d'un agitateur.
- Porter le reflux dans un four à DCO à une température de 150°C pendant 2 heures.

Le courbe d'étalonnage est effectué à partir d'une solution de biphthalate de potassium ( $C_8H_5O_4K$ ) préparée à 851 mg/l d'eau distillée et correspondant à 1000mg/l de DCO en procédant à des 4 dilutions (100mg/l-250mg/l-500mg/l-750mg/l).

#### e) Teneur en eau et en matière sèche

Les teneurs en eau et en matière sèche des margines sont déterminées selon le protocole suivant :

- Peser un bécher vide,
- Introduire 10 ml des margines dans ce bécher et peser l'ensemble.
- Mettre le bécher contenant les margines dans une étuve portée à ( $100 \pm 3^\circ C$ ) jusqu'à obtention d'une masse constante,
- Après refroidissement dans un dessiccateur, porter à la détermination de la masse de la matière. La teneur en matière sèche est calculée par la relation suivante :

$$MS = \frac{m - m_0}{10} \times 1000 \quad (V)$$

- MS : teneur en matière sèche.

- $m_0$  : est la masse du bécher vide.
- $m$  : représente la masse du bécher et des margines après séchage.

La teneur en eau ou humidité est déterminée comme suit :

$$H (\%) = \frac{m_1 - m}{m_1 - m_0} \times 100 (\%) \quad (\text{VI})$$

- TE : teneur en eau ou humidité H (%).
- $m_1$  : est la masse du bécher et des 10 ml de margines avant séchage.

#### f) Teneur en cendre et en matière volatile

La matière sèche obtenue est calcinée à **850°C** dans un four à moufle jusqu'à une masse constante. La teneur en cendres exprimée en g/l est donnée par la formule suivante :

$$C_d = \frac{m_1 - m_0}{v} \times 1000 \quad (\text{VII})$$

- $C_d$  : cendres en g/l.
- $m_0$  : poids du creuset vide en g.
- $m_1$  : poids du creuset avec cendres en g.
- $v$  : volume de la prise d'essai en ml.
- $m_2$  : La masse de l'échantillon utilisé.

D'où :

$$\text{Cendre } (\%) = \frac{C_d * v}{m_2} \quad (\text{VIII})$$

La matière volatile (MV) est déterminée en faisant la différence entre la masse de la matière sèche obtenue par évaporation à  $(100 \pm 3^\circ\text{C})$  et celle des résidus de cendres issues de la calcination à  $850^\circ\text{C}$  jusqu'à une masse constante. Elle est exprimée en g/l par rapport à la matière sèche.

$$MV = MS - T_c \quad (\text{IX})$$