



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعب  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La  
Recherche Scientifique



N°d'ordre :.....

Série:.....

Université de frères Mentouri – Constantine  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département : Microbiologie

جامعة الإخوة منتوري – قسنطينة  
كلية علم الطبيعة والحياة  
قسم: الميكروبيولوجيا

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Domaine**

**Domaine : sciences de la nature et de la vie**

**Filière : sciences biologiques**

**Spécialité : Microbiologie appliquée**

Intitule:

---

**Etude physico-chimique et biologique des margines en vue de leur  
valorisation**

---

**Présenté et soutenu par : MERABET Anfal**

**Le :20 /06/2024**

**Jury d'évaluation :**

<b>Président du jury :</b>	MEZIANI Meriem	(MCA – UFM Constantine)
<b>Reporteur :</b>	SEKHRI-ARAFI Nedjouda	(MCA – UFM Constantine)
<b>Co-encadrant :</b>	AMOKRANE Sirine	(MRB – C.R.Bt)
<b>Examinatrice :</b>	DERABLI Besma	(MAA – UFM Constantine)

**Année Universitaire 2023-2024**

## REMERCIEMENTS

En tout premier lieu, je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la force, la patience et la capacité. Ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés. Permis de mener à bien ce travail. Au nom d'ALLAH le clément et le miséricordieux louange à ALLAH le tout puissant.

Je remercie mon encadrante **Dr SEKHRI-ARAF A Nedjoua**. Maître de conférences classe A à l'Université des Frères Mentouri pour avoir accepté de m'encadrer, pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses orientations.

Je remercie également **Dr AMOKRAN Sirine** maître de recherche classe B au niveau (CRBt), pour avoir accepté de me Co-encadrer, pour sa disponibilité, ses précieux conseils, le suivi et l'orientation dont nous avons pu bénéficier.

J'aimerais exprimer ma gratitude et remerciements à tous les membres de jury :

**Mme MEZIANI Meriam.**, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury.

**Mme DERABLI Bessma**, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant d'examiner le travail.

Un spécial remerciement à **LAGGOUN ZAKARIA** doctorant au niveau de département de génie de l'environnement, faculté de Génie des procédés pour son soutien précieux et ses efforts pour fournir un travail scientifique précis.

Mes vifs remerciements à **Mr LACHLAH Hatem** et **Mme SISSAOUI Samira** et **ISSAAD Fatima Zohra**. Les chefs des laboratoires d'alimentaire et d'environnement et la caractérisation de biomolécules d'intérêt respectivement au (CRBt), merci de m'avoir accueillie et aidée et pour tous vos conseils. De même, mes remerciements vont vers **Mme CHERB Nora** et **HADDAD Rafika**, des ingénieures au laboratoire d'environnements au (CRBt), **MOUMED Khaled** technicien au niveau du laboratoire d'environnements (CRBt), pour tous ses conseils, le soutien moral, ses encouragements et son enthousiasme.

C'était un véritable plaisir de travailler ensemble. Nous adressons nos remerciements à l'ensemble des ingénieurs et techniciens des laboratoires ainsi que tous les doctorants du (CRBt) pour leur aide.

Mes remerciements les plus chaleureux et respectueux à mes enseignants de l'université Mentouri en particulier **Mr. BOUDERSA Nabil**, **BOULDJADJ Redouane** et **Mme GHOURI Sana** pour le

soutien, précieux conseils scientifiques et suggestions et pour toute l'aide qu'ils m'ont apportés durant toute ma parcours universitaire.

**Merci à vous tous**

## DEDICACES

Louange à ALLAH le tout puissant qui m'a permis de voir ce jour tant attendu.

A mes très chers parents, qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

### **A ma mère**

Comment te dire en quelques lignes tout l'amour, toute la reconnaissance et toute l'estime que j'ai pour toi ? Ta tendresse, ta présence et ton soutien inconditionnel demeurent pour nous tous une source de quiétude et de motivation.

Votre calme, votre patience dont j'ai hérité une modeste partie ont été pour moi le phare pour l'aboutissement de ce travail, merci pour les nuits où tu es resté éveillé avec moi, pour revoir mes leçons pour les contrôles, les sacrifices que tu as consentis pour le bien être de chacun d'entre nous et certainement pour beaucoup dans ce que nous sommes devenus aujourd'hui. Puisse le bon Dieu t'accorder tout le bonheur et la sérénité que l'on te souhaite et que tu mérites.

### **A mon père**

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

### **A mon frère et ma sœur**

Qui Dieu a-t-il dit en eux « **سنشد عضدك بأخيك** », qui m'ont tant donné de courage pour accomplir cette mission. J'espère que vous soyez aujourd'hui fiers de moi.

**À mes chères cousines Soumia, Mounia, Manel**, pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible. Merci d'être toujours là pour moi.

**A mon âme sœur** la plus adorable Nouha merci d'être toujours là pour moi, je t'aime.

**À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPÉ A L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL.**

## TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION..... 1

### CHAPITRE I: LES MARGINES D'OLIVE

1- Définition .....	2
2- Différents systèmes d'extraction d'huile d'olive .....	2
2-1 Unités de trituration avec un système en presses.....	2
2-2 Unités de trituration avec des chaînes continues à trois phases.....	2
2-3 Unités de trituration avec des chaînes continues à deux phases .....	2
3- Composition physicochimique des margines.....	4
3-1 Composition phénoliques des margines.....	5
3-1-1 Acides phénoliques et alcools phényliques .....	6
3-1-2 Dérivés de secoiridoïdes .....	6
3-1-3 Flavonoïdes .....	6
3-1-4 Les composés phénoliques à haut poids moléculaire .....	6
3-2 Activités biologiques des margines et des composés phénoliques des margines.....	7
4-Valorisation des margines .....	9
4-1 Production d'antioxydants.....	9
4-2 Obtention de biogaz .....	9
4-3 Fertilisants .....	9
4-4 Cosmétologie naturelle .....	10

### CHAPITRE II: ONYCHOMYCOSES

1- Définition .....	11
2- Les agents causals .....	11
2-1 Les dermatophytes .....	11
2-2 Les levures.....	13

2-3	Les moisissures .....	14
2-4	Les pseudo-dermatophytes .....	14
3-	Classification clinique des onychomycoses .....	15
3-1	Onychomycose sous-unguéale distolatérale .....	15
3-2	Onychomycose sous unguéale proximale .....	16
3-3	Onychomycose « Endonyx » .....	17
3-4	Onychomycodystrophie totale .....	17
3-5	Onychomycose candidosique .....	18
4-	Traitement.....	20
4-1	Traitement topique (Local).....	20

### **CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES**

1-	Rappels des objectifs.....	22
2-	Prélèvement de l'échantillon.....	22
3-	Caractérisation physico-chimique et phytochimique des margines .....	22
3-1	Caractérisation physico-chimique.....	22
3-1-1	Détermination de la teneur en macronutriments.....	23
3-1-1-1	Détermination de la teneur en matière sèche.....	23
3-1-1-2	Détermination de la teneur en cendres et en matière organique .....	23
3-1-1-3	Détermination de la teneur en matière grasse.....	25
3-1-1-4	Détermination de la teneur en protéines.....	26
3-1-2	Détermination de la teneur en polluants .....	29
3-1-2-1	Détermination de la teneur en orthophosphates .....	29
3-1-2-2	Détermination de la teneur en nitrates .....	30
3-1-2-3	Détermination de la teneur en sulfates.....	31
3-1-2-4	Détermination de la teneur en nitrites .....	31
3-2	Caractérisation phytochimique.....	32
3-2-1	Préparation de l'extrait brut par extraction liquide-liquide (ELL).....	32

3-2-2	Affrontements par l'acétate d'éthyle et n-butanol .....	34
3-2-3	Dosage des polyphénols .....	34
3-2-4	Dosage des flavonoïdes .....	35
4-	Caractérisation biologique des margines .....	35
4-1	Détermination de l'activité antioxydante .....	35
4-1-1	Test DPPH radical libre .....	35
4-1-2	Activité du pouvoir réducteur (FRAP) .....	36
4-2	Détermination de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	36
5-	Détermination de la Cytotoxicité des margines .....	38
6-	Evaluation de l'activité antifongique .....	38
6-1	Préparation des précultures .....	39
6-2	Méthode de diffusion en milieu gélosé (Test de sensibilité) .....	39

#### **Chapitre IV : Résultats et discussion**

1-	Caractéristiques physico-chimiques des margines.....	41
1-1-	Aspect général des margines .....	41
1-2-	Détermination du contenu en macronutriments .....	41
1-2-1-	Teneurs en eau et en matière sèche .....	41
1-2-2-	Teneur en matière grasse .....	41
1-2-3-	Teneur en matière organique et minérale .....	41
1-2-4-	Teneur en protéines .....	42
1-3-	Détermination du contenu en composants polluants .....	42
1-3-1-	Teneur en nitrate et nitrite .....	42
1-3-2-	Teneur en sulfates et orthophosphates.....	43
1-3-3-	Teneur en composés phénoliques .....	43
2-	Effets biologiques <i>in vitro</i> .....	45

2-1-1 Effet antiradicalaire .....	45
2-1-2 Pouvoir réducteur .....	46
2-2 Activité anti-inflammatoire.....	47
2-3 Effet de cytotoxicité .....	48
2-4 Activité antifongique.....	49
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>51</b>
<b>Résumé</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexe</b>	

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b> système continu d'extraction avec centrifugation à trois phases. ....	3
<b>Figure 2:</b> système discontinu d'extraction par presse. ....	3
<b>Figure 3:</b> Système continu d'extraction avec centrifugation à 2 phases. ....	4
<b>Figure 4:</b> Structure histologique de l'appareil unguéal. ....	11
<b>Figure 5:</b> Onychomycose sous-unguéale distolatérale . ....	16
<b>Figure 6:</b> Onychomycose sous-unguéale proximale (a) schéma du mode d'invasion du champignon (b) atteinte du gros orteil. ....	16
<b>Figure 7:</b> End-onyx avec tablette de forme normale. ....	17
<b>Figure 8:</b> Dystrophie totale des ongles des orteils ....	18
<b>Figure 9:</b> Onychomycodystrophie totale secondaire. ....	18
<b>Figure 10:</b> OSP avec onyxis candidosique secondaire ....	19
<b>Figure 11:</b> Onychomycose à <i>Candida albicans</i> ....	19
<b>Figure 12:</b> <b>A</b> : dessiccateur ; <b>B</b> : Creusets contenant la matière sèche ....	24
<b>Figure 13:</b> <b>A</b> : Four à moufle ; <b>B</b> : Creusets contenant les cendres (MM). ....	25
<b>Figure 14:</b> Etapes du dosage de la matière grasses : <b>A</b> : Rotavapor ; <b>B</b> : Ampoule à décanter avec le mélange margine-alcools. ....	26
<b>Figure 15:</b> Unité de minéralisation contenant les fioles Kjeldahl ....	27
<b>Figure 16:</b> Unité de distillation. ....	28
<b>Figure 17:</b> Unité de titration. ....	29
<b>Figure 18:</b> Mélange réactionnel servi à la détermination de la teneur en orthophosphates. ....	30
<b>Figure 19:</b> Mélange réactionnel servi au dosage des nitrates. ....	31
<b>Figure 20 :</b> Milieu réactionnel servi au dosage des nitrates. ....	33
<b>Figure 21:</b> Les margines délipidées obtenues. ....	33
<b>Figure 22:</b> Mélange des margines délipidées avec l'éthanol.....	33
<b>Figure 23 :</b> Microplaque dosage des polyphénols ( <b>A</b> ) extrait acétat-éthyle,( <b>B</b> ) extrait.....	34
<b>Figure 24:</b> Activité antioxydante par DPPH de trois extraits, ( <b>A</b> ) extrait acétate-éthyle( <b>B</b> ) extrait butanolique et ( <b>C</b> ): extrait brut éthanoïque, ( <b>D</b> ) ; Lecteur de microplaque ....	36
<b>Figure 25:</b> Activité antioxydante de trois extraits par Reducing power ( <b>A</b> ) extrait acétate-éthyle, ( <b>B</b> ) extrait butanolique et ( <b>C</b> ) extrait brut éthanolique. ....	37
<b>Figure 26:</b> Larve d'artémia. ....	38
<b>Figure 27:</b> Milieu de repiquage. ....	39
<b>Figure 28:</b> Aspect macroscopique de <i>candida albicans</i> . ....	39
<b>Figure 29:</b> Teneur en phénols totaux dans les trois extraits des margines. ....	44

<b>Figure 30:</b> Teneur en flavonoides totaux dans les trois extraits des margines. ....	45
<b>Figure 31:</b> Effet antiradicalaire des extraits des margines représenté par le test DPPH (IC50) comparativement au control. ....	46
<b>Figure 32:</b> Effet réducteur des extraits des margines représenté par le test FRAP (A0,5) comparativement au control. ....	46
<b>Figure 33:</b> Pourcentage d'inhibition des extraits des margines et du diclofénac. ....	48
<b>Figure 34:</b> Effet inhibiteur de l'extrait d'acétate d'éthyle des margines sur <i>Candida albicans</i> . .....	49

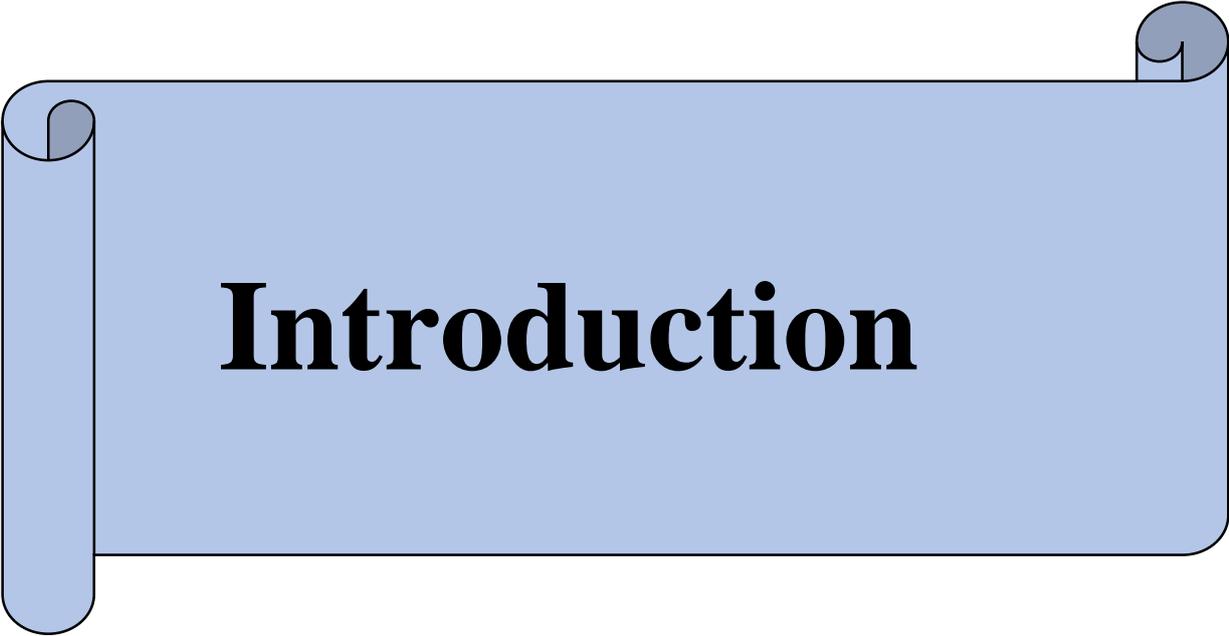
## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1:</b> Composition en matières organiques des margines .....	5
<b>Tableau 2:</b> Principaux composés phénoliques des margines .....	7
<b>Tableau 3:</b> Les principales activités biologiques des composés phénoliques des margines. ....	8
<b>Tableau 4:</b> Classification des dermatophytes. ....	13
<b>Tableau 5:</b> Principales espèces des moisissures (Hyphomycète) causant les dermatophytoses. .....	14
<b>Tableau 6:</b> Différents espèces avec leurs localisations et origine principale. ....	15
<b>Tableau 7 :</b> Les principaux antifongiques locaux indiqués dans les onychomycoses et leurs posologies.....	21
<b>Tableau 8:</b> Dosage des macronutriments dans les margines .....	42
<b>Tableau 9:</b> Dosage de nitrate, nitrite, sulfate et orthophosphates dans les margine. ....	43
<b>Tableau 10 :</b> Les resultats de l'effet de toxicité. ....	49

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>CP</b>	Composé phénolique.
<b>PP</b>	Polyphénols.
<b>MO</b>	Matière organique.
<b>MAT</b>	Matières azotées totales.
<b>TC</b>	Taux de cendres.
<b>MS</b>	Matière sèche.
<b>MG</b>	Matière grasse.
<b>R%</b>	Rendement.
<b>DBO</b>	Demande biologique en oxygène.
<b>DCO</b>	Demande Chimique en oxygène.
<b>DPPH</b>	1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl .
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing Antioxidant
<b>TCA</b>	Acide trichloroacétique
<b>BSA</b>	L'albumine de sérum bovin
<b>BHA</b>	Butylhydroxyanisole
<b>BHT</b>	Butylhydroxytoluène
<b>OPS</b>	Onychomycose superficielle pigmentée
<b>HPLC</b>	Chromatographie en phase liquide à haute performance





# **Introduction**

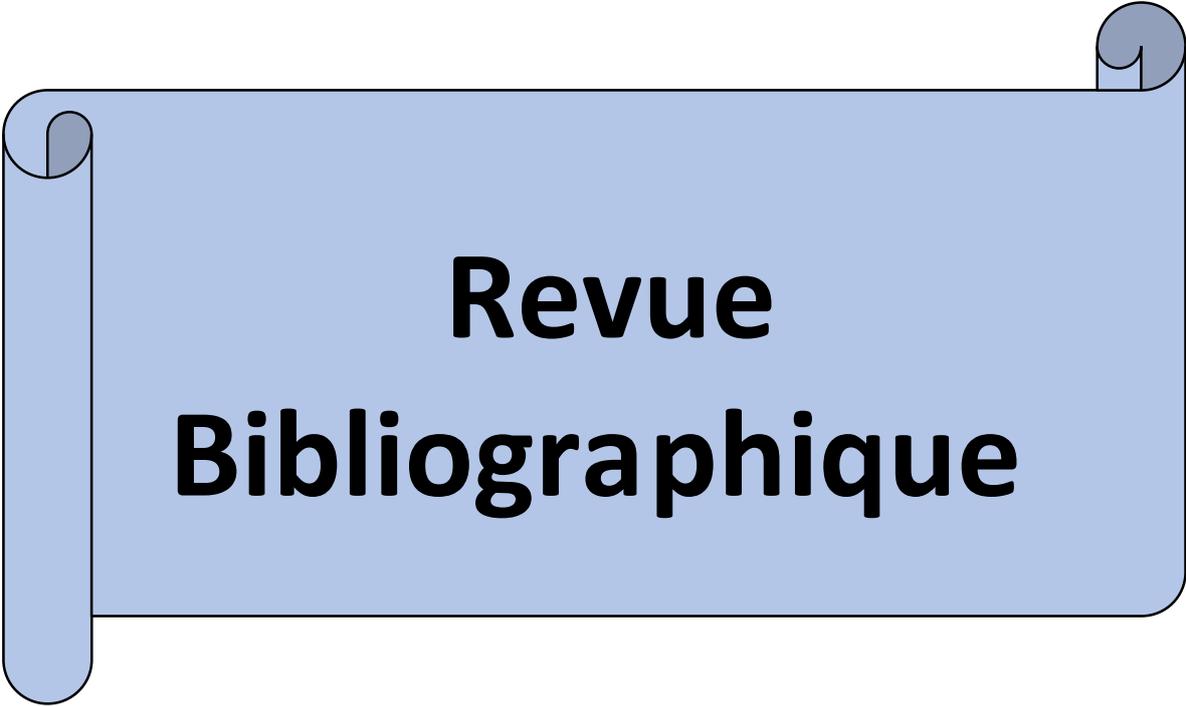
## Introduction

Derrière la production de l'huile d'olive, un secret se cache ; les margines. Ces résidus liquides, générés à raison de 8,4 millions de mètres cubes par an dans le monde, posent un défi environnemental majeur. En Algérie, la production annuelle atteint environ 200 000 tonnes. Le rejet direct des margines dans l'environnement par les huileries pose des risques importants pour les écosystèmes. Leur pH acide (autour de 5), leur forte demande en oxygène (DCO et DBO), leur teneur élevée en composés polyphénoliques et en solides totaux les rendent polluants et dangereux pour la vie aquatique et la qualité des sols (**Nadour, 2015**).

Divers procédés de traitement des margines existent, tels que la filtration, la centrifugation, la coagulation-floculation, l'électrocoagulation et le traitement aérobie ou anaérobie. Cependant, ces méthodes présentent des limites : inefficacité partielle, coûts élevés et négligence de la fraction huileuse restante, riche en composés naturels précieux comme les polyphénols. L'émergence du concept de développement durable nous oblige à repenser la gestion des margines. Il est crucial de trouver des solutions qui concilient la protection de l'environnement, la préservation des ressources en eau, et une production industrielle respectueuse de la santé humaine (**Bedouhene et al., 2017**).

L'objectif de notre étude est d'analyser, d'une manière exhaustive les margines en vue d'explorer un domaine de valorisation pertinent en transformant ce déchet en produits naturels à haute valeur ajoutée, avec des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes appréciables.

Notre mémoire est divisé en trois parties, une revue bibliographique subdivisée en deux chapitres ; le premier récapitulant les margines, leur compositions, leur activités et leur valorisation. Le deuxième chapitre aborde l'onychomycose, leur classification clinique et les différents facteurs favorisent l'onychomycose. La deuxième partie met en exergue le matériel et les protocoles expérimentaux utilisés durant notre étude. La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus et leurs discussions pour arriver enfin à la dernière partie présentant des conclusions générales ainsi que des recommandations futures et des perspectives.



**Revue  
Bibliographique**



## Margines d'olives

### 1- Définition

Les margines, également connues sous le nom d'eau de végétation, proviennent de l'extraction de l'huile d'olive, elles se composent de l'eau présente dans le fruit ainsi que de celle ajoutée lors du broyage et des étapes de trituration. Ces effluents constituent un important facteur de pollution dans l'aire méditerranéenne à cause de leur charge élevée et toxique en matières organiques, ainsi que leur acidité moyennement élevée (Jeguirim *et al.*, 2012).

Par ailleurs ce rejet liquide est considéré comme une source très riche en antioxydants naturels tels que : les polyphénols. Ces derniers ont montré des propriétés antimicrobiennes, hypolipidémiques, hypocholestérolémiantes et anticancérigènes (Gharby, 2013 ; ouabou *et al.*, 2014).

### 2- Différents systèmes d'extraction d'huile d'olive

- Le système discontinu par presse ou super presse.
- Le système continu avec centrifugation à deux phases.
- Le système continu avec centrifugation à trois phases.

#### 2-1 Unités de trituration avec un système en presses

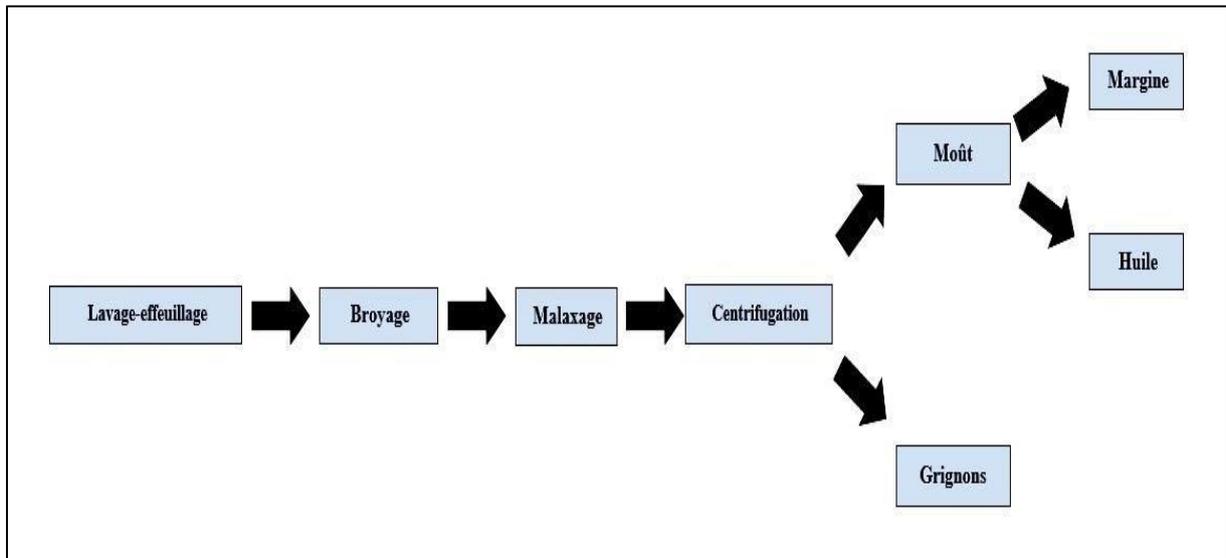
Elles sont classées selon la pression exercée : unités traditionnelles maâsras dont la pression est de l'ordre de 100kg/cm, unités semi-modernes dont la pression est aux environs de 200kg/cm et les unités modernes équipées en super-presses pouvant développer une pression de 400kg/cm ([https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_141.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf), s. d.).

#### 2-2 Unités de trituration avec des chaînes continues à deux phases

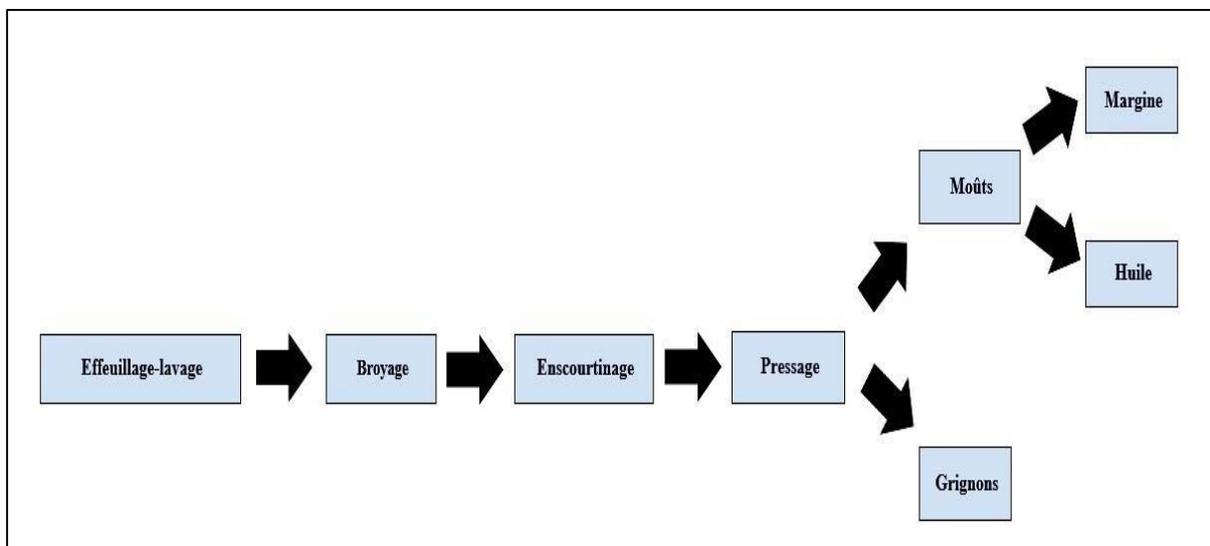
Avec une centrifugation permettant de séparer l'huile et le grignons humidifiés par les eaux de végétation provenant de l'olive (les deux phases sont les huiles et les grignons) ([https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_141.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf), s. d.).

#### 2-3 Unités de trituration avec des chaînes continues à trois phases

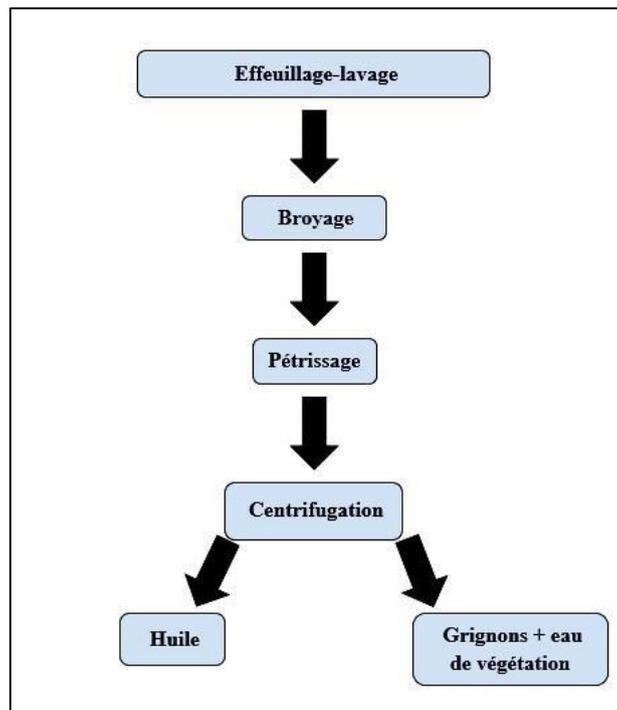
Avec deux centrifugation, la première pour séparer les grignons et les huiles plus les margines et la deuxième pour séparer les huiles et les margines (les trois phases sont les grignons, les margines et les huiles) ([https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_141.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf), s. d.).



**Figure 1** : système continu d'extraction avec centrifugation à trois phases ([https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_141.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf), s. d.).



**Figure 2**: système discontinu d'extraction par presse ([https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_141.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf), s. d.).



**Figure 3:** Système continu d'extraction avec centrifugation à deux phases ([https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_141.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf), s. d.).

### 3- Composition physicochimique des margines

Les margines sont la conséquence de la détérioration de tissus des olives lors de la trituration et de l'extraction de l'huile. Elles ont une couleur rose brune ou noire, une forte odeur d'olive, un aspect trouble, une conductivité élevée et un pH compris entre 3 et 6. Plusieurs recherches ont mis en évidence la composition des margines, qui comprend environ 83 à 94 % d'eau, 4 à 16 % de matières organiques et 0,4 à 2,5 % de substances minérales (Ranalli, 1999).

Elles diffèrent tant sur le plan qualitatif que quantitatif en fonction de la variété et du stade de maturation des olives, des conditions pédoclimatiques, de la durée et des conditions de stockage avant la trituration et du processus d'extraction de l'huile d'olive. Les marges se distinguent par une forte teneur en matières organiques, principalement composée de sucres (raffinose, mannose, saccharose, glucose, arabinose et xylose), de tanins, de polyalcools, de polyphénols, d'acides organiques (acide fumarique, glycérique, lactique et malonique), de lipides et d'acides aminés, principalement acides : aspartique et malonique (Aggoun *et al.*, 2016).

**Tableau 1:** Composition en matières organiques des margines (Zbakh et El Abbassi, 2012).

Paramètres	Gamme des valeurs
pH	4,7 - 5,7
Conductivité (mS/cm)	5 - 41
DCO (g/l)	16,5 - 190
DBO <sub>5</sub> (g/l)	41,3 - 46
Résidus sec (g/l)	11,5 - 102,5
Matières organiques (g/l)	16,7 - 81,6
Lipides (g/l)	1,64 - 9,8
Polyphénols (g/l)	<b>0,002 - 11,5</b>
Sucres (g/l)	1,3 - 8,79
Acides organiques (g/l)	0,78 - 1
Azote total (g/l)	0,06 - 0,95

### 3-1 Composition phénolique des margines

Les polyphénols (PP) sont des métabolites secondaires des végétaux, souvent désignés sous le nom de composés phénoliques (CP). Ces groupes représentent l'un des plus nombreux et les plus répandus des substances dans le monde des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (Hennebelle *et al.*, 2004).

La majorité des phénols présents dans l'olive ont une affinité plus forte pour l'eau que pour l'huile, avec un coefficient de partition (eau/huile) compris entre  $(1,5 - 6) \cdot 10^4$ . Malgré la richesse de l'olive en composés phénoliques, seulement 1 à 2% d'entre eux se retrouvent dans l'huile d'olive.

En revanche, la majeure partie des phénols se concentre dans les margines (eaux de végétation) et les grignons (résidus solides de la pressée), représentant respectivement environ 53% et 45% du total. Parmi ces composés, l'hydroxytyrosol est le monomère phénolique le plus abondant (De Marco *et al.*, 2007).

La composition phénolique des margines est complexe et variable, dépendant de plusieurs facteurs tels que le procédé d'extraction des huiles, la variété d'olives utilisée, l'âge des margines, les techniques d'analyse employées et d'autres paramètres. Plus de 20 composés

phénoliques ont été identifiés par HPLC dans les margines ( Fki *et al.*, 2005 ; De Marco *et al.*, 2007). Ces composés phénoliques incluent:

### **3-1-1 Acides phénoliques et alcools phényliques**

Acide férulique, acide vanillique, acide gallique, acide caféique, acide p-coumarique, acide férulique le tyrosol, l'oleuropéine, et hydroxytyrosol. Ces derniers représentent les composés phénoliques majeurs des margines. L'hydroxytyrosol représente 10 à 20% de la totalité des phénols dans les margines est produit par la dégradation de l'oleuropéine, cette dégradation se produit au cours de la maturation du fruit, du stockage et de l'extraction de l'huile, et est catalysée par des enzymes appelées estérases présentes dans les olives elles-mêmes.

### **3-1-2 Dérivés de secoiridoïdes**

Forme dialdéhydrique de décarboxyméthyl oleuropéine aglycone, ligstroside, verbascoside

### **3-1-3 Flavonoïdes**

luteoline, luteoline -7-glucoside

### **3-1-4 Les composés phénoliques à haut poids moléculaire**

On retrouve principalement des polyphénols dans les margines, tels que les anthocyanes et les tanins. Les structures complexes de ces derniers sont généralement classées en tanins hydrolysables et en tanins condensés et en ce qui concerne la lignine, les margines sont noires en raison de la polymérisation de celle-ci avec des composés phénoliques (Zbakh et El Abbassi, 2012).

Selon Hamdi (1991), la lignine est un hétéropolymère qui est produit par la polymérisation oxydative de trois monomères issus de l'alcool hydroxycinnamique : le 4hydroxycinnamate, le 4-hydroxy-3 méthoxycinnamate (coniférylate) et le 3,5-diméthoxy-4hydroxycinnamate (sinaphyle).

**Tableau 2:** Principaux composés phénoliques des margines (Leulmi, 2011).

<b>Les différents types des polyphénols</b>			
<b>Monomères aromatiques</b>		<b>Composés phénoliques à haut poids moléculaires principalement les Tanins</b>	
<b>Acides phénoliques</b>	<b>Alcools phénoliques</b>	<b>Tanins hydrolysables</b>	<b>Tanins condensés (flavotanins)</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acide caféique</li> <li>- Acide pcoumarique</li> <li>- Acide protocatéchi que</li> <li>- Acide vanillique</li> <li>- Acide 4-hydroxyphénylacéti que - Acide syringique</li> <li>- Acide phydroxybenzoique</li> <li>- Acide vétratrique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 4-Hydroxyphényléthanol (tyrosol).</li> <li>- 3,4dihydroxyphényléthanol (hydroxytyrosol).</li> <li>- Syringaldéhyde</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Esters d'acides phénoliques</li> <li>- Esters d'acides phénoliques et sucres</li> <li>- Glucosides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Le catécholmélanini que</li> </ul>

### 3-2 Activités biologiques des margines et des composés phénoliques des margines

Le tableau 3 résume les principales activités biologiques des quatre composés phénoliques majeurs des margines.

**Tableau 3:** Les principales activités biologiques des composés phénoliques des margines (Senani-Oularbi, 2018).

Composés phénolique	Activités	Auteurs
Hydroxytyrosol	Antioxydants	Manna <i>et al.</i> (1999) Visioliet <i>al.</i> (2001) Casalino <i>et al.</i> (2002) Hamdenet <i>al.</i> (2009) Zrelli <i>et al.</i> (2011) Gerasopoulos <i>et al.</i> (2015) Bedouhene <i>et al.</i> .(2017)
	Cardioprotectif et antiAthérogénique	Visioli <i>et al.</i> (1997) Visioli <i>et al.</i> (2002) Leger <i>et al.</i> (2000)
	Chemopréventif (cancer)	Deiana <i>et al.</i> (1999) Della- Ragione <i>et al.</i> .(2000) Fabiani <i>et al.</i> (2002) Bassani <i>et al.</i> .(2016)
	Antimicrobien et Antifongique	Obied <i>et al.</i> (2007) Yangui <i>et al.</i> (2010) Esmail <i>et al.</i> (2015) El-Abbassi <i>et al.</i> (2017)
	Anti-inflammatoire	Richardet <i>al.</i> (2011)
Oleuropéine	antioxydant	Amro <i>et al.</i> (2002) Bedouhene <i>et al.</i> (2017)
	Cardioprotectif et antiAthérogénique	Visioli <i>et al.</i> (1998)
	hypoglycémiant	Trovatoet <i>al.</i> (1993)
	Anti-hypertensif	Durateet <i>al.</i> (1993)
	Anti-microbien et antivirale	Azizet <i>al.</i> (1998)
	Anti-inflammatoire	Lee- Huang <i>et al.</i> (2003) Bedouhene <i>et al.</i> (2017)
Régulation des enzymes	Polzonetti <i>et al.</i> (2004)	
Oleuropéine aglycone	antioxydant Antimicrobien	Amiot <i>et al.</i> (1989) Brianteet <i>al.</i> (2001)
Tyrosol	Antioxydant Anti-inflammatoire Cardioprotectif et Anti-athérogénique	Briante <i>et al.</i> (2001)

#### 4- Valorisation des margines

Heureusement, plusieurs procédés de valorisation des margines ont été développés et testés avec succès, offrent des solutions prometteuses pour transformer ces déchets en produits utiles.

##### 4-1 Production d'antioxydants

Il s'agit, en particulier de la récupération des composants aromatiques, phénoliques et des solutions glucides. Les extraits phénoliques obtenus ont été comparés aux antioxydants de synthèse les plus connus le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) dans des essais de résistance à l'oxydation. Il a été constaté que l'addition de l'extrait des margines protège de l'oxydation l'huile de manière plus efficace que l'addition du BHA. La fraction des margines dépourvue de ces composants phénoliques et aromatique peut être utilisée pour la de biomasses (Nefzaoui, 1991).

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

##### 4-2 Obtention de biogaz

L'application du processus de la digestion anaérobie des margines permet de transformer environ 80% des substances organiques en biogaz (65 à 70% de méthane). Exemple des bactéries inclue dans cette procédure *Clostridium*, *Bacteroides* et *Ruminococcus* (Khoufi *et al.*, 2006).

##### 4-3 Fertilisants

De par leurs teneurs élevées en minéraux les margines peuvent être utilisées comme fertilisant. Elles apportent, selon (Fiestas Ros de ursinos, 1982) de 3,5 à 11 kg de K<sub>2</sub>O, 0.6 à 2 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et de 0,15 kg à 0,5 kg de MgO par mètre cube. L'utilisation des margines n'est pas sans risque, elle peut provoquer une salinité, acidité élevée et effets phytotoxiques (Nefzaoui, 1991).

#### 4-4 Cosmétologie naturelle

Un marché prometteur mais encore restreint pour l'oléiculture. Les produits cosmétiques sont actuellement orientés vers l'emploi de molécules végétales, en remplacement des dérivés d'hydrocarbures (suspectés d'effets cancérigènes et tératogènes) et des graisses animales (la crise de la vache folle a dévalorisé les produits animaux). Les consommateurs ont des craintes et des exigences qui sont un moteur puissant pour l'industrie cosmétique, dont le marché est immense (que ce soit dans les pays développés qui sont constamment à la recherche de produits pour la beauté et contre le vieillissement, ou dans les pays émergents où la demande augmente). L'affrontement intense entre les grandes entreprises de cosmétique (Dior, Guerlain, l'Oréal, Shiseido, etc...) les pousse à explorer de nouvelles approches. Elles sont donc encore plus investies dans les produits cosmétiques à base d'ingrédients naturels, combinés à des technologies novatrices telles que les nanotechnologies et les systèmes de refroidissement ultra-rapides (Gilbert et Yvette, 2007).

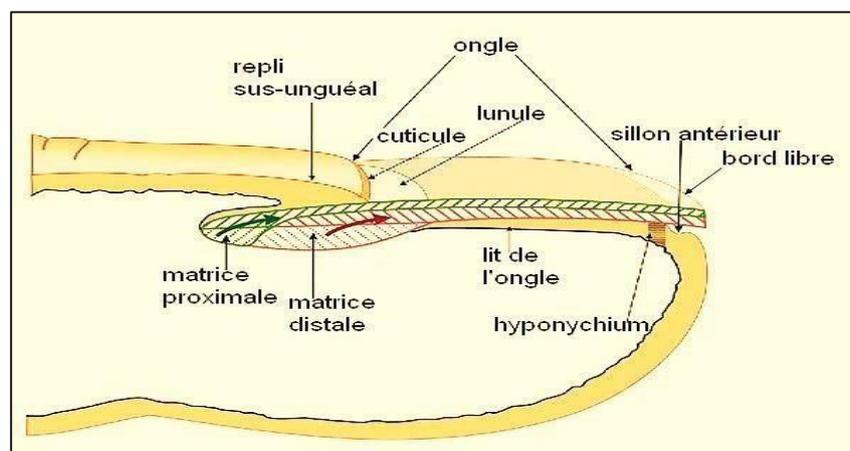
Des études ont révélé que l'extrait de feuille d'olivier est riche en flavonoïdes, des antioxydants réputés pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres, responsables du vieillissement cellulaire et de diverses maladies. Parmi ces flavonoïdes, l'oleuropéine se distingue par son pouvoir antioxydant exceptionnel, surpassant même celui de la vitamine E. De plus, l'extrait de feuille d'olivier présente une concentration en antioxydants remarquablement élevée, avec 6 à 9% de son poids sec contre seulement 4% pour l'olive. Malgré ses propriétés remarquables, l'extrait de feuille d'olivier reste méconnu par rapport à l'huile d'olive, qui a fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques dans l'industrie cosmétique. Cela ouvre un champ de possibilités immense pour l'exploration des bienfaits de l'extrait de feuille d'olivier dans le domaine de la beauté et du bien-être (Gilbert et Yvette, 2007).

## ONYCHOMYCOSES

### 1- Définition

On peut définir une onychomycose comme une infection fongique de l'appareil unguéal causée par des dermatophytes, des pseudodermatophytes, des levures et des moisissures. C'est une mycose très répandue, touchant environ 7 à 10 % de la population et représentant environ 50 % des maladies des ongles. L'onychomycose affecte davantage les ongles des pieds que ceux des mains, et les ongles les plus fréquemment affectés sont ceux du petit et du gros orteil.

L'onychomycose représente la pathologie onychopathique la plus répandue au sein de la population générale et constitue l'un des motifs de consultation les plus fréquents en dermatologie. Au-delà de son caractère inesthétique, l'onychomycose peut engendrer un handicap professionnel et social non négligeable, outre la crainte d'une extension aux ongles sains et d'une contamination des personnes environnantes. Dans les cas les plus sévères, chez les patients immunodéprimés, l'onychomycose peut constituer une porte d'entrée pour des infections graves (Hajoui *et al.*,2012).



**Figure 4:** Structure histologique de l'appareil unguéal (Hajoui *et al.*,2012).

### 2- Les agents causals

#### 2-1 Les dermatophytes

Les *dermatophytes* sont des champignons microscopiques qui se développent en filaments cloisonnés et produisent des spores (macroconidies, microconidies et chlamydoconidies). Ces champignons sont classés parmi les *Ascomycètes* dans l'ordre des *onygenales*, ils sont bien adaptés à la vie parasitaire, se nourrissant de la kératine présente dans la peau et les cheveux des humains et des animaux (Bertholom, 2011).

Les dermatophytes sont responsables d'infections cutanées chez l'homme appelées dermatophytoses. Il s'agit des mycoses superficielles les plus fréquentes. Elles affectent principalement l'épiderme et les phanères (cheveux, les poils et les ongles), dans de très rares cas, elles peuvent atteindre les muqueuses, les plis cutanés, le tissu sous-cutané (granulomes, mycétomes) ou même les organes internes (maladie dermatophytique disséminée) (Bertholom, 2011).

### **2-1-1 Classification**

Les dermatophytes, champignons responsables des teignes, peuvent être classés selon plusieurs critères :

#### **✓ Le genre**

**Trichophyton:** le genre le plus commun *Trichophyton rubrum* (pied d'athlète), *T mentagrophytes* (teigne du cuir chevelu). **Microsporum :** Moins fréquent, mais responsable d'infections plus sévères. **Epidermophyton :** Rare, et causant généralement des infections des pieds et de l'aîne. Au niveau des ongles des pieds les onychomycoses les espèces plus reconnus *T. rubrum var. interdigitale*. Les espèces *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum* peuvent toucher beaucoup plus les ongles des mains par contact direct avec un animal contaminé.

#### **✓ Habitat**

**Anthropophile** se développent préférentiellement sur l'homme, comme *T.rubrum*. **Géophile** (habitent le sol). **Zoophile** (Parasitent les animaux).

#### **✓ Localisation des infections**

Cheveux, Ongles (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes*), Peau.

**Tableau 4:** Classification des dermatophytes (Selon Koenig, 1995).

<b>Règne</b>	Fungi
<b>Division</b>	Eumycota
<b>Phylum</b>	Ascomycotina
<b>Classe</b>	Ascomycètes
<b>Ordre</b>	Onygenales
<b>Famille</b>	Arthrodermataceae
<b>Genre</b>	<i>Epidermophyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Trichophyton</i>

### 2-1-2 Les espèces rencontrées dans les onychomycoses

Au niveau des ongles des pieds les *onychomycoses* les espèces plus reconnus *T. rubrum var. interdigitale*. Les espèces *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum* peuvent toucher beaucoup plus les ongles des mains par contact direct avec un animal contaminé.

### 2-2 Les levures

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires. Elles se reproduisent par bourgeonnement (blastospores), ubiquitaires de l'environnement et des produits alimentaires. Le *Candida* est cosmopolite commensale de l'homme et des animaux. On distingue plus de 200 espèces est considéré comme 4ème agent de septicémies. Elles sont très fréquentes qu'on peut les observer au niveau unguéal (principalement sur les mains, et plus rarement sur les pieds) (Baran, 2014).

#### 2-2-1 Les espèces rencontrées dans les onychomycoses

Les mycoses des ongles dues aux *Candida spp* sont beaucoup plus fréquentes sur les mains que sur les pieds, et touchent davantage les femmes que les hommes. *Candida albicans* est considéré comme le principal champignon responsable de ces mycoses).

*C. parapsilosis* est quant à lui, le deuxième agent pathogène le plus fréquent, avec une prévalence croissante. D'autres espèces de *Candida*, telles que *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* et *C. famata*, peuvent également coloniser le lit de l'ongle. Certains *Candida*, comme *C. haemulonii* et *C. ciferrii*, affectent particulièrement les ongles des personnes âgées souffrant de troubles trophiques des membres inférieurs. D'autres levures, appartenant aux genres

*Trichosporon* et *Cryptococcus*, sont également parfois retrouvées, principalement sur les ongles des mains (Mugge *et al.*, 2006 ; Chabasseet *al.*, 2010).

### 2-3 Les moisissures

Les moisissures, champignons filamenteux non dermatophytiques communément appelés "moisissures", sont rarement responsables des mycoses des ongles. Ces champignons saprophytes, présents dans notre environnement, peuvent devenir opportunistes et infecter un organisme fragilisé si certains facteurs de virulence sont réunis (Elewski et Hazen 1989).

**Tableau 5:** Principales espèces des moisissures (Hyphomycète) causant les dermatophytoses (Elewski et Hazen 1989).

Famille	Genre et espèce
Hyphomycète	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
	<i>Scytalidium dimidiatum</i>
	<i>Scytalidium hyalinum</i>
	<i>Onychocola canadensis</i>
	<i>Aspergillus sydowii</i>
	<i>Aspergillus terreus</i>
	<i>Aspergillus niger</i>
	<i>Aspergillus versicolor</i>
	<i>Fusarium oxysporum</i>
	<i>Fusarium solani</i>
	<i>Acremonium sp</i>
	<i>Paecilomyces sp</i>

### 2-4 Les pseudo-dermatophytes

Ce sont des espèces provenant de régions tropicales ou subtropicales telles que *Neoscytalidium dimidiatum* (anciennement appelé *Scytalidium dimidiatum*). Ce champignon peut également causer des infections plus profondes, comme des abcès sous-cutanés, des sinusites et même des mycoses et des infections disséminées chez les patients immunodéprimés, ou de pays tempérés ou froids tels que *Onychocola canadensis* qui présente des onyxis des pieds chez le sujet âgé (Khan *et al.*, 2009).

**Tableau 6:** Différents espèces avec leurs localisations et origine principale (Baran, 2014).

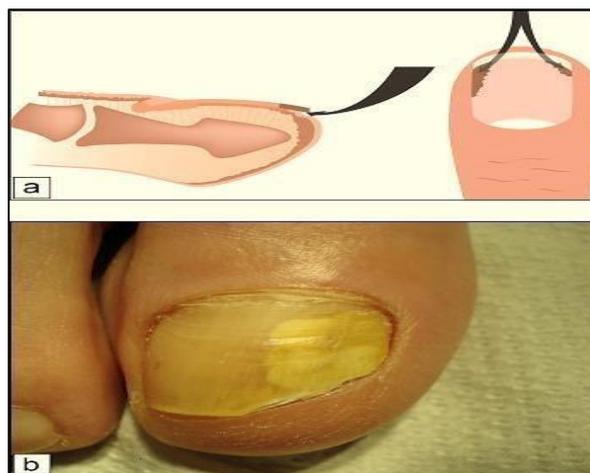
Espèce ou genre		Localisation		Origine
		mains	pieds	
Dermatophytes Habituels	<i>Trichophyton rubrum</i>	++	+++	Humaine*
Rares	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>var. interdigitale</i>	+	+++	Humaine*
	<i>Epidermophyton floccosum</i>	+	+/-	Humaine*
	<i>Trichophyton soudanense</i>	+++	+/-	Humaine*
	<i>Trichophyton violaceum</i>	+++	+/-	Humaine*
	<i>Trichophyton tonsurans</i>	+++	+/-	Humaine*
	<i>Microsporium langeronii</i>	+++	+/-	Humaine*
	<i>Microsporium canis</i>	+++	+/-	Chat, chien
Moisissures Habituelles	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	++	++++	Sol
Rares	<i>Scytalidium</i> spp	++	+++	Sol, plantes tropicales
	<i>Fusarium</i> spp	++	++	Sol
	<i>Aspergillus</i> spp	++	++	Sol, plantes
	<i>Acremonium</i> spp	++	++	Sol
	<i>Onychocola canadensis</i>	+	+++	Sol
	<i>Paecilomyces</i> spp	+	+	Sol
	Levures Habituelles	<i>Candida albicans</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida guilliermondii</i> <i>Cryptococcus</i> spp <i>Trichosporon</i> spp	+++	+
Rares	Autres <i>Candida</i> spp	+++	+	Humaine
		+/-	+	Humaine
			+/-	Alimentation, environnement
		+	+/-	Homme, environnement
		+	+/-	Alimentation, environnement

Fréquents (+++); peu fréquents (++) ; rares (+) ; exceptionnels (+/-) ; \* auto-inoculation.

### 3-Classification clinique des onychomycoses

#### 3-1 Onychomycose sous-unguée distolatérale

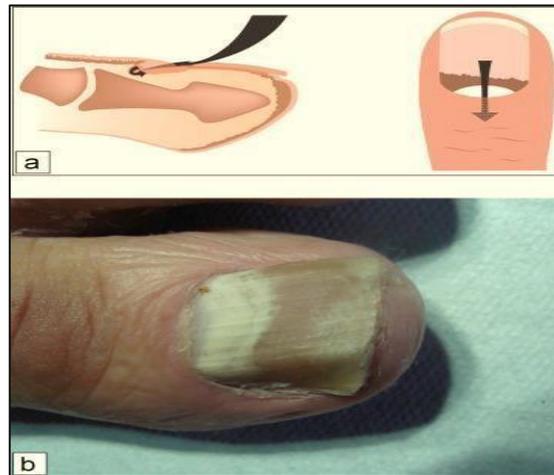
L'onychomycose subungéale distale est la forme la plus commune de mycose des ongles, généralement causée par des *dermatophytes*. Le champignon s'infiltré par l'hyponychium, souvent au niveau du sillon latéral, puis envahit le lit de l'ongle, provoquant une hyperkératose sous-unguée et un décollement de la tablette unguéale. Cette dernière peut ensuite être infectée. L'atteinte progresse graduellement vers la zone matricielle proximale. La mycose peut toucher partiellement ou totalement l'appareil unguéal, aussi bien au niveau des orteils que des doigts (**Baran, 2014**).



**Figure 5:** Onychomycose sous-unguée distolatérale (**Lecerf et al., 2014**).

#### 3-2 Onychomycose sous unguée proximale

Parmi les différentes mycoses des ongles, une forme rare se distingue par son agent pathogène, *Trichophyton rubrum*, et touche plus particulièrement les personnes dont le système immunitaire est affaibli, comme celles atteintes du VIH/SIDA. Ce champignon s'introduit par la base de l'ongle et remonte progressivement vers son extrémité. Au départ, l'infection se traduit par des taches blanches à la base de l'ongle (*leuconychie proximale*) avant de s'étendre vers la partie distale de la lame unguéale (**Lecerf et al., 2014**).



**Figure 6:** Onychomycose sous-unguéale proximale (a) schéma du mode d'invasion du champignon (b) atteinte du gros orteil (Lecerf *et al.*, 2014).

### 3-3 Onychomycose « Endonyx »

Dans cette forme rare, les champignons responsables des dermatophytoses, appelés *dermatophytes*, s'infiltrent dans la partie plate de l'ongle (la tablette unguéale) en passant par la pulpe du doigt. Ils ne s'étendent cependant pas au lit de l'ongle. Cela se traduit par une coloration blanche et opaque de l'ongle sur toute sa surface, sans décollement (*onycholyse*) ni épaissement excessif de la peau sous l'ongle (hyperkératose sous-unguéale).

Chez les personnes à peau noire, une autre forme appelée *mélanonychie* fongique peut survenir. Cette pigmentation anormale des ongles est causée par des champignons responsables de dermatophytoses touchant habituellement les humains (*teignes anthropophiles*) et les plis cutanés (*intertrigos*). Les agents pathogènes les plus fréquents dans ce cas sont *Trichophyton soudanense* et *Trichophyton violaceum* (Baran et Hay, 2014).



**Figure 7:** End-onyx avec tablette de forme normale (Baran et Hay, 2014).

### 3-4 Onychomycodystrophie totale

L'onychomycodystrophie totale, également appelée onychomycodystrophie secondaire, représente le stade ultime des autres formes d'onychomycose. Elle se caractérise par l'invasion progressive et la destruction complète de la tablette unguéale par le champignon. Dans certains cas, notamment en présence d'infections par des moisissures, une paronychie (inflammation du pourtour de l'ongle) peut également être observée.



**Figure 8:** Dystrophie totale des ongles des orteils (Lecerf et al., 2014).



**Figure 9:** Onychomycodystrophie totale secondaire (Baran et Hay, 2014).

### 3-5 Onychomycose candidosique

L'infection des ongles par *Candida*, appelée onychomycose à *Candida*, commence souvent par une inflammation du pourtour de l'ongle (paronychie). Cette inflammation peut durer plus ou moins longtemps et abîmer la surface de l'ongle (tablette unguéale). L'ongle devient alors strié et bosselé, avec une couleur marron-verdâtre sur les côtés et à la base. Plus rarement, l'infection à *Candida* se traduit par un décollement du bord de l'ongle (onycholyse distolatérale), qui peut être douloureux au début. Cette mycose touche principalement les ongles des doigts. Elle peut être causée directement par *Candida albicans* (infection primaire) ou par d'autres espèces de *Candida* (infection secondaire), qui surviennent sur un ongle déjà abîmé par une autre maladie (Scrivener, 2011).



Figure 10: OSP avec onyxis candidosique secondaire (Baran, 2014).

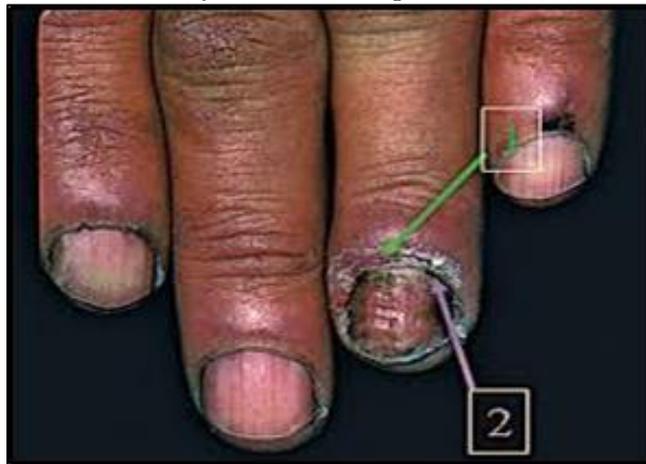


Figure 11: Onychomycose à *Candida albicans* (Baran, 2014).

#### 4-Traitement :

✓ **But de traitement :**

Les objectifs du traitement de l'onychomycose sont à la fois d'éliminer l'organisme fongique infectant et de rétablir l'ongle à son état normal au fur et à mesure de sa croissance, il est nécessaire car cette infection peut affecter la qualité de vie, reste comme une source de l'anxiété, le malaise, la stigmatisation et la détresse psychologique en raison de son aspect inesthétique et peut entraîner une infection secondaire en absence de traitement (Lecerf et al., 2014).

✓ **Principe de traitement :**

Le traitement doit être individualisé en fonction du degré d'implication des ongles du patient, agent causal, comorbidités, concomitantes les médicaments, leurs coûts et leurs préférences (Lecerf et al., 2014).

-Ne jamais prescrire de traitements locaux ou systémiques sans confirmation du diagnostic.  
-Réduire la masse fongique locale (avulsion mécanique, chimique, chirurgicale).

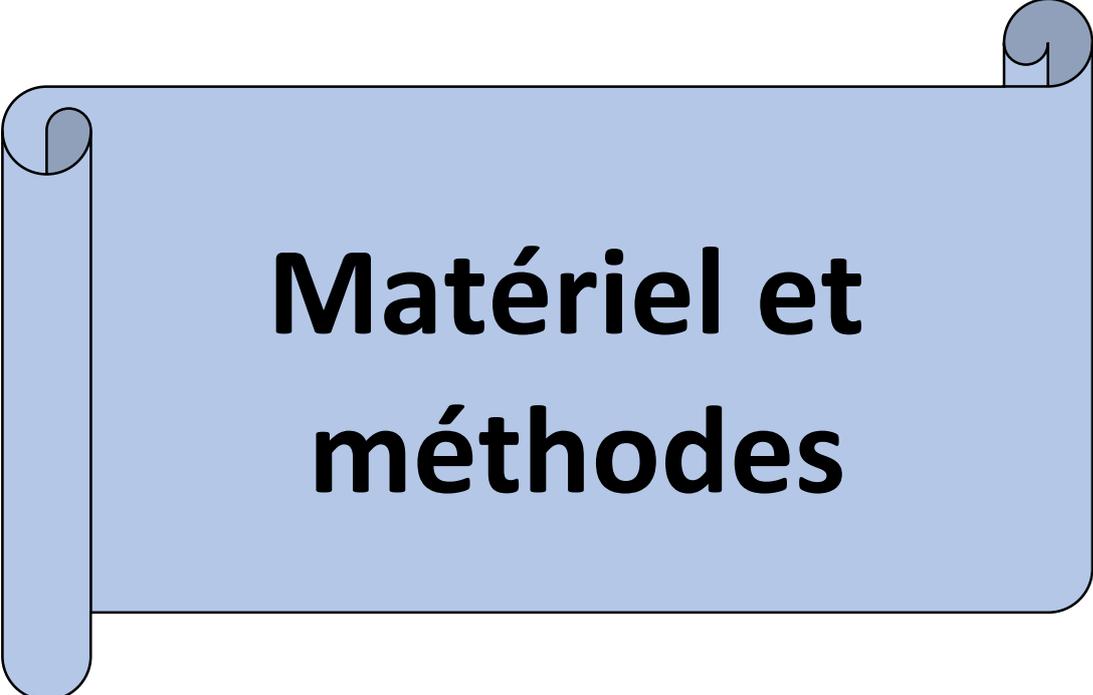
-La guérison se définit par le retour à un ongle d'aspect normal et une culture négative (Shari *et al.*, 2018)

#### 4-1 Traitement topique (Local) :

Un traitement strictement local est indiqué dans le cas où l'atteinte se situe au niveau distolatéral, si elle est limitée à un seul doigt et il y a une contre-indication à un traitement par voie orale. Il consiste à l'application d'un antifongique topique (crème, lotion ou solution filmogène) plusieurs fois par jour ou semaine jusqu'à guérison. Le tableau 7 regroupe les antifongiques locaux ayant une indication (l'AMM) pour les onyxis et périonyxis Onychomycoses (Ann Dermatol Venereol, 2007) (Tableau 7).

**Tableau 7:** Les principaux antifongiques locaux indiqués dans les onychomycoses et leurs posologies (Ann Dermatol Venereol, 2007).

<i>Famille d'antifongiques</i>	<i>Formes galéniques</i>	<i>Posologie</i>	<i>Indication en fonction des pathogènes</i>
<b>Imidazolés</b> *Bifonazole (Amycor) *Bifonazole+urée (Amycor Onychoset)	Crème, Poudre, Solution Pommade.	1x /jour 1x/ jour pendant 1 à 3 semaines	<i>Candida et dermatophytes</i> <i>Candida, dermatophytes et moisissures</i>
*Econazole (Pévaryl, Dermazol)	Crème, Emulsion, Solution, Poudre.	2 x/ jour pendant 1 à 2 moi 1à2 x/ jour pendant 2mois	<i>Candida</i> <i>Candida et dermatophytes</i> <i>Candida</i>
*Fenticonazol (Lomexine)	Crème.	2 x/ jour	<i>Candida</i>
*Isoconazole (Fazol)	Crème, Emulsion, Poudre.	2 x /jour pendant 1 à 2 mois	<i>Candida</i>
*Ketoconazole (Ketoderm)	Crème.	1x / jour	<i>Candida</i>
*Miconazol dactarin	Poudre		
*Oxiconazol Fonx	Crème Solution Poudre		
<b>Allylamines</b> Terbinafine (Lamisil)	Crème, solution	1x/ jour 2 x / jour	<i>Candida</i> <i>Dermatophytes</i>
<b>Morpholine</b> Amorolfine (Loceryl)	Solution filmogène	1 à 2 x par semaine pendant 6 moi	<i>Candida, dermatophytes, moisissures</i> <i>Scopulariopsis sp,</i> <i>Alternaria sp.,</i> <i>Cladosporiumsp.,</i> <i>Scytalidum sp.</i>
<b>Hydroxypyridone</b> Ciclopiroxolamine (Mycoster) Ciclopirox (Mycoster) sol filmogène, Onytec)	Crème, solution, poudre. Solution filmogène	2x/ jour 1x/ jour pendant 3à 6 mois	<i>Dermatophytes</i> <i>Candida, dermatophytes, moisissures</i> <i>Scopulariopsis sp.,</i> <i>S.brevicaulis,</i> <i>Aspergillus sp ., F.solani</i>
<b>Polyène</b> Amphotéricine B Fungizone	Solution	1x / jour	Moisissures ( <i>Scytalidum sp</i> )



**Matériel et  
méthodes**



**1- Rappels des objectifs**

Notre étude a été réalisée au niveau des laboratoires du centre de recherche en biotechnologie (CRBt), elle avait comme objectif d'étudier les margines afin de déterminer la possibilité de les valoriser en tant qu'un composant cosmétique à haute valeur ajoutée. A priori, une phase de caractérisation détaillée est entreprise via la réalisation d'une multitude d'analyses chimiques diverses (physico-chimique et phytochimique) et biologique. L'utilisation des margines en tant qu'un composant dans une formulation cosmétique fera l'objet d'une étude ultérieure.

**2- Prélèvement de l'échantillon**

Le prélèvement des margines a été effectué en février 2024 à partir d'une unité moderne de trituration d'olives par centrifugation à trois phases. L'unité est située à **Grarem gouga**, commune située à 13km au nord-est de la wilaya de Mila. Les échantillons sont fraîchement prélevés à partir du bassin de stockage des margines, ils sont, par la suite transportés dans des bouteilles de cinq litres ,puis conservés à 4°C pour les analyses ultérieures.

**3- Caractérisation physico-chimique et phytochimique des margines****3 -1 Caractérisation physico-chimique**

En fait, la caractérisation d'un déchet en vue de sa valorisation requière une analyse exhaustive menée en deux étapes complémentaires, la première détermine le contenu en macronutriments (matière organique, matière grasse, protéine et minéraux) offrant conventionnellement une valeur ajoutée au déchet. La deuxième, néanmoins, définit la présence qualitative et quantitative des composants nocifs pour l'être vivant, répertoriés comme des indicateurs de pollution. Dans notre étude, Le dosage de ces deux types des composants est fait comme suit :

**3-1-1 Détermination de la teneur en macronutriments****3-1-1-1 Détermination de la teneur en matière sèche****✓ Principe**

La détermination de la matière sèche ou la teneur en humidité est faite en portant une quantité bien définie d'un échantillon à la dessiccation dans une étuve à 105°C pendant 12-24 heures jusqu'à poids stable. La différence de poids avant et après dessiccation correspond à la perte d'eau, le reste correspond à la matière sèche.

**✓ Mode opératoire**

Une quantité bien définie des margines est pesée en triplet dans des creusets en porcelaine tarés ; ils sont mis dans une étuve à 105°C pendant 12-24 heures jusqu'à poids constant. Ils sont par la suite placés dans un dessiccateur pendant 2 heures pour éviter toute sorte d'absorption d'humidité à l'air libre. La matière sèche (MS) est calculée selon cette expression :

$$\%MS = \frac{P2 - Tc}{P1 - Tc} * 100$$

Où :

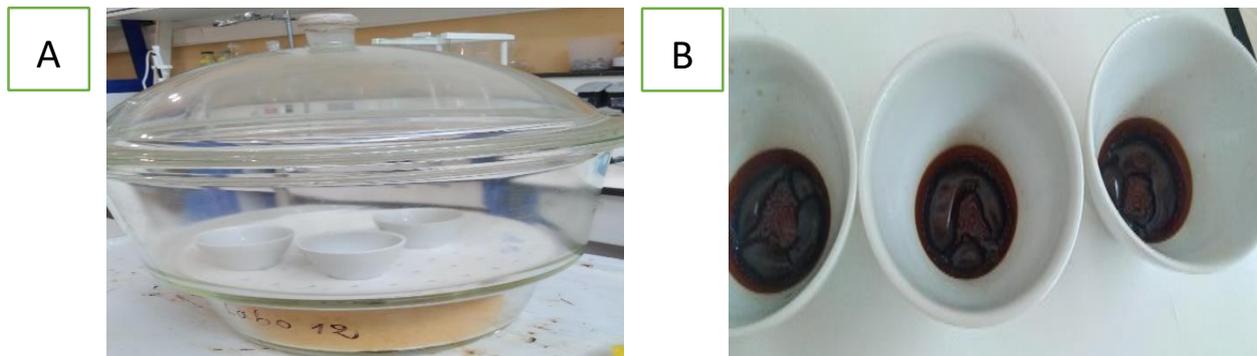
**P<sub>1</sub>** : représente le poids du creuset avant séchage (tare + quantité de l'échantillon frais).

**P<sub>2</sub>** : représente le poids du creuset après dessiccation (tare + résidus) (g).

**T<sub>c</sub>** : représente le poids du creuset vide (tare) (g).

Le taux d'humidité est calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'humidité} = 100 - \%MS$$



**Figure 12:** **A** : dessiccateur ; **B** : Creusets contenant la matière sèche.

### 3-1-1-2 Détermination de la teneur en cendres et en matière organique

#### ✓ Principe

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

#### ✓ Mode opératoire

Une quantité de la matière sèche préalablement obtenue est pesée dans des creusets en porcelaine préalablement tarés, puis incinérée dans un four à moufle à de 550 °C pendant une semaine. Les creusets sont ensuite placés dans un dessiccateur pendant, au minimum

Une demi-heure. Les débris sont constitués des cendres qui, par opposition, fournissent la matière organique présente dans l'échantillon. Le taux de cendres présentes calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ MM} = \frac{\text{P3-Tc}}{\text{P2-Tc}} * 100$$

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

La teneur en matière organique est calculée comme suit :

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



**Figure 13:A** : Four à moufle ; **B** : Creusets contenant les cendres (MM).

### 3-1-1-3 Détermination de la teneur en matière grasse

#### ✓ Principe

La matière grasse (lipides) présente la particularité d'être insoluble dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. La matière grasse a été extraite par un mélange de solvants, chloroforme/Méthanol. L'extraction est effectuée, par décantations dans une ampoule à décanter suivie par une évaporation de chloroforme contenant les lipides solubles dans un rotavapor (**Büchi Rotavapor R-200**) à une température de 40°C (Aisaam, 2003).

#### ✓ Mode opératoire

Dans une ampoule à décanter un volume de 50 ml (V) de margines est mélangé avec un volume de 37,5 de chloroforme et 50 ml du méthanol. Après agitation vigoureuse, l'ampoule est déposée pour décantation, Les deux phases du mélange sont distinctes. Les margines et le méthanol de la phase supérieure sont éliminés, tandis que la phase inférieure, qui contient le chloroforme et les lipides solubles, est évaporée dans un rotavapor. L'évaporation du chloroforme permet de récupérer les lipides. La teneur en matières grasses est exprimée par la formule suivante :

$$\text{TMG (\%)} = \frac{\text{P2} - \text{P1}}{\text{V}} * 100$$

Où :

**P1** : Poids du ballon vide (g).

**P2** : Poids du ballon contenant la matière grasse (g).

**V** : le volume de margines versé (g).



**Figure 14:** Etapes du dosage de la matière grasse : **A** : Rotavapor ; **B** : Ampoule à décanter avec le mélange margine-alcools.

#### 3-1-1-4- Détermination de la teneur en protéines

##### ✓ Principe

La méthode de Kjeldahl est utilisée pour évaluer la quantité totale d'azote. Il y a trois étapes dans cette méthode de dosage : la minéralisation, la distillation et la titration (Rodis, 2009).

##### ✓ Mode opératoire

##### ➤ Minéralisation

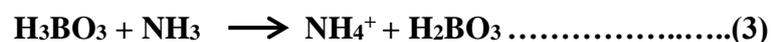
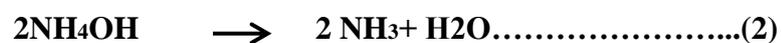
Dans un fiole Kjeldahl (**Kjeldtec 2400 Foss**), l'azote organique de margines est transformé en azote minéral (sulfate d'ammonium) par l'ajout de 10ml de l'acide sulfurique (40%) à 400°C pendant 12 heures en présence de 5g d'un catalyseur au sélénium.



**Figure 15:** Unité de minéralisation contenant les fioles Kjeldahl (**Kjeltec 2400 Foss**).

### ➤ Distillation

L'ajout de 100 ml d'une base forte (NaOH 40%) au mélange obtenu permet de libérer l'ammoniac qui est par la suite entrainé par condensation et recueilli dans 10ml d'une solution d'acide borique (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 32%) contenant 4 gouttes d'un indicateur coloré (TASHIRO). L'étape de distillation se fait selon les équations suivantes :



La distillation est arrêtée lorsque la couleur du milieu réactionnel devient verte, ainsi le volume obtenu est de l'ordre de 100 ml.



**Figure 16:** Unité de distillation.

### ➤ Titration

La solution obtenue est ensuite titrée à l'aide d'une solution d'HCl (0,1N) jusqu'au virage de la couleur du vieux rose au gris, la teneur en azote total est calculée par l'équation suivante:

$$N = \frac{\text{Vol (Hcl) (ml)} \times 14.007 \times N_r}{\text{Prise d'essai} \times \text{MS} (\%)}$$

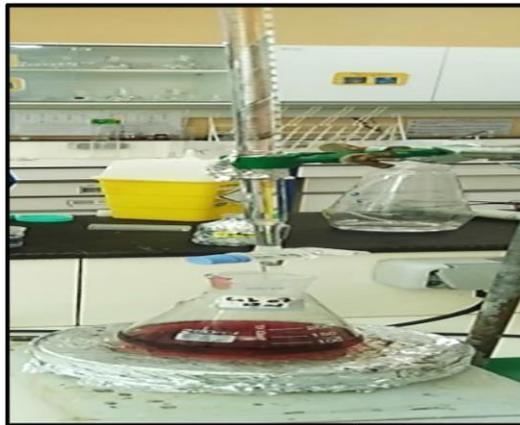
Où :

**N<sub>r</sub>** : est la normalité de l'acide utilisé pour la titration (dans notre cas, 0.1).

**MS** : la matière sèche des margine préalablement calculée (%).

La teneur en matières azotées totale (MAT) est obtenue en multipliant la teneur en azote (N) par 6,25.

**14,01** : est la masse atomique relative de l'azote.



**Figure 17:** Unité de titration.

### 3-1-2 Détermination de la teneur en polluants

Afin de doser les sulfates, les nitrates les nitrites et les orthophosphates. Les échantillons de margines sont centrifugés à 8000G pendant 10 min dans une centrifugeuse (thermo scientific) et filtrer sous vide, le filtrat est utilisé pour les différents dosages. Toutes les réactions sont exprimées colorimétriquement en se référant à des courbes d'étalonnage préalablement établies dans les mêmes conditions.

#### 3-1-2-1 Détermination de la teneur en orthophosphates

##### ✓ Principe

L'échantillon est mélangé avec une solution de réactif combiné, contenant des ions de molybdate, d'antimoine et l'acide sulfurique. Le mélange obtenu est réduit par l'acide ascorbique en bleu de molybdène. Le pH du mélange réactionnel doit être compris entre 0,6et 0,9.

##### ✓ Mode opératoire

Dans une fiole de 25 ml, 20 ml des margines sont mélangés avec 1ml d'acide ascorbique et 4ml du réactif combiné (Annexe).La coloration bleu est stabilisée pendant30 min, puis la densité optique est lue à une longueur d'onde située entre 700-800nm.



**Figure 18:** Mélange réactionnel servi à la détermination de la teneur en orthophosphates.

### 3-1-2-2 Détermination de la teneur en nitrates

#### ✓ Principe

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosnylate de sodium coloré en jaune, l'intensité de la couleur est définie colorimétriquement (Rodier, 2009).

#### ✓ Mode opératoire

10ml des margines sont alcalisés avec la solution d'hydroxyde de sodium (30%), après l'ajout de 1ml de la solution de salicylate de sodium (0,5%), le mélange est évaporé à sec dans une étuve portée à 80°C pendant une heure. Après refroidissement, le résidu est repris par 2 ml d'acide sulfurique pure. Après 10 minutes d'incubation, 15ml d'eau ultra pure et 15 ml de la solution sodium potassium tartratesont ajoutés provoquant, par ainsi l'apparition d'une coloration jaune.L'intensité de la couleur reflète le contenu en nitrates.



**Figure 19:** Mélange réactionnel servi au dosage des nitrates.

### 3-1-2-2 Détermination de la teneur en sulfates

#### ✓ Principe

La méthode néphélométrique consiste à la précipitation sulfates en milieu chloridrique à l'état de sulfate de baryum .Le précipité obtenu est stabilisé à l'aide d'une solution de tween 20 ou du PVPP (Rodier *et al.*, 2009).

#### ✓ Mode opératoire

Dans une fiole, 100ml des margines dilués (1/200) sont mélangés avec 5ml de la solution de chlorure de baryum préalablement préparée (Annexe) et 1ml d'acide chlorhydrique 10%.La DO du mélange homogène est mesurée à 650 nm.

### 3-1-2-3 Détermination de la teneur en nitrites

#### ✓ Principe

La méthode de Griess est une réaction de diazotation de l'acide sulfanilique par les nitrites présents dans l'échantillon. Ilse forme un sel de diazonium, en se couplant avec l' $\alpha$  naphtylamine une colorationazoïque est apparue. L'intensité de la couleur reflète la teneur en nitrites.

#### ✓ Mode opératoire

Dans un tube à essai, 300  $\mu$ l d'échantillon des margine dilués (1 /300) sont mélangés avec 100 $\mu$ l de réactif de Griess et 2,6ml de l'eau pure, le mélange est incubé pendant 30 min à température ambiante, La DO du mélange est mesurée à 548nm.



**Figure 20 :** Milieu réactionnel servi au dosage des nitrates.

### **3-2 Caractérisation phytochimique**

Dans cette section, nous avons procédé au dosage de deux représentants de la famille des polyphénols, il s'agit des phénols totaux et des flavonoïdes. Ce choix est basé sur le fait que la majorité des rapports bibliographiques attribuent l'efficacité des activités biologiques à la présence de ces deux composants.

#### **3-2-1 Préparation de l'extrait brut par extraction liquide-liquide (ELL)**

Une phase de délipidation est effectuée avant l'extraction, elle est réalisée en mélangeant 250ml de margine avec 250ml d'hexane. Le mélange est agité pendant 2 heures, puis centrifugé pendant 20 minutes à 8500 rpm. Cette procédure est répétée deux fois, les margines délipidés sont recueillis après séparation complète en deux phase dans l'ampoule à décanter celle riche en lipides (phase organique), et celle des margines délipidées (phase aqueuse).

L'extraction liquide-liquide est effectuée par l'ajoute de 200 ml d'éthanol à 200 ml de la phase délipidés. Après une phase d'agitation pendant 15min, le mélange est centrifugé pendant

20min à 8500rpm. La phase organique riche en composés phénoliques subit une évaporation sous vide dans un évaporateur rotatif à 40°C. La procédure est répétée deux fois afin de maximiser la récupération des composants cibles (De Marco *et al.*, 2007).



**Figure 21:** Les margines délipidées obtenues.



**Figure 22:** Mélange des margines délipidées avec l'éthanol.

L'efficacité de la technique utilisée dans l'extraction est estimée moyennant la détermination du rendement d'extraction définit comme étant le pourcentage % de l'extrait obtenu par rapport à la quantité initiale de la plante (Falleh *et al.*, 2008).

$$R (\%) = \frac{\text{La masse de l'extrait brut obtenu} \times 100}{\text{La masse initiale de l'échantillon}}$$

### 3-2-2 Affrontements par l'acétate d'éthyle et n-butanol

Le fractionnement avec l'acétate d'éthyle et le butanol permet de séparer les polyphénols extraits en fonction de leur polarité. Les polyphénols les moins polaires se solubiliseront préférentiellement dans la phase acétate. Le butanol, étant plus polaire que l'éthanol, solubilisera les polyphénols plus polaires. Les mêmes étapes suivies durant le processus d'extraction sont suivies durant les affrontements avec les deux solvants.

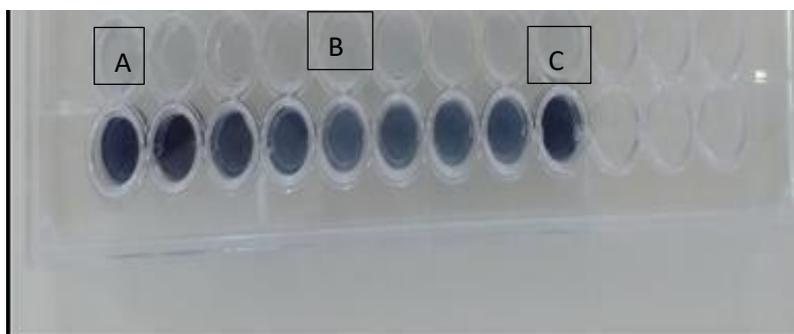
### 3-2-3 Dosage des polyphénols

#### ✓ Principe

La teneur des extraits (éthanolique, acétate d'éthyle et butanolique) des plantes en phénols totaux est déterminée par la méthode de Singleton *et al.* (1990) en utilisant la méthode de réduction du réactif de Folin–Ciocalteu (FCR). Cette réduction produit un complexe bleu stable dont l'absorbance est mesurée à 750-765 nm par spectrophotométrie.

#### ✓ Mode opératoire

Dans une microplaque à 96 puits, 20 µl d'extrait (1mg de l'extrait est dissous dans 1 ml d'éthanol) sont mélangés avec 100 µl de FCR dilué+ 80 µl de carbonate de sodium (7.5%), le mélange est par la suite incubé à l'obscurité pendant 2h. L'absorbance est mesurée par la suite à 760 nm par un spectrophotomètre UV-visible (Cary UV 60, AGILENT, Malaysia). La teneur en phénols totaux est exprimée en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations de l'acide gallique. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le méthanol.



**Figure 23 :** Microplaque dosage des polyphénols (A) extrait acétat-éthyle, (B) extrait butanolique et (C) extrait brut éthanolique.

### 3-2-4 Dosage des flavonoïdes

#### ✓ Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode colorimétrique d'aluminium nitrate décrite par Türkoğlu *et al.* (2007). Elle est basée sur la création d'un complexe entre  $Al^{+3}$  et les flavonoïdes.

#### ✓ Mode opératoire

Une quantité de 50 µl de l'extrait est mélangée avec : 20µl de  $Na_2NO_2$ , 20µl d' $AlCl_3$  et 100µl NaOH. Après l'incubation pendant 40 min à température ambiante, l'absorbance de la solution est mesurée à 415 nm via un spectrophotomètre UV-visible (Cary UV 60, AGILENT, Malaysia). La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en se référant à la courbe d'étalonnage établie à différentes concentrations de la quercétine (Annexe). Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol.

## 4- Caractérisation biologique des margines

Les activités biologiques menées dans note étude consistent en l'activité antioxydante, l'activité anti-inflammatoire et l'activité antifongique.

### 4-1 Détermination de l'activité antioxydante

La détermination du potentiel antioxydant des extraits a été réalisée par l'utilisation de deux méthodes : piégeage du radical libre **DPPH** et pouvoir réducteur **FRAP**.

#### 4-1-1 Test DPPH radical libre

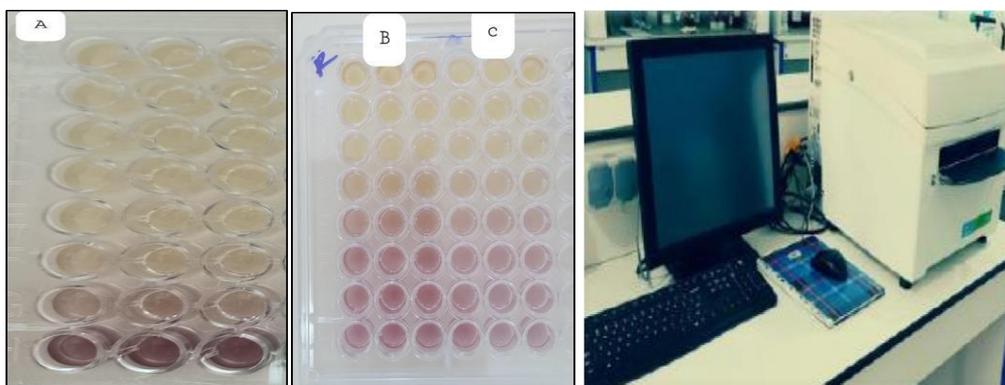
##### ✓ Principe

L'activité antiradicalaire au DPPH est déterminée spectrophotométriquement par la méthode décrite par Blois (1958). Le principe est de mesurer la capacité d'un antioxydant à réduire le DPPH (un radical libre stable) initialement de couleur violette en Hydrazine de couleur jaune, en recevant un atome d'hydrogène des antioxydants ; l'absorbance diminue lorsque le DPPH est réduit par l'antioxydant.

##### ✓ Mode opératoire

Dans une microplaque à 96 puits, 40 µl de chaque extrait dilué dans le méthanol à différentes concentrations sont introduits. Ils sont par la suite supplémentés par 160 µl de la

solution de DPPH fraîchement préparée à concentration de 0,1 mM ; le mélange réactionnel est maintenu à une température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. l'absorbance est mesurée à 517nm. La préparation du blanc est faite en remplaçant l'extrait par le méthanol. Le **BHA**, **BHT** et  **$\alpha$ -Tocophérol** sont utilisés comme des standards. Les résultats sont exprimés **IC<sub>50</sub>**.



**Figure 24:** Activité antioxydante par DPPH de trois extraits, (A) extrait acétate-éthyle, (B) extrait butanolique et (C): extrait brut éthanoïque, (D) ; Lecteur de microplaque

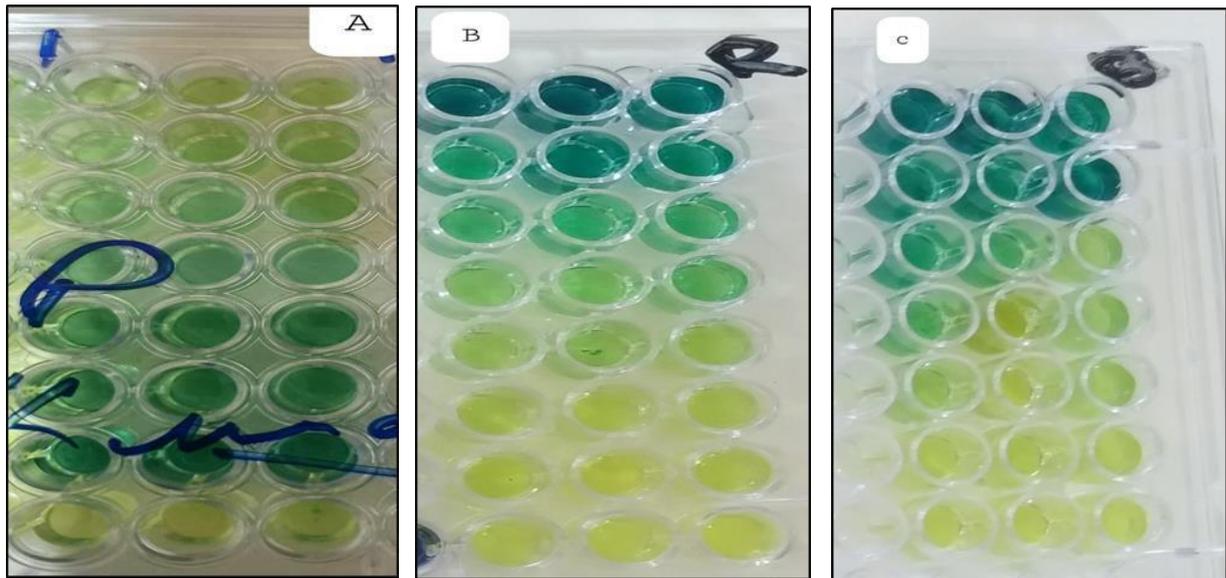
#### 4-1-2Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

##### ✓ Principe

Le pouvoir réducteur du fer ( $Fe^{+3}$ ) est déterminé selon la méthode d'**Oyaizu, 1986**. C'est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons repose sur la capacité des antioxydants à réduire le Fer Ferrique ( $Fe^{+3}$ ) présent dans le Ferrocyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) en FerFerreux ( $Fe^{+2}$ ) et le Ferrocyanure ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) ; ceci traduit par le virage de la couleur jaune du ( $Fe^{+3}$ ) vers une couleur bleu vert du ( $Fe^{+2}$ ), dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant.

##### ✓ Mode opératoire

Un volume de 10  $\mu$ l de l'extrait à différentes concentration sont introduits dans la plaque Supplémentés par la suite par 40  $\mu$ l d'une solution tampon phosphate (pH=6,6) et 50  $\mu$ l d'une solution de Ferricyanide de potassium (1%). Après, l'ensemble est incubé à l'étuve à 50°C pendant 20 min. Ensuite l'ajout par ordre de 50  $\mu$ l d'acide tris-chloroacétique (10%) ; 40  $\mu$ l d'eau distillée ; 10 $\mu$ l d'une solution de chlorure de Fer anhydre ; l'absorbance est ensuite mesurée à 700 nm. **L'acide ascorbique** et  **$\alpha$ -Tocophérol** sont utilisés comme des standards ; et les résultats sont calculés à titre d'**A0.5** ( $\mu$ g/ml).



**Figure 25:** Activité antioxydante de trois extraits par Reducing power (A) extrait acétateéthyle, (B) extrait butanolique et (C) extrait brut éthanolique.

#### 4-2 Détermination de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

##### ✓ Principe

La méthode de dénaturation de l'albumine bovine sérique (dénaturation de BSA) a été choisie pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires *in-vitro* des extraits. Le principe de cette technique est basé sur la capacité des extraits à entraver la dénaturation thermique de la BSA sous la chaleur (72°C) (Kandikattu, 2013).

##### ✓ Mode opératoire

Le mélange réactionnel (1mL) est constitué de 0,5 ml de chaque extrait à différentes concentrations et 0,5mL de la solution aqueuse du sérum bovine d'albumine 0 0,2% (préparé dans Tris HCl, pH =6,6). le mélange est, par la suite incubé à 37°C pendant 15 min. puis chauffés à 72°C pendant 5 min. Après refroidissement, la turbidité des échantillons est mesurée par spectrophotomètre à 660 nm. Le diclofénac de sodium est utilisé comme standard. Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} * 100$$

Où :

**Abs contrôle** : Variation d'absorbance à 660nm du contrôle.

**Abs échantillon** : Variation d'absorbance à 660nm de la BSA en présence de l'extrait.

## 5- Détermination de la Cytotoxicité des margines

### ✓ Principe

L'activité Cytotoxique utilisant les larves d'Artémia est déterminée par la méthode de Meyer, (1982). Elle examine si les extraits des margines obtenus sont toxiques ou non.



**Figure 29** : Larves d'Artémia

### ✓ Mode opératoire

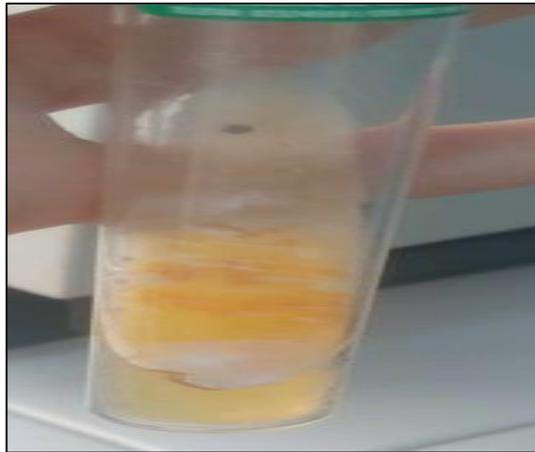
Différentes concentrations de l'extrait (5mg, 4mg et 1mg/ml de méthanol) sont préparés, chaque 05 larves de même poids sont injectées au niveau abdominal d'un volume de 3µl de chaque concentration d chaque extrait à l'aide d'une seringue Hamilton. Les larves sont ensuite incubées à température ambiante avec une bonne aération de 5à7 jours.

La mortalité a été évaluée par la décoloration des larves. L'effet de toxicité sur les vers a été suivi pendant une semaine. Un contrôle négatif est réalisé en remplaçant l'extrait par le méthanol. Le bichromate de potassium est utilisé comme standard (control positif).

## 6- Evaluation de l'activité antifongique

### 6-1 Préparation des précultures

Des repiquages successifs sont effectués à partir des milieux de conservation des souches de *candida albicans*. Ils sont réalisés dans des bouillons Sabouraud incliné à 37°C/24 à 48h.



**Figure 27:** Milieu de repiquage.



**Figure 28:** Aspect macroscopique de *candida albicans*.

### 6-2 Méthode de diffusion en milieu gélosé (Test de sensibilité)

#### ✓ Ensemencement et dépôt des disques

La méthode adoptée est celle de diffusion de disques décrite par (Gulluceet *al.*, 2003). Avec la suspension fongique, nous avons ensemencé en surface d'un milieu gélosé sabouraud en stries serrées (répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois), nous avons rechargé l'écouvillon à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche (les répétitions).

Nous avons utilisé des disques de papier Wattman stériles de 6 mm de diamètre, imprégnés d'extrait (50µl), (25µl) et déposés délicatement sur la surface de la gélose de l'ordre de 5 à 6 disques/boîte.

Un disque de papier Wattman imprégné de méthanol servait de témoin négatif. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 48 heures.

**a. Lecture des résultats**

Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 6mm.





# **Résultats et discussion**

## 1- Caractéristiques physico-chimiques des margines

### 1-1- Aspect général des margines

Les margines récupérées à partir de l'huilerie moderne à trois phase situé à la wilaya de Mila paraissent d'une couleur brune à noire, devenant de plus en plus foncées pendant leur stockage, avec un aspect trouble et une forte odeur d'huile d'olive. De plus, les margines présentent un pH acide de l'ordre de 4,78, cela pourrait être attribué à leur teneur élevée en acides organiques, tels que les acides phénoliques et les acides gras. Cette acidité constitue un obstacle majeur au traitement biologique des margines brutes, car elle entrave le développement des micro-organismes nécessaires à la dégradation des matières organiques.

### 1-2- Détermination du contenu en macronutriments

#### 1-2-1- Teneurs en eau et en matière sèche

Les résultats du dosage des macronutriments sont récapitulés dans le tableau 8, il en ressort que la teneur dans les margines en eau est de l'ordre de 95,40%, ce taux élevé en eau est prévisible, et pourrait être revenir à l'eau existant habituellement dans les olives d'une part, et à l'eau ajoutée au cours du processus d'extraction d'huile d'olive, d'autre part (Procida et Ceccon, 2006). Notre résultat est similaire à ceux rapportés pour des margines issues d'une huilerie moderne en Tunisie (83-94 %) (Noubigh *et al.*, 2007).

La teneur négligeable des margines en matière sèche est de l'ordre de 4,60%, elle est largement inférieure à celle rapportée dans les travaux de **Achak *et al.*, (2008)** estimée à 56,75 % . Ces variations pourraient être expliquées par les paramètres climatiques et géologiques, et le stade de maturation de l'olive, ainsi à la quantité d'eau rajoutée au cours des procédés d'extraction de l'huile (El-Abbassi *et al.*, 2011).

#### 1-2-2- Teneur en matière grasse

La teneur en matière grasse dans les margines est de l'ordre de 13,68% (tableau 8). En fait plusieurs études rapportent des taux en lipides variant entre 0,03% à 4,25%, ce contenu est attribué à la qualité, le degré de maturation des olives et le mode de trituration (**Amaral *et al.*, 2008 ; Dermeche *et al.*, 2013**). De plus, le solvant utilisé dans l'extraction peut influencer le contenu des lipides dans les margines.

#### 1-2-3- Teneur en matière organique et minérale

Le tableau 8, révèle une charge importante en matière organique dans nos margines (73,10%)

, cette valeur est proche de celle rapportée dans l'étude de Boukhoubza *et al.* (2008) estimée à 78,57 %. Ces mêmes auteurs stipulent que la richesse en matière organique varie en fonction du mode d'extraction des olives, des conditions climatiques ainsi que temps de stockage des olives avant leur maturation et trituration.

La composition minérale des margines montre que ces eaux présentent une charge saline liée probablement au salage pratiqué pour conserver les olives jusqu'à leur trituration et à la richesse naturelle des olives en sels, elle est estimée à 26,90%. En fait, il est fortement probable que cette charge minérale est représentée par le sulfates ayant un taux très élevé (section suivante 1-3-2).

#### 1-2-4- Teneur en protéines

La teneur en protéines dans nos margines est de 0,471%. Elle est inférieure à celle trouvée par Leouifoudi *et al.* (2014) estimée à 1,24 g/L, cependant, elle est très proche de celle rapportée par Lopes *et al.* (2009) pour les margines portugaises (0,30 %).

**Tableau 8:** Dosage des macronutriments dans les margines

Nutriments	Quantité
pH	4,68
Matière organique (%)	73,10± 0,39
Taux des cendres (%)	26,90±0,394
Matière sèche (%)	4,60±0,035
Contenu en eau (%)	95,40±0,035
Matière grasse (%)	13,68
Protéines	0,471

### 1-3- Détermination du contenu en composants polluants

#### 1-3-1- Teneur en nitrate et nitrite

L'analyse du contenu en sels polluants est illustrée dans le tableau 9. Il en ressort que les margines présentent une concentration faible en nitrates (0,15 mg/l) et une concentration élevée en nitrites (333,90mg/l). Cela est probablement lié à la conversion du nitrate en nitrite, par processus naturel appelé dénitrification. Ce processus est généralement réalisé par des bactéries anaérobies dans des conditions où l'oxygène est limité (durant le stockage).

Dans les margines, riches en matière organique, des conditions anaérobies peuvent se développer, favorisant ainsi la dénitrification du nitrate en nitrite (respiration anaérobie).

**Tableau 9:** Dosage de nitrates, nitrites, sulfate et orthophosphates dans les margine.

Elément polluant	Quantité
Orthophosphates (mg/ml)	1,42±0,11
Sulfates (mg/l)	9553,33± 1,88
Nitrates (mg/l)	0,15±0,04
Nitrites (mg/l)	333,90±1,56

### 1-3-2- Teneur en sulfates et orthophosphates

Les margines sont très riches en sulfates, elles sont présentes avec 9553mg/ml. Ces composés organiques subissent une fermentation anaérobie par l'action de bactéries sulfatoréductrices appartenant notamment aux genres *Desulfovibrio* et *Desulfotomaculum* (Hafidi *et al.*, 2005 ; Amaral *et al.*, 2008 ). Ces bactéries utilisent les sulfates présents naturellement dans l'eau comme accepteurs d'électrons terminaux dans leur métabolisme anaérobie pour oxyder la matière organique. Elles réduisent ainsi les sulfates en sulfures.

Les sulfures produits sont ensuite partiellement réoxydés en sulfates par des bactéries sulfoxydantes en conditions aérobies, il s'établit donc un cycle soufré qui maintient des concentrations élevées en sulfates dans les margines, pouvant atteindre plusieurs g/L (Hafidiet *al.*,2005 ; Amaral *et al.*,2008). Ce cycle est favorisé par les conditions réductrices et la forte charge organique des margines.

Les orthophosphates (PO<sub>3</sub>) représentent la forme minérale principale du phosphore dans les margines, ils sont présents avec des traces estimées à 1,42mg/ml. Leur présence est souvent associée à la décomposition de la matière organique (Sarkar *et al.*, 2007).

### 1-3-3- Teneur en composés phénoliques

A priori, le rendement d'extraction des polyphénols des margines est de l'ordre de 20,57%, Rodi *et al.* (2002) stipulent qu'après l'extraction de l'huile, 98% des polyphénols sont passés dans les margines leur attribuant, par ainsi une forte charge en métabolites secondaires comparativement à l'huile d'olive. Ce paramètre est relatif au type d'extraction utilisé (sonication, macération...), type du solvant (polaire, apolaire...) et au type d'extraction de l'huile. Les résultats du dosage des phénols totaux dans les différents extraits sont illustrés dans

la figure 26, des contenus de  $373,21 \pm 39,90 \mu\text{g EAG/mg}$ ,  $185,47 \pm 0 \mu\text{g EAG/mg}$  et  $172,03 \pm 3,22 \mu\text{g EAG/mg}$  sont enregistrés dans l'extrait d'acétate d'éthyle, éthanolique et butanolique, respectivement. Les flavonoïdes constituent une classe de polyphénols caractérisés par un très grand nombre de propriétés biologiques et bénéfiques pour la santé humaine. Comme pour les polyphénols, les teneurs les plus élevées des flavonoïdes ont été obtenues avec les extraits d'acétate d'éthyle ( $31,50 \pm 3,72 \mu\text{g EQ/mg}$ ), suivis par l'extrait éthanolique ( $20,18 \pm 1,08 \mu\text{gEQ/mg}$ ), et une faible teneur a été enregistrée avec l'extrait n-butanolique ( $11,71 \pm 1,69 \mu\text{gEQ/mg}$ ).

Ces teneurs dépendent de la polarité du solvant utilisé, qui détermine la quantité, la qualité des composés phénoliques extraits et de la classe des phénols dans l'échantillon, La quantité plus élevée des phénols totaux dans l'extrait d'acétate comparativement aux autres solvants révèle que notre échantillons sont plus riches en molécules de bas (180 Da) et moyen (13KDa) poids moléculaire tel que l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'oleuropéine (Obeid *et al.*, 2005). De plus, l'acétate d'éthyle exerce un haut pouvoir d'extraction. Il contribue aussi à l'élimination des fractions protéiques, glucidiques et acides organiques qui peuvent interférer avec les composés phénoliques (Abad-garcia *et al.*, 2007 ;Ait baddi *et al.*, 2008).

Notre résultat est inférieur à celui trouvé par El-abbassi *et al.* (2011) pour les margines de la région de Marrakech (Maroc) en utilisant le même procédé d'extraction. Cette variation de la teneur en polyphénols dépend des conditions climatiques et géographiques, l'état physiologique et l'âge de la plante, la variété de l'olivier, les conditions de culture et le degré de maturation des olives.

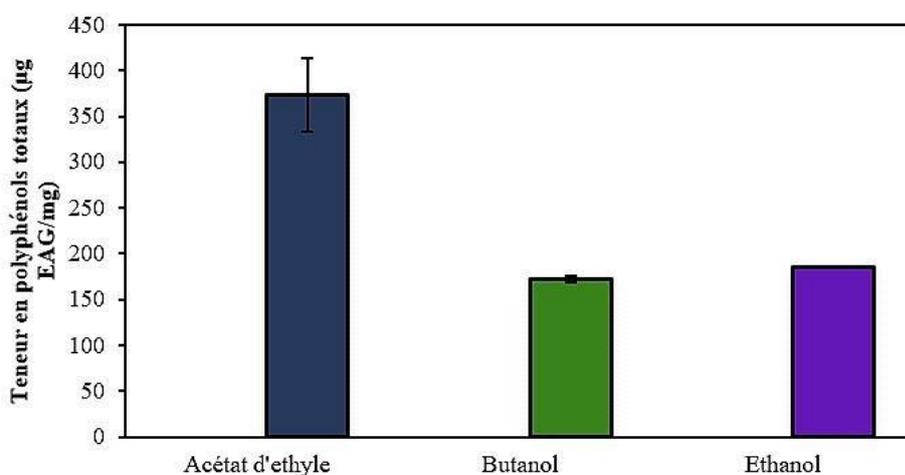
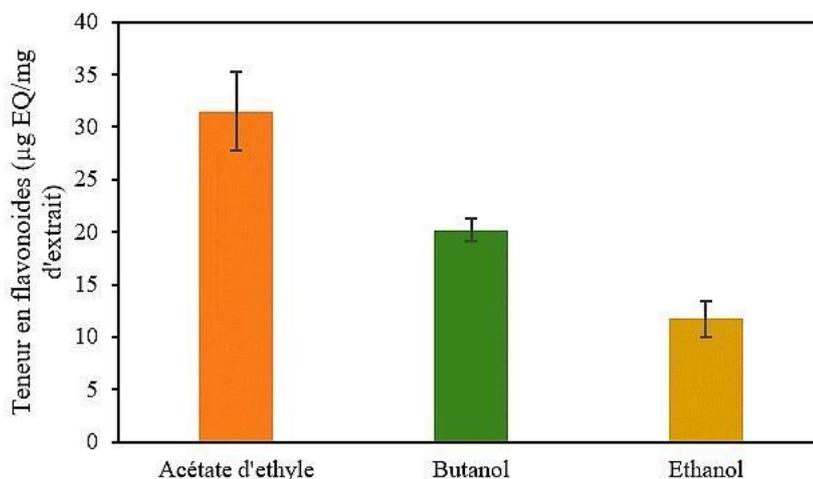


Figure 29: Teneur en phénols totaux dans les trois extraits des margines.



**Figure 30:** Teneur en flavonoïdes totaux dans les trois extraits des margines.

## 2- Effets biologiques *in vitro*

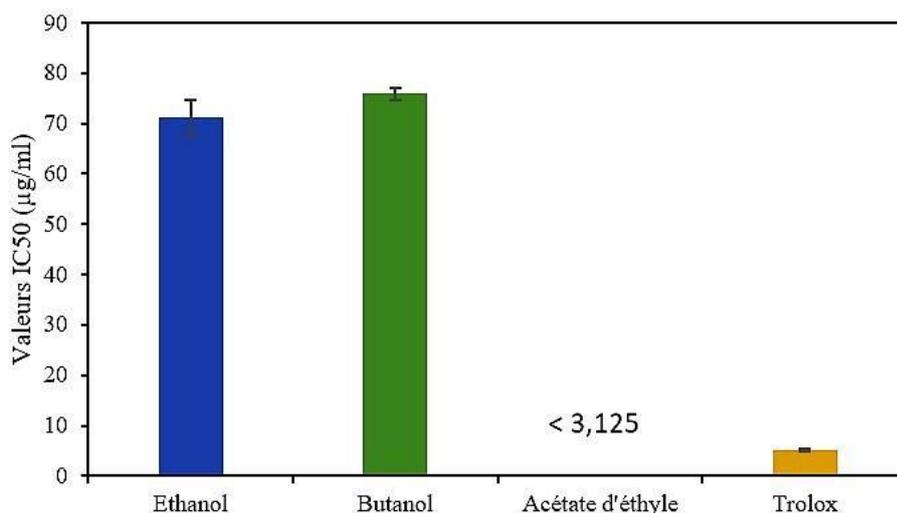
### 2-1- Activité antioxydante

Parmi les effets biologiques des extraits organiques, l'effet antioxydant figurant parmi les effets les plus étudiés. Dans ce travail, l'effet antioxydant des extraits des margines a été déterminé via deux méthodes l'effet antiradicalaire DPPH et l'effet réducteur FRAP.

#### 2-1-1- Effet antiradicalaire

L'effet antiradicalaire d'un antioxydant est lié à la neutralisation des radicaux libres dans les systèmes biologiques ou *in vitro* en donnant un électron et/ou un atome hydrogène pour former des composés non réactifs. L'effet antiradicalaire des extraits phénoliques des margines a été déterminé par l'utilisation du radical DPPH.

Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> qui correspond à la concentration nécessaire pour réduire 50% des radicaux **DPPH** sont illustrées dans la figure 2 B). Plus la valeur est faible plus l'effet antiradicalaire est puissant. En effet, l'extrait acétate d'éthyle a montré un effet suprême avec une valeur IC<sub>50</sub> moins que le standard ( $3,125 \pm 0,63$  vs  $5,12 \pm 0,2$  µg/ml), les extraits éthanolique et n-butanolique présentent un effet largement supérieur comparativement au témoin ( $71,11 \pm 3,66$  et  $75,89 \pm 1,17$  µg/ml, respectivement). Il paraît clairement qu'une corrélation positive est soulevée entre le contenu phénolique des extraits et le pouvoir antioxydant.

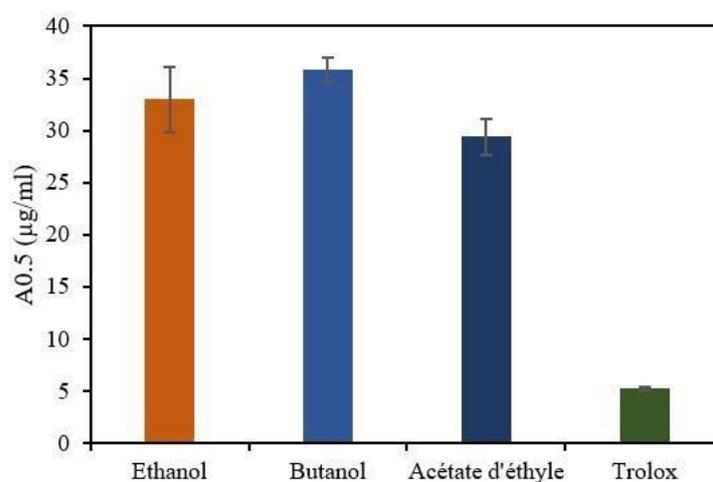


**Figure 31:** Effet antiradicalaire des extraits des margines représenté par le test DPPH (IC50) comparativement au control.

### 2-1-2 Pouvoir réducteur

Ce mécanisme basée sur la capacité réductrice des extraits par la réduction du complexe ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en complexe ferreux ( $Fe^{2+}$ ) par les antioxydants présents dans l'échantillon.

Les valeurs A0.5 sont rapportées dans la figure 32. L'extrait acétate d'éthyle a montré, similairement au test précédent, l'effet le plus puissant comparativement aux autres extraits ( $29,38 \pm 1,69 \mu\text{g/ml}$  ;  $32,97 \pm 3,13 \mu\text{g/ml}$  et  $35,84 \pm 1,11 \mu\text{g/ml}$  pour l'extrait acétate d'éthyle, éthanolique et butanolique, respectivement). En comparant les valeurs au standard, tous les extraits semblent avoir un effet similaire et inférieur au standard Trolox ( $5,25 \pm 0,20$ ).



**Figure 32:** Effet réducteur des extraits des margines représenté par le test FRAP (A0,5) comparativement au control.

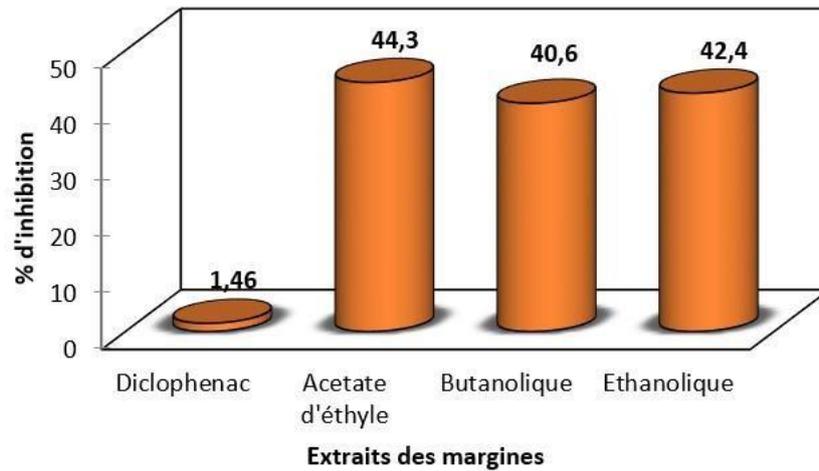
L'effet antioxydant des extraits est généralement lié à la présence des polyphénols qui grâce à leur structure portant un ou plusieurs groupements hydroxyle ont la capacité de donner un électron et/ou un atome hydrogène. En effet plusieurs travaux précédents ont montré une forte corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité antioxydant des extraits.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle est l'extrait le plus actif parmi les autres extraits, cela signifie que les polyphénols moyennement polaires tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes présentent l'activité antioxydante la plus puissante par rapport à ceux les plus polaires. Ainsi, ces résultats pourraient être expliqués par le fait que la capacité antioxydant ne dépend pas seulement de la quantité des polyphénols mais aussi de la qualité des composés présents dans l'extrait (El Aanachi *et al.*, 2021).

### **2-2- Activité anti-inflammatoire**

L'inflammation est un mécanisme de défense important et une réponse immunitaire qui permet au corps de maintenir l'homéostasie des tissus dans des conditions défavorables (Dhanik *et al.*, 2017).

Dans notre étude, l'effet antiinflammatoire des margines a été évalué par la méthode de l'inhibition de la dénaturation de la protéine BSA, les résultats sont rapportés en termes de pourcentages d'inhibition (figure30). Il en ressort que tous les extraits présentent un pourcentage d'inhibition similaire (44,3, 40,6 et 42,4% pour l'extrait acétate d'éthyle, butanolique et éthanolique, respectivement) et largement inférieur au standard diclofenac (1,46%). l'effet anti-inflammatoire médiocre des margines dans notre étude pourrait être attribué aux interactions antagonistes de plusieurs composés dans l'extrait provoquant des interférences ou masquant l'activité des uns et des autres (Bailey-Shaw *et al.*,2017), ainsi, le solvant pourrait être inefficace vis-à-vis l'extraction des composés actifs ayant l'effet antiinflammatoire.



**Figure 33:** Pourcentage d'inhibition des extraits des margines et du diclofénac.

Plusieurs rapports bibliographiques ont étudié l'effet anti-inflammatoire des margines, elles se sont avérées efficaces contre les cytokines, qui sont synthétisées et sécrétées aux sites d'inflammation et régulent certaines voies biochimiques activées dans l'inflammation chronique (Bedouhene *et al.*, 2017).

### 2-3 Effet de cytotoxicité

L'utilisation des margines en tant qu'un composant cosmétique impose l'étude de leur cytotoxicité. Pour évaluer la toxicité aigüe de l'extrait, chaque cinq lots contenant 5 larves de même poids ont reçue par injection différentes doses des extraits : 5 mg/ $\mu$ l ; 4 mg/ $\mu$ l ; 1 mg/ $\mu$ l. Les signes de toxicité sont évalués par le taux de mortalité. Dans la présente étude, des taux de mortalité très négligeables sont enregistrés, nous avons détecté la mort d'une seule larve au maximum dans chaque lot. Cella peut-être dû à la carence alimentaire ou bien aux conditions d'oxygénation de l'endroit de culture. Le test de cytotoxicité révèle que notre extraits des margines ne présente aucun effet préjudiciable sur les cellules vivantes.

Tableau 9 : Resultats de l'effet de toxicite.

T lot \ C lot	25	25	25	25	25	M (%)
5 mg/μl	24	24	25	25	25	0,08
4mg/μl	25	25	25	25	24	0,04
1mg/μl	24	24	24	25	25	0,12

T : témoin ou nombre des larves dans le contrôle, C : concentration d'extrait

#### 2-4 Activité antifongique

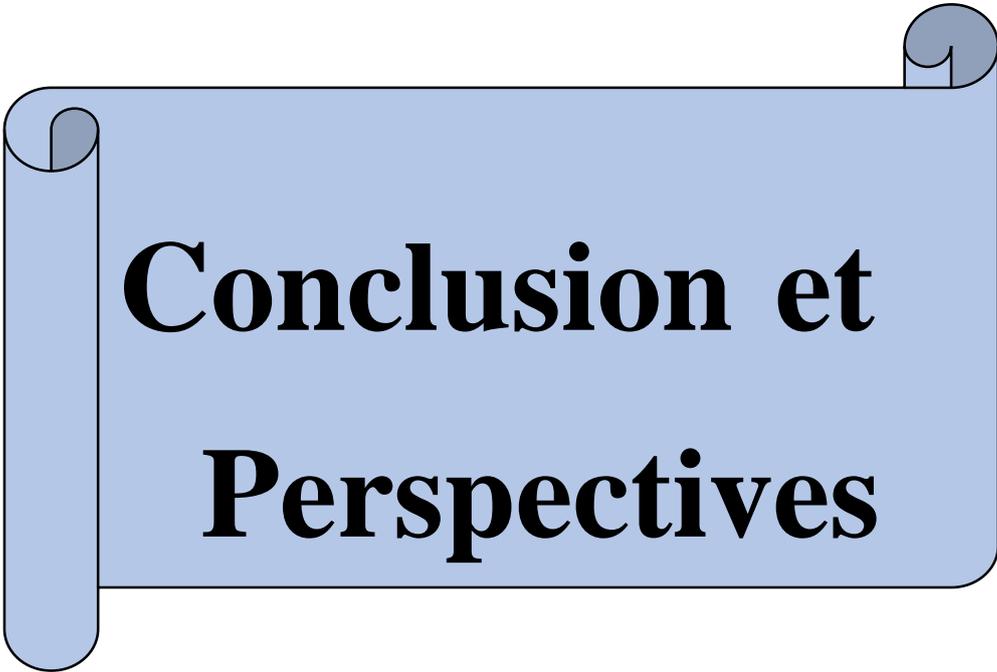
*Candida albicans* est une souche pathogène cosmopolite commensale de l'homme et des animaux. Le 4ème agent de septicémies, *Candida albicans* est considéré comme le principal champignon responsable de mycose des ongles qu'on peut observer au niveau unguéale (principalement sur les mains, et plus rarement sur les pieds). Le but de tester les extraits des margines sur cette souche rentre dans la problématique de l'utilisation des extraits naturels et/ou des molécules bioactives pour lutter contre les infections de différentes origines. Bien que très faible, l'extrait acétate d'éthyle est le seul extrait ayant montré une activité inhibitrice vis-à-vis de *Candida albicans* avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 5mm. Cette inhibition est notée à la concentration 25μg/ml.



Figure 34: Effet inhibiteur de l'extrait d'acétate d'éthyle des margines sur *Candida albicans*.

Jusqu'à l'heure actuelle, aucune étude n'a été réalisée sur l'activité antifongique des margines et/ou de leurs extraits sur l'activité fongique du dermatophyte *Candida albicans*, Par ailleurs

Nunes *et al.* (2021) n'ont pas enregistré d'activité antifongique des grignons d'olive sur *Candida albicans*.



**Conclusion et  
Perspectives**

## Conclusion et perspectives

---

Dans la présente étude, une caractérisation physico-chimique, phytochimique et biologique des margines a été réalisée dans le but de transformer cette effluent en produits naturels à haute valeur ajoutée. Pour cela, les effets antioxydants, anti-inflammatoires, cytotoxicité et antifongiques des extraits obtenus par différents solvants de différentes polarités ont été évalués.

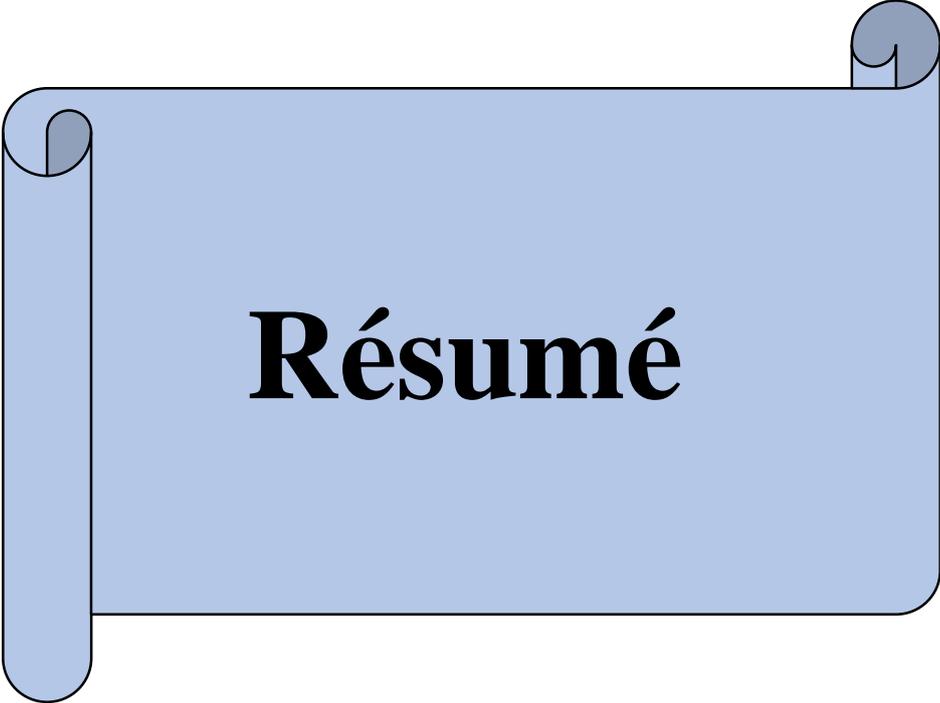
Les résultats ont montré une richesse en eau avec une présence modérée/ faible des protéines, lipides et minéraux. Une forte teneur en sulfates impose une phase de prétraitement des margines avant leur utilisation. Une teneur importante en phénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits organiques notamment l'acétate d'éthyle avec valeur de (373,21 µg EAG/gm), L'acétate d'éthyle est bien évident le solvant le mieux placé pour l'extraction des polyphénols à partir des margines.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits issus des margines via les deux tests DPPH, FRAP a montré une capacité antioxydante importante pour les trois extraits des margines.

Une très forte activité de piégeage du radical DPPH par l'extrait acétate d'éthyle a été enregistrée avec une puissance plus forte que le standard. Une activité anti-inflammatoire modérée est ainsi enregistrée pour tous les extraits. De plus, les résultats de cytotoxicité *in vivo* montrent clairement que les extraits des margines ne présentent aucune toxicité remarquable chez les larves d'Artémia. Nos extraits ont été testés vis-à-vis de la souche *dermatophyte Candida albicans*, l'extrait d'acétate d'éthyle présente une très faible activité antifongique contre cette souche. Plusieurs souches dermatophytes vont être testées ultérieurement.

En conclusion, l'extrait d'acétate d'éthyle pourrait constituer un alternatif à certains additifs synthétiques. Il est donc très probable qu'il contient des composés (Hydroxytyrosol, oleuropéine, secoiridoïdes) qui, une fois purifiés, peuvent présenter une activité comparable à celle de Trolox, des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants.

La récupération des polyphénols des margines aurait un double intérêt : d'une part, valoriser ces bio-phénols comme antioxydants naturels pour les utiliser dans le domaine cosmétique ou pharmacologique, et d'autre part, résoudre le problème de dépollution engendrée par le déversement de ce déchets accidentellement dans l'environnement.



# Résumé

## **Résumé**

Le déversement aléatoire et non contrôlé des margines continue de présenter de sérieux problèmes de pollution environnementale. La présente étude a pour objectif de caractériser les margines d'un point de vue physico-chimique, phytochimique et biologique en vue de leur éventuelle valorisation. A priori, les margines ont été analysées en déterminant leur taux en nutriments (matière grasse, protéines et minéraux) et en polluants (nitrates, nitrite, sulfates et ortho phosphates). Leur contenu en métabolites secondaires (phénols et flavonoïdes) ainsi leur pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire et antifongique in vitro ont ainsi estimés.

L'éventuelle risque engendré par l'utilisation des margines a été ainsi estimé à travers un test de cytotoxicité. Les résultats obtenus révèlent une présence modérée des nutriments (protéines et minéraux), une richesse en polyphénols et en flavonoïdes induisant ainsi un pouvoir antioxydant très appréciable. Néanmoins, la présence abondante de quelques polluants (nitrite et nitrate) nécessite une phase de prétraitement. L'activité anti-inflammatoire et antifongique sont négligeables comparativement aux témoins. L'essai de cytotoxicité révèle que notre déchet ne présente aucun effet préjudiciable sur les cellules vivantes.

De ce fait, les margines constituent un déchet avec une haute valeur ajoutée pouvant être valorisée après une phase de prétraitement.

**Mots clés :** Margines, polyphénols, activité antioxydante, activités biologiques, valorisation

## **Abstract**

The random and uncontrolled dumping of the OMWW continues to present serious environmental pollution problems. The objective of this study is to characterize the OMWW from a physico-chemical, phytochemical and biological point of view with a view to their possible valorization. A priori, the margins were analyzed by determining their nutrient content (fat, proteins and minerals) and pollutants (nitrates, nitrite, sulfates and ortho phosphates). Their content in secondary metabolites (phenols and flavonoids) as well as their antioxidant, anti-inflammatory and antifungal power in vitro were thus estimated, the possible risk generated by the use of margins was thus estimated through a cytotoxicity test. The results obtained reveal a moderate presence of nutrients (proteins and minerals), a richness in polyphenols and flavonoids, thus inducing a very appreciable antioxidant power. Nevertheless, the abundant presence of some pollutants (nitrite and nitrate) requires a pretreatment phase. The anti-inflammatory and antifungal activities are negligible compared to the controls. The cytotoxicity test reveals that our waste has no detrimental effect on living cells.

As a result, the curbs constitute a waste with a high added value that can be recovered after a pretreatment phase.

**Key words:** Margins, polyphenols, antioxidant activity, biological activities, valorization

## ملخص

لا يزال الاءهمال العشوائي وغير المنضبط لمخلفات زيتون يمثل مشاكل تلوث بيئية خطيرة. الهدف من هذه الدراسة هو توصيف هذه النفايات من وجهة نظر فيزيو- كيميائية وبيولوجية بهدف تثمينها المحتمل. تم تحليل هذه النفايات من خلال تحديد محتواها الغذائي (الدهون والبروتينات والمعادن) والملوثات (النترات والنترت والكبريتات وفوسفور البسيط). وهكذا تم تقدير محتواها في المستقلبات الثانوية (الفينولات والفلافونويد) وكذلك قوتها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات والفطريات، وبالتالي تم تقدير المخاطر المحتملة الناتجة عن استخدام الهامش من خلال اختبار السمية الخلوية. تكشف النتائج التي تم الحصول عليها عن وجود معتدل للمغذيات (البروتينات والمعادن)، وثناء في مادة البوليفينول والفلافونويد ، مما يؤدي إلى قوة مضادة للأكسدة ملحوظة للغاية. ومع ذلك ، فإن الوجود الوفير لبعض الملوثات(النترت والنترات) يتطلب مرحلة معالجة مسبقة. النشاط المضاد للالتهابات ومضاد للفطريات لا يكاد يذكر مقارنة بمواد لديها هذه الفعالية. يكشف اختبار السمية الخلوية أن نفاياتنا ليس لها تأثير ضار على الخلايا الحية .

نتيجة لذلك ، تشكل مخلفات زيتون ذات قيمة مضافة عالية يمكن استردادها بعد مرحلة المعالجة المسبقة .

كلمات مفتاحية: مخلفات الزيتون, متعدد الفينول ,نشاط مضاد الأكسدة ,نشاط بيولوجي, تثمين

## Références bibliographiques

**Aggoun M., Arhab R., Cornu A., Portelli J., Barkat M., et Graulet B. (2016).** Olive mill wastewater microconstituents composition according to olive variety and extraction process. *Food Chemistry*, 209, 72-80.

**Ajello L., et Getz, M. E. (1954).** Recovery of Dermatophytes from Shoes and Shower Stalls. *Journal of Investigative Dermatology*, 22(1), 17-24.

**Aissam H. (2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat national. Université Sidimohamed ben Abdellah. Fes. Tunisie. 156p

**Amaral C., Marco S. Lucas., Joa O., Antonio L., Crespi', Maria A., et Celia B. (2008).** Microbiological and physicochemical characterization of olive mill wastewaters from a continuous olive mill in Northeastern Portugal. *Bioresource Technology*, 99, 7215–7223.

**Baran R., et Hay R.-J. (2014).** Nouvelle classification clinique des onychomycoses. *Journal de Mycologie Médicale*, 24(4), 247-260.

**Bedouhene S., Moul-mati F., My-Chan P. et El-Benna J. (2017).** Oleuropein and hydroxytyrosol inhibit the N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-induced neutrophil degranulation and chemotaxis via AKT, p38, and ERK1/2 MAP-Kinase inhibition. *Inflammopharmacology*, 25 (6) 673–680.

**Bodman M. A., Syed H. A., et Krishnamurthy, K. (2024).** Onychomycosis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

**Christian M B.** Infections fongiques superficielles [Internet]. World Rendez-Vous on Dermatology. [consulté le 20 juill 2020]. Disponible sur: <http://www.world-rendezvous-dermatology.com/pack-info-live/congres-mondial-de-dermatologie-2019/compte-rendu/infections-fongiques-superficielles>

**Cossu R., Blakey N., et Cannas P. (1993).** Influence of Codisposal of Municipal Solid Waste and Olive Vegetation Water on the Anaerobic Digestion of a Sanitary Landfill. *Water Science and Technology*, 27(2), 261-271.

**De Marco E., Savarese M., Paduano A., et Sacchi R. (2007).** Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chemistry*, 104(2), 858-867.

**Dhanik, J., Arya, N., & Nand, V. (2017).** A Review on Zingiber officinale. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3) : 174-184.

**Djeridane, C A., Djeridane, Y., et Ammar-Khodja, A. (2006).** A clinicomycological study of fungal foot infections among Algerian military personnel. *Clinical and Experimental Dermatology*,

**Fiorentino, A., Gentili, A., Isidori, M., Monaco, P., Nardelli, A., Parrella, A., et Temussi, F. (2003).** Environmental Effects Caused by Olive Mill Wastewaters : Toxicity Comparison of Low-Molecular-Weight Phenol Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 1005-1009.

**Fki, I., Allouche, N., et Sayadi, S. (2005).** The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils : A potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93(2), 197-204.

**Günay, A., et Çetin, M. (2013).** Determination of aerobic biodegradation kinetics of olive oil mill wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, 237-242.

**Gupta, A. K., Versteeg, S. G., et Shear, N. H. (2017).** Onychomycosis in the 21st Century : An Update on Diagnosis, Epidemiology, and Treatment. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 21(6), 525-539.

**Grzanna, R., Lindmark, L., et Frondoza, C. G. (2005).** Ginger—An Herbal Medicinal Product with Broad Anti-Inflammatory Actions. *Journal of Medicinal Food*, 8(2), 125-132.

**Hamdi, M.** *Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de l'extraction de l'huile d'olive.*

**Hennebelle, T., Sahpaz, S., et Bailleul, F. (2004).** Polyphenols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.

**[https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_141.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf). (Consulté 10 mai 2024), à l'adresse [https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_141.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_141.pdf)**

**Jeguirim, M., Chouchène, A., Réguillon, A. F., Trouvé, G., et Le Buzit, G. (2012).** A new valorisation strategy of olive mill wastewater : Impregnation on sawdust and combustion. *Resources, Conservation and Recycling*, 59, 4-8.

**Jendoubi, F., Ben Lagha, I., Rabhi, F., Doss, N., Mrabet, A., Jaber, K., & Dhaoui, M. R. (2019).** Nail Involvement in Psoriatic Patients and Association with Onychomycosis : Results from a Cross-Sectional Study Performed in a Military Hospital in Tunisia. *Skin Appendage Disorders*, 5(5), 299-303.

**Khan, Z. U., Ahmad, S., Joseph, L., et Chandy, R. (2009).** Cutaneous phaeohyphomycosis due to *Neoscytalidium dimidiatum* : First case report from Kuwait. *Journal de Mycologie Médicale*, 19(2), 138-142.

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

**Lecerf, P., André, J., et Richert, B. (2014).** Prise en charge des onychomycoses. *La Presse Médicale*, 43(11), 1240-1250.

**Lee-Huang S., Zhang L., Huang PL., Chang Y T. et Huang PL. ( 2003).** Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and

OLE treatment. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 307, 1029 -1037  
**LEOUIFOUDI I, HARNAFI H. and ZYAD A. (2015).** Olive Mill Waste Extracts: Polyphenols Content, Antioxidant, and Antimicrobial Activities. *Advances in Pharmacological Sciences*. 2015, 714138.

**Onychomycoses.** Modalités de diagnostic et prise en charge, *Ann Dermatol Venereol*, 134, (2007).

**Nefzaoui A. (1991).** Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Options Méditerranéennes*, 16, 101-108.

**NOUBIGH A., ABDERRABBA M. and PROVOST E. (2007).** Temperature and addition effects on the solubility behaviour of some phenolic compounds in water. *Journal of Chemical Thermodynamics*, 39, 297-303.

**Piraccini, B. M., et Alessandrini, A. (2013).** Drug-related nail disease. *Clinics in Dermatology*, 31(5), 618-626.

**PROCIDA G. et CECCON L. (2006).** Gas chromatographic determination of free fatty acids in olive mill waste waters. *Analytical Chimica Acta*, 561, 103–106

**Raboobe, N., Aboobaker, J., Peer, A. K., et Micro, M. (1998).** Tinea pedis et unguium in the Muslim community of Durban, South Africa. *International Journal of Dermatology*, 37(10), 759-765.

**Richard N., Arnold S., Hoeller U., Kilpert C., Wertz K. et Schwager J. (2011).** Hydroxytyrosol is the major anti-inflammatory compound in aqueous olive extracts and impairs cytokine and chemokine production in macrophages. *Planta Medica*, 77(17), 1890-7

**Roseeuw, D. (1999).** Achilles foot screening project : Preliminary results of patients screened by dermatologists. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 12(s1).

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

**Sarkar S. K., Saha M., Takada H., Bhattacharya A., Mishra P., Bhattacharya B., 2007.** Water quality management in the lower stretch of the river Ganges, east coast of India: an approach through environmental education, *Journal of Cleaner Production*, Vol 15, Issue 16, 2007, 1559- 1567p

**Shari, Richard , et Adam (2018).** Routine and Emerging Techniques in Onychomycosis Diagnosis. *Onychomycosis: diagnosis and effective management(ebook)* / edited by Dimitris Rigopoulos,

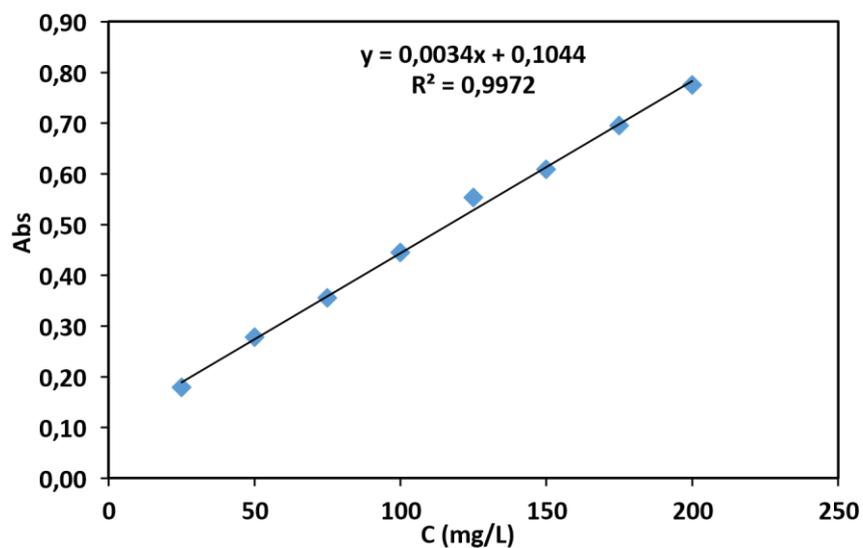
**Shemer, A., Trau, H., Davidovici, B., Grunwald, M., & Amichai, B. (2008).** Onychomycosis due to artificial nails. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 22(8), 998-1000.

**Walling, H. W. (2009).** Primary hyperhidrosis increases the risk of cutaneous infection : A case-control study of 387 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 61(2), 242-246.

**Zbakh, H., et El Abbassi, A. (2012).** Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages : A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 53-65.

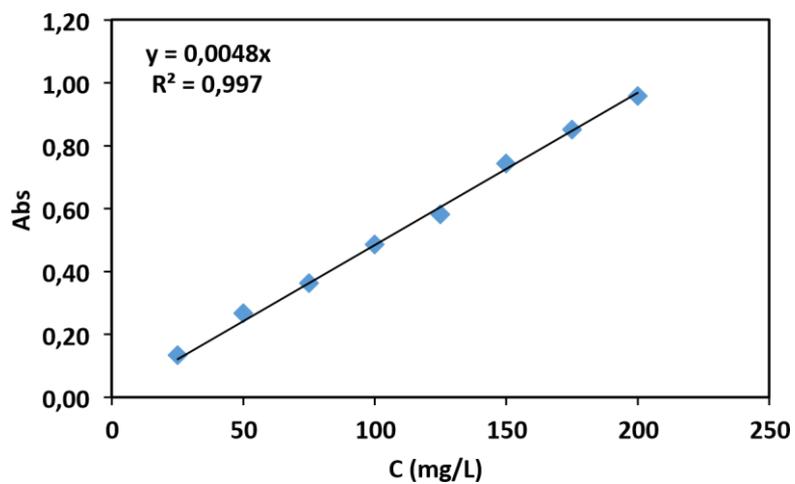
## Annexe

### Annexe1



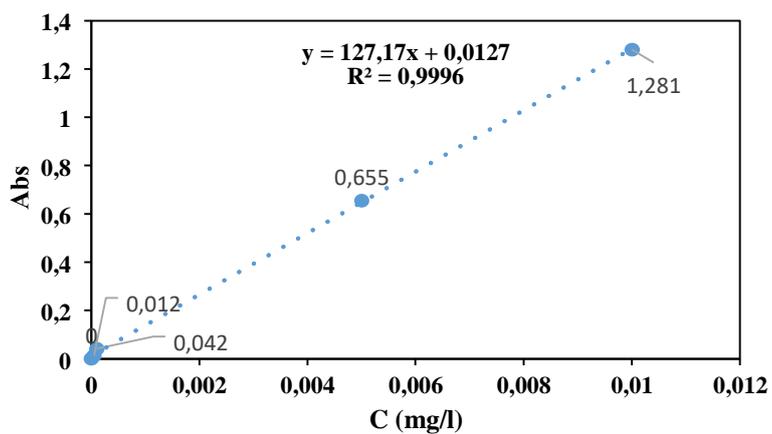
**Figure 1 :** Courbe d'étalonnage acide gallique (DPPH).

### Annexe 2



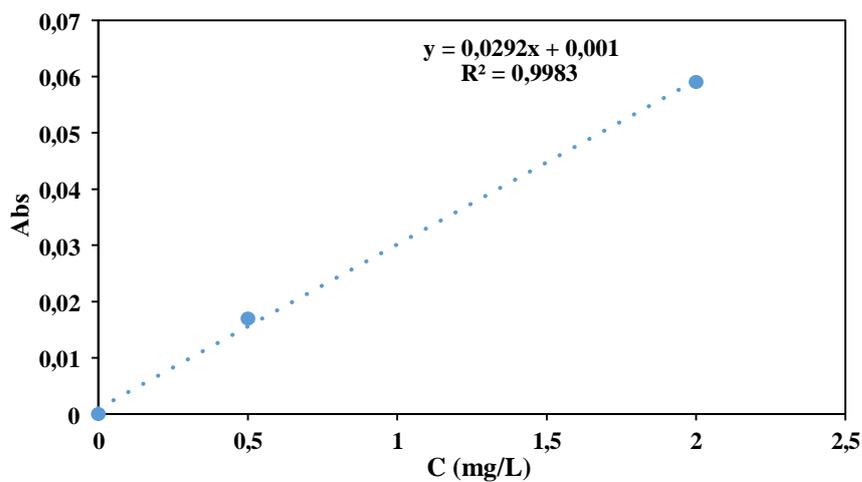
**Figure 2 :** Courbe d'étalonnage quercetine (Flavonoïde).

### Annexe 3



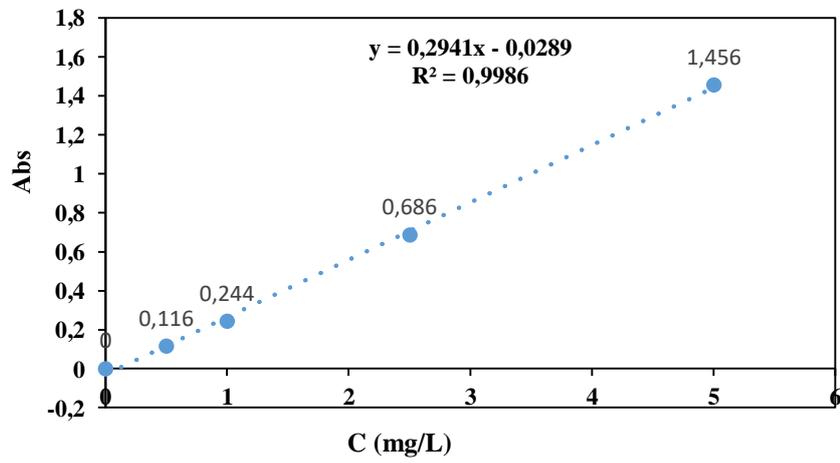
**Figure3** : courbe d'étalonnage d'orthophosphates.

### Annexe 4



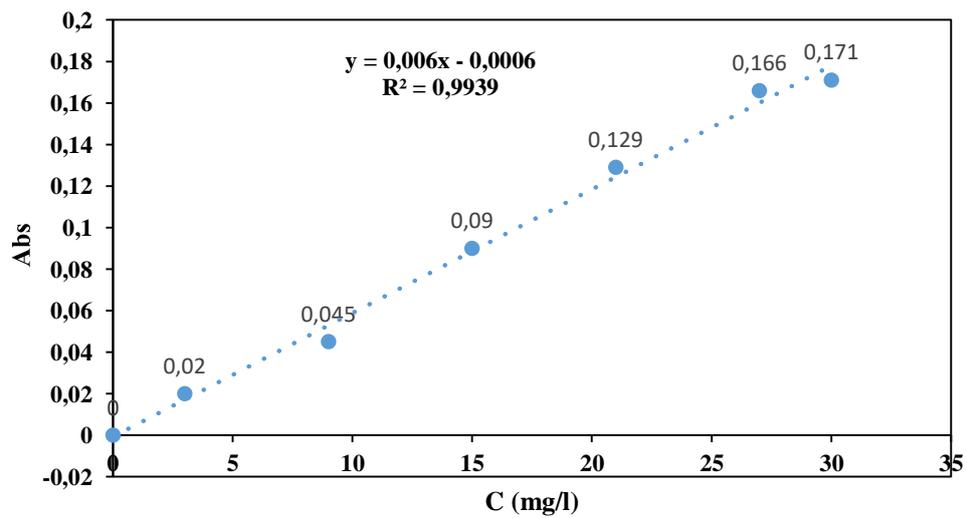
**Figure4** : Courbe d'étalonnage de nitrites.

## Annexe 5



**Figure 5** : Courbe d'étalonnage de nitrates.

## Annexe6



**Figure 6 :** Courbe d'étalonnage des sulfates.

**Annexe 7**

<b>produit</b>	<b>Formule chimique</b>	<b>Activité</b>
Chloroforme Acétate d'éthyle N-butanol Ethanol Méthanol	CHCl <sub>3</sub> C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH CH <sub>3</sub> OH	Solvants pour dilapidation et l'extraction et pour les affrontement
Acide sulfurique Tartrate d'antimoine et de potassium Molybdate d'ammonium Eau dionisée Acide ascorbique	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> K <sub>2</sub> SB <sub>2</sub> (C <sub>8</sub> H <sub>4</sub> O <sub>12</sub> ) (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	Dosage des orthophosphates
Chlorure de baryum  Tween 20  Sulfate de sodium anhydride  Acide chlorhydrique	BaCl <sub>2</sub>  C <sub>58</sub> H <sub>114</sub> O <sub>26</sub>  Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>  HCl	Dosage des sulfates
Salicylate de soduim Hydroxyde de sodium  Tartrate double de sodium et de potassium  Acide sulfurique	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NaO <sub>3</sub>  NaOH  KNaC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> .4H <sub>2</sub> O  H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Dosage des nitrates

Produit	Formule chimique	Activité
Folin-Ciocalteu Carbonate de sodium Hydroxyde de sodium Chlorure d'aluminium hexahydraté Nitrite de sodium	H3PW12O40/H3PMo12O40  Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  NaOH  AlCl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O  NaNO <sub>2</sub>	Dosages
1,1-diphenyl- 2-picrylhydrazyl (DPPH) Persulfate de sodium Ferrocyane de Potassium Acide trichloracétique (TCA)  Chlorure ferrique  Trolox  Acide ascorbique	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>  Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>  K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>  C <sub>2</sub> HCl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>  FeCl <sub>3</sub>  C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>  C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	Activité antioxydante
Bovine sérum albumine (BSA) Trisaminométhane (ou Tris) Acide hydrochlorique	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>  HCl	Activité antiinflammatoire
Sabouraud		Activité fongique



## Etude physico-chimique et biologique des margines en vue de leur valorisation

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en Microbiologie Appliquée

### Résumé

Le déversement aléatoire et non contrôlé des margines continue de présenter de sérieux problèmes de pollution environnementale. La présente étude a pour objectif de caractériser les margines d'un point de vue physicochimique, phytochimique et biologique en vue de leur éventuelle valorisation. A priori, les margines ont été analysées en déterminant leur taux en nutriments (matière grasse, protéines et minéraux) et en polluants (nitrates, nitrite, sulfates et ortho phosphates). Leur contenu en métabolites secondaires (phénols et flavonoïdes) ainsi leur pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire et antifongique in vitro ont ainsi estimés.

L'éventuelle risque engendré par l'utilisation des margines a été ainsi estimé à travers un test de cytotoxicité. Les résultats obtenus révèlent une présence modérée des nutriments (protéines et minéraux), une richesse en polyphénols et en flavonoïdes induisant ainsi un pouvoir antioxydant très appréciable. Néanmoins, la présence abondante de quelques polluants (nitrite et nitrate) nécessite une phase de prétraitement. L'activité antiinflammatoire et antifongique sont négligeables comparativement aux témoins. L'essai de cytotoxicité révèle que notre déchet ne présente aucun effet préjudiciable sur les cellules vivantes.

De ce fait, les margines constituent un déchet avec une haute valeur ajoutée pouvant être valorisée après une phase de prétraitement.

**Mots clés :** Margines, polyphénols, activité antioxydante, activités biologiques, valorisation.

**Laboratoire de recherche :** Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt) , Constantine

### Membres de jury

**Président du jury :** MEZIANI Meriem (MCA – UFM Constantine)

**Reporteur :** SEKHRI-ARAFI Nedjoudja (MCA – UFM Constantine)

**Co-encadrant :** AMOKRANE Sirine (MRB – C.R.Bt)

**Examinatrice :** DERABLI Besma (MAA – UFM Constantine)