



HAL
open science

Caractérisation et identification des polyphénols lors du traitement des déchets d'huileries d'olives par compostage

Ghita Ait Baddi, Mohamed Hafidi, Georges Merlina, Jean-Claude Revel

► To cite this version:

Ghita Ait Baddi, Mohamed Hafidi, Georges Merlina, Jean-Claude Revel. Caractérisation et identification des polyphénols lors du traitement des déchets d'huileries d'olives par compostage. *Agrochimica*, 2003, 47 (5-6), pp.161-172. hal-04498155

HAL Id: hal-04498155

<https://hal.science/hal-04498155>

Submitted on 11 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 18362

To cite this version : Ait Baddi, Ghita and Hafidi, Mohamed and Merlina, Georges and Revel, Jean-Claude *Caractérisation et identification des polyphénols lors du traitement des déchets d'huileries d'olives par compostage*. (2003) *Agrochimica*, Vol. 47 (n° 5-6). pp. 161-172. ISSN 0002-1857

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

Caractérisation et Identification des Polyphénols lors du Traitement des Déchets d'Huileries d'Olives par Compostage

G. AIT BADDI¹, M. HAFIDI^{1*}, G. MERLINA², J.C. REVEL²

¹ Unité Sol & Environnement, Département de Biologie, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, BP: 2390, Marrakech, Maroc; ² ENSAT-INR, Laboratoire d'Ingénierie Agronomique BP: 107, 31 326 Castanet-Tolosan, France. * Auteur correspondant: hafidi@ucam.ac.ma

INTRODUCTION. – Les pays méditerranéens producteurs d'huile d'olives sont toujours confrontés aux problèmes de production des déchets d'huileries. Actuellement, ce problème n'est plus limité au contour méditerranéen, dans la mesure où d'autres pays comme l'Argentine, l'Australie, l'Afrique du sud et la Nouvelle Zélande, connaissent une intensification de l'oléiculture (MADEJON *et al.*, 1998). Ces déchets liquides (margines) et solides (grignons) ont un impact négatif direct sur l'environnement à cause de leur charge polluante élevée. Ce pouvoir polluant est attribué en grande partie à la richesse des déchets d'huileries en polyphénols mais aussi à la potentialité d'effet synergique de ces derniers avec d'autres composés organiques et inorganiques (CAPASSO, 1997). En effet, les polyphénols se caractérisent par leur action toxique vis à vis de nombreux micro-organismes (WHITE HEAD *et al.*, 1982). Ils attaquent la viabilité des cellules végétatives et les processus de différenciation cellulaires (la sporulation), diminuant ainsi la persistance des bactéries du sol et les capacités de dégradation des microorganismes (PEREZ *et al.*, 1992). Ils peuvent inhiber l'activité des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote en inhibant l'activité des enzymes digestives et/ou en précipitant les protéines nutritionnelles (HATTENSCHWILER and VITOUSEK, 2000). Selon les mêmes auteurs les polyphénols incorporés au sol inhibent la nitrification mais aussi la décomposition et le recyclage des nutriments. Par conséquent, l'utilisation agronomique par épandage direct des déchets d'huileries d'olives, pourrait avoir de mauvaises répercussions sur le sol.

Si les tentatives de limiter la production intensive de ces déchets par de nouvelles technologies d'extraction d'huile d'olive à faible consommation d'eau, qui permettent d'éliminer partiellement ou totalement l'eau nécessaire à l'extraction d'huile et donc de réduire le volume des déchets liquides (margines), les déchets solides (grignons) ne peuvent être réduits et restent présents en importantes quantités.

Parmi les techniques proposées pour recycler ces déchets en agriculture, le compostage pourrait être intéressant car il permet la transforma-

tion des déchets d'huileries en des fertilisants organiques alternatifs aux fertilisants chimiques. Plusieurs travaux (CEGARRA *et al.*, 1996; MADRID et DIAZ BARRIENTOS, 1996; TOMATI *et al.*, 1996; GALLI *et al.*, 1997; ZENJARI, 2000) ont essayé de composter les margines en les mélangeant à des substrats solides riches en substances cellulosiques, ce qui a donné lieu à des produits très riches en substances humiques. D'autres auteurs (MADEJON *et al.*, 1998; FILIPPI *et al.*, 2002) se sont intéressés au compostage des grignons, en un produit final riche en matière organique et en nutriments.

Afin de s'assurer du devenir de la fraction polyphénolique des déchets d'huileries, nous avons suivi cette fraction pendant 12 mois du compostage du mélange grignons-margines paille, par l'analyse quantitative (méthode FOLIN-CIOCALTEU) et qualitative (la chromatographie sur couche mince et la chromatographie phase gazeuse/spectromètre de masse).

MATERIEL ET METHODES. – 1. *Essai de compostage.* – Le mélange de 280 Kg de grignons, 20 kg de paille et de 85 litres de margines a été composté en tas sur une plate forme, pendant une année. Un brassage est effectué tous les 15 jours pour aérer le mélange et l'activité micro-biologique a été suivie par mesure de la température du tas. Des prélèvements d'échantillons ont été effectués lors du mélange initial 0 et après 1, 3, 6 et 12 mois de compostage, pour le suivi des transformations du mélange. Les déchets d'huileries utilisés proviennent d'une unité semi-moderne d'extraction d'huile d'olive (Région de Marrakech, Maroc).

2. *Extraction.* – Les polyphénols ont été extraits à partir des échantillons de matières premières (grignons et margines) et du compost du mélange grignons-margines-paille. Les échantillons frais sont extraits selon la méthode de MACHEIX *et al.* (1990). 1 g de chaque échantillon est broyé à froid et mélangé avec 10 ml du méthanol 80%. Le mélange est agité pendant 10 min à 4 °C, centrifugé pendant 3 min, à 5000 rpm. Cette extraction est répétée trois fois pour épuiser les résidus et les surnageants obtenus sont évaporés pour éliminer le méthanol. L'extrait aqueux évaporé, est additionné à une solution de sulfate d'ammonium 40% (V/V) et à une solution d'acide métaphosphorique 20% 1/10 (V/V), puis on procède à une délipidation-dépigmentation par l'éther du pétrole pour analyse (V/2) trois fois, par la suite on extrait trois fois par l'acétate d'éthyle pour analyse V/V; l'extrait est évaporé à sec à 35 °C et le résidu est récupéré dans 2 ml du méthanol pur. Le choix de cette technique est justifié par sa simplicité et son efficacité d'extraire les polyphénols totaux. En effet, le traitement au méthanol 80% permet d'extraire la majorité des polyphénols, néanmoins cet extrait hydroalcoolique renferme d'autres substances apolaires (pigments et lipides) qui pourront interférées lors des dosages et des séparations. Leur élimination est effectuée par l'éther de pétrole en présence d'acide métaphosphorique et sulfate d'ammonium. Ces deux derniers composés permettent de réduire le taux des polyphénols dans la phase organique et empêchent leur oxydation. La purification à l'acétate d'éthyle permet l'élimination des protéines, des sucres et d'autres acides organiques. La même technique a été utilisée par RADI (1997) et ZENJARI *et al.* (1999).

3. *Analyse quantitative.* – Le dosage des polyphénols est réalisé en utilisant le réactif du FOLIN-CIOCALTEU (VAZQUEZ *et al.*, 1974). 200 µl d'extrait sont mélangés à 250 µl du réactif de Folin et 1,5 ml d'eau distillée. Après 3 min d'incubation, 0,5 ml du bicarbonate de sodium 20% (P/V) est additionné au mélange, le tout est placé dans un bain-marie pendant 20 min, à 40 °C. L'absorbance de la solution est mesurée par la suite au spectrophotomètre à 760 nm. La concentration des polyphénols dans les extraits est obtenue à l'aide d'une gamme étalon à base de(+)-catéchine préparée à 20 mg/100 ml de méthanol. L'extraction et le dosage des polyphénols totaux ont été répétés 4 fois. La comparaison des moyennes a été faite par une analyse de variance à un seul facteur (au seuil de 5%) par un logiciel SPSS 10.0 pour Windows.

4. *Analyse qualitative.* – a) Chromatographie sur couche mince. Les extraits des matières premières (grignons et margines) et ceux des différents stades du compost (0, 1, 3, 6 et 12 mois) sont analysés par chromatographie sur couche mince. 500 µl de chaque extrait sont concentrés à froid et 50 µl sont déposés sur une plaque de gel de Silice sur papier aluminium (Merck) avec indicateur de fluorescence. Le solvant de migration est constitué de chloroforme, d'acide acétique et du méthanol (8/1/2). Une autre séparation sur une plaque de cellulose (Merck) était effectuée, par un solvant constitué de butanol, d'acide acétique et d'eau (4/1/5). Les fractions des composés polyphénoliques séparées, sont observées sous UV, après passage à la vapeur d'ammoniac, à des longueurs d'ondes de 254 et 365 nm pour la plaque de cellulose et 254 nm pour la plaque de silice (ZENJARI, 2000).

b) Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les extraits polyphénoliques des grignons et des stades du compost (0, 6 et 12 mois) ont été analysés en chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Hewlett Packard 5890 series II connecté à un spectromètre de masse type HP 5971). La colonne est une HP5 MS (longueur 25 m, diamètre 0.200 mm et film 0,33 µ). Le volume d'injection est 1 µl. L'injection est effectuée en mode splitless, à une température initiale de 55 °C, avec l'hélium N55 comme gaz vecteur, à une pression tête de colonne 82 KPa. Le four est programmé de la façon suivante: 125 °C à 35 °C/min, 155 °C à 5 °C/min palier maintenu pendant 5 min, 250 °C à 20 °C/min palier maintenu pendant 35 min. Le détecteur de masse est à 280 °C, les spectres de masse sont obtenus en impact électronique (70 eV) sous une amplification de 1800 V en mode scan. L'identification des composés phénoliques a été réalisée par comparaison avec les temps de rétention et les spectres de masse de standards, après comparaison avec une bibliothèque NBS 54 K.

RESULTATS ET DISCUSSION. – Les déchets d'huileries sont caractérisés par un pH acide et une teneur en polyphénols de 0,05 et 0,10%; respectivement pour les grignons et les margines. Le processus du compostage s'est déroulé en une phase de stabilisation caractérisée par une courbe de température en cloche (1er mois), suivie par une phase de maturation caractérisée une baisse de température (AIT BADDI *et al.*, 2001).

1. *Analyse quantitative de la fraction polyphénolique.* – Le suivi du pool polyphénolique pendant le compostage du mélange grignons-margines-paille (Figure 1), montre un abattement des polyphénols de 64,26% pendant la phase de stabilisation. Cet important abattement est en rapport

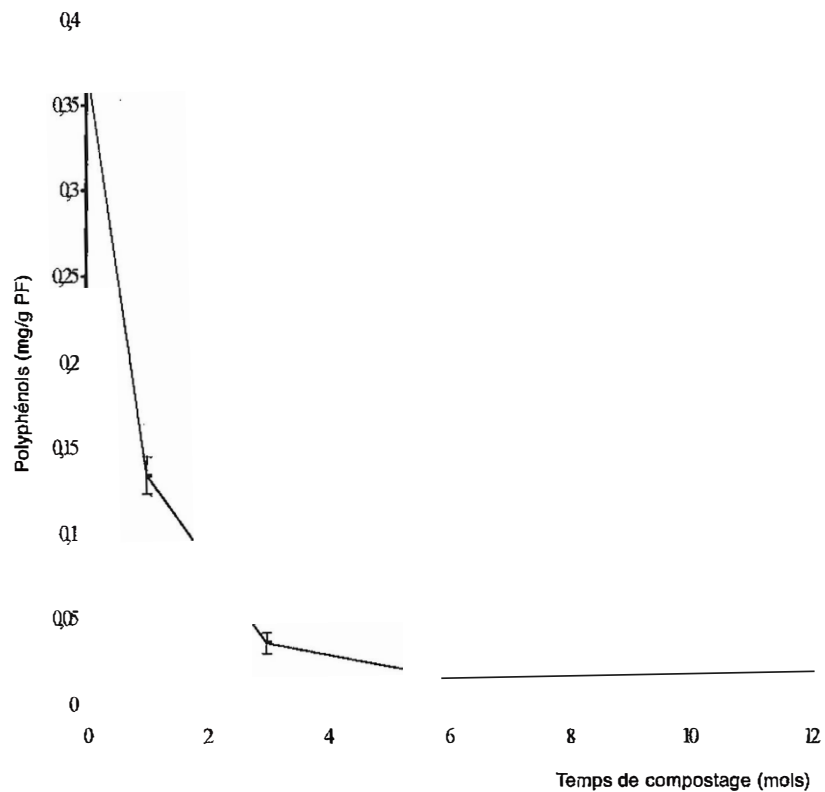


Fig. 1. – Evolution des polyphénols totaux lors du compostage du mélange grignons-margines-paille.

avec l'intense activité microbologique pendant cette phase thermophile. La diminution des polyphénols se poursuit également pendant la phase de maturation mais plus lentement indiquant la diminution de l'activité microbienne. MADEJON *et al.* (1998), ont attribué cette réduction polyphénolique à la microflore fongique qui est l'agent responsable de la métabolisation rapide des composés phénoliques dans la phase thermique par le biais des polyphénoloxydases. L'abattement maximal observé est de 96% au 6^{ème} mois de compostage, mais au fur et à mesure qu'on passe au 12^{ème} mois, l'abattement est de 93% avec une augmentation des polyphénols d'à peu près 3%. Cette augmentation pourrait être expliquée d'une part, par d'autres composés non phénoliques qui s'interfèrent avec les polyphénols lors du dosage de ces derniers comme les protéines et les substances humique et parahumiques (CATALANO *et al.*, 1999). D'autre part, ça pourrait être du à certains composés polyphénoliques néoformés après dégra-

dation de ceux préexistants, ou à d'autres composés polyphénoliques qui ont subi une transformation par hydroxylation. Néanmoins, la comparaison des moyennes (ANOVA) au 9^{ème} et au 12^{ème} mois de compostage montre que l'augmentation des polyphénols n'est pas significative ($P = 0,561$).

2. *Analyse qualitative de la fraction polyphénolique.* – L'analyse qualitative des composés polyphénoliques effectuée par chromatographie sur couche mince monodimensionnelle sur plaques de silice et de cellulose (Figure 2), a permis de mettre en évidence la grande diversité des composés polyphénoliques dans les matières premières: les grignons et les margines (Figure 2). L'évolution de la composition en polyphénols durant les différents stades de compostage, montre une disparition de la majorité de ces composés des extraits des matières premières, néanmoins d'autres composés persistent jusqu'au dernier stade du compostage, ce qui est en accord avec l'abattement observé (93%) au cours de l'analyse quantitative.

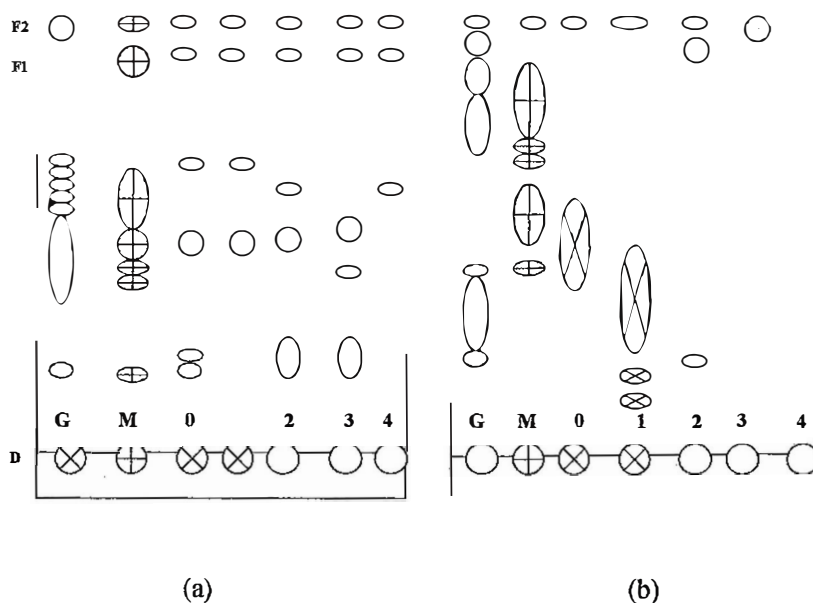


FIG. 2. – Chromatogramme d'une CCM monodimensionnelle, sur plaque de silice (a) et sur plaque de cellulose (b) des extraits de G, M, 0, 1, 2, 3, 4. G: grignons, M: margines, 0: mélange initial des grignons-margines-paille. 1: après un mois du compostage, 2: après trois mois du compostage, 3: après six mois du compostage, 4: après douze mois du compostage; D: dépôt, F₁ et F₂: Fronts.

La disparition ou la persistance des composés polyphénoliques au cours du processus du compostage dépend de leur degré de résistance à la biodégradation. En effet les composés polyphénoliques facilement biodégradables peuvent servir comme nutriments pour les microorganismes qui se développent au cours du compostage (ZENJARI, 2000) alors que d'autres composés polyphénoliques entrent dans la formation des substances humiques par condensation et polymérisation (TOMATI et GALLI, 1995). A la lumière de ces résultats, le compostage semble réduire très significativement l'action toxique des déchets d'huileries engendrée par les polyphénols. De même, le choix de ce produit structural (la paille) est d'une grande importance. En effet, les matières premières (grignons et margines) sont riches en composés polyphénoliques de polarité différente (Figure 2) et que leur mélange avec la paille au lieu d'être riche en polyphénols, présente moins de composés que les matières premières, dans nos conditions de chromatographie. Ceci pourrait être dû à une adsorption, de certains composés polyphénoliques par la paille, suffisamment forte pour inhiber leur extractibilité par les solvants utilisés. Dans l'objectif de vérifier cette hypothèse, un suivi de la fraction polyphénolique a été réalisé dans les solutions des margines additionnées de paille et dans les solutions de margines seules, au cours du temps et dans des conditions aseptiques (pour éviter toute dégradation des polyphénols par voie biologique). L'ajout de paille aux margines, a effectivement diminué la quantité des polyphénols préexistante par rapport aux margines sans paille. L'ampleur de ce phénomène d'adsorption est étroitement liée au rapport paille/margines et au temps de contact. Néanmoins, la fraction adsorbée peut être métabolisée après sa désorption ou lors de la dégradation de la paille.

Afin d'identifier les composés polyphénoliques existants à différents stades de compostage du mélange grignons-margines-paille, une recherche en chromatographie phase gazeuse/spectromètre de masse (CG/SM) a été entreprise sur ces mêmes extraits. Le mode de fonctionnement du détecteur (impact électronique en mode scan) permet d'enregistrer le spectre complet de chaque produit élué dans le domaine 35-350 uma, et de le comparer à une banque de données (NBS 54 K).

Sur l'ensemble des 44 produits trouvés en CG/SM pour l'extrait des grignons, seuls les 32 dérivés sont retrouvés lors du mélange grignons-margines-paille. Parmi ceux-ci figurent des dérivés identifiés comme des acides gras libres et les dérivés phénoliques qui nous intéressent. Le β D glucopyranose est aussi apparu (Temps de rétention T_r : 14,66) dans les premiers chromatogrammes. Par ailleurs, la chromato-

graphie CG/SM permet de suivre l'évolution lors du compostage de chaque dérivé et de connaître ceux dont la persistance a été observée au chromatographie couche mince. La confirmation des entités reconnues par la bibliothèque NBS 54 K a pu être réalisée à l'aide de produits purs disponibles au laboratoire. L'étude présentée ne peut être que qualitative.

L'analyse des chromatogrammes des grignons et des différents stades du compost (Tableau 1) a montré que la majorité de composés, détectés dans les grignons, subissent une dilution lors du stade initial (0). La plupart de ces composés ont été dilués à 30% alors qu'une minorité parmi eux, a été diluée à moins de 30% et une autre à plus de 30%. Il est à noter également que l'augmentation de l'aire des pics du produit (T_r : 17,002) pendant le stade initial du compost, pourrait être attribuée à l'apport de certains composés par les margines et/ou la paille. Après 6 mois du compostage, certains composés sont dégradés à 50% et d'autres à 20%, tandis qu'au 12^{ème} mois du compostage, d'autres composés qui n'ont pas été dégradés au 6^{ème} mois, sont dégradés avec des pourcentages qui varient entre 20% et 40%. Cette tendance est la même pour les composés polyphénoliques identifiés (Tableau 2). C'est ainsi qu'il y a disparition, dans le stade initial, de certains composés identifiés dans les grignons (le 4 hydroxy3méthoxybenzylalcool (T_r : 11,20) et l'acide parahydroxybenzoïque (T_r : 15,10)) alors que ceux qui persistent dans ce stade (les acides parahydroxybenzoate d'éthyle (T_r : 13,69), le vanillate d'éthyle (T_r : 15,05), 4 hydroxyphénylacétique (T_r : 15,20), l'acide 2,4,6 trihydroxybenzoïque (T_r : 17,29) et l'acide 3,5 dihydroxybenzoïque (T_r : 18,40)) subissent une réduction qui diffère d'un composé à l'autre (respectivement 4,10%; 20%; 8,60%; 75% et 17%). Ceci est en accord avec la disparition de certains composés polyphénoliques en CCM, dans le mélange initial par rapport aux matières premières (grignons et margines) et pourrait confirmer d'avantage le rôle de la paille dans l'adsorption de certains composés polyphénoliques mais encore plus, sa sélectivité vis à vis des composés polyphénoliques.

La totalité des composés identifiés, disparaissent au 6^{ème} mois du compostage et seul le vanillate d'éthyle (T_r : 15,05) qui persiste à ce stade. Ce composé est réduit à 53% (Tableau 1) au 6^{ème} mois, justifiant ainsi le taux d'abattement élevé (96%) observé, pendant ce stade, au cours de l'analyse quantitative. Néanmoins, au 12^{ème} mois du compostage, il y a une augmentation de la surface de pics de certains produits qui existaient au 6^{ème} mois, tandis que d'autres pics qui se sont disparus pendant ce stade, réapparaissent au 12^{ème} mois du compostage. Cette évolu-

TABLEAU 1. – Les différents composés identifiés, en fonction de leurs aires, dans les grignons et les stades du compost (0, 6 et 12 mois) en CG/SM et les rapports de surface entre mélange initial (0) et grignons (G), mélange au 6^{ème} mois (6) et mélange initial (0) et entre le mélange au 12^{ème} mois (12) et le mélange initial (0), * Composés identifiés.

Temps de rétention	grignons	stade 0	stade 6	stade 12	0/G	6/0	12/0
3,923	637 833	182 979			29%		
4,058			466 653				
4,399			272 570				
4,819	1 443 380						
5,080	808 146	282 393			35%		
5,233	656 359						
6,707		87 588					
8,414		200 205					
9,696	669 938	236 671			35%		
10,921	*11,02	2 276 992					
11,514				190 085			
12,490	2 615 060						
12,667	765 980						
12,847	1 702 237						
13,339	1 887 198						
13,943	*13,69	7 818 826	318 205		4,10%		
14,159		589 219					
14,583	*14,66	428 855					
14,856	*15,05	3 822 086	754 460	400 440	20%	53%	
15,087	*15,1	805 056					
15,221	*15,2	4 463 120	384 204		8,60%		
15,425		7 069 796					
15,622		1 851 246					
15,735		619 506					
15,892		16 154 456	125 478		0,78%		
16,029		3 133 377	921 114		29%		
16,217		2 145 994	302 230		14%		
16,339		10 922 302	218 306		2%		
16,543		843 738					
16,655		689 782					
16,742		1 107 608					
16,801		1 486 901	102 129		7%		
17,002		647 655	823 443				
17,28	*17,29	504 996	381 859		75%		
17,594		1 030 422		179 520			
18,103		2 688 355	823 431	147 095	30%		18%
18,197		928 349	393 189		42%		

Temps de rétention	étalons	grignons	stade 0	stade 6	stade 12	0/G	6/0	12/0
18,47	*18,4	3 975 301	665 095			17%		
18,612		3 310 871	531 644		213 417	16%		40%
18,714		904 400	304 481	143 449		34%	47%	
18,812		2 617 921	897 850	184 111	366 273	35%	20%	41%
18,980			1 664 337					
19,397		2 424 334	269 182					
19,436			659 396					
19,579			329 533		137 280			42%
19,644		1 221 708	340 896		67 977	28%		20%
19,845					103 849			
20,541					3 990 287			
21,712					160 113			
22,798		527 619						
25,556					265 446			
27,316			6 208 251					
33,256				68 129				
37,938		425 115						
51,105				138 586				
51,136				76 141				

tion pourrait être en relation avec la diminution du taux d'abattement des composés polyphénoliques au 12^{ème} mois du processus (93%).

Les composés polyphénoliques identifiés dans les grignons et dans les différents stades du compostage du mélange grignons-marges-paille, ont été identifiés dans les marges dans d'autres travaux antérieurs (KNUPP *et al.*, (1996); CAPASSO *et al.* (1997); CAPASSO *et al.* (1999); D'ANNIBALE *et al.* (2000); DI GIOIA *et al.* (2001)).

L'oleuropéine, est un phénylglucoside qui s'accumule dans les feuilles et les fruits d'olivier (CAPASSO *et al.*, 1997). Ce composé polyphénolique, grâce à son pouvoir inhibiteur, confère à l'olivier sa résistance aux microbes et aux attaques d'insectes. Lors de l'extraction d'huile d'olives, plusieurs transformations affectent l'oleuropeine parmi lesquelles, on peut distinguer la transformation chimique. Cette transformation se fait par hydrolyse acide et donne le glucose et un aglycone qui se transforme en hydroxytyrosol et en acide élénolique (CAPASSO *et al.*, 1997), ce qui justifie la présence β D glucopyranose (T_r : 14,66) dans les grignons, dans la présente étude. D'autres auteurs, ont rapporté la présence d'un autre produit dans les marges, c'est le tyrosol

TABLEAU 2. – Les composés phénoliques identifiés en fonction de leurs temps de rétention en CG/SM.

Composé phénolique	Temps de rétention (min.)
4 hydroxy3méthoxybenzylalcool	11,02
Acide parahydroxybenzoate d'éthyle	13,69
Vanillate d'éthyle	15,05
Acide parahydroxybenzoïque	15,10
Acide 4 hydroxyphénylacétique	15,20
Acide 2, 4, 6 trihydroxybenzoïque	17,29
Acide 3,5 dihydroxybenzoïque	18,40

(Hydroxyphényléthanol), dont l'oxydation par l'arthrobacter, selon KNUPP *et al.* (1996), donne le composé 4 hydroxyphénylacétique. Ce composé se trouve également dans les grignons (T_r : 15,20) et persiste dans le mélange initial. Selon les mêmes auteurs, la biodégradation partielle des acides coumarique et caffeïque présents dans les margines, donne l'acide 3, 4 dihydroxybenzoïque. Le même produit est identifié dans les grignons (T_r : 18,40) et dans le mélange initial. Tous ces composés polyphénoliques présentent une toxicité élevée vis à vis des plantes, des micro-organismes, des insectes et des cellules humaines (CAPASSO *et al.*, 1997), justifiant ainsi le pouvoir polluant des déchets d'huileries d'olives. Cette toxicité est plus accentuée vu l'action synergique qu'exerce les polyphénols en présence d'autres composés organiques et inorganiques (CAPASSO *et al.*, 1997).

CONCLUSION. – L'ensemble des résultats montre que le traitement du mélange grignons-marges-paille par le processus de compostage a permis de réduire significativement la fraction polyphénolique. En effet, l'abattement des polyphénols est de 64,2% à la fin de la phase de stabilisation (1 mois) et 93% à la fin de la phase de maturation (12 mois). Cet abattement polyphénolique est attribué en grande partie à l'activité enzymatique, en particulier pendant la phase thermophile.

L'analyse par CCM confirme la disparition de la majorité des polyphénols après 12 mois de compostage. De même, elle met une évidence une adsorption sélective des composés polyphénoliques, par la paille.

L'analyse par CG/SM a pu identifier, dans les grignons, les composés suivants: le 4 hydroxy3méthoxybenzylalcool, l'acide parahydroxybenzoate d'éthyle, le vanillate d'éthyle, l'acide parahydroxybenzoïque,

l'acide 4 hydroxyphénylacétique, l'acide 2, 4, 6 trihydroxybenzoïque et l'acide 3,5 dihydroxybenzoïque. La majorité de ces composés persistent toujours au mélange initial mais après 6 mois du processus, tous ces composés disparaissent et seul le vanillate d'éthyle qui persiste mais tout en étant réduit à 53% dans ce stade. Au 12^{ème} mois, aucun de ces composés ne persiste d'où le fort abattement des polyphénols observé au cours de ce stade.

REMERCIEMENTS. – Le travail est financé en partie par la JER 6013 associée à l'Agence Universitaire Francophone et PRAD 02/10 (Projet de Recherche Agronomique et Développement francomarocain).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AIT BADDI G., EL HADRAMI I. et HAFIDI M.: Traitement des déchets des huileries par un bioprocédé aérobie et production de substances humiques à haute valeur agronomique. *Ann Chim Sci Mat, Elsevier* 26, S459 (2001).
- CAPASSO R.: The chemistry, biotechnology and ecotoxicology of the polyphenols naturally occurring in vegetable wastes. *Phytochemistry*, 1, 145 (1997).
- CAPASSO R., EVIDENTE A., AVOLIO S. et SOLLA F.: A highly Convenient Synthesis of Hydroxytyrosol and Its Recovery from Agricultural Waste Waters. *J Agric Food Chem.* 47, 1745 (1999).
- CATALANO L., FRANCO I., DE NOBILI M. et LEITA L.: Polyphénols in olive-mill waste waters and their depuration plant effluents: A comparison of the Folin-Ciocalteu and HPLC methods. *Agrochimica*, 14, 193 (1999).
- CEGGARA J., PAREDES C., ROIG A., BERNAL M.P. et GARCIA M.: Use of olive-mill waste water compost for crop production. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 193 (1996).
- D'ANNIBALE A., STAZI S.R., VINCIGUERRA V. et SERMANI G.G.: Oxiraneimmobilised *Lentinula edodes* laccase: stability and phenolics removal efficiency in olive-mill waste water. *J Biotechnol*, 77, 265 (2000).
- DI GIOIA D., FAVA F., BERTIN L. et MARCHETTI L.: Biodegradation of synthetic and naturally occurring mixtures of monocyclic aromatic compounds present in olive-mill waste waters by two aerobic bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol*, 55, 619 (2001).
- FILIPPI C., BEDINI S., LEVI-MINZI R., CARDELLI R. et SAVIOZZI A.: Composting of olive oil mill by-products: Chemical and Microbiological Evaluations. *Compost Sci & Util.*, 10, 63 (2002).
- GALLI E., PASETTI L., FIORELLI F. et TOMATI U.: Olive-mill waste water composting Microbiological aspects. *Waste management & Research*, 15, 323 (1997).
- HATTENSWILER S. et VITOUSEK P.M.: The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *TREE*, 15, 238 (2000).
- KNUPF G., RUCKER G., RAMOS CORMENZANA A., GARRIDO HOYOS S., NEUGEBAUER M. et OSSENKO T.: Problems of identifying phenolic compounds during the microbial degradation of olive-mill waste water. *International biodeterioration & biodegradation*, Elsevier, 277 (1996).
- MACHEIX J.J., FLEURIET A. et BILLOT J.A.: Fruit phenolics. CRC Press Inc, Boca Raton Florida (1990).
- MADEJON E., GALLI E. et TOMATI U.: Composting of wastes produced by low water consuming olive-mill technology. *Agrochimica*, 13, 3 (1998).
- MADRID L. et DIAZ-BARRIENTO S.: Nature of the action of a compost from olive-mill waste water on Cu sorption by soils. *Environ Toxicol. Chem.*, 54, 93 (1996).
- PEREZ J., DE LA RUBIA T., MORENO J. et MARTINEZ J.: Phenolic content and antibacterial activity of olive oil waste waters. *Environ Toxicol Chem*, 11, 489 (1992).
- RADI M.: Etude des composés phénoliques de l'abricot en relation avec le phénomène de brunissement enzymatique. Thèse de 3^{ème} cycle, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, 145 p. (1997).
- TOMATI U., GALLI E., FIORELLI F. et PASETTI L.: Fertilizers from composting of olive-mill waste water. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Elsevier, 155-161 (1996).
- TOMATI U. et GALLI E.: Bioremediation of olive waste waters by composting. *Waste Management & Research*, 13, 509 (1995).

- VÁZQUEZ RONCERO A., GRACIANI CONSTANTE E. et MAESTRO DURAN R.: Componentes fenólicos de la aceituna. I - polifenoles de la pulpa. *Grasas y Aceites.*, 25, 269 (1974).
- WHITEHEAD D.C., DIBB H. et HARTLEY R.D.: Extractant pH and the release of phenolic compounds from soils, plant roots and leaf litter. *Soil Biol. and Biochem.*, 13, 343 (1982).
- ZENJARI B.: Etude ecotoxicologique des effluents liquides des huileries de la ville de Marrakech impact sur les milieux récepteurs et détoxification. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences, Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marakech, Maroc, 149 p. (2000).
- ZENJARI B., HAFIDI M., EL HADRAMI I., BAILLY J.R. et NEIMEDDINE A.: Traitement aérobie des effluents d'huilerie. par les micro-organismes du sol. *Agrochimica*, XLIII, 5-6, 277, (1999).

RESUME. – Le suivi de la fraction polyphénolique, a été effectué quantitativement (Folin-Ciocalteu) et qualitativement (CCM et GC/SM) lors du compostage des déchets d'huileries. L'analyse quantitative montre un abattement des polyphénols de 93% au 12 mois de compostage. L'analyse par CCM confirme cette réduction et révèle le rôle de la paille dans l'adsorption de certains composés phénoliques. La GC/SM a permis de confirmer ces résultats et d'identifier dans les grignons, les composés suivants: le 4 hydroxy-3-méthoxybenzylalcool, l'acide parahydroxybenzoate d'éthyle, le vanillate d'éthyle, l'acide parahydroxybenzoïque, l'acide 4 hydroxyphénylacétique, l'acide 2, 4, 6 trihydroxybenzoïque et l'acide 3,5 dihydroxybenzoïque, dont la majorité disparaissent après 12 mois de compostage.

SUMMARY. – The polyphenolic fraction was studied by quantitative (Folin-Ciocalteu) and qualitative (TLC, GC/MS) analyses during the olive mill waste composting. As showed by quantitative analysis, the polyphenols content decreased (93%) after 12 months of composting. The TLC analysis confirmed this reduction and highlighted the role of straw in the adsorption of some phenolic compounds. GC/MS results confirm this reduction and has permitted the identification of the following phenolic compounds: 4 hydroxy-3-methoxybenzylalcohol, ethyl parahydroxybenzoate, ethyl vanillate, parahydroxybenzoic acid, 4 hydroxyphenylacetic acid, 2, 4, 6 trihydroxybenzoic acid and 3,5 dihydroxybenzoic acid. The majority of these compounds disappeared after 12 months of composting.