



IMPACT ENVIRONNEMENTAL DES MARGINES SUR LES EAUX D'OUED OUSSEFROU : CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET EVALUATION PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE (CPG-SM)

THE ENVIRONMENTAL IMPACT OF OLIVE MILL WASTEWATER IN OUSSEFROU RIVER: PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION AND EVALUATION BY GAS CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH MASS SPECTROMETRY (GC-MS)

| Badreddine Zghari ^{1*} | Fatima Benyoucef ² | and | Abdellatif Boukir ¹ |

¹. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah | FST, Département des Sciences et Génie de la Matière, de la Terre et de la Vie | Laboratoire de Chimie Appliquée | Fès | Maroc |

¹. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah | Faculté des Sciences et Techniques Fès | Laboratoire de Chimie Appliquée | Fès | Maroc |

². Université Sultan Moulay Slimane | Faculté des Sciences et Techniques | Équipe de télédétection et SIG appliquées aux Géosciences et à l'environnement Unité | Beni Mellal | Maroc |

| Received | 15 October 2018 |

| Accepted 03 November |

| Published 19 November 2018 |

| ID Article | Zghari-ManuscriptRef.13-ajira211018 |

RESUME

Introduction : Les margines sont des déchets industriels, produites lors du processus de production de l'huile d'olive en tant que sous-produit. Jusqu'à présent, les margines constituent un problème environnemental majeur pour les pays producteurs de l'huile d'olive. **Contexte :** Dans ce sens, les eaux d'Oued Oussefrou connaissent actuellement une dégradation très poussée à cause des rejets des eaux usées des huileries situées à sa proximité, en particulier les margines. **Objectifs :** Cette situation écologique nous a incités à réaliser une étude expérimentale basée sur l'identification et la caractérisation des eaux de cette rivière et de discuter ainsi la charge polluante générée par ce type d'industrie. **Méthodes :** Afin d'estimer l'impact des margines sur l'environnement, les paramètres physico-chimiques (pH, Conductivité électrique, DCO) ont été déterminés sur 4 différents sites du cours d'eau analysé pendant 3 mois après la saison oléicole. L'extraction des composés organiques à l'acétate d'éthyle était très efficace. Ensuite, la méthode d'analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) a été utilisée dans le but d'identifier les composés chimiques constituant les eaux analysées. **Résultats :** Les eaux de la rivière étudiée se caractérisent par un pH légèrement acide, variant entre (6,21 et 6,95), tandis que le pH noté au point témoin varie entre (7,32 et 7,52). Une importante minéralisation exprimée par une conductivité électrique élevée variant entre (246 et 4260 $\mu\text{S}/\text{Cm}$) et une forte charge en matière organique exprimée par DCO allant jusqu'à 88000 mg/l. En plus, la CPG-SM a montré la présence des composés phénoliques, alcools, acides carboxyliques (acides aromatiques...), méthyle et méthylène de longue chaîne, des oléfines et des squelettes aromatiques substitués ont été également détectés. **Conclusions :** Les résultats montrent que les eaux d'Oued Oussefrou sont chargées de matières organiques, en confirmant la pollution générée par les margines.

Mots-clés: pH, Conductivité électrique, DCO, Pollution, Composés Phénoliques.

ABSTRACT

Introduction: The olive oil mill wastewater (OMW) is an industrial waste produced during the production process of olive oil as a by-product. So far, OMW have been a major environmental problem for olive oil producing countries. **Context:** In this sense, the waters of Oussefrou river are currently undergoing very severe degradation due to the discharge of waste water from the oil mills located in its vicinity, particularly the OMW. **Objectives:** This ecological situation prompted us to carry out an experimental study based on the identification and characterization of the waters of this river and thus to discuss the pollutant load generated by this type of industry. **Methods:** In order to estimate the impact of OMW on the environment, the physicochemical parameters (pH, electrical conductivity, COD) were determined at 4 different sites in the watercourse analyzed for 3 months after the olive season. The extraction of organic compounds with ethyl acetate was very effective. Then, the method of analysis by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) was used to identify the chemical compounds constituting the water analyzed. **Results:** The waters of the river studied are characterized by a slightly acidic pH, varies between (6.21 and 6.95), while the pH noted at the control point varies between (7.32 and 7.52). Significant mineralization expressed by high electrical conductivity ranging from (246 to 4260 $\mu\text{S}/\text{Cm}$) and a high organic matter load expressed by COD of up to 88000 mg/l. In addition, GC-MS showed the presence of phenolic compounds, alcohols, carboxylic acids (aromatic acids...), methyl and methylene of long chain, olefins and substituted aromatic skeletons were also detected. **Conclusions:** The results show that the waters of Oued Oussefrou are loaded with organic matter, confirming the pollution generated by the OMW.

Keywords: pH, Electrical conductivity, COD, Pollution, Phenolic Compounds.

1. INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, les humains cultivaient des oliviers et extraient de l'huile d'olive. Aujourd'hui, il y a environ 10 millions d'hectares, couverts de 900 millions d'oliviers dans le monde, dont près de 98% sont situés dans le bassin méditerranéen [1]. Le Maroc est un pays méditerranéen et une partie de son économie est basée sur la culture de l'olivier et la production de l'huile d'olive. Cependant, de nombreuses difficultés sont associées à cette activité, proviennent essentiellement des déchets solides et liquides [2]. Lors de la production de l'huile d'olive, une quantité importante des eaux usées estimées à environ 580 000 m³ et 30 millions de m³ sont générées respectivement au Maroc et dans le monde [1-3,4], formés dans une courte période, de 3 à 4 mois. De surcroît, un pressage d'une tonne d'olive avec les méthodes modernes produit une moyenne de 1,5 tonne de sous-produit liquide [5], communément appelé margine.

Ces déchets liquides, sont des mélanges complexes de couleur brun noirâtre. Constitués de 83 à 96% d'eau, sucre, substances azotés, acides organiques, polyphénols, polyalcools, pectines, mucilages, tanins et substances inorganiques [6]...

En général, les margines contiennent une variété de composés organiques et inorganiques de concentration et de nature différentes. Plusieurs facteurs peuvent affecter leur quantité, leur qualité et leur composition chimique pendant l'extraction et/ou après leur rejet dans le milieu récepteur, notamment : la variété d'olive, la maturité des fruits, les conditions climatiques, la nature du sol, les pratiques agronomiques de culture et de récolte, l'âge des oliviers et les méthodes d'extraction [2-7] etc.

Il est à noter que l'absence des méthodes efficaces de traitement et de valorisation ainsi que du contrôle rigoureux (pollueur-payeur) poussent les propriétaires des huileries à rejeter leurs margines directement dans les cours d'eau sans aucun traitement préalable.

Le rejet des margines non traitées et extrêmement chargées en matières organiques pose un problème écologique majeur pour les pays producteurs de l'huile d'olive. En raison de la charge organique fortement toxique [1], l'acidité du pH et la forte demande chimique et biologique en oxygène (DBO, DCO), les margines exercent une activité polluante très élevée, comme déjà montré dans plusieurs études [8,9].

La charge polluante de margine en terme de DCO (Demande Chimique en Oxygène) est d'environ 70000 Tonnes par an [10,11]. En outre, 1m³ de margine équivaut à 200 m³ d'eau usée domestique [12,13] et provoque une pollution équivalente à 1500 personnes en un seul jour [14]. Le phénomène de contamination commence d'abord par le changement de coloration des eaux naturelles et le dégagement des odeurs nauséabondes (pollution ponctuelle) entraînant une pollution à longue distance des 3 matrices de l'écosystème en contaminant les eaux de surface et souterraines ainsi qu'une pollution diffuse du sol, et une pollution atmosphérique [15]. Il en résulte aussi une nuisance sur la santé humaine, sur la santé des animaux (sources d'abreuvement polluées) et aussi au niveau de l'agriculture (sources d'irrigation contaminées) engendrant ainsi une phyto-toxicité et des maladies graves. Cet impact se produit en raison de leur pouvoir d'inhiber le développement de certains micro-organismes et de plantes, de modifier les propriétés physico-chimiques du sol et de contaminer la nappe phréatique [4]. Plusieurs études ont montré que les composés phénoliques contenus dans les margines présentent un inconvénient majeur pour l'environnement et ils sont principalement les responsables de la toxicité [16] et de la phyto-toxicité [11-17,18], en plus d'une faible biodégradabilité causée par la présence d'une grande quantité de polyphénols [2], de composés aromatiques, d'acides gras libres et de sels inorganiques [19]. En effet, Les composés phénoliques sont reconnus comme étant des molécules stables et s'oxydent difficilement; en outre, leur forte concentration en sucre réducteur stimule la respiration microbienne en réduisant aussi d'avantage la concentration de l'oxygène dissous, ce qui rend l'air irrespirable et cause une asphyxie dans la vie aquatique [20]. La présence des lipides dans les margines forment au niveau de la surface de l'eau du milieu récepteur un film impénétrable, empêchant ainsi la pénétration de la lumière (réactions de photosynthèse) et de l'oxygène, et dont le résultat est la destruction totale de la faune et de la flore aquatique et l'inhibition du développement à la fois des microorganismes et des plantes [1-21]. Ce phénomène ayant pour conséquence d'entraîner la dégradation de la qualité des eaux. En revanche, la capacité d'autoépuration sera limitée et la pollution peut s'étendre sur de très longues distances [19].

Plusieurs études ont été menées sur la margine, sous sa forme brute ou dans le milieu récepteur, et diverses méthodes analytiques ont été adoptées pour identifier et quantifier leurs substances. Une méthode colorimétrique, basée sur le réactif Folin Ciocalteu, a été la première méthode reconnue et utilisée jusqu'à présent [22].

Depuis l'année 1970, les procédures de séparation et de détermination qualitative et quantitative des composés polyphénoliques individuels par chromatographie en phase gazeuse (GC) ou chromatographie liquide (CL) ont démontré leur efficacité et ont été plus satisfaisantes, car chaque phénol peut avoir une toxicité différente [23,24]. En général, pour une caractérisation structurale performante, les méthodes spectroscopiques et chromatographiques sont efficaces pour l'analyse de ce résidu complexe et peuvent être utilisées séparément ou en combinaison.

Le travail réalisé, s'intéresse à l'étude de la variation et l'évolution des polluants chimiques en fonction du temps et de l'espace, en étudiant les caractéristiques physico-chimiques (Conductivité électrique, pH, DCO) et la composition organique (les polyphénols totaux, acides phénoliques, acides gras...) par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) de nos échantillons prélevés sur différents points de l'oued Oussefrou (zone Dir El Ksiba, province de Béni Mellal) contaminé par les margines. La détermination de plusieurs composés organiques de ce mélange complexe est proposée et la performance analytique de la CPG-SM a été établie pour l'évaluation de la charge polluante par ces composés organiques.

Toutefois, l'industrie oléicole représente l'activité la plus dominante dans cette zone. La quantité de déchets dans la zone de Dir El Ksiba est très importante. Ces rejets non traités constituent un risque majeur de pollution des eaux souterraines, car les rivières sont des milieux propices à l'alimentation directe des nappes phréatiques. La rivière étudiée reçoit les eaux usées non traitées des huileries situées à sa proximité et les eaux polluées sont acheminées vers d'autres rivières, comme Oum Er-Rabia utilisée pour l'irrigation des cultures et aussi pour l'approvisionnement des stations d'eau potable de plusieurs villes.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1 Echantillonnage:

Le prélèvement d'un échantillon d'eau polluée par les margines semble être très simple. Cependant, il faut s'assurer qu'il soit représentatif et reflète fidèlement l'état du cours d'eau à étudier.

L'échantillonnage est donc un des points-clés de l'étude de la pollution de Oued Oussefrou afin d'apprécier la répartition temporelle et spatiale de la contamination par les margines et leur niveau de concentration. Il acquiert aussi une grande importance dans la caractérisation des sites pollués. Les résultats analytiques obtenus doivent refléter d'abord la présence du polluant margine sur les sites étudiés mais avec une variation de concentration dépendant de la nature du site de prélèvement.

Sachant que le plan d'échantillonnage dépend des objectifs de l'étude et que la localisation des stations est une étape déterminante pour la réussite et la validité du suivi, nous avons choisi plusieurs stations le long d'Oued Oussefrou en tenant compte de la station témoin. Néanmoins, pour répondre aux questions concernant l'impact des rejets des huileries sur la qualité de l'eau du réseau hydrographique de la zone de Dir El Ksiba (figure 1) et l'identification des polluants margines, une série de prélèvements a été effectuée sur quatre stations (P0, P1, P2, P3) comme indiqué dans la figure 2. La dimension temporelle a également été prise en compte.

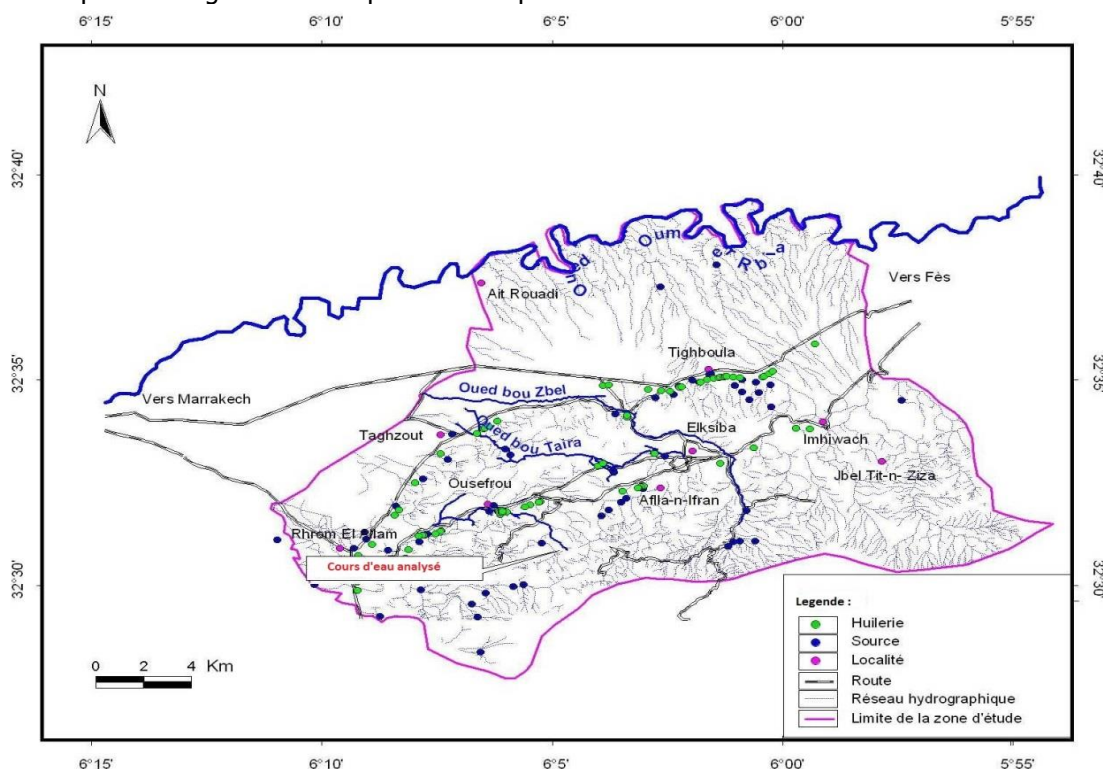


Figure 1 : la Figure montre la localisation du cours d'eau analysé dans le réseau hydrographique de la zone d'étude (Dir El Ksiba).

La première campagne d'échantillonnage s'est déroulée durant le mois de février et concerne quatre types de stations situées le long d'Oued Ousefrou (figure 2). Quant à la seconde campagne d'échantillonnage, elle a été réalisée durant le mois de mars, sur les mêmes sites localisés avant (durant la campagne de février). Enfin, la troisième campagne a été réalisée en avril.

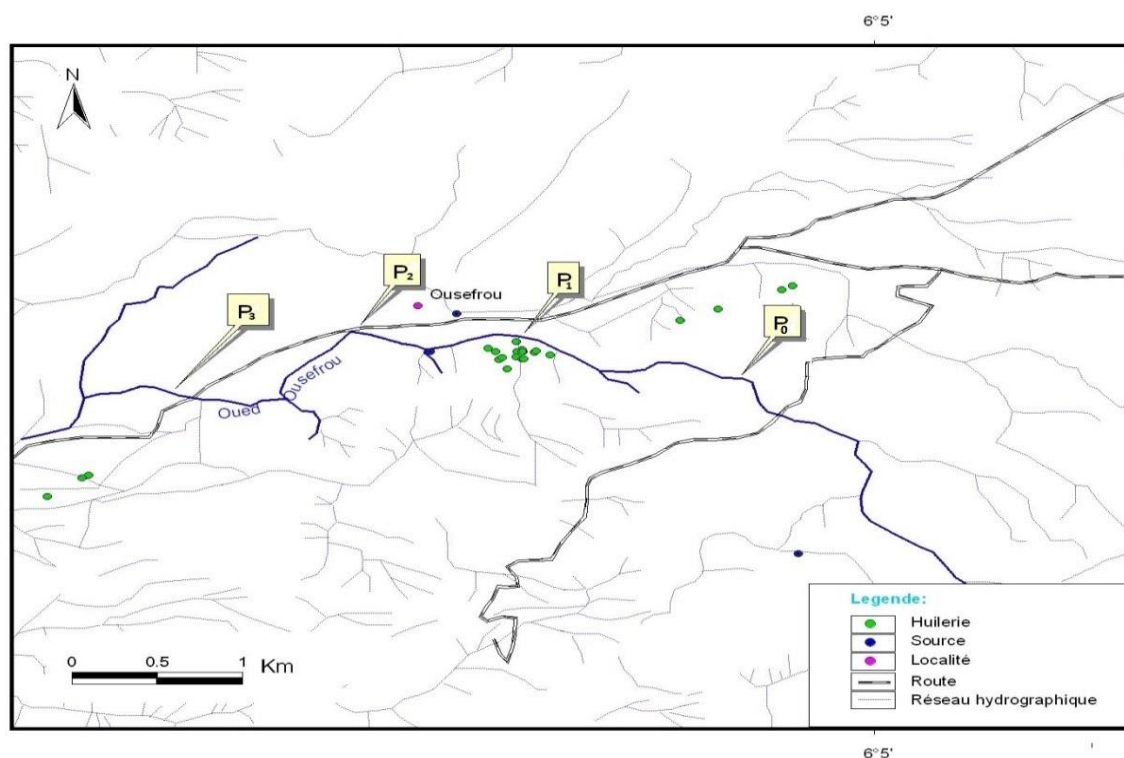


Figure 2 : La figure présente la localisation des points d'échantillonnage sur Oued Ousefrou.

Afin d'obtenir des échantillons d'eau représentatifs et d'éviter de soulever les sédiments qui peuvent contaminer les échantillons, les prélèvements ont été effectués, et ce dans la mesure du possible, dans le sens du courant et dans la zone où l'eau n'est pas stagnante.

Chaque bouteille en verre opaque de 1000 ml a été immergée complètement dans le cours d'eau et a été remplie individuellement, après rinçage 3 fois avec de l'eau de prélèvement.

Les échantillons ont été ensuite transportés au laboratoire dans une glacière permettant d'assurer la conservation de nos échantillons à la température de 4°C jusqu'à leur arrivée. De même, nous avons effectué les analyses physico-chimiques dès notre arrivée au laboratoire, tandis que les autres échantillons ont été stockés au réfrigérateur à la température de -20°C pour une utilisation ultérieure.

2.2 Analyses physico-chimiques

La caractérisation physico-chimique porte essentiellement sur l'étude des paramètres suivants: conductivité électrique (CE), acidité (pH), demande chimique en oxygène DCO. Certaines mesures ont été prises sur place et au moment du prélèvement, afin d'éviter l'évolution des échantillons, cas du pH et de la conductivité électrique. Chaque résultat obtenu représente une moyenne de trois essais d'analyses effectuées.

La mesure de la conductivité électrique de nos échantillons a été effectuée par l'utilisation d'une cellule de conductivité couplée à un conductimètre de type Inolab modèle Level 4. Les résultats sont corrigés à la température de 25°C, lus et exprimés directement en $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Un étalonnage de la sonde d'un conductimètre a été effectué au préalable par une solution étalon de KCl, afin de s'assurer que l'état de la cellule est correct et qu'aucun dépôt ne recouvre les électrodes. Alors que la mesure de l'acidité a été faite pour des échantillons de l'eau contaminée après l'étalonnage du pH-mètre de type, microcomputer G.Boyer, l'électrode de mesure a été plongée dans un bêcher contenant un volume de 20 à 30 ml, puis la valeur de pH a été notée.

Le DCO-mètre utilisé pour l'oxydation de la matière organique à chaud est de type COD Reactor de marque HACH (Hach Comany). Les valeurs de la DCO sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible de marque Jenway 6 105. La DCO est évaluée par la prise d'un échantillon de 2 ml convenablement dilué (100 fois) avant oxydation qu'on mettra dans un tube DCO contenant les solutions citées dans la figure 3. L'ensemble est mis dans un DCO-mètre pendant 2h. L'absorbance de l'échantillon est obtenue par spectrophotomètre UV à la longueur d'onde de 585 nm.

La figure 3 ci-dessous, illustre la démarche expérimentale permettant la détermination de la DCO selon le protocole décrit par CEAEQ (2016) [25].

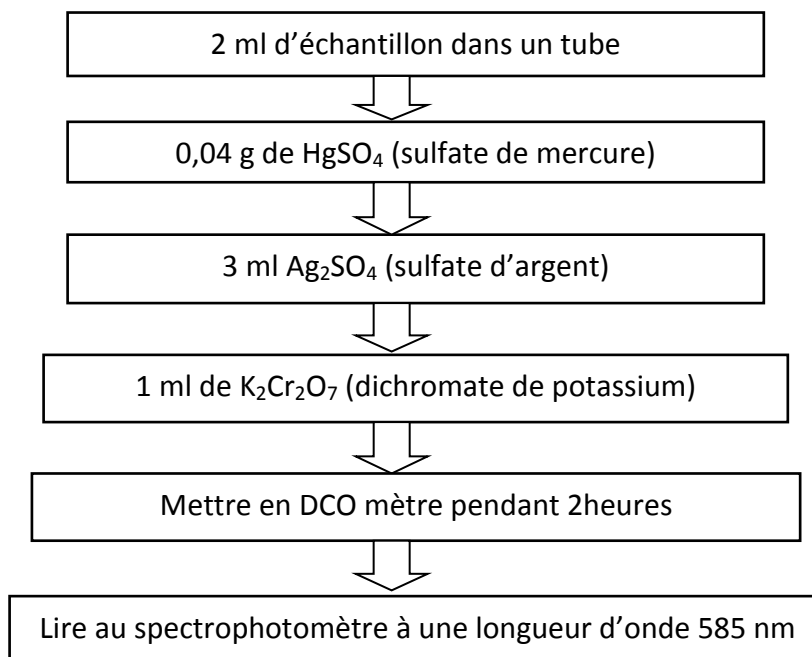


Figure 3 : La figure montre le schéma du protocole expérimental de détermination de la DCO (CEAEQ, 2016).

2.3 Extraction des composés phénoliques à partir des échantillons d'eau contaminés par les margines:

Les échantillons de l'eau contaminée par les margines et conservés à -20°C , ont été décongelés à 4°C . L'extraction des composés phénoliques a été réalisée selon la méthode décrite par De Marco et al. (2007) [26]. Les échantillons ont été acidifiés à pH 2 avec du HCl 2N permettant de rompre la liaison C-O-C liant les sucres aux polyphénols, puis lavés 3 fois avec de l'hexane pour éliminer la fraction lipidique (délipidation). 10 ml de l'échantillon ont été ajoutés à 15 ml d'hexane, le mélange a été vigoureusement agité pendant 1 minute au vortex, suivi par une centrifugation de 5 min à 3000 tr/min et à la température de 20°C . Les phases hexaniques ont été séparées et le lavage a été répété trois fois successives.

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée avec de l'acétate d'éthyle. En effet, Fki et al. (2005) ont démontré que l'acétate d'éthyle est le solvant d'extraction le plus efficace avec un taux d'extraction plus élevé [27]. Les échantillons de l'eau contaminée préalablement délipidés ont été mélangés avec 10 ml d'acétate d'éthyle, le mélange a été vigoureusement agité et centrifugé pendant 5 min à 3000 tr/min. Les phases ont été séparées et l'extraction a été répétée successivement trois fois. L'acétate d'éthyle a été évaporé sous vide, le résidu sec a été dissous dans 3 ml de méthanol et cette solution a été utilisée pour la caractérisation, la quantification et le fractionnement des composés phénoliques.

2.4 Analyse instrumentale par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM):

Les fractions organiques de notre échantillon (marges) ont été identifiées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse CPG-SM. Les analyses ont été effectuées à la cité d'innovation (CURI) de l'Université Sidi Mohammed Ben Abdellah.

Les chromatogrammes ont été enregistrés sur un chromatographe en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse polarisé avec utilisation de chromatographe en phase gazeuse Thermo Fisher – Polaris Q de type trace GC Ultra en mode Split/Splitless, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). La température d'ionisation a été fixée à 200°C . La colonne utilisée est une colonne capillaire apolaire TG-5SilMS 30 m x 0.25 mm ID, ϕ 0.25 μm d'épaisseur de film (Thermo Scientific™, Thermo Fisher Scientific Products, USA).

La température du four a été programmée à 40°C pendant 2 min puis une montée à 300°C à pas de $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$; la température de l'injecteur est fixée à 250°C , le mode d'injection est de type Split-less. Le débit du gaz vecteur Hélium (pureté 99,999 %) est fixé à 1 ml/min pendant 10 minutes. La température dans la ligne de transfert est de 300°C , le

volume de l'échantillon dans le mode d'injection directe était de 1 μ l. l'appareil a été relié à une base de données NIST6 main-Masse.

Les spectres de masse ont été enregistrés sur un spectromètre de masse de type Thermo Polaris Q Ion Trap en mode Impact Electronique (IE). L'énergie d'ionisation était de 70 eV. Les spectres de masse obtenus ont été identifiés par comparaison à ceux de la littérature et à ceux donnés par la bibliothèque spectrale NIST, PubChem et Wiley.

3. RESULTATS

Les résultats physico-chimiques obtenus des échantillons recueillis à partir de la rivière Oued Oussefrou pendant la période allant de février à avril ont été résumés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1: Le tableau présente les principales caractéristiques physico-chimiques des échantillons (margines) recueillis d'Oued Oussefrou sur quatre points différents P0, P1, P2 et P3

Paramètres	Valeurs			
	P0	P1	P2	P3
pH (a)	7,38 $\pm$ 0,03	6,21 $\pm$ 0,03	6,51 $\pm$ 0,01	6,70 $\pm$ 0,01
pH (b)	7,52 $\pm$ 0,02	6,44 $\pm$ 0,01	6,63 $\pm$ 0,02	6,84 $\pm$ 0,04
pH (c)	7,43 $\pm$ 0,02	6,69 $\pm$ 0,02	6,79 $\pm$ 0,02	6,95 $\pm$ 0,01
DCO (mg d'O ₂ /L) (a)	15,62 $\pm$ 0,72	88000 $\pm$ 245,86	9066,66 $\pm$ 64,13	7200 $\pm$ 54,97
DCO (mg d'O ₂ /L) (b)	16,77 $\pm$ 0,83	51133,3 $\pm$ 123,4	3400 $\pm$ 76,03	1666,6 $\pm$ 32,43
DCO (mg d'O ₂ /L) (c)	16,82 $\pm$ 0,52	7300 $\pm$ 47,05	866,66 $\pm$ 21,44	166,66 $\pm$ 18,21
Conductivité Electrique (μ S/cm) (a)	246 $\pm$ 8,12	4260 $\pm$ 52,77	1753 $\pm$ 22,01	769 $\pm$ 23,72
Conductivité Electrique (μ S/cm) (b)	278 $\pm$ 7,52	887 $\pm$ 24,36	662 $\pm$ 23	404 $\pm$ 18,12
Conductivité Electrique (μ S/cm) (c)	297 $\pm$ 8,50	502 $\pm$ 12,55	456 $\pm$ 13,61	353 $\pm$ 13,05

a: échantillon collecté au premier février; **b:** échantillon collecté au premier mars ; **c:** échantillon collecté au premier avril.

3.1 Conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique d'une eau contaminée est une mesure de la quantité des ions dissous présents dans un échantillon. Elle permet de déterminer la salinité des eaux qui ont été chargées par les margines. Cette problématique affecte le réseau hydrographique par les quantités non négligeables de sel (Na²⁺, Cl⁻, Ca²⁺, Mg²⁺, SO₄²⁻, NO³⁻, etc.) et peut représenter les impacts incontournables au niveau de la qualité de l'eau de surface et souterraine, au niveau de la végétation et même au niveau de la structure des sols.

Les mesures de conductivité dans les sites de prélèvements P0, P1, P2 et P3 sont proportionnelles à la quantité de sels ionisables dissous qui traduisent la forte minéralisation d'Oued Oussefrou. Les mesures effectuées nous ont permis de déceler les résultats qui sont présentés dans la figure 4 (ci-après). Ces derniers montrent l'évolution de la conductivité électrique en fonction du temps et de l'espace.

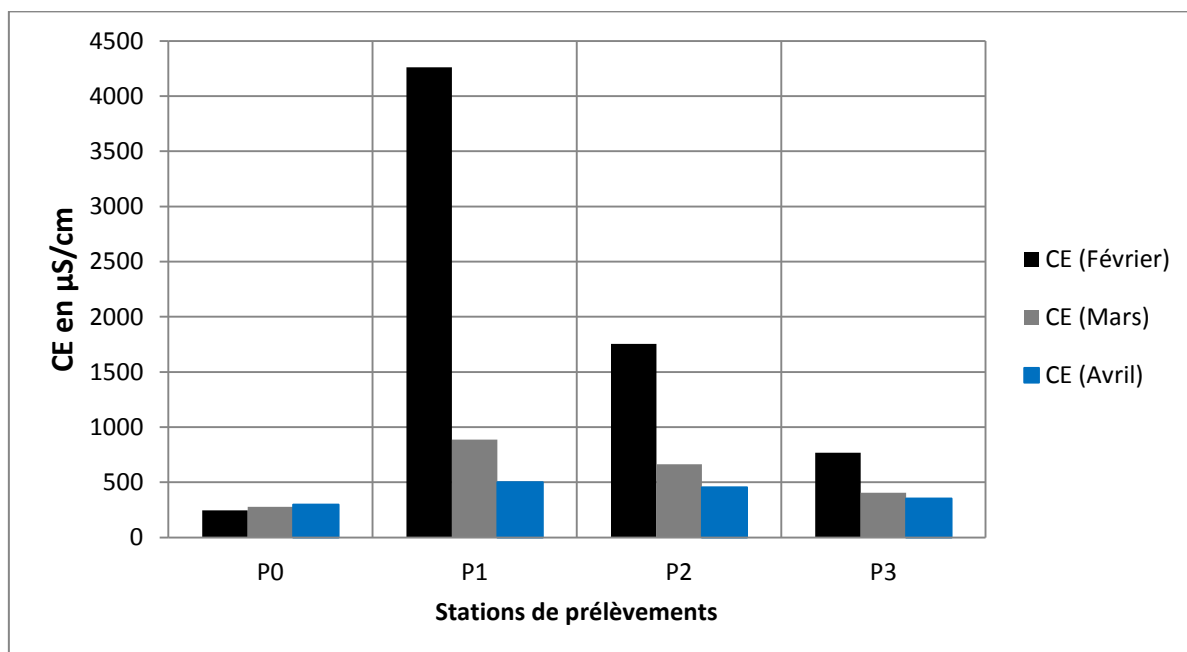


Figure 4 : La figure montre l'évolution de la conductivité électrique en fonction du temps et de l'espace

Les valeurs moyennes enregistrées, montrent des variations importantes entre le point témoin P0 et les autres points de prélèvements (P1, P2, P3). Elles fluctuent entre 246 $\mu\text{S/cm}$ à la station P0 et 4260 $\mu\text{S/cm}$ à la station P1 en Février, indiquant une excessive minéralisation attribuée aux rejets des margines des huileries avoisinantes de l'Oued, dépassant la norme marocaine relative aux eaux de surface (2700 $\mu\text{S/cm}$) (MDCEau, 2015) [28].

3.2 Acidité (pH)

La figure 5 ci-dessous illustre les résultats de l'évolution du pH en fonction du temps (a) février, (b) mars et (c) avril et en fonction de l'espace P0, P1, P2 et P3.

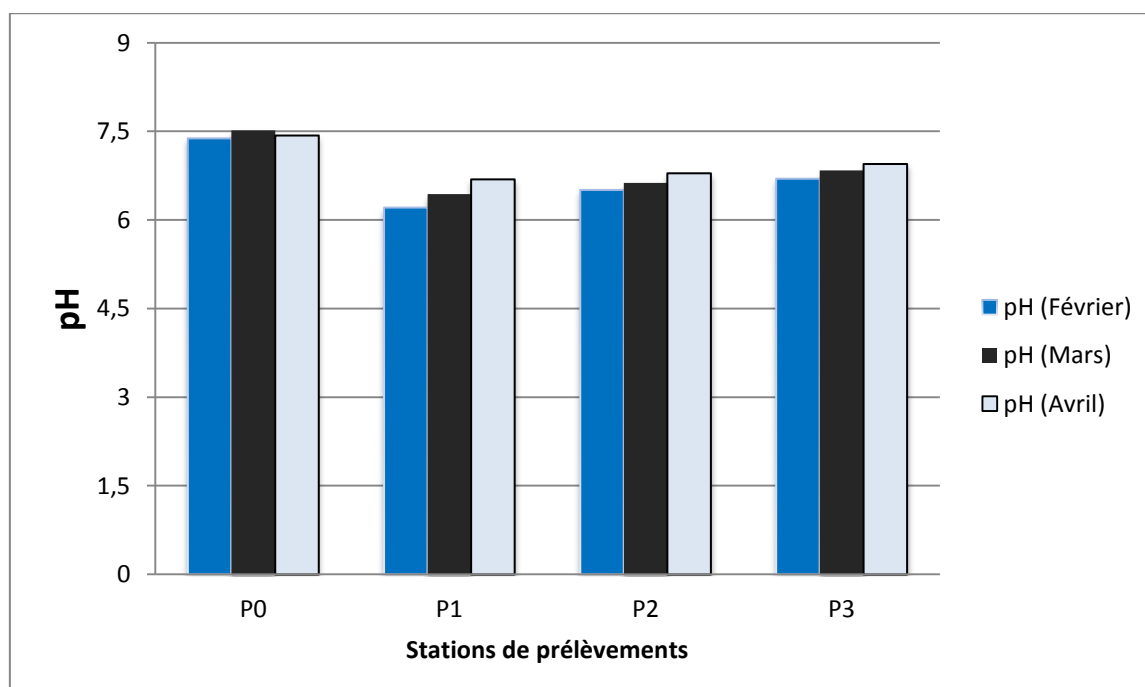


Figure 5 : La figure montre l'évolution du pH en fonction du temps et de l'espace.

La mesure du pH a été effectuée en trois reprises sur les douze échantillons à la température ambiante. La valeur du pH varie entre $7,32 \pm 0,03$ – $7,52 \pm 0,02$, $6,21 \pm 0,03$ – $6,69 \pm 0,02$, $6,51 \pm 0,01$ – $6,79 \pm 0,02$ et $6,70 \pm 0,01$ – $6,95 \pm 0,01$ pour P0, P1, P2 et P3 respectivement.

3.3 Demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène représente la quantité d'oxygène consommée par la matière organique et minérale oxydable contenue dans l'eau. Les teneurs en DCO enregistrées au niveau des eaux d'Oued Oussefrou sont comprises entre 15,62 mg d'O₂/l (P0) et 88000 mg d'O₂/l (P1).

La figure 6 ci-dessous, donne des résultats représentatifs de la demande chimique en oxygène (DCO) de nos échantillons et montre la variation de ce paramètre en fonction du temps et de l'espace.

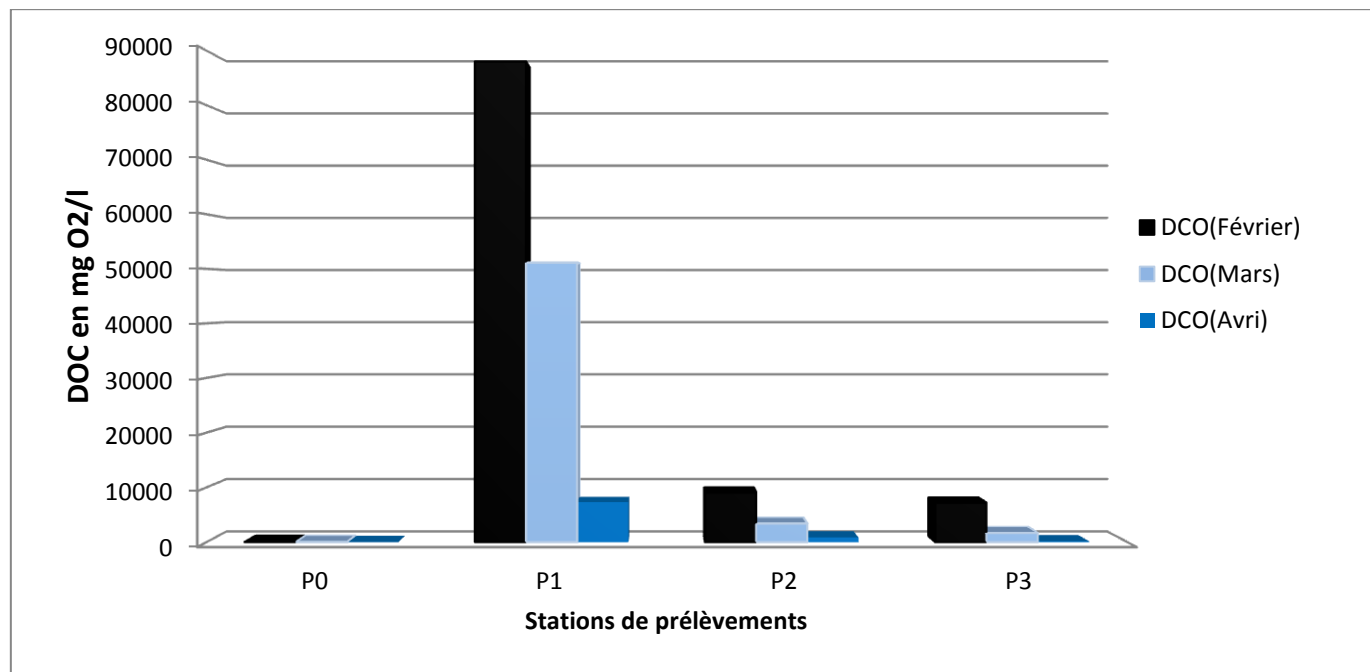


Figure 6 : La figure présente l'évolution de la DCO en fonction du temps et de l'espace

La majorité des valeurs de DCO trouvées dans les stations de prélèvements (P1, P2 et P3) dépassent largement la norme marocaine relative aux valeurs limites générales de rejet applicable aux déversements des eaux usées (5000 mg d'O₂/l) [28], à l'exception de celles trouvées à la station témoin P0 où toutes les valeurs sont largement inférieures à la norme. Globalement, les concentrations en DCO diminuent de la station P1 à la station P3. Par ailleurs, on a remarqué une diminution à la norme pour les deux derniers prélèvements 866,66 mg d'O₂/l et 166,66 mg d'O₂/l pour P2 et P3 respectivement. En fait, les valeurs obtenues pour l'oxygène dissous qui diminuent quand on passe du point P1 au point P3 le long d'Oued Oussefrou sont en relation avec la dégradation de la matière organique abondante par métabolisme bactérien ou par oxydation naturelle. Ces résultats peuvent aussi être dus au phénomène de dilution provoquant une diminution très importante de la concentration en oxygène dissous.

3.4 Identification par couplage chromatographie (CPG-SM)

Rares sont les études qui se sont intéressées à la caractérisation des margines dans le milieu naturel (Oueds par exemple) par utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à étudier la composition chimique de l'eau d'Oued Oussefrou contaminée par les margines en utilisant différentes techniques d'analyses chromatographiques et spectroscopiques et ce pour un échantillon collecté à P3 durant le mois d'avril (c).

L'identification des composés phénoliques est réalisée par chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). La figure 7 présente le chromatogramme CPG-SM de l'échantillon d'eau contaminée par les margines (P3c). Chaque pic chromatographique donne lieu à un spectre de masse caractéristique de la structure du composé (voir tableau 2). Il est constitué de l'ion moléculaire, de l'ion caractéristique et des fragments générés lors de la collision avec les électrons. L'ion caractéristique est spécifique à chaque composé ou famille de composés et peut être identique à l'ion moléculaire. La composition organique de l'eau polluée est encore assez complexe avec la présence de 21 constituants. L'identification de différents composés est basée sur leurs spectres de masse. Ces spectres de masse et les temps de rétention des composés permettent d'identifier les molécules présentes sur le chromatogramme par comparaison avec les spectres de masse publiés dans la littérature [29,30,31,32,33,34,35,36,37,38] ou dans la base de données de NIST, Wiley et PubChem.

RT: 0.00 - 60.02

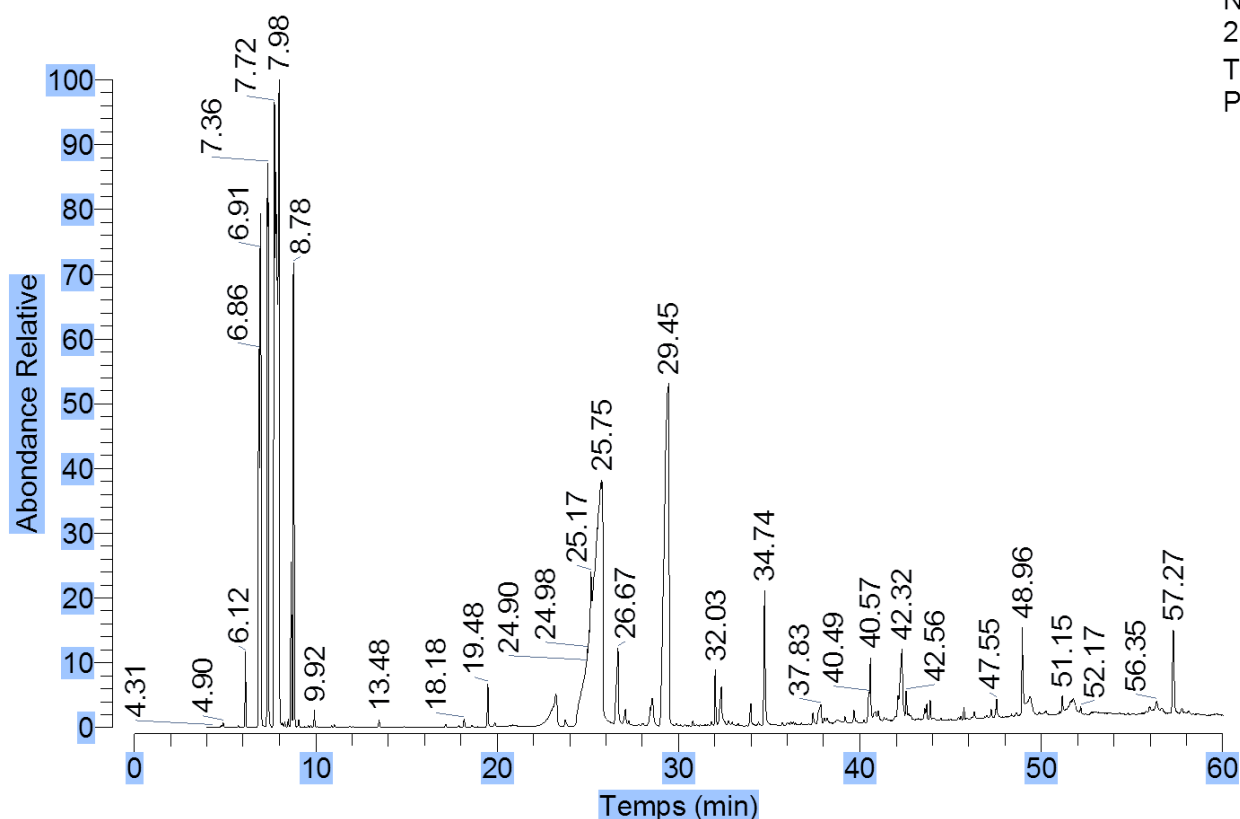
 NL:
 2.20E8
 TIC F: MS
 P30-E0


Figure 7 : La figure montre le chromatogramme CPG-SM de l'extrait des margines de l'échantillon (P3-c).

L'analyse par CPG-SM de notre échantillon (P3-c) a permis d'identifier plusieurs familles de composés par rapport aux études menées sur l'identification des composés organiques constituant les margines brutes [29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41]. La synthèse des résultats d'identification des composés organiques récupérés à partir de l'eau de Oued ousséfrou contaminée par les margines est présentée avec les spectres de masse dans le tableau 2. En effet, ces résultats ont montré une variation importante en composés organiques présents dans les margines. De même, on remarque que seulement l'acide benzoïque, catéchol, tyrosol et acide para coumarique ont été identifiés comme étant des composés déjà identifiés dans les margines brutes. Par ailleurs, d'autres nouveaux composés sont identifiés dans notre échantillon, tels que 2,2,5-triméthyl-3,4-hexanedione, 2,3-diméthyl-1-undécén-3-ol, 2,2-diméthylpentane, 2,4-diméthyl-2-décène, 3-méthyl-2-pentène, (2,2-diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)méthanol, triacétate de 1,2,4-butanetriyle, (2-méthoxy-2-propanyl)benzène, acétate de 2,3-dihydroxypropyle, triacétate de 1,2,3-propanetriyle, acide 3-cyclohexène-1-carboxylique, 5-(1-hydroxy-2-propanyl)-2-méthylcyclohexanon, benzophénone, (2E,4E)-3-méthyl-2,4-octadiénoate de méthyle, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)dibenzène, 2-benzylbiphényle et 1,3-diméthyl-2(1H)-quinoxalinone.

Les résultats de l'analyse par couplage CPG-SM accompagnés de leur temps de rétention, principaux fragments (m/z) et poids moléculaires sont résumés dans le tableau 2 (ci-après).

Tableau 2: le tableau résume les principaux composés identifiés par CPG-SM à partir de l'échantillon de l'eau d'Oued Oussefrou contaminé par les margines et leurs spectres de masse typiques.

Composé	T _r (min)	MM	Principaux fragments m/z
2,2,5-Triméthyl-3,4-hexanedione	6,12	156	71, 57, 43 (100%) , 41
ND	6,86	--	---
ND	6,91	--	---
2,3-Diméthyl-1-undécén-3-ol	7,36	198	85 (100%) , 57, 43
ND	7,72	--	---
2,2-Diméthylpentane	7,98	100	100, 85, 57(100%) , 43, 29
2,4-Diméthyl-2-décène	8,78	168	83 (100%) , 55,41
3-Méthyl-2-pentène	9,92	84	69, 55, 41(100%)
(2,2-Diméthyl-1,3-dioxolan-4-yl)méthanol	19,48	132	117, 101, 59, 57, 43(100%)
Triacétate de 1,2,4-butanetriyle	25,17	232	159, 117, 43(100%)
2-Méthoxy-2-propanylbenzène	25,75	150	135 (100%) , 91, 43
Acide benzoïque	26,67	122	122, 105(100%) , 77, 51,50,39
Acétate de 2,3-dihydroxypropyle	28,55	134	103, 86, 74, 61, 43(100%)
1,2-Benzènediol (catéchol)	29,45	110	110(100%) , 92, 81, 64, 63, 39, 27
Triacétate de 1,2,3-propanetriyle	32,03	218	145, 103, 43(100%)
Acide 3-cyclohexène-1-carboxylique	32,35	126	126, 108, 81(100%) , 80, 79, 54, 41
5-(1-Hydroxy-2-propanyl)-2-méthylcyclohexanon	33,98	170	170, 111(100%) , 55, 41
4-(2-Hydroxyéthyl)phénol (Tyrosol)	34,74	138	138, 107(100%) , 77
Acide 3-(4-hydroxyphényl)propanoïque	39,66	166	166, 107(100%) , 77
Benzophénone	40,57	182	182, 105(100%) , 77, 51
2E,4E-3-Méthyl-2,4-octadiénoate de méthyle	42,32	168	168, 125(100%) , 79, 109
1,1'-(1,2-Cyclobutanediyl)dibenzène	43,67	208	104 (100%) , 78, 51
2-Benzylbiphényle	48,96	244	244 (100%) , 165, 166
ND	51,15	--	--
1,3-Diméthyl-2(1H)-quinoxalinone	57,27	174	174 (100%) , 146,145

Tr : Temps de rétention ; **MM** : Masse moléculaire ; **ND** : Non définie

La figure 8 représente le spectre de masse de l'acide benzoïque au temps de rétention Tr=26,67 min. L'intensité des ions présents est représentée en fonction du rapport m/z. Nous observons la présence de radical cation [M⁺.] qui présente le pic moléculaire à m/z 122, un pic de base très intense à m/z 105 [M⁺·OH]⁺ correspond à (Ph-C≡O⁺). Il est à noter que la perte d'un fragment CO-OH (M⁺·OH-CO)⁺ conduit à la formation du fragment m/z 77 indicatif de [C₆H₅]⁺, tandis que le fragment m/z 51 (C₄H₃⁺) est caractéristique de (M⁺·OH-CO-C₂H₂)⁺. Ces résultats concordent bien avec ceux obtenus par Flores et al en 2017 [42].

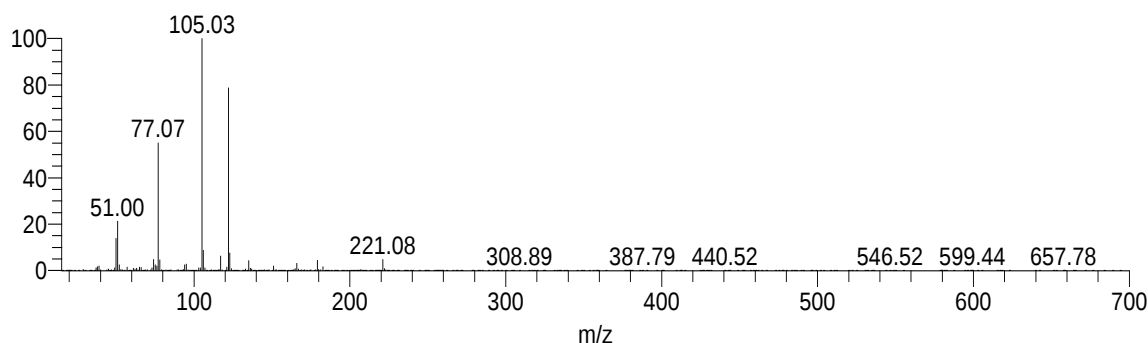


Figure 8 : la figure montre le spectre de masse de l'acide benzoïque de l'échantillon (P3-c) (Tr = 26,67 min).

Dans le spectre de masse à Tr=29,45 min (figure 9), on remarque un pic intense (pic de base) à m/z 110 qui correspond à l'ion moléculaire, on note aussi la détection de l'ion fragment à m/z 63. Cela et selon la base de données de NIST, Wiley et PubChem présente certes le catéchol (1,2-Benzènediol).

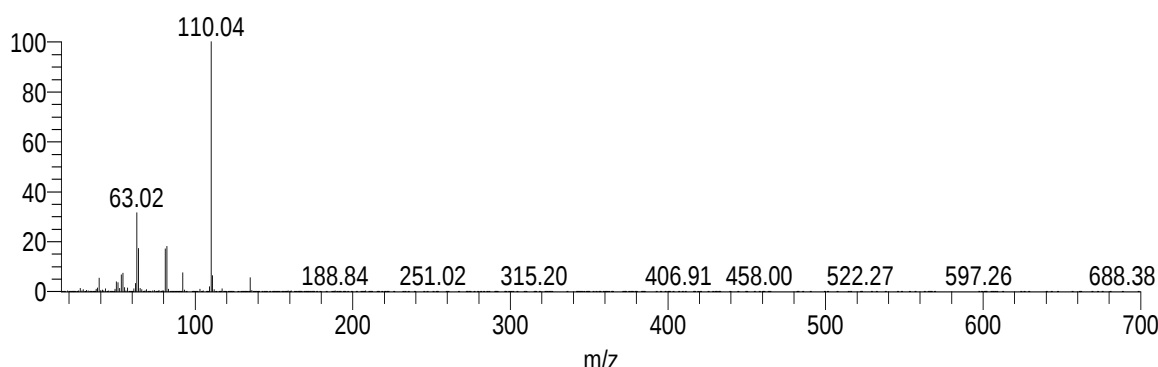


Figure 9 : la figure présente le spectre de masse du catéchol à Tr=29,45 min.

Le spectre de masse à Tr = 34,74 min (figure 10) montre un pic moléculaire m/z 138 [M⁺] caractéristique du Tyrosol, à côté de ce signal, on mentionne qu'un pic de base de forte intensité apparaît à m/z 107 qui correspondant à (M⁺-CH₂-OH), laissant supposer la perte de CH₂-OH (m/z 31), et un pic à m/z 77 attribué à [C₆H₅]⁺ [42].

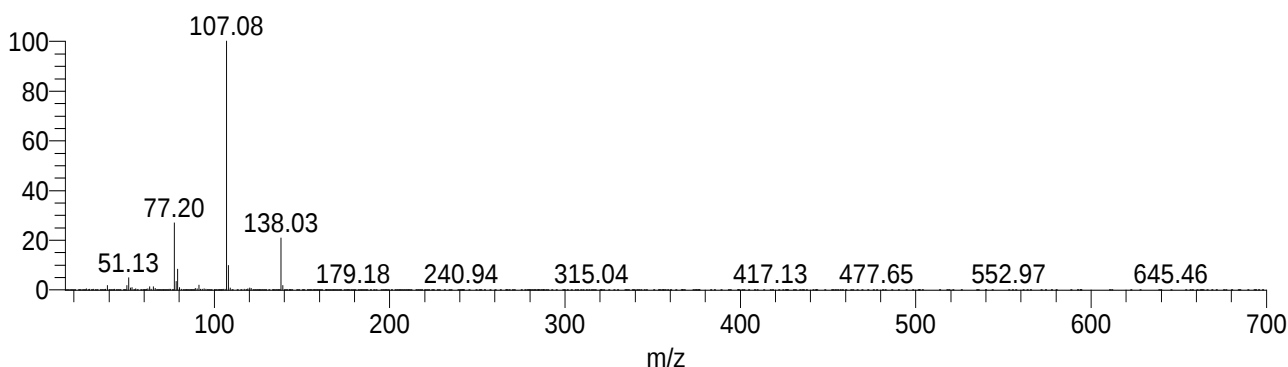


Figure 10 : La figure montre le spectre de masse du tyrosol à Tr= 34,74 min

Le spectre de l'acide para coumarique (acide 3-(4-hydroxyphényl)propanoïque) a été identifié par son ion moléculaire à m/z 166 et un pic de base à m/z 107 (M⁺-CH₂CO₂H)⁺ montrant la perte d'un fragment de masse 59 (*CH₂-CO₂H), la présence des ions mineurs à m/z 77 et m/z 51 correspondent respectivement à (C₆H₅)⁺ et (C₄H₃)⁺. Toutefois, la caractérisation des margines dans les conditions sèches a révélé la présence de ce composé [43].

Enfin, l'ion moléculaire à m/z 182 avec un pic de base à m/z 105 et des ions à m/z 77, m/z 55 élucident bien la présence de benzophénone. Généralement, le spectre de masse de la benzophénone est pauvre en fragments, avec des processus de fragmentation concurrents (pertes de CO et C₆H₅[•] de l'ion M⁺). L'élimination de C₆H₅[•] et (C₆H₅[•] + CO) à partir d'ions moléculaires de benzophénone conduit respectivement à des ions [C₆H₅CO]⁺ et [C₆H₅]⁺ à m/z 105 et m/z 77. Le m/z 51 caractérise la présence de [C₄H₃]⁺. Les résultats obtenus concordent bien avec ceux obtenus par Flores et al. (2017) [42].

Le pic, avec un temps de rétention à 48,96 min, a montré un ion moléculaire intense à m/z 244 (pic de base) caractéristique du composé aromatique. L'ion significatif à m/z 167 et m/z 165 peut s'expliquer par la perte de $C_6H_5^+$, suivie des pertes de molécule neutre de H_2 . Nous en déduisons néanmoins que la structure logique proposée pour ce composé correspond au 4-benzylbiphényle.

Les spectres de masse observés pour les autres composés sont résumés dans le tableau 2. L'identification a été confortée par la recherche dans l'abondante littérature relative aux molécules isolées et identifiées dans les extraits d'olive ou réalisées à partir des propositions de la bibliothèque de spectre de masse NIST, Wiley et PubChem.

4. DISCUSSION

Les margines présentent un rejet fortement pollué sous forme de liquide résiduel dont la composition est variable. Cette variabilité dépend du type d'olives, du degré de leur maturation, des systèmes de culture, méthodes de conservation des olives, des conditions climatiques et du procédé utilisé pour l'extraction d'huile d'olive. Les eaux contaminées par les margines utilisées dans notre recherche ont été analysées afin de recueillir plus d'informations sur les caractéristiques physico-chimiques, telles que la conductivité électrique, le pH et la demande chimique en oxygène (DCO).

La grande valeur de la conductivité électrique et la richesse en sels dépendent de plusieurs facteurs, tels que l'ajout du sel lors de la conservation des olives avant leur trituration et au cours de l'extraction de l'huile d'olive. La valeur 4260 $\mu S/cm$ reflète les fortes concentrations de sel existant dans ces effluents en raison des margines déversées directement dans cette rivière sans aucun traitement préalable. En effet, la richesse naturelle des sels minéraux donne aux margines une forte conductivité électrique, ainsi les charges importantes de pollution organique augmente également la conductivité.

La valeur de la conductivité diminue avec le temps et l'espace, elle atteint une valeur de 353 $\mu S/cm$ à la station P3 en avril. Cela s'explique également par la réduction du taux des margines rejetées, ainsi que par la capacité d'auto-purification de la rivière. En outre, Les eaux d'oued Oussefrou sont légèrement basiques voir neutres dans la station témoin P0 et légèrement acides dans les autres stations, cependant l'acidité de ces effluents est une caractéristique commune [44,45,46,47] en raison de la présence d'acides organiques (acides phénoliques, acides gras, etc.) [4-48] contenus dans les margines déversées sans traitement préalable dans cet Oued. Selon ces résultats, on peut conclure que l'acidité des rivières polluées diminue et dépend de la durée et de l'espace (le pH augmente et fait la moyenne neutre après la période oléicole). Cela s'explique par la réduction de la charge polluante pendant les mois de mars et avril (fin de la période oléicole) et aussi par la capacité d'auto-purification des rivières et l'effet de dilution sous l'action de la pluie qui réduit aussi la conductivité électrique de l'eau et diminue potentiellement la concentration de sels existants.

Les valeurs les plus élevées en DCO ont été enregistrées au sein de la station P1, cela pourrait être lié essentiellement au volume de margines rejetées et au nombre important des huileries se trouvant à proximité de ce point (figure 2). En outre, la haute valeur de DCO (88000 mg d' O_2/l) correspond à des niveaux élevés de polyphénols dans ce type d'effluent, cette teneur est très élevée par rapport à celle enregistrée dans d'autres types de rejets. En effet, la DCO ne dépasse pas 4020 mg d' O_2/l dans les effluents d'abattoir qui sont considérés comme les principaux rejets à caractère organique dominant [49]. Toutefois, selon les études menées en 2017 par Garcia et Hodaifa, les eaux de lavage d'olives ont un DCO dépassant 479 mg d' O_2/l [50]. De plus, le niveau élevé de DCO présente souvent un problème lors du traitement des eaux, car il est difficile de l'éliminer dans les conditions technico-économiques satisfaisantes. Cependant, la faible valeur (166 mg d' O_2/l), est attribuée à une diminution des niveaux de molécules organiques par dégradation de la matière organique qui conduit à une réduction de la DCO au fil du temps et de l'espace, montrant heureusement qu'elle est biodégradable.

Jusqu'à présent, les margines constituent un problème environnemental majeur pour les pays producteurs de l'huile d'olive. Elles comportent une fraction soluble qui contient les lipides, les sucres, les composés phénoliques et les acides organiques [51]. Une grande variété de composés chimiques de margines avec leur potentiel de causer des dommages à la faune et à la flore peuvent faire leur chemin à travers l'environnement. Ils peuvent être trouvés particulièrement dans l'eau et le sol et peuvent provenir de moulins d'industrie oléicole.

L'identification de ces contaminants est difficile en raison de la grande variété de composés potentiels avec des compositions chimiques différentes. En outre, il est probable que les contaminants sont produits par la dégradation dont le mécanisme est inconnu, ou par des procédés de transformation tels que l'hydrolyse. Ces défis requièrent des techniques analytiques sophistiquées qui sont sensibles, robustes, rapides et rentables. La chromatographie et la spectrométrie de masse sont des techniques qui peuvent répondre à ces critères. Au cours des dernières décennies, ces deux techniques ont été améliorées de manière spectaculaire, leur implication dans le domaine de l'analyse environnementale est de plus en plus importante.

La séparation et l'identification des composés phénoliques de faible poids moléculaire peuvent être assurées par différentes techniques analytiques (HPLC, CPG, UV, IR, SM). Cette identification est plus performante par couplage de certaines techniques (HPLC-SM, HPLC-SM-SM, CPG-SM) [26-38]. Les travaux de Obeid et al. (2005) et Dermeche et al. (2013) ont montré la présence de plus de 50 composés phénoliques différents qui ont été identifiés dans les margines brutes, ils sont très divers et leur structure est très variable [1-51,52]. Ils proviennent généralement de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus de trituration et ils sont hydrosolubles, ce qui explique leur concentration élevée dans les eaux de végétation (marges) [4].

Plusieurs monomères aromatiques ont été identifiés dans les marges brutes par des techniques chromatographiques, représentés essentiellement par des alcools et des acides phénoliques. Ces derniers, sont les plus abondants, ce qui explique alors l'acidité des marges.

Les tanins aussi sont des composés phénoliques à haut poids moléculaire essentiellement identifiés dans les marges considérées comme un des effets les plus visibles de la pollution par coloration des eaux naturelles.

Le chromatogramme CPG-SM a montré la présence d'une grande diversité de composés identifiés et souligne une hétérogénéité importante dans la composition organique de l'eau contaminée et chargée par les marges.

Il montre à titre d'exemple la présence de composés polaires suivants: Esters, fractions aromatiques (2-benzylbiphényle), alcools et fractions de phénols (catéchol, tyrosol), fractions acides (acide benzoïque, acide 3-cyclohexène-1-carboxylique, acide 3-(4-hydroxyphényl)propanoïque et des cétones. L'analyse par CPG-SM des extraits de l'échantillon de l'eau polluée par les marges a permis d'identifier une grande variété de composés organiques dont plusieurs ont été caractérisés pour la première fois.

La présence de ces composés dans notre échantillon nous incite à poser des questions sur ses origines et sur les voies de transformation des composés organiques et leur évolution en fonction du temps et de l'espace. Il semble que la dégradation de certains composés phénoliques des marges et les réactions d'oxydation et d'hydrolyse naturelle peuvent être à l'origine de ces nouveaux composés. On note également l'absence de certains composés fréquemment répandus dans les marges, par exemple l'hydroxytyrosol, l'acide gallique, l'acide syringique, l'acide vanillique, l'acide caféique, l'acide férulique, et acide salicylique. Ces composés sont facilement oxydables et leur transformation est fort possible.

La caractérisation par SM de certains composés présents dans notre échantillon a fait l'objet de synthèse dans les résultats présentés ci-dessus.

Dans le but de confirmer nos résultats et d'étudier profondément la composition chimique de notre échantillon, des analyses spectroscopiques (IRTF, RMN ^1H et RMN ^{13}C) ont été effectuées afin de déterminer la présence de ces constituants et d'obtenir d'autres renseignements sur leurs structures, les résultats de ces analyses feront l'objet d'une étude en cours de réalisation.

5. CONCLUSION

En ce qui concerne notre étude, nous avons essayé d'identifier et de caractériser les propriétés physico-chimiques et la composition organique de l'eau de la rivière Oussefrou sur quatre points différents et pendant trois mois. Ces eaux sont légèrement acides et très riches en matières minérale et organique. En effet, La caractérisation physico-chimique de nos échantillons nous a permis de mettre en évidence l'effet du temps et de l'espace sur l'évolution des paramètres indicateurs de pollution (acidité (pH), conductivité électrique (CE) et demande chimique en oxygène (DCO). En effet, ces paramètres diminuent à la fois en fonction du temps et de l'espace.

Même si l'échantillon (P3-c) est réalisé après 3 mois de la saison oléicole et à environ 30 Km de la source de pollution, l'ensemble des résultats présentés dans ce document indique la présence d'une grande variété de composés organiques avec la détection également de quelques composés phénoliques qui proviennent essentiellement des marges rejetées directement dans la rivière.

L'analyse par CPG-SM se présente alors comme une méthode efficace pour étudier l'évolution des marges dans le milieu naturel. Nous avons identifié 21 constituants présentant la majorité de la composition chimique. Les identifications ont été proposées par couplage en ligne de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (CPG-SM), nous avons eu recours aux propositions des bibliothèques commerciales (NIST, Wiley et PubChem) et aux données de la littérature. L'ensemble des résultats a montré que les eaux d'Oued Oussefrou contiennent à titre d'exemple le Tyrosol, l'acide p-hydroxyle coumarique, la benzophénone, le 4-benzylbiphényle, le catéchol, l'acide benzoïque, etc. En permettant d'adopter une théorie selon laquelle, la charge polluante est principalement organique, caractérisée par la présence de

composés phénoliques, d'acides gras et de chaînes aliphatiques, des composés polaires sous forme d'acide carboxylique, d'alcools, de cétone et d'éther d'alkyle. En outre, Les margines sauvagement déversées dans les cours d'eau peuvent subir différentes réactions liées à la biotransformation et/ou l'hydrolyse et l'oxydation naturelle modifiant ainsi leur composition. Par conséquent, la pollution des eaux d'Oued Oussefrou est évidente pour la majorité des paramètres analysés.

Jusqu'à présent, le traitement des margines a constitué un problème complexe vu la qualité et la quantité des substances chimiques qu'elles contiennent. En effet, nos résultats mettent l'accent sur une situation alarmante en ce qui concerne la qualité de l'eau de l'Oued Oussefrou, une situation qui exige une gestion adéquate des sous-produits rejetés par les huileries, et la recherche de technologies de valorisation et de traitement s'avère également urgente et nécessaire.

6. REFERENCES

1. Dermeche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F., Michaud P. Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochem.* 2013; 48:1532-1552. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511313003917>
2. Bouknana D., Hammouti B., Salghi R., Jodeh S., Zarrouk A., Warad I., Aouniti, A., Sbaa, M. Physicochemical Characterization of Olive Oil Mill Wastewaters in the eastern region of Morocco. *J. Mater. Environnement. Sci.* 2014; 5:1039-1058. Available on: https://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol5/vol5_N4/129-JMES-758-2014-Bouknana.pdf
3. Rajhi H., Mnif I., Abichou M., Rhouma A. Assessment and valorization of treated and non-treated olive mill wastewater (OMW) in the dry region. *Int. j. recycl. org. waste agric.* 2018; 7: 199-210. Available on: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40093-018-0206-x>
4. Achak M., Ouazzani N., Mandi L. Traitement des margines d'une huilerie moderne par infiltration-percolation sur un filtre à sable. *Rev. Sci. Eau.* 2009; 22: 421-433. Available on: <https://www.erudit.org/fr/revues/rseau/2009-v22-n3-rseau3332/037780ar/>
5. Benyahia N., Zein K., 2003. Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. 2^{ème} Conférence Internationale Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries (SESEC II) du 28-29 janvier 2003 à Lausanne, Suisse.
6. Juárez M.J.B., Zafra-Gómez A., Luzón-Toro B., Ballesteros-García O.A., Navalón A., González J., Vélchez J.L. Gas chromatographic-mass spectrometric study of the degradation of phenolic compounds in wastewater olive oil by *Azotobacter Chroococcum*. *Bioresour. Technol.* 2008; 99 :2392-2398. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852407004233>
7. Aggoun M., Arhab R., Cornu A., Portelli J., Barkat M., Graulet B. Olive mill wastewater microconstituents composition according to olive variety and extraction process. *Food Chem.* 2016; 209: 72-80. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616305519>
8. Aharonov-Nadborny R., Tsechansky L., Raviv M., Graber E.R. Impact of spreading olive mill waste water on agricultural soils for leaching of metal micronutrients and cations. *Chemosphere.* 2017; 179:213-221. Available on: <https://www.researchgate.net/publication/315650642>
9. Suna Erses Yay A., Volkan Oral H., Turgut Onay T., Yenigün O. A study on olive oil mill wastewater management in Turkey: A questionnaire and experimental approach. *Resour. Conserv. Recy.* 2012; 60: 64-71. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921344911002424>
10. Galli E., Tomati U. A common policy to face the problem of olive oil mill wastes. In: Proceedings of the 1. International Workshop on Environmental Problems in Olive Oil Production and Solutions, 07-09 June 2002, Zeytinli/ Edremit, Balıkesir.
11. Ibrahimoglu B., Zeki Yilmazoglu M. Disposal of olive mill wastewater with DC arc plasma method. *Journal of Environmental Management.* 2018;217: 727-734. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479718303736>
12. Rocha C., Soria M.A., Madeira L.M. Thermodynamic analysis of olive oil mill wastewater steam reforming. *J. Energ. Instit.* In Press; 2018; xxx: 1-11. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743967117307985>
13. Tosti S., Fabbicino M., Pontoni L., Palma V., Ruocco C. Catalytic reforming of olive mill wastewater and methane in a Pd-membrane reactor. *Int. J. Hydrogen Energy.* 2016; 41: 5465-5474. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319915318279>
14. Ranalli A. The effluent from olive mills: Proposals for re-use and purification with reference to Italian legislation. *Olivae.* 1991; 37: 30-39. Available on: <https://eurekamag.com/research/002/249/002249772.php>
15. El-Abbassi, A., Kiai H., Raiti J., Hafidi A. Application of ultrafiltration for olive processing wastewaters treatment. *J. Clean. Prod.* 2014; 65: 432-438. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652613005386>
16. Paixao S.M., Mendonça E., Anselmo A.M. Acute toxicity evaluation of olive oil mill wastewaters: A comparative study of three aquatic organisms. *Environ. Toxicol.* 1999;14(2):263-269. Available on: <https://onlinelibrary.wiley.com/toc/15227278/14/2>
17. Komilis D.P., Karatzas E., Halvadakis C.P. The Effect of Olive Mill Wastewater on Seed Germination after Various Pretreatment Techniques. *J. Environ. Gérer.* 2005;74(4):339-348. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479704002269>
18. Galliou F., Markakis N., Fountoulakis M.S., Nikolaidis N., Manios T. Production of organic fertilizer from olive mill wastewater by combining solar greenhouse drying and composting. *Waste Manage.* 2018; 75:305-311. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X18300205>
19. Zghari B., Doumenq P., Romane A., Boukir A. GC-MS, FTIR and ¹H, ¹³C NMR Structural Analysis and Identification of Phenolic Compounds in Olive Mill Wastewater Extracted from Oued Oussefrou Effluent (Beni Mellal-Morocco). *J. Mater. Environnement. Sci.* 2017; 8(12):4496-4509. Available on: https://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol8/vol8_N12/475-JMES-2966-Zghari.pdf
20. Khoufi S., Louhichi A., Sayadi S. Optimization of Anaerobic Co-Digestion of Olive Mill Wastewater and Liquid Poultry Manure In Batch Condition and Semi-Continuous Jet-Loop Reactor. *Bioresour. Technol.* 2015; 182: 67-74. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852415001121?via%3Dihub>
21. Ben Sassi A., Boularbah A., Jaouad A., Walker G. Boussaid A. A comparison of Olive oil Mill Wastewaters (OMW) from three different processes in Morocco. *Process Biochem.* 2006; 41: 74-78. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511305002503>
22. Liberatore L., Guiseppe P., Nicola A., Angelo. Solid-phase extraction and gas chromatographic analysis of phenolic compounds in virgin olive oil. *Food Chem.* 2001; 73:119-124. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814600003228>
23. Saitta M., Lo Curto S., Salvo F., Di Bella G. Gas chromatographic-tandem mass spectrometric identification of phenolic compounds in Sicilian olive oils. *Anal. Chim. Acta.* 2002;466(2):335-344. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000326700200572X>
24. Schulz M.J., Herrmann K. Analysis of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in plant material: I. Sample preparation and thin-layer chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1980; 195(1):85-94. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300815459>

25. CEAEQ : Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec. Détermination de la demande chimique en oxygène : méthode de reflux en système fermé suivi d'un dosage par colorimétrie avec le bichromate de potassium, MA. 315 – DCO 1.1, Rév. 4. 18 Avril 2016. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec, 12 p. 2016. Available on : <http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA315DCO11.pdf>
26. De Marco E., Savarese, M., Paduano, A., Sacchi, R. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chem.* 2007;104 (2): 858-867. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606007898>
27. Fki I., Allouche N., Et Sayadi S. 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 chem.* 2005; 93: 197-204. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604007332>
28. MDCEau. Recueil des textes juridiques relatifs aux ressources en eau au Maroc. Direction de la recherche et de la planification de l'eau, Programme d'Appui à la Gestion Intégrée des Ressources en Eau. Version 1. 01 Décembre 2015. Available on : <http://www.water.gov.ma/wp-content/uploads/2016/03/2015-12-01-recueil-textes-juridiques-MDCEau-vf-1.pdf>
29. Tasioula-Margari M., Okogeri O. Isolation and Characterization of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds by HPLC/UV and GC-MS. *J. Food. Sci.* 2001; 66(4):530-534. Available on: <http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/Journal%20of%20food%20science/2001%20v.66/no.4/jfsv66n4p0530-0534ms2000063311.pdf>
30. Owen R.W., Haubner, R., Mier W., Giacosa A., Hull, W.E., Spiegelhalter, B., Bartsch, H. Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food. Chem. Toxicol.* 2003; 41: 703–717. Available on: <https://eurekamag.com/pdf/003/003827646.pdf>
31. Carrasco-Pancorbo A., Cerretani L., Bendini A., Segura-Carretero A., Gallina-Toschi T., Fernandez-Gutiérrez A. Analytical determination of polyphenols in olive oils. *J. Sep. Sci.* 2005; 28(9-10): 837-858. Available on: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jssc.200500032>
32. Zafra A., Juárez M.J.B., Blanc R., Navalón A., González J., Vilchez J.L. Determination of polyphenolic compounds in wastewater olive oil by gas chromatography-mass spectrometry. (Report). *Talanta.* 2006; 70(1): 213-218. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914005008362>
33. De la Torre-Carbot K., Chávez-Servín J.L., Jauregui O., Castellote A.I., Lamuela-Raventós R.M., Fitó M., Covas M.I., Muñoz-Aguayo D., López-Sabater M.C. Presence of virgin olive oil phenolic metabolites in human low density lipoprotein fraction: determination by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 2007; 583(2): 402-410. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267006020289>
34. Demiral I., Sensöz S. The effects of different catalysts on the pyrolysis of industrial wastes (olive and hazelnut bagasse). *Bioresource Technol.* 2008; 99: 8002-8007. Available on: <https://fr.scribd.com/document/101114682/12-the-Effects-of-Different-Catalysts-on-the-Pyrolysis-of-Industrial-Wastes>
35. Kallel M., Belaid C., Mechichi T., Ksibi M., Elleuch B. Removal of organic load and phenolic compounds from olive mill wastewater by Fenton oxidation with zero-valent iron. *Chem. Eng. J.* 2009; 150(2-3): 391-395. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894709000199>
36. Saitta M., Salvo F., Di Bella G., Dugo G., Loredana La Torre G. Minor compounds in the phenolic fraction of virgin olive oils. *Food chem.* 2009; 112(3): 525-532. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608006699>
37. Sanz M., de Simón B.F., Cadahía E., Esteruelas E., Muñoz A.M., Hernández T., Estrella I., Pinto E. LC-DAD/ESI-MS/MS study of phenolic compounds in ash (*Fraxinus excelsior* L. and *F. americana* L.) heartwood. Effect of toasting intensity at cooperage. *J. Mass Spectrom.* 2012; 47: 905-918. Available on: <http://www.producao.usp.br/bitstream/handle/BDPI/35336/wos2012-356.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
38. Belaid C., Khadraoui M., Mseddi S., Kallel M., Boubaker Elleuch B., Fauvarque J.F. Electrochemical treatment of olive mill wastewater: Treatment extent and effluent phenolic compounds monitoring using some uncommon analytical tools. *J. Environ. Sci.* 2013; 25(1): 220-230. Available on: <https://www.researchgate.net/publication/225683897>
39. Khoufi, S., Aloui, F., Sayadi, S. Extraction of antioxidants from olive mill waste-water and electro-coagulation of exhausted fraction to reduce its toxicity on anaerobic digestion. *J. Hazard. Mater.* 2008; 151(2–3): 531–539. Available on: <http://www.ipb.pt/~htgomes/FCT115275/Ref19.pdf>
40. Poerschmann J., Weiner B., Basky I. Organic compounds in olive mill wastewater and in solutions resulting from hydrothermal carbonization of the wastewater. *Chemosphere.* 2013; 92(11): 1472–1482. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653513005250>
41. Gursoy-Hakseverler, B.H., Arslan-Alatonn I. UV fluorescence, FTIR, and GC–MS analyses and resin fractionation procedures as indicators of the chemical treatability of olive mill wastewater. *Desalin. Water. Treat.* 2016; 57(6): 2372–2382. Available on: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19443994.2014.992979>
42. Flores N., Cabot P.L., Centellas F., Garrido J.A., Rodríguez R.M., Brillas E., Sirés, I. 4-Hydroxyphenylacetic acid oxidation in sulfate and real olive oil mill wastewater by electrochemical advanced processes with a boron-doped diamond anode. *J. Hazard. Mater.* 2017; 321: 566-575. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389416308792>
43. Pinho I.A., Lopes D.V., Martins R.C., Quina M.J. Phytotoxicity assessment of olive mill solid wastes and the influence of phenolic compounds. *Chemosphere.* 2017; 185:258-267. Available on: <https://www.researchgate.net/publication/318127841>
44. Garcia-Castello E., Cassano A., Crisculi A., Conidi C., Drioli E. Recovery and concentration of polyphenols from olive mill wastewaters by integrated membrane system. *Water Res.* 2010; 44: 3883–3892. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135410003027>
45. Lakhtar H., Ismaili-alaoui M., Perraud-gaime I., Macarie H., Roussos S. Characterization of dried mixture of olive cake with olive mill wastewater: elemental, spectroscopic analyses (FTIR and ¹³C-NMR) and polyphenols dynamics. conference Olivebioteq. 2009; 657-663. Available on: http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers17-09/010055415.pdf
46. Lykas C., Vagelas I., Gougoulas N. Effect of olive mill wastewater on growth and bulb production of tulip plants infected by bulb diseases. *Span. J. Agric. Res.* 2014; 12(1):233-243. Available on: <http://revistas.inia.es/index.php/sjar/article/viewFile/4662/2014>
47. Chatzistathis T., Koutsos T. Olive mill wastewater as a source of organic matter, water and nutrients for restoration of degraded soils and for crops managed with sustainable systems. *Agr. Water Manage.* 2017; 190: 55–64. Available on: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378377417301774>
48. Chaïri L., Elloumi N., Mseddi S., Gargouri K., Ben Rouina B., Mechichi T., Kallel M. Changes in Soil Macronutrients after a Long-Term Application of Olive Mill Wastewater. *J. Agric. Chem. Environ.* 2015; 4: 1-13. Available on: <https://pdfs.semanticscholar.org/f6b0/b8d703893c06ad96844808bce0cf1121fe4a.pdf>
49. Iboukhoulé H. 2014. Traitement des margines des huileries d'olives par les procédés d'oxydation avancée basés sur le système Fenton-Like (H₂O₂/Cu). Thèse de Doctorat de l'Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou, Algérie.

50. Garcia C.A., Hodaifa G. Real olive oil mill wastewater treatment by photo-Fenton system using artificial ultraviolet light lamps. *J. Clean. Prod.* 2017; 162: 743-753. Available on: <https://www.researchgate.net/publication/317565251>
51. Obied H.K., Allen M., Bedgood D., Prenzler P., Robards K., Stockmann R. Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *J. Agric. Food Chem.* 2005. 53(4), 823-837. Available on: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf048569x>
52. Marra R., Vinale F., Cesarano G., Lombardi N., d'Errico G., Crasto A., Mazzei P., Piccolo A., Incerti G., Woo S.L., Scala F., Bonanomi G. Biochars from olive mill waste have contrasting effects on plants, fungi and phytoparasitic nematodes. *Plos ONE*. 2018. Available on: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0198728&type=printable>



Cite this article: Badreddine Zghari, Fatima Benyoucef, et Abdellatif Boukir. IMPACTS ENVIRONNEMENTAL DES MARGINES SUR LES EAUX D'OUED OUSSEFROU : CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET EVALUATION PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE (CPG-SM). *Am. J. innov. res. appl. sci.* 2018; 7(4): 276-291.

This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>