

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique**



**Université L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi**

**Faculté Des Sciences Exactes et des Sciences de La**

**Nature et de La Vie**

**Département des Sciences de La Nature et de La Vie**



# **Thèse**

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat en sciences

Option : Biologie environnementale

## **Thème**

**Valorisation nutritionnelle et environnementale d'un sous-produit  
oléicole 'margines' via la réduction de la méthanogènes ruminale**

Présenté par : AOUADI Abdelhafid

Soutenue le : 11 -04-2021

Devant le jury composé de :

Mme. MERADI Lareem	MCA à l'université Larbi Ben M'Hidi, OEB	Président
Mr. ARHAB Rabah	Prof à l'université Larbi Ben M'Hidi, OEB	Rapporteur
Mr. DJABRI Belgacem	Prof à l'université de Tébessa.	Examineur
Mme. AGGOUN Moufida	MCA à l'université de Mentouri/Constantine	Examineur

**ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2020-2021**



L'objectif assigné à ce travail est de valoriser les margines dans l'alimentation animale afin de réduire les méthanogènes ruminale. Pour cela, cette étude avait pour but de déterminer en premier lieu les caractéristiques physico-chimiques des margines issues de deux modes de trituration de trois variétés d'olives dans la région du Ghardaïa 'Algérie' et, dans un second temps, d'étudier l'impact de leurs extraits phénoliques, leurs différents proportions et les blocs multi- nutritionnels (constituées à base de margines) sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticales (*Triticum aestivum*).

L'influence de deux facteurs: variété d'olive et procédés d'extraction d'huile d'olive, sont remarquables sur la majorités des caractères physico-chimiques étudiées et les paramètres de l'étude l'impact des extraits phénoliques bruts sur la fermentation ruminale *in vitro*, tel que la production de gaz, les paramètres fermentaires et la digestibilité réelle. L'addition des extraits phénoliques des margines avec le foin de triticales a augmenté la production totale de gaz et la digestibilité de la matière sèche, réduit la population de protozoaires et réduit le pourcentage de méthane dans le gaz, les effets étant beaucoup plus importants pour les extraits phénoliques des margines issue de procédé d'extraction discontinus.

L'étude de l'influence de différents proportions des margines sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticales, montré que l'augmentation de la proportion de margine dans le substrat à 10 % (en MS) a augmenté la production de gaz, le pourcentage de méthane dans le gaz et la digestibilité apparente. Toutefois, lorsque la concentration de margine a été augmentée à 20 %, le taux de production de gaz a diminué avec production d'ammoniacque. La population de protozoaires ciliés a diminué de façon linéaire avec l'augmentation des concentrations de margines dans le substrat. La proportion des margines dans la quantité quotidienne d'aliments pour ruminants ne doit pas dépasser 20% *in vitro*.

Enfin les blocs nutritionnels à base de margines sont riches en matière sèche, organique, minérale et en matière azotée totale. Après un séchage d'une semaine seulement, leurs duretés sont très bonnes avec une bonne cohésion, l'addition de BMN2, BMN 3 et BMN4 causent une augmentation dans la production de gaz totale et la digestibilité apparente. Par contre, l'addition des BMN 3 et BMN4, causent une réduction le nombre de protozoaires de 11.1 et 13.9%, et dans la proportion de production de CH<sub>4</sub>



---

par apport le gaz totale, les proportions de diminution enregistrés après 24h, sont : 25.5 et 20.9%, et après 96h, sont: 9.01 et 10.1%, respectivement.

Et à partir de là, les margines soit en pâte, liquide ou ensemble, ils sont recommandés de l'utiliser dans la fabrication de blocs multi-nutritionnels, car ils améliorent ses propriétés physiques, en augmentant sa dureté et la cohésion de ses composants et en réduisant l'utilisation d'eau, ils sont considérés comme un excellent solvant pour l'urée, et aussi la possibilité d'usage des margines et leurs composées phénoliques comme additifs alimentaires pour la réduction de la méthanogènes ruminale.

**Mots clés:** bloc nutritionnel, continue phénolique, margines, méthane, protozoaires, rumen



The present study aims to value the olive mill wastewater (OMWW) in animal feed in order to reduce rumen methanogen. For this, the aim of this study was to first determine the physicochemical characteristics of OMWW obtained from two methods of crushing three varieties of olives in the region of Ghardaïa 'Algeria' and, secondly, to study the impact of their crude phenolic extracts, their different proportions and multi-nutritional blocks (made from OMWW) on the *in vitro* rumen fermentation of Triticale (*Triticum aestivum*) hay.

The influence of two factors: olive variety and olive oil extraction processes are remarkable on the majorities of the physicochemical characteristics studied and the parameters of the study the impact of crude phenolic extracts on the ruminal fermentation *in vitro*, such as gas production, fermentation parameters and actual digestibility. The addition of the phenolic extracts of OMWW with the triticale hay increased the total gas production and the digestibility of the dry matter, reduced the population of protozoa and reduced the percentage of methane in the gas, the effects being much greater for phenolic extracts of OMWW resulting from a traditional extraction process.

The study of the influence of deferent proportions of OMWW on the ruminal fermentation *in vitro* of triticale hay, showed that increasing the proportion of OMWW in the substrate to 10% (in DM) increases gas production, the percentage of methane in the gas and the apparent digestibility. However, when the concentration of OMWW was increased to 20%, the rate of gas production decreased with the production of ammonia. The population of ciliate protozoa declined linearly with increasing concentrations of OMWW in the substrate. The proportion of OMWW in the daily quantity of feed for ruminants must not exceed 20% *in vitro*.

Finally, nutritional blocks based on OMWW are rich in dry, organic, mineral and in total nitrogenous matter. After drying for only a week, their hardness is very good with good cohesion, the addition of BMN2, BMN 3 and BMN4 causes an increase in total gas production and apparent digestibility. On the other hand, the addition of BMN 3 and BMN4, cause a reduction in the number of protozoa of 11.1 and 13.9%, and in the proportion of production of CH<sub>4</sub> by total gas input, the proportions of decrease recorded after 24 hours, are: 25.5 and 20.9%, and after 96h, are: 9.01 and 10.1%, respectively.

And from there, the OMWW either in paste, liquid or together, they are recommended to use it in the manufacture of multi-nutritional blocks, since they improve its physical properties, increasing its hardness and the cohesion of its components and by reducing the use

## **Abstract**

---



of water, they are considered as an excellent solvent for urea, and also the possibility of using OMWW and phenolic compounds as food additives for the reduction of ruminal methanogens.

**Keywords:** Nutritional block, Continuous phenolic, OMWW, methane, protozoa, rumen



الهدف المرجو من هذه الدراسة ، هو تثمين بقايا معاصر الزيتون السائلة (المرج) عن طريق استعمالها في تغذية الحيوان، بواسطة انقاص كمية غاز الميثان الصادرة عن تخمر الاغذية في كرش المجترات. للقيام بذلك ، كان الهدف الاول هو تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمرج المتحصل عليها من خلال طريقتين لعصر ثلاث اصناف زيون، وثانيًا ، دراسة تأثير مستخلصاتها الفينولية، نسبتها المختلفة و القوالب العلفية (المصنوعة اساسا من المرج) على التخمر الكرشى مخبريا للكأ الجاف (*Triticum aestivum*).

للعاملين: اصناف الزيتون و طريقة عصره، تأثير ملحوظ اولا على اغلب الخصائص الفيز وكيميائية للمرج، وثانيا على اغلب عناصر دراسة مفعول المركبات الفينولية للمرجين على التخمر الكرشى مخبريا، كإنتاج الغاز، معايير التخمر و معامل الهضومية. ادت اضافة المستخلصات الفينولية للمرج مع الكأ الجاف (*triticale*) اولا إلى زيادة إجمالي إنتاج الغاز وهضم المادة الجافة وثانيا الى انقاص عدد الاولييات الهدبية و نسبة غاز الميثان مقارنة بالحجم الكلي للغاز المنتج. بحيث تكون المستخلصات الفينولية للمرج الناتجة عن الطريقة التقليدية اكثر فعالية.

أظهرت دراسة تأثير النسب المختلفة من المرج على التخمر الكرشى مخبريا للكأ الجاف، أن زيادة نسبة المرج في الخليط إلى 10 ٪ (في المادة الجافة) أدى إلى زيادة إنتاج الغاز ، نسبة الميثان في الغاز ومعامل الهضومية. لكن عندما تتجاوزت النسبة 20٪ ، انخفض معدل إنتاج الغاز مع الأمونيا. اما عدد الاولييات الهدبية انخفض خطيًا مع زيادة تركيزات المرج في الخليط. اي يجب ألا تزيد نسبة المرج في الكمية اليومية من العلف للحيوانات المجتررة عن 20٪ مخبريا.

أخيرًا ، القوالب العلفية الداخلة في تركيبها المرج غنية بالمواد الجافة، العضوية، المعدنية والمواد النيتروجينية الكلية. بعد التجفيف لمدة أسبوع واحد فقط ، تكون صلابتها جيدة جدًا مع تماسك جيد، حيث تؤدي إضافة القوالب 2، 3 و 4 إلى زيادة في إجمالي إنتاج الغاز ومعامل الهضومية. من ناحية أخرى ، تؤدي إضافة القوالب 3 و 4 إلى انخفاض في عدد الأوليات بنسبة 11.1 و 13.9 ٪، مع انقاص في نسبة إنتاج الميثان من إجمالي الغاز حيث ان نسب الانخفاض المسجلة بعد 24 ساعة هي: 25.5 و 20.9 ٪، وبعد 96 ساعة ، هي: 9.01 و 10.1 ٪ على التوالي.

من هنا نستنتج ان المرج سواء كانت معجون، سائل أو مجتمعة معا، ينصح باستعمالها في صناعة القوالب متعددة العناصر الغذائية، لأنها تحسن من خواصها الفيزيائية، تزيد من صلابتها وتماسك مكوناتها، وذلك عن طريق الحد من استخدام الماء، فهي تعتبر مذيب ممتاز لليوريا، بالاضافة الى إمكانية استخدام المرج ومركباتها الفينولية كمضافات علفية لتقليل من انتاج غاز الميثان الصادر عن تخمر الاغذية في كرش المجترات.

**الكلمات المفتاحية :** القوالب الغذائية، المركبات الفينولية، المرج، الميثان، الاولييات، الكرش

# Remerciements

*Louange à Dieu tout puissant de m'avoir accordé la force, la patience et le sacrifice pour accomplir ce modeste travail.*

*Je tiens à exprimer mon profond respect et toute ma gratitude à mon directeur de thèse Monsieur **ARHAB Rabah** professeur à l'Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, je le remercie infiniment pour toute son aide, ses précieux conseils, le suivi et l'orientation dont j'ai pu bénéficier.*

*Je suis très honorée et tiens à remercier les membres du jury :*

*Mme. **MERADI Lareem** Maître de conférences à l'université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, pour avoir accepté de présider le jury.*

*Mr. **DJABRI Belgacem** professeur à l'Université de Tébessa et Mme. **AGGOUN Moufida** Maîtres de conférences à l'université de Mentouri/Constantine, qui me font l'honneur d'accepter de juger mon travail, et de faire partie de mon jury.*

*Enfin, que tous ceux qui m'ont accordé un soutien, une aide technique ou un conseil, trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.*



# *Dédicaces*

*Je Dédie ce modeste travail à :*

- *Mes très chers parents*
- *Ma très chère femme : AHLAM*
- *Mes très chers petits-fils : Mohamed, Aridj et Feras*
- *Mes frères et sœurs*
- *A tous mes collègues de l'Université de Ghardaïa*
- *Tous mes enseignants*
- *Tous mes proches*
- *Mes amis*

# Table des matières

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des abréviations

Introduction

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

<b>1. OLEICULTURE</b> .....	3
<b>1.1. Oléiculture mondiale</b> .....	3
<b>1.2. Oléicultures nationale</b> .....	3
<b>1.3. Systèmes d'extraction d'huile d'olive</b> .....	4
1.3.1. Systèmes d'extraction continue à presse.....	6
1.3.2. Systèmes d'extraction discontinue à centrifugation .....	6
<b>1.4. Sous-produits d'extraction d'huile d'olive</b> .....	7
1.4.1. Grignons d'olives .....	7
1.4.2. Les margines .....	7
a) Composition des margines .....	8
b) Impact des margines sur l'environnement .....	10
c) Traitement des margines .....	12
d) Valorisation des margines .....	13
<b>2. FERMENTATION DIGESTIVE CHEZ LES RUMINANTS</b> .....	17
<b>2.1. Ecosystème ruminal</b> .....	17
2.1.1. Paramètres physico-chimique du rumen .....	17
2.1.2. Microbiote ruminal .....	18
2.1.3. Dégradation anaérobie de la matière organique .....	20
a) Hydrolyse et acidogénèse.....	21
b) Acétogénèse et méthanogénèse .....	21
c) Source de carbone et voie fermentaire .....	21
d) Réduction de la méthanogénèse chez les ruminants.....	22
<b>3. BLOCS MULTI NUTRITIONNELS</b> .....	24
<b>3.1. Généralités</b>	

<b>3.2. Importance des blocs multi-nutritionnels .....</b>	<b>25</b>
<b>3.3. Principe de fabrication et Ingrédients .....</b>	<b>25</b>
<b>3.4. Formulation et qualité des blocs .....</b>	<b>27</b>
<b>3.5. Évaluation des caractéristiques physiques du bloc multi-nutriments .....</b>	<b>27</b>
<b>3.6. Utilisation des blocs par les animaux.....</b>	<b>29</b>
<b>3.7. Impact des blocs multi-nutritionnels.....</b>	<b>29</b>

**Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>1. RAPPEL DES OBJECTIFS.....</b>	<b>34</b>
<b>2. MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>35</b>
<b>2.1. Margines .....</b>	<b>35</b>
<b>2.2. Foin de triticale .....</b>	<b>35</b>
<b>2.3. Grignons d'olive .....</b>	<b>35</b>
<b>2.4. Noyau de dattes .....</b>	<b>35</b>
<b>2.5. Inoculum .....</b>	<b>35</b>
<b>3. CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES DES MARGINES .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1. pH .....</b>	<b>37</b>
<b>3.2. Conductivité et Salinité .....</b>	<b>37</b>
<b>3.3. Turbidité .....</b>	<b>37</b>
<b>3.4. Calcium et Magnésium .....</b>	<b>37</b>
<b>3.5. DBO<sub>5</sub> et Oxygène dissous.....</b>	<b>38</b>
<b>4. CARACTERISATION BIOCHIMIQUES DES MARGINES .....</b>	<b>39</b>
<b>4.1. Détermination des matières sèche, organique et minérale.....</b>	<b>39</b>
4.1.1. Matières sèche .....	39
4.1.2. Matières organique et minérale .....	39
<b>4.2. Azote ammoniacal .....</b>	<b>39</b>
<b>4.3. Sucres totaux .....</b>	<b>40</b>
<b>4.4. Lipides .....</b>	<b>41</b>
<b>4.5. Dosage des matières azotées totales .....</b>	<b>41</b>

<b>4.6. Phénols totaux</b>	42
4.6.1. Délipidation des margine	42
4.6.2. Extraction des composés phénoliques	42
4.6.3. Dosage des polyphénols totaux	42
4.6.4. Dosage des tanins totaux	43
4.6.5. Dosage des tanins condensés	43
4.6.6. Dosage des flavonoïdes	44
<b>5. FERMENTATIONS <i>IN VITRO</i> DES SUBSTRATS</b>	45
<b>5.1. Technique de la production de gaz <i>in vitro</i></b>	45
<b>5.2. Description du système de fermentation</b>	45
<b>5.3. Préparation de la salive artificielle et de l'inoculum</b>	45
<b>5.4. Inoculation</b>	46
<b>5.5. Incubation</b>	47
<b>6. ETUDE DES PARAMETRES DE LA FERMENTATION <i>IN VITRO</i> DES SUBSTRATS</b>	48
<b>6.1. Analyse de gaz et cinétique de la production de gaz</b>	48
6.1.1. Production de gaz totale	48
6.1.2. Production de CH <sub>4</sub> et CO <sub>2</sub>	48
6.1.3. Cinétique de la production de gaz	49
<b>6.2. Mesure du pH</b>	49
<b>6.3. Dénombrement des protozoaires ciliés</b>	49
<b>6.4. Dosage de l'azote ammoniacal</b>	51
<b>6.5. Détermination la digestibilité apparente</b>	52
<b>7. FABRICATION BLOCS MULTI NUTRITIONNELS</b>	52
<b>7.1. Préparation des ingrédients</b>	52
<b>7.2. Formulation</b>	54
<b>7.3. Mélange et moulage</b>	54
<b>7.4. Séchage</b>	54
<b>7.5. Qualité des blocs</b>	55
<b>8. CALCUL ET ANALYSE STATISTIQUE</b>	55

## Chapitre III : Résultats et discussion

<b>1. CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUE DES MARGINES</b> .....	58
<b>2. CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES DES MARGINES</b> .....	61
2.1. Matière sèche, organique et minérale.....	61
2.2. Azote ammoniacal .....	62
2.3. Sucres totaux .....	63
2.4. Lipides.....	63
2.5. Composés phénoliques.....	64
<b>3. EFFET DES COMPOSES PHENOLIQUES DES MARGINES SUR LA FERMENTATION RUMINALE</b> .....	67
3.1. Analyse quantitative des gaz produits.....	67
3.2. Cinétique de la production de gaz.....	68
3.3. Paramètres cinétiques de la production de gaz <i>in vitro</i> .....	70
3.4. Analyse qualitative des gaz produits.....	72
3.5. Influence du contenu phénolique des margines sur le profil fermentaire .....	75
<b>4. ETUDE DE L'EFFET DES DIFFERENTS PROPORTIONS DE MARGINES SUR LA FERMENTATION RUMINALE <i>IN VITRO</i> DU FOIN DE TRITICALE.....</b>	77
4.1. Production de gaz .....	78
4.2. pH .....	80
4.3. Production d'ammoniaque.....	81
4.4. Nombre de protozoaires .....	82
<b>5. CONFECTION DE BLOCS NUTRITIONNELS A BASE DE MARGINES ET EVALUATION DE LEURS EFFET SUR LA FERMENTATION RUMINALE <i>IN VITRO</i> DU FOIN DE TRITICALE. ....</b>	83
5.1. Caractéristiques de blocs nutritionnels à base de margines.....	83
5.1.1. Composition chimique de blocs.....	83
5.1.2. Caractéristiques physiques des blocs .....	85
5.2. Evaluation de l'effet de blocs nutritionnels à base de margines sur la fermentation ruminale <i>in vitro</i> du foin de triticales. ....	88
5.2.1. Effet de blocs nutritionnels à base de margines sur la production de gaz .....	88

5.2.2. Effet de blocs nutritionnels à base de margines sur la cinétique de production de gaz .....	91
5.2.3. Analyse qualitative de gaz.....	91
5.2.4. Effet de blocs nutritionnels sur les paramètres fermentaires .....	94
5.2.5. Effet de blocs nutritionnels à base de margines sur la digestibilité apparente	98
<b>CONCLUSION ET DISCUSSION GENERALE.....</b>	<b>100</b>

# Liste des Figures

Figures	Titres	Pages
1	Carte oléicole d'Algérie	4
2	Processus d'extraction de l'huile d'olive	5
3	Structures de familles importantes de composés phénoliques trouvés dans margine. Une classification en fonction de leur structure chimique	10
4	Tube digestif d'un mouton adulte, montrant ses différents compartiments	17
5	Schéma général du processus de digestion anaérobie	20
6	Fabrication des blocs multi-nutritionnels	24
7	Méthodologie de travail	34
8	Carte modifié de la wilaya de Ghardaïa, présente la zone d'étude	36
9	Mesure de la DBO des margines	39
10	Courbe étalon correspondant aux dosages de l'azote ammoniacal	40
11	Courbe étalon correspondant aux dosages des sucres totaux	41
12	Courbe étalon correspondant polyphénols et tanins totaux	43
13	Courbe étalon correspondant tanins condensés	44
14	Courbe étalon correspondant aux dosages flavonoïdes	44
15	Système de fermentation	45
16	Etapas de la préparation de la salive artificielle et de l'inoculum	46
17	Préparation des mélanges de margine et le foin de triticales	47
18	Incubation dans une étuve à 39°C	48
19	Quadrillage de dénombrement de la cellule de Malassez	50
20	Principe de dosage de l'azote ammoniacal présent dans le milieu fermentaire	51
21	Courbe étalon correspondant au dosage de l'azote ammoniacal	52
22	Ingrédients utilisés pour la fabrication des blocs	53
23	Pâte du mélange homogène	54
24	Séchage des blocs	55
25	Cinétique de production de gaz des mélanges du foin de triticales et des extraits des margines obtenues par extraction discontinus (A) et continus (B)	69
26	Cinétiques de production de dioxyde de carbone et du méthane au cours de la fermentation in vitro des mélanges du foin de triticales et des extraits des margines obtenues par extraction discontinus (A) et continus (B)	74
27	Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur la production de gaz, après 24h de fermentation	79
28	Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur la production de méthane, après 24h de fermentation	80
29	Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur la proportion de méthane, après 24h de fermentation	80
30	Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur le pH, après 24h de fermentation	81
31	Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur le pH, après	81

	24h de fermentation	
32	Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur le nombre de protozoaires ciliés, après 24h de fermentation	82
33	Composition chimique de blocs multi nutritionnels	84
34	Blocs multinutritionnels après trois mois de séchage	87
35	Cinétique de production de gaz des mélanges du foin de triticales et des blocs multi-nutritionnels	92
36	Cinétiques de production de dioxyde de carbone (A) et du méthane (B) au cours de la fermentation in vitro des mélanges du foin de triticales et des blocs multi-nutritionnels	93
37	Effet des blocs multi-nutritionnels sur le pH, après 24h de fermentation	95
38	Effet des blocs multi-nutritionnels sur le pH, après 96h de fermentation	96
39	Effet des blocs multi-nutritionnels sur la production d'ammoniac, après 24h de fermentation	97
40	Effet des blocs multi-nutritionnels sur le nombre des protozoaires, après 24h de fermentation	98
41	Effet des blocs multi-nutritionnels sur la digestibilité apparente, après 96h de fermentation	99

# Liste des Tableaux

Figures	Titres	Pages
1	Composition chimique et les paramètres qui caractérisent l'impact environnemental des margines en fonction du système d'extraction	8
2	Méthodes et processus proposés pour la valorisation des margines	15
3	Traitements possibles pour diminuer la méthanogenèse ruminale	22
4	Exemples de formules utilisées, % de produit brut	27
5	Facteurs techniques de production qui affectent la dureté des BMN	28
6	Quantité des mélanges pour la fermentation <i>in vitro</i>	46
7	Préparation (1 kg) de mélanges de margine et le foin de triticales	47
8	Formules des BMN composés par les différents ingrédients (%)	54
9	Les caractéristiques physico-chimique des margines	61
10	Caractéristiques biochimique des margines	64
11	Concentrations des Composés phénoliques des margines	66
12	Production cumulative de gaz des mélanges du foin de triticales et des extraits phénoliques des margines .	68
13	Constantes cinétiques modélisées des mélanges du foin de triticales et des extraits phénoliques des margines	71
14	Influence des extraits phénoliques des margines sur la production de CH <sub>4</sub> et CO <sub>2</sub> du foin de triticales	73
15	Influence des extraits phénoliques des margines sur le profil fermentaire et la digestibilité apparente de la dégradation <i>in vitro</i> du foin de triticales	77
16	effet des margines sur la production de gaz, méthane, pH, N-NH <sub>3</sub> et nombre de protozoaires ciliés de la dégradation <i>in vitro</i> du foin de triticales	78
17	Caractéristiques physiques des blocs multi-nutritionnels	85
18	Production cumulative de gaz (ml) et les constantes cinétiques modélisées enregistrés pour les différents mélanges du foin de triticales et des blocs nutritionnels.	89
19	Inter-correlation entre les composés des blocs, la production de gaz totale et les paramètres de la production de gaz <i>in vitro</i>	90
20	Influence des blocs multi-nutritionnels sur la production de CH <sub>4</sub> et CO <sub>2</sub> du foin de triticales.	92
21	Influence des blocs multinutritionnels sur le facies fermentaire (pH, NNH <sub>3</sub> et nombre de protozoaires) et la digestibilité apparente du foin de triticales.	95

# Liste des abréviations

<b>AGV</b>	Acides gras volatils
<b>BMN</b>	Bloc Multi-Nutritionnels
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demande Biologique en Oxygène en cinq jours
<b>DCO</b>	Demande Chimique en Oxygène
<b>Ca<sup>++</sup></b>	Calcium
<b>CDA</b>	Coefficients de digestibilité apparente
<b>CE</b>	Conductivité électrique
<b>CH<sub>4</sub></b>	Méthane
<b>CO</b>	Monoxyde de carbone
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone
<b>DBO</b>	Demande biologique en oxygène
<b>DCO</b>	Demande chimique en oxygène
<b>EDTA</b>	Ethylène-diamine-tétra-acétique
<b>FL</b>	flavonoïdes
<b>H<sub>2</sub></b>	Dihydrogène
<b>H<sub>2</sub>O</b>	vapeur d'eau
<b>MB</b>	Margine brut
<b>MC</b>	Margine centrifugée
<b>MD</b>	Margine délipidée
<b>Mg<sup>++</sup></b>	Magnésium
<b>MFS</b>	Methylgreen-formalin-saline
<b>MMPPH</b>	Margine moins polyphénols
<b>MO</b>	Matière Organique
<b>MOF</b>	Matière Organique Fermentée.
<b>MS</b>	Matière sèche
<b>PGT</b>	production de gaz total
<b>pH</b>	Potentielle hydrique
<b>PRPS</b>	Protéines salivaires riches en proline
<b>PT</b>	Phénols totaux
<b>PVPP</b>	Polyvinylpolypyrrolidone
<b>TC</b>	Tanins condensés
<b>TT</b>	Tanins totaux



# Introduction



# Introduction



Le patrimoine oléicole mondial est estimé actuellement à 900 millions d'oliviers plantés sur une superficie de 11 millions d'hectares. Les pays méditerranéens comptent plus de 850 millions d'oliviers sur une superficie d'environ 8,16 millions d'hectares, soit 95% du patrimoine mondial. La majorité des olives produites sont transférées vers les huileries, traditionnelles ou modernes, pour l'extraction l'huile d'olive, dont la production mondiale en 2018 a été estimée à 3.379.000 tonnes (COI, 2018).

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est des plus propices à la culture de l'olivier. Elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Tunisie qui sont par ordre d'importance, les plus gros producteurs d'huile d'olive (Tsagariki, 2007). Le patrimoine oléicole Algérien est estimé à 32 millions d'oliviers, ce qui représente 4,5% du patrimoine mondial. Depuis 2014, l'offre Algérienne d'huile d'olive a augmenté de 1,8% sur un an. Avec 92 mille tonnes métriques en 2019, le pays était classé au 6<sup>ème</sup> rang en comparant les autres pays en matière d'approvisionnement (COI, 2020).

L'extraction d'huile d'olive s'effectue dans les huileries de type traditionnel, semi-automatique ou moderne à chaîne continue, qui produisent en plus de l'huile d'olive deux types de résidus, l'un solide (grignons) et l'autre liquide (margines). Les margines, sous-produit obtenu par centrifugation ou sédimentation de l'huile après le pressage de l'olive, sont caractérisées par une concentration élevée en sucres, lipides, protéines et surtout en composés phénoliques. Sachant qu'en moyenne 100 kg d'olives traitées engendrent 100 litres de margines, 1 mètre cube de margine équivaut à la pollution engendrée par 1200 habitants, 25 à 40 millions de mètres cubes de margine sont produits annuellement, dont 90% sont localisés dans le bassin méditerranéen et déversés dans la nature sans traitement préalable. De plus, les nouveaux systèmes d'extraction de l'huile (centrifugation) multiplient par 3 la quantité d'eau utilisée et donc de margine (Nefzaoui, 1991). Leur effet nocif dérive en grande partie de leur contenu en composés phénoliques qui peuvent inhiber la croissance des micro-organismes (Capasso, 1997). Ainsi, le traitement de ces margines avant leur rejet s'avère indispensable afin de préserver les nappes phréatiques et limiter les dégâts sur l'environnement. Ces considérations ont conduit plusieurs chercheurs à l'échelle nationale et internationale à choisir la voie du traitement et de la valorisation des margines pour limiter leur pollution.

D'autre part et depuis quelques années, le réchauffement progressif de notre planète, provoqué par l'effet de serre, est devenu une réalité aussi bien politique que scientifique. Cet effet est dû à l'accumulation dans l'atmosphère de gaz qui retiennent le rayonnement infrarouge. Il s'agit principalement de dioxyde de carbone, du méthane, des chlorofluorocarbures et des



# Introduction



oxydes d'azote dont les contributions à l'effet de serre ont été estimées respectivement à 49, 18, 14 et 6% (Rumpler et *al.*, 1986).

Le méthane constitue la principale voie d'élimination de l' $H_2$  produit dans le rumen au cours de la digestion microbienne des aliments. Son éructation par les ruminants conduit à la fois à une perte d'énergie pour l'animal et une aggravation de l'effet de serre par son pouvoir radiatif. En effet, sa concentration atmosphérique est passée de 0,70 à 1,68 ppm durant les deux derniers siècles (Blak et Rowland, 1988) et continue d'augmenter chaque année de 0,6% (Moss et *al.*, 2000). Par ailleurs, le méthane produit essentiellement dans le rumen représente 22% de la production totale avec environ 7,5% des émissions sont attribuées au cheptel du continent africain. L'alimentation des ruminants, dans de nombreux pays en voie de développement, est principalement basée sur l'utilisation des pâturages secs et des résidus de culture (pailles de céréales, cannes de maïs, de sorgho...). Le principal problème de l'utilisation de ces fourrages réside dans leur déséquilibre nutritionnel : faible teneur en protéines et en azote en général, ainsi qu'en minéraux et vitamines et digestibilité faible. Ces caractéristiques limitent les quantités ingérées de ces fourrages et ne permettent qu'un faible niveau de production, voire à peine l'entretien (Hassoun, 1990). Par ailleurs, outre les sous-produits de la céréaliculture et d'autres sous-produits agricoles et agro industriels, le palmier dattier offre une gamme importante de sous-produits utilisés de façon traditionnelle par les éleveurs de notre région (Chehma et Senoussi, 2010). Les blocs alimentaires, communément appelés blocs multi-nutritionnels (BMN) à partir des sous-produits agricoles et agro-industriels localement disponibles, restent un moyen pour corriger ces contraintes. Dans ce contexte, le but de cette étude est de valoriser les margines dans l'alimentation animale afin de réduire la méthanogénèse ruminale. Pour cela et dans un premier temps, cette étude s'est intéressée à caractériser ces margines (*caractéristiques physico-chimiques*) et à évaluer l'effet de leurs extraits phénoliques sur la réduction de la production du méthane *in vitro* (effet des variétés d'olives et du mode d'extraction d'huile d'olive). Dans la seconde partie de ce travail, le but est d'estimer l'influence des différentes proportions des margines sur les paramètres fermentaires *in vitro* du foin de triticale. La troisième partie consiste à la confection des blocs nutritionnels à base de margines et à l'évaluation de leurs caractères physico-chimiques et l'estimation de leur dégradabilité *in vitro*.



# Chapitre I

## Synthèse

### bibliographique

## 1. OLEICULTURE

### 1.1. Oléiculture mondiale

L'olivier appartient à la famille des oléacées. Le genre est appelé "*Olea*" et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. L'espèce cultivée en Méditerranée est "*Oléa europaea*", dans laquelle on trouve l'oléastre ou l'olivier sauvage, et l'olivier cultivé "*Oléa europaea sativa*" (El hajjouji, 2007). Du point de vue variétale, il n'est pas rare de compter plus d'une centaine de variétés d'olivier dans chacun des pays producteurs. Les variétés les plus répandues en Algérie sont : *Chemlal*, *Sigoise*, *Azeradj*, *Limli*, *Blanquette de Guelma*.

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud. On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (Benhayoun et Lazzeri, 2007). Selon le Conseil Oléicole International (COI), la superficie oléicole mondiale est estimée en 2012 à environ 11 millions d'ha, dont 78% en sec et 22% en irrigué. Sur l'ensemble de cette superficie, 53% reviennent aux pays de l'Union européenne, 27% aux pays du Maghreb, 18% aux pays du Moyen-Orient et 2% aux pays du continent américain et autres.

### 1.2. Oléicultures nationale

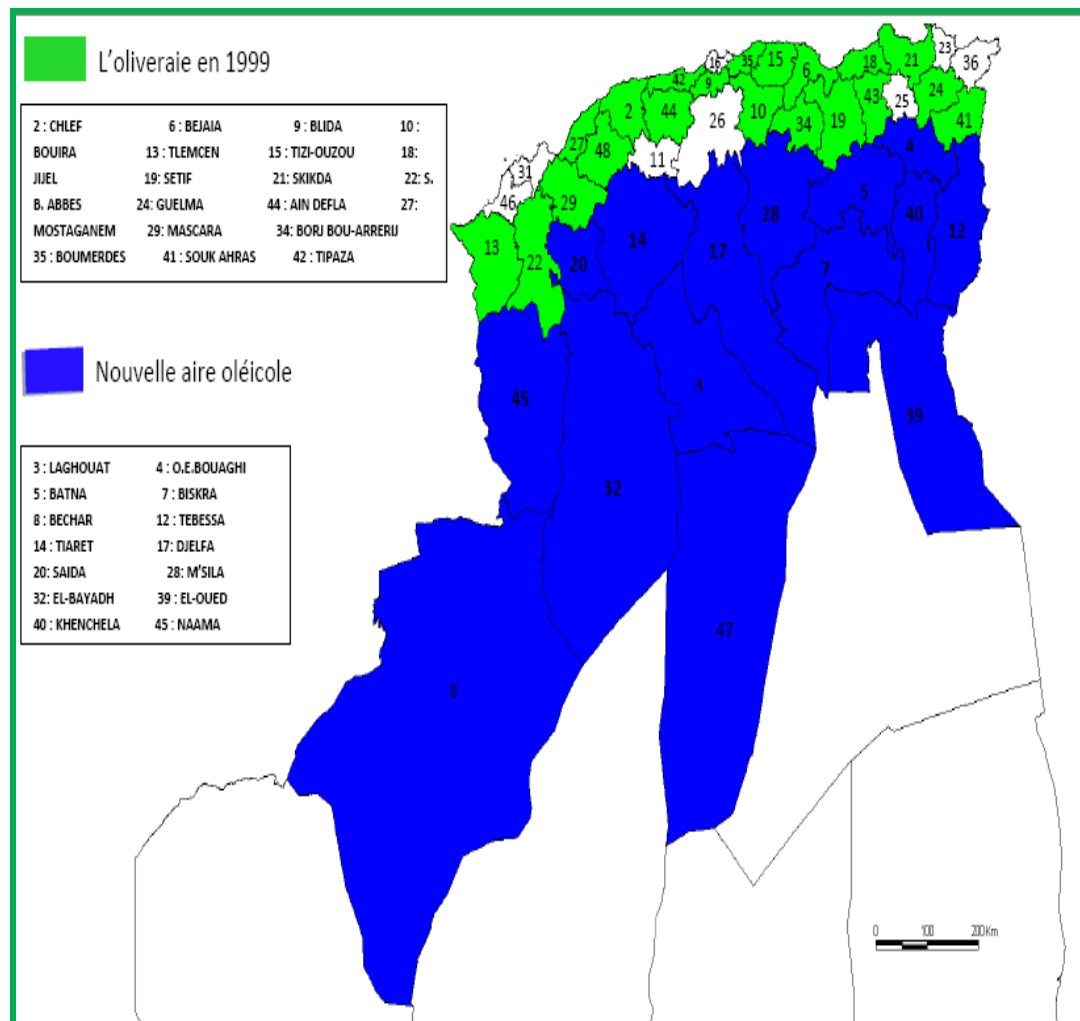
L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier. Elle se positionne après l'Union Européenne, Tunisie, Turquie, Syrie et Maroc qui sont par ordre d'importance, soit 94,5 % du patrimoine oléicole mondial (COI, 2015). L'Algérie dispose de grands moyens pour le développement et le soutien de cette filière, notamment dans le cadre du plan de développement agricole, ayant permis d'augmenter les surfaces agricoles consacrées à l'oléiculture, de 150.000 hectares en 1999 à 500.000 hectares.

Les vergers arboricoles couvrent au cours de la décennie 2000-2009 une superficie moyenne de 396 480 ha dont 39% ont été réservées aux vergers oléicoles, Cette superficie a connu une augmentation durant la période 2010-2017 de 47% dont la superficie de l'olivier a augmenté de 58%. Les niveaux de production des filières arboricoles ont connu aussi une augmentation durant la période 2010-2017 dont de 99% pour Les olives (MADRP, 2017).

L'olivier est principalement cultivé dans les zones côtières du pays. Les principaux et les plus anciens vergers oléicoles se trouvent dans les régions montagnardes et les collines recouvrant une surface de 195.000 hectares, ainsi que dans les plaines occidentales du pays (Mascara, Sig, Relizane etc...) et dans les vallées comme la Soummam. Cette superficie

a bien nettement augmenté par la mise en place d'un programme national pour le développement de l'oléiculture intensive dans les zones steppiques, présahariennes et sahariennes (Msila, Biskra, Ghardaïa, etc...) (Abdessemed et *al.*, 2018) (fig. 2).

La superficie oléicole en zones sahariennes commence depuis plus d'une quinzaine d'années à évoluer à la faveur des réformes qu'a connu le secteur de l'agriculture, en plus de l'engouement des agriculteurs pour cette filière stratégique, ce qui a permis d'atteindre en 2015, une superficie de 12.973 hectares répartis sur le territoire de différentes wilayas du Sud, notamment, Biskra, El-Oued, Ghardaïa, Laghouat, Bechar et Ouargla.



**Figure 1.** Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008).

### 1.3. Systèmes d'extraction d'huile d'olive

Les différentes étapes de transformation des olives en huile sont: lavage des olives, broyage mécanique, malaxage, extractions des moûts huileux (séparation des phases solides et liquides). La transformation s'effectue dans les huileries de type traditionnel, semi-automatique ou moderne à chaîne continue. La figure 2 montre les différentes étapes de fabrication de l'huile.

# Synthèse bibliographique

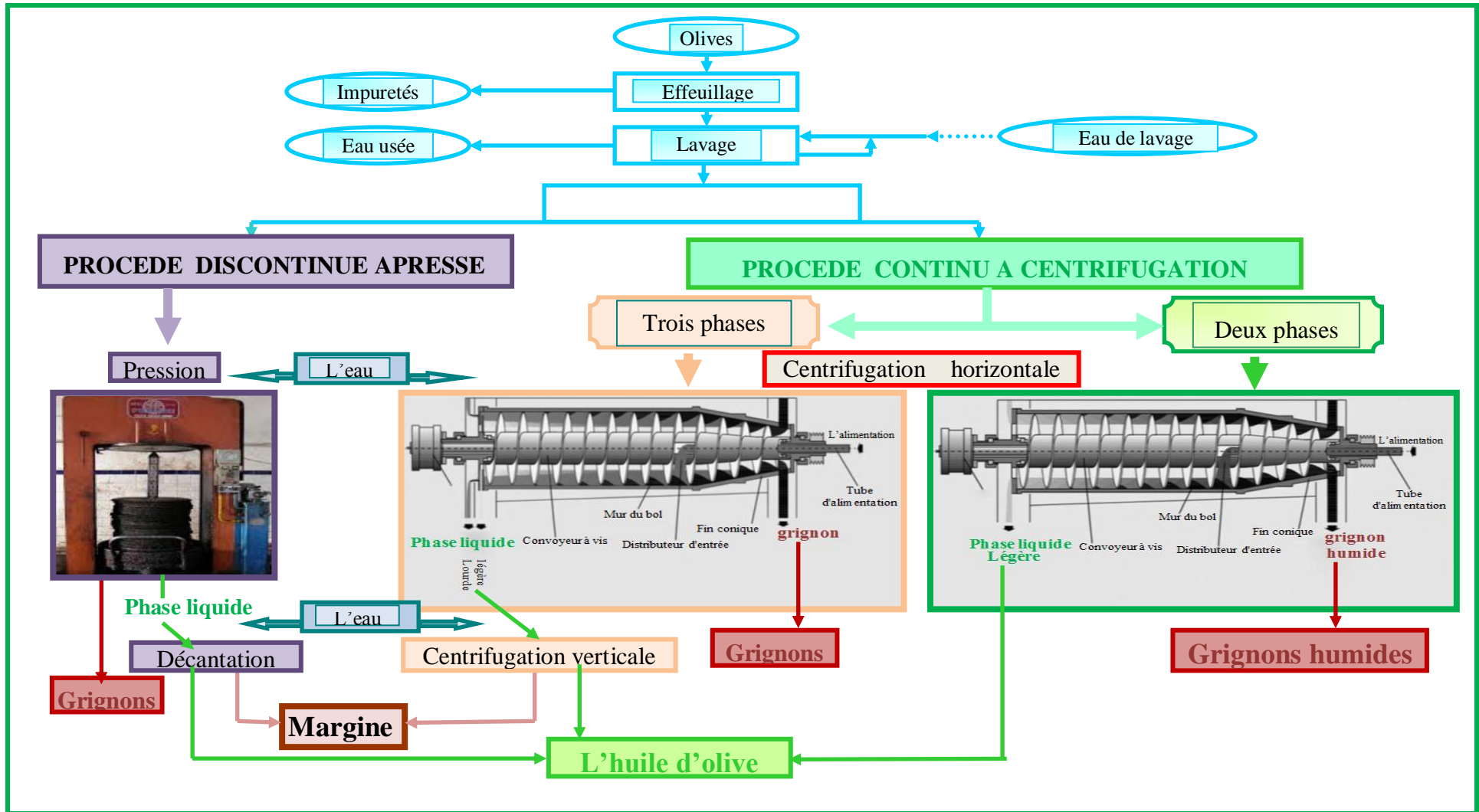


Figure 2. Processus d'extraction de l'huile d'olive (Morillo et al., 2009).

## 1.3.1. Systèmes d'extraction continue à presse

Les systèmes à presses sont des systèmes classiques. Ils commencent par un broyage des olives suivi du malaxage et du pressage. Ce système utilise des presses métalliques à vis ou, le cas échéant, des presses hydrauliques. La pâte issue du broyage est empilée sur des scourtins, à raison de 5 à 10 kg par/unité ou disque. L'application de la pression sur la charge des scourtins doit être réalisée de manière progressive. L'opération de pressage dure au moins 45 minutes. Le sous-produit de cette opération est le grignon brut et un moût fait de margines et d'huile. La séparation des deux phases se fait par décantation.

## 1.3.2. Systèmes d'extraction discontinue à centrifugation

### a) Procédé continu à trois phases

L'extraction de l'huile d'olive se fait à travers des phases successives contrairement au procédé discontinu. Les olives sont lavées, broyées, mélangées avec de l'eau chaude et malaxées pour former la pâte d'olive qui est ensuite diluée. Les phases liquides et solides sont séparées par centrifugation donnant les grignons et le moût. Le moût subit à son tour une centrifugation pour séparer l'huile des effluents d'huileries d'olive (Nefzaoui, 1987).

Dans le décanteur centrifuge à trois phases, la pâte est divisée en huile, margine et grignons d'olive. La phase solide est beaucoup plus sèche et beaucoup plus facilement transportable et réalisable. Dans tous les cas, la consommation d'eau et, par conséquent, les margines sont plus élevées que dans le processus en deux phases (Victor et Franklin, 2010)

### b) Procédé continu à deux phases ou procédé écologique

Variante du système précédant, ici le décanteur sépare l'huile et mélange le grignon et les eaux de végétation en une unique phase de consistance pâteuse appelée grignon humide ou grignon à deux phases.

Ce système permet d'extraire une huile d'olive de bonne qualité sans production de margines. Son seul inconvénient est la production de grignons humides. En effet, les grignons résultant de ce procédé contiennent 8 à 10% plus d'eau que ceux du procédé à trois phases. Il est donc indispensable d'équiper les huileries travaillant selon le procédé écologique d'une installation de séchage des grignons. Ce système écologique ne nécessite aucune dilution ou seulement une petite dilution pendant la phase de malaxation. L'huile provenant du décanteur est ensuite traitée avec une centrifugeuse à disque (centrifugeuse verticale) qui sépare l'eau résiduelle et les impuretés solides pour obtenir une huile claire.

## 1.4. Sous-produits d'extraction d'huile d'olive

Le processus de trituration des olives produit principalement l'huile d'olive vierge, l'huile de grignon et engendre deux résidus : l'un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons d'olives). Les olives contiennent environ 20% d'huile, 30% de grignons et 50% d'eau de végétation (Hamdi et *al.*, 1992).

### 1.4.1. Grignons d'olives

Les différents types de grignons à partir des olives sont :

- Les grignons bruts renferment la coque du noyau, réduite en morceaux, la peau et la pulpe broyée de l'olive, environ 25% d'eau et encore une certaine quantité d'huile qui favorisent leur altération rapide.
- Les grignons épuisés diffèrent essentiellement par une plus faible teneur en huile et une teneur en eau réduite du fait qu'ils ont été déshydratés au cours du processus de l'extraction.
- Les grignons épuisés partiellement dénoyautés sont constitués essentiellement par la pulpe (mésocarpe) et contiennent encore une petite proportion de coques qui ne peuvent être séparées complètement par les procédés de tamisage ou de ventilation utilisés (René, 2014).

Les grignons sont utilisés par certaines huileries industrielles pour produire l'huile de grignon par une extraction au solvant ou comme combustible dans des chaudières industrielles, des fours et des bains publics (El hajjouji, 2007).

### 1.4.2. Les margines

Les margines sont appelées *aqua reflue* en Italie; *katsigaros* en Grèce; *alpechín* en Espagne; *zebra* dans les pays arabes (Kapellakis et *al.*, 2008). Elles se présentent comme un liquide résiduel aqueux brun (Victor et Franklin, 2010). Ce liquide a une odeur agréable mais un goût amer et relativement riche en matières organiques, un pH d'environ 5 et une conductivité élevée, ce qui constitue un facteur de pollution (René, 2014). Ils sont composés de : 80-95% d'eau dont 40 à 50% provient du fruit (eau végétale), le reste de l'eau est ajoutée lors du processus de trituration (eau de fabrication) (Nefzaoui, 1991). Les margines sont généralement rejetés dans le milieu naturel sans aucun traitement.

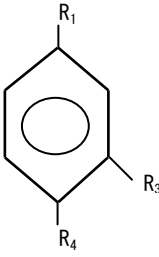
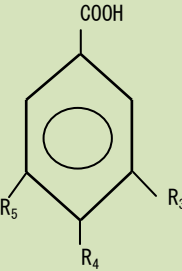
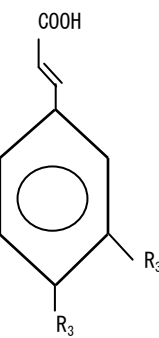
## a) Composition des margines

Quantitativement, les margines sont formées par 15% de matière volatile, 2% de matière inorganique et le reste formé par la charge organique. Chimiquement, elle est formée de phénols, de sucres (fructose, mannose, glucose, saccharose et pentose), tanins, polyalcools, composés aromatiques, protéines fermentescibles, acide organique, vitamines, traces de pesticides, une petite quantité d'huile d'olive émulsionnée, etc... (tab. 1). Outre le processus de l'extraction, la composition chimique de margine dépend de la variété de l'olive, du stade de maturité, du temps de stockage et du climat (Victor et Franklin, 2010).

**Tableau 1.** Composition chimique et les paramètres caractérisant l'impact environnemental des margines en fonction du système d'extraction (d'après Victor et Franklin, 2010)

	sous pression	Centrifugation
<b>Charge polluante</b>		
Demande chimique en oxygène (DCO) (g L <sup>-1</sup> )	120 - 130	60 - 180
Demande biologique en oxygène (DBO <sub>5</sub> ) (g L <sup>-1</sup> )	90 - 100	20 - 55
Matières solides en suspension (%)	0,1	0,9
Total des solides (%)	12	6
<b>Constituants organiques (%)</b>		
Sucres	2,0 - 8,0	0,5 - 2,6
Composés azotés	0,5 - 2,0	0,1 - 0,3
Acides organiques	0,1 - 1,5	0,2 - 0,4
Polyalcools	1,0 - 1,5	0,3 - 0,5
Pentoses, tanins	1,0 - 1,5	0,2 - 0,5
Polyphénols	2,0 - 2,4	0,3 - 0,8
Lipides	0,03 - 1,0	0,5 - 2,3
<b>Constituants inorganiques (%)</b>		
Phosphore	0,11	0,03
Potassium	0,72	0,27
Calcium	0,07	0,02
Magnésium	0,04	0,01
Sodium	0,09	0,03
Chlore	0,03	0,01

- ✓ **Fractions minérales** : les margines contiennent des quantités significatives de sels minéraux. Leur teneur varie de 4 à 42 g/L pour celles issues de l'extraction par pression et 0,4 à 12,5 g/L pour celles de centrifugation (COI, 2008) dont 80% sont solubles (phosphates, sulfates et chlorures) et 20% insolubles (carbonates et silicates).
- ✓ **Fractions organiques** : les margines comportent deux fractions organiques : fraction insoluble constituée essentiellement de pulpes d'olive représentée par les matières en suspension et colloïdales, et une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient les sucres, les lipides, les acides organiques et les composés phénoliques (Hamdi, 1991). Les composés lignocellulosiques et les pectines jouent un rôle important dans la texture des olives; ils représentent respectivement environ 0,6 à 3 % du poids de la pulpe fraîche. Outre, la cellulose et la pectine issues de la pulpe d'olives, plusieurs autres sucres simples sont présents : raffinose, mannose, saccharose, glucose, arabinose et xylose (Fernandez Diaz, 1983). La fraction azotée est principalement représentée par des protéines. Tous les acides aminés ont été identifiés, les plus abondants sont les acides aspartique et glutamique, la proline et la glycine. En ce qui concerne les vitamines, plusieurs ont été identifiées dans les margines notamment les vitamines du groupe B et la vitamine pp, (124 mg/kg), les caroténoïdes (provitamine A) et la vitamine E (Aggoun et *al.*, 2016). Les principaux acides organiques rencontrés dans les margines sont les acides fumarique, glycérique, lactique, malique et malonique. La concentration d'huile résiduaire dans les margines est très variable selon le processus d'extraction; l'acide oléique est l'acide gras le plus abondant (65%) (Salvemini, 1985).
- ✓ **Fractions phénoliques** : les composés phénoliques sont des dérivés du phénol. Ils sont composés d'un ou plusieurs noyaux benzéniques aromatiques, d'un ou plusieurs groupes hydroxyles et d'une ou plusieurs chaînes latérales fonctionnelles. Ces substances ont été classées selon différentes méthodes en fonction de leur poids moléculaire ou selon leurs structures moléculaires entre autres méthodes de classification (fig. 3). Selon leur structure chimique, certains composés phénoliques représentatifs ont été classés en trois groupes: les composés liés au tyrosol, les dérivés des acides benzoïques et les acides cinnamiques (Miranda et *al.*, 2001). Les composés phénoliques des margines sont très divers et leur structure est très variable. Ils proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction. Leur solubilisation dans l'huile est, cependant, bien inférieure à celle dans les margines, ce qui explique leur concentration élevée détectée dans les margines (Rodis et *al.*, 2002).

Lié au Tyrosol	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	
	Et-OH	H	OH	Tyrosol
	Et-OH	OH	OH	Hydroxytyrosol
	Et-COOH	H	OH	p-Hydroxyphénylacétique
Acide benzoïque	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	
	H	H	H	Acide benzoïque
	H	OH	H	acide p-hydroxybenzoïque
	OH	OH	H	Acide protocolesatéchique
	OMe	OH	H	Acide vanillique
	OMe	OMe	H	Acide vétratrique
	OH	OH	OH	Acide gallique
	OMe	OH	OMe	Acide syringique
Acide cinnamique	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>		
	H	H	Acide cinnamique	
	H	OH	acide p-coumarique	
	OH	OH	Acide caféique	
	OMe	OH	Acide férulique	

**Figure 3.** Structure des familles chimiques importantes de composés phénoliques trouvés dans les margines (d'après Victor et Franklin, 2010)).

### b) Impact des margines sur l'environnement

En terme d'effet de pollution, 1m<sup>3</sup> de marge est équivalent à 100–200 m<sup>3</sup> d'eaux usées domestiques (Evagelia et *al.*, 2006). Sa teneur élevée en phosphore accélère également la croissance des algues en raison de l'eutrophisation. Par conséquent, l'utilisation agronomique par épandage direct des margines a de mauvaises répercussions sur les eaux, les sols, les microorganismes et les plantes.

- ✓ **Impact sur les eaux :** DellaGreca et *al.* (2001) ont montré que les margines ont un effet négatif sur les écosystèmes aquatiques; tandis que Fiorentino et *al.* (2004) ont constaté qu'une exposition correspondant à seulement 1 litre de marge non transformé mélangé

dans 100.000 litres d'eau en circulation est hautement toxique pour certains animaux aquatiques (poissons de rivière locaux et certains crustacés). Les eaux souterraines peuvent être polluées, ce qui affecte la qualité de l'eau potable (Fki et *al.*, 2005). Aussi, l'épandage de ces effluents, très riches en éléments azotés, peut causer une pollution par les nitrates des nappes situées dans la zone ou à proximité de la zone d'épandage et souiller la qualité de l'eau potable (Benyahia et Zein, 2003).

- ✓ **Impact sur les sols :** l'épandage direct des margines sur les sols provoque un colmatage des sols et une diminution de leur qualité. Ces déchets sont à l'origine de l'augmentation de la salinité des sols (Fiestas Ros de Urcenos, 1981) et de la diminution du pH, qui pourrait être à l'origine du changement des caractéristiques physico-chimiques. Leur pH acide, leur salinité élevée ainsi que leur abondance en composés phénoliques provoquent la destruction de la microflore du sol et induisent des effets toxiques aux cultures végétales (effets herbicides). Ceci entraîne la stérilisation du sol et le déséquilibre de la symbiose entre la microflore du sol et les plantes (Morisot et Tournier, 1986).
  
- ✓ **Impact sur les plantes :** l'application directe des margines bruts diminue les rendements en matière sèche des tomates et du soja et inhibe la germination de quelques graines comme le pin, la tomate et l'atriplex (Samperdro et *al.*, 2004 ; DellaGreca et *al.*, 2001). Les résidus de pesticides présents dans les margines peuvent également être nocifs pour les plantes, d'où la nécessité de traiter ces effluents afin de pallier aux problèmes environnementaux qu'ils engendrent. Dans ce sens, plusieurs travaux ont été effectués pour remédier à ce problème.
  
- ✓ **Impact sur l'air :** les margines est généralement rejetée dans les eaux naturelles ou sur le sol et / ou stockée dans des bassins d'évaporation mal aménagés. Cet effluent subit une fermentation naturelle et émet des gaz piquants, tels que le méthane, le dioxyde de soufre et l'hydrogène sulfuré. Ce fait entraîne une pollution olfactive considérable notamment pendant la saison de production d'huile d'olive (Lagoudianaki et *al.*, 2003).

## c) Traitement des margines

Depuis 1953, date à laquelle le professeur Fiestas Ros de Ursinos a publié ses premiers travaux sur les méthodes de traitement des margines jusqu'à aujourd'hui, plus de 1000 études ont été publiées (Victor et Franklin, 2010). Ces traitements peuvent être classés en trois grands groupes selon leur nature: (i) traitements physicochimiques; (ii) biologiques et (iii) combinés.

- ✓ **Procédés physico-chimiques :** dans ce groupe, des méthodes telles que la distillation, l'évaporation, la combustion ou l'incinération et la floculation-clarification des margines peuvent être trouvées. Ces méthodes peuvent être utilisées principalement pour concentrer ou comme traitement final des margines. Des techniques telles que l'adsorption ou l'échange d'ions, entre autres, sont des méthodes qui pourraient être utilisées pour éliminer les phénols et les polyphénols, mais elles sont généralement appliquées en combinaison avec d'autres (Adhoum et Monser, 2004; Kapellakis et *al.*, 2008). Des traitements d'oxydation chimique sont souvent effectués afin d'éliminer les polluants organiques dangereux, en utilisant des oxydants uniques tels que le chlore, l'ozone, le rayonnement UV et le peroxyde d'hydrogène. Cependant, la dégradation de la teneur en polluants par des traitements chimiques uniques peut être limitée si la matière organique est particulièrement réfractaire aux oxydants. Les procédés d'oxydation avancés (AOP) sont basés sur la génération de radicaux libres hautement réactifs et oxydants qui possèdent un pouvoir oxydant élevé.
  
- ✓ **Procédés biologiques :** les traitements biologiques de purification comprennent à la fois des processus aérobies et anaérobies. Les traitements biologiques aérobies sont basés sur l'activité de dégradation microbienne qui transforme la matière organique décomposable en éléments minéraux non polluants et en substances similaires à l'humus. Les processus anaérobies sont caractérisés par des pools microbiens qui fonctionnent en l'absence d'oxygène, convertissant les substances polluantes organiques en biogaz (méthane) et en dioxyde de carbone ou en substances volatiles hydrogénées (acides gras et alcools) (Innocenzo, 2012). La dégradation biologique à l'opposé des procédés physico-chimiques est considérée comme une méthode plus saine, efficace et moins coûteuse pour la réduction des polluants (Hamdi, 1993).

- ✓ **Procédés combinés** : une technique améliorée pour le traitement des margines a été pratiquée basée sur les actions combinées de l'oxydation catalytique et des biotechnologies microbiennes (Mario et *al.*, 2004). Dans l'action combinée, l'activité de minéralisation d'un consortium microbien sélectionné a été utilisée pour dégrader les composés organiques volatils et non volatils résiduels en CO<sub>2</sub> et en biomasse. Le traitement biologique permet non seulement d'atteindre une dégradation supplémentaire de la DCO (jusqu'à 90 pour cent), mais a également le potentiel d'éliminer la phytotoxicité. Une usine de boues activées à grande échelle est en service en Italie depuis 1979 pour le traitement combiné des effluents des moulins à huile et des eaux usées domestiques (Zeev, 2009).

#### d) Valorisation des margines

Les margines peuvent être considérées comme une source de composés inorganiques et organiques, et la récupération des substances résiduelles peut produire des sous-produits destinés à l'agriculture, la biotechnologie, la pharmacie et l'industrie alimentaire (tab. 2).

- ✓ **Production de biogaz** : l'application du processus de la digestion anaérobie aux margines permet de transformer environ 80% des substances organiques en biogaz (65 à 70% de méthane). Ainsi, la fermentation méthanique permet la dépollution des margines tout en produisant de l'énergie (Nefzaoui, 1987 ; Loulan et Thelier, 1987). Une grande variété d'applications de processus pour la biométhanisation des eaux usées, des boues et des déchets solides a été développée. Ils varient du simple stockage en plein air au traitement dans un réacteur à réservoir complètement agité, en passant par la co-digestion avec d'autres matrices organiques, jusqu'aux traitements dans des digesteurs spéciaux, en tant que réacteurs UASB (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket) et avec différentes conditions de processus (temps de rétention, taux de chargement, températures, etc.) pour maximiser la production de biogaz (Innocenzo, 2012).
- ✓ **Production des protéines d'organismes unicellulaires (POU)** : l'obtention des protéines unicellulaire constitue une des solutions optimales pour la valorisation des margines. La plupart des procédés appliqués sont basés sur l'utilisation des levures capables de transformer les substances organiques en biomasse à haut contenu en protéines et vitamines de grande valeur pour l'alimentation animale et même humaine (El Alami, 2000).

- ✓ **Production d'enzymes :** les margines peuvent être utilisés comme milieu pour la production d'enzymes en utilisant des microorganismes. Cultivées sur les margines, *Cryptococcus albidus* permet une production de 13 UI/ml de pectinases en 48 heures. Cette production peut être améliorée à 29,6 UI/ml en éliminant les phénols par floculation-clarification (Francesco, 1993). La réutilisation de ces enzymes pectinolytiques dans le processus mécanique d'extraction de l'huile d'olive permet d'augmenter le rendement en huile (Petruccioli et al., 1988).
- ✓ **Production des compléments alimentaires antioxydants :** les antioxydants les plus importants dérivés de margines sont les polyphénols, les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, l'acide oléanolique et l'acide maslinique (Evagelia et al., 2006). Il a été démontré que les polyphénols dérivés de l'olive présents dans les margines ont une activité antioxydante, antibiotique, antimicrobienne et antifongique. Ils peuvent être utilisés comme suppléments nutritionnels ou cosmétiques pour la peau. En raison de leurs propriétés antimicrobiennes, ils peuvent également être utilisés comme agents antimicrobiens dans les détergents et dans les agents de rinçage et de nettoyage. L'hydroxytyrosol peut être utilisé comme conservateur alimentaire, en pharmacologie et cosmétologie en raison de son action anti-âge et anti-inflammatoire. L'acide oléanolique régule le taux de cholestérol dans le sang et aide à équilibrer le poids corporel. L'acide maslinique a été largement étudié et semble posséder une activité anti-inflammatoire et antihistaminique (Evagelia et al., 2006). Les anthocyanes peuvent être extraites et purifiées de margines et utilisées comme complément alimentaire liquide, colorants alimentaires naturels, ou séchées puis utilisées comme aliment pour animaux (Codounis et al., 1983).
- ✓ **Compostage :** en agriculture, le compostage est l'une des principales technologies de recyclage des margines pour permettre la récupération des nutriments dans le sol. Le processus de compostage implique une dégradation biologique aérobie contrôlée des substrats organiques (déchets, résidus, etc.). Les micro-organismes utilisés à cet effet utilisent le substrat organique pour la croissance et la multiplication. Par ce processus, des substances et minéraux stabilisés et humiques sont produits qui peuvent être utilisés pour augmenter la fertilité du sol et la production végétale. Les margines sont ajoutées au substrat solide, qui s'enrichit de matière organique, et elles sont ensuite évaporées ou consommées (Zeev, 2009).

- ✓ **Utilisation en alimentation animale** : les margines ont été utilisés directement comme boisson pour le bétail (Ercoli et Ertola, 1983) et ils ont été donnés à des volailles à la place de l'eau potable (Fedeli, 1977). Ces expériences ont montré un abaissement du taux de mortalité de ces animaux et une diminution de leur coût par kilo de viande produite. Cependant, cette pratique reste à risque, en raison des taux élevés en sodium et en composés phénoliques pouvant engendrer un effet antitrypsique. L'apport des margines déshydratées a provoqué des diarrhées chez les ruminants (Salvemini, 1985). Le procédé Dalmolive décrit par Martilotti, (1993) semble remédier au problème. Il consiste à mélanger 50 kg de margines avec 20 kg de grignons et 12,6 kg de divers résidus et sous-produits agricoles pour réduire l'effet inhibiteur des composés phénoliques.

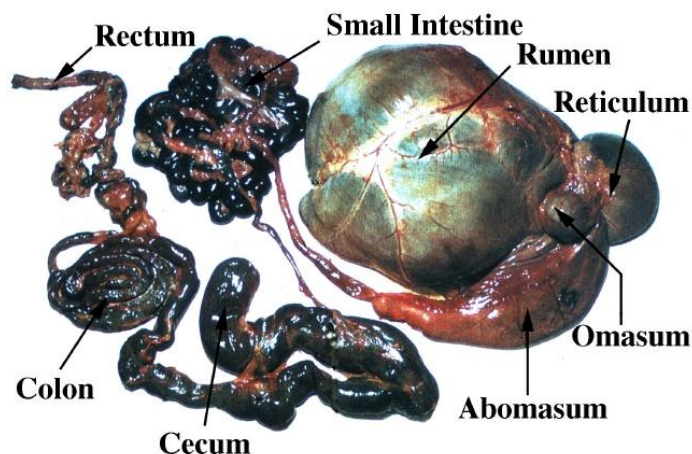
**Tableau 2.** Méthodes et processus proposés pour la valorisation des margines (d'après Charis, 2017)

Processus	Objectif / produit	Déclarations
Processus d'adsorption / désorption en flux continu	Récupération des composés phénoliques	L'Amberlite XAD16 a été utilisée comme adsorbant et de l'éthanol acidifié comme solvant de désorption. Le rendement d'adsorption était de 20%
Extraction à l'aide de liquides ioniques hydrophobes	Récupération du tyrosol	Des liquides ioniques hydrophobes ont été proposés pour remplacer les composés organiques volatils conventionnels comme solvants d'extraction pour récupérer le tyrosol de margine.
Processus intégré comprenant les technologies de fermentation, de séchage par pulvérisation et d'encapsulation	Pâte à tartiner à base de pâte d'olive, poudre d'olive et phénols encapsulés	Un certain nombre de sous-produits précieux ont été produits à partir de margine pour être inclus dans les formulations alimentaires.
Distillation solaire	Séchage de margine et récupération des composés phénoliques	Un distillateur solaire a été utilisé pour le séchage solaire simultané de margine et la récupération des composés phénoliques avec antioxydant propriétés du distillat.

Fermentation sombre	Production de biohydrogène	Fermentation sombre de margine par digestat anaérobie thermophile prétraité.
Hydrolyse enzymatique / microfiltration - ultrafiltration	Récupération de l'hydroxytyrosol naturel	Un processus à grande échelle sans produits chimiques consiste en un prétraitement enzymatique suivi de deux étapes de séparation par membrane à écoulement tangentiel, permettant la production d'un extrait riche en hydroxytyrosol.
Imprégnation sur biomasses sèches	Production de biocarburants solides	L'ajout de margine entraîne une augmentation des valeurs de chauffage de la biomasse sans effet négatif sur leur qualité de cuisson.
Bain de teinture pour teindre la laine	Colorants naturels pour teinture textile	La margine peut représenter une ressource possible pour la teinture des matières textiles. Il contient une précieuse source de substances colorantes naturelles abondantes.
Production de briques en terre cuite	Matériaux de construction en céramique	La margine a été utilisé pour remplacer l'eau douce dans la fabrication de briques d'argile. Les performances d'extrusion et les propriétés technologiques ont été améliorées.
Processus de fabrication de briques	Briques de construction	L'incorporation de margine à un taux de 23% a maintenu les propriétés physiques et mécaniques des briques ou les a améliorées.

## 2. FERMENTATION DIGESTIVE CHEZ LES RUMINANTS

L'appareil digestif détient le caractère le plus spécifique des ruminants. L'estomac occupe les 2/3 de la cavité abdominale, en dehors de la gestation. Il présente un pro-ventricule très développé, divisé en trois compartiments : le rumen (ou panse), le réticulum (bonnet ou réseau) et l'omasum (feuillet) et une portion, équivalente à l'estomac des monogastriques, l'abomasum (caillette) (fig. 4). Le rumen, c'est le principal compartiment, il représente 70 à 75% du volume total du tube digestif. Son rôle est majeur, puisque 60 à 90 de la totalité de la digestion a lieu dans cet organe (Jouany, 1994).



**Figure 4.** Tube digestif d'un mouton adulte (d'après James, 2002)

### 2.1. Ecosystème ruminal

Le rumen est analogue à une vaste cuve de fermentation. Les aliments y sont divisés par deux mastications successives et imprégnés de salive, se retrouvent pendant un temps prolongé, dans des conditions favorable à la multiplication et à l'activité d'une population microbienne dense et anaérobie. Cette dernière est constituée de bactéries, de protozoaires et de champignons.

#### 2.1.1. Paramètres physico-chimique du rumen

- ✓ **pH** : le pH joue un rôle important dans la régulation de l'activité microbienne. Il est pratiquement stable (6 à 7) (Jouany, 1994 ; Soltner, 1994). Par ailleurs, une fermentation rapide peut baisser le pH à 5, ce qui favorise la croissance des microorganismes qui produisent essentiellement le propionate et le lactate (Soltner, 1994). La salivation abondante et continue assure au contenu du rumen un pouvoir tampon par l'apport d'une grande quantité d'ions bicarbonate et phosphate.

- ✓ **Température** : elle est généralement supérieure à celle du corps entre 39 et 40°C. Cependant, elle peut atteindre 41°C lors des grandes fermentations.
- ✓ **Potentiel d'oxydoréduction** : le rumen se caractérise par une absence d'oxygène et un potentiel redox très bas, inférieur à  $-350$  mv (Jouany, 1994). La zone proche de l'épithélium est très vascularisée. Il s'y fixe une population microbienne facultativement aérobie qui contribue à l'élimination des traces d'oxygène ce qui permet de maintenir l'écosystème en anaérobiose (Crapelet et *al.*, 1974).
- ✓ **Pression osmotique** : la pression osmotique du rumen est voisine de celle du sang. A chaque fois qu'une variation survient suite à l'hydratation ou à l'ingestion d'aliments, l'équilibre est rétabli grâce à la perméabilité de la paroi ruminale à l'eau qui stabilise la teneur en eau du jus ruminal à 85-90% (Chenost et Kayouli, 1997). Elle augmente avec la présence d'acides gras volatils (AGV) produits par des processus de fermentation et a une relation directe avec le pH dans les régimes riches en glucides (Lodemann et Martens, 2006).
- ✓ **Phase gazeuse** : le mélange de gaz est fait principalement de 65% de CO<sub>2</sub> et de 35% de méthane (CH<sub>4</sub>). D'autres gaz comme l'hydrogène (H<sub>2</sub>), le sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et l'oxygène (O<sub>2</sub>) sont présents mais en quantités négligeables (Jouany, 1994).

## 2.1.2. Microbiote ruminal

Le rumen est un écosystème microbien complexe composé de plusieurs catégories de populations microbiennes : bactéries, archaebactéries, protozoaires, champignons et bactériophages,

### a) Bactéries

Le rumen abrite différents types de bactéries qui sont les plus activement impliquées dans la dégradation des fibres végétales, comme le révèle le fait que les bactéries associées aux particules alimentaires représentent près de 50 à 75% de la population microbienne totale (Mitsumori et Minato 1997). De plus, la plupart des activités endoglucanase et xylanase du rumen sont apportées par des bactéries et, par conséquent, les bactéries associées aux fibres sont essentielles à la digestion du rumen.

Les bactéries sont divisés en quatre groupes sur la base de leur association en tant que flottant libre dans la phase liquide, attachées aux particules alimentaires à l'épithélium du rumen, aux protozoaires et aux champignons. Par ailleurs, ces microbes se sont également diversifiés quant à leurs fonctions ; ils effectuent la dégradation des ingrédients végétaux et sont classés de ce fait

en bactéries dégradant les fibres (cellulose, hémicelluloses et pectine), les utilisatrices d'acide lactique, les acétogènes, les utilisatrices d'amidon (Anil et *al.*, 2015).

## **b) Archaeobactéries (Méthanogènes)**

Les archées méthanogènes du rumen utilisent  $H_2$  et le  $CO_2$  produits par les protozoaires, les champignons et les bactéries provenant du catabolisme des hexoses pour produire du  $CH_4$  et générer de l'ATP. Ces microorganismes possèdent spécifiquement trois coenzymes, à savoir la coenzyme F-420 impliquée dans le transfert d'électrons; la coenzyme M impliquée dans le transfert des groupes méthyle et une coenzyme B de faible masse moléculaire labile à l' $O_2$  et stable à la chaleur, impliquée dans la réaction finale de la production de  $CH_4$ .

## **c) Protozoaires**

Les protozoaires du rumen constituent environ 50% de la biomasse viable du rumen. La majorité sont des ciliés et peu de flagellés et sont très mobiles. La concentration des flagellés est plus faible ( $10^3$  à  $10^4/ml$ ), ce sont des organismes pouvant ingérer des bactéries (Fonty et Forano 1999). Les ciliés sont des organismes unicellulaires de 20 à 200  $\mu m$ , leur concentration est de  $10^4$  à  $10^6/ml$  non attachés aux particules alimentaires. Ils englobent les bactéries, se nourrissent des particules et digèrent les glucides, les protéines et les graisses (Williams et Coleman 1992). Les protozoaires du rumen produisent des produits finaux de fermentation similaires à ceux fabriqués par les bactéries, en particulier l'acétate, le butyrate et l' $H_2$ . Les archaeobactéries du rumen se fixent et vivent à la surface des protozoaires pour un accès immédiat à l' $H_2$ . Ils utilisent de grandes quantités d'amidon en même temps et peuvent le stocker dans leur corps. Cela peut aider à ralentir la production d'acides qui abaissent le pH du rumen.

## **d) Champignons**

Le rumen est un entrepôt de champignons anaérobies qui ne se trouvent pas ailleurs et jouent un rôle très dominant dans la dégradation des composants lignocellulosiques des particules alimentaires. Ils ne représentent qu'environ 20% de la biomasse microbienne du rumen, mais sont considérées comme les dégraisseurs de fibres les plus efficaces (Rezaeian et *al.*, 2004). Ils contribuent de manière significative au métabolisme global de l'hôte avec leur activité cellulolytique élevée et jouent un rôle plus important dans la dégradation des tissus végétaux lignifiés à l'aide d'une large gamme d'enzymes hydrolytiques, y compris des cellulases, des hémicellulases, amylases, amyloglycosidases, feruloyl et p-coumaroyl estérases, diverses disaccharidases et les pectinases (Anil et *al.*, 2015).

e) Bactériophages

Les bactériophages sont l'un des composants les plus importants de la communauté microbienne du rumen et sont généralement présents à plus de  $10^9$ /ml. Ils sont considérés comme des agents pathogènes obligatoires car ils sont capables de lyser les bactéries, ce qui contribue au renouvellement de la masse bactérienne d'une part et mettre à profit aux animaux la protéine bactérienne comme source d'acides aminés. La spécificité des bactériophages pour une bactérie particulière peut être exploitée pour être éliminée ou tuée par lyse de bactéries indésirables du rumen de l'écosystème comme *Streptococcus bovis* et les méthanogènes (Klieve et al., 1999).

2.1.3. Dégradation anaérobie de la matière organique

La décomposition anaérobie de la matière organique en  $CH_4$  et  $CO_2$  est un processus microbien complexe qui nécessite la coopération syntrophique des bactéries anaérobies et des archées méthanogènes. En bref, les biopolymères sont hydrolysés et fermentés, et les produits formés sont acheminés vers des composés utilisés par les méthanogènes (fig. 5) (Dave, 2010).

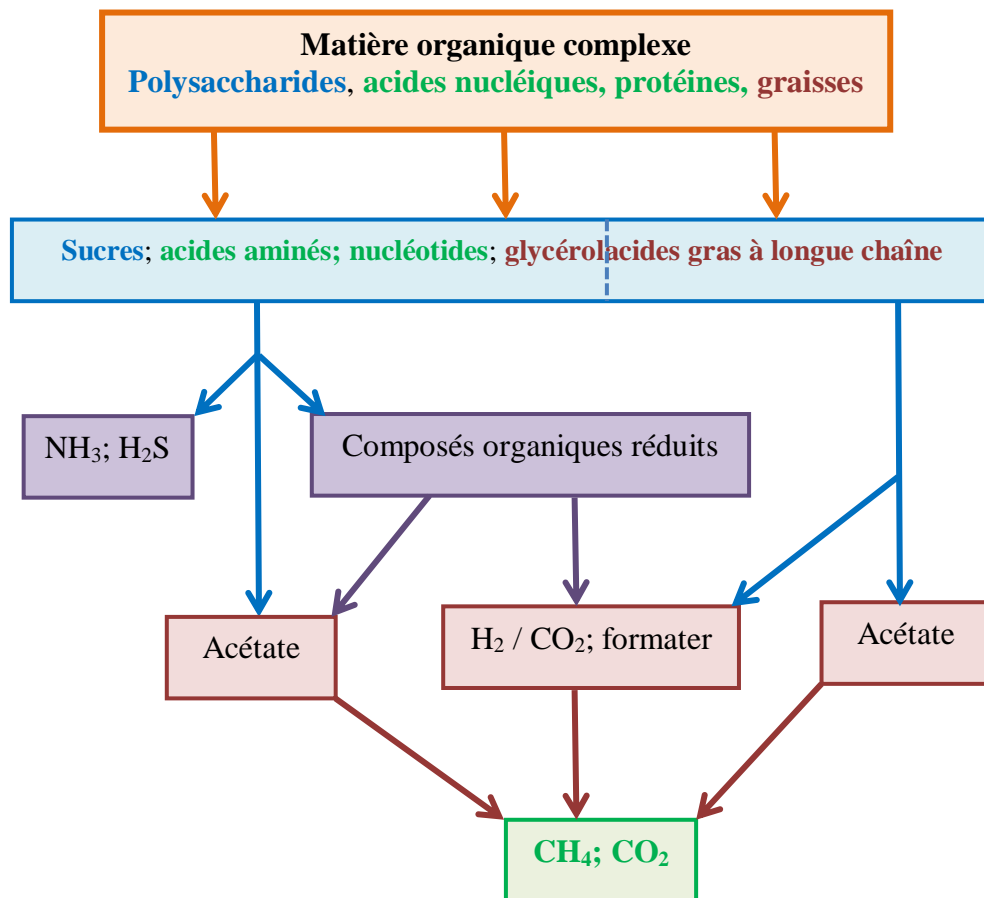


Figure 5. Schéma général du processus de digestion anaérobie (d'après Dave, 2010).

## a) Hydrolyse et acidogénèse

L'hydrolyse est une étape réductrice, il s'agit plus généralement d'une dépolymérisation (Palmisano et Barlaz 1996). Les exo-enzymes les plus rencontrées sont des hydrolases. Les liaisons covalentes susceptibles d'être clivées sont des liaisons de type esters, osidiques et peptidiques appartenant respectivement aux lipides, glucides et protéines. Les polysaccharides donnent des sucres (oses), tandis que les protéines sont converties en mélanges d'acides aminés, de petits peptides, d'azote ammoniacal, de composés sulfurés et de dioxyde de carbone. Les lipides sont dégradés en glycérol et en acides gras à longue chaîne (Dave, 2010). Ainsi, tous les substrats organiques peuvent subir une hydrolyse. Les produits solubles issus des dépolymérisations s'ajoutent à la fraction déjà soluble de la matière organique.

Le schéma général de minéralisation anaérobie de la matière organique est que les bactéries fermentaires dégradent les composés facilement dégradables tels que les sucres, les acides aminés, les purines, les pyrimidines et le glycérol en une variété d'acides gras, de CO<sub>2</sub>, de formiate et d'hydrogène (Dave, 2010).

Les produits d'hydrolyse sont métabolisés pour libérer les acides gras volatils (acides acétique, propionique, butyrique, valérique, caproïque, ...), des alcools et de l'H<sub>2</sub>. Les microorganismes rencontrés sont généralement de mêmes genres que ceux de la phase d'hydrolyse, c'est pourquoi ces deux phases sont généralement considérées comme une seule (Moss, 1995).

## b) Acétogénèse et méthanogénèse

La méthanogénèse est un processus dynamique dans le sens où les méthanogènes influencent fortement le métabolisme des bactéries fermentaires et acétogènes au moyen du transfert d'H<sub>2</sub> interspécifique. Les bactéries acétogènes dégradent les acides gras (supérieurs) en acétate, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> et formiate. Ces composés sont alors les substrats des méthanogènes (Dave, 2010). Ces processus se déroulent simultanément, mais en raison des taux de croissance et des activités différents des microorganismes impliqués, les différents processus sont partiellement découplés, ce qui entraîne l'accumulation d'acides organiques (Dave, 2010).

La méthanogénèse implique la consommation d'H<sub>2</sub> et la réduction par paliers du CO<sub>2</sub> (Fonty et Joblin, 1991). Un certain nombre de substrats peut être utilisé pour la méthanogénèse (acétate, formate, alcools de petite taille issus de la dégradation des pectines, ...), mais le CO<sub>2</sub> et l'H<sub>2</sub> sont néanmoins les principaux substrats impliqués. Ainsi, la majorité d'H<sub>2</sub> provenant de la dégradation des glucides termine en CH<sub>4</sub>. Cependant, plus important encore, la décomposition est toujours dirigée vers le CH<sub>4</sub> et le CO<sub>2</sub>, l'ammonium et des quantités mineures de sulfure

d'hydrogène, à condition que tous les groupes fonctionnels des microorganismes soient présents (Dave, 2010).

### c) Source de carbone et voie fermentaire

Puisque les proportions des AGV sont influencées par la composition de la matière organique du régime alimentaire, principalement par la nature et la vitesse de fermentation des carbohydrates, toutes ces caractéristiques alimentaires auront de larges effets sur la production de CH<sub>4</sub>. Un régime riche en amidon favorise donc la production du propionate et diminuera le ratio méthane/MOF dans le rumen. L'effet d'un tel régime sur le pH ruminal peut aussi expliquer l'effet observé sur l'émission de CH<sub>4</sub>. Au contraire, un régime à base d'aliment grossier entraîne une augmentation de ce ratio (CH<sub>4</sub> /MOF).

D'autres caractéristiques du régime alimentaire peuvent aussi influencer la production de CH<sub>4</sub>, elle s'accroît quand des fourrages secs et matures sont utilisés comme aliment ou quand ces fourrages sont hachés de manière grossière plutôt que d'être finement moulus. Elle décroît quand ces fourrages sont préservés en silots (Moss, 1994). Il a été montré que les traitements alcalins utilisés pour stimuler la dégradation des constituants de la paroi cellulaire entraînent une augmentation de la perte d'énergie sous forme de CH<sub>4</sub>.

### d) Réduction de la méthanogenèse chez les ruminants

Diverses voies sont explorées dans le but de réduire la production de méthane, des additifs de type antibiotique, chimique ou naturel, qui inhibent les microorganismes méthanogènes et/ou modifient les orientations métaboliques du rumen ; manipulations biotechnologiques par sélection des microorganismes du rumen ou vaccination contre les microorganismes méthanogènes (Martin et al., 2006) (tab. 3).

**Tableau 3.** Traitements possibles pour diminuer la méthanogenèse ruminale  
(d'après Jouany et Thivend, 2008)

Traitement	Microbes ciblés (mode d'action)	Effecacité (facteurs limitant)
<b>Additifs d'origine chimique</b>		
Antibiotiques ionophores (interdits en Europe depuis le 01/06 )	Bactéries Gram <sup>+</sup> et archaea	Transitoire
Analogues halogénés de CH <sub>4</sub>	Archaea	Transitoire ; toxicité

# Synthèse bibliographique

Extraits de plants, huiles essentielles	Bactéries, protozoaires, archaea	A démontrer <i>in vivo</i>
Acides aminés soufrés ou thiopeptide	Accepteurs d'électron	A démontrer <i>in vivo</i> ; coût
Sulfates, nitrates, fumarate.	Accepteurs d'électron	Aléatoire ; coût
Acides gras	Archaea et accepteurs d'électron	Efficacité démontré
<b><i>Probiotiques</i></b>		
Levures ou bactéries vivantes	Acétogènes	A démontrer <i>in vivo</i>
Bactéries oxydatives	Oxydation de CH <sub>4</sub> en CO <sub>2</sub>	A démontrer <i>in vivo</i>
<b><i>Procédés biotechnologiques</i></b>		
Défaunation du rumen	Protozoaires	Transitoire
Bactériocines	Bactéries Gram <sup>+</sup> et archaea	A démontrer <i>in vivo</i>
Sélection d'animaux CH <sub>4</sub>		Permanence de l'effet à démontrer

## 3. BLOCS MULTI NUTRITIONNELS

### 3.1. Généralités

Les blocs alimentaires, communément appelés blocs multi-nutritionnels (BMN), restent un moyen pour corriger les fourrages de mauvaise qualité. Leur valorisation optimale pourrait à la fois améliorer les performances zootechniques des animaux et réduire les coûts alimentaires (Meffeja et *al.*, 2007).

Un bloc multi-nutritionnel est un assemblage d'éléments homogènes renfermant des nutriments minéraux, azotés, énergétiques et parfois vitaminiques (Gnanda, 2008). Sa confection se fait à partir des ingrédients localement disponibles. Aussi, elle n'exige pas une haute technologie pour sa fabrication (figure 6).



**Figure 6.** Fabrication des blocs multi-nutritionnels (Abdou, 2015)

Les premiers essais de fourniture d'urée à travers des blocs de supplémentation alimentaire ont été réalisés en Afrique du Sud par Altona et *al.* (1960), cité par Beames (1963). Le bloc qui comprenait du sel commun et de l'urée a donné des résultats satisfaisants. Plus tard, d'autres expériences utilisant de la mélasse, de l'urée et du sel ont confirmé ces résultats. Les entreprises de fabrication d'aliments pour animaux ont également développé des blocs d'urée-mélasse, mais les blocs fabriqués par des procédés industriels étaient relativement chers et pas abordables pour ceux qui avaient le plus besoin de ce produit: les petits agriculteurs des pays en développement. Au début des années 80, les travaux du professeur Leng de l'Université d'Armidale en Australie, ont ravivé l'intérêt pour cette technologie, en particulier dans le développement (Makkar, 2007). Une technique des blocs multi nutritionnels décrite par Sansoucy et *al.* (1986) et vulgarisée depuis lors par de nombreux organismes constitue un moyen de valorisation de sous-produits agricoles et agro-industriels. L'effet bénéfique de ces BMN a été signalé par Gnanda et *al.* (2015).

## 3.2. Importance des blocs multi-nutritionnels

Les BMN permettent, grâce à des procédures de formulation et de fabrication appropriées, un apport équilibré, synchronisé et fractionné des principaux nutriments (principalement énergie, azote et minéraux) entraînant une amélioration de la digestion des aliments fibreux de mauvaise qualité (pailles, chaumes). et, par conséquent, dans une augmentation des performances des ruminants (Ben Salem et *al.*, 2005).

L'utilisation des blocs comme complément a entraîné des avantages économiques pour les agriculteurs. En effet, une augmentation de la production de lait a été réalisée avec un rapport coûts-avantages favorable variant de 1: 2 à 1: 5, ainsi qu'une augmentation de la durée de lactation qui peut soutenir un rendement laitier pouvant atteindre 4 ou 5 litres par jour chez les bovins (Makkar, 2007). Une amélioration substantielle de la performance de reproduction a été aussi obtenue chez les buffles avant et après l'accouchement.

Dans la plupart des pays, l'extension de la technologie des blocs aux agriculteurs s'est faite par la démonstration d'une augmentation de la production de lait ou d'un meilleur gain de poids corporel et donc d'une production de viande plus importante (Makkar, 2007).

## 3.3. Principe de fabrication et Ingrédients

Le principe est de faire sécher un mélange humidifié constitué d'urée, de minéraux, d'un support fibreux et d'un liant jusqu'à l'obtention d'un bloc cohérent, non friable et pouvant être léché par les ruminants (Moujahed et *al.*, 2003).

### 3.3.1. Aliments riches en nutriments azotés

L'urée constitue la principale source d'azote dans un bloc. Son taux d'incorporation dans le bloc dépasse rarement les 10%. Cependant, il est de plus en plus indiqué de faire recours à des sources d'azote protéique qu'un certain nombre d'ingrédients locaux peuvent procurer: gousses d'*Acacia raddiana*, cosses et fanes de niébé, fanes d'*Alysicarpus ovalijolius*, de *Cassia Obtusifolia* (Tinde, 2016). Les tourteaux (tourteaux de coton, tourteaux de soja) constituent des sources importantes d'apports de protéines vraies dans la composition des BMN (Moujahed et *al.*, 2003).

### 3.3.2. Aliments riches en nutriments énergétiques

La mélasse reste une excellente source d'énergie fermentescible rapidement disponible dans le rumen des animaux. Cependant, pour ne pas rendre très durs les BMN, il est conseillé de ne pas incorporer des quantités importantes de mélasse. Certains produits ligneux tels que les

gousses de *Piliostigma reticulatum* et les fruits de *Faidherbia albida*, sont d'assez bonnes sources d'énergie pour les BMN. Le son de blé et les sons locaux (son de mil, de sorgho, de maïs) constituent également des ressources énergétiques très intéressantes pour les BMN (Tinde, 2016).

### **3.3.3. Aliments riches en éléments minéraux**

On peut utiliser du sel marin simple ou du sel iodé. La richesse des BMN en phosphore, en calcium et en magnésium est assurée par la présence de la poudre d'os ou des coquilles d'huîtres et dans une moindre mesure du kaolin ou de l'argile, souvent incorporé aux produits pour son rôle de liant. Le phosphate bicalcique représente également une source importante d'apport en phosphore, en calcium et en magnésium. Les éléments traces tels que le fer (Fe), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) sont couramment incorporés dans les blocs sous forme de d'oxydes ou de sulfates. Cependant, certains intrants des BMN tels que les feuilles et les gousses des ligneux peuvent également contribuer à les enrichir en Fe, en Cu, en Zn et en Mn (Tinde, 2016).

### **3.3.4. Aliments jouant le rôle de liants**

Le ciment ordinaire est le plus couramment utilisé comme liant pour la fabrication des BMN. En général, il est utilisé à la dose de 5 à 15% (Hassoun, 1990). La chaux vive est également utilisée comme liant pour la fabrication des blocs. D'autres matières telles que la mélasse, l'argile, le kaolin, les cosses de niébés jouent également le rôle de liant.

### **3.3.5. Autres produits**

Plusieurs autres produits comme les grignons d'olive, la farine de luzerne, les algues marines et les déchets de brasseries peuvent selon le cas et la disponibilité être incorporés dans les blocs (Moujahed et *al.*, 2003). Certains produits vétérinaires ou chimiques pour le traitement contre les parasites ou les manipulations de la fermentation dans le rumen peuvent être ajoutés dans les blocs (Moujahed et *al.*, 2003). C'est le cas de certains produits anti-nématodes tels que le Fenbendazole et l'Albendazole dont l'incorporation dans les blocs a permis l'élimination des parasites et l'amélioration des performances de l'animal (Zhu et *al.*, 1991 ; Dorchie et *al.*, 1996). Hamada (1989) a utilisé le propylène glycol comme additif dans les blocs. Ce produit a amélioré significativement l'utilisation digestive d'une ration à base de paille.

### 3.4. Formulation et qualité des blocs

Il n'existe pas de formule standard pour les blocs puisque le choix des constituants est tributaire des disponibilités et des moyens locaux dont disposent les éleveurs. Néanmoins, certaines caractéristiques des ingrédients sont à respecter en raison du rôle particulier (physique et/ou nutritionnel) de chacun. Dans la plupart des cas, les blocs contiennent de l'urée, de la mélasse, un liant, un aliment fibreux et du sel.

On note souvent l'addition de certains sous-produits agro-industriels et parfois d'oligo-éléments, d'additifs et même de produits à usage vétérinaire (Moujahed et *al.*, 2003). Le tableau 4 illustre plusieurs formules utilisées au cours des dernières années.

**Tableau 4.** Exemples de formules utilisées (% de produit brut ; Moujahed et *al.*, 2003).

Ingrédients	Formules								
Urée	10	10	10	4,4	10	10	10	10	5,9
Mélasse			50		10	10	10		
Son de blé	65	60	25	26,7	35	30	43	48	23,5
Gruau de blé				10,7					11,8
Grignons d'olives				42,2	20	15			35,3
Ciment	10		5		10	10	15	20	
Chaux	5	20	5	10,7			5	5	7,8
Sel			5	4,4	5	5	10	10	3,9
Phosphate bicalcique	10	10			5	5	5	5	
CMV				0,9	5	5	2	2	1
PEG 4000						10			10,7

### 3.5. Évaluation des caractéristiques physiques du bloc multi-nutriments

Une caractéristique importante peu documentée dans la littérature est les caractéristiques physiques du BMN. Il s'agit d'un aspect important à prendre en compte lors de la fabrication, notamment dans des conditions artisanales. Il faut souligner que les ingrédients utilisés dans le bloc multi-nutriments et leurs proportions déterminent les caractéristiques physico-chimiques et donc affectent l'acceptabilité et l'apport par les ruminants.

Un BMN est un agrégat de composants qui ont chacun des caractéristiques physiques individuelles, notamment la taille et la forme des particules, la densité et la teneur en humidité.

La manière dont les ingrédients s'organisent dans le mélange détermine ses caractéristiques physiques affectant la dureté et l'apport en BMN (Herrera et *al.*, 2007).

Birbe et *al.* (1994) ont signalé que de nombreux facteurs affectent l'utilisation des BMN, notamment environnementaux, biologiques, chimiques, techniques et physiques, mais ont souligné les facteurs techniques. Les variables les plus importantes ont été évaluées et certains de leurs effets sont résumés dans le tableau 5. La teneur en eau des BMN joue un rôle fondamental en ce qui concerne le mélange, la prise et la manipulation du mélange. Comme indiqué dans le tableau 5, les variations de la teneur en eau modifient le compactage et la dureté. L'eau est un agent essentiel pour obtenir un bon mélange entre l'agglutinant et la fibre, obtenant les réactions chimiques nécessaires au durcissement en bloc (Herrera et *al.*, 2007).

**Tableau 5.** Facteurs techniques de production qui affectent la dureté du BMN (Herrera, 2007).

Variable	Niveau	Effet dans le BMN	
		Résistance au pénétromètre (kg / cm <sup>2</sup> )	Résistance à la presse (kg / cm <sup>2</sup> )
Teneur en eau du BMN(en %)	10	3,7	6,86
	15	2,8	4,1
	20	2,1	3,2
Teneur en chaux (en %)	5	2,2	4,4
	10	4,1	8,1

La qualité des blocs est appréciée selon leur dureté et leur cohésion. Pour tester la dureté des blocs on exerce une certaine force avec le pouce sur le milieu du bloc, la qualité est bonne lorsque le pouce ne s'enfonce pas même avec de grande pression. Le test peut également se faire à l'aide d'un pénétromètre digital (Chabaca et *al.*, 2010). Pour la cohésion, elle est déterminée en essayant de rompre le bloc à la main, s'il reste intact il est bien cohérent et les animaux pourront le lécher. Les BMN peuvent être conservés pendant 2 ou 3 ans. Leur dureté augmente avec la durée de conservation mais sa qualité nutritive est très peu affectée.

## 3.6. Utilisation des blocs par les animaux

Les blocs constituent une complémentation de saison sèche qui peut même se prolonger jusqu'en début d'hivernage. Ils contiennent de l'urée qui peut être toxique, il convient par conséquent de respecter les règles suivantes:

- La distribution des blocs est réservée aux ruminants (bovins, buffles, ovins, caprins, camélidés). Seuls les ruminants sont en effet capables d'utiliser l'urée dans les blocs grâce aux microbes de leur rumen.
- Les blocs sont à utiliser comme complément et non comme aliment de base. Ce sont des compléments "catalytiques" permettant de mieux valoriser les fourrages pauvres ingérés par les ruminants. Il est, par conséquent exclu de donner des blocs à un animal affamé car il risque de s'intoxiquer par suite d'une consommation excessive d'urée.
- Il convient de respecter une période de transition et de ne présenter les blocs aux animaux que progressivement sur une à deux semaines pour permettre aux microbes du rumen de s'adapter à ce nouveau complément contenant l'urée. On ne mettra donc les blocs à disposition des animaux que quelques heures (2 à 4 h) par jour.
- Les quantités ingérées dans la majorité des contrôles effectués chez les paysans sont de l'ordre de 400 à 800 g/jour pour les bovins et les buffles adultes, 100 à 250 g/jour pour les petits ruminants, ovins et caprins et 300 à 500 g/jour pour les camélidés.
- La distribution des blocs doit être effectuée de façon régulière et continue afin d'éviter les temps d'adaptation de la flore microbienne du rumen qui est en effet de deux semaines environ à chaque reprise de la distribution (Sansoucy, 1986).

## 3.7. Impact des blocs multi-nutritionnels

### 3.7.1. Effet des blocs multi-nutritionnels sur l'apport en matière sèche

Lorsque l'on considère l'apport de matière sèche (AMS) des aliments fibreux, les principaux facteurs limitant sont sa digestibilité et la vitesse à laquelle il est décomposé en tailles de particules qui peuvent traverser l'orifice réticulo-omasal (Preston et Leng, 1984). Le broyage fin des aliments fibreux faciliterait son passage dans le tractus inférieur, mais sa digestibilité dans le tractus inférieur est diminuée. Par conséquent, la dégradation des fibres alimentaires en fine particules par le microbioteruminal permettra leur fermentation et imitera leur temps de séjour dans le rumen (Garg et *al.*, 2007). L'augmentation des apports de matière sèche (MS), de matière organique (MO), de protéines brutes (PB), de fibres détergentes neutres (NDF) et de fibres détergentes acides (ADF) avec des BMN, une supplémentation en léchage a également été

soutenue par plusieurs chercheurs (Gupta et Malik, 1991 ; Mohini, 1991; Manget Ram et Gupta, 1988). Avec la supplémentation en BMN, l'AMS de la paille a augmenté de 30 à 50% dans différentes expériences.

### **3.7.2. Effet des blocs multi-nutritionnels sur la digestibilité et l'équilibre nutritionnel**

La digestibilité augmente en raison de l'augmentation des taux de fermentation du rumen, médiée par une plus grande population de microflore et une activité cellulolytique accrue. La digestibilité de la MS de paille est d'environ 40 à 45% dans des conditions non manipulées, avec la supplémentation en BMN, la digestibilité augmenté à 50% (Manget Ram et Gupta, 1988). Mohini (1991) a observé une amélioration même significative de la digestibilité de l'extrait sans azote (ENF) avec des compléments multi-nutritionnels dans les régimes à base de paille de riz. La digestibilité de l'ADF a été améliorée de 37,4% à 41,3% avec des blocs multi-nutritionnels léchant la supplémentation en paille de blé, tandis que la digestibilité du NDF a augmenté beaucoup plus que l'ADF, soit de 42,6 à 51,8%.

La digestibilité de la MS et de la MO est passée de 44,0 et 45,22% à 50,0 et 53,0%, respectivement, grâce à la supplémentation en blocs multi-nutritionnels (Tiwari, Singh et Mehra, 1990). Il peut être donc conclu que la supplémentation en blocs multi-nutritionnels stimule la digestibilité des régimes basaux basés sur des fourrages de faible qualité (Garg et *al.*, 2007).

### **3.7.3. Effets des blocs sur la croissance des ruminants**

Les pâturages mûrs secs ou la paille donnés seuls sont déséquilibrés en nutriments pour assurer un rumen actif et efficace et pour assurer une utilisation efficace des nutriments absorbés. L'apport alimentaire et les nutriments absorbés par de tels régimes sont insuffisants pour assurer des besoins d'entretien même et les animaux perdent du poids s'ils ne reçoivent pas de supplément d'azote et de minéraux. Les blocs mélasse-urée ajoutés à un tel régime déséquilibré permettent des besoins d'entretien car ils assurent une digestion fermentative efficace. Lorsque certaines protéines de by-pass sont ajoutées (par exemple la farine de coton, le tourteau de noug), il y a un effet synergique qui améliore encore considérablement le gain quotidien moyen des ruminants et ils deviennent beaucoup plus efficaces dans l'utilisation des nutriments disponibles. De plus, les nutriments totaux sont souvent augmentés car l'apport alimentaire est augmenté (Sansoucy et *al.*, 1986). Comparée à l'urée fournie par pulvérisation sur de la paille, l'urée des blocs donne des résultats supérieurs. On suppose qu'une partie de la réponse peut être due à la petite quantité d'énergie supplémentaire fournie par la mélasse mais aussi par un effet stimulant d'autres ingrédients dans les blocs de l'écosystème du rumen (Preston et Leng, 1986). Plusieurs

travaux de recherche ont montré que la complémentation des fourrages pauvres par les blocs multi-nutritionnels améliore la croissance des animaux. Le GMQ varie de 288 à 400 g/j et de -53 à 67 g/j, respectivement, pour les veaux de vaches ou de buffles et les petits ruminants.

### **3.7.4. Effets des blocs sur la production de lait**

L'utilisation des BMN a permis une réduction substantielle du concentré dans l'alimentation des vaches buffles nourries avec de la paille de riz. Le rendement en lait corrigé des matières grasses n'a pas été diminué en remplaçant une partie du concentré par un bloc. Mais la quantité de paille dans l'alimentation et donc le profit par animal et par jour ont été considérablement augmentés (Sansoucy et *al.*, 1986).

Une expérience commerciale considérable a maintenant été acquise dans l'utilisation de blocs pour compléter les buffles laitiers nourris à la paille de riz dans les conditions du village en Inde (George Kunju, 1986). La réduction de la quantité de concentré donné aux vaches buffles de 5 à 3,5 ou 4 à 2,5 kg / jour et la distribution de blocs n'ont pas réduit la production de lait mais augmenté le pourcentage de matières grasses d'environ 10% et réduit le coût de l'alimentation. Dans d'autres observations, l'ajout de blocs au régime a augmenté la production de lait d'environ 10 à 25% et la teneur en matières grasses du lait de 13 à 40%. De nombreux agriculteurs ont signalé une amélioration de la santé générale des animaux grâce à une supplémentation en blocs à lécher par rapport à l'alimentation de la paille seule. Une augmentation de la consommation de paille a été signalée par tous les agriculteurs, avec une amélioration simultanée du rendement en lait et des pourcentages de matières grasses (Dave et Choudhary, 1986).

Des essais ultérieurs ont été menés en Éthiopie avec des vaches croisées recevant du foin de prairie de faible qualité avec deux niveaux de tourteaux. Ils ont montré que la production de lait augmentait de 28% lors de l'alimentation de 2 à 1 kg de tourteau en l'absence de blocs. Cependant, il n'y avait aucune différence entre les deux niveaux de tourteau de noug lorsque les vaches avaient accès à des blocs (contenant 10% d'urée). Il a ensuite été possible d'économiser 1 kg de tourteau en fournissant des blocs sans réduire la production de lait (Sansoucy et *al.*, 1986).

### **3.7.5. Effet des blocs multi-nutritionnels sur la fermentation du rumen**

La caractéristique importante de l'utilisation des nutriments chez les ruminants est la digestion fermentaire anaérobie. Par conséquent, pour augmenter l'efficacité de l'utilisation ou de la productivité des nutriments, il est nécessaire de prendre des mesures qui maintiennent un environnement propice à une meilleure activité microbienne dans le rumen. Les principales exigences pour obtenir une meilleure activité microbienne et une meilleure production cellulaire

dans le rumen sont: l'approvisionnement suffisant en azote, l'approvisionnement suffisant en ATP et l'approvisionnement en minéraux et monomères en quantité suffisante (Garg et *al.*, 2007). Le principal facteur limitant avec les pailles est la carence en N-N insuffisant pour assurer une quantité suffisante d'ammoniac dans le liquide du rumen (Manget Ram, 1989). Lorsqu'une supplémentation sous forme de BMN a été fournie, l'ammoniac-N ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) dans le liquide du rumen a augmenté de manière optimale (Manget Ram, 1989 ; Mohini, 1991). La concentration de  $\text{NH}_3\text{-N}$  a considérablement augmenté, passant de 76 mg/l à 239 mg/l après une supplémentation de BMN avec un régime à base de paille de riz. Lorsque le  $\text{NH}_3\text{-N}$  dans le rumen augmente, la consommation de blocs diminue proportionnellement (Garg et *al.*, 1990). On pense que le niveau d'ammoniac est un contrôle biosystémique de la prise de blocs par l'animal (Kunju, 1986). Manget Ram (1989) a observé une différence significative dans le niveau de  $\text{NH}_3\text{-N}$  dans le rumen lorsque la paille de blé a été complétée soit par un mélange concentré, soit par des BMN. Les niveaux de  $\text{NH}_3\text{-N}$  dans le liquide du rumen étaient de 223 mg / l et 183 mg/l, respectivement, pour les BMN ou la supplémentation en concentré. Même à ce niveau élevé de  $\text{NH}_3\text{-N}$  dans le rumen, le  $\text{NH}_3\text{-N}$  sanguin n'a augmenté que pour atteindre 1,27 mg/100 ml, ce qui n'a indiqué aucun effet toxique de l'urée par le biais de blocages multi-nutritionnels (Garg et *al.*, 2007).

Avec une augmentation de l'AMS, les concentrations d'acides gras volatils (AGV) ont augmenté lorsque les agneaux ont consommé un supplément de blocs multi-nutritionnels avec un régime basal de paille de blé. Un déplacement modeste mais insignifiant de la proportion d'AGV vers une production plus élevée de propionate a également été observé (Sudana et Leng, 1986). Le taux de production de protozoaires était environ divisé par deux dans les groupes supplémentés en blocs multi-nutritionnels par rapport aux groupes supplémentés en concentrés. Cela pourrait être dû à un effet de défaunissement partiel soit par les ingrédients des blocs multi-nutritionnels en général, soit la bentonite de sodium en particulier (Manget Ram, 1989; Mohini, 1991). La conclusion générale, basée sur les paramètres du rumen, était que les blocs multi-nutritionnels pouvaient invariablement et efficacement remplacer la supplémentation en concentré (Garg et *al.*, 2007).

# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**



## 1. RAPPEL DES OBJECTIFS

Ce travail a été mené dans le laboratoire de Recherche Appliquée, à l'université de Ghardaïa. Son objectif est de valoriser les déchets liquides des huileries « margines » dans l'alimentation animale. Pour cela, cette étude avait pour but de déterminer en premier lieu les caractéristiques physico-chimiques des margines et, dans un second temps, d'étudier l'impact de leurs extraits phénoliques, leurs différentes proportions et les blocs multi-nutritionnels (constitués à base de margines) sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticale comme indiqué dans la figure 7.

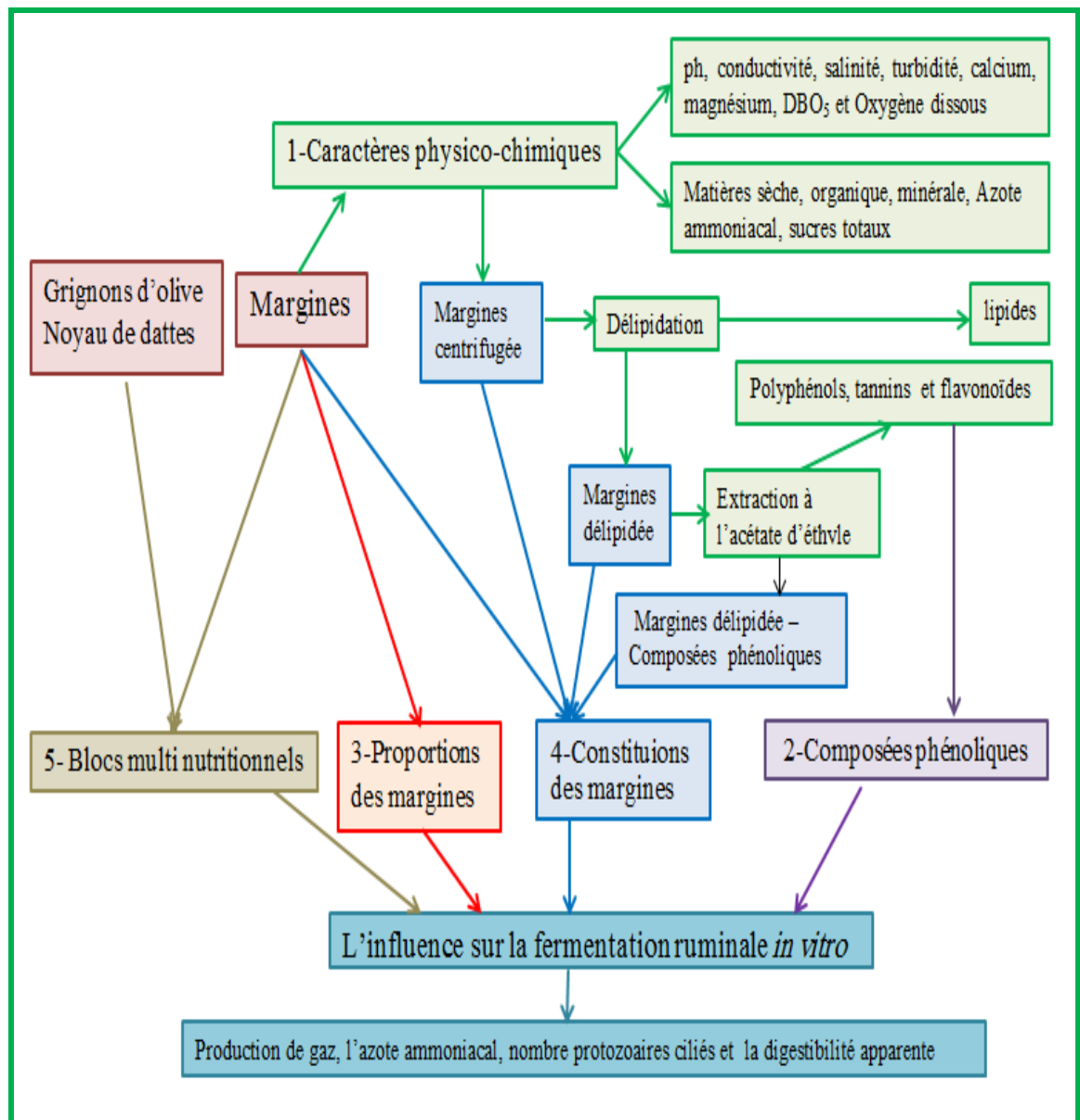


Figure 7. Méthodologie de travail.



## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Margines

Les margines sont les résidus obtenus à partir de l'extraction d'huile d'olive de trois variétés d'olives : *Chemlal*, *Sigoise* et *Cornicabra*. Ces olives sont pressées selon deux modes de trituration dans deux huileries différentes (fig. 8) :

- **Huilerie à presse discontinue (mode traditionnel)** : Nour ala nour de la région de El Guerrara, (32° 47' 25.01" N 4° 29' 18.68" E) 120 km environ à l'est de wilaya de Ghardaïa.
- **Huilerie à presse continue (mode trois phases)** : de la région de Belghanem (32° 29' 10.09" N 3° 38' 35.35" E) dans la wilaya de Ghardaïa située au centre de la partie Nord de Sahara de l'Algérie.

La collecte a été réalisée pendant la période hivernale des années suivantes: 2017; 2018 et 2019. Les échantillons sont introduits dans des bidons en polypropylène fumées de 5L et, une fois au laboratoire, ils sont stockés à l'obscurité, dans un environnement à 4°C.

### 2.2. Foin de triticales

Le foin de triticales (*Triticum aestivum*) est retenu comme substrat standard de référence (témoin), Il a été collecté à la ferme Habib à Mansoura, Ghardaïa, Algérie.

### 2.3. Grignons d'olive

Les grignons d'olives (sous-produits solides) sont prélevés au niveau de l'huilerie de Belghanem, wilaya de Ghardaïa.

### 2.4. Noyau de dattes

Ils sont collectés auprès de magasins qui vendent des aliments pour les bétails à Ghardaia, ce sont les noyaux de dattes de variétés locales.

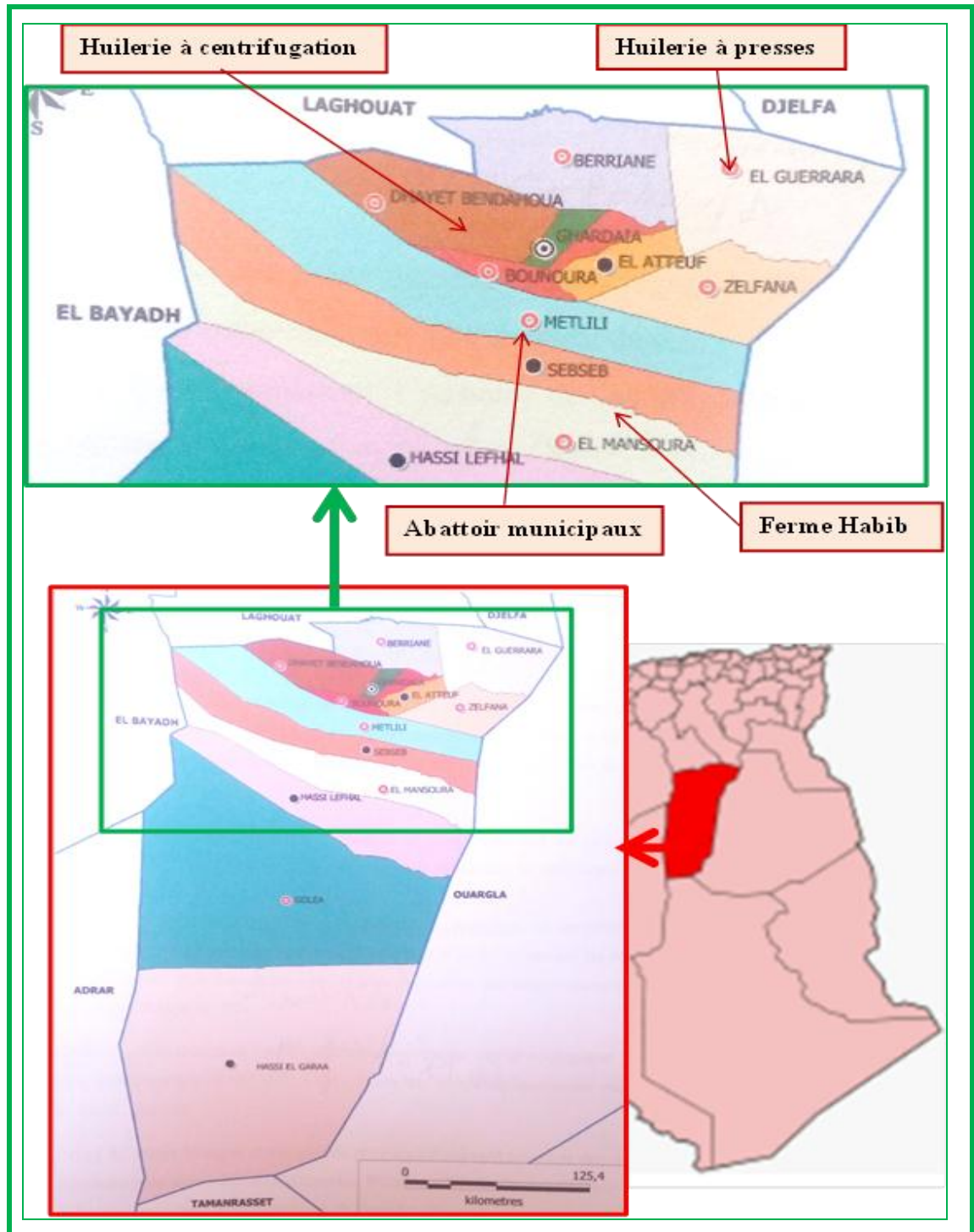
Au laboratoire, le foin, les grignons d'olive et les noyaux de dattes sont séchés et broyés en particule homogènes calibrées.

### 2.5. Inoculum

Les animaux utilisés comme source d'inoculum sont des ovins, choisis de manière aléatoire, d'âge et de sexe différents et pâturant sur des parcours naturels, selon les déclarations des propriétaires (un régime alimentaire libre et non défini). Ils sont sacrifiés aux abattoirs



municipaux de Metlili à 20 km environ au sud de la wilaya de Ghardaïa (32° 16' 25.50" N 3° 37' 43.51 "E). Le jus de rumen est obtenu par filtration du contenu de rumen à travers la gaze chirurgicale. Cet inoculum est recueilli dans des Thermos préalablement chauffés à 39°C et saturés en CO<sub>2</sub>. Ils sont hermétiquement fermés et transférés directement au laboratoire où ils sont traités, au plus tard dans les 2 heures qui suivent la collecte.



**Figure 8.** Carte modifié de la wilaya de Ghardaïa présentant la zone d'étude.



## **3. CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES DES MARGINES**

### **3.1. pH**

Le pH des margines est une indication de leur taux d'acidité. Il a été déterminé par un pH-mètre modèle Aawa AD1000.

### **3.2. Conductivité et Salinité**

La conductivité a été déterminée selon le procédé décrit par Rodier et *al.* (2009). Elle a été mesurée par un conductimètre AL250-IR. La conductivité électrique d'un liquide ( $\gamma$ ) est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm<sup>2</sup> de surface et séparées l'une de l'autre de 1 cm. Elle est l'inverse de la résistivité électrique ( $\rho$ ) :

$$\gamma = 1/\rho = (1/R). (L/S)$$

Avec  $\gamma$  : conductivité (en  $\Omega^{-1}.m^{-1}$  ou S. m<sup>-1</sup>),

$\rho$  : résistivité (en  $\Omega. m$ ),

R : résistance (en  $\Omega$ ),

L : distance entre les deux électrodes (en m),

et S : surface de chaque électrode (en m<sup>2</sup>).

La mesure de la salinité (i) a été réalisée à l'aide d'un salinomètre. L'étalonnage a été effectué à partir de margine que l'on introduit après l'avoir amenée à la température ambiante dans la cellule de mesure de l'appareil "Multi-paramètre WTW 340.I" (Rejeseck, 2003).

### **3.3. Turbidité**

La turbidité des margines a été déterminée par turbidimètre AL250-IR (Rodier et *al.* 2009). Elle permet l'appréciation de l'abondance de ces particules en suspension, notamment les substances colloïdales : argiles, limons, grains de silice, matières organiques, etc.

### **3.4. Calcium et Magnésium**

Le titrage molaire des ions calcium et magnésium se fait à l'aide d'une solution de sel disodique de l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) à pH=10. Le noir érichrome T (NET), qui donne une couleur rouge foncé ou violette en présence des ions calcium et magnésium, était utilisé comme indicateur (Rodier et *al.* 2009).



- ✓ La détermination de la quantité de calcium était donnée par la formule suivante :

$$\text{Ca}^{2+} \text{ (mg/l)} = V1 \times 0.01 \times F \times 40.08 \times 1000/50$$

$$\text{Donc } \text{Ca}^{++} \text{ (mg/l)} = V1 \times F \times 8.016$$

V1: Volume d'EDTA nécessaire pour une concentration donnée.

C : Concentration molaire d'EDTA (0,01 M/l ).

Mca<sup>++</sup> : Masse molaire du calcium en g.

PE : Prise d'essai (volume de l'échantillon nécessaire pour ce dosage).

F : Facteur de dilution.

- ✓ La détermination de la quantité en magnésium a été donnée par la formule suivante :

$$\text{Mg}^{2+} \text{ (mg/l)} = (V2-V1) \times C \text{ EDTA} \times F \times \text{MMg}^{2+} \times 1000/PE$$

$$\text{Mg}^{2+} \text{ (mg/l)} = (V2-V1) \times 0.01 \times F \times 24.3 \times 1000/50$$

$$\text{Donc } \text{Mg}^{2+} \text{ (mg/l)} = (V2-V1) \times F \times 4.86$$

V2 : Volume total d'EDTA.

V1 : Volume d'EDTA nécessaire pour une concentration donnée.

C : Concentration molaire d'EDTA (0,01 M/l).

MMg<sup>2+</sup>: Masse molaire du Magnésium en g

PE : Prise d'essai (volume de l'échantillon nécessaire pour ce dosage)

F : Facteur de dilution

### 3.5. DBO<sub>5</sub> et Oxygène dissous

La demande biochimique en oxygène (DBO<sub>5</sub>) est définie comme la quantité d'oxygène consommée dans les conditions de l'essai, c'est-à-dire après incubation durant 5 jours, à 20°C et dans l'obscurité, par certaines matières présentes dans les margines, principalement pour assurer leur dégradation par voie biologique. Pour cela, les échantillons dilués (43,5ml) ont été incubés dans un DBO-mètre (figure 9). La DBO est calculée sur la base de la formule suivante :

$$\text{DBO}_5 = V \times f \times F$$

V : La somme des valeurs enregistrés après 5 jours.

f : facteur de dilution de l'échantillon.

F : facteur de dilution correspondant au volume de l'échantillon présent dans le DBO-mètre = 50, ce qui correspond au volume de 43.5ml.



**Figure 9.** Mesure de la DBO des margines.

## **4. CARACTERISATION BIOCHIMIQUES DES MARGINES**

### **4.1. Détermination des matières sèche, organique et minérale**

Les matières sèche, organique et minérale sont déterminées par la méthode classique de l'AOAC (1990).

#### **4.1.1. Matières sèche**

La matière sèche a été déterminée par dessiccation dans une étuve ventilée jusqu'à poids constant. 10 ml de margines ont été introduit dans un cristalliseur préalablement taré. Ce dernier a été placé dans une étuve à 105°C pendant 48 heures (jusqu'à poids constant). La différence de poids correspond à la perte d'humidité et le résidu caractérise la teneur en matière sèche de l'échantillon. Pour les autres substrats, la teneur en matière sèche est déterminée par le séchage de 5g d'échantillon.

#### **4.1.2. Matières organique et minérale**

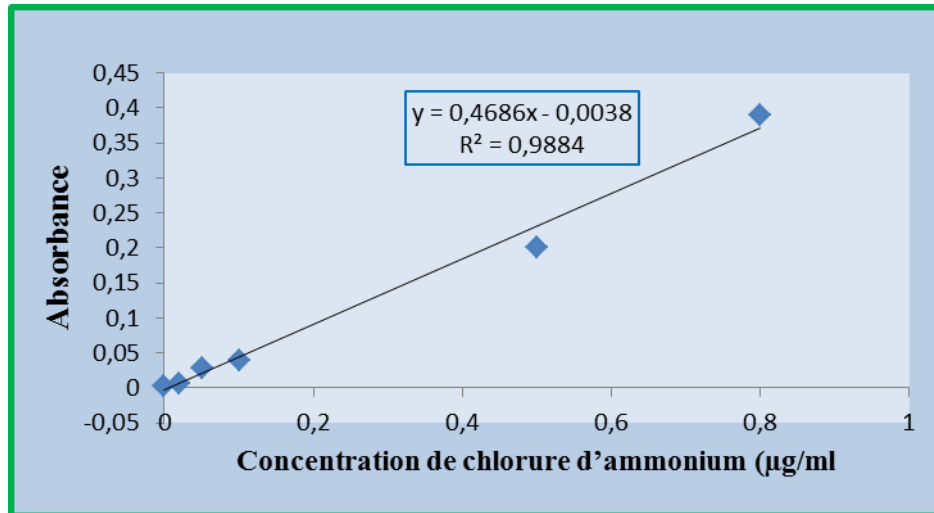
La matière organique a été déduite en faisant la différence entre la matière sèche obtenue, par évaporation à 105°C et les résidus de cendres. La matière minérale correspond au résidu issu de la calcination à 550°C pendant 5 heures dans un four à moufle.

### **4.2. Azote ammoniacal**

Les ions ammoniums sont dosés par la méthode d'indophénol. En milieu alcalin et en présence de nitroprussiate qui agit comme un catalyseur, les ions ammonium traités par une



solution de chlore pour les transformer en monochloramine ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ) et de phénol donnent du bleu d'indophénol susceptible d'un dosage par spectrométrie. La lecture de la densité optique au spectrophotomètre se fait à une longueur de 630nm. La concentration des ions ammoniums est déduite à partir d'une gamme étalon (fig. 10) d'une solution de chlorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) à des concentrations comprises entre 1 et 10 mg de  $\text{NH}_4^+ \cdot \text{l}^{-1}$  (Rodier et al 2009).



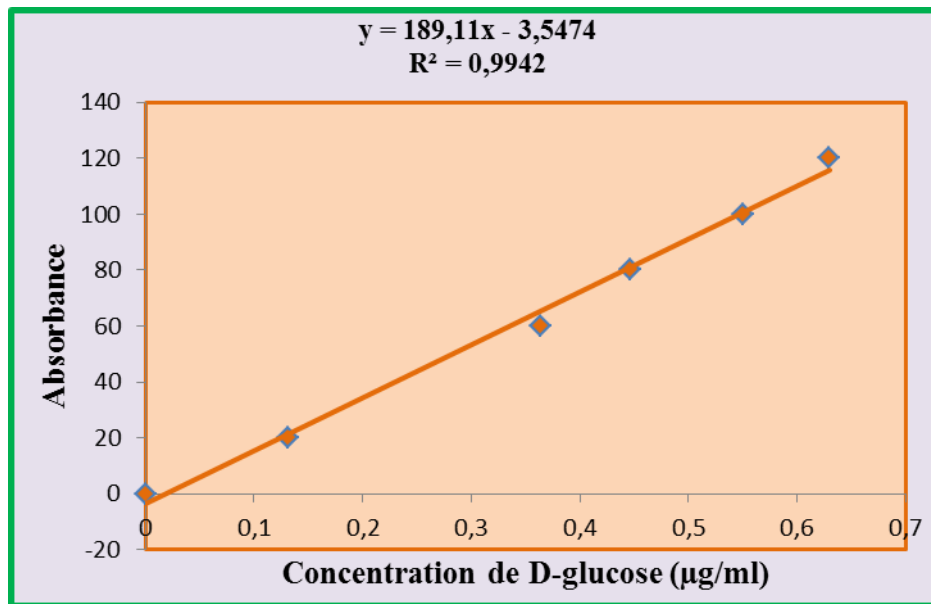
**Figure 10.** Courbe étalon correspondant au dosage de l'azote ammoniacal.

### 4.3. Sucres totaux

Les sucres totaux sont déterminés par spectrophotométrie selon la méthode (Phénol sulfurique acide) décrite par Dubois et *al.* (1956).

Pour les margines, 1ml de l'échantillon est additionné de 1 ml d'une solution phénolique (5%) et 3ml d'acide sulfurique concentré (97%). Il est laissé au repos à l'obscurité pendant 10 min puis chauffé à 30°C pendant 30 min. Les sucres réagissent avec le phénol et l'acide sulfurique concentré et donnent une coloration jaune-orange. La densité optique est mesurée à 488 nm. Les valeurs obtenues sont traduites en concentration par référence à un courbe étalon de D-glucose préalablement établie (fig. 11).

Pour le foin, son traitement nécessite une extraction préalable des sucres totaux. Cette dernière consiste à mélanger 30 mg d'échantillon avec 97 ml d'eau distillée et 3 ml l'acide sulfurique concentré (97%). Le mélange est agité à 60°C pendant 3h, il subit alors le protocole de dosage déjà présenté.



**Figure 11.** Courbe étalon correspondant au dosage des sucres totaux.

#### 4.4. Lipides

La matière grasse a été déterminée par l'utilisation de l'hexane. 1,5 ml de margine sont mélangés avec 1,5 ml de n-hexane (3×30 ml), le mélange est mixé vigoureusement dans une ampoule à décanter de 100 ml (Gortzi *et al.*, 2008), puis centrifugé pendant 5 min à 3000 tr/min. Les trois phases d'hexane sont combinées et le solvant est évaporé à 79°C dans un évaporateur rotatif (Heidolph, Laborota 4000) et séchés à 100°C dans une étuve puis refroidis dans un dessiccateur pendant 30 min. Le séchage est répété jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

#### 4.5. Dosage des matières azotées totales

Pour les substrats solides, l'azote totale est dosé par la méthode de Kjeldahl, l'azote organique de l'aliment étant minéralisé par l'acide sulfurique. Tout l'azote organique est transformé en azote ammoniacal (sulfate d'ammonium) est déplacé par ajout de soude et dosé après avoir été recueilli quantitativement dans une solution titrée d'acide borique. Cette solution est titrée par une solution d'HCl (0,1N). La teneur en azote est obtenue à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\text{Vol(Hcl, ml)} * 14 * 0,1}{\text{Prise d'essai} * \text{MS}(\%)}$$

Le taux de matières azotées totales est obtenu par convention en multipliant le taux de l'azotée totale par le coefficient 6,25.



### 4.6. Phénols totaux

Les composés phénoliques contenus dans les margines sont déterminés en utilisant de l'acétate d'éthyle (Visioli et *al.*, 1999; De Marco et *al.*, 2007). Les margines doivent, au préalable, subir une acidification (pH=2) puis un prétraitement par l'hexane pour éliminer les lipides.

#### 4.6.1. Délipidation des margine

150 ml de margines sont centrifugées pendant 10 min à 3200g. Deux phases sont obtenues : une phase aqueuse et un culot précipité. 90 ml de la partie aqueuse sont ajoutées à 90 ml d'hexane. La solution est mélangée à l'aide d'un mixer électrique pendant 15 min. Après 15 min, les margines sont recueillies après séparation complète en deux phases : l'hexane (surnageant) et les margines délipidées (culot) prêtes à une extraction liquide-liquide, avec quelques modifications.

#### 4.6.2. Extraction des composés phénoliques

30 ml d'acétate d'éthyle sont additionnés à 30 ml de margines délipidées, l'ensemble est homogénéisé à l'aide d'un mixer électrique (Vortex mixer ZX3-RX3) pendant 15 min à une vitesse de 2500 tr/min. Après 15 min, le mélange est complètement séparé en deux phases : l'acétate d'éthyle riche en polyphénols (surnageant) et les margines (culot). Cette procédure est répétée deux fois pour récupérer le maximum des polyphénols contenu dans les margines. Le surnageant (l'acétate d'éthyle riche en polyphénols) est évaporé presque à sec sous pression réduite par l'évaporateur rotatif à 40°C. Les polyphénols (Extrait brut dissous dans 5 ml d'éthanol) sont récupérés dans des flacons fumés et conservés à 4°C jusqu'à le jour de dosage.

#### 4.6.3. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont dosés par la technique colorimétrique de Folin-Ciocalteu (Makkar et *al.*, 1993 ; FAO/IAEA, 2000). Un aliquote de 50 µl de l'extrait phénolique est mélangé à : 0.95 ml d'eau distillée, 0.50 ml de solution de Folin Ciocalteu (1N) et 2,5 ml de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%). Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 40 min. L'absorbance est mesurée à 725 nm. Les résultats sont rapportés à une courbe étalon standard, ils sont exprimés en équivalent d'acide tannique (fig. 12).



### 4.6.4. Dosage des tanins totaux

Les tanins totaux sont estimés en mélangeant 100 mg de polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) avec 2ml d'eau distillé et 2 ml de l'extrait initial. L'ensemble est agité et maintenu à 40°C pendant 15 min, ensuite il est centrifugé à 3000g et à 4°C. Le surnageant est utilisé pour la détermination des tanins totaux qui correspondent à la différence entre les phénols totaux (mesuré par le procédé de Folin-Ciocalteu), avant et après traitement avec le PVPP (Makkar et *al.* 1993 ; FAO/IAEA, 2000). La concentration des tannins totaux est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage préparée sur la base de l'acide tannique (fig. 12).

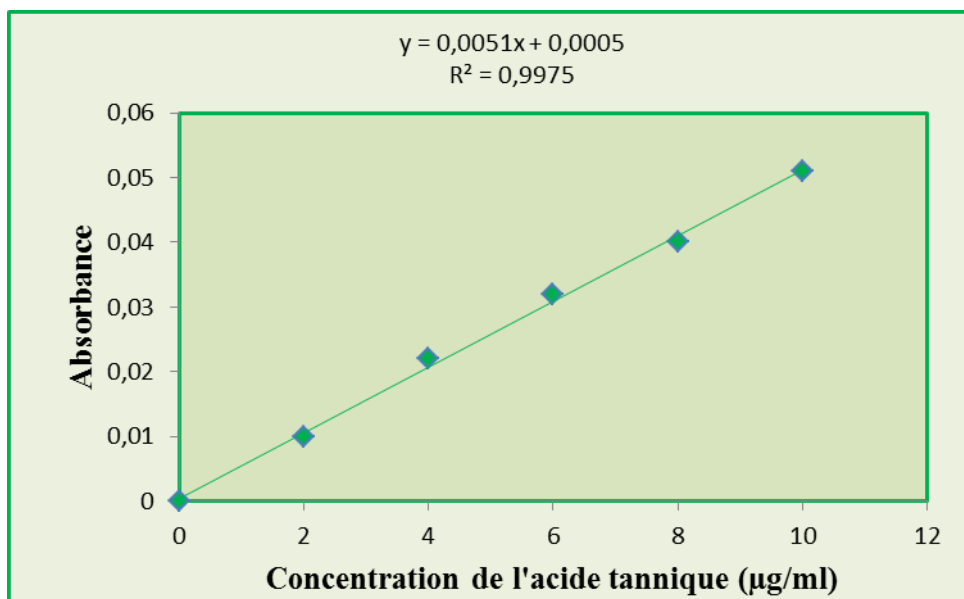
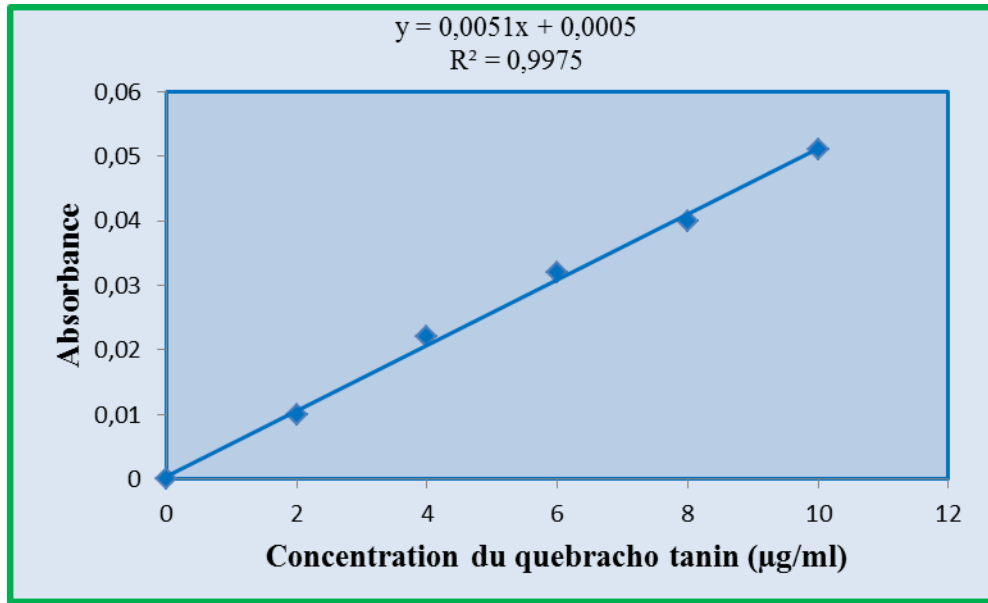


Figure 12. Courbe étalon correspondant polyphénols et tanins totaux.

### 4.6.5. Dosage des tanins condensés

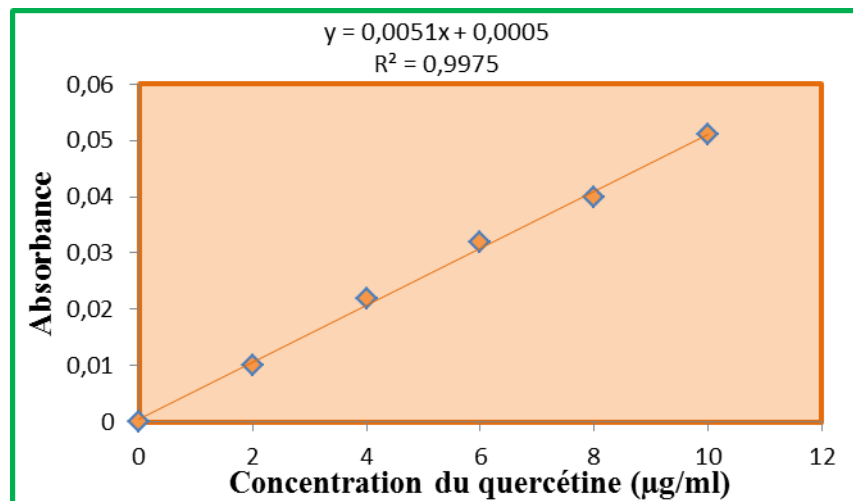
Les tanins condensés sont dosés par la méthode au Butanol-HCl (Makkar et *al.* 1993 ; FAO/IAEA, 2000). Le milieu réactionnel est composé de 0,5 ml de l'extrait, 3 ml de butanol-HCl (95/5) et 0,1 ml d'une solution ferrique (sulfate d'ammonium ferrique 2%, dilué dans HCl à 2N). Les échantillons sont incubés dans un bain marie bouillant pendant 60 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm et les résultats sont exprimés en se référant à une courbe étalon de quebracho tanin (fig. 13).



**Figure 13.** Courbe étalon correspondant tanins condensés.

#### 4.6.6. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont déterminés par la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), selon le protocole de Fievez et *al.* (2005). Un volume de 0,75 ml de  $\text{AlCl}_3$  (2%) a été mélangé à un volume de 0,25 ml d'extrait et un volume de 0,50 d'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 420 nm, après incubation à température ambiante pendant 30 min. Les valeurs obtenues sont traduites en concentration par référence à une courbe étalon de quercétine (fig. 14).



**Figure 14.** Courbe étalon correspondant au dosage des flavonoïdes.



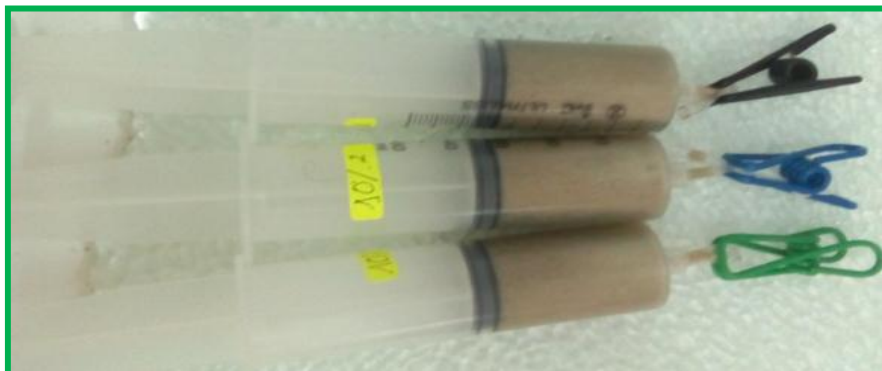
## 5. FERMENTATIONS IN VITRO DES SUBSTRATS

### 5.1. Technique de la production de gaz *in vitro*

La technique de la production de gaz *in vitro* développée par Menke et *al.* (1979) a été utilisée pour déterminer la production de gaz en cinétique de temps. C'est une technique rapide, simple et peu coûteuse et c'est une stimulation de la digestion anaérobie dans le rumen, elle permet l'étude des produits de fermentation (gaz, AGV) et de la digestibilité par la mesure de la disparition de la matière sèche.

### 5.2. Description du système de fermentation

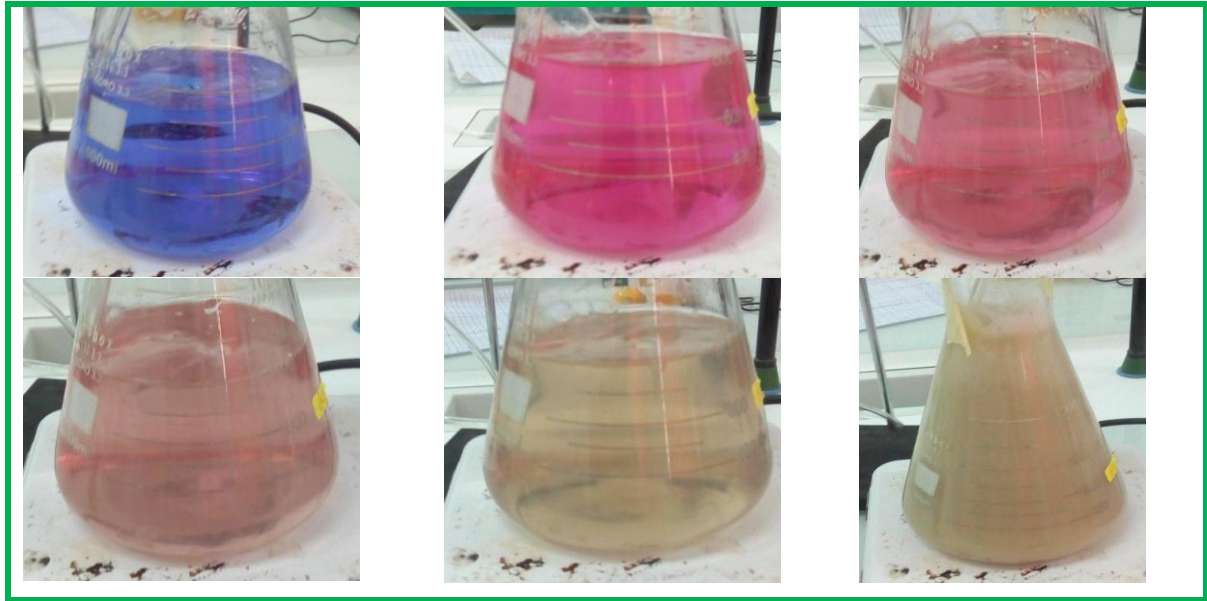
La fermentation des substrats est étudiée par la technique de production de gaz *in vitro*, adaptée dans notre laboratoire dans des seringues en polypropylène de 60 ml de capacité (fig. 15). Le bout de l'aiguille de la seringue est connecté à un tube en silicone de 4 cm de longueur, fermé avec une pince pour éviter l'échappement de gaz lors de la fermentation, les pistons sont lubrifiés par de la vaseline pour faciliter leur glissement.



**Figure 15.** Système de fermentation.

### 5.3. Préparation de la salive artificielle et de l'inoculum

La solution tampon de Menke est préparée à partir d'un mélange de plusieurs composants dans l'ordre : 475ml d'eau distillée, 0,12ml de la solution A (microminéraux), 240 ml de la solution tampon B, 240 ml de la solution C (macrominéraux), 1,22 ml de la solution D (résazurine) et enfin 49 ml de la solution réductrice (annexe 1). Le milieu de fermentation est obtenu en mélangeant un volume de jus de rumen filtré avec 2 volumes de salive artificielle (1: 2 v/v). Cette dernière est chauffée jusqu'au virage de la coloration bleue vers le rose, puis un barbotage est assuré en profondeur par un flux continu de CO<sub>2</sub> jusqu'à ce que la solution devienne incolore (fig. 16). A ce moment, le jus de rumen est ajouté, puis un barbotage en surface est maintenu pendant 15 min afin de créer une atmosphère totalement anaérobie.



**Figure 16.** Etapes de la préparation de la salive artificielle et de l'inoculum.

### 5.4. Inoculation

Pour chaque échantillon, 08 seringues (4 pour la fermentation de 24h et 4 pour la fermentation 96h) contenant le mélange (tab. 6) avec 30ml du l'inoculum (jus de rumen + solution tampon). En parallèle, 08 seringues contenant 200 mg de foin de triticale sont utilisées comme control et 08 seringues témoins, ne contenant pas de substrat (uniquement l'inoculum) sont incubées dans les mêmes conditions.

**Tableau 6.** Quantité des mélanges pour la fermentation *in vitro*

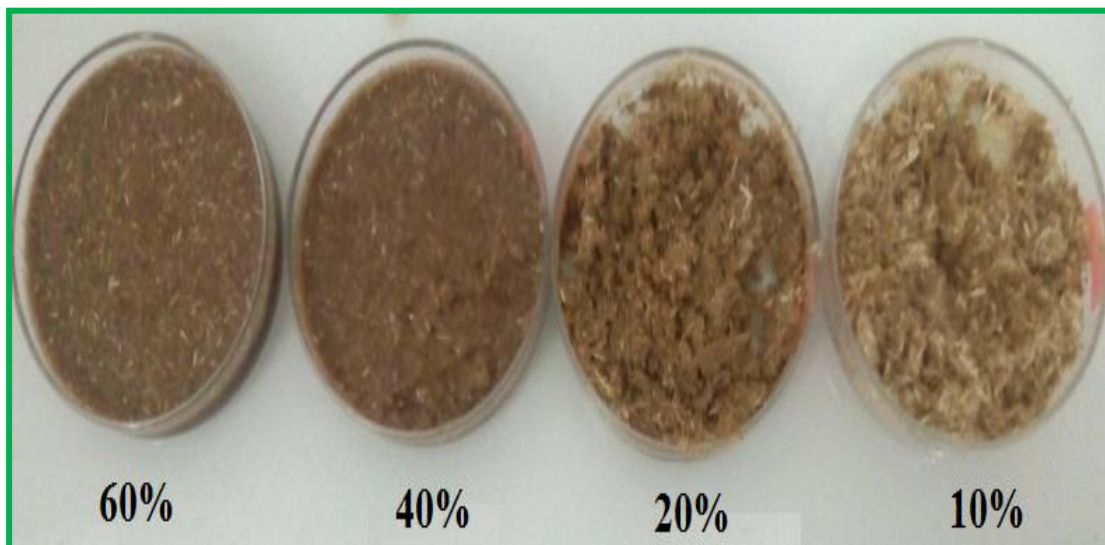
Etude	Foin de triticale, mg	Echantillons sec, mg	Echantillons liquide, $\mu$ l
d'effet des extraites phénoliques	200	/	100
d'effet des proportions des margines		200	/
d'effet des BMN	160	40	/

Concernant l'étude de l'effet des différentes proportions des margines sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticale, La préparation des mélanges est effectuée, en ajoutant les margines au foin de triticale, comme indiqué dans le tableau 7 et la figure 17, en tenant compte de la matière sèche de margine (66,1g/l). Après séchage des échantillons, quatre mélanges sont obtenus dans des proportions croissantes de 10, 20, 40 et 60%.



**Tableau 7.** Préparation (1 kg) de mélanges de margine et le foin de triticale

	Mélanges (% margine)			
	10%	20%	40%	60%
Foin, g	900	800	600	400
Margine, litre	1,50	3,00	6,00	9,00
Mélange après le séchage, g	1000	1000	1000	1000



**Figure 17.** Préparation des mélanges de margine et le foin de triticale.

### 5.5. Incubation

Les seringues inoculées sont horizontalement incubées pendant 96 heures dans une étuve à 39°C (fig. 18). Le suivi de la cinétique de fermentation est réalisé par la mesure du volume total des gaz produits lors de la fermentation. Il est indiqué par le déplacement du piston sous la pression des gaz libérés à différents intervalles de temps: 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 et 96 heures. Le gaz produit est mesuré par une lecture visuelle des graduations présentes sur la face de chaque seringue.



**Figure 18.** Incubation dans une étuve à 39°C

## **6. ETUDE DES PARAMETRES DE LA FERMENTATION IN VITRO DES SUBSTRATS**

### **6.1. Analyse de gaz et cinétique de la production de gaz**

#### **6.1.1. Production de gaz totale**

Le volume net de gaz pour chaque période d'incubation a été calculé par soustraction du volume moyen de gaz des témoins par rapport au volume de gaz dans les seringues contenant les différents substrats étudiés. La production de gaz totale mesurée selon la formule suivante :

$$\text{PGT (ml)} = V_{96} - V_0 - V_B$$

PGT : production de gaz total.

$V_{96}$  : volume de gaz lu à 96 heures de fermentation.

$V_0$  : volume initial.

$V_B$  : volume de gaz produit par le blanc.

#### **6.1.2. Production de CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub>**

Les gaz produits à chaque intervalle de temps sont transférés dans une autre seringue. Le volume des gaz produits CO<sub>2</sub>, est déterminé après addition de la soude (NaOH 10N) à chaque seringue (Jouany, 1994). Cette dernière est injectée de manière étanche par la soude qui réagit avec le CO<sub>2</sub> par absorption, entraînant le déplacement du piston d'un volume correspondant au volume de CH<sub>4</sub>. Le volume de CO<sub>2</sub> est déterminé par soustraction du volume net de CH<sub>4</sub> enregistré, par rapport au volume de gaz total produit.



$$V_{CH_4} = V_{NaOH} - V_{liq}$$

$$V_{CO_2} = V_t - V_{CH_4}$$

$V_{NaOH}$  : volume enregistré après injection de la soude

$V_{liq}$  : volume liquide

$V_t$  : volume total de gaz produit.

### 6.1.3. Cinétique de la production de gaz

Les paramètres caractéristiques modélisés de la fermentation des substrats sont déduits du modèle exponentiel proposé par Orskov et Mc Donald (1979).

$$Y = A + B(1 - e^{-ct})$$

Y : production totale de gaz.

A : production de gaz à partir de la fraction soluble.

B : production de gaz à partir de la fraction insoluble.

C : vitesse de la production de gaz.

## 6.2. Mesure du pH

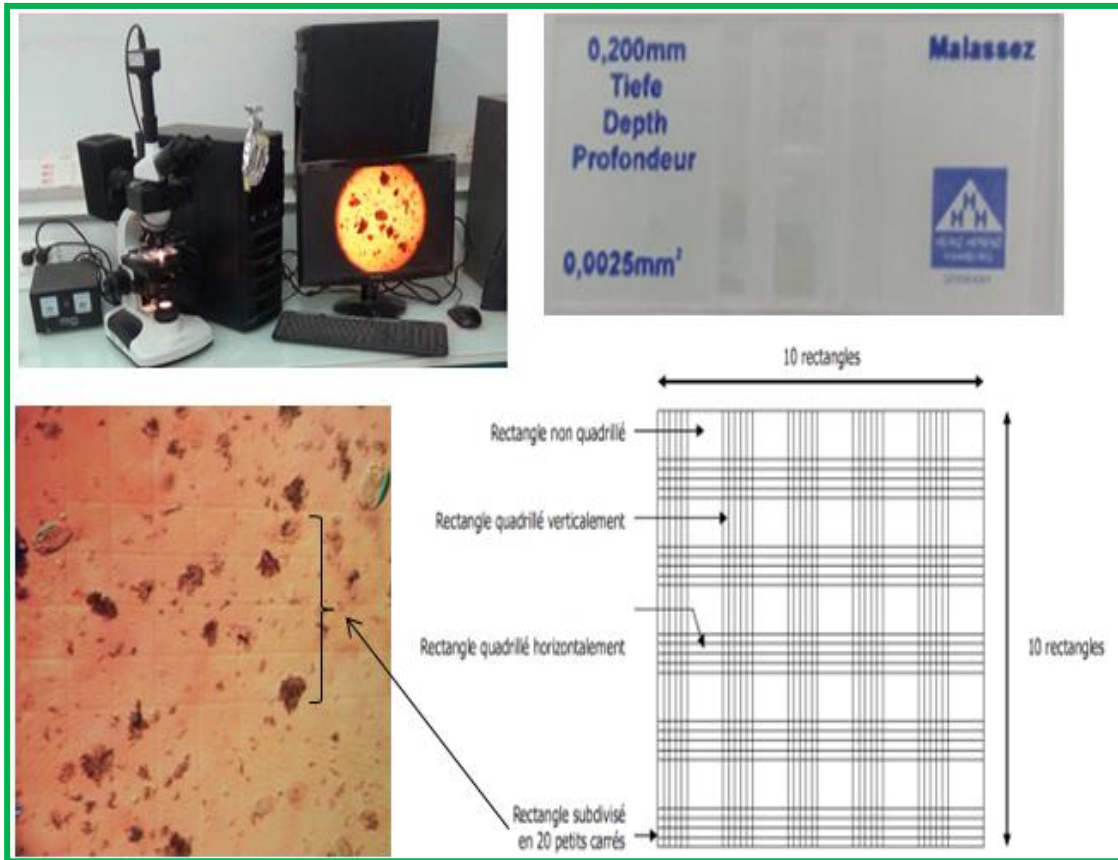
Après 24 h et 96h de fermentation, le contenu de chaque seringue est mesuré à l'aide d'un pH-mètre, modèle Aawa AD1000.

## 6.3. Dénombrement des protozoaires ciliés

Les échantillons de chaque seringue sont traités avec une solution de vert de méthyle pour le dénombrement des protozoaires, qui permet la fixation des cellules par le formaldéhyde et la coloration des noyaux par le vert de méthyle. Le dénombrement des protozoaires est réalisé sur une cellule de Malassez (fig. 19) qui est une lame épaisse en verre dans laquelle est creusée une chambre de comptage de volume connu.

### ■ Échantillonnage

Après 24 heures de fermentation, 100µl du contenu de chaque seringue est mélangé avec 100µl de la solution de vert de méthyle. Ce mélange bien homogénéisé est conservé à l'obscurité pendant 30 minutes.



**Figure 19.** Quadrillage de dénombrement de la cellule de Malassez.

## ■ Comptage et calcul

L'échantillon à compter est rempli par capillarité à l'aide d'une pipette pasteur entre lame et lamelle, bien fixée, en évitant la formation de bulles d'air. Le comptage est ensuite fait sur les 25 rectangles subdivisés en 20 petits carrés à l'aide d'un microscope à l'objectif  $\times 40$  (Ogimoto et Imai, 1981). Le nombre des protozoaires est exprimé selon la formule suivante:

$$N = n_1 \times v \times n_2 \times f$$

N : nombre de cellules par ml

$n_1$  : nombre de cellules comptées

v : volume d'un rectangle en ml

$n_2$ : nombre de rectangles comptés

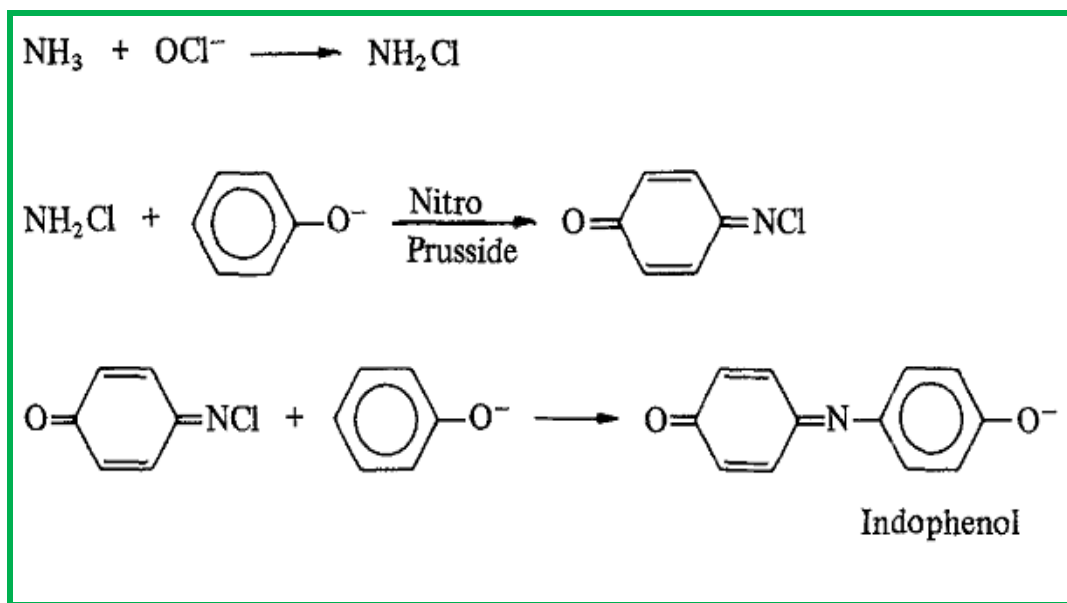
F : facteur de dilution.



## 6.4. Dosage de l'azote ammoniacal

### ➤ Principe

L'azote ammoniacal (N-NH<sub>3</sub>) est dosé par une technique colorimétrique de Chaney et Marbach (1962) dont le principe est le suivant : l'ion ammonium (NH<sub>3</sub>) se fixe sur une molécule de phénol en présence du chlore. La réaction est catalysée par le nitroprussiate de sodium. Il se forme un complexe de type indophénol qui donne une coloration bleue. La densité optique est mesurée à 660 nm (fig. 20). Les résultats sont rapportés à un courbe étalon standard et exprimés en équivalent de chlorure d'ammonium (NH<sub>4</sub>Cl) (fig. 21).



**Figure 20.** Principe de dosage de l'azote ammoniacal présent dans le milieu fermentaire.

### ➤ Echantonnage

Après 24 h d'incubation, les fermentations (le contenu de chaque seringue) sont bloqués par une solution d'acide orthophosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 50 g/l) à raison de 2 ml pour 10 ml de contenu de chaque seringue. Les échantillons sont centrifugés à 11.000 tr/min pendant 30 min, ensuite sont conservés à -20°C jusqu'à le dosage chimique.

### ➤ Dosage

5 ml de la solution A (annexe 2) sont mélangés avec 2µl de l'échantillon (contenu de chaque rumen + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Après une bonne homogénéisation, 5 ml de solution B (annexe 2) sont ajoutés. Ce mélange homogénéisé est maintenue dans un bain marie à 37°C pendant 20 min.

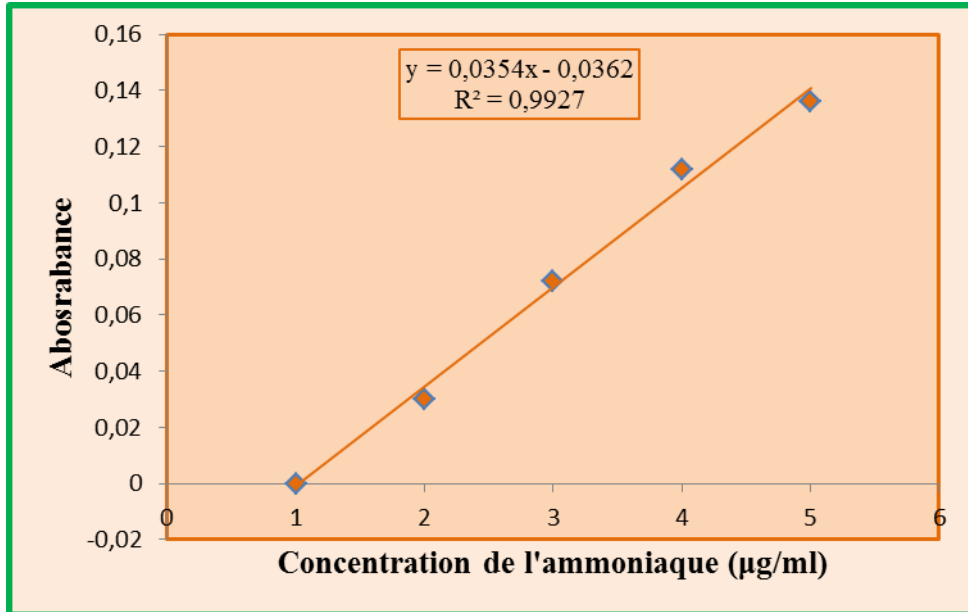


Figure 21. Courbe étalon correspondant au dosage de l'azote ammoniacal.

## 6.5. Détermination la digestibilité apparente

Le contenu de chaque seringue est centrifugé à 12000 tr/min pendant 20min et à 4°C. Le culot récupéré est séché dans des creusets à 105°C jusqu'à poids constant. La digestibilité apparente est estimée par le coefficient d'utilisation digestif apparente (CUDa).

$$\text{CUDa (\%)} = \text{MSi} - (\text{MSrs} - \text{MSrb}) * 100 / \text{MSi}$$

**MSi** : matière sèche initiale

**MSrs** : matière sèche résiduelle du substrat incubé

**MSrb** : moyenne des matières sèches résiduelles des seringues témoins

## 7. FABRICATION BLOCS MULTI NUTRITIONNELS

Il s'agit de fabriquer un mélange solide approprié contenant de l'urée et des ingrédients locaux pour améliorer l'utilisation des fourrages pauvres et des espèces pastorales afin de permettre l'entretien des ruminants en saison sèche. Les blocs ont été fabriqués selon la méthode de Hassoun et Ba (1990).

### 7.1. Préparation des ingrédients

Nous disposons des ingrédients de base utilisés pour la fabrication des blocs (urée, sel et ciment) ainsi que des sous-produits locaux (grignons d'olives bruts, noyau de dattes et margines) (fig. 22).



Les moules utilisés pour la fabrication des blocs sont des boîtes en plastique d'environ 5 cm de profondeur et 12 cm de diamètre. Ils étaient tous tapissés d'une feuille de plastique pour faciliter l'opération de démoulage des blocs.



**Figure 22.** Ingrédients utilisés pour la fabrication des blocs.



## 7.2. Formulation

Au total 4 formules différentes (tab. 8) ont été testées en faisant varier les proportions des ingrédients comme suit :

**Tableau 8.** Formules des blocs multinutritionnels composés par les différents ingrédients (%)

	BMN1	BMN2	BMN3	BMN 4
Grignons d'olive	40,0	40,0	32,1	29,7
Noyau de dattes	35,0	35,0	32,1	29,7
Patte de margine	0,00	0,00	10,0	15,6
Urée	9,86	9,86	10,7	9,77
Ciment	9,86	9,86	10,7	9,77
Sel	4,93	4,93	4,27	4,88
Eau ml/kg	197	0,00	0,00	0,00
Margine ml/kg	0,00	454	427	234

## 7.3. Mélange et moulage

Le mode opératoire fut le même pour toutes les formules et se déroulait dans l'ordre suivant : dissolution de l'urée dans l'eau ou bien dans les margines, addition du sel et mélange les résidus avec du ciment jusqu'à obtention d'un mélange homogène, puis ajouter la solution composée d'urée, de sel, d'eau ou margines. Les ingrédients sont bien mélangés jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène (fig. 23).



**Figure 23.** Pâte du mélange homogène

## 7.4 Séchage

Après le démoulage, les blocs sont laissés à l'air libre sous abri bien ventilé pour assurer un bon séchage pendant au moins 4 jours (fig 24).



Figure 24. Séchage des blocs

### 7.5 Qualité des blocs

Après séchage, la qualité des blocs (dureté et cohésion) sont testée manuellement. La dureté était estimée en exerçant une pression avec le pouce au centre du bloc. La notation appliquée était la suivante :

- mou (m) : le pouce s'enfonce facilement
- Moyenne (M) : le pouce s'enfonce très peu
- Bonne (B) : le pouce ne s'enfonce pas ou avec une forte pression

La cohésion du bloc était évaluer en essayant de rompre le bloc à la main. La notation appliquée était la suivante :

- ✓ nulle (n) : le bloc se rompt facilement ou est très friable
- ✓ Moyenne (M) : le bloc se rompt mais difficilement
- ✓ Bonne (B) : le bloc ne se rompt pas ou avec un effort beaucoup plus grand

## 8. CALCUL ET ANALYSE STATISTIQUE

Les données sont traitées par le logiciel statistique **STATISTICA** version 10. Elles sont soumises à une analyse de la variance ANOVA à deux facteurs (mode d'extraction et la variété d'olive) pour les études des caractères physico-chimiques et l'influence des extraits phénoliques



## *Matériel et Méthodes*



brut des margines sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin, en revanche une analyse de la variance à un seul facteur (substrats) pour les différent paramètres.

Les différences sont considérées significatives au seuil 5%. Les moyennes sont classées selon la classification de Test de Newman-Keuls. Les paramètres cinétiques de la production de gaz sont déduits du modèle exponentiel d'Orskov et Mc Donald (1979) :  $Y=A+B (1-\exp^{-c*t})$

Le calcul est effectué par le logiciel informatique DEG.

# **Chapitre III**

**Résultats**

**et**

**discussion**



### 1. Caractérisation physicochimique des margines

Les caractéristiques physicochimiques des margines étudiées sont illustrées dans le tableau 09. Il ressort que les margines sont caractérisées par un pH acide, en raison de la présence des acides organiques (acides phénoliques, acides gras...). Les valeurs enregistrées pour les deux systèmes d'extraction sont dans l'intervalle de 4,60 et 5,10. Les valeurs de pH des margines brutes sont statistiquement différentes selon le mode d'extraction : discontinu (4,78) < continu (4,96), selon la variété d'olive : *Chemlal* et *Cornicabra* (4,8) < *Sigoise* (5) et leur interaction (Variété\* Mode d'extraction), excepté pour les margines de la variété de *Chemlal* issues du procédé continu et les margines de la variété *Sigoise* issues des deux systèmes d'extraction qui sont statistiquement similaires ( $P > 0,05$ ). Ces résultats concordent avec ceux trouvés par plusieurs auteurs (Mbourmad, 2011 ; Achak et al., 2009 ; Eroglu et al., 2009).

La différence entre les deux systèmes d'extraction peut être due à l'effet de la dilution dû à l'ajout d'eau au moment de l'extraction de l'huile d'olive dans le système d'extraction continu plus que le système discontinu. Pour les margines de la variété de *Sigoise*, les valeurs de pH enregistrées peuvent être expliquées par la nature des composés phénoliques présents et la quantité d'eau de végétation de cette variété par rapport aux autres variétés.

La salinité des margines étudiées varient entre 5,46 et 8,36 g/l. L'étude statistique montre que la salinité des margines issue du système d'extraction discontinu pour les trois variétés sont statistiquement similaires ( $P > 0,05$ ) : *Chemlal* (8,10), *Sigoise* (8,26) et *Cornicabra* (8,36 g/l). En revanche, la salinité des margines issue du système d'extraction continu pour les trois variétés est différente ( $P < 0,01$ ) : *Chemlal* (7,83), *Sigoise* (7,47) et *Cornicabra* (5,47 g/l). Globalement, la salinité des margines est plus élevée pour le mode d'extraction discontinu (8,24 g/l) et la variété *Sigoise* (7,97 g/l).

La conductivité électrique constitue un indicateur du degré de la minéralisation globale des eaux. Elle dépend de la concentration des ions (surtout  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{K}^+$ ) et de la température. Les valeurs de la conductivité de nos margines varient entre 9,99 et 14,58 ms/cm. L'étude statistique révèle que la conductivité a une même tendance que la salinité. En effet, le mode d'extraction et la variété n'influencent pas la conductivité ( $P > 0,05$ ). De même, la conductivité des margines issues du mode d'extraction discontinu (14,5 ms/cm) est supérieure à celle du mode continu (12,0 ms/cm). Cependant dans ce cas, c'est la variété *Chemlal* (14,2 ms/cm) qui se distingue par sa conductivité élevée. Ces résultats concordent avec ceux trouvés par Achak et al. (2009, 9,6 ms/cm) ; Fedila et Tibarious (2016, 9,67 ms/cm) ; Ben Rouina et al. (2014, 12,4 ms/cm). Ces valeurs donnent une idée générale sur la teneur élevée en sel présents



dans ces effluents qui se caractérisent par leur richesse naturelle en sels minéraux dissous, principalement, les ions potassium, chlorures, calcium et magnésium. Ce constat est confirmé par le dosage du calcium effectué sur nos margines (tab. 10). Il ressort que les teneurs du calcium des margines sont significativement différents ( $P < 0,01$ ) entre les variétés : 120 et 111 > 88,2 > 53,4 > 45,4 et 38,2 mg/l respectivement pour les margines de la variété de *Cornicabra* issues du procédé discontinu (M.CO.D), margines de la variété *Sigoise* issues du procédé continu (M.S.C), margines de la variété de *Sigoise* issues du procédé discontinu (M.S.D), margines de la variété de *Chemlal* issues du procédé continu (M.CH.C), margines de la variété de *Cornicabra* issues du procédé continu (M.CO.C) et margines de la variété de *Chemlal* issues du procédé discontinu (M.CH.D). L'effet du mode d'extraction sur les valeurs du calcium des margines est remarquable pour les margines de trois variétés ( $P < 0,01$ ) : *Cornicabra* (99,7) > *Sigoise* (82,8) > *Chemlal* (45,8 mg/l). La même constatation est faite pour l'effet de variété sur les deux systèmes d'extraction ( $P < 0,01$ ) : continu (72,2) > discontinu (70 mg/l). Nos résultats ne correspondent pas aux conclusions de nombreux auteurs qui ont enregistré les valeurs suivantes : 400, 520, 600, 710 et 710 mg/l respectivement pour Hamdi et al. (1991) ; Yaakoubi et al. (2010) ; Achak et al. (2008) ; Chouchene (2010) et Ben Rouina et al. (2014).

Les concentrations du magnésium sont présentées dans le tableau 09. Les valeurs obtenues varient entre 192 et 340 mg/l. L'étude statistique a montré que les concentrations de magnésium dans les échantillons étudiés sont statistiquement différentes ( $P < 0,05$ ), soit selon le mode d'extraction, les variétés d'olives et leur interaction.

Les valeurs de magnésium dans les margines pour les variétés *Chemlal* et *Sigoise* (233 mg/l) issues de système d'extraction discontinu sont similaires ( $P > 0,05$ ). Par contre, elles sont différentes entre les trois variétés issues du mode 3-phases : *Chemlal* (192), *Sigoise* (320) et *Cornicabra* (340 mg/l). Nos résultats sont différents de ceux publiés par Ben Rouina et al. (2014) qui ont noté une concentration de 650 mg/l. Mais ils concordent avec ceux trouvés par Hamdi et al. (1991). Ces variations peuvent être liées à la concentration des substances dissoutes, leur nature et aussi due à la salinité des sols et des eaux de la région (les eaux d'irrigation des oliviers sont salées et également les olives sont traités par du sel dans certains cas avant le processus d'extraction). En plus de la richesse naturelle des olives en sels minéraux (Levi-Minzi et al., 1992).

Les valeurs de la turbidité sont aussi illustrées dans le tableau 09. L'étude statistique montre que la turbidité des margines est statistiquement différente soit entre les systèmes d'extractions utilisés ou entre toutes les variétés étudiées ( $P < 0,05$ ). Les résultats obtenus varient



entre (211 à 461 NTU) : La valeur la plus élevée est enregistrée pour les margines de la variété de *Chemlal* issue de système d'extraction continu et la plus faible pour les margines de la variété de *Sigoise* issue de système d'extraction discontinu. La turbidité est causée par la présence de matières non dissoutes et particules en suspension dans l'eau et, en raison, des teneurs élevées en substances organiques.

Les valeurs de l'oxygène dissous sont présentées dans le tableau 09. Les concentrations d'O<sub>2</sub> dissous varient entre 0,42 et 1,14 mg/l. L'étude statistique montre que l'O<sub>2</sub> dissous des margines étudiées est statistiquement similaire ( $P > 0,05$ ) entre les systèmes d'extractions utilisés et leur interaction (Variétés \* Modes d'extraction). Mais l'O<sub>2</sub> dissous des margines pour les trois variétés sont statistiquement variable ( $P < 0,05$ ) : *Chemlal* (0,54) et *Sigoise* (0,51) < *Cornicabra* (1,08 g/l). Cette variation peut être expliquée par le taux élevé de la matière organique qui existe dans les margines, surtout les composés phénoliques et les matières grasses.

Les valeurs de la DBO<sub>5</sub> varient entre 40 et 66,7 g/l (tab. 09). L'étude statistique montre que les DBO<sub>5</sub> des margines sont statistiquement similaires excepté pour la variété *Sigoise* issue du système à trois phases. Mais il existe un effet positif du mode d'extraction sur les valeurs de DBO<sub>5</sub> : discontinu (43,9 g/l) < continu (53,3 g/l). Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Yaakoubi et al. (2010 ; 49.1 g/l), Chouchene (2010 ; 55 g/l) et Hamdi et al. (1991 ; 63,5 g/l). Ceci montre la forte demande en oxygène pour l'oxydation complète de la matière organique contenue dans ces effluents qui reflète leur pouvoir polluant très important.



**Tableau 09.** Caractéristiques physicochimiques des margines

	M E	Var	pH	Con ms/cm	Turb (NTU)	Salinité (g/l)	O <sub>2</sub> (mg/l)	Ca <sup>++</sup> (mg/l)	Mg <sup>++</sup> (mg/l)	DBO <sub>5</sub> (g/l)
Variétés * Modes d'extraction	Disc	Chem	4.61 <sup>d</sup>	14.3 <sup>a</sup>	297 <sup>c</sup>	8.10 <sup>a</sup>	0.54	53.4 <sup>c</sup>	233 <sup>c</sup>	51.6 <sup>b</sup>
		Sig	5.00 <sup>a</sup>	14.5 <sup>a</sup>	211 <sup>e</sup>	8.27 <sup>a</sup>	0.58	111 <sup>a</sup>	234 <sup>c</sup>	40.0 <sup>b</sup>
		Cor	4.73 <sup>c</sup>	14.6 <sup>a</sup>	294 <sup>c</sup>	8.36 <sup>a</sup>	1.15	45.4 <sup>cd</sup>	211 <sup>d</sup>	40.0 <sup>b</sup>
	Con	Chem	5.00 <sup>a</sup>	14.1 <sup>a</sup>	461. <sup>a</sup>	7.83 <sup>ab</sup>	0.54	38.2 <sup>d</sup>	192 <sup>e</sup>	48.3 <sup>b</sup>
		Sig	5.00 <sup>a</sup>	12.8 <sup>b</sup>	227 <sup>d</sup>	7.47 <sup>b</sup>	0.42	88.1 <sup>b</sup>	319 <sup>b</sup>	66.7 <sup>a</sup>
		Cor	4.87 <sup>b</sup>	9.99 <sup>c</sup>	413 <sup>a</sup>	5.47 <sup>c</sup>	1.02	120 <sup>a</sup>	340 <sup>a</sup>	45.0 <sup>b</sup>
	<i>Pr.</i>			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.884	<0.001	<0.001
Variétés	Chem		4.80 <sup>b</sup>	14.2 <sup>a</sup>	379 <sup>a</sup>	7.97 <sup>a</sup>	0.54 <sup>b</sup>	45.8 <sup>c</sup>	213 <sup>b</sup>	50.0
	Sig		5.00 <sup>a</sup>	13.7 <sup>a</sup>	219 <sup>c</sup>	7.87 <sup>a</sup>	0.51 <sup>b</sup>	82.8 <sup>b</sup>	277 <sup>a</sup>	53.3
	Cor		4.80 <sup>b</sup>	12.3 <sup>b</sup>	354 <sup>b</sup>	6.92 <sup>b</sup>	1.08 <sup>a</sup>	99.7 <sup>a</sup>	275 <sup>a</sup>	42.5
	<i>Pr.</i>			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.0078	<0.001	<0.001
Modes d'E	Disc		4.78 <sup>b</sup>	14.5 <sup>a</sup>	267 <sup>b</sup>	8.24 <sup>a</sup>	0.76	70.0 <sup>b</sup>	226 <sup>b</sup>	43.9 <sup>b</sup>
	Con		4.96 <sup>a</sup>	12.3 <sup>b</sup>	367 <sup>a</sup>	6.92 <sup>b</sup>	0.66	82.2 <sup>a</sup>	284 <sup>a</sup>	53.3 <sup>a</sup>
	<i>Pr.</i>			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.499	0.0017	<0.001
<i>S.E.M.</i>			0.000	0.203	21.6	0.079	0.084	41.4	10.5	5.00

a, b, c, et d : les lettres différentes dans une colonne sont significativement différentes.  
 S.E.M. : erreur standard des moyennes. Variétés (var) : (Chem: Chemlal, Sig: Sigoise et cor : *Cornicabra*). Mode d'extraction (ME): (Disc: Discontinu et Con: Continu)

## 2. Caractéristiques biochimiques des margines

### 2.1. Matières sèche, organique et minérale

Les résultats des MS, MO et MM des margines étudiés sont représentés dans le tableau 10. Il ressort que les échantillons étudiés présentent des teneurs en MS, MO et MM significativement différentes soit selon les variétés d'olives, le mode d'extraction et leur interaction mode\*variétés.

Le tableau 10 montre que les échantillons étudiés présentent des teneurs en matière sèche (MS) significativement différentes soit selon l'interaction mode\*variétés ( $P < 0,05$ ) : les teneurs sont incluses dans une gamme variant de 52,0 à 105 g/l (4,48 à 9,14%), la teneur la plus élevée est observée pour les margines de la variété de *Sigoise* (3-phases) et la plus faible est enregistrée pour les margines de la variété de *Chemlal* (système d'extraction discontinu). La teneur en MS des margines, enregistrée dans notre étude, est comparable à celle notée dans d'autres travaux qui donnent des teneurs comprises entre 7 et 10 % (Filidei et al., 2003 ; Paredes et al., 1999 ;



Mbourmad, 2011). Cependant, ils sont inférieurs à ceux indiqués par Ouabou et *al.* (2014 ; 240 g/l).

Les valeurs des matières organique (MO) et minérale (MM) sont représentées dans le tableau 10. D'après les résultats obtenus, il est à remarquer que les margines sont riches en matière minérale et organique. De grandes différences entre les margines ont été notées. Ces différences peuvent être expliquées par l'effet variétal, les engrais apportés, l'irrigation, la date de récolte et la nature de sol (Ouabou et *al.*, 2014).

L'étude statistique montre que les échantillons étudiés présentent des teneurs en matière organique (MO) significativement différentes soit selon l'interaction mode\*variétés ( $P < 0,05$ ) : les teneurs sont incluses dans une gamme variant de 30,3 et 80,2 g/l, la teneur la plus élevée est observée pour les margines de la variété de *Sigoise* (3-phases) et la plus faible est enregistrée pour les margines de la variété *Chemlal* (système d'extraction discontinu), les variétés d'olives ( $P < 0,05$ ) : la teneur la plus élevée est observée pour les margines de la variété de *Sigoise* (58,4) et la plus faible pour les margines de la variété *Chemlal* (35,3) et le mode d'extraction ( $P < 0,05$ ) : la teneur la plus élevée est observée pour les margines issues de système d'extraction à trois phase (58,4) et la plus faible est enregistrée pour les margines issues de système d'extraction discontinu (36,2 g/l). Nos résultats sont inférieurs à ceux indiqués par Chouchene, (2010 ; 107g/l).

Les teneurs en matière minérale (MM) sont significativement différentes soit selon l'interaction mode\*variétés ( $P < 0,05$ ) : la teneur la plus élevée est observée pour les margines de la variété *Cornicabra* issues de système d'extraction continu (34,0g/l) et la plus faible est enregistrée pour les margines de la variété *Chemlal* issues du système discontinu (21,7g/l), les variétés d'olives ( $P < 0,05$ ) : la teneur la plus élevée est observée pour les margines de la variété de *Cornicabra* (29,16) et la plus faible est enregistrée pour les margines de la variété *Chemlal* (23) et le mode d'extraction ( $P < 0,05$ ) : la teneur la plus élevée est observée pour les margines issues de système d'extraction à trois phase (27,8) et la plus faible est enregistrée pour les margines issues de système d'extraction discontinu (23,4 g/l). Nos résultats sont en parfait accord avec celui trouvé par Ouabou et *al.*, (2014).

### 2.2. Azote ammoniacal

Les teneurs en azote ammoniacal sont différentes en fonction de la variété (*Cornicabra* : 556 > *Sigoise* : 344 > *Chemlal* : 279 mg/l), du procédé d'extraction (continu : 486 > discontinu : 300 mg/l). Ces résultats suggèrent que la biodégradation de ces effluents est très limitée. Les



concentrations des azotes ammoniacaux dans notre étude restent bien proches de celle trouvée par Hamdi et *al.* (1991) qui est de l'ordre 120 mg/l.

### 2.3. Sucres totaux

Les teneurs en sucres totaux sont différentes en fonction de la variété, du procédé et leur interaction. La présence des sucres en quantité appréciable (44,0 à 324 mg/l). Ces concentrations des sucres obtenus dans notre étude sont proches de celle trouvée par Aissam (2003) qui est de l'ordre 280 mg/l.

### 2.4. Lipides

Les échantillons étudiés présentent des teneurs en lipides significativement différentes ( $P < 0,001$ ) soit selon l'interaction mode\*variétés: 3,54> 3,30> 2,89> 2,08> 1,52> 1,03g/l respectivement pour M.CH.D, M.CH.C, M.S.D, M.S.C, M.CO.D et M.CO.C, soit selon les variétés d'olives : *Cornicabra* (3,42)> *Sigoise* (2,48)> *Chemlal* (1,27g/l) et le mode d'extraction : continu (2,65) > discontinu (2,14 g/l). Ces résultats sont très proches de ceux obtenus par Aissam, (2003) ; Brozzoli et *al.*, (2009) et Abichou et *al.* (2013) qui ont noté respectivement 1, 1,49 et 4,50g/l. Par contre, nos résultats sont inférieurs à ceux publiés par Homari et *al.*, (2013 ; 9,92g/l).

La quantité en matières grasses résiduelles présente dans les margines dépend du système d'extraction d'huile d'olive. Le processus de centrifugation permet d'obtenir des taux faibles par rapport au processus traditionnel (Zimbalatti, 1995).



**Tableau 10.** Caractéristiques biochimiques des margines

	M E	Var	MS (g/l)	MO (g/l)	MM (g/l)	Hum (%)	Azote A (mg/l)	ST (mg/l)	Lipides (g/l)
Variétés * Modes d'extraction	Disc	Chem	51.9 <sup>f</sup>	30.2 <sup>f</sup>	21.7 <sup>e</sup>	95.5 <sup>a</sup>	128 <sup>d</sup>	44.0 <sup>f</sup>	3.54 <sup>a</sup>
		Sig	60.6 <sup>e</sup>	36.6 <sup>e</sup>	24.1 <sup>d</sup>	94.8 <sup>b</sup>	235 <sup>c</sup>	308 <sup>b</sup>	2.89 <sup>c</sup>
		Cor	66.2 <sup>c</sup>	41.8 <sup>c</sup>	24.4 <sup>c</sup>	94.3 <sup>d</sup>	539 <sup>a</sup>	245 <sup>c</sup>	1.52 <sup>e</sup>
	Con	Chem	64.6 <sup>d</sup>	40.2 <sup>d</sup>	24.4 <sup>c</sup>	94.4 <sup>c</sup>	431 <sup>b</sup>	126 <sup>e</sup>	3.30 <sup>b</sup>
		Sig	105 <sup>a</sup>	80.2 <sup>a</sup>	25.2 <sup>b</sup>	90.9 <sup>f</sup>	453 <sup>b</sup>	324 <sup>a</sup>	2.08 <sup>d</sup>
		Cor	88.8 <sup>b</sup>	54.8 <sup>b</sup>	34.0 <sup>a</sup>	91.9 <sup>e</sup>	574 <sup>a</sup>	195 <sup>d</sup>	1.03 <sup>f</sup>
<i>p</i>			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Variétés	Chem		58.3 <sup>c</sup>	35.3 <sup>c</sup>	23.0 <sup>c</sup>	95.0 <sup>a</sup>	280 <sup>c</sup>	84.9 <sup>c</sup>	3.42 <sup>a</sup>
	Sig		83.0 <sup>a</sup>	58.4 <sup>a</sup>	24.6 <sup>b</sup>	92.8 <sup>c</sup>	344 <sup>b</sup>	220 <sup>b</sup>	2.48 <sup>b</sup>
	Cor		77.5 <sup>b</sup>	48.3 <sup>b</sup>	29.2 <sup>a</sup>	93.1 <sup>b</sup>	556 <sup>a</sup>	316 <sup>a</sup>	1.27 <sup>c</sup>
	<i>p</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Modes d'E	Disc		59.6 <sup>b</sup>	36.2 <sup>b</sup>	23.4 <sup>b</sup>	94.8 <sup>a</sup>	301 <sup>b</sup>	199 <sup>b</sup>	2.65 <sup>a</sup>
	Con		86.2 <sup>a</sup>	58.4 <sup>a</sup>	27.8 <sup>a</sup>	92.4 <sup>b</sup>	486 <sup>a</sup>	215 <sup>a</sup>	2.14 <sup>b</sup>
	<i>p</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.0017	<0.001
<i>SEM</i>			0.000	0.008	0.007	0.000	65.1	6.9	0.005

a, b, c, et d : les lettres différentes dans une rangée sont significativement différentes.

S.E.M. : erreur standard des moyennes. Variétés (var) : (Chem: Chemlal, Sig: Sigoise et cor : Cornicabra). Mode d'extraction (ME): (Disc: Discontinu et Con: Continu)

## 2.5. Composés phénoliques

Les résultats des composés phénoliques des margines sont montrés dans le tableau 11. L'analyse phytochimique des extraits bruts des margines montre leur richesse en phénols totaux (PT), en tanins totaux (TT) et en tanins condensés (TC). En revanche, ils se caractérisent par leur teneur faible en flavonoïdes (FL).

Les composés phénoliques des margines sont très divers et leur structure est très variable. Ils proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction. Leur solubilisation dans l'huile est cependant bien inférieure à celle dans les eaux de végétation, ce qui explique leur concentration élevée détectée dans les margines (Ranalli, 1991).



- ✓ **Phénols totaux** : les résultats montrent que les margines de la variété *Sigoise* issue de procédé d'extraction discontinu présente le contenu en phénols totaux le plus élevé (26,0 g/l) et la plus faible concentration est notée pour les margines de la variété *Cornicabra* issue de procédé d'extraction continu (11,6g/l). La concentration des margines en composés phénoliques diffère aussi selon la variété d'olive : *Cornicabra* (15,6) < *Chemlal* (16,3) < *Sigoise* (21,1g/l) et selon le procédé d'extraction : continu (13,6) < discontinu (21,7g/l). Les résultats enregistrés dans notre étude, sont comparable à celle notée dans d'autres travaux (Hamdi et al. 1991 ; Aouadi, 2012 ; Aggoun et al. 2016).
- ✓ **Tanins totaux** : l'étude statistique montre que les échantillons étudiés présentent des teneurs en tanins totaux significativement différentes soit selon l'interaction mode\*variétés : la concentration la plus élevée est enregistrée pour les margines de la variété de *Sigoise* issue de procédé d'extraction discontinu (19,0 g/l) et la plus faible pour les margines de la variété de *Cornicabra* issue de procédé d'extraction continu (8 g/l), la variété d'olive : *Cornicabra* (10,0) < *Chemlal* (11,2) < *Sigoise* (14,4 g/l) et le procédé d'extraction: continu (8,73) < discontinu (15,0g/l). Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Hamdi et al. (1991 ; 9,3 g/l) et Aouadi (2012 ; 2,05- 21,0g/l).
- ✓ **Tanins condensés** : les mêmes tendances sont enregistrées pour les concentrations des tanins condensés. Les concentrations en tanins condensés sont significativement variables entre les extraits des margines étudiées soit selon l'interaction mode\*variétés, la variété d'olive : *Cornicabra* (4,64) < *Chemlal* (6,72) < *Sigoise* (8,54 g/l) et le procédé d'extraction : discontinu (6,52) < continu (6,74 g/l). Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Aggoun (2016) qui a enregistré des valeurs comprises 2,91 - 5,79 g/l. Cependant, ils sont supérieurs à celles rapportées par Hamdi et al. (1991) ; Aouadi (2012) qui notent des valeurs respectivement de 2,30 et 1,06 g/l
- ✓ **Flavonoïdes** : les concentrations en flavonoïdes sont variables entre les extraits des margines étudiées selon la variété : *Chemlal* (0,066) < *Sigoise* (0,089) < *Cornicabra* (0,285), le mode d'extraction : continu (0,111) < discontinu (0,182) et leur interaction : la concentration la plus élevée est enregistrée pour les margines de la variété de *Cornicabra* issue de procédé d'extraction discontinu (0,347g/l) et la plus faible pour les margines de la variété de *Chemlal* issue de procédé d'extraction continu (0,054 g/l). Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Aouadi (2012 ; 0,05-0,10g/l) et ils sont supérieurs à celles rapportées par Aggoun (2016) qui notent des valeurs entre 0,015 à 0,018 g/l. La variation entre les variétés est probablement due au degré de maturation



(Boudhrioua et al. 2008), aux conditions climatiques et géographiques (Mylonaki et al. 2008), à l'état physiologique et l'âge de la plante (De leonardis et al. 2008). En outre, les résultats obtenus pour la variété *Sigoise* sont dus à la taille de la graine d'olive qui est riche en pulpes à destination olive de table et huile (Loussert et Brousse ,1978). Les études dans la littérature concernant la quantification des composés phénoliques des olives peuvent être facilement rencontrés lorsqu'il s'agit de leur contenu dans l'huile, mais sont moins fréquentes lorsque l'on considère les margines. En outre, les composés phénoliques identifiés dans les margines ainsi que leurs concentrations varient d'une étude à l'autre (Obied et al., 2005). La teneur élevée en phénols totaux est largement dépendante de pouvoir d'extraction de l'acétate d'éthyle. Les margines contiennent 53% des composés phénoliques initialement présents dans les olives, 2% seulement se trouvent dans l'huile et environ 45% dans les grignons secs (Rodis et al. 2002).

**Tableau 11.** Concentrations des Composés phénoliques des margines

	M E	Var	Phénols totaux (g/l)	Tanins totaux (g/l)	Tanins condensés (g/l)	Flavonoïdes (g/l)
Variétés * Modes d'extraction	Disc	Chem	19.4 <sup>b</sup>	14.0 <sup>b</sup>	5.59 <sup>d</sup>	0.075 <sup>d</sup>
		Sig	26.0 <sup>a</sup>	19.0 <sup>a</sup>	8.89 <sup>a</sup>	0.125 <sup>c</sup>
		Cor	19.6 <sup>b</sup>	12.0 <sup>c</sup>	5.09 <sup>e</sup>	0.347 <sup>a</sup>
	Con	Chem	13.2 <sup>d</sup>	8.39 <sup>e</sup>	7.84 <sup>c</sup>	0.058 <sup>e</sup>
		Sig	16.2 <sup>c</sup>	9.80 <sup>d</sup>	8.19 <sup>b</sup>	0.054 <sup>c</sup>
		Cor	11.6 <sup>e</sup>	8.00 <sup>e</sup>	4.20 <sup>f</sup>	0.222 <sup>b</sup>
		<i>p</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Variétés	Chem	16.3 <sup>b</sup>	11.2 <sup>b</sup>	6.72 <sup>b</sup>	0.066 <sup>c</sup>	
	Sig	21.1 <sup>a</sup>	14.4 <sup>a</sup>	8.54 <sup>a</sup>	0.089 <sup>b</sup>	
	Cor	15.6 <sup>c</sup>	10.0 <sup>c</sup>	4.64 <sup>c</sup>	0.284 <sup>a</sup>	
	<i>p</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
Modes d'E	Disc	21.7 <sup>a</sup>	15.0 <sup>a</sup>	6.52 <sup>b</sup>	0.182 <sup>a</sup>	
	Con	13.6 <sup>b</sup>	8.73 <sup>b</sup>	6.74 <sup>a</sup>	0.111 <sup>b</sup>	
	<i>p</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
<i>SEM</i>			0.045	0.077	0.004	0.000

a, b, c, et d : les lettres différentes dans une rangée sont significativement différentes.

S.E.M. : erreur standard des moyennes. Variétés (var) : (Chem: Chemlal , Sig: Sigoise et cor : Cornicabra). Mode d'extraction (ME): (Disc: Discontinu et Con: Continu).



### **3. Effet des composés phénoliques des margines sur la fermentation ruminale**

#### **3.1. Analyse quantitative des gaz produits**

Le tableau 12 présente la production de gaz enregistrée après addition de 100 µl des extraits phénoliques des margines étudiés au batch de fermentation du foin de triticalet. Après 96h de fermentation, l'inclusion des différents mélanges de foin de triticalet et des extraits phénoliques des margines cause une stimulation de la production de gaz selon la variété d'olive (*Sigoise* : 64,0 et *Cornicabra* : 62,0 > *Chemlal* : 56,6 ml/200 mg de MS). En revanche, aucun effet sur la production de gaz *in vitro* selon le mode d'extraction n'est enregistré. Les différents extraits phénoliques des margines causent une augmentation dans la production de gaz après 96h d'incubation de 48,0, 59,3, 65,6, 67,6, 69,2 et 81,9% respectivement pour E.P.M.M.D.V *Chemlal*, E.P.M.M.C.V (Extraits Phénoliques des Margines issue de Mode d'extraction Continu de variété) de *Chemlal*, E.P.M.M.C.V de *Sigoise*, E.P.M.M.C.V de *Cornicabra.*, E.P.M.M.D.V de *Cornicabra* et l'E.P.M.M.D.V. de *Sigoise*. L'augmentation de la production du gaz chez les différents mélanges de foin de triticalet et des extraits des margines est probablement due à la dégradation des composées phénolique par le microbiote ruminale.



## Résultats et Discussion



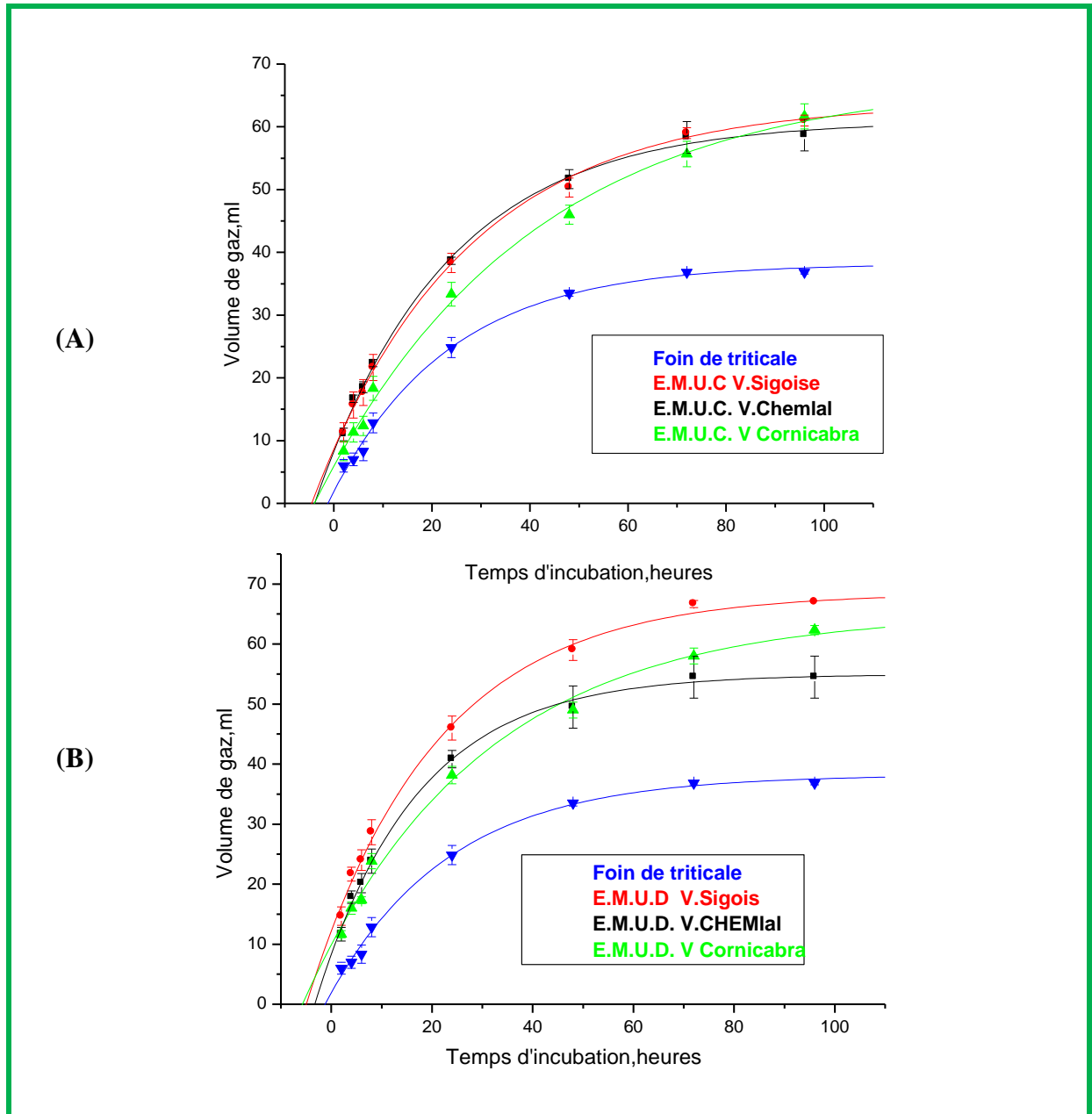
**Tableau 12.** Production cumulative de gaz (ml/200 mg MS) des mélanges du foin de triticale et des extraits phénoliques des margines (100µl)

ME		Var	T2	T4	T6	T8	T24	T48	T72	T96
<b>Foin (Control)</b>			6.00 <sup>d</sup>	7.00 <sup>d</sup>	8.33 <sup>d</sup>	12.8 <sup>d</sup>	24.8 <sup>d</sup>	33.5 <sup>d</sup>	36.8 <sup>c</sup>	36.8 <sup>d</sup>
<b>Var *</b>	<b>Disc</b>	<b>Chem</b>	11.7 <sup>b</sup>	17.8 <sup>b</sup>	20.7 <sup>b</sup>	23.8 <sup>b</sup>	40.8 <sup>b</sup>	51.7 <sup>b</sup>	54.5 <sup>b</sup>	54.5 <sup>c</sup>
		<b>Sig</b>	15.5 <sup>a</sup>	22.0 <sup>a</sup>	24.5 <sup>a</sup>	29.0 <sup>a</sup>	46.0 <sup>a</sup>	58.0 <sup>a</sup>	66.5 <sup>a</sup>	67.0 <sup>a</sup>
		<b>Corn</b>	11.7 <sup>b</sup>	16.0 <sup>b</sup>	17.3 <sup>b</sup>	23.8 <sup>b</sup>	38.2 <sup>b</sup>	49.0 <sup>bc</sup>	58.0 <sup>b</sup>	62.3 <sup>b</sup>
	<b>Con</b>	<b>Chem</b>	11.0 <sup>b</sup>	16.7 <sup>b</sup>	18.5 <sup>b</sup>	22.3 <sup>b</sup>	38.7 <sup>b</sup>	49.0 <sup>bc</sup>	58.3 <sup>b</sup>	58.7 <sup>b</sup>
		<b>Sig</b>	11.33 <sup>b</sup>	15.6 <sup>b</sup>	17.7 <sup>b</sup>	21.7 <sup>b</sup>	38.3 <sup>b</sup>	50.3 <sup>bc</sup>	59.0 <sup>b</sup>	61.0 <sup>b</sup>
		<b>Corn</b>	8.33 <sup>c</sup>	11.3 <sup>c</sup>	12.3 <sup>c</sup>	18.3 <sup>c</sup>	33.3 <sup>c</sup>	46.0 <sup>c</sup>	55.7 <sup>b</sup>	61.7 <sup>b</sup>
<b>SEM</b>			1.52	1.63	2.24	2.98	2.43	3.45	3.65	3.44
<b>p</b>			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Var</b>	<b>Chem</b>		11.3 <sup>b</sup>	17.3 <sup>a</sup>	19.3 <sup>a</sup>	23.1 <sup>ab</sup>	39.8 <sup>b</sup>	50.6 <sup>b</sup>	56.4 <sup>b</sup>	56.6 <sup>b</sup>
	<b>Sig</b>		13.0 <sup>a</sup>	18.7 <sup>a</sup>	20.8 <sup>a</sup>	25.2 <sup>a</sup>	42.2 <sup>a</sup>	54.7 <sup>a</sup>	62.8 <sup>a</sup>	64.0 <sup>a</sup>
	<b>Corn</b>		10.0 <sup>b</sup>	13.7 <sup>c</sup>	14.8 <sup>b</sup>	21.1 <sup>b</sup>	35.8 <sup>c</sup>	47.5 <sup>c</sup>	56.8 <sup>b</sup>	62.0 <sup>a</sup>
	<b>p</b>		0.0052	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>ME</b>	<b>Disc</b>		10.2 <sup>b</sup>	18.5 <sup>a</sup>	20.5 <sup>a</sup>	25.4 <sup>a</sup>	41.7 <sup>a</sup>	52.5 <sup>a</sup>	59.7	60.3
	<b>Con</b>		12.7 <sup>a</sup>	14.6 <sup>b</sup>	16.2 <sup>b</sup>	20.8 <sup>b</sup>	36.8 <sup>b</sup>	49.3 <sup>b</sup>	57.7	60.4
<b>SEM</b>			1.61	1.74	2.22	3.04	2.40	3.98	4.25	4.00
<b>p</b>			0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.394

a, b, c, et d : les lettres différentes dans une rangée sont significativement différentes. S.E.M. : erreur standard des moyennes. Variétés (var) : (Chem: Chemlal, Sig: Sigoise et cor: Cornicabra). Modes d'extraction (ME): (Disc: Discontinus et Con: Continus).

### 3.2. Cinétique de la production de gaz

La cinétique de la production de gaz *in vitro* des différents mélanges de foin de triticale et des extraits phénoliques des margines (100µl) sont présentées dans la figure 25. Généralement, la cinétique de la production de gaz est caractérisée par 3 phases distinctes : la première phase est dite phase exponentielle ou phase de croissance rapide, elle est caractérisée par une production élevée de gaz, environ 2/3 du gaz total est produit durant cette période qui dure de 2 à 24 heures pour les différents mélanges : dans cette phase (2 à 24 heures), la production de gaz *in vitro* est influencée soit par le mode d'extraction : discontinu (41,67) > continu (36,78 ml/200 mg de MS) soit par la variété : Sigoise (42,16) > Chemlal (39,75) > Cornicabra (35,75 ml) ou par l'interaction mode\* variété. D'après les courbes de cinétique (fig. 25), il ressort que les extraits des margines améliorent la production de gaz de : 85,3, 64,4, 55,7, 54,4, 53,7 et 34,2%



**Figure 25.** Cinétique de production de gaz des mélanges du foin de triticale et des extraits des margines obtenues par extraction discontinus (A) et continus (B).

respectivement pour : l'E.P.M.M.D.V. de *Sigoise*. E.P.M.M.D.V de Chemlal, E.P.M.M.C.V de *Chemlal*, E.P.M.M.C.V de *Sigoise*, E.P.M.M.D.V de *Cornicabra*, et E.P.M.M.C.V de *Cornicabra*. La majorité de nos substrats enregistrent des productions de gaz nettement plus élevées que le contrôle et d'autres végétaux : 66 fourrages des montagnes : 33,7ml/batch à 24 heures (Andrighetto et al. 1992), un foin de pâturage 34.8ml/ batch à 24 heures (Gulsen et al. 2004). La deuxième phase correspond à une phase de ralentissement où la production de gaz commence à diminuer se situe entre 24 et 48 heures pour les différents mélanges : dans cette phase aussi la production de gaz *in vitro* est différente entre les mélanges de foin de triticale et



des extraits phénoliques des margines et il est influencé aussi par les facteurs contrôlés et leurs interactions. La troisième phase dite stationnaire débute, peu de gaz est alors produit et la fermentation diminue jusqu'à se stabiliser totalement par l'épuisement du milieu de fermentation des conditions défavorables engendrées dans le milieu par l'acidité résultant de l'accumulation des acides gras volatils (AGV). Après 96h d'incubation la fermentation stabilise totalement. Ceci pourrait être expliqué par un ralentissement dans la dégradation des composés phénoliques, et l'effet négatif qui peut être exercé par ces composés phénoliques sur le rôle du microbiote ruminale.

### 3.3. Paramètres cinétiques de la production de gaz *in vitro*

Les paramètres de la fermentation des différents mélanges de foin de triticale et des extraits phénoliques des margines, déduits à partir du modèle exponentiel d'Orskov et McDonald (1979) sont également mentionnés dans le tableau 13.

Les valeurs de la production de gaz engendrée par la fraction soluble (A) sont positives et étaient statistiquement différentes selon le mode d'extraction : discontinu (10,11) > continu (7,6), la variété d'olive : *Chemlal* (8,28) et *Cornicabra* (7,98) < *Sigoise* (10,4) et leur interaction (Variétés \* Modes d'extraction). En fin de la fermentation (à partir de 48h jusqu'à 96h d'incubation)

Les valeurs positives de la production de gaz engendrée par la fraction soluble (a) sont synonymes d'une absence de phase de latence due à la colonisation et à la dégradation de la fraction pariétale. Nos résultats sont proches de celles enregistrées par Adoui (2001) : entre 3.62 et 7,94 et Rira (2006) : 4.09 ml/200mg MS ayant travaillé dans les mêmes conditions. Le tableau 13 montre que la production de gaz à partir de la fraction soluble (a) augmente significativement avec toutes les additions. Cette augmentation résulte probablement de la métabolisation ruminale des composés phénoliques et du glucose issu de la dégradation des tanins hydrolysables (TH).

Le volume de gaz produit par la fraction insoluble mais potentiellement fermentescible (B) est relativement élevé pour tous les mélanges et le témoin, et statistiquement différents soit selon le mode d'extraction : discontinu (52,89) < continu (56,53), la variété d'olive : *Chemlal* (49,66) < et *Sigoise* (55,95) et *Cornicabra* (55,29), et leur interaction (Variétés \* Modes d'extraction). Les extraits phénoliques des margines causent une augmentation de la production de gaz à partir de la fraction insoluble (b). Les résultats des différents mélanges de foin de triticale et des extraits des margines elles sont proches de celles enregistrées par Adoui (2001), elles varient de : 47,32 à 61,24. La même situation est notée par Blümmel et Becker (1997), qui en incubant *in vitro* 44



## Résultats et Discussion



fourrages en présence de la microflore ruminale de bovins, obtient des valeurs de la fraction b comprises entre 33,6 et 74 ml, Pour le foin, le résultat obtenu est similaire à celle trouvée par Boultifat (2008) : 31,24 ml/200mg MS. Les vitesses de production de gaz (C) des différents mélanges de foin de triticale et des extraits des margines à partir de la fraction (B) sont différentes: le mélange de foin de triticale avec l'E.P.M.M.D.V. de *Chemlal* (4,98) > le contrôle (foin de triticale) (4,19) > les mélanges de foin de triticale avec E.P.M.M.D.V de *Sigoise* (3,8), E.P.M.M.C.Vde *Chemlal* (3.73) > le mélange de foin de triticale avec E.P.M.M.C.V de *Sigoise* (3.15), le mélange de foin de triticale avec E.P.M.M.C.V de *Cornicabra* (2.8) et le mélange de foin de triticale avec, E.P.M.M.D.V de *Cornicabra* (2.32 %h-1). Par cet aspect nos résultats sont corroborés par ceux enregistrés par : Blümmel et Becker (1997), Leulmi (2011) : entre 3.2 et 6.5%/h, entre 3.68 et 6.5. L'addition des extraits phénoliques des margines n'a pas d'effet sur la vitesse de la production de gaz (C) à partir de la fraction (B), excepté l'E.P.M.M.D.V. de *Chemlal* qui cause une augmentation légère.

**Tableau 13.** Constantes cinétiques modélisées des mélanges du foin de triticale et des extraits phénoliques des margines (100µl)

ME		Var	A	B	C
<i>Foin (Control)</i>			1.89 <sup>d</sup>	36.3 <sup>d</sup>	0.0419 <sup>b</sup>
Var * ME	Disc	<i>Chem</i>	8.30 <sup>bc</sup>	46.6 <sup>b</sup>	0.0498 <sup>a</sup>
		<i>Sig</i>	13.0 <sup>a</sup>	55.9 <sup>ab</sup>	0.0380 <sup>bc</sup>
		<i>Corn</i>	9.86 <sup>b</sup>	55.3 <sup>ab</sup>	0.0280 <sup>e</sup>
	Con	<i>Chem</i>	8.26 <sup>bc</sup>	52.7 <sup>b</sup>	0.0373 <sup>bc</sup>
		<i>Sig</i>	8.64 <sup>bc</sup>	55.2 <sup>ab</sup>	0.0315 <sup>cd</sup>
		<i>Corn</i>	5.93 <sup>c</sup>	61.8 <sup>a</sup>	0.0232 <sup>de</sup>
<i>SEM</i>			2.16	8.45	0.000
<i>p</i>			<0.001	<0.001	<0.001
Var	<i>Chem</i>		8.28 <sup>b</sup>	49.7 <sup>b</sup>	0.0436 <sup>a</sup>
	<i>Sig</i>		10.4 <sup>a</sup>	56.0 <sup>a</sup>	0.0354 <sup>b</sup>
	<i>Corn</i>		7.98 <sup>b</sup>	58.5 <sup>a</sup>	0.0259 <sup>c</sup>
<i>p</i>			<0.001	<0.001	<0.001
ME	Disc		10.1 <sup>a</sup>	52.9 <sup>b</sup>	0.392 <sup>a</sup>
	Con		7.60 <sup>b</sup>	56.5 <sup>a</sup>	0.0307 <sup>b</sup>
<i>SEM</i>			2.36	9.48	0.000
<i>p</i>			<0.001	<0.001	<0.001

a, b, c, et d : les lettres différentes dans une rangée sont significativement différentes.  
S.E.M. : erreur standard des moyennes. Variétés (var) : (Chem: Chemlal, Sig: Sigoise et cor : Cornicabra). Modes d'extraction (ME) : (Disc: Discontinu et Con: Continu).



### 3.4. Analyse qualitative des gaz produits

Les cinétiques de production de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et du méthane (CH<sub>4</sub>) au cours de la fermentation *in vitro* des différents mélanges de foin triticale et des extraits phénoliques des margines sont illustrées par le tableau 14 et la Figure 26. Ils sont caractérisés par 03 phases distinctes :

La première phase (de 2 à 24 heures) est caractérisée par une production élevée de gaz pour les différents mélanges, environ 2/3 du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et 1/2 du méthane (CH<sub>4</sub>). La deuxième phase correspond à une phase de ralentissement où la production de gaz commence à diminuer se situe entre 24 et 48 heures pour CO<sub>2</sub> et entre 24 et 72 heures pour CH<sub>4</sub>. La troisième phase dite stationnaire (à partir de 48h à 96h d'incubation pour CO<sub>2</sub> et de 72h jusqu'à 96h d'incubation pour CH<sub>4</sub>), peu de gaz est alors produit et la fermentation diminue jusqu'à se stabiliser totalement. D'après le tableau 14 les extraits phénoliques des margines induisent une augmentation dans la production du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et CH<sub>4</sub> pour les mélanges de foin de triticale et des extraits phénoliques des margines. Cette augmentation est probablement due à la dégradation des composées phénoliques simples. En effet, des études rapportent que la dégradation complète de ces composées comme le cas du benzoate. En général, la fermentation des substrats engendre un profil fermentaire orienté principalement vers une production accrue en CO<sub>2</sub>.



## Résultats et Discussion



**Tableau 14.** Influence des extraits phénoliques des margines sur la production de CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub> du foin de triticale.

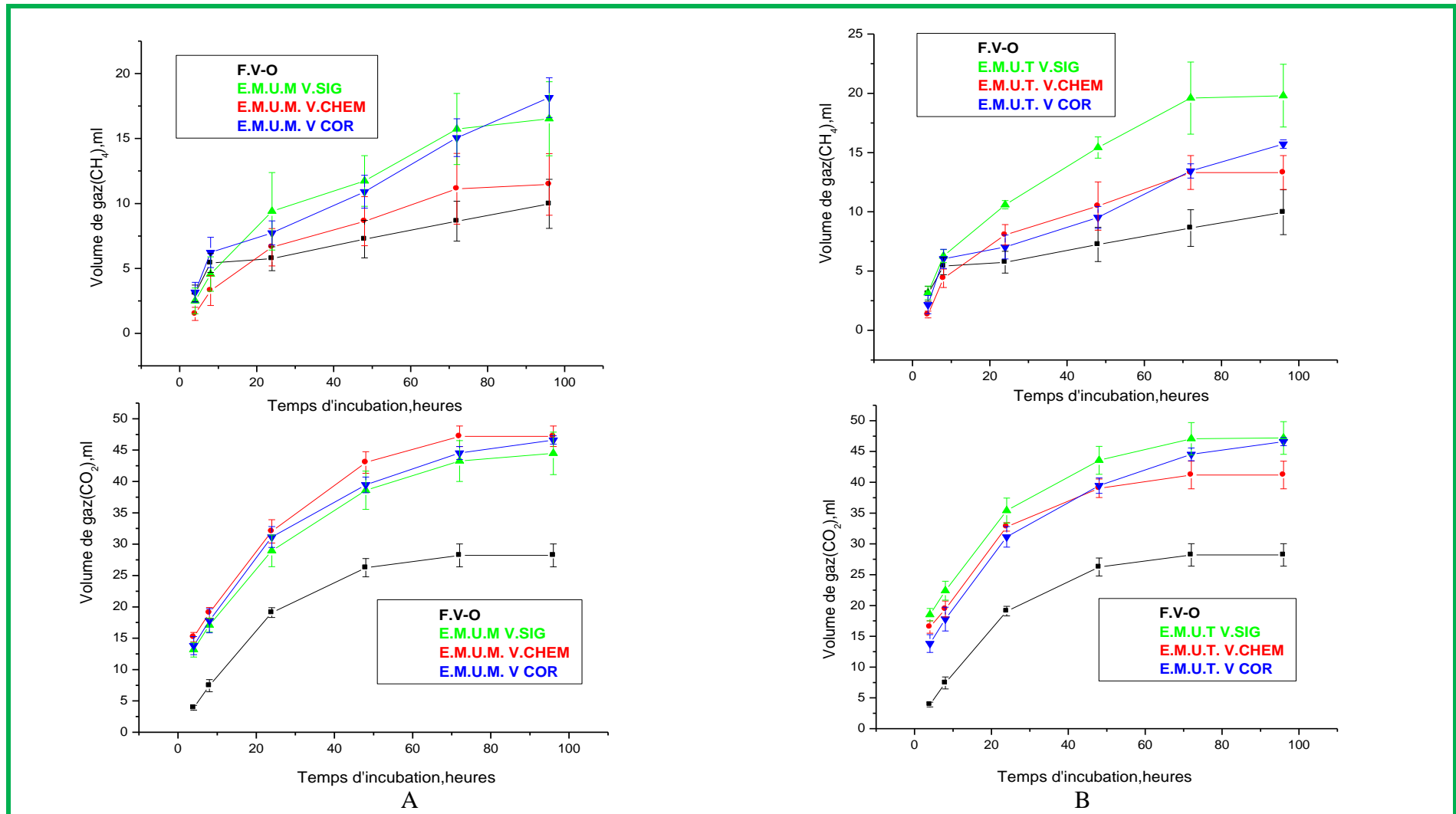
			Production de méthane (CH <sub>4</sub> )					Production de dioxyde de carbone (CO <sub>2</sub> )					CO <sub>2</sub> /CH <sub>4</sub>		
	ME	Var	T4	T8	T24	T48	T72	T96	T4	T8	T24	T48	T72	T96	T96
<b>FOIN (Control)</b>			3.08 <sup>ab</sup>	5.42 <sup>ab</sup>	6.20 <sup>b</sup>	7.25 <sup>b</sup>	8.63 <sup>c</sup>	8.63 <sup>d</sup>	3.91 <sup>e</sup>	7.41 <sup>d</sup>	18.6 <sup>d</sup>	26.3 <sup>c</sup>	28.0 <sup>c</sup>	28.0 <sup>c</sup>	2.91 <sup>b</sup>
<b>Var * ME</b>	<b>Disc</b>	<b>Chem</b>	1.33 <sup>b</sup>	4.40 <sup>ab</sup>	8.07 <sup>ab</sup>	10.5 <sup>b</sup>	13.3 <sup>bc</sup>	13.3 <sup>bcd</sup>	16.5 <sup>b</sup>	19.4 <sup>b</sup>	32.8 <sup>ab</sup>	39.0 <sup>ab</sup>	41.2 <sup>b</sup>	41.2 <sup>b</sup>	3.12 <sup>b</sup>
		<b>Sig</b>	3.50 <sup>a</sup>	6.40 <sup>a</sup>	10.4 <sup>a</sup>	15.2 <sup>a</sup>	19.9 <sup>a</sup>	20.3 <sup>a</sup>	18.5 <sup>a</sup>	22.6 <sup>a</sup>	35.6 <sup>a</sup>	43.4 <sup>a</sup>	46.6 <sup>a</sup>	46.7 <sup>ab</sup>	2.42 <sup>b</sup>
		<b>Corn</b>	2.17 <sup>ab</sup>	6.03 <sup>a</sup>	7.03 <sup>ab</sup>	9.53 <sup>b</sup>	13.45 <sup>bc</sup>	15.7 <sup>abc</sup>	13.8 <sup>c</sup>	17.8 <sup>b</sup>	31.1 <sup>b</sup>	39.5 <sup>ab</sup>	44.6 <sup>ab</sup>	46.7 <sup>ab</sup>	2.97 <sup>b</sup>
	<b>Con</b>	<b>Chem</b>	1.50 <sup>b</sup>	3.3 <sup>b</sup>	6.63 <sup>ab</sup>	8.63 <sup>b</sup>	11.1 <sup>bc</sup>	11.5 <sup>cd</sup>	15.2 <sup>bc</sup>	19.0 <sup>b</sup>	32.0 <sup>ab</sup>	43.0 <sup>a</sup>	47.2 <sup>a</sup>	47.2 <sup>a</sup>	4.23 <sup>a</sup>
		<b>Sig</b>	2.50 <sup>ab</sup>	4.57 <sup>ab</sup>	9.40 <sup>ab</sup>	11.7 <sup>b</sup>	15.7 <sup>ab</sup>	16.5 <sup>abc</sup>	13.2 <sup>c</sup>	17.1 <sup>b</sup>	28.9 <sup>b</sup>	38.6 <sup>ab</sup>	43.3 <sup>ab</sup>	44.5 <sup>ab</sup>	2.76 <sup>b</sup>
		<b>Corn</b>	3.16 <sup>ab</sup>	6.23 <sup>a</sup>	7.73 <sup>ab</sup>	10.9 <sup>b</sup>	15.1 <sup>ab</sup>	18.2 <sup>ab</sup>	8.17 <sup>d</sup>	12.1 <sup>c</sup>	25.6 <sup>c</sup>	35.1 <sup>b</sup>	40.6 <sup>b</sup>	43.5 <sup>ab</sup>	2.41 <sup>b</sup>
<b>SEM</b>			0.46	0.94	2.08	2.41	4.44	4.11	1.03	1.68	2.72	3.41	4.27	4.33	0.26
<b>p</b>			0.016	0.015	0.015	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.011
<b>Var</b>	<b>Chemlal</b>		1.42 <sup>b</sup>	3.85 <sup>b</sup>	7.35 <sup>b</sup>	9.56 <sup>b</sup>	12.2 <sup>b</sup>	12.4 <sup>b</sup>	15.8 <sup>a</sup>	19.2 <sup>a</sup>	32.4 <sup>a</sup>	41.0 <sup>a</sup>	44.2	44.2	3.67 <sup>a</sup>
	<b>Sigoise</b>		2.83 <sup>a</sup>	5.42 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	13.6 <sup>a</sup>	17.7 <sup>a</sup>	18.2 <sup>a</sup>	15.8 <sup>a</sup>	19.8 <sup>a</sup>	32.2 <sup>a</sup>	41.1 <sup>a</sup>	45.2	45.8	2.59 <sup>b</sup>
	<b>Cornicabra</b>		2.66 <sup>a</sup>	6.13 <sup>a</sup>	7.38 <sup>b</sup>	10.2 <sup>b</sup>	14.3 <sup>b</sup>	16.9 <sup>a</sup>	11.0 <sup>b</sup>	14.9 <sup>b</sup>	28.4 <sup>b</sup>	37.3 <sup>b</sup>	42.6	45.1	2.69 <sup>b</sup>
<b>p</b>			0.007	0.006	0.015	0.0017	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	0.0027	0.007	0.14	0.43	0.0035
<b>ME</b>	<b>Discontinus</b>		2.22	5.57	8.57	11.8	15.4	16.3	16.3 <sup>a</sup>	19.9 <sup>a</sup>	33.1 <sup>a</sup>	40.7	44.3	45.0	2.83
	<b>Continus</b>		2.39	4.70	7.92	10.4	14.0	15.4	12.2 <sup>b</sup>	16.1 <sup>b</sup>	28.9 <sup>b</sup>	38.9	43.7	45.1	3.13
<b>p</b>			0.61	0.092	0.38	0.084	0.18	0.37	<0.001	<0.001	<0.001	0.072	0.57	0.95	0.20
<b>SEM</b>			0.47	1.00	2.28	2.47	4.78	4.20	1.18	1.80	3.07	3.63	4.43	4.50	0.26

a, b, c, et d : les lettres différentes dans une rangée sont significativement différentes. S.E.M. : erreur standard des moyennes.

Variétés(var) : (Chem: Chemlal , Sig: Sigoise et cor : Cornicabra). Modes d'extraction (ME): (Disc: Discontinus et Con: Continus)



## Résultats et Discussion



**Figure 26.** Cinétiques de production de dioxyde de carbone et du méthane au cours de la fermentation *in vitro* des mélanges du foin de triticale et des extraits des margines obtenus par extraction discontinus (A) et continus (B).



Le rapport CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> de notre étude est entre 2.41 et 4.23, ils sont similaires aux résultats qui ont été publiés par Gueticha (2001) : 2.57 et Adoui (2001) : 2.6. L'étude statistique montre que les échantillons étudiés présentent des valeurs de rapport CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> différentes selon l'interaction mode\*variétés et selon la variété d'olive : Chemlal (3.67) < Sigoise (2.59) et Cornicabra (2.96). D'après ces résultats, nous concluons que l'E.P.M.M.C.V de Chemlal cause une réduction significative de la production de méthane (CH<sub>4</sub>). Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que les tanins ont un effet inhibiteur vis à vis des archaebactéries méthanogènes. Cette action peut être soit directe par l'inhibition de la croissance des archaebactéries méthanogènes ou indirecte soit par la réduction de la production de l'hydrogène (H<sub>2</sub>) (Michael et al. 2005).

### 3.5. Influence du contenu phénolique des margines sur le profil fermentaire

Les paramètres fermentaires pH, ammoniacal et nombre de protozoaires sont présentés dans le tableau 15.

- ✓ **pH** : les extraits phénoliques des margines utilisés comme additif au foin de triticale n'ont aucun effet sur le pH après 24h de fermentation excepté l'E.P.M.M.C.V de Chemlal qui exerce une diminution de pH (6.39). Ces résultats sont similaires à ceux avancés par Michael et al. (2005). D'autres publications qui rapportent que l'incorporation du PEG n'a aucun effet significatif sur le pH. Le tableau 15 montre que les extraits phénoliques des margines (E.P.M.M.D.V *Chemlal*, *Sigoise* et *Cornicabra* et l'E.P.M.M.C.V de *Chemlal*) causent une diminution significative de pH après 96h d'incubation. L'acidification du milieu de fermentation est essentiellement due à l'accumulation des acides gras volatiles (AGV) issues de la dégradation du foin de triticale.
- ✓ **Nombre de protozoaires** : le nombre de protozoaires après 24h de fermentation pour tous les mélanges et le témoin, est statistiquement différent soit selon le mode d'extraction soit selon la variété d'olive, soit selon l'interaction mode\*variétés. L'addition des extraits phénoliques des margines diminue le nombre de protozoaires de 18.4, 21.7 et 31.7% respectivement pour : E.P.M.M.C.V de *Cornicabra*, E.P.M.M.C.V de *Sigoise* et E.P.M.M.D.V de *Cornicabra*, excepté l'E.P.M.M.C.V de *Chemlal* qui exerce une augmentation de 78.35%. La diminution de nombre de protozoaires pourrait être expliquée par les effets des composés phénoliques vis-à-vis les protozoaires. Selon la littérature, la diminution de nombre des protozoaires est principalement liée à l'effet des tanins sur les protozoaires (Getachew et al., 2000, Kamara et al., 2006). Ces molécules peuvent agir soit directement sur la faune ruminale (les protozoaires) en altérant leur



métabolisme ou indirectement par leurs propriétés antiméthanogéniques. En effet, entre 9 et 25% des archaebactéries méthanogènes sont associées aux protozoaires ciliés qui leurs fournissent de l'hydrogène moléculaires ( $H_2$ ) comme substrat énergétique.

- ✓ **Production d'ammoniaque :** la production d'ammoniaque après 24h de fermentation pour tous les mélanges et le témoin, est statistiquement différents soit selon le mode d'extraction, la variété d'olive et l'interaction mode\*variétés. Les extraits phénoliques des margines causent une diminution significative dans la production d'ammoniaque après 24h d'incubation de 6.17, 28.7, 31.8 et 55.7% respectivement pour E.P.M.M.D.V de Chemlal, E.P.M.M.C.V de Chemlal, E.P.M.M.D.V de Cornicabra et E.P.M.M.C.V de Cornicabra. Ces résultats concordent avec les observations rapportées par plusieurs auteurs travaillant sur des plantes tannifères; L'incubation de *Medicago sativa* (riche en tanins) en présence de PEG diminue la production de l'ammoniaque (Sharp et al., 1998). Par contre les extraits phénoliques des margines de variété Sigoise de deux modes de trituration exerce une augmentation dans la production d'ammoniaque après 24h d'incubation. La diminution observée peut être liée à l'effet des composés phénoliques qui peuvent inhiber les microorganismes grâce à leur activité antimicrobienne, à l'augmentation de la synthèse microbienne ou à leur teneur faible en matières azotées totales. En revanche, L'augmentation de la production d'ammoniaque peut être due à la stimulation de la protéolyse ruminale. Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Leulmi (2011) sont entre : 3.20 - 4.36 mg/l.
- ✓ **Digestibilité apparente :** la dégradation de la matière sèche des différents mélanges de foin de vesce-avoine avec les extraits phénoliques des margines représentée par les coefficients de digestibilité (CD) est également mentionnée dans le tableau 15. La digestibilité apparente après 96h de fermentation pour tous les mélanges et le témoin, est statistiquement différents, soit selon le mode d'extraction ( $p < 0.01$ ): discontinu (69.1%) > continu (66,1%), selon la variété d'olive ( $p < 0.05$ ): Sigoise (69,0%) et *Cornicabra* (68.2%) > *Chemlal* (65.7%), et selon l'interaction mode\*variétés ( $p < 0.01$ ). Les extraits phénoliques des margines causent une augmentation significative dans la digestibilité apparente à l'ordre de 17,0, 16,9, 9,3, 9,2, 6,40 et 5,90% respectivement pour les EMMDV de *Cornicabra*, EMMDV de *Sigoise*, EMMCV de *Chemlal*, EMMCV de *Sigoise*, EMMCV de *Cornicabra* et EMMDV de *Chemlal*. Cette augmentation peut être due à la diminution de nombre des protozoaires. L'élimination des protozoaires provoque une augmentation du nombre total de bactéries qui s'explique par l'absence de prédation. Cette prédation pouvant être sélective, la défaunation agit non seulement



## Résultats et Discussion



sur le nombre de bactéries, mais aussi sur la composition du mélange bactérien, ainsi, par exemple, la concentration de bactéries amylolytiques augmente. Alors que l'amidon favorise la production de propionate et diminue la méthanogènes et réduit la perte d'azote sous forme d'ammoniaque (Jouany, 1991). Nos résultats sont concordent avec l'étude menée par Arhab (1999) sur la microbiote ruminal de dromadaire enregistre une valeur de 65,1%.

**Tableau 15.** Influence des extraits phénoliques des margines sur le profil fermentaire (pH, N-NH<sub>3</sub> (\*10<sup>2</sup> mg/ml) et nombre de protozoaires (\*10<sup>3</sup> cellules/ml)) et la digestibilité apparente de la dégradation *in vitro* du foin de triticale.

	ME	Var	pH, 24 h	pH, 96 h	Protozoaires	[N-NH <sub>3</sub> ]	Digest. %
<b>FOIN (Control)</b>			6.51 <sup>a</sup>	6.44 <sup>a</sup>	20.0 <sup>b</sup>	6.16 <sup>b</sup>	61.0 <sup>c</sup>
<b>Var * ME</b>	<b>Disc</b>	<b>Chem</b>	6.45 <sup>ab</sup>	6.32 <sup>c</sup>	17.7 <sup>bc</sup>	5.78 <sup>b</sup>	64.6 <sup>b</sup>
		<b>Sig</b>	6.42 <sup>ab</sup>	6.37 <sup>b</sup>	18.0 <sup>bc</sup>	7.34 <sup>a</sup>	71.3 <sup>a</sup>
		<b>Corn</b>	6.46 <sup>ab</sup>	6.38 <sup>b</sup>	13.7 <sup>d</sup>	4.2 <sup>c</sup>	71.4 <sup>b</sup>
	<b>Con</b>	<b>Chem</b>	6.39 <sup>b</sup>	6.27 <sup>d</sup>	35.7 <sup>a</sup>	4.39 <sup>c</sup>	66.7 <sup>b</sup>
		<b>Sig</b>	6.44 <sup>ab</sup>	6.41 <sup>ab</sup>	15.7 <sup>cd</sup>	7.84 <sup>a</sup>	66.6 <sup>b</sup>
		<b>Corn</b>	6.44 <sup>ab</sup>	6.43 <sup>a</sup>	16.3 <sup>cd</sup>	2.73 <sup>d</sup>	64.9 <sup>a</sup>
<b>SEM</b>			0.0015	0.0005	2.38	0.398	2.87
<b>p</b>			0.059	<0.001	<0.001	<0.001	0.000
<b>Var</b>	<b>Chemlal</b>		6.43	6.3 <sup>b</sup>	26.7 <sup>a</sup>	4.99 <sup>b</sup>	65.7 <sup>b</sup>
	<b>Sigoise</b>		6.43	6.39 <sup>a</sup>	16.8 <sup>b</sup>	7.32 <sup>a</sup>	69.0 <sup>a</sup>
	<b>Cornicabra</b>		6.45	6.4 <sup>a</sup>	15 <sup>c</sup>	3.46 <sup>c</sup>	68.2 <sup>a</sup>
	<b>p</b>			0.39	<0.001	<0.001	<0.001
<b>ME</b>	<b>Discontinus</b>		6.42	6.35	16.4 <sup>b</sup>	5.53 <sup>a</sup>	69.1 <sup>a</sup>
	<b>Continus</b>		6.44	6.37	22.5 <sup>a</sup>	4.99 <sup>b</sup>	66.1 <sup>b</sup>
	<b>p</b>			0.26	0.06	<0.001	0.035
<b>SEM</b>			0.001	0.0004	1.61	0.23	3.09

a, b, c, et d : les lettres différentes dans une rangée sont significativement différentes.  
S.E.M. : erreur standard des moyennes. Variétés(var) : (Chem: Chemlal , Sig: Sigoise et cor : Cornicabra). Modes d'extraction (ME): (Disc: Discontinus et Con: Continus)

#### **4. Etude de l'effet des différents proportions de margines sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticale**

Le tableau 16 présente la production de gaz totale, méthane, pH, N-NH<sub>3</sub> et protozoaires enregistrés pour les différents mélanges du foin de triticale et des proportions des margines étudiées.



## Résultats et Discussion



**Tableau 16.** Effet des margines sur la production de gaz, méthane, pH, N-NH<sub>3</sub> et nombre de protozoaires ciliés de la dégradation in vitro du foin de triticale.

	Mélanges (% Margine, en MS)					SEM	Prob.
	0%	10%	20%	40%	60%		
<b>Production de gaz, ml</b>							
4h	7.00 <sup>a</sup>	7.67 <sup>a</sup>	7.33 <sup>a</sup>	3.17 <sup>b</sup>	1.33 <sup>c</sup>	0.417	<0.001
8h	12.8 <sup>b</sup>	12.5 <sup>a</sup>	11.2 <sup>a</sup>	5.33 <sup>b</sup>	1.83 <sup>c</sup>	0.867	<0.001
24h	24.8 <sup>c</sup>	30.8 <sup>a</sup>	27.8 <sup>b</sup>	16.7 <sup>d</sup>	5.83 <sup>e</sup>	2.03	<0.001
<b>CH<sub>4</sub> 24h, ml</b>	6.18 <sup>b</sup>	9.67 <sup>a</sup>	7.67 <sup>b</sup>	3.75 <sup>c</sup>	2.16 <sup>c</sup>	0.808	<0.001
<b>CH<sub>4</sub> 24h, %</b>	25.0 <sup>c</sup>	30.8 <sup>b</sup>	29.8 <sup>b</sup>	36.5 <sup>a</sup>	39.2 <sup>a</sup>	3.20	<0.001
<b>pH 24h</b>	6.51 <sup>c</sup>	6.47 <sup>c</sup>	6.52 <sup>c</sup>	6.63 <sup>b</sup>	6.75 <sup>a</sup>	0.002	<0.001
<b>[N-NH<sub>3</sub>] mg/l</b>	6.16 <sup>a</sup>	6.81 <sup>a</sup>	6.23 <sup>a</sup>	0.31 <sup>b</sup>	0.15 <sup>b</sup>	0.293	<0.001
<b>Protozoaires</b>	20.0 <sup>a</sup>	16.7 <sup>b</sup>	14.7 <sup>b</sup>	10.7 <sup>c</sup>	10.3 <sup>c</sup>	1.67	<0.001

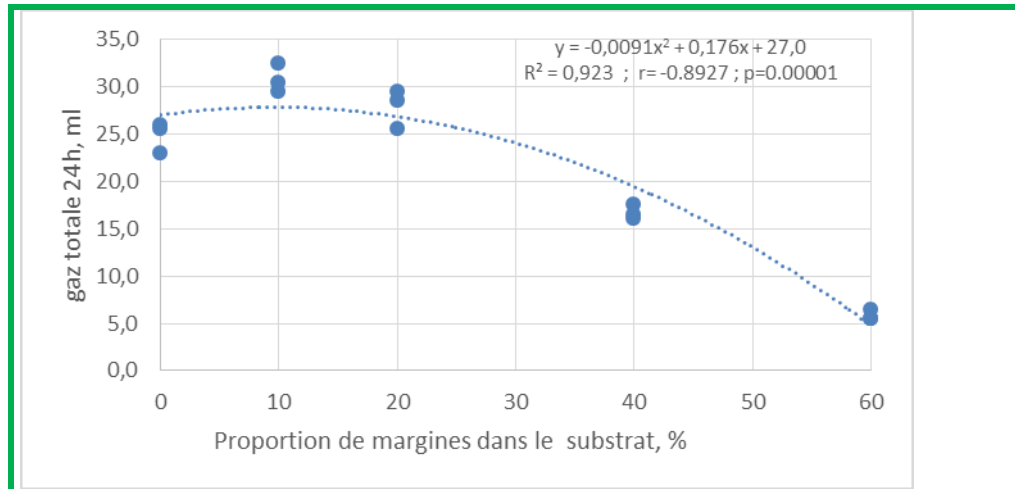
*abc* : les lettres différentes dans une rangée sont différentes à  $p < 0.001$  #  $*10^3/ml$   
*S.E.M.* : erreur standard des moyennes.

### 4.1. Production de gaz

Après une incubation de 24 heures, l'addition de 10 et 20 % des margines avec le foin de triticale a provoqué une augmentation de la production totale de gaz de 24,2 et 12,1%, respectivement. Contrairement, pour les deux mélanges de 40 et 60 % de margine qui causent une réduction de la production totale de gaz de 32,7 et 76,5%, respectivement. L'addition des margines causent une stimulation de la proportion de la production de CH<sub>4</sub>, ces augmentations sont respectivement 23,2, 19,2, 46,0 et 56,8% pour les mélanges de foin de triticale avec des margines de 10, 20, 40, et 60%. L'augmentation de la proportion de margine dans le substrat à 10 % (en MS) a augmenté la production de gaz et le pourcentage de méthane dans le gaz. Ces changements pourraient être dus au substrat supplémentaire fourni par la margine. Toutefois, lorsque la concentration de margine a été augmentée à 20 %, le taux de production de gaz a diminué et a continué de diminuer de façon linéaire, jusqu'à la concentration de margine a été portée à 60%. Pour les mélanges de 10 et 20% des margines, l'augmentation de la production du gaz totale et le méthane est probablement due à la dégradation des composés phénolique des margines. D'après Mc SWEENEY C.S et al 2001, les tanins hydrolysables sont facilement dégradés en anaérobiose par le microbiote ruminale. En effet, certains microorganismes du

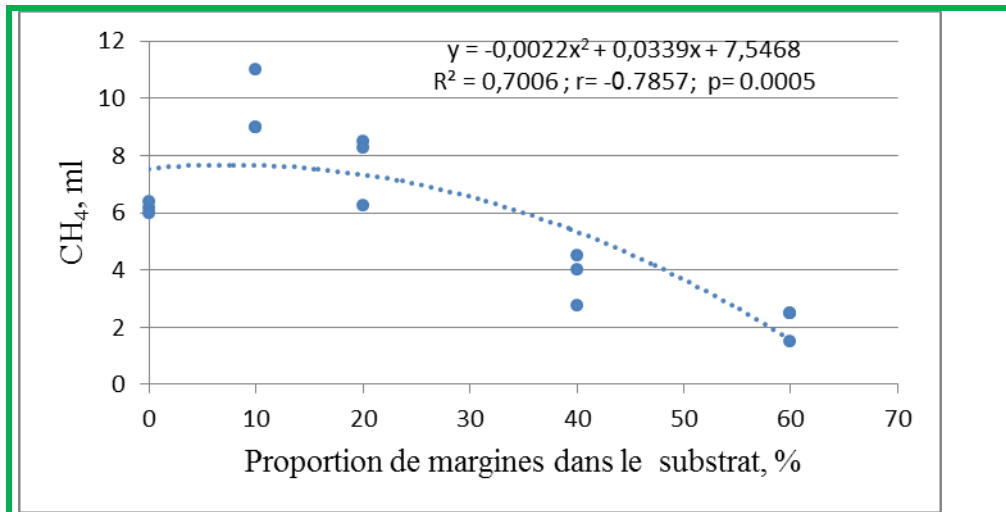


rumen, notamment, les *Streptococcus* possèdent des tannases capable de dégrader les TH. Ces enzymes interviennent dans l'hydrolyse des liaisons esters des tanins hydrolysables en produisant de l'acide gallique et du glucose. Ce qui pourrait aussi expliquer l'augmentation dans la production du gaz.

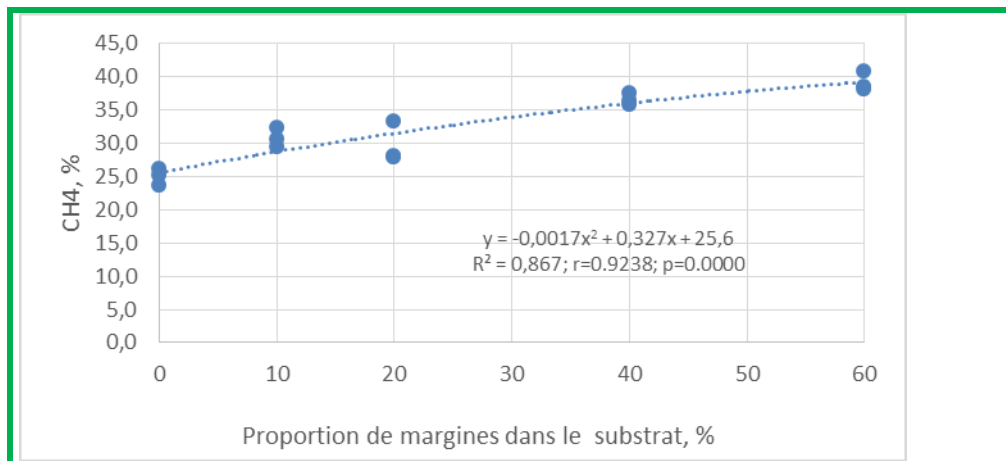


**Figure 27.** Effet des différentes proportions des margines dans le substrat sur la production de gaz, après 24h de fermentation

Pour les mélanges de 40 et 60% des margines, la diminution observée de la production de gaz totale, production de CH<sub>4</sub>, peut être liée à l'effet des proportions élevées de margines (plus de 20 %) très riches en matière organique, en particulier les composés phénoliques, qui peuvent inhiber les micro-organismes en raison de leur activité antimicrobienne. Donc, lorsque la proportion des margines dépasse 20%, l'effet inhibiteur dépasse les protozoaires ciliés et s'étend à tous les micro-organismes ruminants. La réduction du méthane pourrait être due aux effets communs de l'action des tanins dans les extraits des margines et à l'effet indirect de la diminution des protozoaires ciliés (Nguyen et al 2020). Ainsi, il est connu que les bactéries méthanogènes se retrouvent généralement liées intimement aux protozoaires ciliés, dont l'élimination par des complexes avec les tanins conduit forcément à une réduction des méthanogènes de 35 à 45% (Blummel et Ørskov 1993).



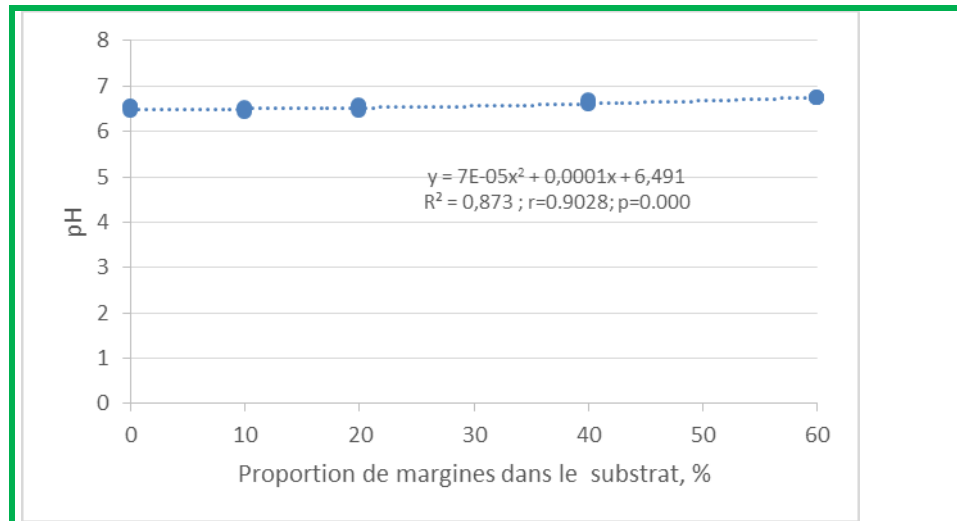
**Figure 28.** Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur la production de méthane, après 24h de fermentation



**Figure 29.** Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur la proportion de méthane, après 24h de fermentation

### 4.2. pH

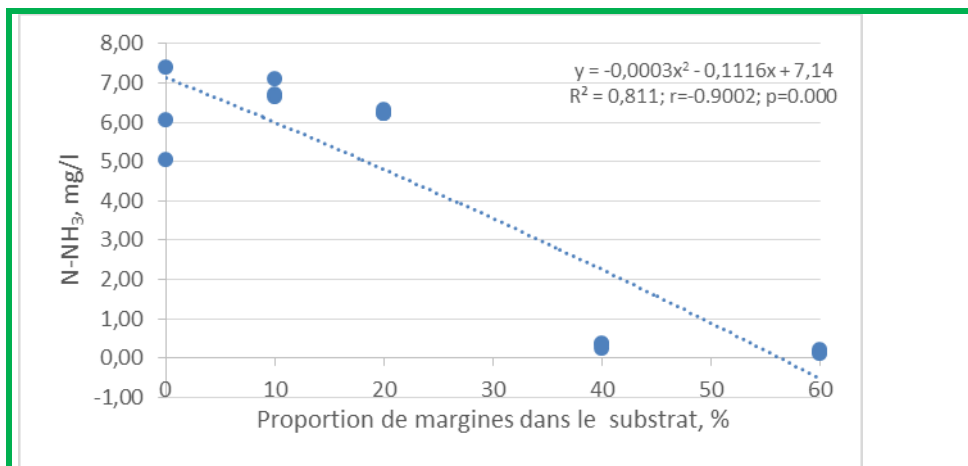
Les proportions des margines sont très forte corrélées positivement au pH de milieu de fermentation (figure 30). Les margines de 10 et 20% utilisés comme additif au foin de triticales n'ont aucun effet sur le pH après 24h de fermentation. Ces résultats sont similaires à ceux avancés par Michael et al (2005) d'autres publications qui rapportent que l'incorporation du PEG n'a aucun effet significatif sur le pH. Contrairement, Les margines de 40 et 60% causent une stimulation de pH après 24h d'incubation. L'acidification du milieu de fermentation est essentiellement due à l'accumulation des acides gras volatiles (AGV) issues de la dégradation du foin de triticales. Les valeurs faibles de pH par rapport au contrôle peuvent être expliquées par l'augmentation de la fermentation de substrat ce qui signifie l'augmentation de la production des AGV.



**Figure 30.** Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur le pH, après 24h de fermentation.

### 4.3. Production d'ammoniaque

Les margines de 40 et 60% causent une diminution dans la production d'ammoniaque après 24h d'incubation de 95.0 et 97.6% respectivement. Mais les mélanges de foin de triticale et des margines de 10 et 20 % provoqué une augmentation respectivement de 10.6 et 1.14 % dans la production d'ammoniaque après 24h d'incubation.



**Figure 31.** Effet des différents proportions des margines dans le substrat sur N-NH<sub>3</sub>, après 24h de fermentation

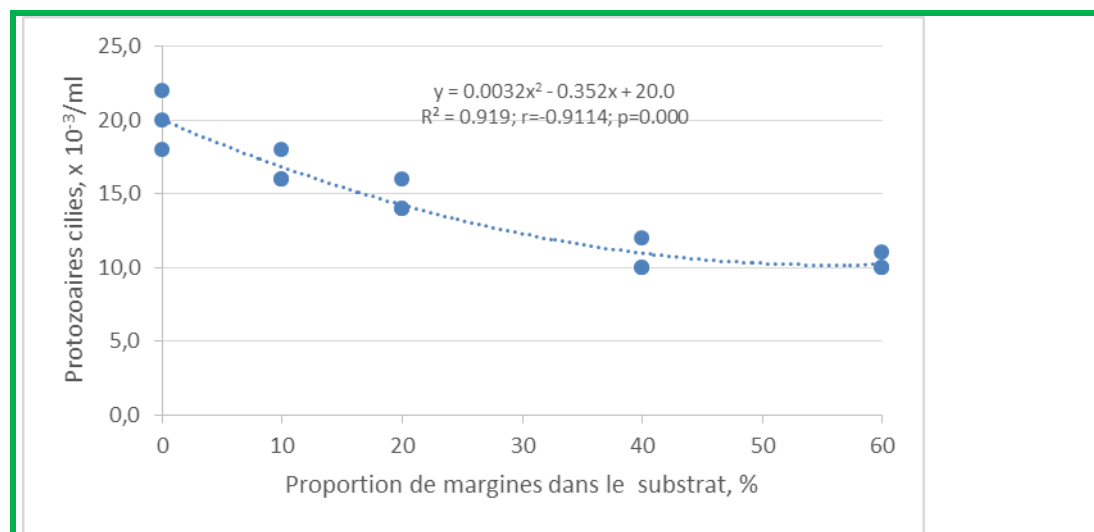
Les proportions des margines sont très forte corrélées négativement ( $r > 8$ ;  $p < 0.001$ ) à la production d'ammoniac (figure 31). Le profil de production d'ammoniac indiquait des valeurs normales (6,2 à 6,7 mg/100 ml) jusqu'à ce que la concentration de marge atteigne 20 %, après quoi l'ammoniac n'a pas pu être détecté, ce qui indique une perturbation grave de la fermentation lorsque la marge comprenait plus de 20 % du substrat (en MS). La diminution de



l'ammoniac du rumen est un autre résultat attendu de la réduction du nombre des protozoaires ciliés (Nguyen et *al.* 2020).

#### 4.4. Nombre de protozoaires

Le nombre de protozoaires après 24h de fermentation pour tous les mélanges et le témoin, est statiquement différents, L'addition des margines diminue le nombre de protozoaires de 16.5, 26.5, 46.5, et 48.5% respectivement pour les mélanges de foin de triticale et des margines de 10, 20, 40 et 60%. Les proportions des margines sont très forte corrélées négativement ( $r > 8$ ;  $p < 0.001$ ) à le nombre de protozoaires ciliés (figure 32). La population de protozoaires ciliés a diminué de façon linéaire à mesure que la concentration de marge dans le substrat augmentait de 0 à 20 %. Elle a continué de décliner avec l'augmentation des concentrations de margines dans le substrat, mais cela est de peu d'importance, car les concentrations de margines supérieures à 20 % étaient manifestement trop élevées pour soutenir la fermentation normale du rumen. La diminution de nombre de protozoaires pourrait être expliquée par les effets des composées phénoliques vis-à-vis les protozoaires. Leurs diminutions sont principalement liées à l'effet des tanins (Getachew et *al.* 2000).



**Figure 32.** Effet des différentes proportions des margines dans le substrat sur le nombre de protozoaires ciliés, après 24h de fermentation



### 5. Confection de blocs nutritionnels à base de margines et évaluation de leurs effet sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticale.

#### 5.1. Caractéristiques de blocs nutritionnels à base de margines

##### 5.1.1. Composition chimique de blocs

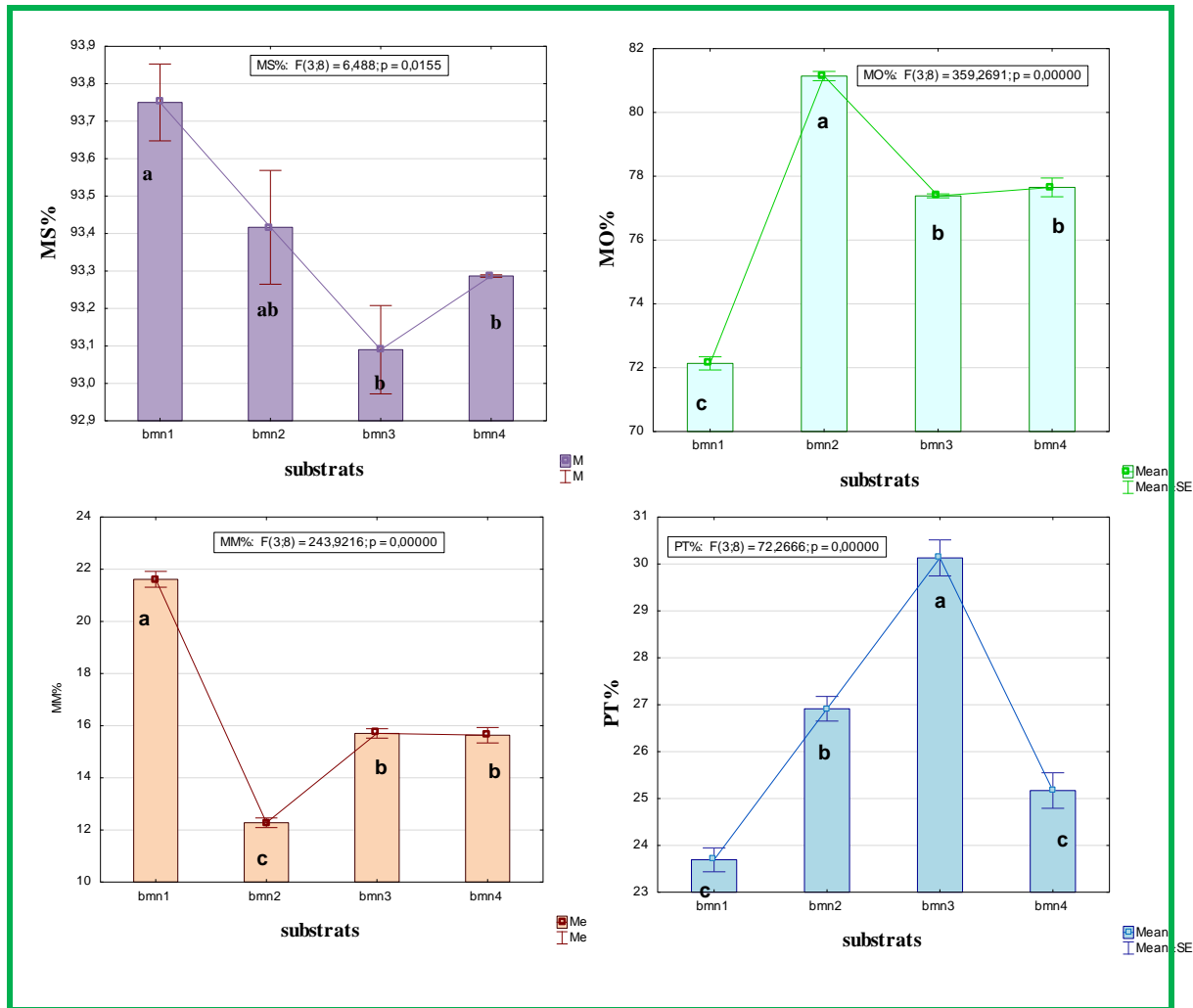
Les résultats obtenus pour la composition chimique des différents blocs sont rapportés dans la figure 33. Elle montre que les blocs multi nutritionnels renferment des taux variables en matière sèche, mais ne présente pas une grande différence. La teneur la plus élevée est enregistré pour le BMN1 (93,8%) et la plus faible est observée pour le BMN3 (93,1%). Ces niveaux de matière sèche étaient considérés comme assez élevés. Les résultats obtenu son plus proche de celui noté par Montcho et *al.* (2016) qui enregistré une valeur de 93.4%, et par Babatoundé et *al.* (2016), qui enregistré une valeur de 92,1% et aussi par Tabai (2008) qui enregistre des valeurs variant de 89,5 % à 91,5%. En outre, les résultats signalés sont supérieurs à ceux obtenus par Asaolu (2012) dont leur valeur entre 86.3 et 88.2%, ainsi que les résultats de Benguega (2006) et Shabaka, (2010), qui ont obtenu des valeurs entre 83,4 et 78,2%, respectivement.

Les quatre blocs sont riches en matière organique, avec des teneurs significativement variables ( $P < 1\%$ ), de 72,1, 81,1, 77,4 et 77,7 respectivement pour les blocs 1, 2, 3 et 4. Leur richesse en minéraux pourrait être responsable de cette situation. Montcho et *al.* (2016) et Babatoundé et *al.* (2016) signalent des valeurs très proches de nos résultats, soit environ 76,4 et 80,3% de MO respectivement.

Le contenu en matières minérale est élevé pour les quatre blocs, la teneur la plus élevée enregistrée pour le BMN1 (21,6%) et la plus faible teneur observée pour le BMN2 (12,3%). Cette variation est due à la différence de composition des blocs, avec BMN 1 ayant plus de sel et ciment que BMN2, mais les BMN 3 et 4 ont enregistré des valeurs moyennes (15%) en raison de leur teneur en pâte de margines. nos résultats concernant le MM sont inférieurs à ceux indiqués par d'autres auteurs Asaolu (2012) dont leur valeur entre 29.5 et 32.7%, ainsi que Shabaka, (2010) qui enregistré 33,0%. Mais nos résultats concordent bien avec ceux de Montcho et *al.* (2016), Babatoundé et *al.* (2016) et Chehma et Senoussi, (2010).



# Résultats et Discussion



**Figure 33.** Composition chimique de blocs multi nutritionnels.

Les moyennes affectées de lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ),  $P$  : probabilité, MS : matière sèche, MO : matière organique, MM : matière minérale, PT : Protéines totaux.

Les quatre blocs sont aussi très riches en matière azotée totale, avec des teneurs significativement variables ( $P < 1\%$ ). L'ordre décroissant protéine totale est:  $30.1 > 26.9 > 25.2 > 23.7\%$  respectivement pour les blocs 3, 2, 4 et 1. Cette variation est aussi due à la différence de composition des blocs, car le BMN 3 ayant plus de l'urée que les autres blocs. Mais en ce qui concerne la valeur de protéine totale dans le BMN1, c'est dû au fait que le BMN 1 contient plus de sel et de ciment que les autres blocs. La teneur en PT des blocs, enregistrée dans notre étude, est comparable à celle notée dans d'autres travaux qui donnent des teneurs : de 20.6 et 22.0% (Asaolu, 2012), 32.5% (Shabaka, 2010) et 22.3 (Babatoundé et al 2016). Mais elle est supérieur à ceux indiqués par d'autres auteurs : de 7.00 à 14.0% (Montcho et al., 2016), 15.5% (Benguega, 2006) et de 12.0 à 15.0% (Chehma et Senoussi, 2010).



### 5.1.2. Caractéristiques physiques des blocs

La qualité physique des blocs est indiquée dans le tableau 17 et la figure 34 où les blocs sont évalués après séchage sur la base de la dureté, la Cohésion, la couleur et l'odeur.

**Tableau 17.** Caractéristiques physiques des blocs multinutritionnels

		BMN1	BMN2	BMN3	BMN 4
Après 2 jours	Dureté	m	M	M	M
	Cohésion	n	M	M	M
Après 7 jours	Dureté	M	M	B	B
	Cohésion	n	M	B	B
Après 14 jours	Dureté	M	B	B	B
	Cohésion	n	M	B	B
Après 21 jours	Dureté	M	B	B	B
	Cohésion	n	B	B	B
Après 1 mois	Dureté	B	B	B	B
	Cohésion	n	B	B	B
Après 3 mois	Dureté	B	B	B	B
	Cohésion	n	B	B	B
Après 6 mois	Dureté	B	B	B	B
	Cohésion	n	B	B	B
Couleur		Claire	Marron	Marron foncée	Marron très foncée
Odeur		Agréable, odeur de datte et d'olive			

Moyenne (M) Bonne (B) nulle (n)



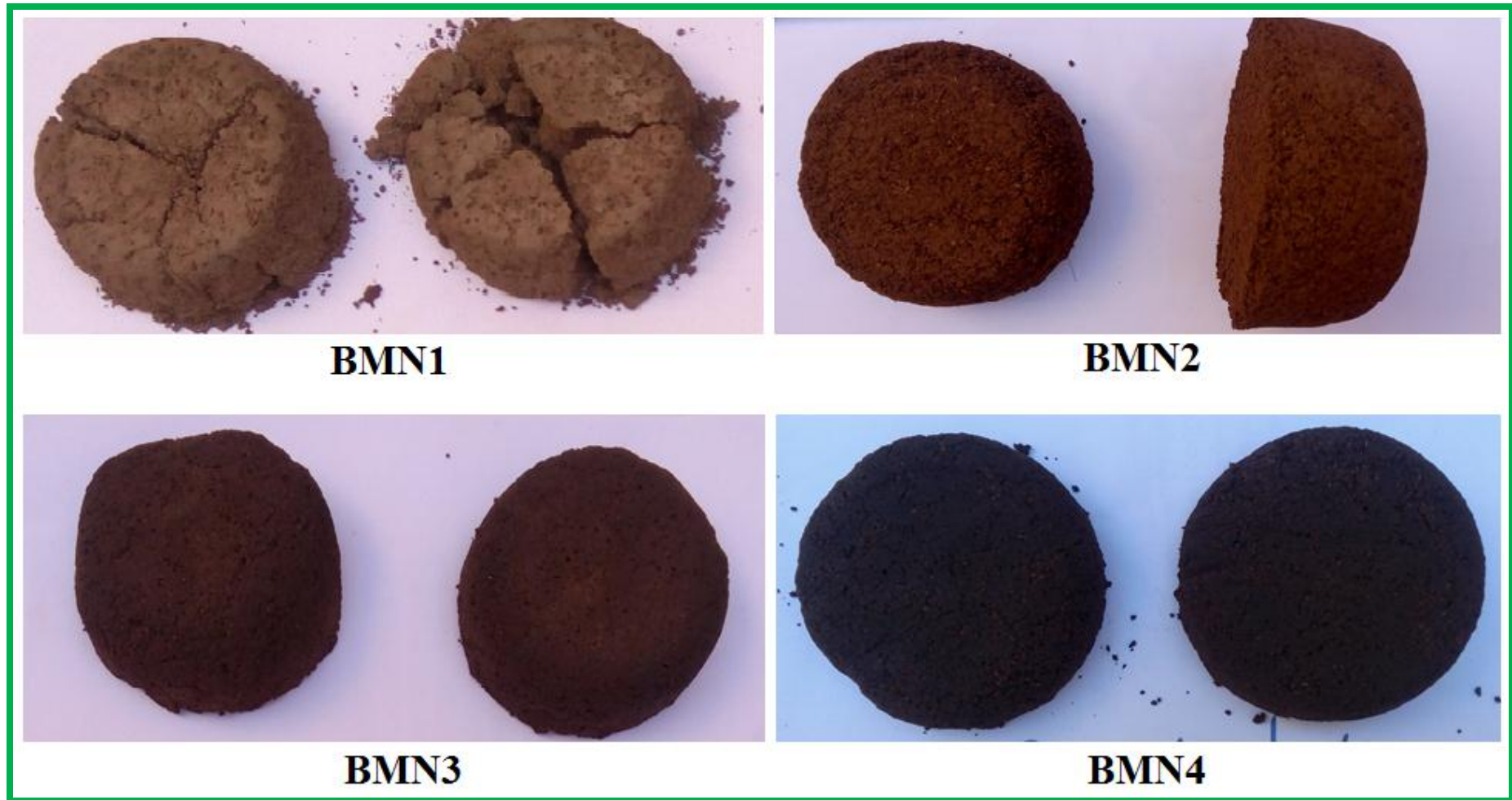
Après un séchage d'une semaine seulement, la dureté des blocs 3 et 4 est très bonne avec une bonne cohésion, Mais le bloc 2 devient dur avec une cohésion moyenne après deux semaines de séchage, puis dur avec une bonne cohésion après trois semaines de séchage. Contrairement au bloc 1, il a une dureté moyenne après un mois de séchage avec un peu de cohésion pendant tous les temps de séchage. Cela est dû au, car les blocs 3 et 4 contiennent de la pâte de margines qui, avec la présence de ciment, aide à fusionner avec d'autres ingrédients, et donc les blocs absorbent l'eau du mélange plus rapidement que les autres blocs. Pour les formules 2, 3 et 4, dans lesquels nous avons remplacé l'eau par margines liquides, le mélange de ciment et de sel avec de les margines a également entraîné des mélanges plus homogènes, avec les effets positifs qui en résultent sur la dureté et la cohésion des blocs.

D'une plus grande importance pratique était l'observation que l'urée était plus complètement dissoute seule ou avec le sel dans les margines que lorsqu'elle était mélangée avec du sel dans l'eau. Une dissolution plus complète de l'urée avant l'incorporation dans les blocs multinulements offrait une plus grande perspective de contrôler l'apport d'urée par les animaux, et ainsi de réduire les risques de toxicité de l'urée (Asaolu, 2012).

Les blocs multi-nutritionnels ont présenté des couleurs a varié de claire à foncée avec l'inclusion des margines. En effet cette modification de couleur, de claire à foncée est liée à la présence des margines a couleur marron foncée sa variation se justifie par l'ajout de niveaux croissants des margines soit liquide ou bien de forme de pate dans les blocs.

Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Chehma et Senoussi (2010) sur les blocs avec inclusion de rebuts de dattes et par Fogang Zogang et *al.* (2012) sur les blocs à base de *Tithonia diversifolia*. Par contre, (Asaolu, (2012) a constaté que les blocs multi-nutriments fabriqués à partir de Moringa ne deviennent dur et compacts qu'après plus de trois semaines au moins.

Et à partir de là, les margines soit en pâte, liquide ou ensemble, ils sont recommandé de l'utiliser dans la fabrication de blocs multi-nutritionnels, car ils améliorent ses propriétés physiques, en augmentant sa dureté et la cohésion de ses composants et en réduisant l'utilisation d'eau, ils sont considérée comme un excellent solvant pour l'urée.



**Figure 34.** Blocs multivitaminés après trois mois de séchage



### 5.2. Evaluation de l'effet de blocs nutritionnels à base de margines sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticale.

#### 5.2.1. Effet de blocs nutritionnels à base de margines sur la production de gaz

Le tableau 18 présente les productions de gaz enregistrées pour les différents mélanges du foin de triticale et des blocs nutritionnels à base de margines étudiés et les constantes cinétiques obtenues par ajustement du modèle exponentiel d'Orskov et Mc Donald.

Après 96 heures de fermentation, la production de gaz *in vitro* est significativement différente entre les différents substrats ( $P < 0,01$ ). L'addition de BMN2, BMN 3 et BMN4 cause une augmentation dans la production de gaz totale de 9.76, 16.0 et 22.2%, respectivement. Contrairement, pour le BMN1 n'a aucun effet sur la production de gaz *in vitro* ( $P > 0.05$ ). Les mélanges de foin et de blocs 3 et 4 génèrent de plus grandes quantités de gaz par rapport aux autres blocs (42.8 et 45.1ml, respectivement), car ces blocs contiennent à la fois les pâtes de margines et les margines liquide. Quant au bloc 2, il produit moins de gaz qu'eux (40,5 ml) car il ne contient que les margines, mais dans les deux cas, les trois blocs (2, 3 et 4) ont provoqué une augmentation de la production totale de gaz de foin. De là, les margines a un effet sur l'augmentation de la production totale de gaz, surtout si elle est ajoutée sous forme de pâte et de liquide en même temps. Plusieurs auteurs ayant travaillé sur le foin de vesce-avoine observent des volumes proches des nôtres : 38.3 ml (Boultifat, 2008), 38.5ml (Rira, 2006), 40.2ml (Guetitcha, 2001) et 45.2ml (Adoui, 2001 et Khenaka, 2011). Ainsi, Goncalves et Borsa (1996), notent une production de gaz de 36.2 ml pour le maïs, tandis que Blummel et Orskov (1993) enregistrent un dégagement gazeux de 38.8 et 39.4 ml/72h après incubation de deux variété d'orge de printemps.

Les valeurs de la production de gaz engendrée par la fraction soluble (A) sont négatives et était statistiquement différentes ( $p < 0.001$ ). Plusieurs auteurs expliquent cette situation par une phase de latence résultant du temps nécessaire à l'adhésion des micro-organismes aux particules alimentaires. Les valeurs négatives de la fraction soluble (A) ont également été rapportées par d'autres auteurs travaillant dans les mêmes conditions (Sandoval et al 2002 ; Arhab et al., 2010). La production de gaz à partir de la fraction soluble (A) diminue significativement avec le BMN3, contrairement au BMN4, elle augmente. Ceci est probablement due à la composition chimique de blocs (grignons d'olive et le noyau de datte) de nature lignocellulosique, donnent la faible production de gaz à partir de la fraction soluble (A). Le tableau 19 montre que la production de



## Résultats et Discussion



gaz par la fraction soluble (A) est significativement fort corrélées négativement à la production de gaz totale après 96h de fermentation :  $r = 0. -982$ ;  $P=0.004$ . Nos résultats sont proches de ceux enregistrés par Arhab et *al.* (2010) : entre -8 à 0.4 ml / 200 mg MS.

**Tableau 18.** Production cumulative de gaz (ml) et les constantes cinétiques modélisées enregistrés pour les différents mélanges du foin de triticales et des blocs nutritionnels.

		Mélanges (80% foin et 20% substrats)				Foin (control)	SEM	Prob.
		BMN 1	BMN 2	BMN 3	BMN 4			
Production cumulative de gaz (ml)	02 h	1.25	1.00	0.88	1.00	1.00	0.029	0.081
	04 h	2.63 <sup>a</sup>	2.00 <sup>ab</sup>	1.63 <sup>b</sup>	2.00 <sup>ab</sup>	2.13 <sup>ab</sup>	0.138	0.026
	06 h	3.38	3.00	2.50	3.00	2.88	0.192	0.138
	08 h	4.75	4.38	3.50	4.12	4.00	0.408	0.132
	24 h	17.4	19.4	19.3	19.1	17.6	1.400	0.073
	48 h	26.0 <sup>b</sup>	29.6 <sup>a</sup>	30.0 <sup>a</sup>	30.8 <sup>a</sup>	26.9 <sup>b</sup>	2.175	0.0012
	72 h	33.9 <sup>b</sup>	35.6 <sup>b</sup>	39.8 <sup>a</sup>	40.9 <sup>a</sup>	34.1 <sup>b</sup>	2.233	0.000
	96 h	37.1 <sup>c</sup>	40.5 <sup>b</sup>	42.8 <sup>ab</sup>	45.1 <sup>a</sup>	36.9 <sup>c</sup>	2.721	0.000

Paramètres cinétiques	A	-1.21 <sup>a</sup>	-2.41 <sup>bc</sup>	-2.86 <sup>c</sup>	-2.28 <sup>bc</sup>	-2.06 <sup>b</sup>	0.111	0.000
	B	44.7 <sup>c</sup>	47.5 <sup>c</sup>	53.7 <sup>b</sup>	58.1 <sup>a</sup>	44.1 <sup>c</sup>	4.764	0.000
	C	0.021 <sup>ab</sup>	0.024 <sup>a</sup>	0.021 <sup>ab</sup>	0.018 <sup>b</sup>	0.023 <sup>a</sup>	0.000	0.006

SEM : Erreur standard des moyennes, Prob : Probabilité, les moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0.05$ ).

Le volume de gaz produit par la fraction insoluble mais potentiellement fermentescible (B) est statistiquement différents ( $p < 0.001$ ). Après 96 h de fermentation, l'inclusion de BMN3 et BMN4 avec du triticales de foin a augmenté la production de gaz de la fraction insoluble (B) de 21,8 et 31,7%, respectivement. En revanche, les mélanges BMN1 et BMN2 n'ont aucun effet sur la production de gaz à partir de la fraction insoluble (B). Cela peut s'expliquer par le fait que les blocs 3 et 4 contiennent des quantités de pâte de margines qui à son tour est riche en composés organiques, notamment phénoliques et en graisses et pauvre en composés lignocellulosiques, qui se caractérisent par leur teneur élevée en lignine qui engendre une faible digestibilité, et donc ils produisent une plus grande quantité de gaz à partir de la fraction insoluble (B).



## Résultats et Discussion



**Tableau 19:** Inter-correlation entre les composés des blocs, la production de gaz totale et les paramètres de la production de gaz in vitro

	MS%	MM%	MO%	PT%	A	B	C
<b>GT, T24</b>	-0,4011 p=0,124	-0,6026 p=0,013	0,5959 p=0,015	0,4266 p=0,099	-0,6636 p=0,005	0,4137 p=0,111	0,4515 p=0,079
<b>GT, T96</b>	-0,6334 p=0,008	-0,5048 p=0,046	0,4674 p=0,068	0,3652 p=0,164	-0,6821 p=0,004	0,9460 p=0,000	-0,3292 p=0,213
<b>CH4, T24</b>	0,2150 p=0,424	-0,1532 p=0,571	0,1854 p=0,492	-0,3072 p=0,247	0,0436 p=0,873	-0,0606 p=0,824	0,3345 p=0,205
<b>CH4, T96</b>	-0,3477 p=0,187	-0,2390 p=0,373	0,2249 p=0,402	0,0082 p=0,976	-0,4364 p=0,091	0,7117 p=0,002	-0,3490 p=0,185
<b>CH4, 24%</b>	0,5764 p=0,019	0,4731 p=0,064	-0,4403 p=0,088	-0,6735 p=0,004	0,6797 p=0,004	-0,4591 p=0,074	-0,1582 p=0,559
<b>CH4, 96%</b>	0,6098 p=0,012	0,5496 p=0,027	-0,5108 p=0,043	-0,5452 p=0,029	0,6158 p=0,011	-0,7085 p=0,002	0,1104 p=0,684
<b>CO2, T24</b>	-0,4989 p=0,049	-0,6027 p=0,013	0,5855 p=0,017	0,5548 p=0,026	-0,7292 p=0,001	0,4648 p=0,070	0,3838 p=0,142
<b>CO2, T96</b>	-0,6469 p=0,007	-0,5232 p=0,038	0,4834 p=0,058	0,3969 p=0,128	-0,6750 p=0,004	0,9336 p=0,000	-0,3162 p=0,233
<b>CO2, 24%</b>	-0,5764 p=0,019	-0,4730 p=0,064	0,4403 p=0,088	0,6725 p=0,004	-0,6794 p=0,004	0,4598 p=0,073	0,1572 p=0,561
<b>CO2, 96%</b>	-0,6054 p=0,013	-0,5380 p=0,032	0,4996 p=0,049	0,4613 p=0,072	-0,5912 p=0,016	0,7564 p=0,001	-0,1842 p=0,495
<b>A</b>	0,7451 p=0,001	0,7213 p=0,002	-0,6955 p=0,003	-0,7934 p=0,000	10,0000 p= ---	-0,5979 p=0,014	-0,0660 p=0,808
<b>B</b>	-0,6266 p=0,009	-0,3404 p=0,197	0,2949 p=0,268	0,3182 p=0,230	-0,5979 p=0,014	10,0000 p= ---	-0,6016 p=0,014
<b>C</b>	0,2219 p=0,409	-0,2744 p=0,304	0,3165 p=0,232	0,1411 p=0,602	-0,0660 p=0,808	-0,6016 p=0,014	10,0000 p= ---
<b>pH, 24h</b>	0,0335 p=0,902	0,5107 p=0,043	-0,5222 p=0,038	0,3587 p=0,172	0,1051 p=0,698	-0,3299 p=0,212	0,0665 p=0,807
<b>pH, 96h</b>	0,1927 p=0,475	0,6453 p=0,007	-0,6649 p=0,005	-0,1621 p=0,549	0,1799 p=0,505	0,0887 p=0,744	-0,3222 p=0,224
<b>Protozoaires</b>	0,7131 p=0,002	0,5939 p=0,015	-0,5567 p=0,025	-0,5761 p=0,020	0,7276 p=0,001	-0,8164 p=0,000	0,3264 p=0,217
<b>CD%</b>	-0,7156 p=0,002	-0,4389 p=0,089	0,3907 p=0,135	0,4851 p=0,057	-0,6320 p=0,009	0,9273 p=0,000	-0,5026 p=0,047
<b>NH3 mg/l</b>	-0,8414 p=0,000	-0,7541 p=0,001	0,7208 p=0,002	0,9179 p=0,000	-0,8442 p=0,000	0,4762 p=0,062	0,0409 p=0,880



Ces résultats rejoignent ceux d'Arhab, (1999) qui enregistre des valeurs de production de gaz à partir la fraction insoluble (B) comprises entre 4.56 et 75.3ml après incubation des sous-produits agroalimentaires, dans les mêmes conditions mais en présence de la microflore ruminale de dromadaires. Tandis que, nos résultats elles sont proches de en enregistrées par Adoui (2001), elles varient de : 47.3 à 61.2. La même situation est notée par Blümmel et Becker (1997), qui en incubant *in vitro* 44 fourrages en présence de la microflore ruminale de bovins, obtient des valeurs de la fraction B comprises entre 33.6 et 74 ml.

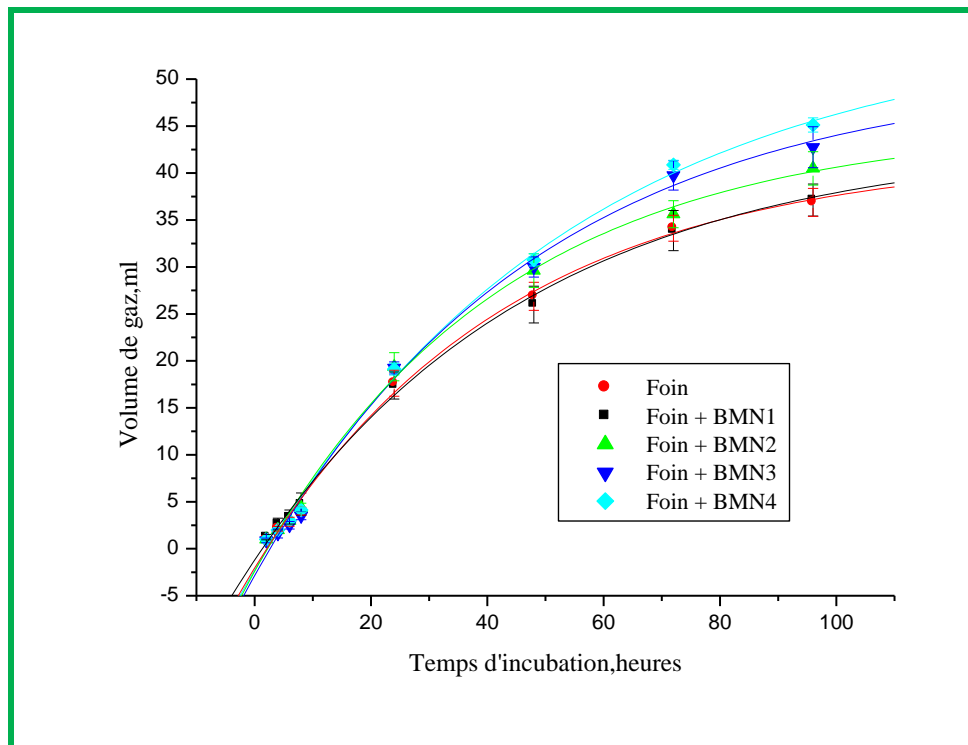
La vitesse de production de gaz (C) est significativement différente ( $p < 0.05$ ) entre le contrôle et le mélanges de foin de triticale avec le BMN4. Elle est plus rapide pour le foin et les mélange de BMN1, 2 et 3, mais elle plus lente pour le mélange de BMN4. Les valeurs sont comprises entre 1.80 et 2.40%/h. Ceci est du probablement à la composition chimique des blocs et le foin, qui est plus riches en fraction insoluble difficilement dégradable. Nos résultats sont corroborés par ceux enregistrés par : Blümmel et Becker (1997), donne des valeurs entre 3.2 et 6.5%/, Nasahlai et Umunna (1996), note des valeurs comprise entre 3.3 et 6.2%/h et Leulmi (2011), entre 3.68 et 6.5%/h.

### **5.2.2. Effet de blocs nutritionnels à base de margines sur la cinétique de production de gaz**

La cinétique de la production de gaz *in vitro* des mélanges de foin de triticale et les différents proportions de margines sont présentées dans la figure 35. Généralement, la cinétique de dégradation est caractérisée par 2 ou 3 phases distinctes : la première phase est dite phase exponentielle ou phase de croissance rapide, elle est caractérisée par une production élevée de gaz, environ 70% du gaz total est produit durant cette période qui dure de 0 à 48 heures pour les différents mélanges. Après 24 heures de fermentation, 50% du gaz total est produit, c'est-à-dire la moitié, et après 48 heures, 70% du gaz total est produit. La deuxième phase se situe entre 48 et 96 heures pour les différents mélanges. Peu de gaz est alors produit et la fermentation diminue jusqu'à se stabiliser totalement par l'épuisement du milieu de fermentation des conditions défavorables engendrées dans le milieu par l'acidité résultant de l'accumulation des acides gras volatils (AGV).

### **5.2.3. Analyse qualitative de gaz**

Les cinétiques de production de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et du méthane (CH<sub>4</sub>) au cours de la fermentation *in vitro* des différents mélanges de foin triticale et des blocs multi-nutritionnels sont illustrées par le tableau 20 et la Figure 36.



**Figure 35.** Cinétique de production de gaz des mélanges du foin de triticale et des blocs multi-nutritionnels

**Tableau 20.** Influence des blocs multi-nutritionnels sur la production de CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub> du foin de triticale.

		Mélanges (80% foin et 20% substrats)				Foin (control)	SEM	Prob.
		BMN 1	BMN 2	BMN 3	BMN 4			
Production de CH <sub>4</sub>	24h, ml	5.88	6.13	5.56	5.88	5.94	0,102	0,224
	24h, %	33.9 <sup>a</sup>	31.6 <sup>ab</sup>	28.9 <sup>b</sup>	30,7 <sup>ab</sup>	33.8 <sup>a</sup>	3.60	0,0087
	96h, ml	13.4	13.7	13.8	14.4	13.1	0,393	0,0886
	96h, %	36.1 <sup>a</sup>	33.8 <sup>bc</sup>	32.3 <sup>c</sup>	31.9 <sup>c</sup>	35.5 <sup>ab</sup>	1.29	0,0000
Production de CO <sub>2</sub>	24h, ml	11.5	13.3	13.7	13.3	11.7	1.098	0,0279
	24h, %	66.1 <sup>b</sup>	68.4 <sup>ab</sup>	71.1 <sup>a</sup>	69.3 <sup>ab</sup>	66.2 <sup>b</sup>	3.614	0,0087
	96h, ml	23.8 <sup>d</sup>	26.8 <sup>c</sup>	28.9 <sup>b</sup>	31.0 <sup>a</sup>	23.8 <sup>d</sup>	1.551	0,0000
	96h, %	63.9 <sup>c</sup>	66.2 <sup>b</sup>	67.7 <sup>ab</sup>	68.7 <sup>a</sup>	64.5 <sup>c</sup>	1.164	0,0000

SEM : Erreur standard des moyennes, Prob : Probabilité, les moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0.05$ ).



**Figure 36:** Cinétiques de production de dioxyde de carbone (A) et du méthane (B) au cours de la fermentation *in vitro* des mélanges du foin de triticale et des blocs multi-nutritionnels

En général, la fermentation des substrats engendre un profil fermentaire orienté principalement vers une production accrue en CO<sub>2</sub>.

Le tableau 20 et la Figure 36 montrent que l'addition des blocs n'ont aucun effet sur la production de CH<sub>4</sub> pendant toutes les heures de fermentation. Mais l'addition des blocs 3 et 4, causent une réduction dans la proportion de production de CH<sub>4</sub> par rapport le gaz totale, les proportions de diminution enregistrés après 24h, sont : 25.5 et 20.9, et après 96h, sont: 9.01 et 10.1%, respectivement.

Le tableau 19 montre que la production de CH<sub>4</sub> est significativement fort corrélées positivement à la production de gaz par la fraction insoluble (B):  $r = 0.712$ ;  $P=0.002$ . La proportion de production de CH<sub>4</sub> après 96% de fermentation est fort corrélées positivement à la production de gaz par la fraction soluble (A), MS et MM de blocs ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0,05$ ), par contre, il est significativement fort corrélés négativement à la production de gaz par la fraction insoluble (B), MO et PT de blocs ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0,05$ ). Ce résultat pourrait expliquée par le fait que les blocs 3 et 4 contiennent des quantités de pates de margines, qui à son tour sont riches en composés phénoliques, en particulier en tanins. Ainsi, il est connu que les bactéries méthanogènes se retrouvent généralement liés intimement aux protozoaires ciliés (Mc Allister et al., 1996; Krumholz et al., 1983; Van nevel, 1991), dont l'élimination par des complexe avec les tanins conduit forcément à une réduction de la méthanogènes de 35 à 45% (Van nevel, 1991; Jouany, 1991; Blummel et Orskov, 1993). Ceci laisse penser que les tanins ont un effet inhibiteur vis à vis des archaebactéries méthanogènes. Cette action peut être soit directe par l'inhibition de la croissance



des archaebactéries méthanogènes ou indirecte soit par réduction de la production de l'hydrogène (Michael et al 2005) ou à l'accumulation des produit de dégradation de certains composés phénoliques qui peuvent être plus toxique que les composés initiaux et inhibe la méthanogènes. Ces constatations sont faites pour le catéchol et le protocatéchuat, composés présents dans les margines, et qui sont pratiquement pas métabolisés dans les conditions d'anaérobiose régnants dans le rumen ou ils constituent de puissants facteurs d'inhibition de la méthanogènes ruminale (Clark et Fina, 1952).

Après 24h de fermentation, l'inclusion des blocs n'ont aucun effet sur la production de CO<sub>2</sub> pendant toutes les heures de fermentation. Par contre les blocs 3 et 4, causent une stimulation dans la proportion de production de CO<sub>2</sub> par rapport le gaz totale de 7.40 et 4.6%, respectivement. Mais après 96h, l'addition des blocs 2, 3 et 4, causent simultanément une augmentation dans la production et la proportion de production de CO<sub>2</sub>. les proportions de l'augmentation sont : pour la production de CO<sub>2</sub> de 12.6, 21.4 et 30.3, et pour la proportion de production de CO<sub>2</sub> de 2.64, 4.19 et 6.51%, respectivement. Ce gaz est produit soit directement de la dégradation des carbohydrates de substrat ingéré et/ou indirectement à partir du système tampon (HCO<sub>3</sub>) lors de la neutralisation des acides gras volatils (AGV) générés (Blummel et al 1997; Cone et Van Gelder, 1999). Ce CO<sub>2</sub> représente environ plus de la moitié du volume total du gaz produit dans le cas de l'utilisation du tampon de Menke (Blummel et al 1997 ; Menke et Steingass, 1988).

Le tableau 19 montre que la production de CO<sub>2</sub> est significativement très fort corrélées positivement à la production de gaz par la fraction insoluble (B):  $r = 0.934$ ;  $P=0.000$ , en revanche, il est significativement fort corrélés négativement à la production de gaz par la fraction soluble (A), MS et MM de blocs ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0,05$ ). Mais la proportion de production de CO<sub>2</sub> après 96% de fermentation est fort corrélées positivement à la production de gaz par la fraction insoluble (B) ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0,05$ ) et corrélées positivement à la MO de blocs ( $0.0 < r < 0.5$ ;  $p < 0,05$ ), par contre, il est significativement fort corrélés négativement à la production de gaz par la fraction soluble (A), MS et MM de blocs ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0,05$ ).

#### 5.2.4. Effet de blocs nutritionnels sur les paramètres fermentaires

Les paramètres fermentaires (pH, ammoniacque et nombre de protozoaires) sont présentés dans le tableau 21.



## Résultats et Discussion

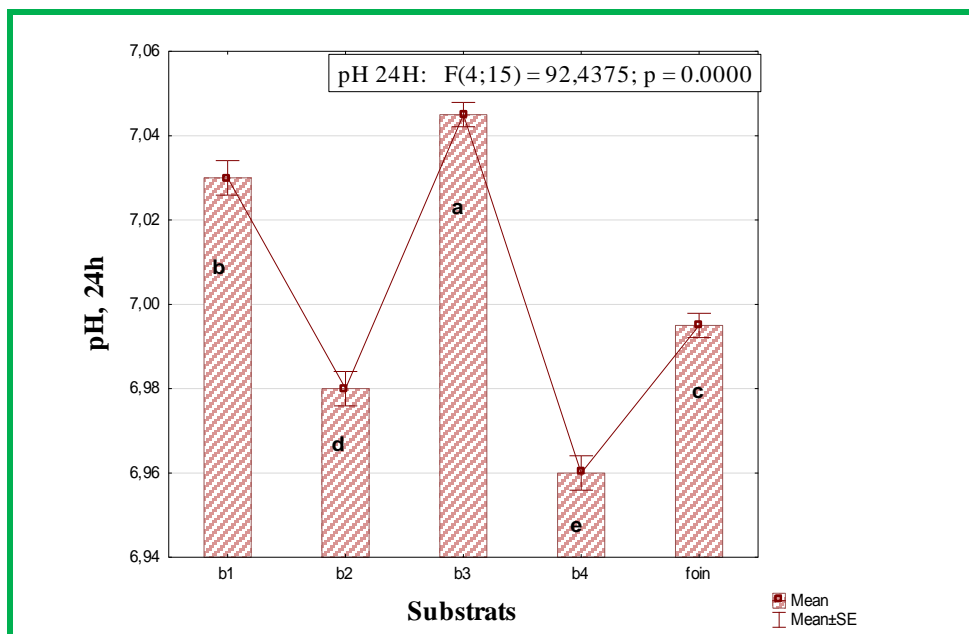


**Tableau 21.** Influence des blocs multinutritionnels sur le facies fermentaire (pH, N-NH<sub>3</sub> et nombre de protozoaires) et la digestibilité apparente du foin de triticale.

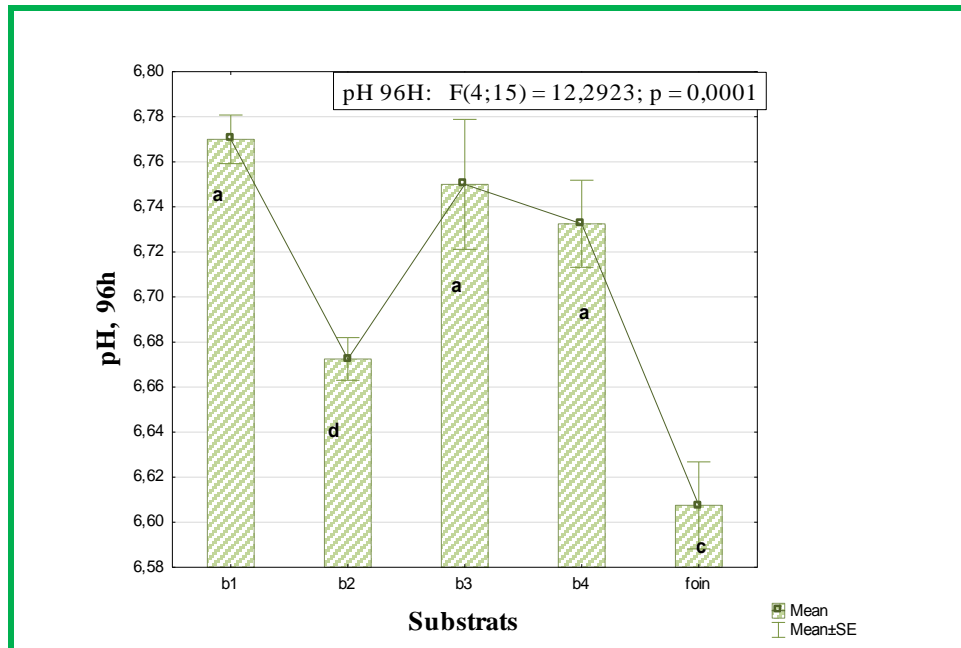
	Mélanges (80% foin et 20% substrats)				Foin (control)	SEM	Prob.
	BMN 1	BMN 2	BMN 3	BMN 4			
ph, 24h	7.03 <sup>b</sup>	6.98 <sup>d</sup>	7.04 <sup>a</sup>	6.96 <sup>e</sup>	7.00 <sup>c</sup>	0,000	0,000
ph, 96h	6.77 <sup>a</sup>	6.67 <sup>b</sup>	6.75 <sup>a</sup>	6.73 <sup>a</sup>	6.61 <sup>c</sup>	0,001	0,000
Nh <sub>3</sub> , mg/ml	8.17 <sup>d</sup>	10,2 <sup>b</sup>	11.2 <sup>a</sup>	9.74 <sup>c</sup>	9.65 <sup>c</sup>	0,0431	0,000
Protozoaires ciliés, x10 <sup>3</sup>	21.5 <sup>a</sup>	18.5 <sup>b</sup>	16.0 <sup>c</sup>	15.5 <sup>c</sup>	18.0 <sup>b</sup>	0,467	0,000
Digestibilité, %	43.1 <sup>d</sup>	50,2 <sup>c</sup>	62.2 <sup>b</sup>	66.6 <sup>a</sup>	43.6 <sup>d</sup>	2.23	0,000

SEM : Erreur standard des moyennes, Prob : Probabilité, les moyennes dans la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0.05$ ).

- ✓ **pH** : l'effet de l'addition des extraits phénoliques des margines sur le pH de milieu de fermentation est mentionné dans le tableau 21 et les figures 37 et 38. Après 24 heures de fermentation, les valeurs de pH sont statistiquement variables ( $p < 0.01$ ), ils sont comprises entre 6.96 et 7.00, le pH reste dans la zone de neutralité. Ceci est dû à l'efficacité de la solution tampon utilisée. (Juil, 1981).



**Figure 37.** Effet des blocs multi-nutritionnels sur le pH, après 24h de fermentation



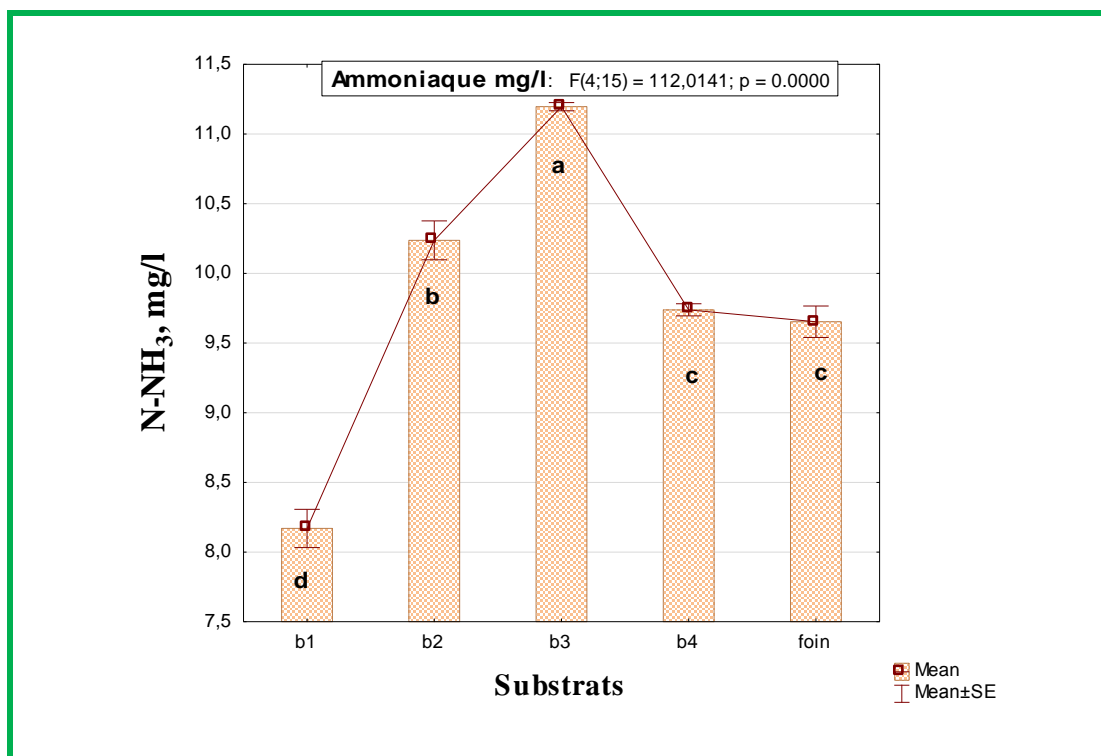
**Figure 38.** Effet des blocs multi-nutritionnels sur le pH, après 96h de fermentation

Après 96h d'incubation, les valeurs de pH sont aussi statistiquement variables ( $p < 0.01$ ), ils sont comprises entre 6.61 et 6.77, La valeur la plus élevée est observée pour le mélange de foin et BMN1 et la plus faible est enregistrée pour le foin. Les quatre blocs utilisés comme additif au foin de triticales causent une augmentation dans le pH ( $p < 0.01$ ). L'acidification du milieu de fermentation est essentiellement due à l'accumulation des acides gras volatiles (AGV) issues de la dégradation du foin de triticales. Les valeurs élevées de pH par rapport au contrôle peuvent être expliquées par la diminution de la fermentation de substrat ce qui signifie la diminution de la production des AGV. Les valeurs en pH enregistrée dans notre étude, est comparable à celle notée dans d'autres travaux qui donnent des valeurs comprises entre 6.64 à 6.69 (Khenaka, 2011) et entre 6.62 à 6.71 (Aggoun, 2016).

- ✓ **Production d'ammoniaque :** la variation de la production d'ammoniaque (N-NH<sub>3</sub>) entre les différents mélanges de foin de triticales et des blocs multi-nutritionnels sont également mentionnée dans le tableau 21 et la figure 39. Ils montrent que l'inclusion des blocs 2 et 3 avec le foin de triticales causent une augmentation dans la production de l'ammoniaque de 5.70 et 16.1%, respectivement. Par contre, le bloc 1 cause une diminution dans la production de l'ammoniaque de 15.3%. Nos résultats sont corroborés par ceux enregistrés par : Leulmi, (2011) : 3.81 à 4.16, donne des valeurs entre 3.81 à 4.16, Aggoun-Arhab, (2016), note des valeurs comprise entre 3.71 et 5.64 et Khenaka, (2011), entre 9.17 à 19.3 mg/l. Le tableau 19 montre que la production d'ammoniaque est significativement très fort corrélées positivement à les PT de blocs:  $r = 0.918$ ;  $P = 0.000$ ,



et il est significativement fort corrélés positivement à la MO de blocs ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0.05$ ). Par contre, il est significativement très fort corrélés négativement à la production de gaz par la fraction soluble (A) et la MS:  $r = -0.844$ ;  $P = 0.000$  et  $r = -0.841$ ;  $P = 0.000$ , respectivement, et fort corrélés négativement à la MM de blocs ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0.05$ ). L'augmentation de la production d'ammoniaque suite à l'addition de blocs 2 et 3 peut être due à la stimulation de la protéolyse ruminale et/ou à la richesse des blocs en matières azotées totales (9.86 et 10.7%, respectivement). En revanche, la diminution observée avec le bloc 4 peut être liée à leur richesse en métabolites secondaires (polyphénols des margines) qui peuvent inhiber les microorganismes grâce à leur activité antimicrobienne, à l'augmentation de la synthèse microbienne ou à leur teneur faible en matières azotées totales (9.77%).

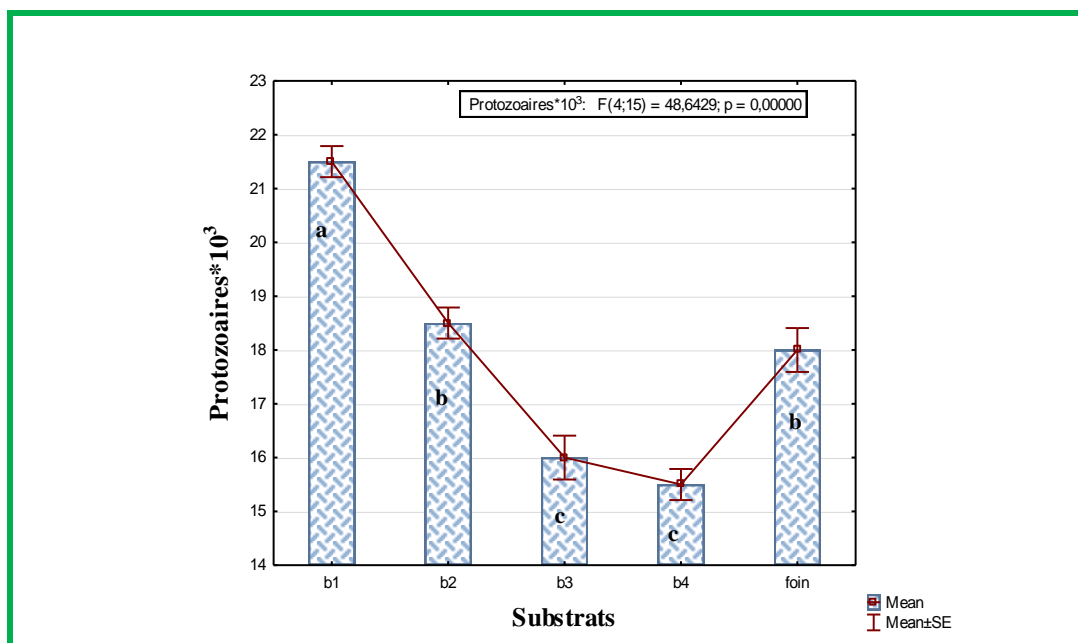


**Figure 39.** Effet des blocs multi-nutritionnels sur la production d'ammoniaque, après 24h de fermentation

- ✓ **Nombre de protozoaires :** les résultats quantitatifs de la faune ruminale enregistrés après 24 h d'incubation des mélanges du foin de triticale et des blocs multi-nutritionnels sont illustrés également dans le tableau 21 et la figure 40. Ils montrent que l'addition de bloc 1 avec le foin de triticale cause une augmentation dans le nombre de protozoaires de 19.4%. Par contre, les blocs 3 et 4 causent une diminution dans le nombre de protozoaires de 11.1 et 13.9%, respectivement. le nombre de protozoaires enregistrée dans notre étude,



est comparable à celle notée dans d'autres travaux qui donnent des valeurs comprises entre 13.9 à 15.9 (Khenaka, 2011) et entre 20.0 à 30.0  $\times 10^3$  cellules/ml (Leulmi, 2011). Le tableau 19 montre que le nombre de protozoaires est significativement très fort corrélées négativement à la production de gaz par la fraction insoluble (B):  $r = -0.816$ ;  $P=0.000$  et fort corrélées négativement à MO et MA de blocs:  $r = -0.557$ ;  $P=0.025$  et  $r = -0.576$ ;  $P=0.001$ , respectivement. En revanche, il est significativement fort corrélés positivement à la production de gaz par la fraction soluble (A), MS et MM de blocs ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0,01$ ). Pour les blocs 3 et 4, selon Getachew et al, (2000) et Kamara et al, (2006), la diminution de nombre des protozoaires est principalement liée à l'effet des tanins des margines sur les protozoaires. Ces molécules peuvent agir soit directement sur la faune ruminale en altérant leur métabolisme ou indirectement par leurs propriétés antiméthanogéniques. En effet, entre 9 et 25% des archaebactéries méthanogènes sont associées aux protozoaires ciliés qui leurs fournissent de l'hydrogène moléculaires ( $H_2$ ) comme substrat énergétique. En vue que le développement des protozoaires en présence du foin de triticale (*Triticum aestivum*) control et le blocs 1, peut être expliqué par une meilleure utilisation digestive des glucides pariétaux (Dönmez et al., 2003).

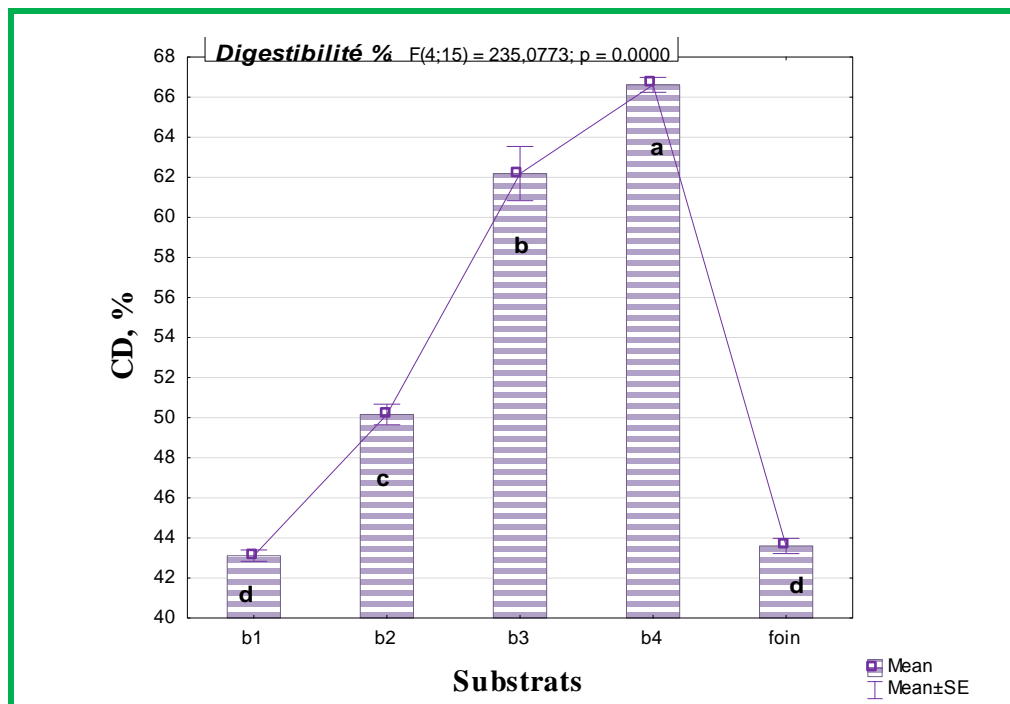


**Figure 40.** Effet des blocs multi-nutritionnels sur le nombre des protozoaires, après 24h de fermentation.

### 5.2.5. Effet de blocs nutritionnels à base de margines sur la digestibilité apparente



La dégradation de la matière sèche des différents mélanges de foin de triticale avec les blocs représentée par les coefficients de digestibilité (CD) est également mentionnée dans le tableau 21 et la figure 41. L'inclusion des blocs 2, 3 et 4 avec le foin de triticale causent une augmentation dans la digestibilité apparente de 15.1, 42.7 et 52.8%, respectivement. Par contre, le bloc 1 n'a aucun effet sur la digestibilité apparente. Le tableau 33 montre que la digestibilité apparente est significativement très fort corrélées positivement à la production de gaz par la fraction insoluble (B):  $r = 0.927$ ;  $P=0.000$ , en revanche, il est significativement fort corrélés négativement à la production de gaz par la fraction soluble (A), la vitesse de dégradation (C) et MS de blocs ( $0.5 < r < 0.8$ ;  $p < 0,05$ ). Ces résultats s'accordent avec les études de Babatoundé et al., (2016) qui ont utilisé 3 blocs multi nutritionnels et 4 des pierres à lécher disponibles au Bénin, enregistrent des valeur entre de 42,6 à 69,8%. Pour le foin, nos résultats sont concordent avec l'étude menée par Arhab (1999) sur la microbrite ruminal de dromadaire enregistre une valeur de 65,1%. Adoui, (2001) de 61.0 à 63.0% et Guetitcha, (2001) de 63.0 à 68.0%. Pour les blocs 3 et 4 l'augmentation peut être due à la diminution de nombre des protozoaires. L'élimination des protozoaires provoque une augmentation du nombre total de bactéries qui s'explique par l'absence de prédation. Cette prédation pouvant être sélective, la défaunation agit non seulement sur le nombre de bactéries, mais aussi sur la composition du mélange bactérien, ainsi, par exemple, la concentration de bactéries amylolytiques augmente. Alors que l'amidon favorise la production de propionate et diminue la méthanogènes (Jouany 1994).



**Figure 41.** Effet des des blocs multi-nutritionnels sur la digestibilité apparente, après 96h de fermentation



**Conclusion**

**générale**



L'industrie d'extraction d'huile d'olive pose de sérieux problèmes environnementaux. Les margines ne subissent aucun traitement et sont souvent déversés dans les égouts d'assainissement, stockés dans des bassins d'évaporation ou épandus directement sur le sol. Il en résulte un impact négatif sur l'environnement qui se traduit par le colmatage des sols, la pollution des eaux superficielles et souterraines et le dégagement d'odeurs nauséabondes. Ces problèmes environnementaux sont attribués à la richesse des effluents en matière organique et en particulier en polyphénols qui sont responsables d'effets phytotoxiques et antimicrobiens. L'objectif assigné à ce travail est de valoriser les margines dans l'alimentation animale afin de réduire les méthanogènes ruminale.

Concernant l'étude des caractères physico-chimiques des margines et l'effet de leurs extraits brut phénoliques sur la réduction de la production du méthane *in vitro*, les résultats obtenus ont montré que les margines, sont des effluents acides à très forte charge saline et organique. L'effet de mode d'extraction sur les majorités des caractères physico-chimiques étudiées est remarquables pour les margines de trois variétés, et la même chose pour l'effet de variété sur les deux systèmes d'extraction. L'influence de deux facteurs : variété d'olive et procédés d'extraction, sont remarquables aussi sur les teneurs en composés phénoliques et sur les majorités des paramètres de l'étude l'impact des extraits phénoliques bruts sur la fermentation ruminale *in vitro*, tel que la production de gaz, les paramètres fermentaires et la digestibilité réelle. L'analyse phytochimique des extraits bruts des margines montre leurs richesse en phénols totaux, en tanins totaux et en tanins condensés. Les différents extraits phénoliques des margines causent une augmentation dans la production de gaz après 96h d'incubation jusqu'à 81.92% pour les extraits phénoliques des margines issue de mode d'extraction discontinus de variété de sigoise. Les polyphénols des margines est significativement corrélée à la production de gaz pour toutes les stades de la fermentation ( $r = 0.86$  T8h,  $0.85$  T24h,  $0.72$  48h et  $0.63$  72h), la même tendance pour les tanins totaux et les tanins condensés, les extraits phénoliques des margines issue de mode d'extraction continus de variété de chemlal cause une réduction significative de la production de méthane ( $\text{CH}_4$ ), pour les extraits phénoliques des margines de variété sigoise de deux modes de trituration exerce une augmentation dans la production d'ammoniaque après 24h d'incubation. Tous les extraits phénoliques des margines diminue le nombre de protozoaires de 18.35 à 31.65%, excepté les extraits phénoliques des margines issue de mode d'extraction continus de variété de chemlal, utilisés comme additif au foin de tritcale exerce une augmentation de 78.35%. Enfin les



extraits phénoliques des margines causent une augmentation significative dans la digestibilité apparente à l'ordre de 5.90 à 17.0%.

Concernant l'étude de l'influence de différents proportions des margines sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticale, les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de la proportion de margine dans le substrat à 10 % (en MS) a augmenté la production de gaz, le pourcentage de méthane dans le gaz et la digestibilité apparente. Ces changements pourraient être dus au substrat supplémentaire fourni par la margine. Toutefois, lorsque la concentration de margine a été augmentée à 20 %, le taux de production de gaz a diminué et a continué de diminuer de façon linéaire, jusqu'à la concentration de margine a été portée à 60 %. Le profil de production d'ammoniac indiquait des valeurs normales jusqu'à ce que la concentration de margine atteigne 20 %, après quoi l'ammoniac n'a pas pu être détecté, ce qui indique une perturbation grave de la fermentation lorsque la margine comprenait plus de 20 % du substrat (en MS). La population de protozoaires ciliés a diminué de façon linéaire avec l'augmentation des concentrations de margines dans le substrat. La proportion des margines dans la quantité quotidienne d'aliments pour ruminants ne doit pas dépasser 20 %.

Enfin l'étude de confection de blocs nutritionnels à base de margines et évaluation leurs caractères physico-chimiques et effet sur la fermentation ruminale *in vitro*, les résultats obtenus ont montré que les quatre blocs sont riches en matière sèche organique, minérale et en matière azotée totale. Après un séchage d'une semaine seulement, la dureté des blocs 3 et 4 est très bonne avec une bonne cohésion, Mais le bloc 2 devient dur avec une cohésion moyenne après deux semaines de séchage, puis dur avec une bonne cohésion après trois semaines de séchage. Contrairement au bloc 1, il a une dureté moyenne après un mois de séchage avec un peu de cohésion pendant tous les temps de séchage. Cela est dû au, car les blocs 3 et 4 contiennent de la pâte de margines. Pour les formules 2, 3 et 4, dans lesquels nous avons remplacé l'eau par margines liquides, le mélange de ciment et de sel avec de les margines a également entraîné des mélanges plus homogènes, avec les effets positifs qui en résultent sur la dureté et la cohésion des blocs. Après 96 heures de fermentation des mélanges des blocs avec le foin, l'addition de BMN2, BMN 3 et BMN4 causent une augmentation dans la production de gaz totale de 9.76, 16.0 et 22.2%, respectivement. L'étude statistique montre que la production de gaz totale est significativement fort corrélées négativement à la production de gaz par la fraction soluble (A) ( $r = 0.982$ ;  $P=0.00$ ) et aussi est significativement très fort corrélées positivement à la production de gaz par la fraction insoluble (B) ( $r = 0.946$ ;  $P=0.000$ ). L'inclusion des blocs 2, 3 et 4 avec le foin de triticale



causent une augmentation dans la digestibilité apparente de 15.1, 42.7 et 52.8%, respectivement. Après 96 heures, l'inclusion des blocs 2 et 3 avec le foin de triticale causent une augmentation dans la production de l'ammoniaque de 5.70 et 16.1%, respectivement. Par contre, le bloc 1 cause une diminution dans la production de l'ammoniaque de 15.3%. Et aussi les blocs 3 et 4 causent une diminution dans le nombre de protozoaires de 11.1 et 13.9%, respectivement. Pour la production des méthanes l'addition des blocs n'ont aucun effet sur la production de CH<sub>4</sub> pendant toutes les heures de fermentation. Mais l'addition des blocs 3 et 4, causent une réduction dans la proportion de production de CH<sub>4</sub> par rapport le gaz totale, les proportions de diminution enregistrés après 24h, sont : 25.5 et 20.9, et après 96h, sont: 9.01 et 10.1%, respectivement. Et à partir de là, les margines soit en pâte, liquide ou ensemble, ils sont recommandé de l'utiliser dans la fabrication de blocs multi-nutritionnels, car ils améliorent ses propriétés physiques, en augmentant sa dureté et la cohésion de ses composants et en réduisant l'utilisation d'eau, ils sont considérée comme un excellent solvant pour l'urée, et aussi la possibilité d'usage des margines et leurs composées phénoliques comme additifs alimentaires pour la réduction de la méthanogènes ruminale. Il reste cependant, nécessaire de définir la nature chimique des composées phénoliques présentes dans chaque extrait, de conduire un complément d'étude pour déterminer leur devenir métabolique dans le rumen, et de définir leurs activités sur les principales enzymes cellulolytiques et la composition quantitative de principales composantes microbiennes du rumen. Et confection de blocs nutritionnels à base de margines avec d'autres sous produits agroalimentaires, dont l'essai sera porté sur des ovins en cage métabolique (essai en collaboration avec une ferme pilote).



**Références**

**bibliographiques**

**Abdessemed S, Abdessemed A, Boudchicha RH et Benbouza H.,2018:** Caractérisation et identification de quelques écotypes d'olivier *Olea europaea* en Algérie . Biannual journal, edited by Ferhat ABBAS University, Sétif1. Agriculture Journal 8(2) : 26-43 <https://revue-agro.univ-setif.dz/documents-agri/Volume8-n2/Abdessemed-et-al.pdf>

**Abdou Razak Bawa, (2015).** Photo : Production de blocs multi-nutritionnels densifiés au niveau de l'unité de MAITSAKONI Village de MAITSAKONI, Département de Mayahi, Région de Maradi, République du Niger.14/04/2015,consulté le 29/05/2020. [https://qcat.wocat.net/fr/wocat/technologies/view/technologies\\_700/](https://qcat.wocat.net/fr/wocat/technologies/view/technologies_700/)

**Abichou M., Gargouri K., Rhouma A. & Khatteli H. (2013).** Long term effect of Olive Mill Waste Water spreading on microbial population and the natural floristic composition of a sandy soil. *Agricultural Science, Engineering and Technology Research*, 1(2), 16 -25.

**Achak A., Ouazzani N., Yaacoubi A. et Mandi L. (2008).** Caractérisation des margines issues d'une huilerie moderne et essai de leur traitement par coagulation-floculation par la chaux et le sulfate d'aluminium. *Eau*, 21 :53-57.

**Achak M., Ouazzani N., et Mandi L. (2009).** Traitement des margines d'une huilerie moderne par infiltration-percolation sur un filtre à sable. *Revue des sciences de l'eau. Journal of Water Science*, 22 (3): 421-433

**Adhoum , N. , Monser , L. , (2004).** Decolourization and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by electrocoagulation . *Chem. Eng. Process.* 43 , 1281 – 1287.

**Adoui M. (2001).** Etude de la digestibilité de résidus agroalimentaires par la microflore ruminale d'ovins. Thèse de magistère. ISN. Université de Constantine, 68p.

**Aggoun-Arhab M., (2016)** Caractérisation de la composition en micro constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri. Constantine. p144

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

**Allouche N., Feki I. et Sayadi S. (2004).** Toward a high yield recovery of antioxidants and purified hydroxytyrosol from olive mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 267-273.

**Andrighetto I., Grubber L., Cozzi G., Uray G., Giidetti G., Buchgraber K. 1992** Prediction of digestible organic matter in dry matter in vivo from the chemical composition, in vitro and in situ measurements on native mountain forage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 39, 323-333

**Anil K. P., Rameshwar S., Devki K. (2015).** Rumen Microbiology-From Evolution to Revolution-.Springer India. 379 p. ISBN 978-81-322-2401-3

**AOAC, 1990.** In : S. William (Ed.), Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemist International, 15th AOAC International, *Arlington, Virginia, (USA)*.

**Aouadi A. 2012** Impact du contenu phenolique extrait de margine issues de deux modes de trituration sur la methanogeneses ruminales d'ovins *in vitro*. Thèse de magistère. Université de Tebessa.92p

**Arhab R.(1999).** Etude de la digestibilité in vitro de sous-produits agroalimentaires et de la cellulose purifiés par la microflore rumianl de camélidies. Utilisation des gaz fermentaires comme marqueurs de fermentation. Thèse de magistère. ISN. Université de Constantine. 93p.

**Arhab R., Laadjimi K., Driss D., Djabri B. et Bousseboua H., (2010).** Evaluation of feed mixture interactions by using in vitro gas production method. *Livestock Research for Rural Development*. 22 (11) 2010, <http://www.lrrd.org/lrrd22/11/arha22217.htm>

**Babatoundé S., Houndonougbo M. F., Aboh A. B., Bahini M. J. D., Montcho M., Guédou A., Chrysostome A. A. M. C. et Mensah G.A. (2016).** Valeur nutritive des blocs multi nutritionnels et des pierres à lécher disponibles chez les éleveurs formés par le PPAAO au Bénin. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB)* 79 (06) 2016 : 35-42. [http://www.slire.net/download/2366/article\\_4\\_complet\\_brab\\_79\\_juin\\_2016\\_babatound\\_et\\_al\\_valeur\\_nutritive-bmn.pdf](http://www.slire.net/download/2366/article_4_complet_brab_79_juin_2016_babatound_et_al_valeur_nutritive-bmn.pdf)

**Beames, R.M. (1963).** Provision of urea to cattle in a salt/urea/molasses block. *Queensland Journal of Agricultural Science*, 20: 213–230.

**Ben Rouina B., Gargouri K., Abichou M, Rhouma A., Magdich S. et Jilani S., (2014).** L'épandage des margines sur les terres agricoles : résultats et gestion pratique. 7<sup>èmes</sup> Journées Méditerranéennes de l'Olivier. Meknès, Maroc. P37. [http://avfa.agrinet.tn/upload/supports\\_ar/nathr.pdf](http://avfa.agrinet.tn/upload/supports_ar/nathr.pdf)

**Ben Salem H., Abdouli H., Nefzaoui A., El-Mastouri A., Ben Salem L., (2005).** Nutritive value, behaviour, and growth of Barbarine lambs fed on oldman saltbush (*Atriplex nummularia* L.) and supplemented or not with barley grains or spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* f. *inermis*) pads. *Small Rumin. Res.*, 59 (2-3): 229-237.

**Benguegua S., (2006).** Utilisation de blocs multi nutritionnels en alimentation des ovins et des caprins. *Mém. Ing. ITAS. Université Ouargla*. 85p.

**Benhayoun G. et Lazzeri Y. (2007).** L'olivier en Méditerranée : du symbole à l'économie. Editions L'Harmattan. Paris, - p137. PP17.

**Benyahia N., Zein K. (2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. Contribution spéciale de Sustainable Business Associates (Suisse) à SESEC II, pp 2-7.

**Birbe, B., Chacón, E., Taylhardat, L., Garmendia, J. & Mata, D.( 1994).** Aspectos físicos de importancia en la fabricación y utilización de bloques multinutricionales. pp.1–14, ***In***: A.

Cardozo & B. Birbe (eds). I Conferencia Internacional Bloques Multinutricionales. Guanare, Venezuela, 29–31 July 1994.

**Blake, D. R., et F. S. Rowland (1988)**, Continuing world-wide increase in tropospheric methane, 1978 – 1987, *Science*, 239, 1129 – 1131.

**Blümmel M. et Becker K. (1997)**. The degradability of fifty four roughages and neutral detergent fibre as described by gas production and their relationship to voluntary feed intake. *British J. Nutri.* 77, 757-768

**Blummel M. et Orskov E.R. (1993)**. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 40, 109-119.

**Boudhrioua N., Bahloul N., Ben slimen I. et Kechaou N. (2008)**. Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and products*, 1-8.

**Boultifat L (2008)**. Evaluation de la contribution spécifique des fractions soluble et insoluble de sous- produits de l'agronomie saharienne à la méthanogénèse ruminale d'ovins. Thèse Magister. Université de Constantine. 87p.

**Brozzoli V., Crognale S., Sampedro I., Federici F., D'Annibale A. & Petruccioli M. (2009)**. Assessment of olive-mill wastewater as a growth medium for lipase production by *Candida cylindracea* in bench-top reactor. *Bioresource Technology*, 100, 3395–3402.

**Capasso R. 1997** The chemistry, biotechnology and ecotoxicology of the polyphenols naturally occurring in vegetable wastes. *Current Tropical Phytochemistry., Resertrsh Trends*, 1 :145-156

**Chabaca R., Hadjsmail B., Larwence A., (2010)**. Blocs multinutritionnels à base de rebuts de dattes pour ovins dans les zones arides. *Sécheresse*, 21(4): 271-277. <https://pdfs.semanticscholar.org/76b1/f8da0055fff3b6151c1e77bba22234d75704.pdf>

**Chaney A. L., Marbach E.P. (1962)**. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*. 8:130–132. <http://webpages.icav.up.pt/ptdc/CVT/098487/2008/Chaney,%201962.pdf>

**Charis Michel Galanakis, (2017)**. Olive mill waste, recent advances for the sustainable management-Academic Press. 300p

**Chehma A. et Senoussi A., (2010)**. Fabrication de blocs multi nutritionnels (BMN) à base de sous produits de palmier dattier et d'urée. *Livestock Research for Rural Development*. 22 (4) 2010 <http://www.lrrd.org/lrrd22/4/cheh22073.htm>

**Chenost, Kayouli., (1997)**. Utilisation des fourrages grossiers en régions chaudes. In : Etude FAO Production et Santé Animales. Ed FAO (Rome): 135.

**Chouchene A., (2010).** Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique Alimentation et Nutrition. Université de Haute Alsace - Mulhouse, Français <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00703759/document>

**Clark, F. M., et L. R. Fina. (1952).** The anaerobic decomposition of benzoic acid during methane fermentation. *Arch. Biochem.* 36:26-32.

**Codounis, M., Katsaboxakis, K., & Papanicolaou, D. (1983).** Progress in the extraction and purification of anthocyanin pigment from the effluents of olive-oil extracting plants. *Lebensm Wissensch Technol*, 7, 567–572.

**COI :** Conseil Oléicole International. <http://www.internationaloliveoil.org>

**Cone J.W. et Van Gelder A.H.(1999).** Influence of protein fermentation on gas production profiles. *Anim. Feed Sci. and Tec.* 76: 251-264.

**Crapelet C. Duplan J. M., Thibier M., (1974).** Physiologie animale : la digestion chez les ruminants. INA.Paris –Grgnon., 3-7 :10-18,24-28.

**Dave Reay, Pete Smith and Andre van Amstel (2010).** Methane and Climate Change. Earthscan Ltd, London.261p

**Dave, A.S. & Choudhary, K.M. (1986).** Observations in villages on animal lick feeding. Mehsana District Co-operative Milk Producers' Union Ltd., Mehsana. Cited in Kunju, 1986b, q.v.

**De Leonardis A., Aretini A., Alfano G., Macciola V. & Ranalli G. (2008).** Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea Europaea L.*) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food Research and Technology*, 266, 653-659.

**De Marco E., Savarese M., Paduano A., Sacchi R. 2007.** Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil. *Food chemistry*, 104 : 858-867

**DellaGreca, M., Monaco, P., Pinto, G., Pollio, A., Previtiera, L., & Temussi, F. (2001).** Phytotoxicity of low-molecularweight phenols from olive mill wastewaters. *Bull Envir Contam Toxicol*, 67, 352–359.

**Dorchies P, Lahitte J D, Alzieu J P, Pothier F and De Lahitte J (1996).** Trial of albendazole-supplemented feed blocks against helminthoses of sheep. *Revue de Médecine Vétérinaire* 137 (5), 321-329.

**Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956)** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Animal Chemistry*, 28: 350-356

**El Alami B. (2000).** Contribution à l'étude de l'activité anti-oxydante de la fraction phénolique des margines. Mémoire de 3ème cycle, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc. 93 p.

**El hajjouji H. (2007).** Evolution des caractéristiques physico-chimiques, spectroscopiques et écotoxicologiques des effluents d'huileries d'olive au cours de traitements biologique et chimique. Thèse doctorat. Université de Marakech.147p

**Ercoli E., Ertola R. (1983).** SCP production from olive black water. *Biotechnol. Lett.*7: 457-462.

**Eroglu E., Eroglu I, Gündüz U. et Yücel M. 2009** treatment of olive mill waste water by different physicochemical methods and the utilization of their liquid effluents for biological hydrogen production. *Biomass bioenergy*, 334, 701-5

**Evagelia, T., Harris, N. L., & Konstantinos, B. P. (2006).** Olive mill wastewater treatment. In: **Zeev W., (2009)** - Desert Olive Oil Cultivation. Advanced Biotechnologies- Academic Press is an imprint of Elsevier. First edition. 398p

**FAO/IAEA, (2000).** Quantification of tannins in tree foliage. A Laboratory Manual <http://www.iaea.org/programmes/nafa/d3/index.html>.

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

**Fedila O., Tibarious S., 2016** Valorisation des margines par épandage agricole. Master Environnement et Santé Publique. Université de Béjaia. p 43.

**Fernandez Diaz M.J. (1983).** Olives. In Rehm HJ, Reed G (eds) *Biotechnology*, Verlag Chemie, Weinheim, 5, 379-397.

**Fiestas Ros de Ursenos J.A. (1981).** Différentes utilisations des margines : Actes séminaire international sur la valorisation des sous-produits de l'olivier. FAO-UNDP. Tunisie, pp 93-110.

**Fievez V., Babayemi O.J., Demeyer D., (2005).** Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. *Anim. Feed. Sci. Tech*, 123(1):197-210.

**Filidei S., Masciandaro G., Ceccanti B., (2003).** Anaerobic digestion of olive oil mill effluents: evaluation of wastewater organic load and phytotoxicity reduction. *Water, Air and Soil Pollution*, 145 : 79–94.

**Fiorentino, A., Gentili, A., Isidori, M., Lavorgna, M., Parrella, A., & Temussi, F. (2004).** Olive oil mill wastewater treatment using a chemical and biological approach. *J Agric Food Chem*, 51, 5151.

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

**Fogang Zogang B, Benoît Boukila, Camara Sawa, Fernand Tendonkeng, Zougou Tovignon G. et Etienne T. P. (2012).**Caractéristiques physiques et appétibilité des blocs

multinutritionnels à base de *Tithonia diversifolia* associés à la paille de *Brachiaria ruziziensis* chez la brebis Djallonké. *Livestock Research for Rural Development* 24 (3) 2012. <http://www.lrrd.org/lrrd24/3/foga24041.htm>.

**Fonty G. et Forano E. (1999).** Ecologie de la dégradation et de la fermentation des polyosides constitutifs des parois végétales dans le rumen. *Cahier Agriculture*. 8 (1): 21-35.

**Fonty G., Joblin K.N. (1991).** Rumen anaerobic fungi: their role and interactions with other microorganisms in relation to fiber digestion. In: *Physiological aspect of digestion and metabolism in ruminants. Proceeding of the Seventh International Symposium on Ruminants Physiology*. Academic Press, San Diego, California. p 655-680.

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

**Garg M. R., Sanyal P.K. et Bhanderi B.M.(2007).** Urea-molasses mineral block supplementation in the ration of dairy animals – Indian experiences. . *In* (Editors: Makkar, H. P. S., Sanchez, M. and Speedy, A. W.) *Feed Supplementation Blocks. Urea-molasses multinutrient blocks: simple and effective feed supplement technology for ruminant agriculture*. FAO Animal Production and Health Paper 164, pp 35-57 <http://www.fao.org/3/a0242e/a0242e00.pdf>

**Garg, M.R., Tripathi, A.K. & Kunju, P.J.G. (1990).** Effect of supplementing urea molasses mineral block lick to untreated or ammonia treated paddy straw on economics of weight gain and age at maturity in buffalo calves. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 7: 55.

**George Kunju, PJ (1986).** La mélasse d'urée bloque le léchage, un complément alimentaire pour les ruminants. Document présenté à l'Atelier international sur la paille de riz et les aliments connexes dans les rations de ruminants, Kandy, Sri Lanka, 24-28 mars, pp 27.

**Getachew G., Makkar H.P.S. and Becker K. (2000).** Tannins in tropical browses: Effects on *in vitro* microbial fermentation and microbial protein synthesis in media containing different amounts of nitrogen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 : 3581-3588.

**Gnanda I.B, (2008).** Importance socio-économique de la chèvre du Sahel burkinabé et amélioration de sa productivité par l'alimentation. Thèse de doctorat, IDRIUPB, Burkina Faso, 189 p.

**Gnanda I.B, Bougouma-Yaméogo VMC, N'diaye W, Ouedraogo T, Kaboré A, Lodoun B, Sinon B. (2015).** L'embouche bovine dans les élevages du Plateau Central du Burkina Faso : Résultats économiques d'une démarche de validation d'un référentiel technicoéconomique sur la spéculation. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9(6): 2648-2662.

**Goncalves L.M.B.O. et Borsa E.S. (1996).** Study of gas production capacity by three sources of inocula. *J. Agric. Sci. Camb.* 127:511-515.

**Gortzi O., Lalas S, Chinou I et Tsaknis J (2008).** Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *Eur Food Res Technol*, 226 : 583-90.

**Guétitcha H, 2001** Étude de la fermentescibilité in vitro de sous-produits agro-industriels par la microflore rumianle de caprins. Thèse de magistère. ISN. Université de Constantine, 88p

**Gulsen N., Coskun B., Umucahlar H.D., Dural H. (2004).** Prediction of nutritive value of native forage, *Prangos uechritzii*, using of in situ and in vitro measurements. *J. Arid Environments*. 56, 167-179.

**Gupta, B.N. et Malik, N.S. (1991).** Preliminary studies of a new block lick of *Subabul* leaves. *Indian Journal of Animal Science*, 61: 113.

**Hamada T (1989)** A new supplementary molasses block feed for the ruminant to improve the production efficiency under poor feeding condition. *Japan Agricultural Research Quarterly* 23 (1), 59-64.

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

**Hamdi M. (1993).** Future prospects and constraints of alive mill waste waters use and treatment : A. Review. *Bioprocess Engineering*. 8: 209-214.

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

**Hamdi, M., Khadir, A., et Garcia, J.L. (1991)** The use of *Aspergillus niger* for the bioconversion of olive mill waste-waters. *Appl Microbiol Biotechnol* 34, 828–831  
[https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/pleins\\_textes\\_5/b\\_fdi\\_31-32/34643.pdf](https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_5/b_fdi_31-32/34643.pdf)

**Hassoun P., BA A A., (1990).** Mise au point d'une technique de fabrication de blocs multonutritionnels sans mélasse. *Livestock Research for Rural Development* 2, (2)  
<https://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd2/2/hassoun.htm>

**Herrera P, Birbe B, Dominguez C et Martinez N (2007).** Experiences with multinutrient blocks in Venezuelan tropics. *In* (Editors: Makkar, H. P. S., Sanchez, M. and Speedy, A. W.) *Feed Supplementation Blocks. Urea-molasses multinutrient blocks: simple and effective feed supplement technology for ruminant agriculture.* FAO Animal Production and Health Paper 164, pp 149-160 <http://www.fao.org/3/a0242e/a0242e00.pdf>

**Homari A., Elbouardi A. et Ajzoul T. (2013).** Traitement et valorisation des margines. 16<sup>èmes</sup> Journées Internationales de Thermique (JITH 2013) Marrakech (Maroc), du 13 au 15 Novembre, 2013.

**Innocenzo M., (2012)** - Olive Germplasm – The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy. InTech.First published. Printed in Croatia. 372p

**ITAFV, (2008).** Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne. <http://www.itafv.dz/>

**James B Russell (2002).** Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition-self-publ..120p..

**Jouany J.P., (1994).** Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. INRA Prod. Anim. 7 (3) : 207-225

**Jouany J.P., (1991).** Defaunation of the rumen. In : Rumen Microbial metabolism and ruminant digestion. (ed J.P. Jouany).pp:239-261.

**Jouany J.P., Thivend P., (2008).** La production de méthane d'origine digestive chez les ruminants et son impact sur le réchauffement climatique, Manag. Av., 20, 259-274.

**Juul N. (1981).** In vitro feed test for evaluation of energetic and productive energy resources for cattle feeding. Tropical Animals Production, 6: 287-299- 49.

**Kamara D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C., (2006).** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series.* 1293 : 156–163.

**Kapellakis, I.E. , Tsagarakis, K.P. , Crowther , J.C. , (2008) .** Olive oil history, production and by-product management . Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 7 , 1 – 26 .

**Khenaka K.,(2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de magistère. ISN. Université de Constantine0, 81p.

**Klieve AV, Heck GL, Prance MA (1999).** Genetic homogeneity and phage susceptibility of ruminal strains of *Streptococcus bovis* isolated in Australia. Lett Appl Microbiol 29:108–112.

**Krumholz L.R., Forsberg C.W., Veira D.M. (1983).** Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. Can. J. Microb. 29: 676-680.

**Kunju P J G 1986** Urea molasses block: A future animal feed supplement. Asian Livestock II, FAO Regional Office, Bangkok, Thailand pp 53-159.

**Lagoudianaki, E., Manios, T., Geniatakis, M., Frantzeskaki, N., Manios, V., (2003).** Odor control in evaporation ponds treating olive mill wastewater through the use of Ca(OH)(2). J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng. 38 (11), 2537–2547.

**Leulmi N, (2011).** La valorisation nutritionnelle des margines et de leur impact sur la réduction de la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de magistère. ISN. Université de Constantine, 101 <https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/LEU5874.pdf>

**Lodemann U, H Martens. (2006).** Effects of diet and osmotic pressure on Na<sup>+</sup> transport and tissue conductance of sheep isolated rumen epithelium. *Exp Physiol* 91, 539-550.

**Loulan P.Y., Thelier Y. (1987).** Procédé et dispositif de traitement par fermentation méthanique des eaux résiduaires lipidiques, Brevet français, 2620439.

**Loussert R. et Brousse G. (1978).** L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne. Paris: Maisonneuve et Larousse, 128p.

**MADRP, (2020).** <http://madrp.gov.dz/agriculture/statistiques-agricoles/#>. consulter le 14-04-2020.

**Makkar, H.P. S., (2007).** Feed Supplementation Blocks: Urea-Molasses Multinutrient Blocks ; Simple and Effective Feed Supplement Technology for Ruminant Agriculture. FAO Animal Production and Health Paper 164. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/3/a0242e/a0242e00.pdf>

**Makkar H.P.S., Blümmel M., Borowy N.K. and Becker K. (1993).** Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal Science Food Agricultur.* 61 : 161–165

**Manget Ram et Gupta, B.N. (1988).** Bacterial and total volatile fatty acids production rates in crossbred calves fed on various hay diets. *Journal of Nuclear Agriculture and Biology*, 17: 100.

**Manget Ram. (1989).** Effect of supplementing straw-based diet with urea-molasses mineral block licks on rumen fermentation pattern, nutrient utilization and growth in crossbred cattle. Ph.D. Thesis, Kurukshetra University, Kurukshetra, India.

**Mario, B., Lolita, L., Nicola, D., Lucia, T., Claudia, B., & Giancarlo, R. (2004).** Improved combined chemical and biological treatments of olive oil mill wastewaters. *J Agric Food Chem*, 52, 1228–1233.

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

**Martin C., Morgavi D., Doreau M., Jouany J.P. (2006).** Comment réduire la production de méthane chez les ruminants ?. *Fourrages*. 187: 283-300.

**Mbourmad S. (2011)** extraction des polyphénols à partir des margines et valorisation en tant qu'antioxydant naturel dans les huiles végétales. Thèse de magistère. Ecole nationale supérieure agronomique el harrach-alger, 160p.

**Mc Allister T.A., Okine E. K., Mathison G. W., Cheng K.-J., (1996).** Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*. 76 (2):231-243.

**Meffeja F, Njifutié N, Manjeli Y, Tchoumboué J, Tchakounté J. (2007).** Digestibilité comparée des rations contenant de la drêche ensilée des brasseries, du tourteau de palmiste ou

des coques de cacao chez le porc en croissance finition au Cameroun. *Livest. Res. Rur. Dev.*, 19(5).

**Menke K.H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Friz D., Schneider W. (1979)** The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J. Agri. Sci. Casab.*92: 217-222.

**Menke K.H., Steingass H. (1988).** Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid, *Anim. Res. Dev.*28: 7-55.

**Michael H. T., Lucy P. M., David P., Nicola W., Graeme T.A., Subathira S. (2005)** Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology.* 123–124, 403–419

**Miranda, M.A., Galindo, F., Amat, A.M., Arques, A., (2001).** Pyrylium salt photosensitised degradation of phenolic contaminants present in olive oil wastewaters with solar light: Part II. Benzoic acid derivatives . *Appl. Catal. B-Environ.* 30 : 437 – 444 .

**Mitsumori M, Minato H (1997).** Cellulose-binding proteins from rumen microorganisms. In: Onodera R, Itabashi H, Ushida K, Yano H, Sasaki Y (eds) *Rumen microbes and digestive physiology in ruminants.* Japan Scientific Societies Press/S. Karger, Tokyo/ Basel, pp 35–45.

**Mohini, M. (1991).** Effect of urea molasses mineral block supplementation to straw based diets on fibre degradability, rumen fermentation pattern and nutrient utilization and growth in buffalo calves. Ph.D. Thesis, National Dairy Research Institute, Karnal, India.

**Montcho M., Babatounde S., Aboh A.B., Bahini M.J.D., Chrysostome C.A.A.M. et Mensah G.A.(2016).** Caractéristiques physiques et nutritionnelles des blocs multi nutritionnels fabriqués à partir des sous-produits agricoles et agroindustriels du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10 (6): 2485-2496.  
<https://www.ajol.info/index.php/ijbcs/article/view/155269>

**Morillo J. A., Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sánchez M., Ramos-Cormenzana A., Russell N. J. (2009).** Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology Biotechnology.* 82 : 25–39.

**Morisot A. et Tournier, J.P. (1986).** Répercussions agronomiques de l'épandage d'effluents et de déchets de moulins à huile d'olive. *Agronomie* 6: 235-241.

**Moss A.R. (1994).** Methane production by ruminants-Literature review of I Dietary manipulation to reduce methane production and II Laboratory procedures for estimating methane potential of diet. *Nutr. Abstr. Rev. Ser. B*64. 786-806.

**Moss A.R. (1995).** Contribution du méthane à l'effet de serre. Pew Center on Global Climate Change, Virginia, USA.

- Moss A.R., Jouany J.P., et Newbold J. (2000).** Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* 49: 231-253.
- Moujahed N, Kayouli c., Raach-Moujahed Aziza, (2003).** La complémentation des fourrages pauvres par les blocs multinutritionnels chez les ruminants. *Livestock Research for Rural Development*, V 15,(3) <http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd15/3/mouj153.htm>
- Mylonaki S., Kiassos E., Makris D.P., Kefalas P. (2008).** Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Anal Bioanal Chemistry*, 392, 977-985.
- Nasahlai L.V., et Umunna N.N., (1996).** Comparison between reconstituted sheep faeces and rumen fluid inocula and between in vitro and in sacco digestibility methods as predictors of intake and in vivo digestibility. *J. Agric. Sci. Camb.* 0, 126:235-248.
- Nefzaoui A (1991).** Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Optiom Méditerranéennes*, 16: 101-108.
- Nefzaoui A. (1987).** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits, séminaire sur l'économie de l'olivier. Tunis, 20-22 Janvier. Science et Technique, *Olivae* n° 19.
- Nguyen S H, Thi Nguyen H D et Hegarty R S (2020).** Defaunation and its impacts on ruminal fermentation, enteric methane production and animal productivity. *Livestock Research for Rural Development*. V 32,(60). <http://www.lrrd.org/lrrd32/4/ngyson32060.html>
- Obied H.K., Allen M.S., Bedgood D.R., Prenzler P.D., Robards K., Stockmann R. (2005).** Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *J. Agric. Food Chem.* 53, 823-837.
- Ogimoto K., Imai S., (1981).** Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Society Press. Tokyo. Japan
- Orskov E.R., Mc Donald P. (1979).** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *J. of Agri. Sci, Cambridge.* 92: 499-503.
- Orskov E.R., Ryle M. (1990).** Manipulation of rumen fermentation and associative effects. In: *Energy nutrition in ruminants*. Ed. Elsevier Applied Science. 28-42.
- Ouabou E., Anouar A. et Hilali S. (2014).** Traitement de la margine brute d'huile d'olive par distillation suivi de neutralisation par la chaux. *Journal of Applied Biosciences* 79:6867 – 6872.
- Palmisano A.C., Barlaz M.A. (1996).** Microbiology of solid waste CRC Press. p 224.
- Paredes C., Cegarra J., Roig A., Sa´nchez-Monedero M.A., Bernal M.P. (1999).** Characterization of olive-mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes. *Bioresource Technology*, 67 : 111–115.

- Petruccioli M., Servili M., Montedero G.F., Federici F.(1988).** Development of a recycle procedure for the utilization of vegetation waters in the olive oil extraction process. *Biotechnology Letters*.1: 55-60.
- Preston, T.R. et Leng, R.A. (1984).** Supplementation of diets based on fibrous residues and byproducts. p. 373, *in*: F. Sundstol et E. Owen (eds), *Straw and Other Fibrous Byproducts as Feed*. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier.
- Preston, T.R. et Leng, R.A. (1986).** Matching livestock production systems to available resources. International Livestock Centre for Africa (ILCA) Publishing Unit, pp 331.
- Ranalli A. (1991).** The effluent from olive mills: Proposals for re-use and purification with reference to Italian legislation. *Olivae*, 37, 30-39.
- Rejesek F., (2003).** Analyse des eaux : aspects réglementation et technique. Sciences et technique de l'environnement. Brdeaux : CRDP D'aquitaine. 360 p.
- René Sansoucy, (2014).** Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen. Etude Fao production et santé animales 43. (FAO, Rome). M-23 ISBN 92-5-201488-8 <http://www.fao.org/3/X6545F/X6545F00.htm#TOC>
- Rezaeian M, Beakes GW, Parker DS (2004).** Distribution and estimation of anaerobic zoosporic fungi along the digestive tracts of sheep. *Mycol Res* 108:1227–1233.
- Rira M. 2006** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de magistère. ISN. Université de Constantine, 95p
- Rodier J., Legube b., Merlet n. et coll (2009).** L'analyse de l'eau, 9<sup>e</sup> édition, Paris (France), Dunod,1526 pages
- Rodis P.S., Karathanos V.T. et Mantzavinou A. (2002).** Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 50, 596-601.
- Rumpler W.V., Johnson D.E., Bates D.B., (1986).** The effect of high dietary cation concentration on methanogenesis by steers fed diets with and without ionophores, *J. Anim. Sci.* 62: 1737–1741.
- Salvemini F. (1985).** Composizione chimica e valutazione biologica di un mangime ottenuto essicando tercemente le acque di vegetazione delle olive. *Riv. Delle Sostanze Grasse*.112 : 559-564.
- Samperdro I., Aranda E., Martin J., Garcia Garrido J.M., Garcia Romero I., Ocampo J.A. (2004).** Saprobic fungi decrease plant toxicity caused by olive mill residues. *Applied Soil Ecology*. 26 : 149-156.
- Sandoval-Castro C A, Captillo-Leal C, Cetina-Gongora R et Ramirez-Aviles L (2002).** A mixture simplex design to study associative effects with an in vitro gas production technique. *Animal Feed Science and Technology*. 101: 191-200

**Sansoucy R, Arts G, Preston TR. (1986).** Molasses urea blocks as a multivitamin supplement for ruminants. FAO Animal Production and Health Paper: Sugarcane as Feed, 72: 263-278. <http://www.fao.org/3/s8850e/S8850E24.htm#ch25>

**Sansoucy, R., (1986).** Manufacture of molasses-urea blocks. World. Anim. Rev. 57: 40-48. **In Chenost M. et Kayouli C. (1997).** Utilisation des fourrages grossiers en régions chaudes (Étude FAO - Production et santé animales - 135). FAO - Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. <http://www.fao.org/3/w4988f00.htm#Contents>

**Sharp R., Ziemer C.J., Marshall D.S., Stahl D.A. (1998).** Taxon-specific association between protozoal and methanogen population in the rumen and model system. FEMS. Microb.Ecol. 26: 71-78.

**Soltner D., (1994).** Alimentation des animaux domestiques. Cool. Sci Tech. Agric., édition, Paris : 20<sup>ème</sup> édition. 176p.

**Sudana, I.B. & Leng, R.A. (1986).** Effect of supplementing a wheat straw based diet with urea or a urea molasses block and/or cottonseed meal on intake and live weight change of lambs. Animal Feed Science and Technology, 16: 25.

**Tabai S., (2008).** Essai de fabrication de blocs multi nutritionnels à base de rebuts de dattes, de pédocelles, de paille d'orge et d'urée. Mém. Ing. ITAS. Université Ouargla. 86p.

**Tinde D. (2016).** Transfert participatif de la technologie de bloc multivitaminé au profit des éleveurs membres du groupement Azawak « Kossam Bodedji » de Dori. Mémoire d'ingénieur du Développement Rural. Université polytechnique de Bobo Dioulasso. Burkina Faso. 71p.

**Tiwari, S.P., Singh, V.B. & Mehra, V.R. (1990).** Urea molasses mineral block as a feed supplement: effect on growth and nutrient utilization in buffalo calves. Animal Feed Science and Technology, 29: 333-338.

**Tsagariki E., Harris N., Lazarides., Konstantinos B. P. (2007).** Olive mill waste water treatment. Springerlink, 133-157.

**Van nevel C. (1991).** Modification of rumen fermentation by the use of additives, in: Jouany J.P.(Ed.), Rumen microbial metabolism and ruminant digestion, INRA Editions, Paris, pp. 263-280.

**Victor R. et Franklin W., 2010.** Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. Academic Press. 1479 p.

**Visioli F., Romani A., Mulinacci N., Zarini S., Conte D., Vincieri F. (1999)** Antioxidants and other biological activities of olive mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 : 3397-3401.

**Williams AG, Coleman GS (1992)** The rumen protozoa. Springer, New York, 441p

**Yaakoubi A., Chahlaoui A., Elyachioui M. et Chaouch A. (2010).** Traitement des margines à ph neutre et en conditions d'aérobic par la microflore du sol avant épandage. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 149, 43-56.

**Zeev W., (2009).** Desert Olive Oil Cultivation. Advanced Biotechnologies- Academic Press. 398p.

**Zhu X S, Deyoe C W, Behnke K C and Seib P A (1991).** Poured feed blocks using distillery by-products as supplements for ruminants. Journal of Food Sciences and Agriculture 54 (4), 535-547.

**Zimbalatti G. (1995).** A new and alternative technology to reduce the pollution caudes by oilmills; Seventh International Symposium on Agricultural and Food Processing Wastes (ISAFPW 95). American Society of Agricultural Engineers, 420-428.

**Annexes**



*Annexe n°01 : Caractéristiques physico-chimiques du rumen [80].*

Paramètres mesurés	Caractéristiques
pH	5.7 - 7.3
Potentiel d'oxydoréduction	-0.35V
Température	38-41°C
Osmolarité	< 400 mOsmol.Kg-1
Phase gazeuse, %	CO2 :65      CH4 : 27      N2 : 7      O2 : 0.6 H2 : 0.2      H2S : 0.01.
Matière sèche	10-18%.
Acides gras volatils (AGV), mM	Ac, formique : < 0.02      Ac. Acétique : 66      Ac propionique, 23      Ac. Butyrique : 20      Ac mineurs (C4-C6), 2
Acide lactique, mM	< 7
Acide succinique, mM	0.002 à 0.004
Ethanol, mM	Non détectable
Ammoniaque, mM	< 92
Acides amines.	< 48meqM
Minéraux (mg.m-1)	Na :1.5-3.0      K : 0.6-2.3      Ca : 0.1-0.2 Mg : 0.1      P : 0.3      PO4 -3 : 1.9      HCO3-3 :1.3 S ; CL ;etc. toujours présents
Oligoéléments	Fe, Mn, Co, Mo, Zn, Se, etc. toujours présents



*Annexe n°02. Composition de la salive artificielle [113].*

Solutions	Eléments	Quantité
Solution A (Solution des microminéraux) (g/100 ml)	CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O MnCl <sub>2</sub> . 4 H <sub>2</sub> O CoCl <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O FeCl <sub>3</sub> . 6 H <sub>2</sub> O Eau distillée	13,2 g 10 g 1 g 0,8 g 100 ml
Solution B (Solution tampon) (g/l)	NaHCO <sub>2</sub> NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> Eau distillée	35,0 g 4 g 1000 ml
Solution C (Solution des macrominéraux) (g/l)	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12 H <sub>2</sub> O KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O Eau distillée	5,7 g 6,2 g 0,6 g 1000 ml
Solution D (Solution indicatrice du potentiel Redox) (g/100 ml)	Résazurine (C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>4</sub> ) Eau distillée	0,1 g 100 ml
Solution E (Solution réductrice) (g/99 ml)	Na <sub>2</sub> S. 9 H <sub>2</sub> O NaOH (1N) Eau distillée	0,336 g 2ml 47,5ml

Composants	Quantité pour 1000 ml SA
Solution A	0,12 ml
Solution B	240 ml
Solution C	240 ml
Solution D	1,22 ml
Solution E	49,5 ml
Eau distillée	475 ml



*Annexe n° 03. Composition des solutions de dosage de l'ammoniaque [28].*

Solutions (pour 500 ml de l'eau distillée)	Eléments	Quantité
A	Phénol	5 g
	Nitroprusside de sodium	25 mg
B	Hydroxyde de sodium	2,5 g
	Solution d'Hypochlorite de sodium (eau de javel à 35°)	5 ml

*Annexe n°04. Composition de la solution MFS (methylgreen-formalin-saline) [76].*

Composés	Quantité
Formaldéhyde à 35%	100 ml
Eau distillée	900 ml
Vert de méthyle	0,6 g
Chlorure de sodium	8 g Qsp.1000 ml



# Résumé



L'objectif assigné à ce travail est de valoriser les margines dans l'alimentation animale afin de réduire les méthanogènes ruminale. Pour cela, cette étude avait pour but de déterminer en premier lieu les caractéristiques physico-chimiques des margines issues de deux modes de trituration de trois variétés d'olives dans la région du Ghardaïa 'Algérie' et, dans un second temps, d'étudier l'impact de leurs extraits phénoliques, leurs différentes proportions et les blocs multi-nutritionnels (constituées à base de margines) sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticale (*Triticum aestivum*).

L'influence de deux facteurs: variété d'olive et procédés d'extraction d'huile d'olive, sont remarquables sur la majorités des caractères physico-chimiques étudiées et les paramètres de l'étude l'impact des extraits phénoliques bruts sur la fermentation ruminale *in vitro*, tel que la production de gaz, les paramètres fermentaires et la digestibilité réelle. L'addition des extraits phénoliques des margines avec le foin de triticale a augmenté la production totale de gaz et la digestibilité de la matière sèche, réduit la population de protozoaires et réduit le pourcentage de méthane dans le gaz, les effets étant beaucoup plus importants pour les extraits phénoliques des margines issue de procédé d'extraction discontinus.

L'étude de l'influence de différents proportions des margines sur la fermentation ruminale *in vitro* du foin de triticale, montré que l'augmentation de la proportion de margine dans le substrat à 10 % (en MS) a augmenté la production de gaz, le pourcentage de méthane dans le gaz et la digestibilité apparente. Toutefois, lorsque la concentration de margine a été augmentée à 20 %, le taux de production de gaz a diminué avec production d'ammoniaque. La population de protozoaires ciliés a diminué de façon linéaire avec l'augmentation des concentrations de margines dans le substrat. La proportion des margines dans la quantité quotidienne d'aliments pour ruminants ne doit pas dépasser 20%..

Enfin les blocs nutritionnels à base de margines sont riches en matière sèche, organique, minérale et en matière azotée totale. Après un séchage d'une semaine seulement, leurs duretés sont très bonnes avec une bonne cohésion, l'addition de BMN2, BMN 3 et BMN4 causent une augmentation dans la production de gaz totale et la digestibilité apparente. Par contre, l'addition des BMN 3 et BMN4, causent une réduction le nombre de protozoaires de 11.1 et 13.9%, et dans la proportion de production de CH<sub>4</sub> par apport le gaz totale, les proportions de diminution enregistrés après 24h, sont : 25.5 et 20.9, et après 96h, sont: 9.01 et 10.1%, respectivement.

Et à partir de là, les margines soit en pâte, liquide ou ensemble, ils sont recommandé de l'utiliser dans la fabrication de blocs multi-nutritionnels, car ils améliorent ses propriétés physiques, en augmentant sa dureté et la cohésion de ses composants et en réduisant l'utilisation d'eau, ils sont considérée comme un excellent solvant pour l'urée, et aussi la possibilité d'usage des margines et leurs composées phénoliques comme additifs alimentaires pour la réduction de la méthanogènes ruminale.

**Mots clés:** bloc nutritionnel, continue phénolique, margines, méthane, protozoaires rumen