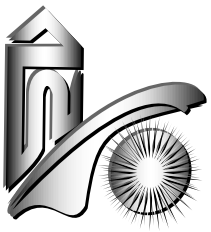
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE Dr YAHIA FARES, MEDEA
FACULTE DE SCIENCE ET DE LA TECHNOLOGIE
DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES ET ENVIRONNEMENT



Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention
du Diplôme de Master en Génie des Procédés et Environnement
Option: Pollution Chimique et Gestion Environnementale

CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBOLOGIQUE DES REJETS LIQUIDES « MARGINES » ISSUS DE LA PRODUCTION D'HUILES D'OLIVES

Réalisé par :
Gouita Mohamed
Maklouche Moussa

Encadré par :
SAIBA Ali

ANNEE UNIVERSITAIRE 2013 / 2014

REMERCIMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein du hall technologie de l'université de Médéa, certaines analyses chimique (DCO, DBO, ammonium, orthophosphtes, azote totale) et microbiologiques ont été réalisées dans le laboratoire de l'Office Nationale d'Assainissement de Médéa et laboratoire de microbiologie de contrôle des eaux à Tipaza.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Monsieur Ali SAIBA, Maître Assistant A, à l'université de Médéa pour la confiance qu'il m'a accordé en me proposant ce sujet, et de mettre à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également aux membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner ce travail.

J'exprime mes profonds remerciements à tout le personnel des différents laboratoires pour leurs soutiens techniques.

Je remercie vivement tous ceux qui ont participé discrètement à l'accomplissement de ce mémoire.

Résume

Les eaux de végétations ou margines résultantes de l'extraction d'huile d'olive, constituent un problème majeur à l'environnement à cause de leur pouvoir polluant (riches en matières organiques et minérales) et leur pH acide. Le but du présent travail est d'évaluer la qualité microbiologique et physico-chimique des margines d'une huilerie traditionnel. Les résultats des analyses physicochimiques ont montré que les margines ont un pH acide. Riches en matière organique avec une DBO_5 de 70 $gO_2.l^{-1}$ et une DCO de 155 $gO_2.l^{-1}$. Notre margine est caractérisée par un taux moyennement élevé en composés phénoliques entre 1,28 et 1,38 $g.l^{-1}$ ce qui permettre d'envisager une éventuelle récupération. D'autres analyses ont été aussi réalisées (conductivité, turbudité, les sucres totaux, azote, phosphore, matière grasse…ect). L'étude microbiologique de ces margines a révélé que ce rejet renferme une charge microbienne assez grande.

Mots clés : margine, phénols, pollution, DCO, DBO_5

Abstract

The olive mill wastewater resulting from the extraction of olive oil, is a major environmental pollutant because of their power problem (rich in organic and minerals contents) and their pH acid. The purpose of this study was to evaluate the microbiological and physico-chemical quality of olive mill wastewater of a traditional oil mill. The results of physicochemical analyzes showed that the OMW have an acid pH. Rich in organic matter with a BOD_5 of 70 $gO_2.l^{-1}$ and a COD de 155 $gO_2.l^{-1}$. Our OMW is characterized by high levels of phenolic compounds between 1.28 and 1.38 $g.l^{-1}$ which allow consideration of a possible recovery. Additional analyzes were also performed(conductivity, turbudity, sugars, nitrogen, phosphorus…ect). The microbiological study of these OMW revealed that this release contains a rather large microbial load.

Keys word: Olive mill wastewater, phenols, pollution, COD, BOD_5

ملخص

النفايات السائلة لمعاصر الزيتون ناتجة عن إستخراج زيت الزيتون، تشكل مشكلة كبيرة على البيئة بسبب قوة الملوثات بها (الغنية بالمواد العضوية وغير العضوية) و وسطها حامضي. و الغرض من هذه الدراسة تحديد النوعية الميكروبيولوجية و الفيزيوكيميائية للنفايات السائلة لمعاصر الزيتون التقليدية. وأظهرت نتائج التحاليل الفيزيائية أن النفايات السائلة لمعاصر الزيتون لها درجة حموضة عالية و هي غنية أيضا بالمواد العضوية مع طلب بيولوجي على اللأكسيجين (DBO) بمقدار $70\ gO_2.l^{-1}$ و طلب كيميائي على الأكسيجين (DCO) بمقدار $155\ gO_2.l^{-1}$. وتتميز هذه السوائل بمستويات عالية من المركبات الفينولية بمتوسط 1,28 و $1,38\ g.l^{-1}$ التي تسمح النظر في تثمين محتمل. وأجريت أيضا تحليلات إضافية(الموصلية، التعكر، السكريات الكلية، النيتروجين و الفوسفور...). وكشفت الدراسة الميكروبيولوجية لهذه النفايات السائلة أنها تحتوي على حمل ميكروبي كبير.

كلمات مفاتيح: النفايات السائلة لمعاصر الزيتون، الفينول، تلوث، الطلب الكيميائي على الأكسجين، الطلب البيولوجي على الأكسجين

Table des matières

Remerciements

Résumé

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale ……..……..1

PARTIE A : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Données générales sur l'olivier ……..3

I. 1. L'olivier …….. …..3

I. 2.Le fruit ……3

II. Oléiculture ……...…...4

II.1. Verger oléicole mondial ……4

II. 2. Oléiculture en Algérie ……...6

III. l'huile d'olive

III. 1. De l'olivier à l'huile d'olive ……8

III.2. Les opérations de production d'huile d'olives……..9

III. 2. 1. Opération préliminaire ……...…9

III. 2. 1. 1. Nettoyage et préparation des olives……..…9

III. 2. 1. 2. Broyage ……..……9

III. 2. 1. 3. Malaxage ……9

III. 2. 1. 4. Séparation des phases ……...10

III. 2. 2. Procédés d'extraction de l'huile d'olive …….……...10

III. 2. 2. 1. Procédé discontinu ou système à presse ……..10

III. 2. 2. 2. Procédé continu ou par centrifugation ……..…..11

III.3. Comparaison des systèmes de production.……12

IV. Les margines (sous produits d'extraction de l'huile d'olive)…….……...15

IV. 1. Origine des margines……..…….....15

IV. 2. Les caractéristiques physico-chimique des margines …….….16

IV. 2. 1. Fraction minérale……..……16

IV. 2. 2. Fraction organique ……..…..…17
IV. 2. 2. 1. Les glucides ……..…17
IV. 2. 2. 2. Composés azotés……..17
IV. 2. 2. 3. Vitamines ……18
IV. 2. 2. 4. Acides organiques ……...……18
IV. 2. 2. 5. Huiles ……..18
IV. 2. 2. 6. Les composés phénoliques…… .18
IV. 2. 3. pH, conductivité et matière sèche…….20
IV. 3. Caractéristiques microbiologiques ……...20
IV. 4. Problématique des margines …….....…….21
IV.4.1. Pollution des eaux.……...21
IV.4.2. Pollution des sols……22
IV.4.3. Air et paysage..……..…22
V. Procédés de valorisation des margines ……....22
V. 1. Production des protéines d'organismes unicellulaires (POU) ……..…23
V. 2. Production d'enzymes ……...23
V.3.Alimentation animale ……..23

PARTIE B : MATERIELS ET METHODES

I. Echantillonnage……..……..…25
II. Etude physico-chimique des margines ……....25
II. 1. Acidité (pH).……..…25
II. 2. Matières en suspension (MES) ……..25
II. 3. Matière sèche (MS) et l'Humidité (TE) ……....25
II. 4. Matières minérales et matières volatiles……..……..…26
II. 5. Mesure de la turbidité…….....26
II. 6. Demande chimique en oxygène (DCO) ……....27
II. 7. Demande biochimique en oxygène (DBO) ……...28
II. 8. Composés phénoliques…….……..…….....29
II. 9. Sucres totaux.…….…30

II. 10. Matière grasse……..……31

II. 11. Conductivité ……..……..31

II.12. Orthophosphates……31

II. 13. Azote total ……..……..…...32

II. 14. Ions ammoniums……..……....32

II. 15. Calcium et magnésium.……32

II. 16. Chlorure…….……...32

III. Etude microbiologique des margines …….....33

III.1. Coliformes totaux et fécaux.……...33

III.2. Streptocoques fécaux.……33

PARTIE C : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Caractérisation physico-chimique……..……...…34

I.1. Coloration..…….…….....34

I. 2. Acidité (pH) ……....34

I. 3. Matières en suspension (MES) ……...35

I. 4. Matière sèche (MS), matière volatile (MV) et matière volatile en suspension (MVS)…….36

I. 5. Humidité……..36

1.6. Turbidité ……..……...36

I. 7. Demande chimique en oxygène et demande biochimique en oxygène…….37

I. 8. Composés phénoliques …….……..38

I. 9. Sucres totaux ……..39

I. 10. Matière grasse……39

I. 11. Conductivité ……..……40

I. 12. Calcium, magnésium ……..…..40

I. 13. Chlorures…….……...…….……41

I. 14. Orthophosphates et azote total……..41

I. 15. Ions ammoniums……..42

II. Caractérisation microbiologique…..……....43

II.1. Coliformes totaux et fécaux……43

II.2. streptocoques fécaux……...44

III. Récapitulatif des résultats d'analyse de margine ……46

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

Az : Azoté
COI : Conseil Oléicole International
CPG :Chromatographie en Phase Gazeuse
DBO_5/BOD_5 : Demande Biologique en Oxygène en cinq jours
DCO/COD : Demande Chimique en Oxygène
DSA :Direction des Services Agricoles
EDTA : éthylène diamine tetra-acétate
HPLC : Chromatographie liquide à haute pression
MES : Matière en suspension
MS : Matière sèche
MVS : Matière volatile en suspension
SAU :Superficie Agricole Utile
PNDAR : Programme National de Développement Agricole et Rural
P.O.U : Protéines d'origines unicellulaires
p.d. = partiellement dénoyauté
O_3 : Ozone
% :Pourcent
°C : Degré Celsius
cm : Centimètre
g : Gramme
ha : Hectare
l ou L : Litre
m: Mètre
m^3: Mètre cube
mg :Milligramme
ml ou mL: Millilitre
mn :Minute
Mol : Mole
t :Tonne
TE : Teneur en eau
tr: Tour
UV : Ultra-violet
V: Volume
$mS.cm^{-1}$: Milli siemens/ Centimètre
OMW : Olive mill wastewater

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Composition chimiques des composants d'olive mure.....4

Tableau 02 : La production et la consommation mondiale d'huile d'olive….....6

Tableau 03 : Valeurs des minéraux sur les margines issues des deux systèmes d'extraction de l'huile, et Constituants minéraux des margines….....17

Tableau 04 : Composition des monosaccharides contenus dans les polymères….....18

Tableau 05 : Structure te teneur des monomères phénoliques rencontrés dans les margines...19

Tableau 06 : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe standard des polyphénols totaux…….....29

Tableau 07 : Valeurs de pH de margine des différents échantillons.....35

Tableau 08 : Récapitulatif des résultats d'analyse de la margine……46

Liste des Figures

Figure 01 : Composition physique d'olive….....4

Figure 02 : Production d'huile d'olive par pays (en tonnes).....5

Figure 03 : Evolution de la superficie et de la production.....8

Figure 04 : Systèmes d'extraction par presses classiques et par super presse.....11

Figure 05 : Procédé d'extraction d'huile d'olive à trois phases.....13

Figure 06 : Procédé d'extraction d'huile d'olive à deux phases.....14

Figure 07 : Schéma général deprincipedel'électrocoagulation et biométhanisation pour le traitement des margines.....30

Figure 08 : margine filtré.....34

Figure 09 : La courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.....38

Figure 10 : La courbe d'étalonnage des sucres totaux…… …39

Figure 11 : La courbe d'étalonnage de l'azote total.……42

Figure 12 : La courbe d'étalonnage de phosphate……..……42

Figure 13 : La courbe d'étalonnage de l'ammonium.……...……43

Figure 14 : Boites pétri des coliformes totaux après incubation.……..……44

Figure 15 : Boites pétri des coliformes fécaux après incubation.……..……44

Figure 16 : Boites pétri des streptocoques fécaux après incubation.……45

INTRODUCTION GENERALE

L'oléiculture représente une des plus anciennes activités agricoles dans le bassin méditerranéen **[01].** Pour ces pays, la production d'huile d'olive est une fortune économique transmise sur plusieurs générations **[02].**

L'oléiculture représente un peu plus de 33% du verger arboricole national, les terres propices à la culture de l'olivier, le climat favorable et les traditions oléicoles ancestrales constituent des avantages compétitifs pour le développement de la filière oléicole. Cette culture rustique joue un rôle socio-économique très important, par la création de l'emploi et la contribution à l'autosuffisance alimentaire en matière des huiles végétales. Ainsi, l'Algérie est le 9ème producteur mondial des huiles d'olives avec une production de 54500 tonnes **[03]** dont la majeure partie est destinée à l'autoconsommation.

Comme toutes les industries agro-alimentaires, l'opération d'extraction nécessite de grandes quantités d'eau. Par conséquent, cette industrie engendre des quantités importantes de déchets solides (grignons d'olive) et liquides (des margines) **[04]**. Selon le procédé utilisé, la quantité de margine produite peut atteindre des valeurs supérieures à 1 litre/kg d'olive **[05]**.

Généralement ces eaux rejetées, très chargées en matière organique et en poly-phénols et possède un pH acide, peuvent poser de sérieux dégâts de pollution des eaux de surface, de la faune, de la flore et de la microflore des cours d'eau et du sol.

La grande variété des composantes trouvées dans les margines nécessitent des technologies différentes de traitement pour éliminer les agents polluants ayant des effets nocifs sur l'environnement. Divers procédés sont applicables tels que les traitements biologiques (aérobies, anaérobies) **[06]**, traitements physico-chimiques (coagulation/floculation, filtration sur membrane…) **[07]** et traitements thermiques (incinération, évaporation,…) **[08]**. Le traitement par des bassins d'évaporation naturelle reste actuellement, la technique la plus usitée en raison de sa simplicité. Néanmoins, elle permet une évaporation partielle et lente de ces eaux et elle provoque des effets néfastes sur le sol et peut même atteindre la nappe phréatique par filtration de ces eaux usées **[09]**.

Le présent mémoire a pour objectif de réaliser physico-chimique et microbiologique des margines afin de déterminer les différentes charges de pollution, et dont proposer des

solutions selon les techniques existantes. Une étude théorique de la valorisation des margines fait aussi part de cet objectif.

Notre travail, s'est articulé sur les deux parties suivantes :

1- Recherche bibliographique:

- Quelques données générales sur l'olivier et l'oléiculture dans le monde et en Algérie.
- Classification de l'huile d'olive et représentation des principaux procédés d'extraction.
- Caractérisation physico-chimiques et microbiologiques des margines.
- Procèdes de valorisations et traitements des margines.

2- Expérimentation:

- Différentes méthodes expérimentales employées au cours de cette étude.
- Résultats expérimentaux de la caractérisation des margines.
- Extraction des poly-phénols.

I. Données générales sur l'olivier

I. 1. L'olivier

L'olivier appartient à la famille des oléacées dont le nom latin « Olea ». Il comporte diverses espèces dont l'Olea europaea qui le devise en quatre sous-espèces : Olea europaea lapea laperrini, Oleae europaea cerasiformis, Olea europaea cuspidata, Olea europaea euromediterranea **[10]**.

Olea europaea euromediterranea, C'est l'unique sous-espèce du bassin méditerranéen représentative du genre Olea. Elle est composée deux formes : Olea euromediterranea sylvestris (oleaster), c'est l'olivier sauvage et Olea euromediterranea sativa ou l´olivier cultivé **[11]**.

L'olivier cultivé est un arbre ayant des feuilles vertes tout long de l'année. Ses dimensions et sa forme varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol et la variété **[12]**. Il pousse dans le climat tempéré et il est également réputé pour sa grande rusticité lui permettant de s'adapter facilement aux sols rocheux, ingrats, caillouteux et arides.

L'olivier bénéficie d'une longe durée de vie ; il peut même considéré comme immortel car si le tronc disparait, des rejets reconstituent spontanément l'arbre. Il se multiple très facilement par voie végétative ou à partir de boutures **[13]**.

I. 2.Le fruit

L'olive est le fruit de l'olivier. C'est une drupe à mésocarpe charnue ; sa forme est ovoïde. Ses démentions son 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 noir à maturité et en même temps, il se charge en huile **[14]**.

Le fruit est une drupe ovoïde ou ellipsoïde. Elle est constituée d'un épicarpe, d'un mésocarpe, et d'un endocarpe (Figure 01) :

- L'épicarpe qui est en fait la peau de l'olive. Elle est recouverte d'une matière cireuse, la cuticule, qui est imperméable à l'eau.
- Le mésocarpe qui nous intéresse particulièrement puisque c'est la pulpe du fruit. Elle est constituée de cellule dans lesquelles vont être stockées les gouttes de graisses qui formeront l'huile d'olive, durant la "lipogenèse" qui dure de la fin août jusqu'à la véraison.
- L'endocarpe qui est le noyau. Il est formé de deux sortes de cellules

- L'enveloppe qui se sclérifie l'été à partir de fin juillet.

- L'amande à l'intérieur du noyau qui contient deux ovaires dont l'un n'est pas fonctionnel et donc stérile. Le deuxième produit un embryon qui, situation favorable d'humidité, de chaleur et d'environnement, donnera peu être un jour un nouvel olivier **[15]**.

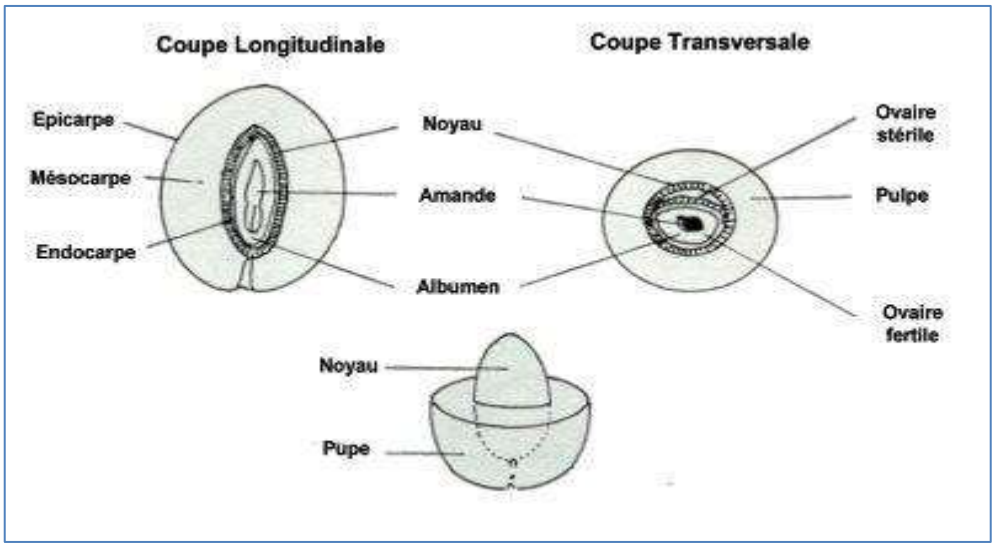


Figure 01 : Composition physique d'olive **[15]**.

Les différents constituants chimiques de l'olive sont donnés dans le Tableau 01.

Tableau 01 : composition chimiques des composants d'olive mure **[16]**.

Partie	**Matières Az. totales**	**Matières Grasses**	**Cellulose brute**	**Matières minérales**	**Extractif non azoté**
Epicarpe	9.8 %	3.4 %	2.4 %	1.6 %	82.8 %
Mésocarpe	9.6 %	51.8 %	12.0 %	2.3 %	24.2 %
Endocarpe (noyau et amande)	1.2 %	0.8 %	74.1 %	1.2 %	22.7 %

Il est clair que la partie la plus riche en huile est le mésocarpe (ou pulpe) et celle plus riche en cellulose brute l'endocarpe (ou noyau).

II. Oléiculture

II. 1. Verger oléicole mondial

La production mondiale d'huiles végétales est de 137,7 millions de tonnes sur 2011/2012 avec une perspective de croissance de 30 % d'ici à 2020. Environ 15 % de la production d'huile végétale est utilisée pour le biodiesel **[17]**.

La surface totale occupée par l'olivier est d'environ 11 millions d'hectares (10.886.945 hectares) plantés de près de 1,5 milliards d'oliviers dont 8.399.440 ha conduit en sec et 2.442.505 ha en irriguée. 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 **[03]**.

Près de 82 % de ces vergers sont de type «traditionnel» dont 59 % sont situés en Europe et 29 % en Afrique / Moyen-Orient. Si le plus gros de ces vergers intensifs est situé en Europe, il faut noter que la proportion vergers traditionnels / vergers intensifs-super-intensifs est beaucoup plus forte dans les «nouveaux» pays producteurs comme l'Amérique, l'Asie et l'Océanie. Seuls 21 % des vergers oléicoles mondiaux sont irrigués **[17]**.

La production mondiale d'huile d'olive pour la campagne 2012/2013 est de 2 718000 tonnes soit une diminution de plus de 20 % dû principalement à une chute importante de la production espagnole. La production d'huile d'olive représente seulement 3.39 % des huiles végétales produites dans le monde, loin derrière l'huile de soja 27 %, l'huile de palme 33 %, l'huile de colza 16 %, l'huile de tournesol 10 % **[17]**.

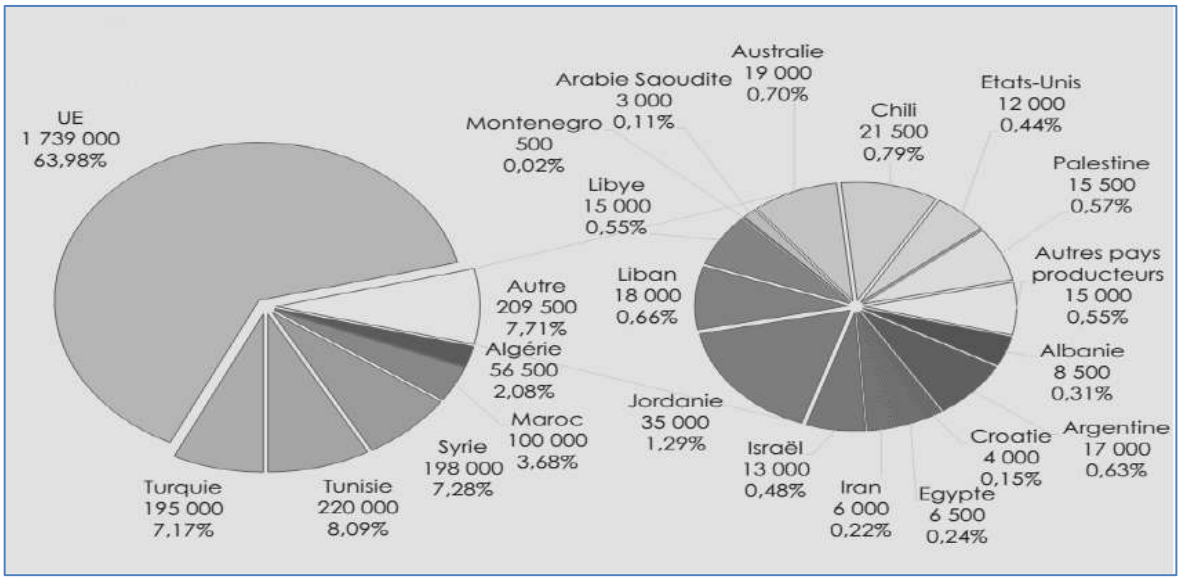


Figure 02 : Production d'huile d'olive par pays (en tonnes) **[17]**.

La production de l'union européenne représente près de 75 % de la production mondiale, l'Espagne et l'Italie produisant à elle seules près 2/3 de l'huile d'olive mondiale. L'Algérie fait partie des principaux pays producteurs, elle se positionne au 9^{éme} rang après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Syrie, la Turquie, la Tunisie, le Maroc et le Portugal qui sont par ordre d'importance, les plus gros producteurs d'huile d'olive **[18]**.

Les principaux pays consommateurs sont également les principaux pays producteurs de cette huile comme le montre le Tableau 2.

Tableau 02 : La production et la consommation mondiale d'huile d'olive **[19, 20]**.

Pays	**Production (1000 tonnes)**	**consommation (1000 tonnes)**
Espagne	1102,1	585,1
Italie	663,5	784,5
Grèce	384,9	271,3
Portugal	35,3	66,7
France	4,2	95,8
Totale Europe	2195,2	1940,4
Tunisie	149,5	40,2
Syrie	132,7	114,8
Turquie	117,7	56,8
Maroc	67,5	58,0
Algérie	32,8	33,7
Totale monde	2807,9	2763,2

II. 2. Oléiculture en Algérie

L'olivier constitue la principale espèce fruitière cultivée en Algérie. Sa faculté à croître et à produire dans diverses situations de culture et son adaptation aux conditions pédo-climatiques les plus critiques ont permis son développement sur pratiquement tout le territoire national. Il assure donc des fonctions multiples de conservation du paysage, de préservation de l'environnement contre l'érosion et la désertification, de valorisation de terres agricoles et de fixation des populations dans les zones marginales. La superficie complantée en olivier s'élève à 311930 hectares, soit plus de 33% du verger arboricole et viticole national, représentant 3,69 % de la SAU, ce qui représente 2,87% du patrimoine mondiale.

L'oliveraie nationale compte actuellement 38.884.570 de pieds d'olivier dont 24.477.420 arbres en rapport, la culture pluviale occupe les 4/5 de la surface avec environ 249.964 ha contre 61.966 ha irrigués. La production des olives de la dernière campagne est estimée à 610.775,5 tonnes dont une partie est destinée à la production d'huile d'olive soit 54500 t provenant de la trituration de 417.990,5 tonnes d'olives, l'autre partie est utilisée pour la préparation des olives de table, soit 192.785 tonnes d'olives.

Au lendemain de l'indépendance nationale les statistiques chiffraient l'olivette algérienne à 11.500.000 oliviers, ce qui correspond à une, superficie de 100 000 ha. Alors qu'en 1978, le nombre d'oliviers en Algérie a été évalué à 16 millions, a jugé que l'évolution de l'oléiculture algérienne peut se résumer en trois grandes périodes :

- De 1965 à1987, le verger passe de 98.200 ha à 164.000 ha soit une progression de 67% ;
- De 1987à1999, les superficies oléicoles ont enregistré 1% de progression soit (1600 ha) ;
- De 2000 à 2007, le verger croit de 133.400 ha et atteint ainsi 299.433 ha avec un taux d'accroissement de 81%.

Bien que la superficie des oliveraies connaisse une évolution progressive ces dernières années, l'évolution ne répond pas aux objectifs du plan national oléicole visant de porter la superficie oléicole à un million d'hectares à l'horizon de 2014.

La situation d'avant le lancement du programme de développement agricole et rural, le verger s'étendait sur une superficie de168.080 ha dont seule 23.800 ha conduite en irrigué. L'oléiculture nationale a doublé son assiette foncière depuis le lancement du PNDAR en 2000. Par rapport à la décennie des années/90, le verger a connu une croissance de 62.223 ha soit 38 %. A titre indicatif, l'année 2003/2004, les plantations d'oliviers occupaient une surface de 226.337 ha.

La moyenne des productions annuelles d'olive enregistrée entre 1999/2000 et 2010/11 est de l'ordre de 307.130 t. Pour la campagne 2003/04, jugée comme exceptionnelle, la production oléicole est évaluée à 468.800 t dont 410.002 t destinée à la trituration et 58.798 t pour la conserve.

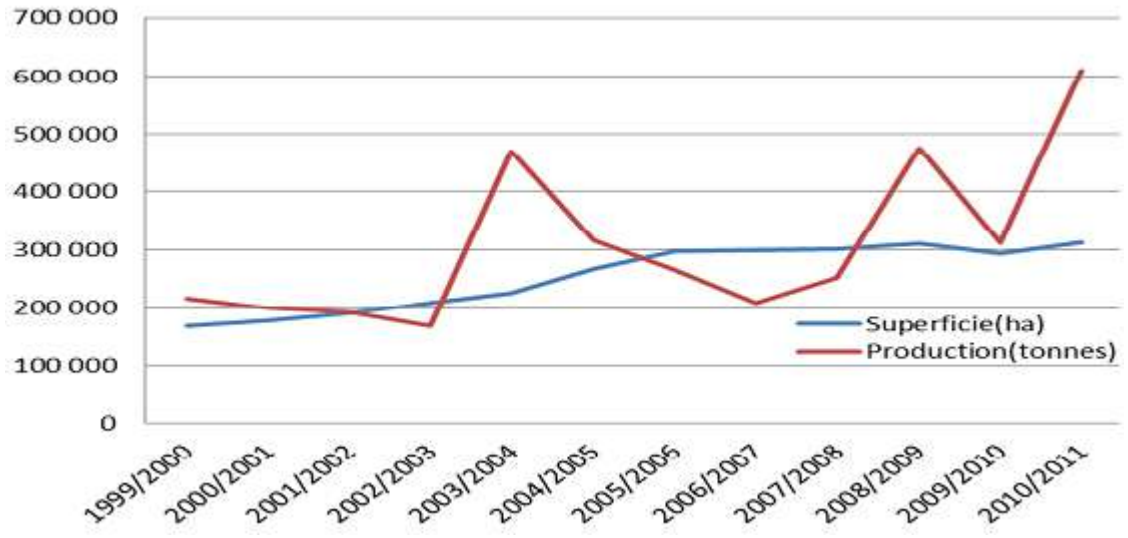


Figure 03 : Evolution de la superficie et de la production (période1999/2011).

L'oléiculture s'étale sur tout le territoire national, en raison de la capacité de l'olivier à s'adapter à tous les étages bioclimatiques : du présaharien chaud et sec en culture irriguée, jusqu'au climat tempéré humide. Actuellement, l'oliveraie est concentrée dans trois zones principales :

- Zone Nord Centre : représentée par les oliviers de Bejaia, Bouira et Tizi ouzou, contribuent à elles seules pour 34,44 % de la superficie totale.
- Zone Nord Est : représentée par Bordj Bou Arreridj, Sétif et Jijel, à elles seules totalisent plus de 15% de la superficie totale.
- Zone Nord-Ouest : dans cette zone les sols sont favorables à sa culture de mais les faibles précipitations et leur mauvaise répartition au cours de l'année. Cette production d'olives de table est produite dans les wilayates de l'ouest algérien (Mascara, Rélizane, Tlemcen, et Mostaganem), constitue 10,61% de la superficie totale **[21]**.

III. Huile d'olive

III. 1. De l'olivier à l'huile d'olive

Les olives peuvent avoir deux grandes utilisations : la première est l'utilisation en tant que fruit entier ou encore appelée « olives de table », la seconde est pour la production d'huile. La production mondiale d'olives de table est d'environ un million de tonnes soit 10 % de la récolte totale d'olives. La grande majorité des olives est donc utilisée pour la fabrication de l'hile d'olive. La production l'huile d'olive a toujours été le principal objectif de la culture de l'olivier.

Les méthodes d'extraction ont évolué mais le processus d'extraction d'huile d'olives reste toujours le même. Il inclut quatre opérations principales : le nettoyage, le broyage, le malaxage et la séparation des phases **[22]**.

III.2. Les opérations de production

III. 2. 1. Opérations préliminaires

III. 2. 1. 1. Nettoyage et préparation des olives

a. Effeuillage **:** L'effeuillage des olives peut être effectué manuellement ou à l'aide d'un système rectangulaire en fils de fer, séparés entre eux par environ 1 cm. Cette opération peut être effectuée au moyen d'équipements munis d'un flux d'air permettant l'élimination des feuilles, brindilles et autres matières végétales comme des matières minérales : terre, poussière, cailloux et pierres. Le poids de feuilles à tolérer ne doit pas dépasser 1% du poids du lot d'olives à triturer.

b. Lavage **:** Le lavage est pratiqué au moyen d'un système muni d'une circulation forcée d'eau potable et propre permettant l'élimination des impuretés solubles dans l'eau, boue, terre et pierres ou de toute autre matière indésirable.

III. 2. 1. 2. Broyage

En vue de rompre la structure végétale de l'olive et de libérer les gouttelettes d'huile des vacuoles. Au moyen de broyeurs à meules en granit ou de broyeurs métalliques, munis de cribles permettant de régler la granulométrie de la pâte ou dénoyautant les olives. Le broyage des olives ne doit être trop grossier, ni trop fin. Il doit être adapté à la condition physique des olives et à leur degré de maturité. Si le broyage est plus prolongé, les poly-phénols inhibiteurs naturels de l'oxydation ainsi que l'huile produite s'oxydent en présence de l'air et cette dernière perd de sa qualité. La durée de broyage ne doit pas dépasser 20 à 30 minutes sinon la pâte deviendrait trop fine et le rondement d'extraction s'en trouverait alors réduit.

III. 2. 1. 3. Malaxage

Le malaxage a pour but d'homogénéiser la pâte d'olive et d libérer le maximum d'huile en brisant les vacuoles qui sont restées entières durant la phase précédente et d'amasser les gouttelettes d'huile en gouttes plus grosses.

Les bacs de malaxage sont le plus souvent fermés de façon à retenir les arômes de la pâte et à limiter son oxydation.

Les conditions idéales de malaxage sont de 30 à 45 minutes à une température de 25°C à 30°C **[22]**.

III. 2. 1. 4. Séparation des phases

Cette opération consiste à :

a. Séparation des phases liquides-solides **:** Le broyage et le malaxage aboutissent à la formation d'une pâte qui contient de la matière solide et des fluides. La matière solide appelée grignon est formée de débris de noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires…etc., alors que la partie fluide est composée d'huile et d'eau de végétation appelée margine.

b. Séparation des phases liquides-liquides **:** La séparation entre la phase aqueuse de la phase huileuse se fait essentiellement par simple décantation ou par centrifugation. Elle est basée sur la différence de densité entre l'huile d'olive et l'eau de végétation.

III. 2. 2. Procédés d'extraction de l'huile d'olive

En Algérie et jusqu'à ces dernières décennies, le secteur oléicole n'utilisait que des techniques traditionnelles. L'extraction a été réalisée à l'aide des systèmes archaïques de pression faisant appel à la force animale à défaut de l'énergie électrique.

Avec le développement du secteur oléicole, les systèmes traditionnels ont cédé la place aux équipements modernes. Le perfectionnement de ces procédés a permis d'extraire l'huile à travers des phases successives. Auparavant, l'extraction était effectuée de manière discontinue (lavage des olives, broyage mécanique, malaxage, extraction des moûts huileuses). De même, après le développement des appareils de centrifugation, la séparation de l'huile des eaux de végétation est devenue moins onéreuse **[23]**.

III. 2. 2. 1. Procédé discontinu ou système à presse

Les unités traditionnelles ont généralement une capacité de trituration qui ne dépasse pas 10 tonnes/jour, leur nombre dépasse 628 unités en 2010. Les capacités de trituration les plus élevées se localisent dans les wilayates de Béjaia, Bouira, jijel, Bordj bou arreridj, Tizi ouzou **[24]**.

Ce sont les systèmes classiques par pression avec broyeurs. Le broyage des olives suivi du malaxage se font sous des meules. Une pâte est obtenue au bout d'une demi-heure environ. Elle est composée de grignon et un moût contenant l'huile et les margines. La séparation des deux phases solide-liquide se fait par simple pression, alors que l'huile est séparée des margines par décantation naturelle **[25]**.

Ces systèmes d'extraction par presse, sont classés selon la pression exercée :

- Unités traditionnelles dont la pression est de l'ordre de 100 Kg/cm^2,
- Unités semi-modernes dont la pression est aux environs 200 Kg/cm^2,

- Unités modernes équipes en super-presses pouvant développer une pression de 400 Kg/cm^2 **[26]**.

Ces types d'extraction présentent des inconvénients : main d'œuvre importante, difficulté de maintenir une hygiène adéquate et durée de processus d'extraction élevée

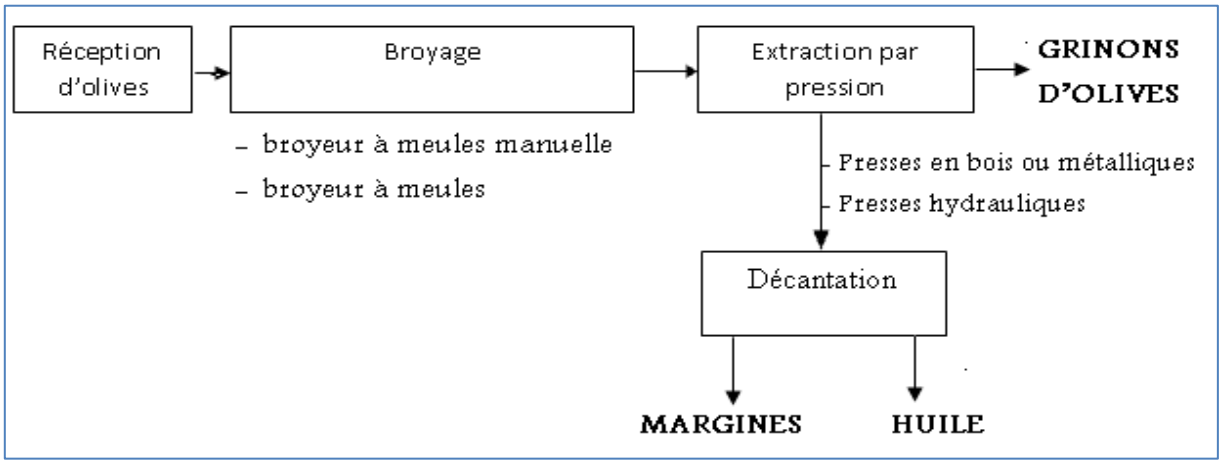


Figure 04 : Systèmes d'extraction par presses classiques et par super presse **[27].**

III. 2. 2. 2. Procédé continu ou par centrifugation

En Algérie, les unités de trituration industrielles sont au nombre de 427 (DSA Octobre 2010). Leur capacité de trituration minimale est supérieure à 10 tonnes/jour **[24]**.

Le système continu est apparu dans les années 70 avec l'application des nouvelles technologies d'extraction de l'huile d'olive. Le progrès technologique a permis le développement de systèmes automatisés et moins fastidieux que les presses : il s'agit des centrifugeuses horizontales.

La pâte d'huile est soumise à une centrifugation dans un tambour conique tournant sur un axe horizontale (décanteur), qui permet l'amélioration des rendements et la productivité des huileries. Sous l'effet des différences de poids spécifique, la centrifugation sépare deux ou trois phases **[26]**.

a. Système d'extraction par centrifugation à trois phases **:** l'extraction de l'huile d'olive se fait à travers des phases successives contrairement au procédé discontinu. Les olives sont lavées, broyées (broyeurs mécaniques à disques ou à marteaux), mélangées avec de l'eau chaude et malaxées pour former la pâte d'olive qui est ensuite diluée. Les phases liquides et solides sont séparées par centrifugation donnant les grignons et le margine. Le margine subit à son tour une centrifugation verticales pour séparer l'huile des effluents d'huileries d'olive **[25]**. Ce procédé d'extraction est illustré dans la Figure 05.

***b. Système d'extraction par centrifugation à deux phases* :** les olives subissent les mêmes étapes d'effeuillage, d'épierrage, de lavage et de broyage, de malaxage et de décantation que celles du système précédent à trois phases. Cependant, ce présent procédé d'extraction d'huile d'olive fonctionne avec un nouveau décanteur avec centrifugation à deux phases (huile et grignons d'olives humides) qui ne nécessite pas l'adjonction d'eau pour la séparation des phases huileuses et solides contenant des grignons et les margines.

Ce décanteur à deux phases permet l'obtention de rendements en huile légèrement plus élevés que ceux obtenus par le décanteur conventionnel à trois phases et le système de presse. En outre, il ne procède pas à l'augmentation du volume des margines. La Figure 06 présente l'extraction d'huile d'olive par le système continu à deux phases.

III.3. Comparaison des systèmes de production

- Les huiles extraites par centrifugation à deux phases sont plus riches en antioxydants et présentent donc une plus grande stabilité à l'oxydation que les huiles extraites par le système à trois phases.
- Le rendement d'huile du système à deux phases est légèrement meilleur que celui du système à trois phases où une plus grande quantité d'huile est retenue dans le solide. La capacité de traitement des centrifugeuses à deux phases est supérieure à celle de trois phases car il est inutile d'ajouter de l'eau lors de l'extraction.
- L'inconvénient de système continu réside dans la production de grignons humides. En effet, les grignons résultants de ce procédé contiennent 8 à 10 % plus d'eau que ceux du procédé à trois phases **[28]**.
- Les centrifugeuses horizontales travaillent plus rapidement que la presse, prennent moins de place et surtout sont beaucoup plus faciles à intégrer dans un moulin en continu.
- Les coûts de main-d'œuvre sont plus élevés avec le système de presse.
- La qualité de l'huile (sa stabilité) est légèrement supérieure avec le système continu (à deux phases) car le temps de contact entre la pâte d'olive et l'air ambiant est court, ce qui limite les phénomènes d'oxydation de la pâte et donc de l'huile et la qualité de cette dernière sera supérieure.
- Dans les systèmes discontinus, l'extraction se fait sans addition significative d'eau, ce qui se répercute sur la charge des margines en matières organiques et en suspension. En effet, les margines des unités traditionnelles sont plus chargées et plus concentrées que celles des unités modernes. Certains auteurs rapportent que la DCO des margines provenant d'un procédé d'extraction par centrifugation varie entre 20 et 200 g d'O_2.L^{-1} de margines **[29]**.

Celle des margines produites par les systèmes d'extraction par pression varie entre 100 et 390 g d'O_2.L^{-1} de margines.

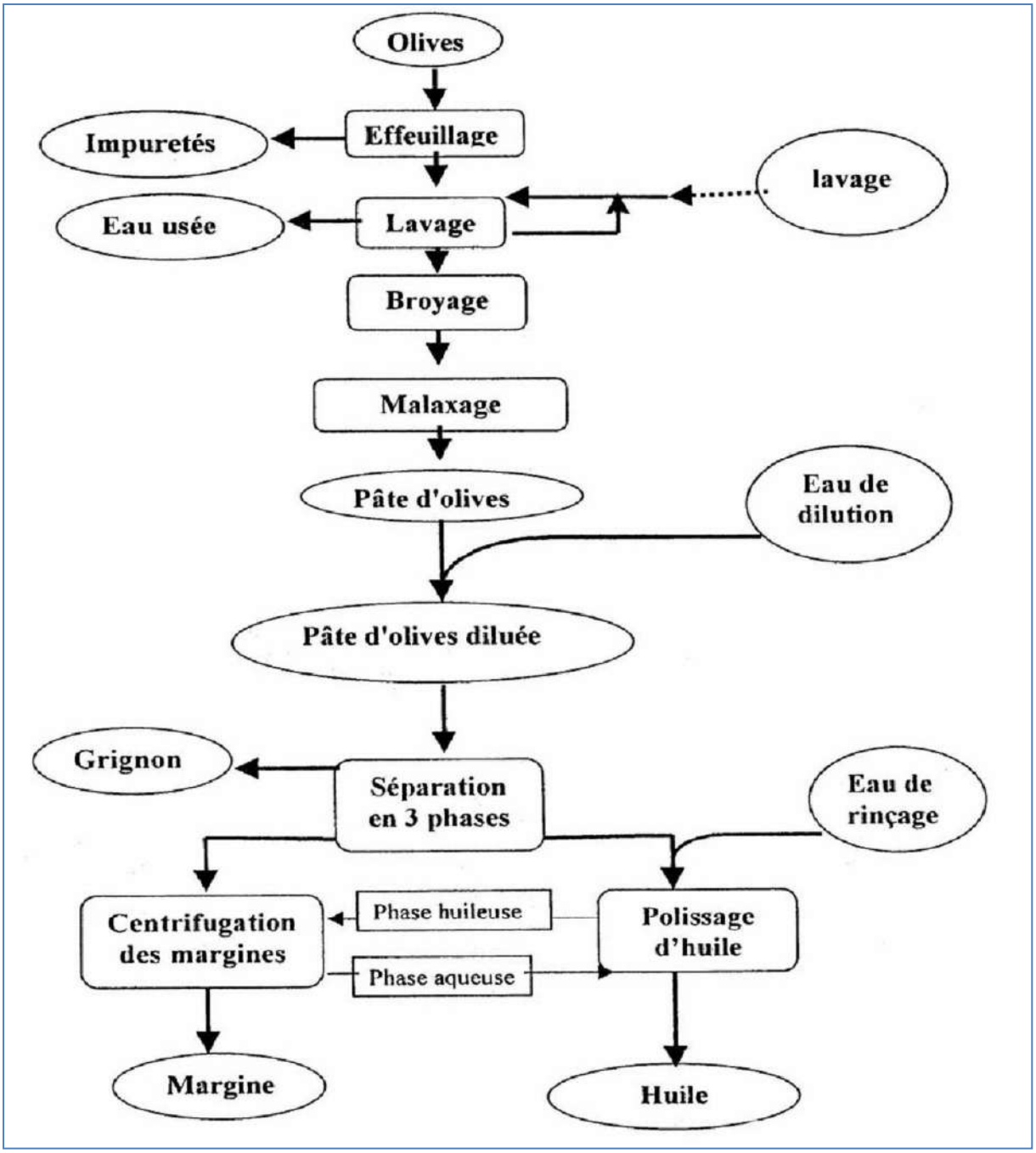


Figure 05 : Procédé d'extraction d'huile d'olive à trois phases **[25]**.

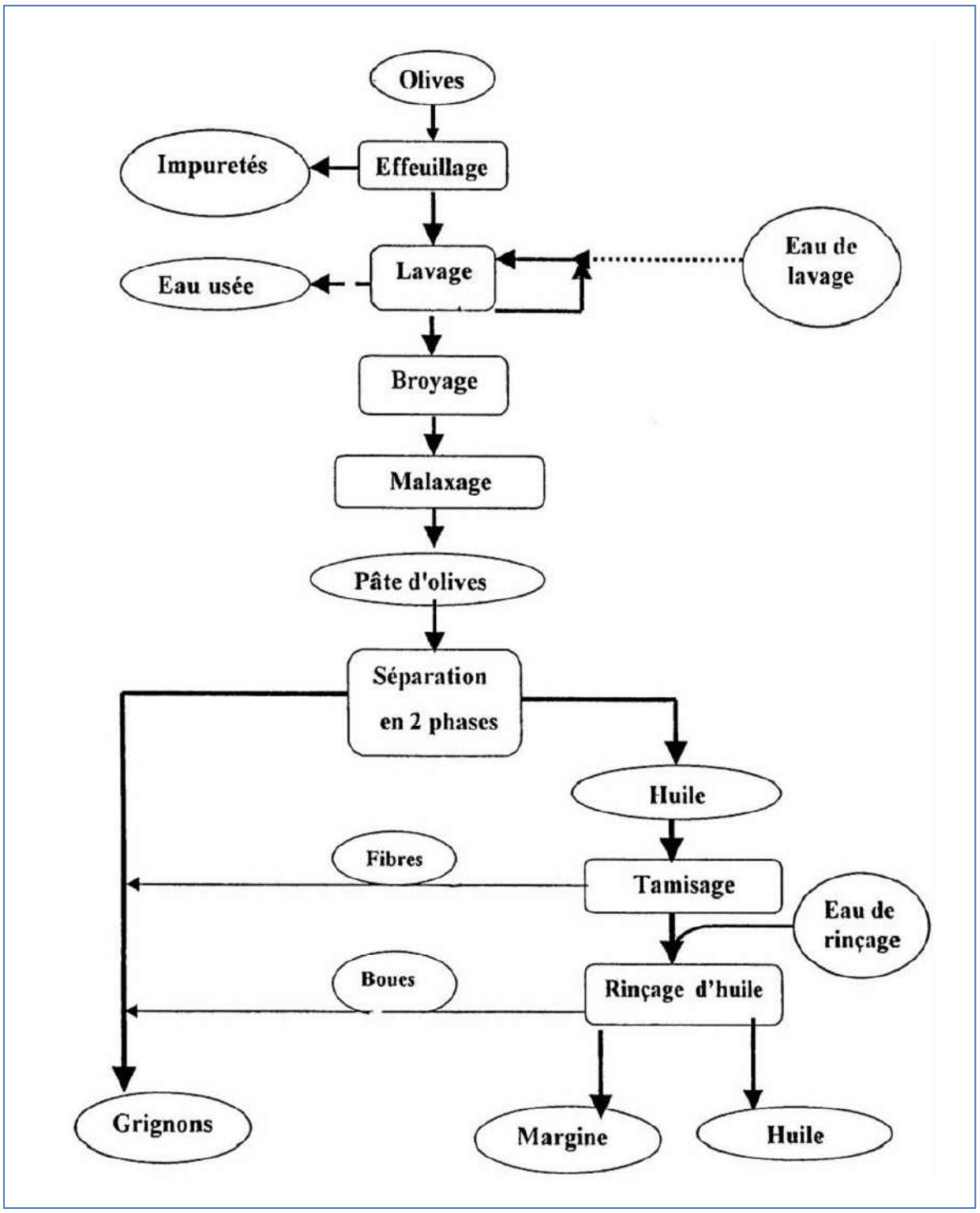


Figure 6 : Procédé d'extraction d'huile d'olive à deux phases **[25].**

IV. Les margines (sous produits d'extraction de l'huile d'olive)

Le procédé d'extraction de l'huile d'olive engendre la production d'effluents liquides, nommés margines ou par fois eaux de végétation. 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.

Les grignons ou tourteaux d'olive sont les résidus solides issus de la première pression ou centrifugation et sont formés des pulpes et noyaux d'olives. Ce produit peut être transformé en un produit destiné à l'alimentation animale ou en huile dite de grignons d'olive après extraction chimique **[30]**.

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 de 40 Kg d'eaux végétation si l'on utilise le système traditionnel **[31]**.
- 55 Kg de grignon (taux d'humidité de 50%) et plus 100 Kg d'eaux végétation, si l'on utilise le système continu à trois phases **[32]**.
- 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 [26].

IV. 1. Origine des margines

Les margines sont un résidu aqueux qui est généré lors de la phase de séparation solide liquide par centrifugation ou sédimentation après le pressage **[33]**.

Les margines sont composées de 40 à 50% de l'eau végétale qui provient du fruit (olive) et le reste de l'eau de fabrication ajoutée lors du processus de trituration **[34]**.

Elles sont à l'origine un liquide rougeâtre sombre, très vite en raison d'une série de processus enzymatique, se dégrade et se transforme en margine, liquide noir et nauséabond, fortement polluant. La qualité et la quantité de la margine générée est variable, elle dépend du système d'extraction, de la variété d'olive, de l'eau utilisée. En moyenne $1m^3$ de margine est générée par tonne d'olives triturées et la charge polluante moyenne est de 70 kg de DCO par tonne d'olives.

Dans le cas des procédés à trois phases, les margines sont produites à diverses étapes, après extraction (centrifugation horizontale) et après centrifugation de l'huile. Les margines produites après extraction, contiennent encore des résidus d'huile et de grignons sont soumises à une centrifugation verticale, avec l'huile issue de l'extraction, et les margines restants sont

évacuées. Après centrifugation de l'huile, des margines et de l'huile vierge sont obtenues. Les margines sont réinjectées dans le processus de la centrifugation verticale (avec les margines premières). Malgré le traitement des margines tout au long du processus, les margines finales contiennent toujours des résidus huileux qui n'ont pas pu être séparées lors de la centrifugation verticale. Les eaux restantes sont des eaux très polluées que l'on ne peut pas encore traiter efficacement, de ce fait, le rejet des margines reste un problème prépondérant pour le secteur de la production d'huile d'olive **[35]**.

La qualité et la quantité des margines dépendent de l'opération d'extraction d'huile d'olive, elles sont aussi influencées par la variété d'olive, la saison de cueillette, le taux de maturation des fruits et les conditions climatiques **[36]**.

On estime généralement qu'un kg d'olive fournit 1 à 1,5 litres de margines **[37]**.

Les margines proviennent de l'eau de végétation des olives, de l'eau ajoutée lors du procédé d'extraction et l'eau de lavage.

Les margines sont souvent rejetées telles que dans les eaux des fleuves elles représentent ainsi une source de pollution importante.

IV. 2. Caractéristiques physico-chimique des margines

Les margines se présentent comme un liquide résiduel aqueux, de couleur brune rougeâtre à noire avec une forte odeur d'olive et un aspect trouble **[08]**. La majorité des travaux effectués montrent que la composition pondérale typique des margines (85 évaluation dans 6 pays : Espagne, Italie, France, Grèce, Tunisie et Portugal) est caractérisée par leur richesse en eau (83% - 94%), en élément minéraux (1.5% - 6%) et matière organique (4% - 16%) dont la fraction en composés phénoliques est comprise entre 4.5 et 6.5 $kg.m^{-3}$ **[38]**.

IV. 2. 1. Fraction minérale

Les margines sont très riches en cendres, leur teneur varie de 4 à 42 $g.L^{-1}$ pour celles issues de l'extraction par pression et 0,4 à 12,5 $g.L^{-1}$ pour celles de centrifugation **[39]**. Les margines contiennent des quantités significatives en sels minéraux dont 80% sont solubles (phosphates, sulfates et chlorures) et 20% insolubles (carbonates et silicates) **[40]**.

Il ressort du Tableau 06 que les margines sont très riches en potassium, ce qui a conduit plusieurs chercheurs à tester leur pouvoir fertilisant. La différence de concentration, en minéraux des margines entre les deux procédés, peut être expliquée par le fait que, durant la trituration des olives par le procédé de centrifugation, on ajoute de l'eau chaude, ce qui entraîne une diminution de la concentration des éléments minéraux **[39]**. La composition

minérale des margines a été aussi étudiée par Lutwin et *al.* (1996). Le Tableau 03 montre les valeurs des éléments minéraux en % du poids de la matière sèche **[41]**.

Tableau 03 : Valeurs des minéraux sur les margines issues des deux systèmes d'extraction de l'huile, et Constituants minéraux des margines **[39, 41]**.

Elément	Procédé d'extraction de l'huile **[39]**		Valeur en % du poids de la matière sèche **[41]**
	Pression ($mg.L^{-1}$)	Centrifugation ($mg.L^{-1}$)	
Potassium (K_2O)	1500 - 5000	630 - 2500	5-15
Calcium (CaO)	58 - 408	47 - 200	0,2-2,5
Phosphore (P_2O_5)	400-600	170-190	0,5
Magnésium (MgO)	90 - 336	60 - 180	3,0
Sodium (Na_2O)	38 - 285	18 - 124	<1%

IV. 2. 2. Fraction organique

Les margines comportent deux fractions organiques : une fraction insoluble constituée essentiellement de pulpes d'olives qui représente la matière en suspension et colloïdale, et une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient les sucres, les lipides, les composés azotés, les vitamines, les acides organiques et les composés phénoliques.

IV. 2. 2. 1. Glucides

Les études effectuées sur les margines par ont montré que la teneur en glucides varie entre 2 et 8 % du poids de la pulpe d'olive fraîche **[09]**.

Les composés lignocellulosiques et les pectines jouent un rôle important dans la texture des olives ; ils représentent respectivement environ 3% et 0,6% **[42]**, plusieurs autres sucres simples sont présents: raffinose, mannose, saccharose, glucose, arabinose et xylose **[43]**.

La composition des monosaccharides contenus dans les polymères des margines a représenté dans le Tableau 04 **[44]**.

IV. 2. 2. 2. Composés azotés

La fraction azotée est principalement représentée par des protéines. Tous les acides aminés sont été identifiés. Les plus abondants sont les acides aspartique et glutamique, la proline et la glycine **[45]**.

Tableau 04 : Composition des monosaccharides contenus dans les polymères **[44]**.

Monosaccharide	**mg 100^{-1}**	**mmol 100^{-1}**
Arabinose	20,90	0,13
Galactose	10,45	0,058
Glucose	9,90	0,055
Rhamnose	5,50	0,034
Acide Glucuronique	4,40	0,023
Acide Galacturonique	3,85	0,020
Total	**55,00**	**0,32**

IV. 2. 2. 3. Vitamines

Plusieurs vitamines sont également présentes. Les plus fréquentes sont les vitamines du groupe D, les vitamines du groupe B et en particulier la vitamine PP avec une concentration moyenne de 124 mg/kg de margines **[44]**. Cette teneur peut être exploitée à l'échelle industrielle.

IV. 2. 2. 4. Acides organiques

La proportion des acides organiques présente dans les margines varie entre 0,5 et 1,5 % (p/v). La concentration en matière grasse des margines peut atteindre 10,78 $g.L^{-1}$. Les principaux acides organiques rencontrés sont les acides fumarique, glycérique, lactique, malique, oléique, palmitiques, linoléiques, maslinique et malonique **[44]**.

IV. 2. 2. 5. Huiles

La concentration d'huile résiduaire dans les margines est très variable selon le processus d'extraction. Elle varie entre 0,02% et 1% **[40]**. L'acide oléique est l'acide gras le plus abondant avec un pourcentage de 65 % des acides gras totaux de l'huile **[08]**.

IV. 2. 2. 6. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques des margines sont très divers et leur structure est très variable. Ils proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction. La teneur en composés phénoliques dans les margines dépend du système d'extraction de l'huile d'olive **[46]** et de la variété d'olive traitée **[47]**. En générale, elle varie entre 3 et 5 $g.L^{-1}$ **[48]** et elle peut même dépasser les 9$g.L^{-1}$ **[49]**.

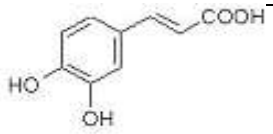
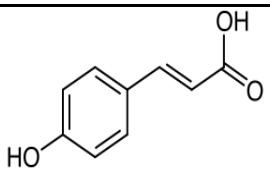
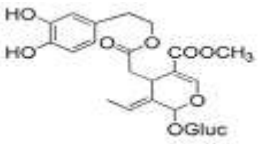
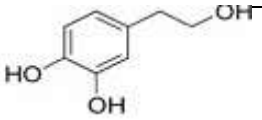
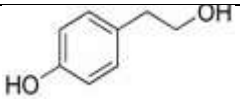
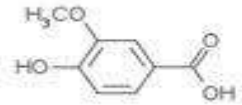
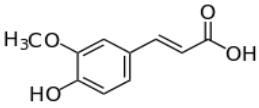
Plus de 50 composés phénoliques et plusieurs alcools phénoliques ont été identifiés **[50]**. Il s'agit de monomères aromatiques et de composés phénoliques à haut poids moléculaire.

***a. Monomères aromatiques* :** plusieurs monomères ont été identifiés dans les margines par des techniques de chromatographie (HPLC ou CPG). Ils sont représentés essentiellement par des acides et des alcools phénoliques.

La variation de la quantité des composés phénoliques dans les margines citée dans la littérature, dépend, en plus des conditions citées auparavant (procédé de trituration, variété d'olives, l'âge des margines), du procédé d'extraction et des techniques d'analyses qualitative et quantitative des monomères phénoliques **[45, 51]**.

Le Tableau 05 représente la structure et la teneur des monomères phénoliques rencontrés dans les margines.

Tableau 05 : Structure et teneur des monomères phénoliques rencontrés dans les margines **[51]**.

Composés phénoliques	Structure	Teneurs
Acide caféique (mM)		0,32-1,36
Acide *p*-coumarique (mM)		0,19- 0,57
Oleuropéine (mM)		0,056
Hydroxytyrosol (mg.L^{-1})		37,9-143,34
Tyrosol (mg.L^{-1})		8,51-9,43
Acide vanillique (mg.L^{-1})		20
Acide ferrulique (mg.L^{-1})		95

***b. Polymères phénoliques* :** les poly-phénols identifiés dans les margines sont essentiellement :

- les anthocyanes **[52]**.
- tanins dont la concentration peutatteindre12g.L^{-1}. Ils sont classés conventionnellement en tanins hydrolysables et tanins condensés **[53]**.

IV. 2. 3. pH, conductivité et matière sèche

Les margines ont un pH acide avec des valeurs comprises entre 4,2 et 5,9 **[54]**. Lors des traitements biologiques des margines, une correction du pH peut s'avérer nécessaire **[06]**. La chaux vive a été souvent utilisée pour ajuster le pH des margines. En effet, Ranalli (1991) rapporte qu'il faut 1 kg de chaux par 1 m^3 d'effluent afin de faire augmenter le pH d'un point **[08]**.

La conductivité électrique est étroitement liée à la concentration des substances dissoutes et à leur nature. Dans le cas des margines, les valeurs de cette conductivité varient entre 18 et 50 ms.cm^{-1} **[55]**. Cette mesure ne donne pas forcément une idée immédiate sur la charge minérale du milieu **[56]**. L'extrait sec des margines est extrêmement élevé et variable. Il est situé entre 15,5 et 266,5 kg.m^{-3} pour les margines de pression et entre 9,5 et 161,2 kg.m^{-3} pour les margines de centrifugation **[57]**.

IV. 3. Caractéristiques microbiologiques des margines

Les études microbiologiques effectuées sur plusieurs échantillons de margines ont confirmé l'absence totale de microorganismes pathogènes. Donc, ces effluents ne posent aucun problème hygiénico-sanitaire **[08]**. Des analyses microbiologiques ont montré que les levures et les champignons sont capables de s'y développer mieux que les bactéries **[49]**. Ces microorganismes supportent la salinité élevée et le pH acide caractéristiques de ces effluents, et résistent plus que les bactéries aux substances phénoliques. Parmi les levures, on trouve *Trichosporium cutaneium*, *Cryptococcus albidius* ainsi que les genres *Rhodotorula sp., Candida sp.et Saccharomyces sp*. **[49, 47, 58]**. La flore fongique se compose essentiellement *d'Aspergillus flavius, Aspergillus candidus, Penicillium negricans*, et *Alternaria sp*. La flore bactérienne regroupe les bactéries qui résistent aux poly-phénols particulièrement les bactéries à Gram-négatif. Le genre *Pseudomonas sp*. Ainsi que *Bacillus megateriumont* été décrits **[07]**.

Une étude microbiologique menée par Mouncif sur les margines Marocaines a noté la présence des levures et des champignons (*Penicillium sp., Aspergillus sp., Geotrichum candidum*) **[59]**. La caractérisation microbiologique des margines de quatre Etude

bibliographique 35 stations d'évaporation en Espagne a révélé la présence d'un nombre variable de bactéries, de levures et de champignons **[60]**.

IV.4. Problématique des margines

Les margines, effluents d'extraction de l'huile d'olive, posent de sérieux problèmes de pollution par leur concentration élevée en matières organiques et en poly phénols. Des études de toxicité et de biodégradabilité ont montré que les composés phénoliques qui sont de nature humiques et responsables de la coloration noire sont très peu toxiques et très difficilement biodégradables, par contre, les composés tanniques sont très toxiques mais biodégradables.

En effet, le rejet des margines reste jusqu'à présent un problème écologique prépondérant ainsi qu'un redoutable souci pour les pays producteurs d'huile d'olive où de larges volumes sont produits dans des intervalles de temps très brefs s'étendant de Novembre Jusqu'à Avril **[25]**.

L'absence de méthodes de traitement adaptées pousse les propriétaires d'huileries à rejeter ces eaux dans la nature sans aucun contrôle ou à surcharger avec ces substances toxiques un réseau d'égouts pas adapté **[35]**.

IV.4. 1. Pollution des eaux

Les margines sont des effluents liquides générées par la fabrication de l'huile d'olive essentiellement durant les mois de novembre à avril. Les margines ont une forte charge polluante, 2kgs d'olives pressées correspondent à la pollution rejetée par une personne, il est facile d'imaginer l'impact que peut avoir l'activité des huileries sur la qualité de notre environnement.

Les margines sont rejetées le plus souvent dans des récepteurs naturels, des cours d'eau, sans aucun contrôle préalable et nuisent fortement à la qualité de ces eaux de surfaces; la très forte charge en matières organiques empêche ces eaux de s'auto-épurer et la pollution peut s'étendre sur de très longue distances **[61]**. Les margines sont peu dégradables à cause des substances phytotoxiques et antimicrobiennes (phénols, acides gras volatiles, insecticides, etc.…) qu'elles contiennent **[62]**.

La coloration des eaux naturelles due aux tannins est l'un des effets les plus visibles de la pollution. De plus, la teneur élevée en sucres réducteurs provoque la prolifération des microorganismes qui y profitent comme substrat, ceci diminue la disponibilité de l'oxygène pour d'autres organismes vivants et entraîne un déséquilibre de l'écosystème aquatique, de

même que l'accumulation du phosphore provoque l'eutrophisation des eaux et favorise la multiplication de pathogènes **[63]**.

En outre, l'épandage des margines, très riches en éléments azotées, peut causer la pollution des nappes souterraines situées dans la zone ou à proximité du site d'épandage et souiller la qualité de l'eau potable ; or dans le bassin méditerranéen, les ressources en eau sont rares et leur préservation, tant que quantitativement que qualitativement est capitale **[35]**.

IV.4.2. Pollution des sols

Ils provoquent une diminution de la matière sèche en diminuant la disponibilité de l'azote, en plus de leur toxicité pour certains micro- organismes **[64]**.

Les acides, les éléments minéraux et les substances organiques aboutissent à une destruction de la capacité d'échange cationique du sol (CEC), par suite, une réduction de la fertilité du sol. La fertilité du sol se réduit suite à l'action altérante des acides, des minéraux et des composés organiques **[65]**.

La forte acidité des margines a un impact négatif sur le sol et ses constituants. La microflore bactérienne du sol peut être détruite suite à l'acidification du milieu. Par ailleurs le caractère visqueux des margines entraîne la formation d'un dépôt huileux qui provoque l'imperméabilisation du sol dans un premier lieu et son asphyxie par la suite **[07]**.

IV.4.3. Air et paysage

Les fortes teneurs en sels des margines, leur forte charge et leur acidité sursaturent le milieu récepteur et provoquent des conditions d'anaérobioses propices aux dégagements d'odeurs désagréables liées à la formation d'acide H_2S lors du processus de fermentation. Les odeurs incommodent fortement les riverains du cours d'eau **[07]**.

V. Procédés de valorisation des margines

Les margines sont riches en éléments nutritifs minéraux et organiques. Ce critère a amené les chercheurs à mettre au point de nombreux procédés de valorisation et d'exploitation des margines aussi bien à l'échelle de laboratoire qu'à l'échelle pilote **[40]**. Cette valorisation a pour objectif l'élimination des composés phénoliques d'une part et l'utilisation des margines dans les domaines de la biotechnologie, de la chimie et de l'agriculture d'autre part **[66]**.

Les margines peuvent être utilisées pour obtenir un compost fertilisant pour les sols **[67]**. Le compostage des margines a été réalisé traditionnellement en Espagne dans des bassins d'évaporation **[40]**. La technique consiste à ajouter aux margines toutes sortes de résidus secs,

agricoles ou forestiers, et le mélange subit une fermentation aérobie-anaérobie. Ensuite, un séchage partiel et un conditionnement sous forme de pellette sont effectués. Le produit ainsi obtenu est utilisé comme engrais.

V. 1. Production des protéines d'organismes unicellulaires (POU)

L'obtention des protéines unicellulaire constitue une des solutions optimale pour la valorisation des effluents d'huileries d'olive. La plupart des procédés appliqués sont basés sur l'utilisation des levures capables de transformer les substances organiques en biomasse à haut contenu en protéines et vitamines de grande valeur pour l'alimentation animale et même humaine **[68]**.

L'usage des microorganismes pour la production des POU peut être considéré comme un prétraitement pour les eaux résiduelles à charge organique élevée, permettant d'obtenir d'une part, une diminution de 50 à 70% de la charge polluante et d'autre part, une biomasse protéique qu'on peut utiliser pour l'alimentation animale **[69]**.

V. 2. Production d'enzymes

Les margines peuvent servir aussi comme milieu favorable pour la production d'enzymes par des micro-organismes. La culture de *Cryptococcus albidus* sur les margines pendant 48 heures élimine un taux important de la matière organique tout en produisant de la biomasse et des enzymes (13 $UV.ml^{-1}$). Cette production peut atteindre 29,5 $UV.ml^{-1}$ si on élimine les polyphénols par floculation-clarification **[23]**. L'addition de 2 litres d'une solution de ces enzymes concentrées par ultrafiltration (90 UV/ml) pendant un cycle de broyage augmente le rendement de l'huile de 84,3 à 90,7% **[70]**.

La production de l'enzyme laccase par la culture de deux champignons *Coriolus versicolor* et *Funalia trogii* sur les margines a été étudiée **[71]**. Cette étude a montré que l'addition des tiges du coton augmente significativement l'activité laccase (phénol oxydase).

V.3.Alimentation animale

Les margines ont été utilisées directement comme aliment pour le bétail. Cependant, cette pratique reste à risque, en raison des taux élevés en sodium et en composés phénoliques pouvant engendrer un effet antitrypsique. De même, elles ont été fournies aux volailles à la place de l'eau potable **[72]**. Cette expérience a montré qu'il y avait un léger abaissement du taux de mortalité de ces animaux.

L'apport des margines déshydratées a provoqué des diarrhées chez les ruminants **[43]**. Le procédé Dalmolive décrit par Martillotti (1993) semble remédier au problème. Il consiste à mélanger 50 kg de margines avec 20 kg de grignons et 12,6 kg de divers résidus et sous

produits agricoles pour réduire l'effet inhibiteur des composés phénoliques **[73]**. Ceci produit 29 kg d'aliments en pellettes dont la composition.

Malgré les multiples procédés testés pour le traitement et la valorisation des margines, seulement quelques-uns sont appliqués à l'échelle industrielle en raison du coût élevé des installations **[07]**.

I. Echantillonnage

Les margines utilisées dans cette étude sont obtenues à partir d'olives de couleur mi-noire. Ces olives sont pressées dans une huilerie traditionnelle, presse manuelle parles pieds dans des fûts. Cette huilerie est située dans la région de Djbel El-Anab au niveau de la commune El-Amra, wilaya d'Ain El-Defla.

L'échantillonnage est effectué pendant la période de cueillette hivernale (février2014). L'échantillon est introduit dans des bidons en polypropylène (flacon de 5 litres) et, une fois au laboratoire, il est stocké à l'obscurité dans un environnement non oxygéné à 4°C pour les dosages physico-chimiques. Ceux qui sont destinés aux analyses microbiologiques ont été prélevés dans des flacons stériles puis transportés rapidement au laboratoire.

II. Etude physico-chimique des margines

II.1. Acidité (pH)

La mesure de pH est faite pour trois échantillons de margines non diluées : brute, filtrée et centrifugée. Après l'étalonnage du pH-mètre (HANNA Instrument). L'électrode de mesure pH est introduit dans un bêcher contenant 30 à 50 mL de margine.

II.2. Matières en suspension (MES)

La séparation des MES se fait par centrifugation. 0,1 L de margine est centrifugé à grande vitesse (3250 trs/mn) pendant 20 mn. Le culot récupéré est versé dans une capsule en porcelaine préalablement séchée. Le tous est séché à 105 °C pendant 24 heures.

La teneur en MES est calculée à partir de la formule suivante :

$[MES]\ (g.L^{-1}) = (M2 - M1)\ /V_E$ ……..…….Equation 1

M2 : masse de capsule et culot après séchage (g),

M1 : masse de capsule vide (g),

V_E : volume de margine centrifugé (L).

II.3. Matière sèche (MS) et l'Humidité (TE)

La matière sèche est constituée par l'ensemble des substances organiques et inorganiques, en solution ou en suspension, contenues dans les margines. La détermination de leur MS

consiste à évaporer un échantillon de 0,1 L dans une bêcher à 105°C pendant 24 heures. Elle est exprimée en $g.L^{-1}$ par rapport au poids frais **[74]**.

La teneur en MS est calculée à partir de la formule suivante :

$$[MS]\ (g.L^{-1}) = (M4 - M3)\ /V_E \quad \text{.....Equation 2}$$

V_E : volume de margine

M3 : masse de bécher vide (g),

M4 : masse de bécher avec margine après évaporation (g),

La teneur en eau ou humidité est déterminée comme suit :

$$[TE]\ (\%) = \frac{(M5-M4)}{(M5-M3)} \times 100 \quad \text{.....Equation 3}$$

M5 : masse de bécher avec margine (g).

II.4. Matières minérales et matières volatiles

Pour la détermination des matières minérales et volatiles. La margine est centrifugée à grande vitesse comme pour le cas des MES. Après récupération du culot est le séchage à 105°C, le culot est mis au four à moufle à 525°C pendant 2 heures **[74]**.

La teneur en matières minérales en suspension est donnée par la formule suivante :

$$[MMS]\ (g.L^{-1}) = (M7 - M1)\ /V_E \quad \text{.....Equation 4}$$

M7 : masse de capsule avec culot à la sortie de four (g).

La différence entre les concentrations des MES et MMS représente les matières volatiles MVS.

$$[MVS]\ (g.L^{-1}) = [MES]-[MMS] \quad \text{.....Equation 5}$$

II. 5. Mesure de la turbidité

Pour la mesure de la turbidité, on mesure par néphélémétrie de la lumière dispersée par les particules en suspension de l'échantillon par rapport à l'intensité de la lumière dispersée en utilisant un turbidimètre optique de type WTW turb 550 (HANNA Instruments).

II. 6. Demande chimique en oxygène (DCO)

La valeur de la DCO caractérise la quantité de substances chimiquement oxydables présentes dans l'eau. C'est l'un des paramètres indicateurs de pollution. Il s'agit de la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder principalement les composés organiques présentes dans l'eau. Les substances organiques sont traitées chimiquement dans des conditions d'oxydation très sévères, de façon à estimer aussi celles qui sont difficilement dégradables biologiquement (composés phénoliques,..).

La DCO se fait essentiellement avec le bichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$ dans une solution d'acide sulfurique H_2SO_4portée à ébullition à reflux pendant 2 heures (à température 170°C) en présence d'ions Ag^+(Argent) comme catalyseur d'oxydation et de sulfate mercurique permettant de complexer les ions chlorures

Dans ces conditions 90 à 95 % des composés organiques sont oxydées d'une manière simplifiée qu'on peut décrire par l'équation :

$$\text{Composés organiques} + Cr_2O_7^{2-} \xrightarrow[H^+]{catalyseure} CO_2 + H_2O + Cr^{3+}$$

Qui est équivalente en terme de DCO à :

$$\text{Composés organiques} + \text{Oxygène} \longrightarrow CO_2 + H_2O + \text{Ions minéraux.}$$

Cette mesure comprend deux étapes :

1. étape d'oxydation chimique des matières réductrices contenues dans l'eau, par excès de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) , en milieu sulfurique (H_2SO_4) et en présence de sulfate d'argent (Ag_2SO_4) et de sulfate de mercure ($HgSO_4$), à ébullition et reflux pendant 2 h dans un tube muni d'un réfrigérant.

2. étape de dosage de l'excès de dichromate de potassium par sel de Mohr après minéralisation en présence de ferroïne, indicateur redox. La DCO correspond à la quantité de dioxygène, provenant de la réduction de dichromate nécessaire pour oxyder les matières oxydables.

Pour chaque échantillon, 1 ml est prélevé dans une de 100 ml en complétant par l'eau distillée jusqu'au tri de jauge. Les échantillons vont être transférés dans les tubes du DCO-mètre, dans chaque tube il est introduit 5 ml de dichromate de potassium qui contient 0,4 g de sulfate mercurique. Quelques granules régulateurs d'ébullition vont aussi introduit. Après agitation, 15 ml d'acide de sulfate d'argent vont être versé lentement et avec précaution en agitant

soigneusement les tubes et en les refroidissant sous un courant d'eau froide. On porte à ébullition pendant 2 h dans un bloc chauffant.

Après refroidissement 75 ml d'eau distillée vont être ajouté. A température ambiante, l'excès de dichromate est titré par la solution de sel de Mohr de normalité C_{Fe} en présence de 1 à 2 gouttes de ferroïne (virage bleu-vert à brun-rouge), le volume sera noté V_E. Un essai à blanc est aussi réalisé en remplaçant les 10 ml de la prise d'essai par de l'eau distillée. Le volume V_T correspond au volume nécessaire pour réduire la totalité de dichromate dans l'échantillon d'essai à blanc (témoin) **[74]**.

La demande chimique en oxygène DCO est donnée par la formule suivante :

$$\textbf{DCO (mg d'O}_2\textbf{/l)} = \frac{8000 \times C_{Fe}(V_T - V_E)}{E} \quad \text{..... Equation 6}$$

II. 7. Demande biochimique en oxygène

Demande biologique en Oxygène Un autre paramètre de somme important est la valeur de la DBO, demande biochimique en oxygène. Cette valeur est la quantité d'oxygène (donnée en mg/l) que des bactéries utilisent pour décomposer partiellement ou pour oxyder totalement en CO_2 des substances organiques dans l'eau, en un temps donné, à l'aide de leur système enzymatique. La DBO est une mesure de la teneur dans l'eau en substances biochimiquement dégradables. D'une manière simplifiée, on peut décrire par:

$$\text{Substances organiques} + O_2 \xrightarrow{Bactéries} CO_2 + H_2O + \text{biomasses}$$

La mesure de la DBO_5est faite par une méthode respirométrique, en utilisant un DBO-mètre de type :

On prélève un volume de 2,5 ml de margine (filtrée), et on le dilue 100 fois avec de l'eau distillée. Ajout 2 ou 3 pastilles de NaOH. On introduit échantillon dans une bouteille de DBO_5-mètre. Après ça, on règle la charge des bouchons à 250 mg d'O_2/l correspondante au volume introduit (250 ml).

La dépression due à la consommation d'oxygène et l'adsorption du gaz carbonique par la potasse est mesurée à l'aide du manomètre à mercure. Les valeurs de la DBO5sont exprimées comme suit :

DBO5 (mg d'O_2/l) = Valeurs lues × facteur dilution……..Equation 7

II. 8. Composés phénoliques

En présence de phénols, le mélange d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_40$ et phosphomolibdique $H_3PMo_{12}O_40$ est réduit en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_{23} que l'on détermine par colorimétrie [75]. Le dosage des poly-phénols des margines en utilisant la méthode de Foulin-Ciocalteu's.

1. Préparation de la courbe d'étalonnage :

Différentes dilutions doivent être préparées d'une solution mère de 100 $mg.l^{-1}$ dephloroglucinol préalablement préparé. Les dilutions sont présentées dans le tableau 06.

Tableau 06 : Préparation des dilutions de phloroglucinol pour la réalisation de la courbe standard des poly-phénols totaux**.**

Dilutions	7/10	6/10	5/10	3/10	2/10
Concentration (mg $.l^{-1}$)	70	60	50	30	20

2. Détermination de la teneur en poly-phénols totaux :

- Pour chaque échantillon de margine, 1 ml est prélevé et dilué 50 fois avec de l'eau distillée,
- 1 ml est prélevé de chaque dilution est mis dans un flacon,
- 5 ml d'eau distillée est ajouté dans chaque flacon,
- 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu's est ajouté,
- Après 3 mn, il est à ajouter 1 ml de carbonate de sodium à 20%,
- les flacons vont être laissés pour incubation pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Pour le blanc il est à procéder de la même manière, en remplaçant la margine par l'eau distillée **[74]**.

La lecture des absorbances est faite à 725 nm, après agitation et repos d'une heure. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en référent à la courbe d'étalonnage.

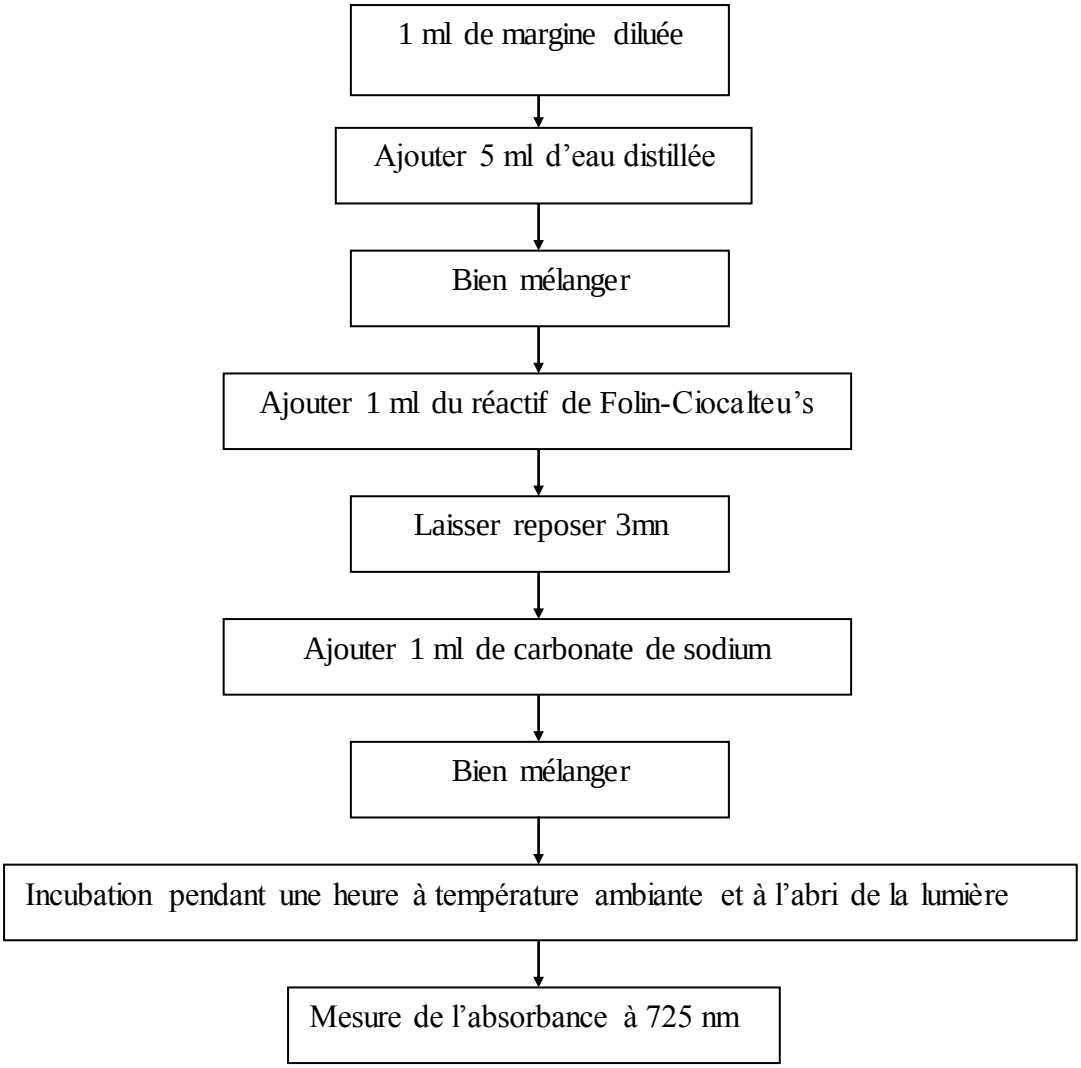


Figure 07 : Organigramme de dosage des poly-phénols totaux.

II. 9. Sucres totaux

Les sucres totaux sont déterminés par spectrophotométrie, selon la méthode de Dubois. Les sucres simples, oligosaccharides, polysaccharides et leurs dérivés réagissent avec le phénol et l'acide sulfurique concentré et donnent une coloration jaune-orange. La réaction est sensible, et la coloration reste stable pendant plusieurs heures. Pour les margines (diluée 10 fois), 1mL de l'échantillon est mélangé à 1 mL d'une solution phénolique (5%) et 5mL d'acide sulfurique concentré (96%) et le mélange est agité immédiatement. Les tubes sont placés au bain-marie à 30-40°C pendant 20 minutes puis refroidis sous eau glacée, les tubes sont conservés à l'obscurité pendant 10 min. Les sucres réagissent avec le phénol et l'acide sulfurique concentré et donnent une coloration jaune-orange. La densité optique est mesurée à

490 nm. La concentration des sucres totaux est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage d'une solution de glucose à des concentrations allant de 10 à 100 mg.L^{-1} **[76]**.

II.10. Matière grasse

La méthode utilisée pour la détermination de la teneur en matières grasses des magines est celle décrite par Aissam (2003). Dans une ampoule à décanteur de capacité 500 mL, sont mélangés respectivement 100 mL de margines, 75 mL de chloroforme et 100 mL du méthanol. Après agitation suivie d'une décantation, le mélange est divisé en deux phases. La phase supérieure constituée de margines et de méthanol est éliminée, alors que la phase inférieure contenant le chloroforme et les lipides soluble est évaporée dans un rotavapeur. Le chloroforme s'évapore et les lipides sont récupérés. Le volume de lipides obtenu est évalué en pourcentage par rapport au volume de margines utilisé (v/v) **[07]**.

$$\textbf{[MG] (\%)} = \frac{\boldsymbol{V\,(MG)}}{\boldsymbol{V(M)}} \times \mathbf{100} \quad \textbf{.....Equation 8}$$

MG : Matières grasses

M : Margines

II. 11. Conductivité

La conductivité caractérise la résistance au passage du courant ou de la chaleur dans un matériau. La conductivité électrique est mesurée par un conductimètre de type HANNA Instrument, elle est exprimée en $mS.cm^{-1}$.La sonde de conductimètre, une fois rincé, est plongé dans un bécher contenant 30 à 50 mL de margine à analyser **[74]**.

II.12. Orthophosphates

Les orthophosphates sont dosés selon la méthode de Murphy et Riley (1962). La détermination de leur concentration est basée sur la formation d'un complexe antimoine-phosphate-molybdate. Ce complexe est réduit par l'acide ascorbique en composé fortement coloré en bleu. La densité optique est lue à une longueur d'onde de 880 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution de KH_2PO_4à des concentrations comprises entre 0 et 0,8 mg de $PO_4^{3-}.L^{-1}$ **[74, 77].**

II. 13. Azote total

Les composés azotés présents dans les margines sont oxydés en nitrates par une solution alcaline de persulfate à l'autoclave (120°C). Ensuite, les nitrates sont dosés par la méthode de salicylate de sodium, ils donnent du paranitro-salicylate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique à une longueur d'onde de 415 nm.

La concentration de l'azote total est déterminée à partir d'une gamme étalon de KNO_3 à des concentrations comprises entre 0,5 et 5 mg de $NO^{3-}.L^{-1}$ **[74]**.

II. 14. Ions ammoniums

Les ions ammoniums sont dosés par la méthode d'indophénol. En milieu alcalin et en présence de nitroprussiate de sodium comme catalyseur, ils réagissent avec le phénol et l'hypochlorite de sodium, et forment le bleu d'indophénol susceptible d'un dosage colorimétrique. La lecture de la densité optique au spectrophotomètre se fait à une longueur d'onde de 630 nm. La concentration des ions ammoniums est déduite à partir d'une gamme étalon d'une solution de NH_4Cl à des concentrations comprises entre 0,2 et 0,8 mg de $NH^{4+}L^{-1}$ **[74]**.

II. 15. Calcium et magnésium

Le calcium et le magnésium présents dans les margines sont complexés par l'éthylène diamine tétra-acétate disodique (EDTA) en milieu tamponné. Le noir erichrome T (NET), qui donne une couleur rouge foncée ou violette en présence des ions Mg^{++}et Ca^{++}est utilisé comme indicateur coloré pour la détermination de la dureté totale.

Les ions Ca^{++}sont dosés par l'EDTA en milieu alcalin (pH 12) et en présence d'indicateur coloré. Les ions Mg^{++}sont précipités puis déterminés par différence entre la dureté totale et le calcium. Les deux sont exprimés en $g.L^{-1}$ **[74]**.

II. 16. Chlorure

Les chlorures sont dosés par la méthode de Mohr, en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent et en présence du chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

Introduire 100 mL de margine diluée 100 fois, préalablement filtrée, dans une fiole conique de 250 mL. Ajouter 2 à 3 gouttes d'acide nitrique pur puis une pincée de carbonate de chaux et 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10%.

Au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent (0,1 N) est versée jusqu'à l'apparition d'une teinte rougeâtre, qui doit persister 1 à 3 minutes **[74]**.

Pour une prise d'essai de 100 mL :
Vx 10x 3,55 donnes la teneur en chlorures, exprimée en milligrammes de Cl^- par litre d'eau.
V : volume de nitrate d'argent (mL).

III. Etude microbiologique des margines

L'analyse microbiologique des échantillons a été réalisée dès réception au laboratoire, afin d'éviter toute modification éventuelle de la concentration microbienne initiale.

Après homogénéisation et filtration grossière des margines, une dilution dans de l'eau physiologique stérile est réalisée (NaCl à 0,9%) en additionnant 450 mL d'eau physiologique à 50 mL de margine, ce qui donne 500 mL de margine 10 fois diluée.

III.1. Coliformes totaux et fécaux

Un volume de 100 mL de margine diluée est filtré par un filtre en cellulose de 0,45 µm. Ce filtre est placé dans une boite pétri contenant le milieu gélose lactosé au tergitol et au chlorure de triphényl tetrazolium. Les boîtes sont incubées à 44 °C pour les coliformes fécaux et à 37 °C pour les coliformes totaux pendant 24 heures.

III.2. Streptocoques fécaux

Un volume de 100 mL de margine diluée est filtré par un filtre en cellulose de 0,45 µm. Ce filtre est placé dans une boite pétri contenant le milieu de culture Slanetz et Bartely additionné du chlorure de triphényl tetrazolium. L'incubation des boîtes est effectuée à 37 °C pendant 48 heures **[78].**

I. Caractérisation physico-chimique

Les margines sont un rejet fortement pollué sous forme de liquide résiduel dont la composition est variable. Cette variabilité dépend du type d'olives, du degré de leur maturation, des systèmes de culture, de la pratique de salage pour la conservation des olives, des conditions climatiques et du procédé utilisé pour l'extraction d'huile d'olive **[79]**. Les margines se caractérisent aussi par une odeur nauséabonde qui s'accentue au fur et à mesure de leur stockage.

I.1. coloration

Notre margine est caractérisée par une coloration très foncée comme présenté dans la figure 08.



Figure 08 : margine filtré

Le pigment brun ou catécholamine est un polymère de nature phénolique responsable de la couleur foncée des margines **[80]**.

I.2. Acidité (pH)

La mesure du pH de notre échantillon de margine a donné une valeur de 4,56. C'est un pH acide.

Une mesure de pH a été réalisée pour des échantillons centrifugés et autres filtrés. Les résultats sont affichés dans le tableau 07.

Tableau 07 : valeurs de pH de margine des différents échantillons.

	Margine brute	Margine filtrée	Margine centrifugée
pH	4,56	5,31	4,99

Les margines sont donc des effluents acides, en raison de la présence des acides organiques (acides phénoliques, acides gras, etc…). Cette acidité présente à la fois des effets sur la flore et des risques de corrosion des conduites et des ouvrages.

La valeur enregistrée dans notre étude se trouve dans la limite inférieure de la fourchette citée dans la littérature (4,5 à 6). Cette variation dépend de la présence des acides **[81]**. Ainsi que Niaounakis et *al.* (2004) ont constaté que certaines margines peuvent avoir un pH fortement acide d'une valeur d 3 **[82]**. D'autres chercheurs ont également trouvés un pH acide, comme Garcia Garcia et *al.* (1999) qui ce trouve un pH égale 4,7 **[83]**, même Michel J et *al.* (2005) a trouvé des valeurs de pH de l'ordre de 5,2 **[84]**. Adhoum et *al.* (2003) ont analysé des margines où ils ont trouvé des valeurs moyennes de l'ordre de 4,96 **[85]**.

I.3. Matières en suspension (MES)

La teneur des matières en suspension de notre échantillon brutes est de 2,2 $g.L^{-1}$.

Les margines sont très riches en matières en suspension, leur teneur présente dans le margines dépend du système d'extraction d'huile d'olive utilisé. Ainsi que Niaounakis et *al.* (2004) ont montré que la valeur des matières en suspensions est comprise entre 0,4 $g.L^{-1}$ et 2,5 $g.L^{-1}$ **[82]**.

Esra et *al.* (2000) trouvent une valeur de 2,7 $g.L^{-1}$ **[86]** et Sampaio et *al.* (2011) ont prouvé que les certaines margines peuvent avoir des valeurs plus élevées jusqu'à une teneur de 3,9 $g.L^{-1}$ des matières en suspensions **[87]**. Ces valeurs précédente sont attribué à des margines des huileries traditionnelles. Notre valeur obtenue est comprise entre les différentes valeurs obtenues par ces différents chercheurs.

D'autre côté, les rejets des huileries modernes donnent des teneurs élevées des matières en suspensions. Ainsi, Badawya et *al.* (2009) trouvent une valeur de 8,5 $g.L^{-1}$ **[88]** et Chouchene et *al.* (2010) trouvent des valeurs de l'ordre de 12,51 $g.L^{-1}$ **[89]**.

Il est bien remarqué que la teneur en matière en suspension dans les rejets d'huileries moderne est très élevée par rapport aux huileries traditionnelles, cela est dû principalement aux systèmes d'extraction utilisée.

Ces matières en suspension sont responsables de la turbidité et de l'envasement du milieu récepteur et s'opposent à la pénétration de la lumière.

I.4. Matière sèche (MS), matière volatile (MV) et matières volatiles en suspensions (MVS)

La teneur moyenne des margines en matières sèches, matières volatiles et en matières volatiles en suspension sont respectivement 13,049 $g.L^{-1}$, 11,843 $g.L^{-1}$ et 2,09 $g.L^{-1}$.

D'autres chercheurs comme Garcia Garcia et *al.* (1999) trouvent des valeurs similaires de matière sèche de l'ordre 15 $g.L^{-1}$, de matière volatile de l'ordre 13 $g.L^{-1}$, et 1,2 g^{-1} de matière volatiles en suspension **[83]**.

La teneur en matière sèche des margines, enregistrée dans notre étude est égale à 9,2 %, elle est comparable à celle notée dans d'autres travaux qui donnent des teneurs comprises entre 9,5 et 15 % **[90]**.

La matière volatile représente 90,7 % des matières sèches. Ainsi, la matière volatile en suspension représente 95 % de la matière en suspension, ce qui montre la nature organique des margines et des matières en suspension. Ces pourcentages sont proches de ceux observés par plusieurs auteurs comme Khoufi et *al.* (2006) qui trouvent des valeurs de 89 % de matière volatile par rapport à la matière sèche et de 93 % de matière volatiles en suspension par rapport aux matières en suspension **[91]**.

I.5. Humidité

Les taux d'humidité de notre échantillon est de 90 %. La composition de plusieurs margines a été étudiée par Ranalli, (1991) et comporte approximativement entre 83 à 94% d'eau **[08].** Lopez et *al.* (1996) ont trouvé des valeurs d'humidité comprise entre 82.4 % et 94.15 % **[93]**.

Ceci peut s'expliquer par l'eau existant habituellement dans les olives d'une part et d'autre part par l'eau ajoutée au cours du processus d'extraction de l'huile d'olive **[94]**.

I.6. Turbidité

La valeur de turbidité de notre échantillon est de 628 NTU, donc notre margine est un effluent trop chargé et trop trouble.

La turbidité est la mesure du caractère trouble de margine. Elle est causée par les matières en suspension, telles que l'argile, le limon, les particules organiques, le plancton et les autres organismes microscopiques. Une turbidité trop élevée empêche la pénétration de la lumière dans cet effluent et peut ainsi diminuer la croissance des algues et des plantes aquatiques.

Sifoun (2008) a étudiée la turbidité des margines d'huilerie moderne, il a trouvé une valeur de 90 NTU, c'est une faible valeur par rapport à celle obtenue dans notre étude. Cette grande différence est due principalement au système d'extraction qui dans le cas des huileries modernes (ajout d'une grande quantité d'eau pour l'extraction) contrairement par rapport au système traditionnelle où la présence d'eau est minime ainsi que l'auto-évaporation rapide (système à l'air libre et décantation naturelle) **[95]**.

I.7. Demande chimique en oxygène (DCO) et demande biologique en oxygène (DBO)

La teneur en DCO obtenue est élevée, elle est de 155 g d'O2.L^{-1} caractérisant la pollution oxydable totale, et une teneur en DBO_5 de 70 g d'O2. L^{-1}.

Ces résultats montrent la forte demande en oxygène pour l'oxydation complète de la matière organique contenue dans cet effluent. Cette teneur en DCO est très élevée par rapport à celle enregistrée dans d'autres types de rejets.

La demande chimique en oxygène et la demande biochimique en oxygène ont été étudiés par Panizza et *al.* (2006) où ils ont trouvé des valeurs de 50 à 200 g d'O_2.L^{-1} et de 12 à 60 g d'O_2.L^{-1} respectivement **[96]**.

Toutefois, notre valeur en demande chimique en oxygène est semblable à celles obtenues par plusieurs auteurs dans des margines issues du système traditionnel. Ainsi Khoufi et *al.* (2006) ont trouvé une teneur de l'ordre de 112,50 g d'O_2.L^{-1} **[91]**. Gonc alvesa et *al.* (2011) trouvent des valeurs de l'ordre 130,1 g d'O_2.L^{-1} avec une erreur de 7,4 g d'O_2.L^{-1} **[97]**.

Aissam (2003) a trouvé une valeur de 154 g d'O_2.L^{-1} pour une margine d'une huilerie moderne **[07]**.

I.8. Composés phénoliques

La Figure 09 représente la courbe d'étalonnage des polyphénols.

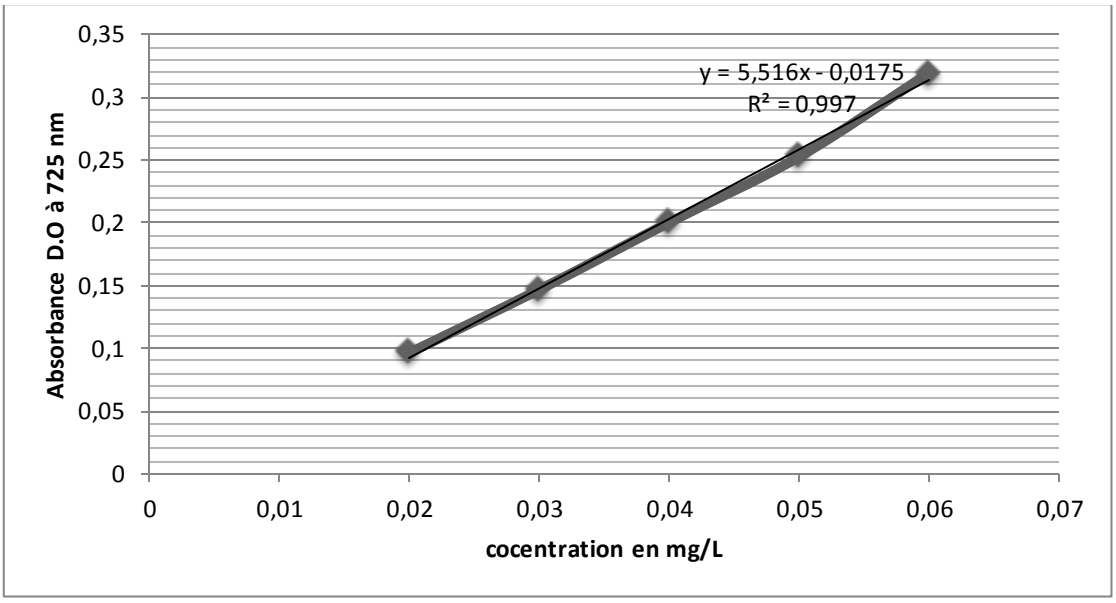


Figure 09 : La courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

$$C_{polyphénols}\,(g.L^{-1}) = C_{polyphénols}\,(mg.L^{-1}) \times facteur de\ dilution(50)$$

A partir de la courbe d'étalonnage et de l'analyse de notre échantillon nous avons trouvé les valeurs suivant :

- 1,28 $g.L^{-1}$ en polyphénols pour la margine filtrée,
- Et 1,38 $g.L^{-1}$ en polyphénols pour la margine centrifugée.

La teneur en composés phénoliques dans les margines montré par Aissam et *al.* (2003) est comprise entre 1$g.L^{-1}$ et 5 $g.L^{-1}$ **[07]**.

La teneur en composés phénoliques dans les margines dépend principalement du système d'extraction de l'huile d'olive et de la nature de l'olivier :

Système par presse :

Gonc alvesa et *al.* (2011) trouvent une valeur de 4,3 $g.L^{-1}$ de polyphénols **[97]**.

Meksia et *al.* (2011) trouvent une valeur de 2,4 $g.L^{-1}$ de polyphénols **[98]**.

Système continu :

Khoufi et *al.* (2006) ont trouvé une teneur en polyphénols égale à 11,5 $g.L^{-1}$ dans un système à trois phases **[91]**. Achak et *al.* (2009) ont obtenu une teneur en polyphénols de 7,3 $g.L^{-1}$ dans système à deux phases **[99]**.

La composition phénolique des margines dépend non seulement de la variété, de la maturité de fruit et des conditions climatiques, mais aussi des procédés technologiques utilisés pour séparer la phase aqueuse (margines) de la phase huileuse.

Ces rejets sont aussi caractérisés par la prédominance de substances toxiques notamment les composés phénoliques qui leur confèrent un pouvoir antimicrobien **[08, 100]**. Cette concentration élevée pourrait limiter toute biodégradation naturelle, et par conséquent pourrait entraîner une perturbation plus ou moins profonde de tout l'écosystème **[101]**.

I.9. Sucres totaux

La Figure 10 représente la courbe d'étalonnage des sucres totaux en utilisant D-Glucose.

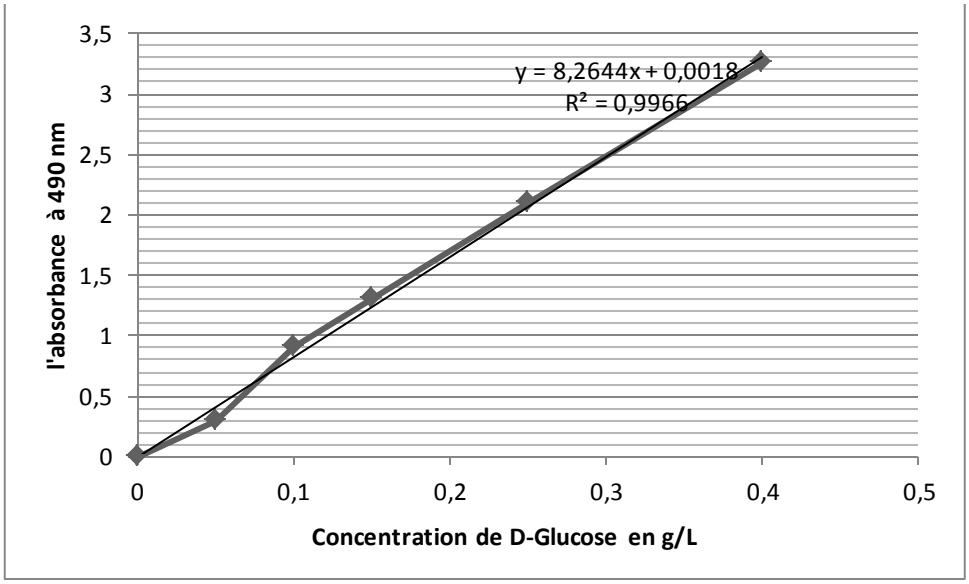


Figure 10 : La courbe d'étalonnage des sucres totaux.

$$C_{sucres}(g.L^{-1}) = C_{sucres}(mg.L^{-1}) \times facteur de\ dilution(10)$$

Suite à l'analyse de notre échantillon il a été obtenu une faible teneur en sucres de 1,78 $g.L^{-1}$.

Chiavola et *al.* (2013) ont trouvé une teneur de 1,6 $g.L^{-1}$ en sucres **[102]**. Lopez et *al.* (1996) ont montré que la teneur en sucres totaux dans les margines peuvent être comprise entre 0,1 $g.L^{-1}$ et 8 $g.L^{-1}$**[93]**.

I.10. Matière grasse

La teneur en matière grasse obtenue de notre échantillon présente un aspect visqueux lié à la présence de la fraction huileuse qui représente 1,23 % (v/v).

La matière grasse forme une couche lipidique à la surface des margines au niveau des bassins, ce qui pourrait limiter l'évaporation naturelle. La teneur en matières grasses résiduelles présente dans les margines, dépend du système d'extraction d'huile d'olive. Elle varie entre 0,02 et 1% (v/v) selon Fiestas Ros et *al.* (1981) **[40].**

Le processus de centrifugation permet d'obtenir des taux faibles par rapport au processus traditionnel, dans le processus continu la teneur en matière grasse est égale à 0,012 % selon Khoufi et *al.* (2005) **[105]**, ainsi, Aissam (2003) à trouvé une valeur de 1 % en matière grasse **[07]**.

I.11. Conductivité

La conductivité électrique est étroitement liée à la concentration des substances dissoutes et à leur nature.

La margine étudiée possède une conductivité électrique élevée de 9,90 $mS.cm^{-1}$. Zenjari et *al.* (1999) ainsi que Tsioulpas et *al.* (2002) ont prouvé que la conductivité est causée généralement par une forte salinité qui est due à l'ajout important de sel pour la conservation des olives (généralement des conductivités supérieures à 10 $mS.cm^{-1}$) **[106, 107]**. En effet, en plus de la richesse naturelle en sels minéraux, les olives sont conservées dans le sel de table (NaCl), ce qui confère aux margines une forte conductivité électrique.

Adhoum et *al.* (2003) ont obtenu une valeur de conductivité égale à 11,4 $mS.cm^{-1}$ **[85]**. Achak et *al.* (2003) ont trouvé une conductivité de 9,46 $mS.cm^{-1}$ **[99]**.

D'autres mesures de conductivité ont été effectuées pour de margine centrifugée et margine filtrée, où les résultats ont été de 9,2 $mS.cm^{-1}$ et 9,1 $mS.cm^{-1}$ respectivement. Il est remarqué que la conductivité diminue que très peu après filtration ou centrifugation, ce phénomène s'explique par le fait de l'élimination de certaines particules chargées et que la majorité de la conductivité est due à une phase aqueuse.

I.12. Calcium, magnésium

Notre échantillon de margine est riche en calcium et magnésium où les valeurs obtenues sont de 35 $mg.L^{-1}$ et 20 $mg.L^{-1}$ respectivement.

Certains chercheurs ont montré que les margines peuvent avoir des teneurs trop élevée en calcium et magnésium qui est du principalement à la qualité de l'olives et de sa région. Achak et *al.* (2009) ont obtenu des concentrations de 2,4 $g.L^{-1}$ en calcium et de 1,2 $g.L^{-1}$ en magnésium **[99]**. Salvemini (1985) montre que les margines contiennent des quantités significatives en sels minéraux, y compris 1,14 $g.L^{-1}$ pour calcium et 0,4 $g.L^{-1}$ pour magnésium **[43]**.

Les valeurs obtenues dans notre étude sont très faibles par rapport à celles de la littérature. Ceci est dû principalement à la variété de l'olive dans les différentes études.

Les margines riche en HCO_3^- peut devenir sursaturée en $CaCO_3$ s'il va y avoir une élevation de pH, donc cela provoque l'incrustation des conduites.

I.13. Chlorures

La concentration des chlorures obtenue de notre échantillon de margine est élevée 5,32 $g.L^{-1}$. Elle est due à l'ajout du sel en quantité importante pour la conservation des olives. Cet élément a un effet néfaste sur les cultures. En effet, ils ont un pouvoir bio-oxydant sur la plupart des microorganismes, lorsque sa concentration dépasse 10 $g.L^{-1}$.

Les études effectuées sur les margines par Dimitrios et *al.* (2009) ont montré que la teneur en chlorure est égale 5 $g.L^{-1}$ **[108]**.

I.14. Orthophosphates et azote total

Les Figures 11 et 12 représentent respectivement les courbes d'étalonnage de l'azote total et d'orthophosphates.

Les teneurs en phosphates et en azote obtenues lors l'analyse de notre margine sont élevées de l'ordre de 62 $mg.L^{-1}$ et 68 $mg.L^{-1}$ respectivement.

Chouchene et *al.* (2010) ont étudié des margines où les valeurs en phosphates et en azote sont respectivement 34 $mg.L^{-1}$ et 36 $mg.L^{-1}$ **[98].**

$$C\ \ (g.L^{-1}) = C\ \ (mg.L^{-1}) \times facteur de\ dilution (25)$$

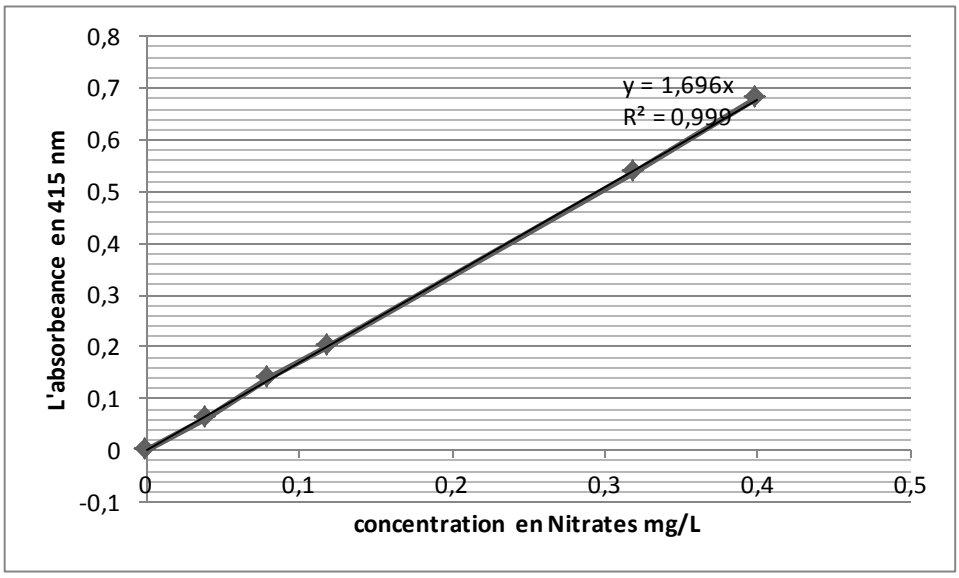


Figure 11 : La courbe d'étalonnage de l'azote total.

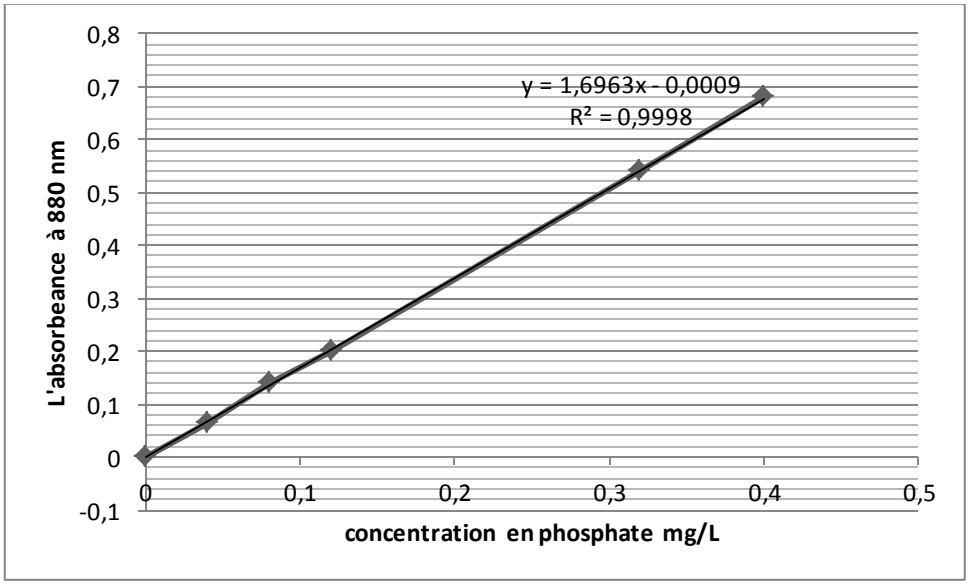


Figure 12 : La courbe d'étalonnage de phosphate.

I. 14. Ions ammoniums

La Figure 13 représente la courbe d'étalonnage de l'ammonium. La teneur en ammonium obtenu lors l'analyse de notre margine est assez faible 1 mg.L^{-1}.

$C_{ammoniums}(g.L^{-1}) = C_{ammoniums}(mg.L^{-1}) \times facteur de\ dilution(40)$

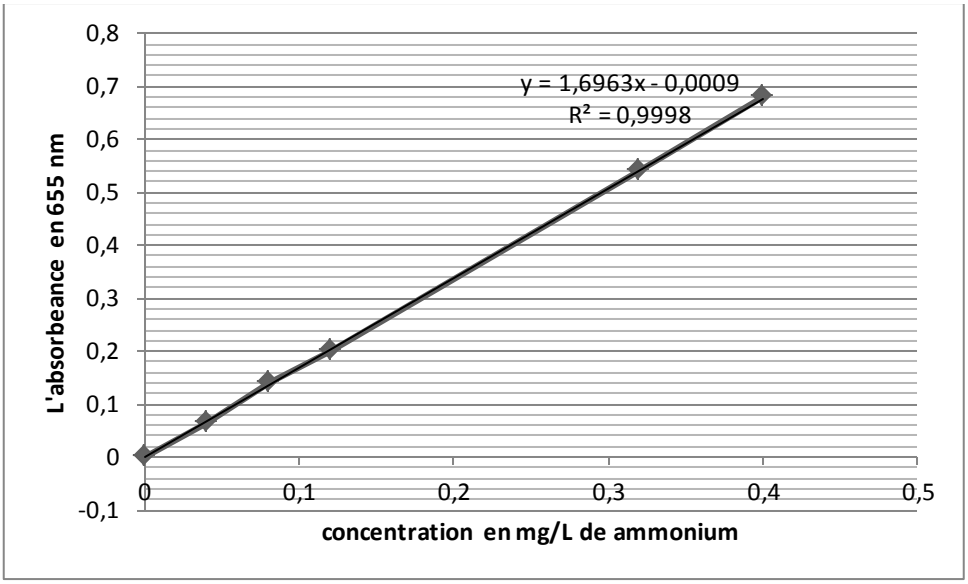


Figure 13 : La courbe d'étalonnage de l'ammonium.

II. Caractérisation microbiologique

Très peu de travaux ont été réalisés sur la caractérisation microbiologique des margines. Ceci est probablement dû à l'intérêt accordé aux matières organiques des margines, sans se soucier de leur contenu microbien.

Notre margine s'est montré une faible présence de bactéries qui est probablement due à la fois au pH acide et à la présence des composés phénoliques qui inhibent la croissance des bactéries.

II.1. Coliformes Totaux et fécaux

Suite au dénombrement effectué au laboratoire il a été permet d'identifier des valeurs de l'ordre de 400 $UFC.L^{-1}$ pour les coliformes totaux et de l'ordre de 60 $UFC.L^{-1}$ pour les coliformes fécaux.

Les Figures 14 et 15 montrent les boites pétri après incubation de deux échantillons de margine diluée pour les coliformes totaux et coliformes fécaux respectivement.

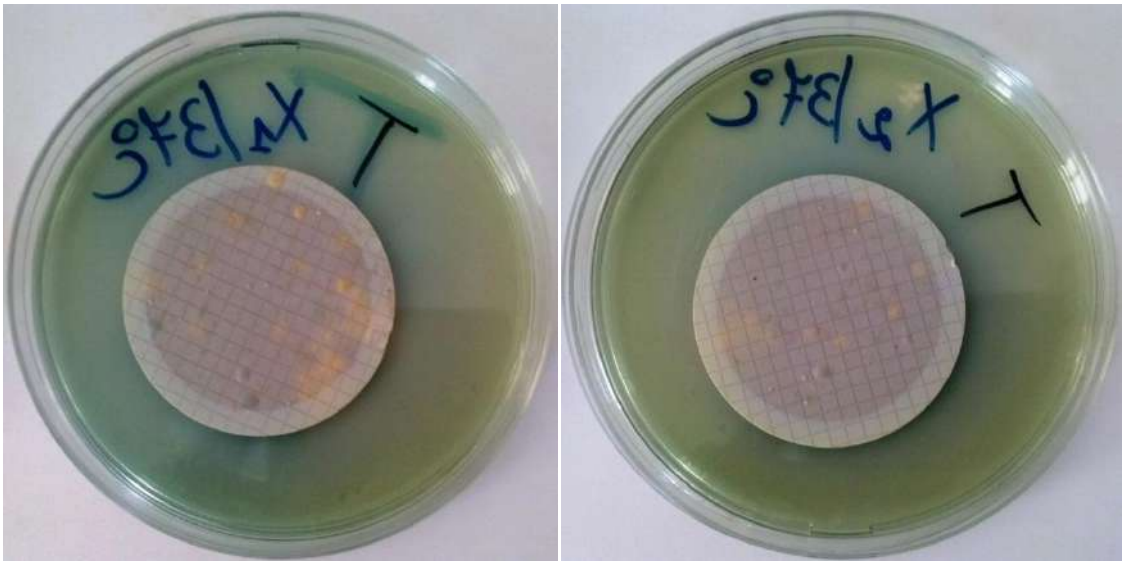


Figure 14 : Boites pétri des coliformes totaux après incubation.



Figure 15 : Boites pétri des coliformes fécaux après incubation.

II.2. Streptocoques fécaux

Lors le dénombrement effectué au laboratoire il a été permet d'identifier une valeur approximative qui dépasse 30000 UFC.L^{-1}.

La Figure 16 représente les boites pétri après incubation de deux échantillon de margine diluée pour les streptocoques fécaux.



Figure 16 : Boites pétri des streptocoques fécaux après incubation.

III. Récapitulatif des résultats d'analyse de margine

Le tableau 08 résume et récapitule les valeurs d'analyses de notre échantillon de margine.

Tableau 08 : Récapitulatif des résultats d'analyse de la margine

Eléments	**valeurs**
pH	Brute : 4,56 Filtrée : 5,31 Centrifugée : 4,99
MES	2,2 $g.L^{-1}$
MS	13,05 $g.L^{-1}$
MV	11,84 $g.L^{-1}$
MVS	2,09 $g.L^{-1}$
MV/MS	90,7 %
MVS/MES	95 %
Humidité	90 %
Turbidité	628 NTU
DCO	155 g d'O2.L^{-1}
DBO	70 g d'O2.L^{-1}
Polyphénols	Filtrée : 1,28 $g.L^{-1}$ Centrifugée : 1,38 $g.L^{-1}$
Sucre	1,78 $g.L^{-1}$
Matière grasse	1,23 % (v/v)

Conductivité	9,90 $mS.cm^{-1}$
Calcium	35 $mg.L^{-1}$
Magnésium	20 $mg.L^{-1}$
Chlorures	5,32 $g.L^{-1}$
Phosphate	62 $mg.L^{-1}$
Azote	68 $mg.L^{-1}$
Ammonium	1 $mg.L^{-1}$
Coliformes totaux	400 $UFC.L^{-1}$
Coliformes fécaux	60 $UFC.L^{-1}$
Streptocoques fécaux	30000 $UFC.L^{-1}$

CONCLUSION

Les margines avec ses propriétés physico-chimiques et microbiologiques représente l'un des problèmes les plus importants auxquels sont confrontés les pays de la méditerranée, en raison de ses effets néfastes sur les écosystèmes différents et parce qu'ils rejettent sans aucun traitement.

Les résultats obtenus des différentes analyses de nos échantillon de margines montre que notre effluent est moyennement chargé par rapport aux résultats trouvés dans la littérature. Les principaux paramètres de pollution sont définit par la DCO qui est de l'ordre de 155 $g.L^{-1}$ ainsi qu'une DBO de l'ordre de 70 $g.L^{-1}$. Ces deux valeurs nous permettre de dire que cet effluent ne dois pas être rejeté dans la nature sans prétraitement. En plus, notre échantillon de margine possède une forte acidité de l'ordre 4,56 qui porte une dégradation grave du milieu récepteur (l'environnement).

Notre margines s'est montré comme un effluent chargé en matière organique qui est dû à la nature du fruit (olive) et le système d'extraction de ce dernier.

L'analyse des composés phénoliques de notre margines nous a permis d'identifier une forte présence avec une concentration qui s'élève à 1,38 $g.L^{-1}$ pour les margines centrifugées. Cette teneur nous permettre d'envisager une éventuelle récupération des phénols. Une étude bien détaillée des variétés et structures des phénols est une solution pour permettre de bien identifier ce qu'il faut valoriser en mieux. Les variétés des phénols sont en liaison directe avec la variété de l'olive et les systèmes d'extraction.

Références bibliographiques

[01]: **Bressan M, Liberatore L, D'Alessandro N, Tonucci L, Belli C et Ranalli G. (2004)**. Improved combined chemical and biological treatments of olive oil mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, pp.1228-1233.

[02]: **Uccella N. (2001).** Olive biophenols: novel ethnic and technological approach. *Food Science & Technology*, 11, pp. 328-339.

[03]: **COI. (2012A).** 40th meeting of the Advisory Committee Madrid, 14-15 November 2012.

[04]: **Zenjari B, El Hajjouji H, Ait Baddi G, Bailly J-R, Revel J-C, Nejmeddine A, Hafidi M. (2006).** Eliminating toxic compounds by composting olive mill wastewater–straw mixtures. Journal of Hazardous Materials. **138**, 433–437.

[05]: **Martinez-Garcia G, Bachmann R.T, Williams C.J, Burgoyne A, Edyvean R.G.J. (2006).** Olive oil waste as a biosorbent for heavy metals. International Biodeterioration & Biodegradation 58, 231–238.

[06]: **El Hajjouji H, Ait Baddi G, Yaacoubi A, Hamdi H, Winterton P, Revel J.C et Hafidi M. (2008).** Optimisation of biodegradation conditions for the treatment of olive mill wastewater. Bioresource Technology. **99**: 5505-5510.

[07]: **Aissam, H. (2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat, Faculté des sciences, Dhar El Mehraz, Fes.

[08]: **Renalli A. (1991).** The effluent from olive mills: Proposals for re-use and purification with reference to Italian legislation. Olivae. **38**, 19 – 34.

[09]: **Hamdi M. (1993).** Valorisation et épuration des effluents des huileries d'olives: l'utilité de la microbiologie industrielle. Olivae, **46**, 20-24.

[10]: **Villemur P. Dosba F. (1997).** Oléiculture. Evolution variétale et acquisition de la maîtrise des pratiques culturales.

[11]: **Loussert R et Brousse G. (1978).** L'olivier : techniques agricoles et productions méditerranéennes ed. Ed G.P. Maisonneuve et Larose, Paris. 464p.

[12]: **Chalabi A**. l'olivier et l'huile d'olive. Source site d'internet http://quebec.ifrance.com/tasacora/huiledolive.

[13]: **Amouretti MC, Comet G., 1985.** Le livre d'olivier. EDISUD.

[14]: **Brousse G, Loussert L. (1978).** L'olivier. Moissonneuse la rose, paris.

[15]: Site d'internet : L'olivier http://www.maison-huile.com/fr/fleurs.php.

[16]: **Sansousy R. (1991).** Problèmes généraux de l'utilisation des sous-produits agroindustriels en alimentation animales dans la région méditerranéenne.

[17]: **Document internet: Market Olea. (Mars 2013).** La marche mondiale de L'huile d'olive. Rédaction et mise en page : Alexandra PARIS - AFIDOL / Edition AFIDOL (Association Française Interprofessionnelle De l'Olive)

[18]: **COI. (2012B).** 39th meeting of the advisory committee, Madrid, 2 July 2012.

[19]: **Conseil oléicole international. (2013).** production mondial d'huile d'olive, tableau 1. 12 à 17Novembre 2013.

[20]: **Conseil oléicole international. (2013).** consommation mondial d'huile d'olive, tableau 4. 12 à 17 Novembre 2013.

[21]: **Rabiha K. (2012).** Caractérisation physiquo-chimique et organoleptique des huiles d'olive vierges provenant de différentes variétés algériennes. Mémoire master 2. Université Saad Dahlab De Blida.

[22]: **Chimi H. (1997).** Sous produits de la transformation des olives : possibilités de valorisation et de traitent des margines. Cours international sur l'amélioration de la qualité de l'huile d'olives.

[23]: **Francesco G.L. (1993)**. Evaluations économiques sur l'innovation technologique. Les problèmes de l'environnement dans le lecteur oléicole en Italie. Olivae, **47**, 15-20.

[24]: Carte de la répartition géographique des unités de trituration de l'huile d'olive en Algérie. Source DSA Octobre 2010.

[25]: **Nefzaoui A. (1987).** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits. Séminaire sur l'économie de l'olivier. Tunis, 20-22 Janvier. Science et Technique, Olivae n° 19.

[26]: **Hamadi C. (2006).** Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité, N° 141.

[27]: **Chouchene A. (2012).** Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique. Thèse de doctorat. UNIVERSITE DE HAUTE-ALSACE.

[28] : A l'olivier online.html.

[29] : **Di-Giovacchino L.** (1996). L'influence des systèmes d'extraction, sur la qualité de l'huile d'olive, Olivea, **63**, 52 – 63.

[30]: CNUCED, Huile d'olive. Site Internet: http://r0.unctad.org/infocomm/francais/olive/technologie.htm.

[31]: **Tamburino V, Zimbone S M et Quottrone P.** (1999). Accumulation e écoulement des margines sur le sol agricole. Olivæ, **76** : 36 - 45 .

[32]: **Amirante P, Direnzo L, Digiovacchino, Bianchi B et Catalano P. (1993).** Evolution technologique des installations d'extraction de l'huile d'olive. Olivæ, 48.

[33]: **Fideli et Camurati. (1981); Paredes. (1999).** Le acque divegetazione della lavorazione delle olive: technologie el economie di recupero di sotto prodotti, ital, Sostanze Grasse, **61**,283-292.

[34]: **Nefzaoui A. (1991).** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous produits. Option méditerranéennes série séminaire N°16, pp 101 – 108, Ecole Supérieure d'horticulture Sousse, Tunisie.

[35]: **Ben yahia et Zein K. (2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solution récemment développée. Contribution spéciale de sustainable business associates (Suisse) à SESEC.

[36]: **Firentino A, Gentili A, Isodiri M, Monaco P, Nandelli A, Parrella A and Temussi F. (2003).** Environmental effects caused by olive mill wastewater, toxicity comparison.

[37]: **Léger, CL. (1999).** Co-produits de l'huile d'olive, les composés phénoliques et leur propriétés biologiques OCL, 6, 60-63.

[38]: **Trigui A. (2008).** Etude en vue d'élaboration d'un plan d'action pour l'utilisation énergétique des sous produits de l'oliveraie en Tunisie. PNUD- Tunisia. Project (00058135).

[39]: **C.O.I. (2008).** International course on water management and irrigation of olive orchards. Limassol-Cyprus. 20 pages.

[40]: **Fiestas Ros de Ursinos J. A. (1981).** Différentes utilisations des margines. Actes du Séminaire International sur la vallorisation des sous produits de l'olivier. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO). 93 – 110.

[41]: **Lutwin B, Fiestas Ros De Ursinos J.A, Geissen K, Kachouri M, Klimm E, De Ladorde Monpezat G, Xanthoulis D. (1996).** Les expériences méditerranéennes dans le traitement et l'élimination des eaux résiduairesdes huileries d'olives, Editions (GTZ) Gmbh, Eschborn. République Fédérale d'Allemagne.

[42]: **Fernandez Diaz M. J. (1983).** Olives. In Rehm HJ, Reed G (eds) Biotechnology, vol. 5. Verlag Chemie, Weinheim, pp379 - 397.

[43]: **Salvemini F. (1985).** Composizione chimica evalutazione biologica di un mangime ottenuto Essicando tercamente le acque di vegetazione delle olive. Riv. Delle Sostanze grasse, 112, 559 - 564.

[44]: **Capasso R. De Martino A. Arienzo M. (2002)**. Recovery and characterization of the metal polymeric organic fraction (polymerin) from olive oil mill wastewaters. J Agric Food Chem., 50(10), 2846-55.

[45]: **Hamdi M. (1996).** Anaerobic digestion of olive mill wastewaters. Process biochemistry. **31**: 105-110.

[46]: **Annaki A, Chaouch M et Rafiq M. (1999).** Influence de la durée du stockage des olives sur l'évolution de la composition des margines. L'eau. L'industrie. Les nuisances. **218**, 24 – 28.

[47]: **Ramos-Cormenzana A. (1986).** Physical, chimical, microbiological and biochemical characteristics of vegetation water. On olive by-products valorization. Sevilla-Spain. 41 - 60

[48]: **Fenice M, Giovannozzi Sermanni G, Federici F et D'Annibale A. (2003).** Submerged and solidstate production of laccase and Mn-peroxidase by *panus tigrinus* on olive mill wastewater-based media. J Biotechnol. 100 (1), 77 – 85.

[49]: **Aissam H, Errachidi F, Merzouki M et Benlemlih M. (2002).** Identification des levures isolées des margines et étude de leur activité catalase. Cahiers de l'Assosciation Scientifique Européenne pour l'Eau et la Santé. 7, 23 – 30.

[50]: **Casa R, D'Annibale A, Pieruccetti F, Stazi S. R, Givannozzi Sermanni G et Lo Cascio B. (2003).** Reduction of the phenolic compenents in olive-mill wastewater by an

enzymatic treatment and its impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf). Germinability. Chemophere, **50** (8), 59 – 66.

[51]: **De Marco E, Savarese M, Paduano A et Sacchi R. (2007).** Characterisation and fractionation of phenolic compounds extracted from olive mill wastewaters. Food Chemistry. 104, 858–867.

[52]: **Tanchev S, Joncheva N, Genov N and Codounis M. (1980).** Identification of anthocyanins contained in olives. Georgike Ereuna **4**, 5-13.

[53]: **Balice V, Boari G, Cera O, Abbaticchio P. (1982).** Indagine analitica sulle acque di vegetazione.

[54]: **Eroglu E, Eroglu I, Gündüz U et Yücel M. (2008).** Effect of clay pretreatment on photofermentative hydrogen production from olive mill wastewater. *Bioresource Technology*. **99**, 6799-6808.

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

[56]: **Paredes C, Cegarra J, Bernal M.P et Roig A. (2005).** Influence of olive mill wastewater in composting and impact of the compost on a Swiss chard crop and soil properties. Environnement International. 31, 305-312.

[57]: **Di Giovacchino L, Mascolo A, et Seghiti I. (1988).** Sulle caratteristiche delle acque di vegetazione delle olive. Rivista Italana delle Sostanze Grasse. 65, 481-488.

[58]: **Gharsallah N. (1993).** Production of single cell protein from olive mill wastewater by yeasts. Environ. Technol. **14**, 391-395.

[59]: **Mouncif M, Tamoh S, Faid M, Achkari-Begdouri A. (1993).** A study of chemical and microbiological characteristics of olive mill waste water in Morocco. Grasas y Aceites, **44**, 335-338.

[60]: **Millan B, Lucas R, Robles A, García T, Alvarez de Cienfuegos G, Gálvez A. (2000).** A study on the microbiota from olive-mill wastewater (OMW) disposal lagoons, with emphasis on filamentous fungi and their biodegradative potential Microbiol Res, (3), 143-7.

[61]: **Mébirouk M. (2002).** Rejets des huileries, développement d'un procédé intégré pour la biodégradation des polyphénols dans les margines .CMPP NEWS n°1.

[62]: **Belaid C, Kallel M et Elleuch B. (2002).** Identification de nouveaux composés phénoliques présents dans les rejets liquides d'huilerie d'olives (margines).Déchets. SCIENCES ET TECHNIQUES.

[63]: **Lacomelli A. (2000).** Olive mill waster & Sap adapted by Bacron contracting parties-work shop on agro-industry development in the coastal areas, with special focus on the olive oil industry-Beirut Lebanon-.

[64]: **Filidei S, Masciandro G and Ceccanti B. (2003).** Anaerobic digestion of oil mill effluents: evaluation of wastewater the organic load and phytotoxicity reduction water, air and soil pollution, 145, 79-94.

[65] : **Cadillon M et Lacassin.** La valorisation agronomique des margines. Société du canal de Provence.

[66]: **Levis-Menzi R, Gaviozzi A, Riffaldi R, falzi L. (1992).** L'épandage au champs des margines : effet sur les propriétés du sol. Olivae, 40, 20-25.

[67]: **Papadimitriou E.K, Chatjipa I, Balis C. (1997).** Application of composting to olive mill wastewater treatment. Environmental technology, **18**, 101-107.

[68]: **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. 93 p.

[69]: **Zenjari I. (2000).** Etude écotoxicologique des effluents liquides des huileries de la ville de Marrakech, impact sur les milieux récepteurs et détoxication. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences Semlalia, université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc. 149 p.

[70]: **Petruccioli M, Servili M, Montedoro F, Federicio F. (1988).** Development of recycle procedure for the utilization of vegetation waters in the olive-oil extraction process. Biotechnol. Lett., 10, 55-60.

[71]: **Kahramann S, Yesilada O. (2001).** Industrial and Agricultural wastes as substrates for laccase production by white-rot Fungi. Folia microbial. 46(2), 133-136.

[72]: **Fedeli E. (1977).** Lipids of olives. Pros. Chem. Fats other lipids, 15, 57-74.

[73]**: Martilotti F. (1993).** Use of olive by-products in animal feeding in Italy. Division de la production et de la santé animal. FAO. Rome. 56-62.

[74]: **Rodier J. (1996).** L'analyse de l'eau, 8ème édition. Dunod, Paris. France.

[75]: **Djouab A. (2007).** Contribution à l'identification des constituants mineurs de la datte Mech-Degla «Essai de valorisation par incorporation dans une recette de margarine allégée». Mémoire de magister en technologie alimentaire. Université de Boumerdes, Algérie.

[76]: **Dubois M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P, Smith F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28, 350-356.

[77]: **Murphy J., Riley J.P. (1962)**. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural water. Annal. Chim. Acta., 127.

[78]:

[79]:**De Felice B, Pontecorvo G, Carfagna M. (1997).** degradation of waste waters from olive oil mills by Yarrowia lipolytica ATCC 20 255 and pseudomonas pitida. Acta Biotechnol. 17, 231-239.

[80]: Boub S. (2012). C'est quoi la margine (AMOREDJ). 3, 1-8

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

[82]: **Niaounakis M, Halvadakis C. P. (2004).** The effect of olive-mill technology. In G. Dardanos (Ed.). Olive-mill waste management. Literature review and patent survey (pp. 57–71). Athens: Typothito.

[83]: **Garcia Garcia P.R, Jiménez Peña J.L, Bonilla Venceslada A, Martin Martin, M.A. Martin Santos, E. Ramos Gomez. (1999).** Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. 2, 751-758.

[84]: **Michel J. Penninck X, Atef Jaouani, Mohamed Ghazi Tabka. (2005).** Lignin modifying enzymes of *Coriolopsis polyzona* and their role in olive oil mill wastewaters decolourisation. 2, 1421-1430.

[85]: **Adhoum Nafaà, Monser Lotfi. (2003).** Decolourization and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by electrocoagulation. 2, 1281-1287.

[86]: **Esra S. Sktas, Sedat Imre and Lale Ersoy. (2000).** Characterization and lime treatment of olive mill wastewater. 3, 2336-2340.

[87]: **Sampaio M.A, Gonçalves M.R, Marques I.P. (2011).** Anaerobic digestion challenge of raw olive mill wastewater. 2, 10810–10818.

[88]: **Badawya M.I, F. El Goharya, Ghalyb M.Y, Alia M.E.M. (2009).** Enhancement of olive mill wastewater biodegradation by homogeneous and heterogeneous photocatalytic oxidation. 2, 673–679.

[89]: **Chouchene Ajmia, Mejdi Jeguirim, Alain Favre-Reguillon, Gwenaelle Trouvé, Gérard Le Buzit, Besma Khiari, Fethi Zagrouba. (2010).** Energetic valorisation of olive mill wastewater impregnated on low cost absorbent: Sawdust versus olive solid waste. 3, 74-81.

[90]: **Hanafi F, Assobhei O, Mountadar M. (2009).** Detoxification and discoloration of Moroccan olive mill wastewater by electrocoagulation. 1, 807–812.

[91]: **Khoufi Sonia, Feki Firas, Sayadi Sami. (2006).** Detoxification of olive mill wastewater by electrocoagulation and sedimentation processes. 2, 58–67

[92] : **Lutwin B, Fiestas Ros De Ursinos J.A, Geissen K, Kachouri M, Klimm E, De Ladorde Monpezat G, Xanthoulis D. (1996).** Les expériences méditerranéennes dans le traitement et l'élimination des eaux résiduairesdes huileries d'olives, Editions (GTZ) Gmbh, Eschborn. République Fédérale d'Allemagne.

[93]: **Lopez M.J, Ramos-Cormenzana A. (1996).** Xanthan production from olive-mill wastewaters. Int. Biodeterior. Biodegr. 38, 263–270.

[94]: **Procida G, Ceccon L. (2006).** Gas chromatographic determination of free fatty acids in olive mill waste waters. Analytica Chimica Acta, **561** : 103–106.

[95]: **SIFOUN Naïma. (2008).** Traitement des effluents des huileries d'olive par oxydation au H_2O_2. Mémoire de magister. UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES

[96]: **Panizza M, Cerisola G. (2006).** Olive mill wastewater treatment by anodic oxidation with parallel plate electrodes. Water research 40, 1179 – 1184.

[97]: **Gonc alvesa M.R, Costa J.C, Marques I.P, Alves M.M. (2011).** Strategies for lipids and phenolics degradation in the anaerobic treatment of olive mill wastewater. 2, 4217-4225

[98]: **Meksia N, Haddara W, Hammamia S, Mhennia M.F. (2012).** Olive mill wastewater: A potential source of natural dyes for textile dyeing. 2, 103– 109.

[99]: **Achak M, Mandi L, N Ouazzani. (2009).** Removal of organic pollutants and nutrients from olive mill wastewater by a sand filter. 3,2771–2779.

[100]: **Capasso R, Evidente A, Schivo L, Orru G, Marcialis M.A, Cristinzio G. (1995).** Antibacterial polyphenols from Olive Oil Mill Waste Waters. J. Appl. Bacteriol. **79**, 393-398.

[101]: **Kissi M, Mountadar M, Assobhei O, GargiuloE, Palmieri G, Giardina P, Sannia G. (2001).** Roles of two white-rot basidiomycete fungi in decolorisation and detoxification of olive mill waste water. Appl Microbiol Biotechnol, **57**(1-2), 221-6.

[102]: **Agostina Chiavola, Geneve Farabegoli, Federica Antonetti. (2013).** Biological treatment of olive mill wastewater in a sequencing batch reactor. 2, 71–78.

[103]: **Sayadi S, Ellouz R. (1993).** Screening of white rot fungi for the treatment of olive mill waste-waters. J. Chem. Biotechnol. **57**, 141-146.

[104]: **Martin A, Borja R, Banks C.J. (1994).** Kinetic model for substrate utilization and methane production during the anaerobic digestion of olive mill wastewater and condensation water waste. J. Chem. Biotechnol. **60**, 7-16.

[105]: **Khoufi Sonia, Aloui Fathi, Sayadi Sami. (2005).** Treatment of olive oil mill wastewater by combined process electro-Fenton reaction and anaerobic digestion. 2, 2007–2016.

[106]: **Hamdi M, Garcia J.L, Ellouz R. (1992)**. Integrated biological process for olive mill wastewaters treatment. Bioprocess. Eng., 8, 79

[107]: **Tsioulpas A, Dimou D, Iconomou D, Aggelis G. (2002).** Phenolic removal in olive mill wastewater by strains of Pleurotus spp. In respect to their phenol Oxidase (laccase) activity. Bioresource Technology. **84**, 251-257.

[108]: **Dimitrios G. Karpouzasa, Spyridon Ntougias, Eudokia Iskidou, Constantina Rousidou, Kaliopi K. Papadopoulou, Georgios I. Zervakis, Costantinos Ehaliotis. (2009).** Olive mill wastewater affects the structure of soil bacterial communities. 2, 101–111.

ANNEXE

I. Demande chimique en oxygène DCO

Principe

Dans des conditions définis, certains matières contenues dans les margines sont oxydées par un excès de dichromate de potassium, en milieu acide et en présence de sulfate d'argent et de sulfate de mercure. L'excès de dichromate de potassium et dosé par le sulfate de Fer et d'Ammonium

Réactifs

1. Dichromate de potassium (K_2Cr_2O7) : C ($K_2Cr_2O_7$) = 0,04 mol/L contenant du sel de mercure.

Dissoudre 80 g de sulfate de mercure ($HgSO_4$) dans 800 mL d'eau. Ajouter avec précaution 100 mL d'acide sulfurique pour ($f = 1{,}84\ g/L$). Laisse refroidir.

Ensuite dissoudre 11,768 g de dichromate de potassium préalablement séché à 105 °C pendant 2 heurs, dans la solution transvaser la solution quantitative dans une fiole jaugée et diluer à 1000mL.

2. Acide sulfurique – sulfate d'argent : (acide sulfurique à préparé)

Ajouté 10 g de sulfate d'argent (Ag2SO4) à 35 mL d'eau.

Ajouter par portions 965 mL d'acide sulfurique pour ($f = 1{,}84\ g/L$), la dissolution est favorisée par agitation, laisse reposer 1 ou 2 jours.

- **Témoin : Hydrogenophtalate de potassium :**

Dissoudre 0,1062 g d' Hydrogenophtalate de potassium préalablement séché à 105 °C dans de l'eau et diluer à 250 mL.

3. Sulfate de Fer et d'Ammonium : Solution de titrée

C ($(NH_4)_2$ Fe $(SO_4)_2$ $6H_2O$) = 0,12 mol/L.

Dissoudre 4,7 g de sulfate de Fer et d'Ammonium dans l'eau. Ajouté 2 mL d'acide sulfurique pour($f = 1{,}84\ g/L$) refroidir et diluer avec de l'eau à 100mL.

3. a. Acide sulfurique dilué C(H2SO4)= 4 mol/L :

Ajouter à environ 250 mL d'eau, par portion et avec précaution 110 mL d'acide sulfurique pour($f = 1{,}84\ g/L$) laisser refroidir et diluer à 500 mL.

3. b. Ferroine : Solution d'indicateur

Dissoudre 0,35 g de sulfate de Fer (Fe SO_4 7 H_2O), 0,5 g de sulfate de Fer et d'Ammonium hexahydrate $C(NH_4)_2Fe(SO_4)_2\,6H_2O$ dans de l'eau.

Ajouter 0,75 de phénanthroline 1,10 monohydratée $C_{12}H_8N_2\ H_2O$, et agiter jusqu'à dissoudre. Diluer 50mL.

II. Demande biologique en oxygène DBO_5

La demande biologique en oxygène après 5 jours d'un échantillon est définit comme étant la quantité d'oxygène consommé par les microorganismes aérobies dans des conditions bien définit telle que la température 20 °C, l'obscurité, l'agitation après une durée de 5 jours.

On peut estimer la valeur de la DBO à partir de la valeur de la DCO.

DBO_5 estimée (mg/L) = 80% X DCO

D'après la valeur de la DBO estimée en mg/L on peut se refaire à un tableau de gamme, qui nous indique le volume à prendre de notre échantillon ainsi que la valeur du facteur.

DBO estimée mg/L	Prisse d'essai mL	Facteur	DBO estimée mg/L	Prisse d'essai mL	Facteur
0-40	432	1	0-400	164	10
0-80	365	2	0-800	97	20
0-200	250	3	0-2000	43,5	50

Manipulation :

- Des que le volume de la prise d'essai est connue, on l'introduit dans la bouteille du DBO mètre.
- Introduire un barreau magnétique.

- Placer la capsule qui va 2 pastilles de NaOH pour capter le DCO.
- Fermer avec l'oxitope et régler à zéro.
- Mettre une étiquette sur chaque bouteille contenant.
- Après 5 jours le prélèvement des échantillons.

III. Sucres totaux

Réactifs

1. Solution de Glucose (1 g/L)

Dissoudre 0,25 g de glucose dans 250mL d'eau distillée.

Les solutions des glucoses dilués

Fioles	**T**	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**
Solution mère (1 g/L) mL	**0**	**5**	**10**	**15**	**25**	**40**
H_2O (mL)	**100**	**95**	**90**	**85**	**75**	**60**
Nouvelle concentration (g/L)	**0**	**0,05**	**0,1**	**0,15**	**0,25**	**0,4**

2. Solution de Phénol (5 %)

Dissoudre 5 g de phénol dans 100 mL d'eau distillée.

3. Solution d'acide sulfurique (HCl) concentré (96%)

Mode opératoire

Fioles	**T**	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**
Solution file (mL)	1	1	1	1	1	1
Phénol 5 % (mL)	1	1	1	1	1	1
HCl (mL)	5	5	5	5	5	5

Mélange est agité immédiatement. Les tubes sont placés au bain-marie à 30-40°C pendant 20 minutes puis refroidis sous eau glacée, les tubes sont conservés à l'obscurité pendant 10 min

La densité optique est mesurée à 490 nm.

Fioles	**T**	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**
Absorbance DO	0	0,301	0,905	1,302	2,066	3,262

IV. Dosage d'orthophosphates

Principe

On utilise un réactif (réactif molybdique) donnant un dérivé coloré avec les phosphates (complexe phosphomolybdique de couleur bleue). L'intensité de la coloration, mesurée par colorimétrie ou spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration en phosphates dans certaines conditions. La concentration du dérivé coloré est déterminée graphiquement à partir d'une droite d'étalonnage établie au préalable avec des concentrations connues en phosphates.

Réactifs

1. Solution d'acide sulfurique $C(H_2SO_4)$ = (9 mol/L)

Acide sulfurique ($f = 1{,}84\ g/L$) 500 mL
Eau distillée 500 mL

2. Solution d'acide sulfurique $C(H_2SO_4)$ = (4,5 mol/L)

Acide sulfurique (9 mol/L) 500 mL
Eau distillée 500 mL

3. Solution d'acide ascorbique (100 $g.L^{-1}$)

Acide ascorbique (C_6 H_8 O_6) 10 g
eau distillée 100 mL

4. Molybdate acide, solution indicateur

- (a) Dissoudre 13 g d'heptomolybdate d'ammonium tetrahydraté $(NH_4)_6NO_7O_{24}4H_2O$ dans 100 mL d'eau.

- '(b) Dissoudre 0,35 g de tartrate de potassium et d'antimoine hemihydraté (sbO $C_4H_4O_6$ ½ H_2O) dans 100 mL d'eau

- Ajouter, tout en agitant la solution de molybdate (a) à 300 mL de la solution d'acide sulfurique 9 mol/L

- Ajouter la solution de tartrate (b) et bien mélanger.

5. Solution stock de phosphates (50 $mg.L^{-1}$)

Dissoudre 219,7 mg de phosphate monopotassique (desséché au préalable à l'étuve à 100°C) dans 800 mL d'eau distillée. Acidifier la solution par 10 mL d'acide sulfurique à 20 %. Ajuster le volume à un litre avec de l'eau distillée.

Solution de phosphates pour la construction du droit étalon (2 $mg.L^{-1}$)

A préparer extemporanément

- Solution-stock à 50 $mg.L^{-1}$: 4 mL
- Compléter à un 100 mL avec de l'eau distillée

Remplir dix flacons selon les indications du tableau ci-dessous

Fioles	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Solution fille	0	1	2	3	8	10	13	15	18
H_2O (mL)	40	39	38	37	32	30	27	25	22
C PO_4 mg/L	0	0,04	0,08	0,12	0,32	0,4	0,52	0,6	0,72
Acide ascorbique (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Sol molybdate acide (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Bien mélanger.

Ajouter 4 mL de réactif molybdique dans chacun des flacons.

Attendre 15 min, remplir une cuvette standard et mesurer l'absorbance à une λ= 880 nm

C PO_4 mg/L	0	0,04	0,08	0,12	0,32	0,4	0,52	0,6	0,72
absorbance	0	0,064	0,14	0,2	0,539	0,680	0,886	1,026	1,234

Pour les margines :

Trouver 2 mL du margine, ajouter 1 mL d'acide ascorbique. Ensuite ajouter 2 mL de molybdate acide et compléter à 50 mL avec l'eau distillée.

Laisser temps de réaction 30 min.

Mesurer absorbance du margine à λ= 880 nm.

V. dosage d'azote total

Réactifs

1. Préparation de l'Alcali : NaOH $f = 200g/l$

f = (CH_2-N (CH_2COOH) CH_2-COO Na)$_2$ $2H_2O$ = 50 g/L

Dissoudre 200 g de nitrate d'hydroxyde anhydre dans 800 mL d'eau distillée.

Ajouter 50 g de sel disodique de l'acide éthylène diamine tetraacetique (Na_2 EDTA) dihydraté (CH_2-N (CH_2COOH) CH_2-COO Na)$_2$ $2H_2O$ et dissoudre.

Laisser refroidir à la température ambiante et compléter à 1 litre avec l'eau.

2. Azoture de sodium : C NaN_3 = 0,5 g/L

Dissoudre avec précaution 0,05 g d'azoture de sodium dans environ 90 mL d'eau puis compléter à 100 mL avec de l'eau.

3. salicylate de sodium 1%

Dissoudre 0.5 g de salicylate de sodium dans 100 mL d'eau distillée.

4. Solution stock de nitrate de potassium (1000 mg.L^{-1} d'ions nitrates)

Dissoudre 7,215 g de nitrate de potassium (desséché au préalable à l'étuve à 100°C pendant 2 heurs) dans 750 mL d'eau distillée.

Transvaser dans fiole jaugée de 1 litre et compléter avec de l'eau.

Nitrate, solution étalon (100mg/L)

Transvaser à la pipette 50 mL de la solution mère à 1000 mg/L dans une fiole jaugée de 500 mL, et compléter au volume avec l'eau.

Nitrate, solution étalon (1 mg/L)

Dans une fiole jaugée de 500 mL, ajouter à la pipette 5 mL de la solution étalon à 100 mg/L.

Complete au volume avec de l'eau.

Mode opératoire

	T	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**
Solution étalon 1 mg/L	0	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
Azoture de sodium (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Acide acétique (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Evaporer à 75 – 80 °C

Ajouter après séchage et refroidissement

Salicylate de Na (mL)	1	1	1	1	1	1

Evaporer à 75 – 80 °C

Ajouter après séchage et refroidissement

Acide acétique (mL)	1	1	1	1	1	1

Attendre 10 min et ajouter

Eau distillée (mL)	10	10	10	10	10	10
Solution Alcali (mL)	10	10	10	10	10	10

Remplir une cuvette standard et mesurer l'absorbance à une λ= 415 nm

C NO^{3-} mg/L	0	0,5	1	2,5	4	5
Absorbance	0,006	0,336	0,695	1,699	2,264	3,015

Pour les margines :

Trouver 2,5 mL du margine, ajouter 1 mL de salicylate de sodium.

On met le margine dans l'étuve à 105 °C pendant 2 heurs.

Ajouter 2 mL d'acide acétique, puis ajouter 15 ml d'eau distillée et 15 mL solution Alcali

Mesurer absorbance du margine à λ= 415 nm.

VI. dosage de l'Ammonium

Principe

Mesurage spectrométrique du composé bleu par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochloride en présence de nitroprussiate de sodium.

Réactifs

Chlorure d'ammonium

Hydroxyde de sodium en pastilles

Citrate trisodique

Dichloroisocyanurate de sodium

Nitroprussiate de sodium

Salicylate de sodium

Préparation

1. Réactif coloré

Dissoudre 130 g de salicylate de sodium et 130g de citrate trisodique dans environ 950 mL d'eau, puis ajouter 0,970 g de nitropussiate de sodium, compléter à 1000 mL

2. Dichloroisocyanurate de sodium

Dissoudre 32 g d'hydroxyde de sodium dans environ 500 mL d'eau, refroidir la solution à température ambiante, et ajouter 2 g dichloroisocyanurate de sodium après la dissolution dilué à 1000 mL.

3. Solution étalon à 1000 mg/L

Dissoudre 3,819 g de chlorure d'ammonium dans 1 litre d'eau distillée

Solution étalon à 100 mg/L

Transvaser à la pipette 100 mL de la solution mère à 1000 mg/L dans une fiole jaugée de 1000 mL, et compléter au volume avec l'eau.

Solution étalon à 10 mg/L

Dans une fiole jaugée de 100 mL, ajouter à la pipette 1 mL de la solution étalon à 100 mg/L.

Complete au volume avec de l'eau.

Mode opératoire

Fioles	T	I	II	III	IV
Solution fille 1 mg/L (mL)	0	10	20	30	40
H_2O (mL)	40	30	20	10	0
Réactif coloré (mL)	4	4	4	4	4
Dichloroisocyanurate (mL)	4	4	4	4	4
NH^{4+} (mg/l)	0	0,2	0,4	0,6	0,8

Remplir une cuvette standard et mesurer l'absorbance à une λ= 655 nm

NH^{4+} (mg/l)	0	0,2	0,4	0,6	0,8
Absorbance	0	0,483	1,002	1,558	2,000

VII. Calcium et magnésium

Le calcium et le magnésium présents dans les margines (diluée 100 fois) sont complexés par l'éthylène diamine tétra-acétate disodique (EDTA) en milieu tamponné. Le noir erichrome T (NET), qui donne une couleur rouge foncée ou violette en présence des ions Mg^{++}et Ca^{++}est utilisé comme indicateur coloré pour la détermination de la dureté totale.

Solution d'EDTA 0,02 N (0,01 M). (

Dissoudre 3,721 g de sel disodique de l'acide éthylène-diamine tétracétique (cristallisé 2 H_2O) dans un litre d'eau déionisée. 1 mL d'EDTA 0,02 N correspond à 0,4008 mg de calcium, soit 1 mg de carbonate de calcium.

Solution d'hydroxyde de sodium 2 N

Indicateur : Muroxide

Solution étalon de calcium (0,01 M) :

Carbonate de calcium pur 1,001 g

Acide chlorhydrique 2 N (HCl)

Eau distillée jusqu'à 1000 mL

Mode opératoire

Étalonnage de l'EDTA

Dans une fiole conique de 100 mL, introduire successivement :

Solution étalon de calcium 20 mL

Eau déionisée q.s.p.50 mL

Solution d'hydroxyde de sodium 2 mL

Indicateur 0,2 g

Ajouter la quantité nécessaire de solution d'EDTA jusqu'à virage au bleu. Soit x le nombre de millilitres versés.

Effectuer le dosage une deuxième fois. Prendre la moyenne de ces deux titrages, soit f le rapport entre le titre ainsi mesuré de la solution d'EDTA et le titre théorique (0,01 M).

Dosage proprement dit

Dans une fiole conique de 250 mL, introduire successivement :

Margine (diluée) à analyser 50 mL

Solution d'hydroxyde de sodium 2 mL

Indicateur 0,2 g environ

Ajouter la quantité de solution d'EDTA nécessaire pour avoir un virage au bleu. Soit y le nombre de millilitres versés. Effectuer le dosage une deuxième fois. Prendre la moyenne des deux résultats. Soit V le volume ainsi déterminé.