Thèse de doctorat

Université Sidi Mohamed Ben Abdellah

Université de Limoges

Thèse en cotutelle pour obtenir le grade de Docteur délivré par :

Université Sidi Mohamed Ben Abdellah
Ecole doctorale Sciences et Génie de la matière, de la terre et de la vie
et l'Université de Limoges,
Ecole Doctorale Chimie, Ecologie, Géosciences et AgroSciences (ED 614)

Spécialité : Sciences et Génie de l'environnement

Présentée et soutenue par

Omar BOUAOUINE

Soutenance prévue le 18 Octobre 2018

Caractérisation et valorisation de bioressources végétales pour le prétraitement d'effluents par coagulation-floculation

Thèse dirigée par : **Pr Michel BAUDU,** Professeur, Université de Limoges

Pr Fouad KHALIL, PES, Université de Fès

JURY :

Président du jury
M. **Pr Abdelhadi LHASSANI**, PES, Université de Fès

Rapporteurs
M. **Pr Pierre LE CLOIREC**, Professeur, ENS chimie de Rennes
M. **Pr Moulay Abdelazize ABOULHASSAN**, PH, ENSA- Agadir
M. **Pr Jilali BENTAMA**, PES, Université de Fès

Examinateurs
Mme. **Isabelle BOURVEN**, Maître de conférences, Université de Limoges, co-encadrante
M. **Pr Hicham ZAITAN**, PH, Université de Fès

Laboratoires d'accueil :

Laboratoire de Chimie Appliquée (LCA), Faculté des Sciences et Techniques de Fès

PEIRENE EA 7500, Equipe Procédés et Contaminants des Eaux FST, Limoges

Table de matières

Liste des figures **6**

Liste des tableaux **7**

Liste des travaux et publications **8**

Liste des abréviations **9**

Introduction générale **10**

I. Coagulation floculation **16**

II. 1. Définitions 16

II. 2. Solubilité et interactions entre les colloïdes dans une suspension aqueuse 17

II.2.1. Interactions de Van Der Waals (VDW) : 17

II.2.2. Interactions électrostatiques : théorie de la double couche 17

II.2.3. Modèle Derjaguin & Landau Verwey & Overbeek (DLVO) 18

II.3.1. Déstabilisation par compression de la double couche (coagulation électrostatique) 21

II.3.2. Adsorption et neutralisation des charges 21

II.3.3. Adsorption et pontage : floculation chimique par des polymères à longues chaines 22

II.3.4. Coagulation/floculation par entrainement (emprisonnement des particules ou sweep) .. 23

II.3.5. Floculation physique 24

II. 4. Paramètres influençant la coagulation floculation 24

II.4.1. Influence du pH 24

II.4.2. Influence de la dose du coagulant 25

II.4.3. Influence de la vitesse et temps d'agitation 25

III. Les coagulants et floculants **25**

III. 1. Les coagulants chimiques 25

- Les coagulants inorganiques 25

III.1.2. Les floculants organiques de synthèse 26

III.2. Les biofloculants 27

II.2.1. Présentation et mode d'action 27

III.2.2. Les biopolymères 28

IIII.2.2.1. Les polysaccharides 28

IIII.2.2.1.a. Chitosane 28

III.2.2.1.b. Cellulose 29

III.2.2.1.c. Amidon 30

III.2.2.1.d. Alginate de sodium 31

III.2.2.1.e. Les gommes et mucilage 32

III.2.2.2. Les polyphénols 33
III.2.2.3. Les protéines 35
III.2.3. Modification de biofloculants 36
III.2.3.1. Généralités 36
III.2.3.2. La fonctionnalisation 37
III.2.3.3. Le greffage de polyacrylamide 38
III.2.3.4. Greffage 39
IV. Les ressources végétales 41
IV.1. Diversité des ressources 41
IV.2. Préparations des floculants 41
IV.3. Condition d'application des floculants (tableau 3) 41
IV.4. Mécanisme d'action des biofloculants 42
V. *Opuntia ficus indica* 48
V.1. Généralités sur *opuntia ficus indica* 48
V.2. Composition chimique des cladodes 49
V.2.1 Les principaux constituants 49
V.2.2. Les minéraux 50
V.2.3. Les sucres 50
V.2.4. Les acides organiques 50
V.2.5. Les acides aminés et les protéines 51
V.2.6. Les polyphénols 51
V.3. Cactus *Opuntia ficus indica* en coagulation floculation 51
V.3.1 Présence d'éléments floculants 51
V.3.2. Conditionnement du cactus 52
V.3.3. Conditions opératoires 52
V.4. Mécanismes mis en jeu 55
VI. Margine 56
VI.1. Présentation des margines 56
VI.2. Composition chimique des margines 57
VI.3.1. Les sucres 59
VI.3.2. Les protéines 59
VI.3.3. Les tanins et flavonoïdes 59
VI. Conclusion 61
Matériels & méthodes 63
I. Appareillage et produits 64
1. Appareillages 64

2. Produits 65
II. Méthodes 67
1. Conditionnement du matériel végétal 67
1.1. Opuntia ficus indica 67
1.2. Margine 68
2. Préparation des fractions issues du matériel végétal 68
2.1. Fractionnement en fonction du pH 68
1.2. Fractionnement en fonction de la taille 69
4. Méthodes de caractérisation usuelles des bioflocculants et/ou des flocs 69
4.1. Détermination de la masse sèche et de la masse sèche volatile 69
4.2. Détermination de la quantité du carbone organique total 69
4.3. Potentiel zêta 69
4.5. Granulométrie 70
4.6. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) 70
4.7. Spectrophotométrie Ultra-Violet Visible 70
5. Méthode de caractérisation spécifique des biofloculants 71
5.1. Microscope électronique à balayage (MEB) 71
5.2. Microscope optique 71
5.3. Viscosité 71
5.4. Spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP-AES) 71
5.5. Dosage colorimétrique biochimique 72
5.6. Chromatographie liquide à haute performance à exclusion stérique (HPLC-SEC) couplée à une détection UV 74
5.7. Chromatographie liquide à haute performance à phase inverse (HPLC IP) 75
5.8. Titrage acido-basique 76
5.9. Turbidimètre 76
5.10. Test enzymatique 76
6. Coagulation floculation en Jar Test 77
6.1. Les différents types d'effluents 77
6.1.1. Effluent synthétique 77
6.1.2. Effluents réels 77
6.1.2.1. Textile 77
6.1.2.2. Lixiviat 78
6.2. Paramètres de la coagulation floculation 78
6.3. Détermination de l'efficacité du procédé 78
Résultats et discussions 79

Chapitre 1 Coagulation floculation par *Opuntia ficus indica :* constituants impliqués et mécanisme 80

I. Introduction..... 81

IV. Conclusion 113

Chapitre 2 : Coagulation floculation avec les margines *:* substances actives et mécanisme.....116

I. Introduction.....117

II. Reuse of olive mill wastewater as bioflocculant for water treatment processes 118

V. Conclusion 136

Chapitre 3 : Application d'*Opuntia ficus indica* pour le traitement d'effluents industriels 138

I. Introduction.....139

II. Comparative study between Moroccan cactus and chemicals coagulants for textile effluent treatment 140

II.1. Introduction 140

II.2. Materials and methods 141

2.1. Characteristics of the effluent 141

2.2. Natural coagulant 141

II. 2.3. Procedure Jar-Test and analytical techniques 141

II.3. Results and discussion 142

II. 3.1. Coagulation-flocculation results..... 142

3.2. UV-visible absorption spectrophotometer (case of the cactus) 145

3.3. Heavy metals analysis..... 146

II. 4 Conclusion 147

***III.* Utilisation d'*Opuntia ficus indica* avec des effluents fortement chargés (lixiviat).....147**

III.1. Introduction..... 147

III.2. Matériels et méthodes 148

III.2. Résultats et discussion 149

IV. Conclusion 150

References 152

Discussion générale et conclusion et 154

Références bibliographiques.....167

Liste des figures

Figure 1: Schéma de la double couche et évolution du potentiel en fonction de la distance à la surface du colloïde (Dihang et al., 2007) 18
Figure 2 : Energie d'interaction entre les particules en fonction de la distance interparticulaire (Israelachvili 2011). 19
Figure 3: Coagulation floculation par neutralisation des charges (Choy et al 2015) 21
Figure 4: Les produits d'hydrolyse d'aluminium formés en fonction de la concentration et du pH 22
Figure 5 : Floculation par adsorption et pontage (Choy et al., 2015) 23
Figure 7 : Structure chimique de deux polymères : polyacrylamide et chlorure diallyl diméthyl d'ammonium 26
Figure 8 : Structure chimique du chitosane (Alves et al., 2008) 29
Figure 9 : Structure chimique de la cellulose (Zhabankov et al., 2002) 30
Figure 10 : Structure chimiques de l'amidon (Teh et al., 2014) 31
Figure 11 : Structure chimique d'un gel formé par l'alginate de sodium et les ions de calcium *(Huang et al., 1999)* 32
Figure 12: Structure chimique de la gomme de xanthane 33
Figure 13 : Structures chimiques des différents types de tanins (Khanbabaee et al., 2001) 34
Figure 14 : Schéma d'une protéine (en haut) et structure chimique d'un dipéptide (en bas) 36
Figure 15 : Chlorure de 3-chloro-2-hydroxy propyl triméthyl ammonium 37
Figure 16 : Structure chimique du Tanfloc 38
Figure 17 : Morphologie d'Opuntia ficus indica 48
Figure 18 : Coupe transversale d'une raquette d'Opuntia ficus indica 49
Figure 19 : Interactions chimiques possibles dans le procédé de coagulation floculation entre l'acide polygalacturonique en solution aqueuse et les particules chargées positivement de l'effluent (P) (Yin et al.,2010) 55
Figure 20 : Trituration des olives et production de margines 57
Figure 21 : Modèle d'action des constituants biochimiques de cactus Opuntia ficus indica 115
Figure 22 : Modèle d'action des constituants biochimiques des margines 137
Figure 23 : Comparaison de l'efficacité de traitement en fonction du type de coagulant 149
Figure 24 : Démarche des analyses physico-chimiques et biochimiques de détermination des conditions opératoires optimales et mode de fonctionnement des matières actives identifiées 156
Figure 25 : Comparaison de la composition chimique des matériaux bruts et de leur biofloculant .. 160
Figure 26 : modèle d'action des constituants biochimiques actifs des deux matériaux : formation d'un floc 163
Figure 27 : variation de l'abattement de la turbidité en fonction de la dose de la quercétine à pH 10 164
Figure 28 : Interactions chimiques mises en jeu en coagulation floculation entre quercétine, kaolinite et amidon ou cellulose 165

Liste des tableaux

Tableau 1: Phénomènes se produisant durant la coagulation - floculation 20
Tableau 2 : Utilisation des floculants greffés dans le traitement des eaux usées 40
Tableau 3 : Résumé sur les matériaux végétaux utilisés comme coagulants naturels 43
Tableau 4 : Composition des cladodes en % massique 50
Tableau 5 : Conditions opératoires de traitement de effluents par Opuntia ficus indica 54
Tableau 6 : Composition physi co-chimique des margines 58
Tableau 7: Caractérisation biochimique des margines 58
Tableau 8 : Composition des sucres monomères contenus dans les margines 59
Tableau 9 : composés phénoliques des margines 60
Tableau 10 : Comparaison de la composition biochimique (à potentiel floculant) des margines et d'Opuntia ficus indica 62
Tableau 11 : Ensemble des matériels utilisés 64
Tableau 12 : Cractéristiques des dosages colorimétriques utilisés pour la détermination de la composition biochimique des échantillons 73
Tableau 13 : Conditions opératoires d'utilisation des enzymes 77
Tableau 14 : caractéristiques de l'effluent textile 78
Tableau 15 : Caractéristiques de lixiviat de la décharge contrôlée de la ville de Fès 78
Tableau 16 : Caractéristiques de lixiviat de la décharge contrôlée de la ville de Fès 149
Tableau 17 : Comparaison des abattements de traitement en fonction du taux de traitement et du volume des boues 150
Tableau 18 : Bilan du traitement des effluents par le cactus en poudre 151
Tableau 19 : Bilan de traitement en coagulation floculation des différents effluents par Opuntia ficus indica et un extrait de margines. 159
Tableau 20 : Pourcentage d'amidon et de cellulose dans les cladodes de cactus et dans les olives . 162

Liste des travaux et publications

Publications scientifiques

❖ **BOUAOUINE O.,** BOURVEN I., KHALIL F., BAUDU M. (**2018**). Reuse of Oil mill wastewater as a bioflocculant for water treatment. *Submitted at Chemosphere.*

1. **BOUAOUINE O.,** BOURVEN I., KHALIL F., BAUDU M. (**2018**). Identification and role of constituents from *Opuntia ficus indica* in coagulation flocculation mechanism of colloidal solution. *In revision* at Separation & Purification Technology.

❖ **BOUAOUINE O.,** BOURVEN I., KHALIL F., BAUDU M. (**2018**). Identification of functional groups of *Opuntia ficus indica* involved in coagulation flocculation process after its active part extraction. Environ. Sci. & Pollut. Research. DOI: https:// doi.org/10.1007/s11356-018-1394-7

❖ **BOUAOUINE O**., BAUDU M., KHALIL F., CHTIOUI H., ZAITAN H. (2017) Comparative study between Moroccan cactus and chemical coagulants for textile effluent treatment. J. Mater. Environ. Sci. Volume 8 (8), 2687-2693.

Communications

❖ **BOUAOUINE O**., KHALIL F., BAUDU M., Efficiency of a coagulation flocculation process using opuntia ficus indica for the treatment of a textile effluent. 1St edition of the international symposium on Materials, Elctrochemistry and environment, 22-24 September 2016, CIMEE16T ripoli-Liban.

❖ **BOUAOUINE O.,** KHALIL F., BAUDU M., The substitution of a chemical coagulant by a new bioflocculant for the treatment of a textile effluent. 2nd days processesfor energy and environment, 24-25 October 2016, FP Taza (Maroc).

❖ **BOUAOUINE O**., BOURVEN I., KHALIL F., BAUDU M., Extraction and Characterization of active molecular part of Opuntia ficus indica cactus used in coagulation flocculation processfor wastewater treatment. Sustainable Wastewater Treatment and Resource Recovery: Research, Planning, Design and Operation (NRR-LWWTP2017) Chongqing, China.

❖ **BOUAOUINE O**., KHALIL F., BAUDU M., Treatment of a textile effluent by coagulation flocculation. The XTh edition of the international Congress, 29-31 October 2014, (GRESE) FST Limoges, France.

Liste des abréviations

COT : carbone organique total
CSM : matériel solide du cactus
DBO : demande biochimique en oxygène
DCO : demande chimique en oxygène
DOMW : les margines dégraissées
DVLO : Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek
FTIR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
HPLC : chromatographie liquide à haute pression ou haute performance
HPLC-IP : chromatographie liquide à haute pression ou haute performance à phase inverse
HPSEC : chromatographie d'exclusion stérique à haute pression
ICP-AES : plasma inductif couplé à un spectromètre d'émission atomique
ICP-MS : plasma inductif couplé à un spectromètre d'émission optique
IF : spectroscopie infrarouge

MEB : microscope électronique à balayage

MM : masse moléculaire
MS ou DW : matière sèche
MVS ou VDW : matières volatiles en suspension
NTU : unité néphléométrique de la turbidité

OMS : organisation mondiale de santé

PP : précipité

pZ : potentiel zêta

SA : sulfate d'aluminium

SEM : matières extractibles solubilisés

UF : ultrafiltration

UV : ultrat-violet visible

VDW : van der waals

WEM : matières extractibles à l'eau

Remerciements

Ce manuscrit est le fruit de trois années de travail, qui a impliqué de nombreuses personnes que je souhaiterais remercier ici.

Les travaux de cette thèse se sont déroulés au groupement de recherche eau sol et environnement à la faculté des sciences et techniques de Limoges, grâce au soutien financier de la Partenariat Hubert Curien (PHC). Je tiens à leur exprimer ici toute ma reconnaissance.

Je voudrais tout d'abord remercier mes directeurs de thèse, Professeur BAUDU Michel, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, docteur BOURVEN Isabelle pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral et Professeur KHALIL Fouad de m'avoir fait confiance du début à la fin de la réalisation de cette cotutelle de thèse et d'avoir su m'accompagner et me guider de la meilleure manière qu'il soit.

Professeur BAUDU, merci pour vos conseils précieux et pour le temps que vous avez consacré à diriger cette recherche, votre compétence et votre rigueur scientifique ont été les éléments moteurs de mon travail de chercheur.

Docteur BOURVEN Isabelle, merci de tout mon cœur pour tes recadrages et tes conseils avisés, ton savoir été déterminant dans la réalisation de cette thèse, mais surtout ton soutien moral et ton accompagnement, merci d'avoir été présente le jour de ma soutenance. J'ai énormément appris durant les discussions que nous avons eues ensemble notamment les discussions durant la phase de rédaction. Merci Isa.

Mes remerciements sont également adressés aux membres du jury pour avoir accepté de mettre leurs compétences et leur disponibilité en évaluant mes travaux de thèse. Je remercie Professeur LE CLOIREC Pierre, Professeur ABOULHASSAN Abdelazize et Professeur BENTAMA Jilali pour leur travail de rapporteur de cette thèse et Professeur ZAITAN Hicham pour avoir examiné mon travail.

Je remercie tous les membres du laboratoire GRESE, merci Karine, Manue, Patrice, Thierry et Sophie pour votre disponibilité et votre efficacité à me dénicher ce qu'il me fallait pour mes manips, Lourdes pour ta présence, ton sourire et surtout ton soutien moral indirect, des

personnes formidables, merci à tous ce qui ont contribué à ce que je sens chez moi à Limoges et au laboratoire pendant toutes ces trois années.

Asmaa merci pour ta présence, ton accueil et surtout tes conseils, Anne merci pour ton soutien, Alexandre nos conversation scientifiques vont me manquer, bon courage à toi, un grand merci à tous les gens du labo, Lulu, Franck, Nathalie, Mohamad, Chen, Diep, Sylvain, Robin, Eloi, Noel, Mathias, Melodie, Maya…

Merci à ma famille et mes amis d'être venus me soutenir.

Introduction générale

Les ressources naturelles en eau au Maroc sont parmi les plus faibles au monde. En effet, le potentiel des ressources en eau naturelle, est évalué à 22 milliards de m^3 par an, soit l'équivalent de 750 m^3/habitant/an, communément admis comme « seuil critique » indiquant l'apparition de pénuries (Les sources de pollution de l'eau au Maroc, ministère de l'eau et de l'environnement 2014). En parallèle, Les volumes annuels des rejets en eaux usées au Maroc ont fortement augmenté au cours des trois dernières décennies. Ils sont passés de 48 millions à 600 millions de m^3 entre 1960 et 2005 pour atteindre 700 millions en l'an 2010. Selon les prévisions, ces rejets continueront à croître rapidement pour atteindre 900 millions de m^3 à l'horizon 2020 (Ministère de l'énergie, des mines, de l'eau et de l'environnement 2014).

Le secteur de l'eau reste confronté à des défis liés principalement : i) à la surexploitation des ressources en eau souterraine, ii) à la faiblesse de la valorisation des ressources en eau mobilisées notamment dans le domaine agricole et iii) à la détérioration de la qualité à cause du retard dans l'assainissement (Ministère de l'énergie, des mines, de l'eau et de l'environnement 2014).

Plusieurs opérations unitaires sont envisageables pour le traitement des eaux impliquant des réactions d'adsorption, d'oxydation chimique et/ou électrochimique, de la séparation physique ou membranaire. Toutes ces méthodes présentent des contraintes économiques et techniques qui compliquent leur application (Alinsafi et al. 2005). Parmi les différentes solutions envisageables, la coagulation-floculation permet de répondre à de nombreuses situations et elle est mise en œuvre de manière classique pour la potabilisation des eaux de surface et de manière occasionnelle pour le traitement des eaux usées. Le procédé de coagulation crée, au sein de l'eau que l'on souhaite épurer, le transfert des colloïdes de la phase soluble vers les matières en suspension par agglomération des particules. Cette étape est associée à de nombreuses réactions d'adsorption des réactifs ou de molécules solubles de la solution. Les sels métalliques d'aluminium et de fer sont souvent utilisés avec l'hydrolyse et la formation d'hydroxydes insolubles à des valeurs de pH proches de 7 ou légèrement acide (5 à 7). Ce sont ces dernières formes qui jouent le rôle de coagulant; des agrégats de particules

sont alors formés (la coagulation floculation est favorisée) et peuvent décanter pour laisser place à une eau claire et “épurée”.

L’utilisation de polymères synthétiques permet d’améliorer la floculation et la séparation de la matière en suspension produite. Les floculants chimiques majoritairement utilisés pour la production d’eau potable est le polyacrylamide et son monomère d’acrylamide ou d’acrylate. Ce dernier est classé par l’Organisation Mondiale de Santé (OMS) comme substance mutagène et cancérigène (Cramer et al., 1978). Les nombreux autres polymères à usage industriel peuvent présenter également un risque chimique pour la santé ou l’environnement. Ces polymères sont issus de l’industrie pétrochimique et la recherche d’alternatives dans des biofloculants et notamment ceux issus des ressources végétales, est nécessaire. En effet, ces floculants biosourcés sont non toxiques et le plus souvent biodégradables. Certains biofloculants ont fait l’objet d’expérimentation dans la production d’eau potable : alginate, amidon, xanthane (Zhao et al., 2012 ; Zafar et al., 2015 ; Davidson et al., 1980). De nombreusesressources végétales ont également été expérimentées pour leur propriétés floculantes : *Ocimum basilicum* ; *Cocos nucifera*, (Shamsjenati et al., 2015 ; Fatombi et al., 2013).

Ces travaux sont encore récents et souvent les mécanismes insuffisamment maitrisés pour une évaluation parfaite du potentiel de ces nouveaux réactifs. Ainsi l’identification et l’isolement des constituants actifs responsables de leur efficacité restent indéterminés et ces méconnaissances restreignent le jugement de leur capacité à remplacer les sels métalliques à une échelle industrielle.

L’objectif de notre étude est de proposer une méthodologie transposable pour différentes ressources végétales, afin d’identifier et de concentrer les molécules responsables de la floculation, et ainsi de comprendre leur mécanismes et mode de fonctionnement pour le traitement des différents effluents.

Dans cette étude nous avons choisi deux ressources très différentes :

La première, *Opuntia ficus indica*, a fait l’objet de nombreux travaux (Zhang et al., 2006 ; Miller et al., 2008, Betatache et al., 2014) qui ont montré de bonnes propriétés relatives à la coagulation-floculation. Cependant le mécanisme et les molécules engagées n’ont pas fait l’objet d’une approche systématique. Pour ce matériel végétal, l’application au traitement de

deux effluents industriels complexes a été envisagée : un lixiviat de décharge et des effluents de l'industrie textiles.

Dans un second temps, nous avons choisi une ressource végétale qui est un sous-produit de la production d'huile d'olive très difficilement valorisable : les margines. Ce résidu liquide contient des macromolécules ayant potentiellement des propriétés floculantes : sucres, polyphénols… (Aissam et al., 2003). Nous avons donc adopté comme dans le cas précédent une approche avec l'isolement des molécules les plus actives et leur identification. Ce document sera présenté en trois grandes parties.

La première est dédiée à une synthèse bibliographique relative aux propriétés des particules colloïdales et à la technique de coagulation floculation, ainsi qu'à l'ensemble des coagulants et floculants, chimiques et naturels utilisés en traitement des eaux,

La deuxième partie regroupe l'ensemble des matériels et des méthodes utilisés dans cette étude.

La dernière partie est consacrée aux résultats de ce travail avec une étude approfondie pour la valorisation et l'identification des matières actives de nouveaux biofloculants. Elle est constituée de 3 chapitres traitant successivement :

- de la mise en évidence des mécanismes de coagulation floculation par *Opuntia ficus indica*,

-de la mise en perspective de l'usage des margines pour du traitement d'eau par coagulation floculation,

- de la faisabilité de la mise en œuvre d'*Opuntia ficus indica* pour le traitement d'effluents réels.

A la fin du manuscrit, une synthèse et une discussion des résultats de l'étude est proposée.

Ce travail a fait l'objet de publications acceptées ou en cours d'évaluation qui ont été insérées dans ce manuscrit. Pour faciliter la lecture, les différents paragraphes des publications ont été renumérotés et intégrés dans le fil du manuscrit.

Etude Bibliographique

Introduction

L'étape de coagulation et floculation est largement appliquée dans le prétraitement de clarification des eaux (potable ou usées). Le mécanisme global de la coagulation floculation d'une eau trouble (donc chargée en colloïde) consiste dans un premier temps, en l'ajout d'un sel appelé « coagulant » celui-ci déstabilise les colloïdes qui peuvent se regrouper sous forme de floc. Ensuite les flocs formés décantent, permettant la séparation des agrégats. Les propriétés des particules en suspension, (colloïdes), ainsi que les conditions physico-chimiques du procédé influencent son efficacité. Nous allons présenter le principe de la coagulation et floculation dans un premier temps avant de nous intéresser aux biofloculants.

I. Coagulation floculation

II. 1. Définitions

La présence des colloïdes dans les eaux provoque une dispersion de la lumière appelé turbidité. Les colloïdes sont définis comme des particules solides dont la taille est inférieure à 1 μm. L'état colloïdal inclut donc tous les éléments non solubles dont la taille ne permet pas une sédimentation qu'ils soient de nature minérale (argiles, oxydes, sels insolubles) ou organique (microorganismes, amas protéiniques, ou des agrégats organo-minéraux floculés).

La coagulation est la déstabilisation des particules colloïdales par addition d'un réactif chimique, le « coagulant », qui apporte au milieu des éléments solubles ou colloïdaux pouvant neutraliser et réduire la charge de surface de ces particules solides. Les colloïdes des eaux naturelles sont en moyenne chargés négativement (Jankovic et al., 1974) et donc déstabilisés par la présence de formes cationiques. Toutes les particules dans un milieu liquide possèdent certaines propriétés associées aux phénomènes interfaciaux. De tels phénomènes comprennent les effets de la charge de surface portée par les particules et le degré d'hydratation (ou de solvatation) des couches superficielles des particules (John Bratby et al., 2007). Plusieurs mécanismes peuvent être impliqués dans la coagulation selon que les ions soient indifférents (non adsorbés) ou adsorbés à la surface du colloïde.

L'élimination des particules colloïdales dans une eau naturelle ou dans une eau de rejet industriel est compliquée par la variabilité de la nature des colloïdes et donc des propriétés de surface et de taille. L'origine de ces charges est variable en fonction de leur structure et de

leur environnement ionique (Dihang et al., 2007). La neutralisation ou une inversion de charge de particules colloïdales fonctionnalisées est réalisable par modification du pH.

II. 2. Solubilité et interactions entre les colloïdes dans une suspension aqueuse

Les colloïdes peuvent avoir une propriété lyophobe, repoussant la solution interfaciale et lyophile, attirant la solution (dans le cas d'une solution constituée par de l'eau pure, hydrophile et hydrophobe sont les termes utilisés). Dans le cas de présence des deux propriétés, le regroupement de colloïdes organiques peut se faire avec la formation des micelles (John Bratby et al., 2007). Les interactions électrostatiques et celles de Van Der Waals, représentent les deux composantes énergétiques principales.

II.2.1. Interactions de Van Der Waals (VDW) :

C'est la composante énergétique la plus faible et non spécifique. Elle résulte des forces intermoléculaires créées par des dipôles induits résultants du caractère probabiliste de la densité électronique. On rajoute à la composante de Van Der Waals (VDW) deux types d'interactions résultant de la présence de dipôles permanents : les forces d'interactions de Keesom (dipôle permanent-Dipôle permanent), et de Debye (dipôle permanent-Dipôle induit).

II.2.2. Interactions électrostatiques : théorie de la double couche

La conception de la distribution des charges à la surface d'un solide a été préparée par Stern en 1924, qui a proposé un modèle de la double couche (couche liée et couche diffuse). Les charges de surface attirent les contre-ions de la solution dans une couche de faible épaisseur (mais supérieure à la taille atomique) pour former la couche liée ou couche de Stern. La neutralisation de la particule se poursuit dans la couche diffuse ou couche de Gouy jusqu'à l'électroneutralité (figure 1 ci-dessous). La couche de Stern est toujours liée à la particule, le plan de cisaillement lors du déplacement de la particule se situant dans la couche diffuse. La double couche électrique est composée de deux régions : une couche interne qui comprend probablement des molécules d'eau et des ions adsorbés ou libres et une couche diffuse dans laquelle les contre-ions sont de densité décroissante selon une loi exponentielle.

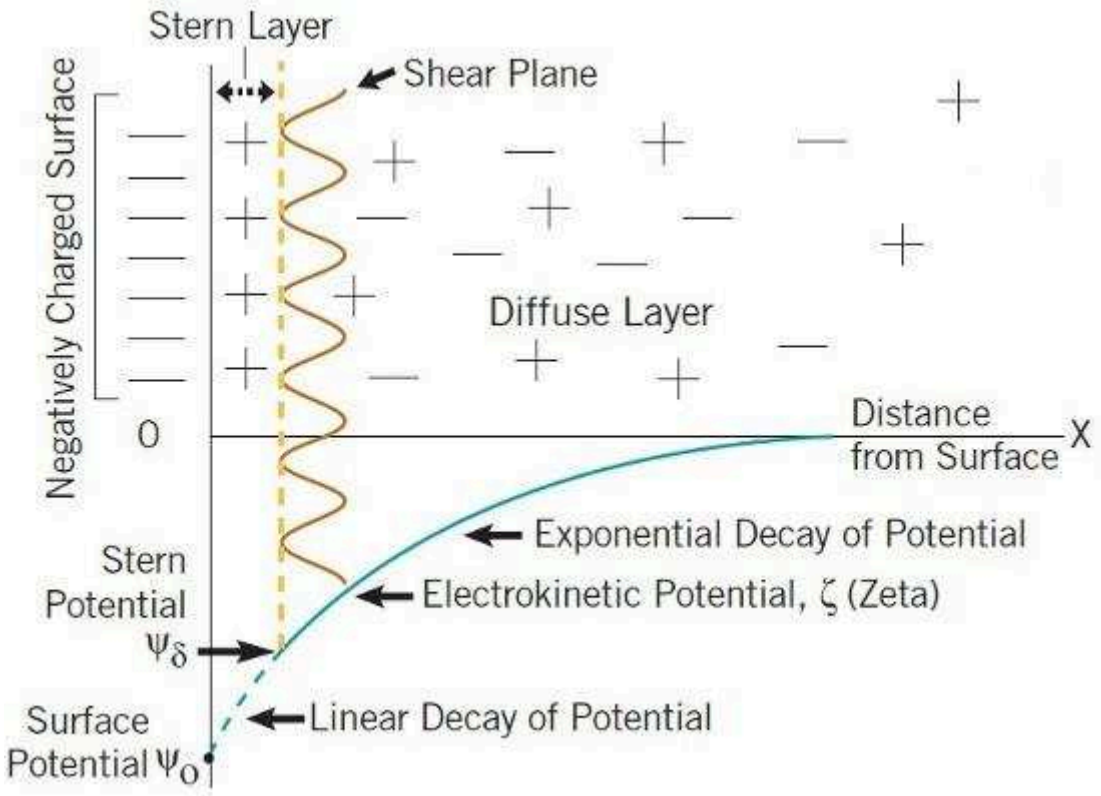


Figure 1: Schéma de la double couche et évolution du potentiel en fonction de la distance à la surface du colloïde (Parsons et al.,1981)

La valeur du potentiel à la surface du plan de cisaillement est appelée « potentiel zêta » (voir figure 1). Il s'obtient expérimentalement par électrocinétique en mesurant la mobilité électrophorétique. De ce potentiel dépendra l'intensité de répulsion ou d'attraction électrostatique entre particules.

II.2.3. Modèle Derjaguin & Landau Verwey & Overbeek (DLVO)

Derjaguin & Landau Verwey & Overbeek (DLVO) ont indépendamment développé une théorie quantitative basée sur le modèle de Gouy-Chapman dans laquelle la stabilité des colloïdes est traitée en termes de changements d'énergie qui se produisent lorsque les particules se rapprochent les unes des autres (Derjaguin et al., 1941 ; Verwey et al., 1948). La théorie (DLVO) admet que l'interaction résultant entre deux particules est la somme des forces d'attraction (A) de VDW et des forces de répulsion (R) électrostatique.

Le potentiel résultant ou total est fonction de la distance entre l'observateur et la particule (figure 2, Israelachvili 2011).

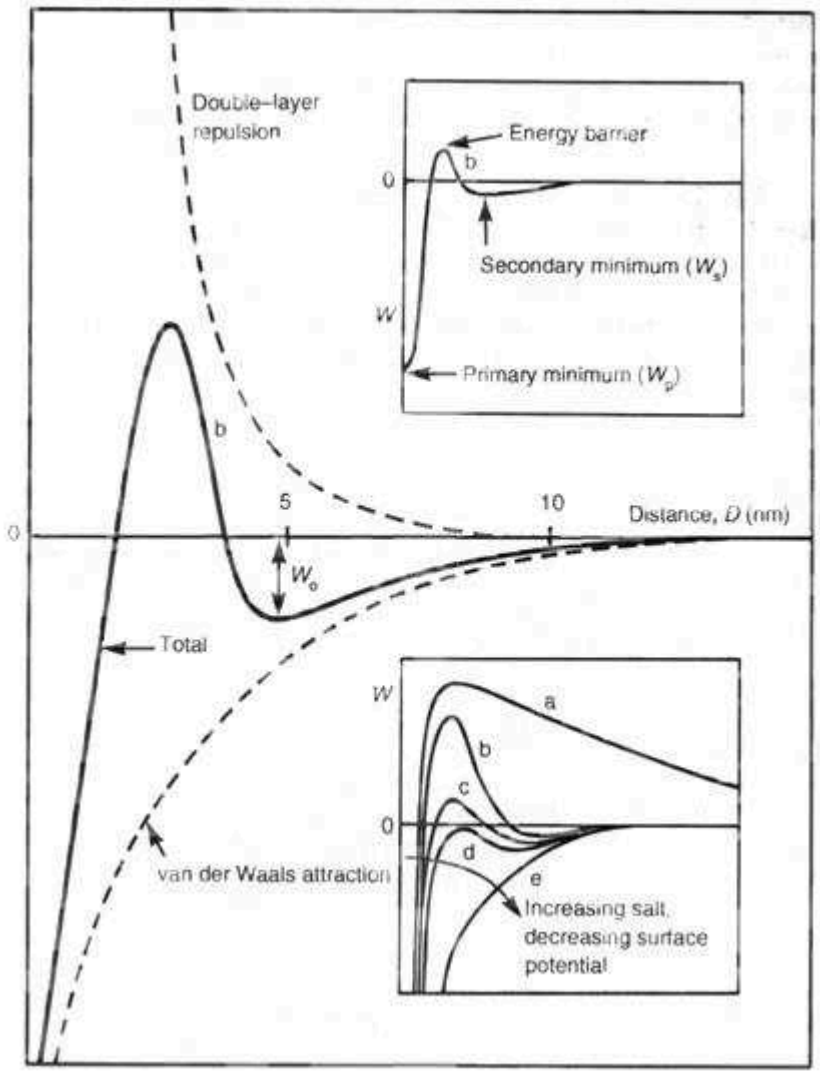


Figure 2 : Energie d'interaction entre les particules en fonction de la distance interparticulaire (Israelachvili 2011).

L'énergie résultante montre que la stabilité, que l'on doit aux forces de répulsion électrostatique, est fonction du maximum répulsif obtenu (barrière d'énergie). Si cette limite est franchie (rapprochement de deux particules) l'attraction l'emporte. Ainsi, la déstabilisation des colloïdes peut passer par la neutralisation partielle ou totale du potentiel zêta afin de réduire le maximum répulsif et par un apport d'énergie pour que les particules rentrent en collision et adhérent par attraction de type VDW. Mécanismes de la coagulation floculation

Le processus de coagulation floculation a montré son efficacité pour la séparation des solides dispersés dans un liquide. Le mécanisme consiste à réduire les charges responsables de la répulsion entre colloïdes et faciliter leur rencontre, afin de former des agrégats (flocs) qui pourront ensuite s'éliminer par sédimentation.

Les différents phénomènes se produisant durant un traitement de coagulation floculation sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1: Phénomènes se produisant durant la coagulation - floculation

(http://technique. eau.free.fr)

Stade	**Phénomènes**	**Terminologie**	**Cinétique**
Ajout du coagulant/floculant	Réaction avec l'eau : Ionisation ou hydrolyse	Hydrolyse	Instantanée
Déstabilisation	Compression de la double couche Adsorption spécifiques d'ions du coagulant à la surface du colloïde	Coagulation	Très rapide
	Emprisonnement des particules	Floculation	Rapide
	Adsorption et pontage par des polymères à longues chaines		Assez lente
Transport	Agitation thermique	Floculation péricinétique	Rapide
	Energie mécanique dissipée	Floculation orthocinétique	Lente

Comme indiqué dans le tableau 1, il existe différents moyens pour déstabiliser les colloïdes :

(1) La compression de la double couche

(2) L'adsorption et la neutralisation des charges

(3) L'adsorption et pontage par des polymères à longues chaines

(4) Emprisonnement des particules (sweep ou balayage).

Un coagulant peut agir selon plusieurs mécanismes de déstabilisation.

II.3.1. Déstabilisation par compression de la double couche (coagulation électrostatique*)*

L'ajout d'un électrolyte dans une solution colloïdale, va directement augmenter la densité de charge dans la couche diffuse, réduire l'épaisseur de la double couche, ce qui permet de diminuer le potentiel zêta en valeur absolu. Plus la force ionique augmente plus la répulsion diminue en favorisant une attraction entre colloïdes.

II.3.2. Adsorption et neutralisation des charges

Le coagulant ou les produits d'hydrolyse peuvent s'adsorber à des groupements fonctionnels ionisés au niveau de la couche de Stern. Dans ce cas la dose de coagulant active est très étroite et obéit à une relation stœchiométrique En effet, un excès de coagulant conduit à une inversion des charges de surfaces des particules qui deviennent positives et se restabilisent (Dihang et al., 2007) (Figure 3). Ces coagulants peuvent être des cations (Al, Fe, Ca) ou des espèces moléculaires ionisées.

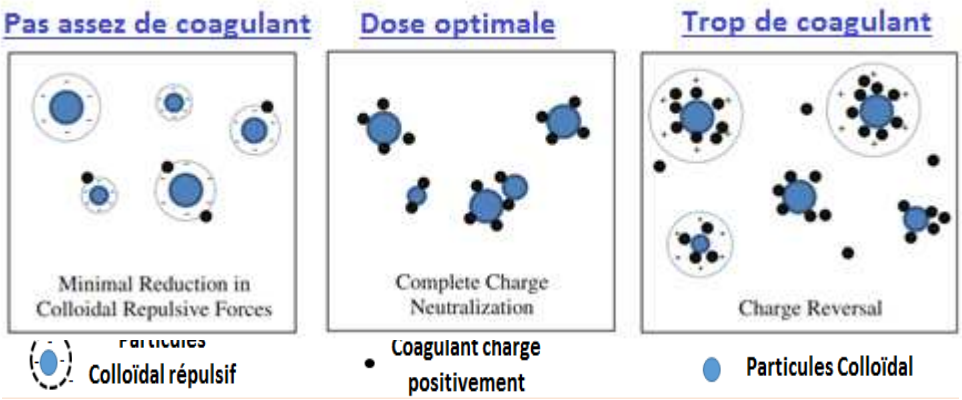


Figure 3: Coagulation floculation par neutralisation des charges *(Choy et al 2015)*

Les sels métalliques les plus utilisés en coagulation floculation, sont les sels d'aluminium (Al^{3+}) ou de fer (Fe^{3+}). Pour la coagulation ont maintient une zone de pH correspondant majoritairement aux formes hydrolysées faiblement soluble d'hydroxydes métalliques. Le diagramme de spéciation de l'aluminium en fonction du pH (figure 4) illustre le phénomène

avec une zone d'utilisation des sels d'aluminium pour des valeurs de pH comprises entre 5,5 et 7,5.:

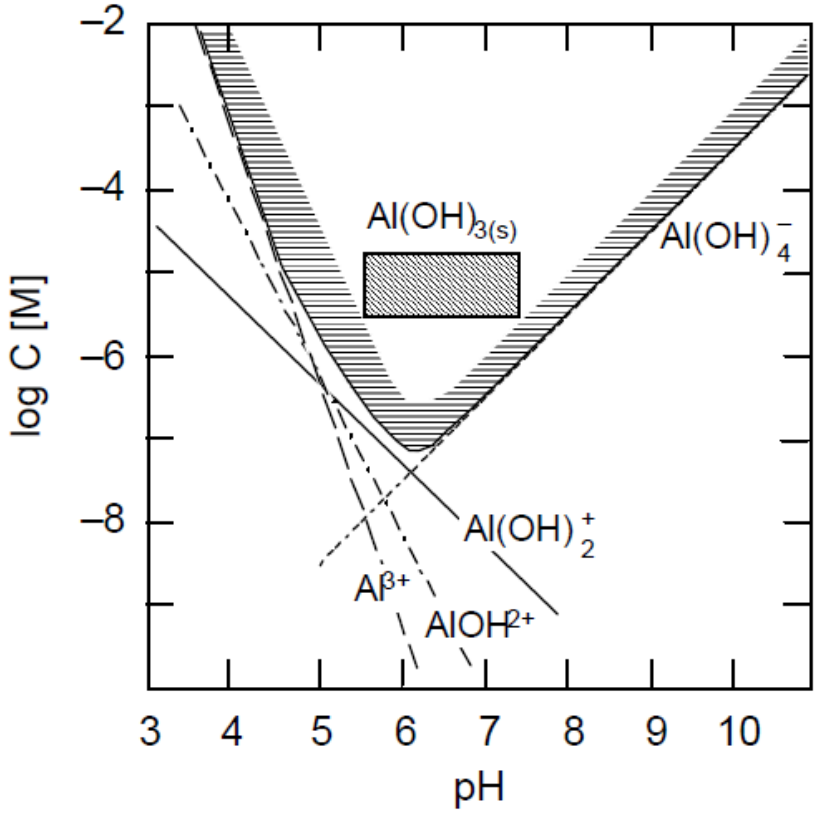


Figure 4: Les produits d'hydrolyse d'aluminium formés en fonction de la concentration et du pH

II.3.3. Adsorption et pontage : floculation chimique par des polymères à longues chaines

L'ajout de polymères de masse moléculaire élevé et possédant de multiples charges au niveau de la chaîne moléculaire, favorise la déstabilisation des matières colloïdales. Un même colloïde pouvant se faire adsorber « plusieurs » fois, on a ainsi formation du floc par pontage des polymères (Lamer et Healy 1963) comme décrit sur le schéma ci-dessous (figure 5). Ces polymères sont des meilleurs floculants que les sels métalliques.

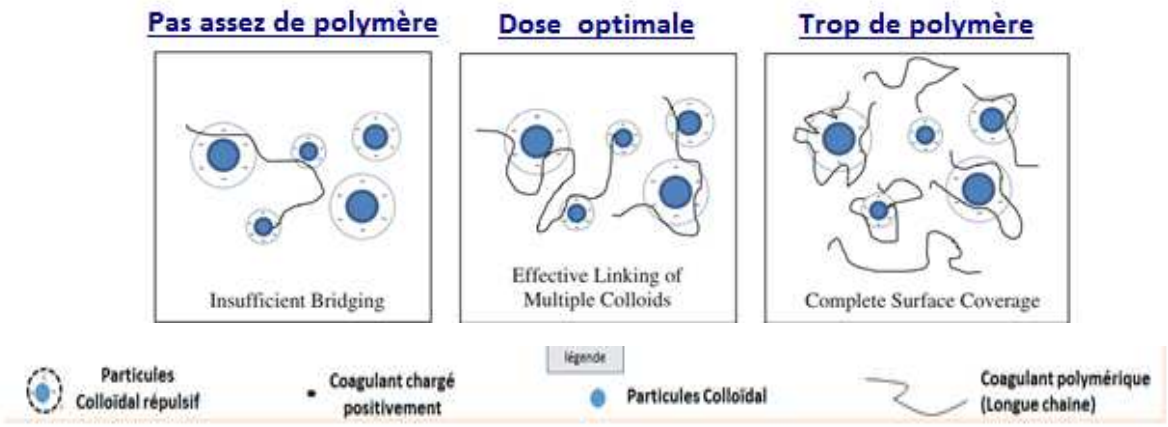


Figure 5 : Floculation par adsorption et pontage (Choy et al., 2015)

II.3.4. Coagulation/floculation par entrainement (emprisonnement des particules ou sweep)

Ce processus n'est plus stœchiométrique et ne dépend pas de la charge du coagulant. Il concerne les suspensions très concentrées initialement ou par l'apport d'une forte charge colloïdale d'hydroxyde métallique.

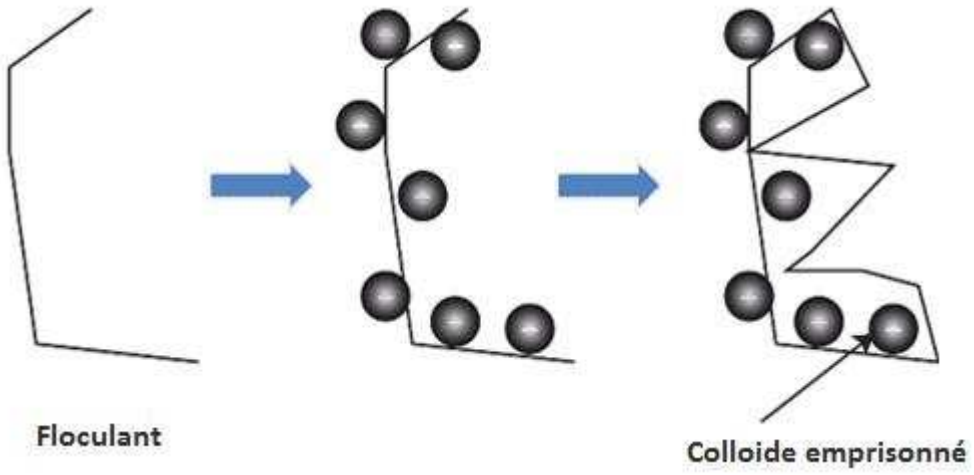


Figure 6 : Floculation par emprisonnement (balayage ou sweep) (Tardat et al., 2000)

II.3.5. Floculation physique

Une fois déstabilisés, les colloïdes doivent rentrer en collision pour s'agglomérer et atteindre une taille suffisante pour être séparés gravitairement.

On détermine l'importance de l'agitation lors de la floculation. En général deux phénomènes régissent la vitesse de floculation : on distingue la floculation péricinétique due à l'agitation désordonnée induite par la diffusion thermique qui engendre des chocs entre particules colloïdales. La floculation orthocinétique provoquée par un cisaillement (création d'un gradient de vitesse) devient efficace et nécessaire quand la taille des amas de particules augmente avec une diminution de la concentration particulaire. La floculation orthocinétique devient plus efficace que le mécanisme péricinétique pour des tailles de particules supérieures à environ 1 µm (Boutaric A., 1931).

II. 4. Paramètres influençant la coagulation floculation

Plusieurs paramètres influencent le processus de floculation :

- Le pH
- La dose du coagulant
- La vitesse d'agitation
- Le temps d'agitation

II.4.1. Influence du pH

Le pH fixe la spéciation du coagulant et/ou floculant introduit mais modifie également les propriétés de l'ensemble des espèces solubles ou colloïdales présentes dans l'eau à traiter. Dans le cas des sels métalliques, la nécessité de travailler en présence des précipités d'hydroxyde colloïdale limite la zone de pH pouvant être utilisée (figure 5). Le précipité métallique peut avoir une nature différente en fonction des anions associés (phosphates, sulfates) et les réactions à la surface de l'hydroxyde (sorption) dépendront également de la valeur de pH retenue.

II.4.2. Influence de la dose du coagulant

Comme décrit précédemment (II.3), parmi les mécanismes de déstabilisation, l'adsorption et la neutralisation des charges de surface des colloïdes dépend de la concentration en ions pouvant s'adsorber et donc présent en solution. Dans ce cas, au-delà de la stœchiométrie un phénomène peut apparaitre par inversion de signe de la charge moyenne de la particule. Dans le cas de floculants les doses à appliquer sont beaucoup plus difficile à estimer car la structuration du floc peut contribuer à des phénomènes d'entrainement.

II.4.3. Influence de la vitesse et temps d'agitation

La vitesse et le temps d'agitation sont deux paramètres en antagonisme si l'on raisonne strictement en puissance dissipée (Wang et al 2011), mais plus la vitesse est importante plus le cisaillement et la cinétique de floculation orthocinétique devient importante mais limite la taille maximale des flocs (Sonntag et al., 1986), Ainsi, pour augmenter le nombre de chocs en limitant le cisaillement il faut absolument avoir une durée d'agitation suffisante.

III. Les coagulants et floculants

III. 1. Les coagulants chimiques

Les réactifs chimiques sont largement utilisés dans le traitement des eaux et peuvent être classés en deux grands groupes : les coagulants inorganiques et les polymères organiques synthétiques. Les coagulants inorganiques peuvent être utilisés seuls ou avec ajout de polymères organiques pour l'étape de floculation et réciproquement (tableau 2).

- Les coagulants inorganiques

Les sels inorganiques multivalents, tels que les sels de fer (III) et d'aluminium et dans une moindre de mesure de calcium et de magnésium sont très largement utilisés en tant que coagulant pour le traitement des eaux à cause de leur faible coût par rapport à des polymères de synthèse. Le procédé présente cependant les contraintes suivantes : nécessité d'ajuster le pH par ajout de chaux, difficulté à traiter des effluents avec des concentrations colloidales faibles. De plus, comme reporté dans de nombreuses études (Banks et al., 2006, Lee et al., 2014), leur utilisation entraînerait :

- la production de gros volumes de boues d'hydroxydes métalliques toxiques et difficile à valoriser,
- un risque de départ d'aluminium dans l'eau traitée avec effets négatifs sur la santé (Alzheimer) (Banks et al., 2006).

III.1.2. Les floculants organiques de synthèse

Depuis de nombreuses années de nombreux polymères synthétiques sont utilisés comme adjuvants de floculation au sels métalliques pour améliorer l'efficacité de la coagulation floculation (Ahmed et al., 2008). Les floculants organiques commerciaux sont des polymères linéaires ou ramifiés solubles dans l'eau, cationiques et dont l'unité de base composée de divers monomères tels que l'acrylamide et l'acide acrylique (figure 7), par exemple. Dans la plupart des cas, ils proviennent de matières premières à base de pétrole non réutilisable (Suopajärvi et al., 2014).

Figure 7 : Structure chimique de deux polymères : polyacrylamide et chlorure diallyl diméthyl d'ammonium

Les floculants synthétiques utilisés pour la potabilisation des eaux sont le polyacrylamide, le chlorure diallyl diméthyl d'ammonium (DADMAC) ((figure 9), le polyamine (Singh et al., 2000). Les polymères améliorent l'efficacité de traitement des eaux usées qui peut varier selon plusieurs paramètres tels que :

-le nombre de groupements fonctionnels (Figure 7),

-le poids moléculaire et la structure (linéaire ou ramifiée)

-le type d'effluent et le pH de la solution,

-les autres réactifs introduits : coagulants,

Un floculant peut-être le seul acteur impliqué dans le procédé de coagulation floculation il peut déstabiliser puis ponter les particules de l'effluent. Ainsi, Wong et al., (2006) ont testé l'efficacité d'un polyacrylamide cationique (organopol 5415) pour le traitement des eaux usées de l'industrie de pâte et papiers.

Les floculants synthétiques peuvent être aussi utilisés pour améliorer la coagulation floculation avec un sel métallique. Dans ce cas, ils permettent en particulier de structurer les flocs formés et d'en augmenter la taille. Amuda et Amoo 2007, ont montré l'efficacité du traitement des eaux usées des boissons industrielles par ajout du chlorure ferrique seul comme coagulant et en combinaison avec le floculant synthétique de polyacrylamide. L'ajout de 25 mg L^{-1} de polyacrylamide au coagulant a amélioré la qualité du traitement de 3.5 fois la même condition de pH. Par ailleurs le traitement en combinaison a permis de réduire de 60 % du volume des boues formées après traitement. En général, l'ajout des floculants synthétiques améliore la qualité du traitement des différents effluents.

Un coagulant organique ne modifie que très faiblement ou pas le pH et apporte très peu de salinité supplémentaire. Il conduit à une réduction importante du volume de boue produit. Les boues extraites sont plus denses, mais aussi plus collantes (Lee et al., 2014). Toutefois, l'utilisation des floculants synthétiques peut présenter des risques sanitaires, avec la libération de monomères, tels que le formaldéhyde, l'acrylamide et la diméthylamine, qui sont des espèces toxiques, neurotoxiques ou cancérigène (T.K.F.S. Freitas et al., 2018) et résistantes à la biodégradation.

Pour ces raisons, des matériaux biodégradables et respectueux de l'environnement sont testés afin de substituer les floculants synthétiques par des biofloculants et peuvent être une solution prometteuse en traitement des eaux par coagulation floculation.

III.2. Les biofloculants

II.2.1. Présentation et mode d'action

Les coagulants d'origine naturelle comprennent à la fois les ressources végétales et animales. Parmi les coagulants d'origine animale les plus communément utilisés, citons l'ichtyocolle obtenue à partir de la vessie de poisson (Biggs et al., 2000) ou le chitosane extrait de la coquille de crustacés (Bratby 2007). Les coagulants à base de plantes ont été beaucoup

plus utilisés et ont acquis une importance significative depuis les dernières années. Comparés aux floculants chimiques conventionnels, les biofloculants sont des polymères biodégradables, assez stables, facilement disponibles à partir de ressources agricoles durables et ne produisent aucune pollution secondaire (Bolto et Gregory, 2007). Comme les polymères utilisés sont biodégradables, les boues peuvent être efficacement dégradées par les microorganismes (Renault et al., 2009).

Les biofloculants peuvent déstabiliser les particules colloïdales en augmentant la force ionique (coagulation non spécifique) (Lee et al., 2014). Ils peuvent également spécifiquement s'adsorber par la présence de groupes fonctionnels commepar exemple des groupes amine etalcool) (Özacar et Şengil, 2003). Dans ce cas ils agissent selon un mécanisme d'adsorption et pontage. Depuis de nombreuses années, les floculants à base de biopolymères tels que le chitosane, les tanins, la cellulose, l'alginate, les gommes et le mucilage suscitent un large intérêt auprès des chercheurs.

III.2.2. Les biopolymères

Les biopolymères sont essentiellement des polysaccharides (amidon, cellulose...), mais aussi des polyphénols (lignine et tanins) et des protéines. Dans la prochaine partie, nous décrirons les familles biochimiques des biofloculants.

IIII.2.2.1. Les polysaccharides

IIII.2.2.1.a. Chitosane

Puisque la plupart des colloïdes naturels sont chargés négativement, les polymères cationiques présentent un intérêt particulier en tant que floculants. Le chitosane est un polymère avec une fonction amine (pKa 6.5) (Lee et al., 2013) obtenu à partir de la désacétylation alcaline de la chitine extrait de coquillages. C'est un amino-polysaccharide hydrophile linéaire avec une structure rigide contenant à la fois des unités de glucosamine et d'acétylglucosamine (figure 8). Les longues chaînes de haut poids moléculaire, produisent un agent coagulant et floculant efficace pour l'élimination des contaminants (Guibal et al., 2006, No et Meyers, 2000, Renault et al., 2009). Il est insoluble dans l'eau neutre ou dans les solvants organiques mais soluble dans l'eau en milieu acide (Renault et al., 2009 ; Szyguła et al., 2009).

À une valeur de pH inférieure à 5, le chitosane devient un polymère cationique soluble à forte densité de charge (Rinaudo, 2006). Ainsi, le traitement des eaux usées par le chitosane est possible par adsorption et/ou pontage de colloïdes, d'anions métalliques, de colorants, de composés organiques (Renault et al. 2009).

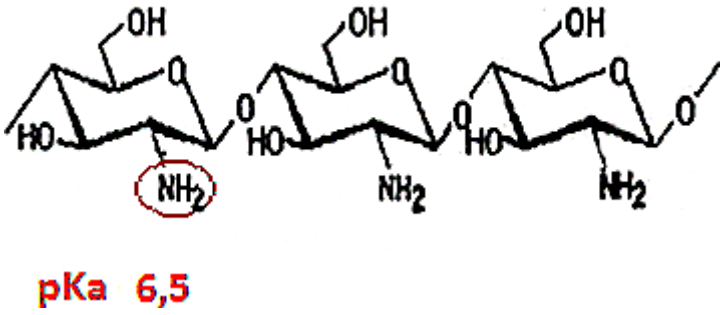


Figure 8 : Structure chimique du chitosane (Alves et al., 2008)

Plusieurs études ont montré l'efficacité de ses propriétés en coagulation floculation pour des effluents colorés (Guibal et Roussy, 2007), les eaux usées de l'industrie de textiles (Szyguła et al., 2009), les effluents chargés en pulpe dans les sucreries (lignine et composés chlorés), les effluents des usines de papier (Rodrigues et al., 2008), les métaux lourds, les composés phénoliques (Renault et al., 2009), ainsi que pour les effluents synthétiques à base de kaolinite (Li et al., 2013).

III.2.2.1.b. Cellulose

La cellulose est l'un des polysaccharides naturels les plus abondants (figure 9), il a un pKa qui varie entre 11 et 12 lié à ses fonctions alcools selon Bialik et al. (2016). Ce biopolymère est le principal constituant de la paroi des cellules végétales. Sa structure fibreuse est constituée de longues chaînes de molécules de O-glucose, reliées les unes aux autres par des liaisons ß-1,4-glucosidiques. La réunion de plusieurs de ces macromolécules linéaires, parallèles, forme une fibrille, ou micelle, dont la cohésion est assurée par les liaisons hydrogènes qui s'établissent d'une macromolécule à une autre, à partir des groupements hydroxyles (Bialik et al., 2016). Sa conformation et ses propriétés structurale lui permettent d'être un bon floculant. (Zhabankov et al., 2002). La déstabilisation des suspensions dans le cas de la cellulose,

s’effectue selon un processus d’emprisonnement et d’entrainement des particules dans un précipité (sweep).

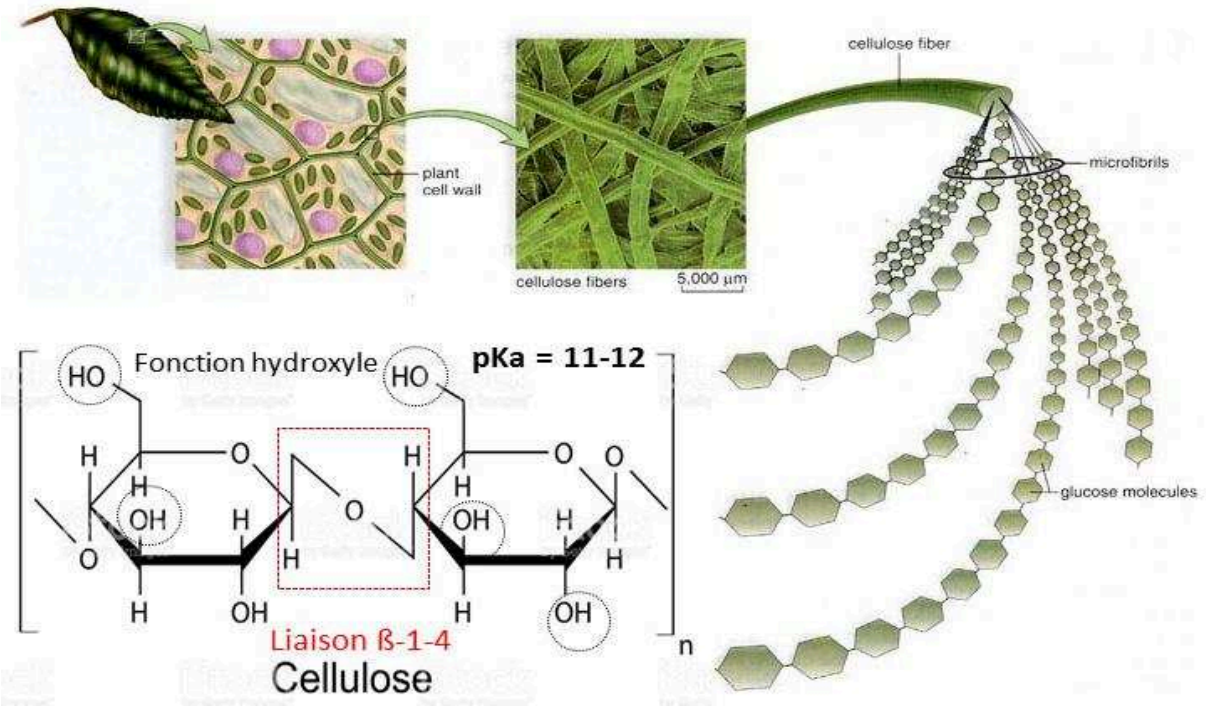


Figure 9 : Structure chimique de la cellulose (Zhabankov et al., 2002)

III.2.2.1.c. Amidon

L'amidon est un biopolymère, qui a attiré l'attention des industries pour le traitement des eaux usées en raison de ses fonctions d’hydroxyles, de sa biodégradabilité et de son faible coût. L'amidon représente l’un des polymères les plus abondants, il est constitué d'un mélange de deux polymères dont les taux sont variables en fonction de l’espèce végétale : l’amylose (linéaire) et l’amylopectine (ramifiée grâce aux liaisons α 1-6) (figure 10). Contrairement à la cellulose qui est fibreuse, l’amidon contient des monomères de glucose lié en α 1-4, ce qui permet à la molécule d’avoir une conformation hélicoïdale souple (avec des ramifications). La molécule d’amidon est donc plus réactive que la cellulose même s’il est constitué par les mêmes monomères. Teh et al. (2014) ont étudié la possibilité de remplacer les coagulants inorganiques par l’amidon pour le traitement des eaux usées de l’industrie de fabrication d’huile de table. Une élimination de 84 % des matières solides en suspension a été obtenu aux conditions optimales (pH 3 ; dose de 2 g L^{-1} de l’amidon)

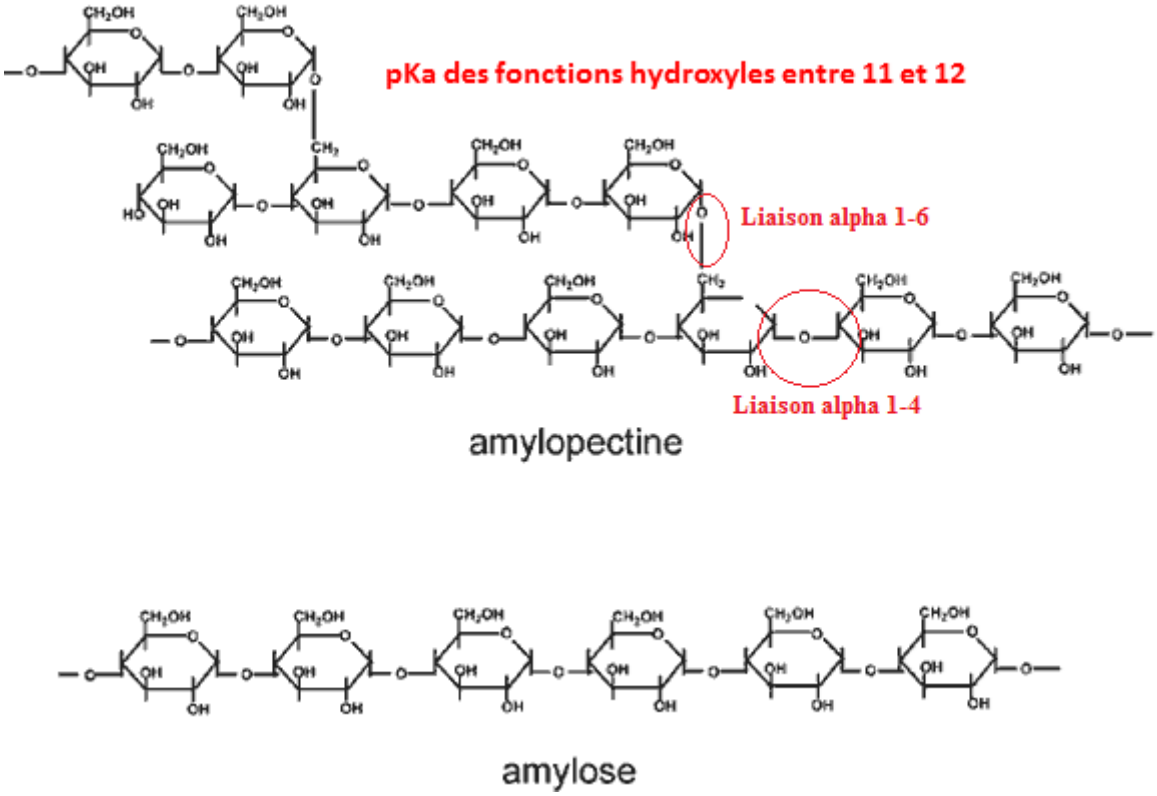


Figure 10 : Structure chimiques de l'amidon (Teh et al., 2014)

III.2.2.1.d. Alginate de sodium

L'alginate de sodium, est un polymère linéaire anionique soluble dans l'eau de poids moléculaire moyen de 500 000 Da (Wu et al., 2012) (Figure 11) et un pKa de 3.2 lié à la fonction d'acide carboxylique (Rehm et al., 2009). Les alginates, présents dans tous les types de Phéophycée (algues brunes), sont des polysaccharides structuraux capables non seulement d'apporter la rigidité à l'algue mais aussi d'en prévenir le dessèchement dû à l'exposition à l'air à marée basse. On les trouve dans le mucilage des algues brunes, sous la forme d'un sel insoluble, constituant parfois jusqu'à 40% de l'extrait sec de ces algues (Palluault 2010). Ses propriétés lui permettent de jouer le rôle de floculant. Des études de floculation pour le traitement d'effluents industriels du textiles et d'eaux synthétiques colorées en utilisant le sulfate d'aluminium comme coagulant (Wu et al., 2012) ont montré un fort pouvoir floculant des alginates avec plus de 90% d'élimination de la couleur et une réduction de 80% de la DCO.

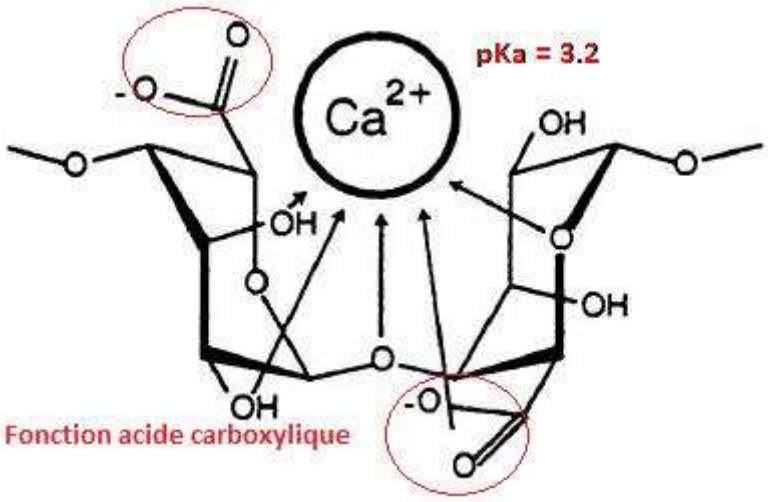


Figure 11 : Structure chimique d'un gel formé par l'alginate de sodium et les ions de calcium *(Huang et al., 1999)*

III.2.2.1.e. Les gommes et mucilage

Les gommes et le mucilage ont été proposés comme une alternative crédible par rapport aux polymères conventionnels dans le traitement des eaux usées. Les mucilages sont des polymères complexes de nature glucidique avec une forte structure ramifiée. Les mucilages se rencontrent dans un grand nombre de végétaux, appelés plantes mucilagineuses. Ce sont des produits formés durant la croissance normale de la plante, mais les mucilages ne sont pas situés à la surface des épidermes sous forme d'exsudats suite à une action bactérienne ou fongique ou suite à une blessure mécanique, (cas des gommes). On les rencontre dans les organes les plus divers, dans les fleurs (mauve, guimauve), les feuilles (bourrache, capillaire, pourpier), l'écorce (cannelle), les téguments des graines (moutarde blanche, fenugrec), les bulbes (oignons), les racines (guimauve), les fruits (caroubier), la pulpe de fruit (cacao)…Les mucilages se retrouvent également dans les exsudats racinaires de certaines plantes (Marouf et al., 2015). Aujourd'hui, les floculants naturels à base de gommes, de mucilage et de dérivés d'espèces végétales, tels que *Hibiscus* / *Abelmoschus esculentus* (Okra), *Malva sylvestris* (Mauve), *Plantago psyllium* (Psyllium), *Plantago ovata* (Isabgol), *Tamarindus indica* (Tamarin) et *Trigonella foenum-graecum* (fenugrec) ont été développés. Ils sont constitués de chaîne de de B-D-glucose lié en 1,4, et ayant une chaîne latérale trisaccharide attachée (Figure 12). Leur pKa varie entre 3 (fonction acide carboxilique) et 11-12 (fonction alcool (Bialik et al., 2016). Jansson et al. (1975) ont montré des résultats

prometteurs en efficacité pour le traitement de lixiviats (Al-Hamadani et al., 2011), d'effluents de l'industrie textiles (Mishra et Bajpai, 2005) et des effluents de tannerie (Mishra et al., 2004). Une élimination d'au moins 85% des matières en suspension (MES), 70% de la turbidité, 60% de la DCO et 90% de la couleur a été rapportée dans ces études. Certains d'entre eux ont montré une efficacité à faibles doses et comparables aux floculants synthétiques. Plus de 85% des matières en suspension ont été éliminées des effluents des tanneries en utilisant respectivement 0,12 g/L de gomme d'okra et 0,08 g / L de mucilage de fenugrec. (Mishra et al., 2004).

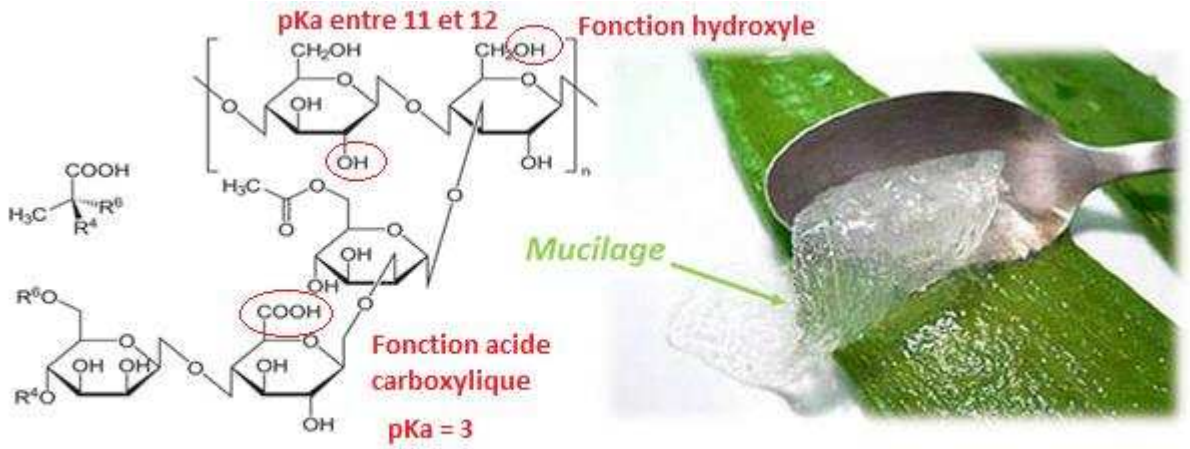


Figure 12 : Structure chimique de la gomme de xanthane (Jansson et al., 1975)

III.2.2.2. Les polyphénols

Parmi les polyphénols les plus utilisés en coagulation floculation, on trouve les tanins qui proviennent de métabolites secondaires de végétaux : ils sont présents dans l'écorce, les fruits, les feuilles. Ce sont des biofloculants efficaces pour la dépollution des effluents synthétiques ou réels (Graham et al., 2008 ; Beltran et al., 2009). Ils ont un pKa qui varie entre 8.6 et 11.2 liés aux fonctions phénols (Genaro et al., 2015). Les tanins sont des polymères anioniques qui ont un poids moléculaire entre 500 et 3000 Da (Özacar et Şngil, 2000). Ils sont classifiés en 4 types : gallotanins, ellagitanins, tanins complexes ou hydrolysables et tanins condensés (figure 13).

Les tannins hydrolysables renferment trois groupes : les esters d'acides phénoliques, les esters d'acides phénoliques et les sucres. Les glucosides constituent le groupe le plus abondant où l'acide gallique est le plus important.

Les tanins condensés, sont appelés aussi flavotanins. Ils sont formés par la polymérisation de la catéchine à différents degrés. Les flavotanins sont souvent associés aux anthocyanes. En presence d'alcool et de HCl 5N, ils sont dégradés avec formation de pigments anthocyaniques de coloration rouge (cyanidine) (Aissam et al., 2003).

Les propriétés floculantes des tanins ont été évaluées pour l'élimination des matières colloïdales ainsi que pour la potabilisation des eaux (Özacar et Şengil, 2003). Dans ces études, un coagulant tel que le sulfate d'aluminium était nécessaire pour la déstabilisation des particules colloïdales chargées négativement, tandis que le tanin anionique agissait comme floculant pour agglomérer les agrégats déstabilisés afin de former des flocs destinés à sédimenter. Une étude a montré que la combinaison entre le sulfate d'aluminium agissant comme un coagulant et le tanin comme un floculant réduisait 20 % de la dose nécessaire de coagulant (Özacar et Şengil, 2003).

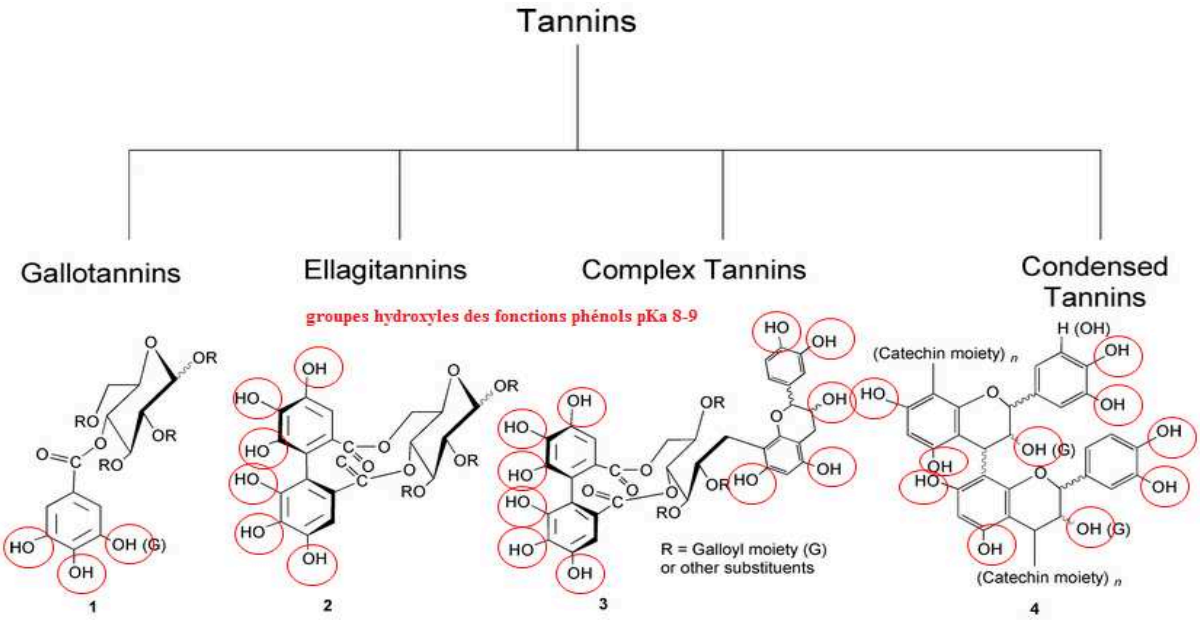


Figure 13 : Structures chimiques des différents types de tanins (Khanbabaee et al., 2001)

III.2.2.3. Les protéines

Les protéines sont des polymères naturels azotés dont la taille varie entre plusieurs milliers et plusieurs millions de daltons. Les protéines se composent d'un enchaînement linéaire d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques (figure 14). Les acides aminés portent au moins deux groupes ionisables, les groupes COOH et NH_2, leur pKa est d'environ 2 et entre 8 et 11 respectivement (Osborne 1924). Il existe quatre grandes familles de protéines d'origine végétale, classées selon leur solubilité (Osborne 1924) : les globulines, les albumines, les glutélines et les prolamines. Les albumines et les globulines constituent la majeure fraction protéique des végétaux. Plusieurs chercheurs ont étudié le pouvoir floculant des protéines des plantes. Ndabigengesere et al., (1995) ont montré que la matière active responsable du phénomène de coagulation floculation de *Moringa oleifera* est une protéine cationique qui a un poids moléculaire de 13 KDa est un point isoélectrique entre une valeur de pH de 10 et 11. Le traitement d'un effluent synthétique de kaolin caractérisé par une turbidité initiale de 105 NTU avait montré que la matière active de *Moringa Oleifera* agit selon un mécanisme d'adsorption et neutralisation des charges puis pontage pour une dose de 50 mg L^{-1}. Ainsi, Fatombi et al., (2013) ont extrait une protéine de *Nocos Nucifera* caractérisée par un poids moléculaire de 5,6 KDa et un point isoélectrique de 7,5, cette protéine fonctionne selon le même mécanisme (adsorption) et a le même pouvoir floculant que *Moringa* Oleifera pour le traitement d'une suspension de silice à une dose de 250 mg L^{-1}.

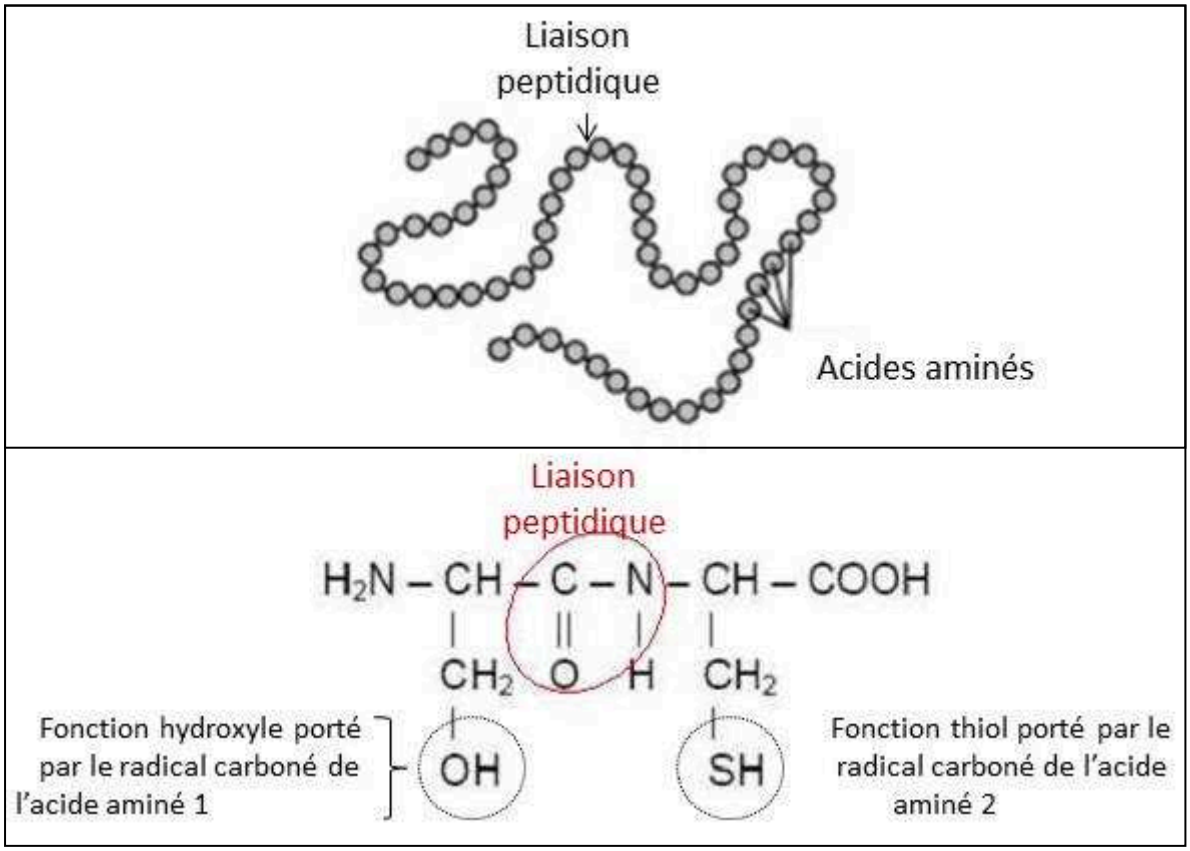


Figure 14 : Schéma d'une protéine (en haut) et structure chimique d'un dipéptide (en bas)

A part le chitosane, la majorité des biofloculents nécessite l'ajout d'un coagulant dans la mesure où l'effluent contient des colloïdes chargés négativement. Pour optimiser l'utilisation des biofloculants, la modification des biopolymères est recommandée.

III.2.3. Modification de biofloculants

III.2.3.1. Généralités

La forte demande et les besoins du marché en floculants efficaces pour le traitement des eaux usées ont motivé les recherches en développement de polymères modifiés pour la dépollution des eaux usées (tableau 2). Les matériaux modifiés sont apparus comme de nouveaux matériaux qui présentent un énorme potentiel dans le traitement des eaux usées en raison de leurs propriétés et de leur performance (Lee et al., 2012).

La fonctionnalisation des polymères permet de modifier les biopolymères qui n'ont pas ou pas suffisamment de groupes ionisables et pas forcément les groupes cationiques présents pour permettre une déstabilisation efficace des particules.

Le greffage est l'introduction de polymères composés de macromolécules comportant une ou plusieurs chaînes liées au biofloculant. Les chaînes constituant des chaînes latérales et sont de constitution ou de conformation différentes de celles du biofloculant (chaîne principale).

III.2.3.2. La fonctionnalisation

De manière générale, si l'on considère que les colloïdes sont majoritairement chargés négativement, l'apport de groupement cationique (ammonium) peut donner à la molécule un effet coagulant. De même le greffage d'un groupement anionique (carboxylique) est possible.

Certains effluents complexes contiennent un mélange de polluant de différentes charges (eaux naturelles, eaux industrielles) qui peuvent contenir des particules colloïdales cationiques et anioniques indésirables. Pour cette raison, il a été proposé de préparer des floculants amphotères afin de réduire des contaminants présents sous une forme cationique comme anionique. Des floculants amphotères à base de chitosane ont été synthétisés par ajout de Chlorure de 3-chloro-2-hydroxypropyltriméthylammonium (CTA) et leurs caractéristiques floculantes ont été testées pour le traitement de différents effluents (figure 15) : effluent synthétique à base de kaolin (Yang et al., 2012a, b), eau brute de rivière (Yang et al., 2012a) et une solution contenant des colorants synthétiques (Yang et al., 2013).

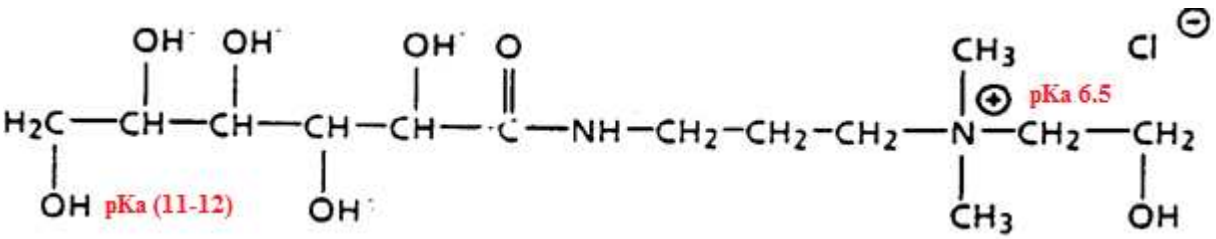


Figure 15 : Chlorure de 3-chloro-2-hydroxy propyl triméthyl ammonium

Les résultats ont montré que le floculant amphotère de chitosane a une efficacité d'élimination supérieure à celle du chitosane et produit notamment des flocs plus denses (Lee et al., 2014). De même, afin de substituer l'ajout d'un coagulant lors du traitement, un tanin modifié (Tanfloc) a été proposé récemment pour éliminer les métaux des eaux de surface polluées (Beltrán Heredia et Sánchez Martín, 2009) (figure 16). Le Tanfloc est obtenu à partir de l'écorce d'*Acacia mearnsii* et modifié par un processus physico chimique. Des groupes de gommes hydrocolloïdes et d'autres sels solubles sont inclus dans la structure du Tanfloc avec

une modification chimique qui comprend un azote quaternaire pour donner le caractère cationique à la molécule (Beltrán Heredia et Sánchez Martín, 2009). En raison de sa propriété cationique, il peut être utilisé pour la floculation directe sans ajustement du pH.

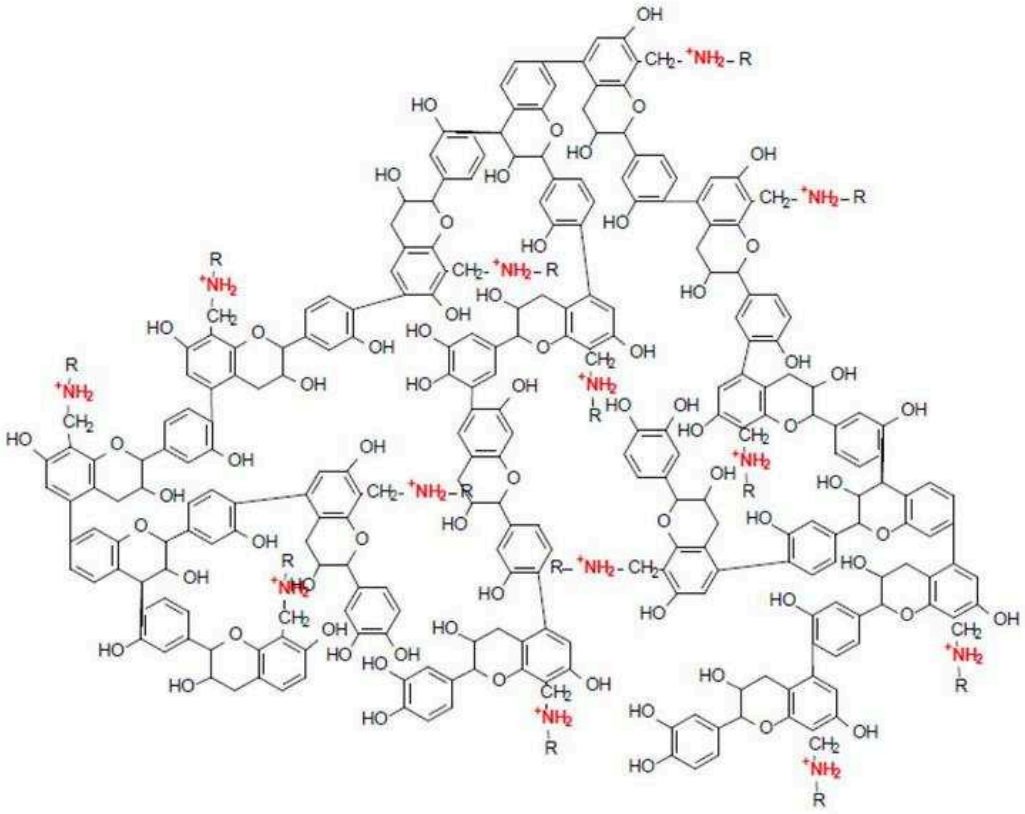


Figure 16 : Structure chimique du Tanfloc

La cellulose a fait l'objet de travaux de recherches ces dernières années, principalement en vue de modifier sa structure physique et chimique en améliorant ses propriétés et en élargissant ses applications industrielles (Das et al., 2012).

III.2.3.3. Le greffage de polyacrylamide

D'autres études ont montré que l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) sur laquelle on a greffée des polyacrylamides (PAM) peut être utilisée comme floculant à haute performance pour le traitement des effluents. Les expériences de floculation suggèrent que les floculants à base de HPMC-greffés-PAM présentent une meilleure efficacité de floculation par rapport au polysaccharide de base (Das et al., 2013 ; Liu et al., 2014 ; Zhu et al., 2016). De nombreux autres biofloculants greffés par des polyacrylamides sont proposés, tels que le

psyllium (Psy-g-PMMA) (Mishra et al., 2014 ; Wang et al., 2009), l'amidon (St-g-PAM) (Mishra et al. 2011), la gomme de guar carboxyméthylique (CMG-g-PAM) (Pal et al., 2011), et le poly 2- gélose (Rani et al., 2013). Comme présenté dans le tableau 2, de nombreux copolymères greffés ont été synthétisés avec succès en greffant des du chlorure de poly 2-méthacryloyloxyéthyltriméthylammonium sur des gommes (Pal et al., 2011), du chitosane (Wang et al., 2007), de l'alginate de sodium (Pal et al., 2012), de la cellulose (Das et al., 2013), de l'amidon (Sen et al., 2009), la farine d'avoine (Bharti et al., 2013) et de l'agar (Rani et al., 2012). Les propriétés floculantes des copolymères greffés ont été testées sur différents types d'effluents (eaux usées des usines de pâtes, effluents de textiles et eaux usées des mines) et ont montré une propriété floculante variable et fonction du poids moléculaire.

En raison de la variation du nombre et de la longueur des chaînes de polyacrylamide greffée sur le squelette, on observe que les copolymères greffés ont des chaînes plus longues avec un poids moléculaire et une structure ramifiée élevée. Ces caractéristiques facilitent les pontages aux contaminants des effluents et permettent d'avoir des efficacités élevées (de 95 à 99 % d'abattement) par ajout de faible dose (1-20 mg L^{-1}) (Bolto et Gregory, 2007 ; Singh et al., 2000). Quelques études ont montré que les copolymères greffés présentaient de meilleures capacités d'abattement de la turbidité par rapport aux floculants classiques de synthèse (Pal et al., 2005 ; Singh et al., 2006 ; Wang et al., 2008a).

III.2.3.4. Greffage

Les copolymères greffés sont généralement plus résistants à la biodégradation (Singh et al., 2000). En principe, les floculants organiques cationiques devraient être plus efficaces pour le traitement de solutions colloïdales ou contenant des macromolécules chargées négativement telles que des argiles et les colorants. Des floculants cationiques ont été synthétisés en incorporant un fragment cationique de chlorure de N- (3-chloro-2-hydroxypropyl) triméthyl ammonium (CHPTAC) sur le squelette de la gomme de guar (Singh et al., 2006) ou de l'amidon (Pal et al., 2005, Pal et al., 2008. Ces études ont montré que les floculants cationiques avec des chaînes CHPTAC plus longues présentaient une meilleure performance de floculation (> 90 % d'battement) comparativement à des floculants commerciaux, tels que Magnafloc LT22, Magnafloc 351, Rishfloc 226 LV et Rishfloc 440 HV.

Tableau 2 : Utilisation des floculants greffés dans le traitement des eaux usées

Coagulants	Floculants	Type de l'effluent traité	Paramètres	Abattement optimum	Références
Chlorure d'aluminium	Chitosan greffé avec PDMC (chlorure de poly (2-méthacryloyloxyéthyl) triméthyl ammonium)	Recyclage de papiers	Turbidité	98%	Wang et al 2007
Chlorure d'aluminium	Chlorure de (2-méthacryloyloxyéthyl) triméthyl ammonium (DMC) greffé avec du chitosane (cationique)	Eaux usés	Turbidité	99,4%	Wang et al 2009
Chlorure d'aluminium	Carboxyméthylamidon greffé de polyacrylamide hydrolysé (Hyd.CMS-g-PAM)	Textile	Turbidité	44%	Sen et al 2011
Chlorure d'aluminium	Amidon-g-PAM-g-PDMC [polyacrylamide et chlorure de poly (2-méthacryloyloxyéthyl) triméthylammonium]	Eaux usés	Turbidité	99,6%	Wang et al 2011
Chlorure d'aluminium	Gomme de guar carboxyméthylique greffée de polyacrylamide (CMG-g-PAM)	Colorants synthétiques	DCO	63,5%	Pal et al 2012
Chlorure d'aluminium	Gruau greffé de Polyacrylamide (OAT-g-PAM)	Eaux usées municipale	Turbidité	56%	Bharti et al 2013

IV. Les ressources végétales

IV.1. Diversité des ressources

De nombreux végétaux ont été envisagés pour intégrer un procédé de traitement des eaux en utilisant leur propriétés coagulante et floculante (tableau 3).

IV.2. Préparations des floculants

Les méthodes de préparation des ressources végétales sont simples et varient selon la plante utilisée. Patale et Parikh (2010) ont extrait le mucilage de *Coccinia indica*, par de l'eau ultrapure, puis par l'acétone. Ils ont ensuite séché l'extrait à 40 °C pendant 24 heures afin de l'utiliser directement en coagulation floculation. D'autres auteurs ont préféré garder tous les constituants et utiliser directement la poudre après une étape de séchage à 60 °C (Sowemyan et al 2011 ; Muhammad Shahzad Zafar 2015). D'autres chercheurs ont essayé d'extraire les constituants actifs, soit le mucilage (Shamsnejati et al., 2015) soit les protéines (Fatombi et al. 2013) par une extraction à l'eau en présence des sels, NaCl et KCl suivi d'une filtration.

En général, la majorité des constituants actifs responsables de la coagulation/floculation sont hydrosolubles dans l'eau ultrapure à un pH proche de la neutralité (Al-Samawi et al., 1996 ; Mbogo et al., 2008 ; Asrafuzzaman et al., 2011).

IV.3. Condition d'application des floculants (tableau 3)

Les taux de traitement optimum en biofloculants, varie entre 5 mg L^{-1} et 8000 mg L^{-1} pour avoir des abattements compris entre 20 % et 100 % et pour des valeurs de pH entre 6 et 10. Par comparaison, la dose de sels métalliques ajoutée pour le traitement des mêmes effluents variait entre 25 et 200 mg L^{-1} pour des valeurs de pH de 3 à 7.

Par ailleurs, la combinaison de biofloculants à des coagulants chimiques a bien sûr amélioré la qualité du traitement tout en réduisant la dose de sels métalliques à introduire et le volume des boues généré (Shasnejati et al., 2015 ; Freitas et al., 2015). Cette stratégie est donc un moyen efficace pour substituer les sels métalliques en coagulation floculation.

IV.4. Mécanisme d'action des biofloculants

Les biofloculants issus de végétaux sont majoritairement étudiés dans le cadre de la mise au point d'un procédé de traitement des eaux (pH et dose optimaux) et, peu ou pas d'études recherchent les constituants et les fonctions actives vis-à-vis de l'effluent à traiter. Les molécules actives ont cependant été identifiées pour *moringa oleifera, cocos nucifera*, pomme de terre (Ndabigngesere et al., 1995 ; Fatombi et al., 2013, Zafar et al., 2015, respectivement). Pour ces végétaux il s'agit de protéines pour *moringa oleifera* et *cocos nucifera* et d'amidon pour les pommes de terre.

Nous avons choisi d'étudier d'une manière approfondie, les fonctions et les molécules impliquées dans le procédé de coagulation floculation de deux matériaux d'origine végétale :

- Le cactus *Opuntia ficus indica,* largement étudié dans la littérature au niveau de sa mise en œuvre, un peu moins au niveau mécanistique.
- Les margines, un déchet issu de l'olive, actuellement non valorisé.

Tableau 3 : Résumé sur les matériaux végétaux utilisés comme coagulants naturels

Nom du coagulant	Image	Préparation	Type de l'effluent	Abattement/ dose	Turbidité initiale NTU	pH optimum	Dose optimale mg L^{-1}	Abattement %	Références
Hibiscus esculentus		Extraction à l'eau	Argile en poudre	9.99	3000	7,2-7,4	10	99,9	Al-Samawi et Shokralla 1996
Luffa cylindrica		En poudre	Eau de surface	0.01	32	9,4	8000	85	Sowemyan et al 2011
Arachis hypogaea		Extraction à l'eau	Eau de surface	0.09	482	7,6	1000	96,7	Mbogo 2008

Cicer arietinum		Extraction à l'eau	Argile	0.95	95		100	95,9	Asrafuzzaman et al 2011
Dolichos biflorus		Extrait à l'eau	Argile	0.05		7,5	20	96	Thakre et Bhole 1985
Glycine max		Extrait à l'eau	Argile	3.85		8	20	77	Bhole 1995
Lablab purpureus		Extrait à l'eau	Argile	4	100	7	20	80	Bhole 1995

Phaseolus angularis		Extrait à l'eau avec NaCl	Kaolin	4.5-5	250-300		10	45-50	Gunaratna et al 2007
Phaseolus mungo		Extrait à l'eau	Eau de surface	0.125	482	7,6	800	100	Mbogo 2008
Phaseolus vulgaris		Extraction à l'eau	Kaolin	15	17,5	10	5	>75	Sciban et al 2005
Pisum sativum		Extrait à l'eau	Eau de surface	0.09	482	7,6	1000	99	Mbogo 2008
Vigna unguiculata		Extrait à l'eau	Argile	4.15	100	7,5	20	83	Bhole 1995

Ocimum basilicum		Extraction à l'eau à 50°C + 0.9 % de NaCl pendant 1H	Textile Colorants cationique	2.28		6,5	9,6 + 20 mg de sulfate d'aluminium	68,5	S. Shamsnejati et al 2015
Moringa Oleifera		Extrait avec 0.5 M de $(NH_4)_2SO_4$	synthètique	18.8		5	5 mL	94	Jingxi Tie 2015
Potato		Extraction de l'amidon	Textile	25		3	2%	50	Muhammad Shahzad Zafar 2015
Gosspium Spp		Extrait à l'eau	Phosphate	0.14		6	500	>70	K.A Babayem 2015
Cocos nucifera		Extrait à l'eau		0.1		8	250	25	J.K. Fatombi 2013
Cassia obtusifolia		En poudre	Huile de palme	0.02		acide	1115 de sulfate d'aluminium + 2470	82	Shak 2015

Abelmoschus esculentus		Extrait à l'eau et à NaCl Et à KCl	Textile	1.06		6	88 de $FeCl_3$+3,2	97	T.K.F.S. Freitas 2015

V. *Opuntia ficus indica*

V.1. Généralités sur *opuntia ficus indica*

Opuntia ficus indica, communément appelé figuier de barbarie ou *chapathi balli*, appartient à la famille des Cactacée (figure 17). La famille des Cactacées contient environ 130 genres et près de 1500 espèces. Le cactus est trouvé principalement dans les zones arides (250 mm de précipitations annuelles) et semi-arides (250-450 mm précipitations annuelles) (Stintzing et al., 2005). Les sols privilégiés sont les sols légers et acides (pH entre 5,1 et 6,7) et une teneur en argile inférieure à 20% (El Mostafa et al., 2014).

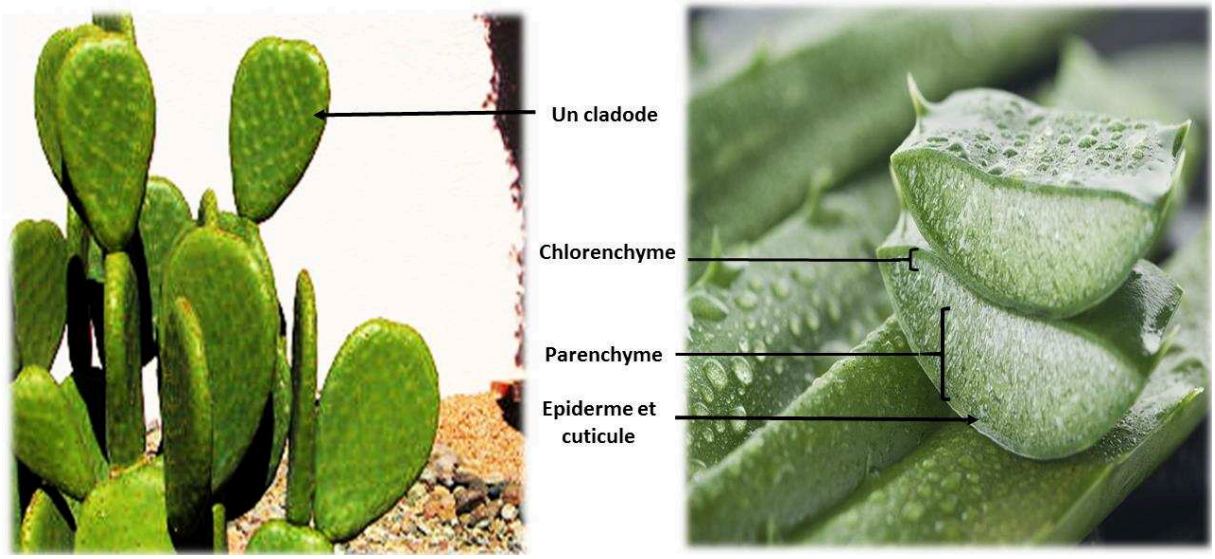


Figure 17 : Morphologie d'Opuntia ficus indica

En raison de leur remarquable variabilité génétique, les *Opuntia* montrent une grande adaptabilité et peuvent donc être rencontrées sous toutes les conditions climatiques. El Mostafa et al., (2014). Miller et al., (2008) ont montré que les cladodes de cactus, ont un fort pouvoir floculant (98% d'abattement de la turbidité) pour le traitement des eaux synthétiques de kaolin par coagulation floculation.

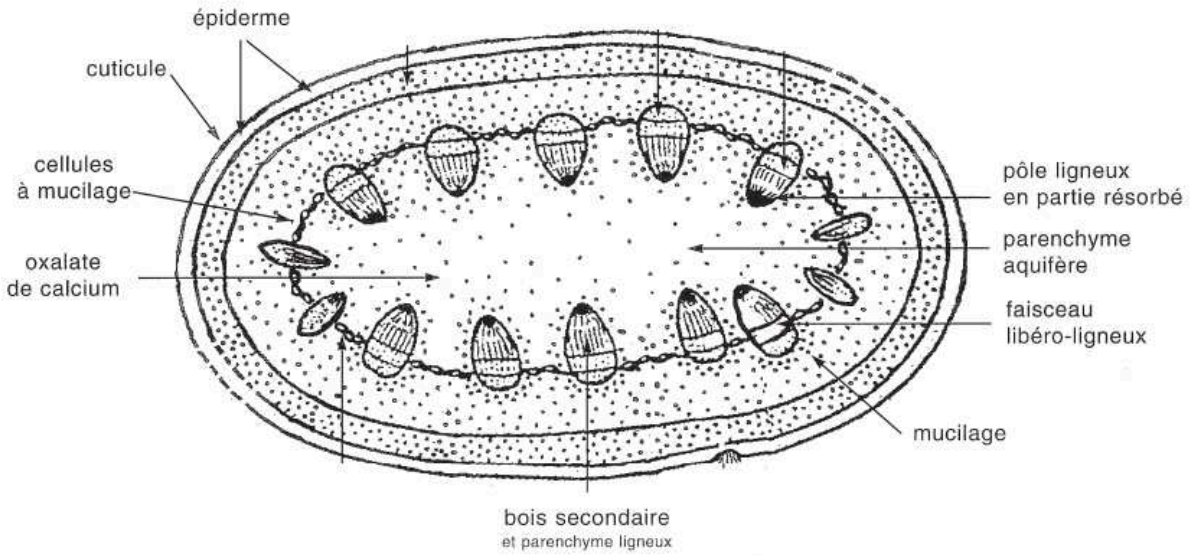


Figure 18 : Coupe transversale d'une raquette d'*Opuntia ficus indica (Scheizer et al., 1997)*

La figure 18 représente un schéma de la structure des cladodes d'*Oputnia*. Le cladode est constitué essentiellement de cellules épidermiques, de parenchyme et de chlorenchyme (parenchyme chlorophyllien). Le parenchyme est le tissu fondamental des végétaux supérieurs, formé de cellules vivantes peu différenciées, aux parois cellulosiques ni épaissies ni lignifiées. La cuticule contient les tanins et la lignine.

V.2. Composition chimique des cladodes

V.2.1 Les principaux constituants

Le tableau 4 représente la composition biochimique de quelques éléments majeurs des cladodes : les sucres, suivis par les fibres (qui contiennent elle-même de la cellulose).

Tableau 4 : Composition des cladodes en % massique

Composés identifiés dans le cladode en % (m/m)	Malainine et al., 2003	Batista et al., 2003
Minéraux	20	23.5
Sucres	48	71
Fibres (lignine cellulose hemicellulose)	25	30
Protéines	Non évaluées	10
Lipides	7.2	4

V.2.2. Les minéraux

Dans les cladodes, les principaux minéraux sont le potassium et le calcium, avec des quantités allant de 0,24 à 5,5 g dans 100 g de MS (Ayadi et al 2009). Dans la pulpe (partie molle et charnue des végétaux), le potassium est présent à 161 mg pour 100 g de MS de cladode, dépassant la concentration d'autres minéraux comme le calcium et le magnésium (Medina et al., 2007).

V.2.3. Les sucres

Les sucres sont présents sous forme polymérique (cellulose et amidon) ou monomérique. El Samahy et al. (2006) ont montré que le mucilage d'*Opuntia ficus indica* contient du D-glucose, du D-galactose, de l'arabinose, du D-xylose et du L-rhamnose. La teneur en sucre libre est de 0,32 % du poids sec (Munoz et al., 1995). Dans une autre étude, la fraction de sucre réducteur a été rapporté à 0,64 - 0,88 % de poids sec (Rodriguez et al., 1988).

V.2.4. Les acides organiques

Le principal acide est l'acide oxalique qui se produit soit sous forme dissoute (0,61 mg de MS) ou sous forme cristalline (34,5 mg de MS) : whewellite ($Ca_2C_2O_4NH_2O$) ou weddelite ($Ca_2C_2O_4N\ 2H_2O$) (Malainine et al., 2003 ; McConn et al., 2004 ; Monje et al., 2002). Teles et al. (1984) ont rapporté que la teneur en acide malonique et citrique représente 36 mg et 178 mg dans 100g de MS, respectivement. Des traces d'acide tartrique et succinique ont été trouvées (Teles et al., 1984 et 1994) alors que les acides piscidiques et phorbiques ont été

identifiés mais reste quantitativement limités. De plus, l'acide malique varie de 0,985 à 0,095 % de la MS et fait partie des acides libres (Teles et al., 1994).

V.2.5. Les acides aminés et les protéines

En général, les protéines varient entre 4 et 10 % de la composition chimique de cladode (Barrios et al., 1993). L'acide aminé détecté majoritaire est la glutamine, suivie par la leucine, la lysine, la valine, l'arginine, la phénylalanine et l'isoleucine

V.2.6. Les polyphénols

La lignine représente 0.2 % de la fibre totale des cladodes (El Kossori et al., 1998). Toutes les parties des cactus sont riches en polyphénols (El Mostafa et al., 2014). Le pourcentage des composés phénoliques de type tanins et flavonoïdes, dans le cactus, est de 0.01 % du poids sec. Le parenchyme des cladodes contient de la quercétine, du kaempférol et de l'isorhamnétine. La méthyl-3-quercétine a également été identifiée par Burret et al. (1981). Cette dominance des dérivés de flavonol a déjà a été rapportée par Richardson et al. (1978). Dans d'autres études, des nouvelles molécules ont été identifiées telles que l'isorhamnétine 3-rutinoside, l'opuntiol, le manghaslin (quercétine 3- [2G-rhamnosylrutinoside]), le p-hydroxybenzoïque acide, l'1-heptanécanol, acide férulique, le 3,4-dihydroxybenzoïque acide, l'acide vanillique, le 3,39-diméthylquercétine, l'acide malique, le kaempférol-7-O-b-glucopyranoside et le 3-O-méthyl-quercétine (Qiu et al., 2002 et 2003).

Chougui et al., (2013), ont montré que les cladodes de cactus *Opuntia ficus indica* contiennent de 1.55 à 2.64 mg et 4.1 à 6.6 mg pour 100g de MS des flavonoïdes totaux et des tanins respectivement.

V.3. Cactus *Opuntia ficus indica* en coagulation floculation

V.3.1 Présence d'éléments floculants

Plusieurs composés des cladodes de cactus sont susceptibles d'agir comme des biofloculants. Comme nous venons de le voir, la composition chimique des cladodes de cactus est riche en sucres, avec des monomères glucidiques tels que le D glucose, D galactose, L arabinose et le rhamnose. Ces sucres monomériques ont montré leurs pouvoir floculant en traitement d'un effluent synthétique de kaolin avec un abattement de la turbidité de 50% (Miller et al., 2008). De même, Majdoub et al. (2010) ont rapporté que les polysaccharides sont considérés comme les matières floculantes actives de cactus. D'autres familles

biochimiques sont soupçonnées d'avoir un effet de synergie avec les polysaccharides, tels que les protéines qui ont déjà été rapportées par Ndabigengesere et al. (1995) comme la molécule responsable de la floculation pour *Moringa Oleifera.* Les polyphénols et surtout les tanins qui ont déjà montré leur efficacité en traitement des eaux par coagulation floculation (Jeon et al., 2009), pourraient aussi expliquer le meilleur abattement de floculation (>90 %) d'*Opuntia ficus indica*.

V.3.2. Conditionnement du cactus

Miller et al., (2008) ont observé la présence de l'activité coagulante de l'ensemble du cladode sauf de l'épiderme (figure 14). D'autre part, ils ont remarqué une relation entre l'augmentation de la température de préparation de la poudre d'*Opuntia ficus indica* et la réduction de l'activité coagulante, qui peut être expliquée par la perte des matières actives à des températures qui dépassent 80 °C. Dans la littérature, il existe d'autres mode de préparation du cactus :

- Extrait liquide du cactus

Après enlèvement des épines, les cladodes sont lavés premièrement par de l'eau potable, ensuite par de l'eau ultrapure ; ils sont coupés par la suite en petits morceaux, et broyés avec un broyeur domestique. Le jus extrait est stocké au réfrigérateur à 4°C après une dernière étape de filtration (Gebrekidan et al., 2013). D'autres chercheurs, Betatache et al. (2014), Belbahloul et al. (2014), ont inactivé les enzymes dans les cladodes en les chauffant dans de l'eau à 85 ° C pendant 20 minutes, puis en les neutralisant à pH 7 afin d'induire une dés-estérification des groupes méthoxyles, pour extraire le maximum de mucilage.

- Extrait solide du cactus

Les cladodes de cactus sont lavés, coupés, puis séchés au soleil pendant deux semaines avant d'être séchés au four à 60 °C pendant 24 heures (Barka et al., 2013; Kazi et Virupakshi, 2013).

V.3.3. Conditions opératoires

Des études ont montré l'efficacité pour le traitement d'effluents synthétiques ou réels par ajout d'extrait de cactus liquide ou solide (tableau 5). Sellami et al. (2014) ont montré la possibilité de traiter deux effluents (eaux usées de l'industrie alimentaire et de l'industrie des colles) par l'ajout d'un jus de cactus sans ajuster le pH initial des effluents (pH 4). Les doses

optimales étaient, pour l'effluent de l'industrie alimentaire et de l'industrie des colles, respectivement de 56 et 616 mg L^{-1}.

Les différentes préparations d'*opuntia ficus indica* ont montré leur efficacité pour des pH basiques (>8) (tableau 5), par contre d'autres types d'effluents réels ont montré un meilleur abattement en condition acide (pH 5). La variation de la dose entre 0,5 et 50 mg L^{-1} peut être expliquée i) par la nature des effluents et de leur teneur et nature en éléments mesurés, et ii) par l'extrait de cactus dont la nature et la quantité des molécules présentes varient selon le mode de préparation. En général, l'ajout de coagulants chimiques améliore la qualité du traitement avec un abattement plus important de la turbidité et de la DCO (Rachdi et al., 2017).

Tableau 5 : Conditions opératoires de traitement de effluents par Opuntia ficus indica

Coagulant	**Floculant**	**Type d'effluent**	**Dose du floculant en mg. L^{-1}** *(SA : sulfate d'aluminium)*	**pH**	**Paramètre mesuré et son abattement en %**	**Références**
-	Cactus en poudre	Eaux usées municipales	0.5-16	10	Turbidité >90%	Al Saati et al., 2016
-	Cactus en poudre	Eaux synthétiques	40	-	Turbidité 92%	Jadhav and Mahajan (2014)
-	Cactus en poudre	Eaux usées des tanneries	8	8	Turbidité et DCO 70%	Swathi et al. (2014)
-	Cactus en poudre	Eaux de surface	8	5	Plomb 100% Zinc 86% Cadmium 84%	Nharingo et al., 2015
-	Jus de cactus	Eaux usées municipales	50	10	Demande chimique en oxygène (DCO) 65%	Torres et al., 2012
Sulfate d'aluminium	Jus de cactus	Eaux usées des tanneries	1.1 *75 de SA*	5	DCO 90%	L. Gomes et al., 2016
Sulfate d'aluminium	Jus de cactus	Eaux usées municipales	5 *500 de SA*	8.5	Turbidité 93% DCO 64%	Rachdi et al., 2017

V.4. Mécanismes mis en jeu

Miller et al. (2008) ont discuté le mécanisme de traitement d'un effluent synthétique de kaolin par le cactus. L'étude du potentiel zêta a éliminé la possibilité d'avoir i) un mécanisme d'adsorption inter-colloïdale et neutralisation totale des charges, puisque l'effluent et l'extrait de cactus sont chargés tous les deux négativement aux conditions de traitement, et ii) d'avoir une coagulation électrostatique par compression de la double couche puisque la force ionique fournie par le cactus est insuffisante. D'autres part, l'excès en dose de coagulant a montré une relation stœchiométrique entre l'efficacité de traitement et la dose ajoutée, ce qui correspond plutôt à un mécanisme d'adsorption et pontage. Les auteurs ont observé que l'acide galacturonique du mucilage pourrait être responsable d'une partie de l'élimination de la turbidité par le cactus. L'acide galacturonique, ajouté de manière isolée a été capable d'éliminer plus de 50 % de la turbidité initiale de l'effluent (Miller et al., 2008). Des résultats similaires ont été obtenus par Fedala et al. (2015) au cours du processus de coagulation appliqué à des eaux de surface du barrage de Taksebt en Algérie. L'élimination de Pb (II) des eaux de surface par l'ajout d'*Opuntia ficus indica* en poudre a montré la coexistence de deux mécanismes : une adsorption et neutralisation des charges et un pontage par adsorption en raison de la nature anionique et macromoléculaire de l'acide polygalacturonique déprotoné dans le coagulant (Yin et al., 2010).

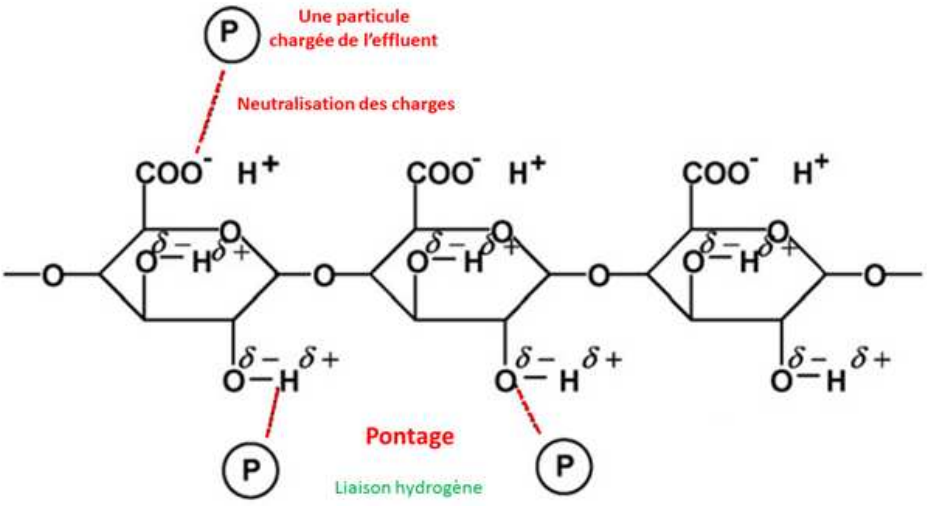


Figure 19 : Interactions chimiques possibles dans le procédé de coagulation floculation entre l'acide polygalacturonique en solution aqueuse et les particules chargées positivement de l'effluent (P) (Yin et al.,2010)

La figure 19 montre le mode d'action de l'acide galacturonique sur des particules colloïdales. Les interactions ioniques interviennent dans le mécanisme d'adsoprtion et neutralisation et les liaisons hydrogène interviennent dans le mécanisme d'adsorption et pontage. Jadhav et Mahajan (2014) et Vishali et Karthikeyan (2014) ont testé le cactus pour le traitement d'une eau de surface et des effluents de peinture. Les mécanismes de coagulation-floculation proposés sont, d'une part, comme précédemment de l'adsorption et du pontage entre particules (flocculation) (Jadhav et Mahajan, 2014) et d'autre part l'adsorption et neutralisation des charges (coagulation) (Vishali et Karthikeyan, 2014). Le mécanisme d'adsorption et pontage a également été rapporté par Fox et al., (2012), Gandhi et al., (2013) et Belbahloul et al., (2014) entre le mucilage de cactus avec respectivement une solution qui contient de l'As (V), des particules d'argile et du chrome en solution.

VI. Margine

VI.1. Présentation des margines

La trituration des olives engendre un résidu liquide, les margines et l'autre solide, les grignons (figure 20). Au Maroc, on estime que la production de 110 000 tonnes d'huile d'olive est accompagnée de 250 000 m^3 de margines (Direction de la production végétale) (DPV 2018). En moyenne, 100 kg d'olives produisent 50 litres de margines *via* la centrifugation et environ 10 litres par le système classique de pression (Aissam et al., 2003). Ces margines ne subissent aucun traitement et elles sont souvent déversées dans les égouts d'assainissement, stockées dans des bassins d'évaporation et/ ou épandues directement sur le sol sans contrôle (Lakhtar et al., 2010). Les olives contiennent environ 20 % d'huile, 30 % de grignons et 50 % du liquide végétal (Aissam et al., 2003). Les margines sont composées de 40 à 50 % de liquide végétal qui provient du fruit, le reste de la solution est issue de l'eau de fabrication ajoutée lors du processus de trituration (Aissam et al.,2003).

Figure 20 : Trituration des olives et production de margines

Les margines sont caractérisées par une intense couleur violet-brun foncé jusqu'à noire due essentiellement à la présence des tanins (El Hajjouji et al., 2007). Elles induisent des sérieux problèmes environnementaux pour les pays producteurs d'huile d'olive (Di Serio et al., 2008). La toxicité des margines est due essentiellement à la présence des acides gras libres à longue chaîne et de composés phénoliques à fortes concentrations (Zahari et al., 2014).

La teneur élevée en polyphénols (0,5-24 g L^{-1}) induit une mortalité de la flore et la faune aquatique, (Niaounakis et Halvadakis, 2006) et l'oxydation de ces composés tend à rendre le milieu anoxique (El Hajjouji et al., 2007). L'épandage des margines sur les sols entraine le colmatage des sols, la pollution des eaux superficielles et souterraines et le dégagement d'odeurs nauséabondes. Les lipides présents dans les margines forment un film impénétrable à la surface des rivières et ses bords empêchant ainsi la pénétration de la lumière et de l'oxygène.

VI.2. Composition chimique des margines

Les margines de pH compris entre 3 et 6, ont une conductivité électrique très élevée (5-10 dS/m), une demande chimique en oxygène forte (DCO : 30-320 g L^{-1}) et une demande biochimique en oxygène (DBO_5) comprise entre 35 et 132 g L^{-1}. La composition chimique des margines dépend principalement de la variété de l'olivier, de la maturation des fruits, des conditions climatiques à la récolte et plus particulièrement de la méthode de transformation qui influence fortement la teneur en eau (Aviani et al., 2012). Les margines se caractérisent

par leur richesse en minéraux avec un pourcentage de potassium, calcium, fer et magnésium qui varient respectivement entre 5-15 %, 1,1-2.5 %, 0.26 % et 0.18-3 % (El Hajjouji et al., 2007). Les sucres sont les composés majoritaires des margines (>50 %). Vlyssides et al. (1998) ont confirmé la présence de cellulose (14%-24%) et d'hémicelluloses (6-11%). Les phénols représentent une teneur supérieure à 1 % dont deux tiers de tanin. Les protéines représentent une teneur supérieure à 3 %). Les principales caractéristiques chimiques des margines sont résumés dans les tableaux 6 et 7.

Tableau 6 : Composition physi co-chimique des margines

Paramètres	**Margine**	**Références**
Matière sèche %	1-17	Aissam et al., 2003
Masse minérale %	10-15	Lafka et al., 2011
Matières organiques %	57-62	Garcia et al., 2003
Carbone organique total (g L^{-1})	20-40	Castello et al., 2010
Solides en suspension (g L^{-1})	25-30	Khoufi et al., 2008
Minérales solide en suspension (g L^{-1})	1,5-1,9	Castello et al., 2010
Solide volatil en suspension (g L^{-1})	13,5-23	

Tableau 7: Caractérisation biochimique des margines

Sucres %		
Cellulose	15-24	Vlyssides et al., 1998
Hémicellulose	7-11	
Sucres divers	30-50	Aissam et al., 2003
Polyphénols %		
Lignine	0.2-14	Vlyssides et al., 1998
Tanins	0.5-25	Vlyssides et al., 1998
Protéines %	2.8-7.3	Molina et al., 2008

VI.3.1. Les sucres

Les glucides rencontrés dans les margines sont des composés lignocellulosiques et des pectines qui représentent respectivement 3% et 0,6% (m/m). La composition des monosaccharides contenus dans les polymères des margines a été étudiée par Capasso et al. (2002) et les résultats sont donnés dans le tableau 8. Les sucres simples détectés sont des oses neutres (majoritaire) et oses acides (Aissam et al., 2003).

Tableau 8 : Composition des sucres monomères contenus dans les margines

Sucres	**en % massique des sucres totaux**
Arabinose	21
Galactose	10.5
Glucose	10
Rhamnose	5.5
Acide glucuronique	4.4
Acide galacturonique	4

VI.3.2. Les protéines

La fraction azotée est représentée principalement par les protéines avec une concentration massique variant entre 1,2 et 2,4%. Les protéines varient entre 3 et 7 % de la composition biochimique des margines. Presque tous les acides aminés sont présents dans les margines. Les plus abondants sont l'acide aspartique, l'acide glutamique, la proline et la glycine (Aissam et al., 2003).

VI.3.3. Les tanins et flavonoïdes

Les principales classes des polyphénols sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les anthocyanes, ainsi que les formes polymérisées (les tanins et les lignines) (Shahidi et al., 2003). Les composés phénoliques de type tanins et flavonoïdes (tableau 9) ont différentes structures qui dépend essentiellement de la procédure d'extraction et de la nature des olives. Les formes les plus courantes sont conjuguées avec diverses molécules de sucres (mono-, di- ou oligosaccharides), acides organiques et lipides (graisses),

ainsi qu'avec d'autres phénols liés à des groupes hydroxyles ou, moins fréquemment, à des atomes de carbone aromatiques (Bravo et al., 1998).

Tableau 9 : composés phénoliques des margines

Les composés phénoliques	Références
Acide phénolique	
Acide cinnamique	Lafka et al., 2011
Acide p-coumarique	Alu'datt et al., 2010
Acide caféique	Alu'datt et al., 2010
Acide férulique	Allouche et al., 2004
Acide vanilique	De Marco et al., 2007
Acide gallique	Zafra et al., 2006
Acide syringique	Alu'datt et al., 2010
Acide sinapique	Alu'datt et al., 2010
Acide homovanilique	Artajo et al., 2007
Acide acétique 4-hydroxyphényl	Allouche et al., 2004
Flavonoïdes	
Lutéoléine	De Marco et al., 2007
Lutéoléine 7-O-glucoside	Fki et al., 2005
Lutéoléine 4'-O-glucoside	Gortzi et al., 2008
Rutine	Gortzi et al., 2008
Quercetine	Borja et al., 1996

Les flavonoïdes généralement détectés sont la quercétine et la Lutéoléine (Borja et al., 1996 ; De Marco et al., 2007).

Malgré les multiples procédés testés pour le traitement et la valorisation des margines, seulement quelques-uns sont appliqués à l'échelle industrielle (biogaz, biofertilisants) en raison du coût élevé des installations. De plus, les résultats obtenus montrent pour la plupart des procédés, que l'énergie consommée et les couts de fonctionnement sont trop élevés pour le rendement d'épuration obtenu (Aissam et al., 2003). Ceci est lié essentiellement à la forte

concentration et à la grande stabilité de la charge polluante, composée de polyphénols (matières organique réfractaire).

VI. Conclusion

L'utilisation des coagulants issus de l'industrie pétrochimique, qui peuvent présenter un risque chimique pour la santé et l'environnement, nous a amené à rechercher des ressources végétales aux propriétés floculantes. Comme le montre la littérature, plusieurs végétaux ont montré leur potentialité en coagulation floculation, certainement grâce à leur composition biochimique riche en protéines, sucres et polyphénols.

La littérature propose quelques études sur le traitement d'effluents par coagulation floculation à l'aide d'*Opuntia ficus indica* et la mise en évidence des sucres comme famille biochimique impliquée dans le mécanisme réactionnel de coagulation floculation. Plusieurs auteurs (Miller et al., 2008 ; Oladoja et al., 2017) ont rapporté que le mucilage de nature glucidique contient des molécules floculantes, tels que L arabinose, D galactose, L rhamnose et D xylose, ainsi que l'acide galacturonique. Les essais sur les oses réalisés par Millet et al. (2008) n'ont montré cependant qu'une efficacité réduite avec un d'abattement de turbidité sur un effluent synthétique à base de kaolin de 50 %. Il existe donc d'autres molécules contenu dans le cactus impliquées dans la coagulation-floculation. Deux mécanismes sont rapportés selon la littérature une floculation par adsorption avec un pontage et une floculation plus ou moins importante (Jadhav et al., 2014 et Vashali et al., 2014 repectivement). Cette variation peut être due à la nature et aux caractéristiques de l'effluent à traiter : eau de surface et eau de peinture respectivement.

L'identification des acteurs moléculaires biosourcés est peu présente dans la littérature et les mécanismes impliqués sont encore à approfondir. L'objectif majeur de notre étude, est de proposer un modèle général de réaction afin d'améliorer le potentiel de valorisation de cette plante dans le traitement des eaux.

Il s'agit également de développer une voie de valorisation des margines, un déchet liquide issu de l'exploitation des olives, et dont le mode de gestion actuel impacte fortement l'environnement. La composition chimique des margines riche en polyphénols, polysaccharides et protéines présente potentiellement une source de biofloculant. En effet, selon la littérature, les molécules biochimiques telles que les polysaccharides, protéines et

polyphénols sont représentés chez des margines comme chez *Opuntia ficus indica* (tableau 10), avec en particulier une augmentation au niveau des polyphénols (lignine, tanins et flavonoïdes) chez les margines. Les tanins et flavonoïdes étant une classe à haut potentiel floculant, nous avons donc souhaité explorer le potentiel de ces déchets comme biofloculant.

Tableau 10 : Comparaison de la composition biochimique (à potentiel floculant) des margines et d'Opuntia ficus indica

Composés biochimiques	*Opuntia ficus indica*	Margines	Références
Cellulose %	21.6	15-24	Vlyssides et al., 1998 Malainine et al., 2003
Sucres divers %	48	30-50	Aissam et al., 2003 Malainine et al., 2003
Lignine %	3.6	0.2-14	Vlyssides et al., 1998 Malainine et al., 2003
Tanins %	0.6	0.5-25	Vlyssides et al., 1998 El Kossori et al., 1998
Protéines %	4-10	3-7	Moulina et al., 2008 Malainine et al., 2003

Enfin, en s'appuyant sur ces deux bioressources, une démarche analytique sera proposée en vue d'identifier et isoler les molécules responsables de la floculation. Ces études devraient ainsi permettre de comprendre leurs mécanismes et mode de fonctionnement pour le traitement des différents effluents.

Matériels & méthodes

I. Appareillage et produits

Une liste de l'ensemble des appareils et produits utilisés durant cette thèse sont présentés dans cette partie, avant d'aborder les différentes méthodes expérimentales utilisées.

1. Appareillages

Le tableau 11 présente les différents matériels utilisés

Tableau 11 : Ensemble des matériels utilisés

Manipulation	**Appareil**
Broyage des matières premières	Broyeur SEB prep'line 850
Poids sec et poids sec volatil	Etuve UN 110, Memmert Four, Nabetherm GmbH
Agitation	Agitateur IKA Werke KS 501
Carbone organique total	Analytik Jena CLD-TOC multi N/C 2100S)
Potentiel zêta et granulométrie	Malvern Master zetasizer 3000 devices
Lyophilisation	Lyophilisateur Cryotec COSMOS-80
Spectrométrie infrarouge	Spectromètre infrarouge Spectrum 1000 IR, Perkin-Elmer
Observation au microscope électronique à balayage (MEB)	QUANTA FEG 450, FEI, USA
Spectrophotomètris Ultra-Violet visible	Varian Cary Probe 50 Dinko UV 2300

pH mètrie	pH mètre GLP 22 Crisson
Observation au microscope optique	Nikon Eclipse LV 1100POL
Viscosité	RM 200 Lamy Rheometer
Coagulation-floculation	Jar test VELP Scientifica JTL6
Turbidimètrie	Turbidimètre Hanna HI 88713
Spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP-AES)	ICP-AES ULTIMA 2 instrument (Jobin Yvon, Longjumeau, France)
Fractionnement	Sartorius Stedim ultrafiltration cells-MWCO PES membranes (GmbH 37070, Germany)
Dosage colorimétrique biochimique	Spectrophotomètre Cadas 50 S, Dr Lange
Chromatographie liquide à haute performance à exclusion stérique (HPLC-SEC) couplée à une détection UV-visible et fluorescence	Chromatographe Hitashi LA Chrom, Merck avec un détecteur UV/ visible à barrette de Diode (DAD) colonne
Chromatographie liquide à haute performance à phase inverse (HPLC IP)	Chromatographe Agilent Technologies, Palo Alto, CA 1100, avec un détecteur à barrette de diodes (DAD) colonne

2. Produits

La liste ci-dessous représente les produits chimiques utilisés et leurs références.

Acide acétique (CH_3COOH) 100% Prolabo

Acétate de sodium (CH_3COONa) Normapur Prolabo

Acétonitrile	Carlo Ebra
Acide chlorhydrique (HCl)	37% Prolabo
Acide gallique	
Acide glucuronique	99% Aldrich
Acide humique	Sigma Aldrich
Acide hydroxycinnamique	Sigma Aldrich
Acide phosphorique	
Acide sulfurique	98% Prolabo
Amidon	Acros organics
α Amylase	Sigma Aldrich
Bromure de potassium	>99%, Acros organics
Carbonate de sodium (Na_2CO_3,$10H_2O$)	Fisher scientific
Catéchine	Sigma Aldrich
Cellulase	Alfa aesar
Chaux ($Ca(OH)_2$)	Prolabo
Chloroforme	Carlo Ebra
Chlorure ferrique ($FeCl_3$)	Fisher
Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$,$6H_2O$)	Prolabo
Chlorure de calcium ($CaCl_2$)	>97% Fluka
Chlorure de magnésium ($MgCl_2$,$6H_2O$)	Analar Normapur
Chlorure de potassium (KCl)	99.5% Analar Normapur
Chlorure de sodium	99.5% Fisher scientific
Dextran	Fluka
Dioxyde de silicium (SiO_2)	> 99.9% Sigma Aldrich
Ethanol	> 99.5% Sigma
Ethanol absolu	
Glucose	99% Prolabo
Hexane	Pestinorm
Hydrogenocarbonate de sodium ($NaHCO_3$)	>99.7% Fluka
Hydroxyde de sodium (NaOH)	99% Normapur
Kaolin	Sigma Aldrich

Kaempférol	Sigma
Lignine peroxydase	Sigma Aldrich
Méthanol	99% Elvetec
Métahydroxydiphényl	90% Aldrich
Nitrate de calcium ($Ca(NO_3)_2,4H_2O$)	>99% Fluka
Nitrate de magnésium ($Mg(NO_3)_2,6H_2O$)	99% Merck
Nitrate de potassium (KNO_3)	>99% Fluka
Phénol	99% Prolabo
Protéase alcalase	Sigma Aldrich
Quercétine	Sigma Aldrich
Réactif de Folin-ciocalteu	Fluka
Ribonuclease A de pancréas bovin : >70 unités/mg de protéine	Sigma
Sérum d'albumine bovine	98% Sigma
Substances humiques	96% Aldrich
Sulfate d'aluminium ($Al_2(SO_4)_3$)	86.5% Prolabo
Sulfate de cuivre II	99 % Prolabo
Sulfate de magnésium ($MgSO_4$)	62-70% Fisher scientific
Tartrate double de Sodium et de potassium	99 % Prolabo
Tétraborate de sodium	99% Prolabo
Thyrotropin releasing hormone (TRH)	> 98% Sigma
Tris-HCl	Prolabo
Tyrosinase	Sigma Aldrich
Vaniline	Sigma

II. Méthodes

1. Conditionnement du matériel végétal

1.1. Opuntia ficus indica

Le Cactus *Opuntia ficus-indica* a été récolté dans une plantation sauvage près de Fès (Maroc). Les cladodes de cactus ont été lavées et toutes les épines ont été retirées et séchées à 80 ° C

pendant 24 heures. Le cactus a été broyé et tamisé à travers un ensemble de tamis de 0,5-1,0 mm de diamètre ; la poudre obtenue est stockée à 4 ° C.

1.2. Margine

Les margines viennent du liquide végétal contenues dans les cellules des olives et qui sont extraites en même temps que l'huile lorsque les olives sont pressées. Les margines sont des déchets liquides obtenues après la trituration des olives. Les déchets issus des olives ont été prélevés dans une demi-huilerie moderne de Fès (Maroc). L'industrie n'utilise aucun additif chimique lors de la production d'huile d'olive. Dans une première étape, la fraction lipidique a été extraite de la suspension concentrée de margine par des solvants organiques : 60 mL de solvants organiques (v / v ; 2/1 ; chloroforme / hexane) ont été introduits dans une solution de 100 mL de margine et agités pendant 2 heures à une température ambiante. L'opération a été répétée six fois pour assurer l'élimination maximale des lipides (contenus dans la phase supérieure). Ensuite, les margines déshuilées ont été séchées à 80 ° C pendant 24 heures, puis lyophilisées et conservées à 4 °C.

2. Préparation des fractions issues du matériel végétal

2.1. Fractionnement en fonction du pH

Les matières actives de ces matériaux (cactus et margine déshuilée) ont été isolées en fonction de leur solubilité dans l'eau à différents pH. Pour cela 1g du poids sec de ces matériaux en poudre est introduit dans 100 mL d'eau déminéralisée à différentes valeurs de pH (6,0 ; 7,0 ; 10,0 ; 11,0). Après agitation de 24 heures à température ambiante, les extraits ont été filtrés (filtre en papier verre (porosité de 20 µm)). Puis le papier filtre a été lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée avant une seconde filtration de 0,45 µm (cellulose acétate whatman). Le filtrat est ensuite séché. Les matières extraites à l'eau alcaline (pH 10,0 pour le cactus et pH 11,0 pour les margines) ont subi par la suite, une acidification à pH 7 qui a abouti à la formation d'un précipité. Les extraits à l'eau et le précipité ont été lyophilisés et conservés à 4°C.

1.2. Fractionnement en fonction de la taille

Le précipité formé à partir des extraits a été fractionné selon son poids moléculaire par ultrafiltration (UF) (Sartorius stedim), à travers 2 membranes de seuils de coupure 3 kDa et 10 kDa. Les molécules sont donc séparées en 3 fractions. Ces membranes, constituées de cellulose régénérée, ont des propriétés hydrophiles et une faible capacité d'adsorption. Entre chaque utilisation, les membranes sont conservées à 4°C. Des volumes de 12 mL sont introduits dans les cellules d'UF puis centrifugés (8000 tours/min pendant 30 minutes), afin de permettre la filtration « forcée » des extraits à travers les membranes. Ces dernières sont ensuite rincées plusieurs fois par de l'eau ultrapure. Les fractions récupérées sont lyophilisées et conservées à 4°C.

4. Méthodes de caractérisation usuelles des bioflocculants et/ou des flocs

4.1. Détermination de la masse sèche et de la masse sèche volatile

La masse sèche (MS) des échantillons est mesurée après un séchage de 24 heures à 105°C.

La masse volatile sèche (MVS) est déterminée en % masse MVS/masse MS après avoir mesuré la masse minérale (MM).

avec MVS= MS - MM

La masse minérale (MM) est mesurée après une calcination à 550°C pendant 4 heures.

4.2. Détermination de la quantité du carbone organique total

Le COT-mètre permet de mesurer la teneur en carbone organique total (en mg L^{-1}) des extraits dilués après une filtration de 0.45 µm (cellulose acétate whatman) et acidification par l'ajout de quelques gouttes d'acide phosphorique (14.75 M) (soit V ≈ 60 µL). Les mesures sont réalisées en triplica.

4.3. Potentiel zêta

Le potentiel zêta représente la charge électrique qu'une particule acquiert grâce au nuage d'ions qui l'entourent quand elle est en suspension ou en solution. Ce potentiel a été déterminé à différentes valeurs de pH.

Pour cela, une suspension de 10 g L^{-1} d'échantillon a été préparée et diluée par de l'eau ultrapure (v/v, 1/3), repartie ensuite dans des flacons ou le pH initial a été fixé par l'ajout de NaOH et/ou HCl (1N) pour avoir une gamme de pH comprises entre 3,0 et 12,0. Les suspensions ont été conservées à 4°C et filtrées à 0,45 µm (cellulose acétate whatman), 2 heures avant l'analyse (phase de stabilisation). Un volume de 3 mL d'échantillon a été introduit dans la cellule de mesure pour l'analyse zétamétrique.

4.5. Granulométrie

La granulométrie a pour objet la mesure de la taille des particules et de leur répartition statistique qui pourra s'exprimer en pourcentage massique, volumique ou en nombre. La taille des particules a été déterminée après filtration de 0,45 µm (cellulose acétate whatman) des suspensions de 10 g L^{-1} diluées par de l'eau ultrapure (v/v, 1/3) pour une gamme de pH comprises entre 3,0 et 12,0 par NaOH ou HCl (1N). Un volume de 3,0 mL d'échantillon a été introduit dans la cellule pour effectuer la mesure.

4.6. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourrier (FTIR) permet de détecter des groupements fonctionnels à la surface de l'échantillon. Cette technique est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par les matériaux analysés.

Les spectres Infrarouges sont mesurés avec une résolution de 4 cm^{-1} sur des nombres d'onde variant de 400 à 4000 cm^{-1}; un ou plusieurs signaux de transmittance (bande) sont la signature d'un groupe fonctionnel.

La préparation des échantillons consiste à fabriquer une pastille très fine et homogène qui sera ensuite analysée. A cet effet, environ 1 mg d'échantillon est broyé avec environ 180 mg de KBr. Le mélange est ensuite placé 2 minutes sous presse pour la confection d'une pastille qui est analysée par infrarouge.

4.7. Spectrophotométrie Ultra-Violet Visible

L'absorption mesurée par spectrophométrie est basée sur la propriété de la matière, et plus particulièrement de certaines molécules, d'absorber certaines longueurs d'ondes du spectre UV-visible. La concentration du composée qui absorbe est, selon la loi de Beer Lambert, proportionnelle à son intensité d'absorbance selon l'équation 1 suivante :

$Abs = \varepsilon L C$ (équation 1)

Abs : Absorbance

Ɛ : Coefficient d'absorption molaire en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$

L : Largeur de la cuve en cm

C : Concentration de la solution en mol. L^{-1}

5. Méthode de caractérisation spécifique des biofloculants

5.1. Microscope électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage permet d'accéder à la morphologie de la surface de l'échantillon étudié. Cette technique utilise un faisceau d'électrons de haute énergie électronique. Les échantillons solides et secs sont déposés sur des supports et pulvérisés de carbone avant l'analyse au MEB. Le grossissement varie entre 300 et 40000.

5.2. Microscope optique

La microscopie optique a été réalisée à un grossissement de 10 couplé avec une caméra CCD (Nikon Japan P-I). Le traitement d'image a été réalisé avec le logiciel NIS-Element F2.20.

5.3. Viscosité

La viscosité a été mesurée avec un rhéomètre dans une solution contenant les matières extractibles à l'eau et dans une solution en suspension floculée, pour un taux de cisaillement entre 250 et 500 s^{-1} (pour éviter la sédimentation du solide).

5.4. Spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP-AES)

Avant l'analyse des éléments minéraux, les échantillons doivent être minéralisés. La minéralisation se passe en deux temps : une minéralisation à froid permettant une prédigestion chimique avec dégazage et puis une minéralisation à chaud.

Les échantillons (1 mL) sont incubés à température ambiante avec 1 mL d'H_2O_2 (30%). Ensuite, 4 mL d'eau régale (composée de 3 mL d'acide nitrique (69%) et 1 mL d'acide chlorhydrique (37%)) sont ajoutés. Après 24 heures d'incubation à température ambiante, l'échantillon peut être minéralisé à chaud. Les échantillons ainsi minéralisés sont ajustés à 50 mL avec de l'eau ultra pure puis filtrés à 0,22 µm (filtre seringue en nitrate de cellulose). Six éléments (Fe, Cr, Zn, Cu, Ni, Mn) ont été dosés dans les échantillons minéralisés. Une acquisition de données et le traitement ont été effectués en utilisant le logiciel ICP JY v. 5.2 (Jobin Yvon).

5.5. Dosage colorimétrique biochimique

La colorimétrie est une méthode classique qui permet de déterminer les concentrations de certaines molécules organiques présentes dans les végétaux : protéines, glucides, acides uroniques, phénols (dont tanins et flavonoïdes). Les réactifs utilisés permettent de mettre en évidence une fonction caractéristique de la molécule organique recherchée. Le tableau 11 résume les principaux paramètres et références pour ces dosages.

L'application de la méthode de correction de Frølund et al., 1995, permet de déterminer les teneurs en protéine et en phénol, en prenant en compte la surestimation des quantités de protéines liée à la présence des phénols dans une matrice complexe. L'étalon de phénol qui était à l'origine un étalon de substances humiques a été remplacé par un étalon d'acide gallique. De même, l'application de la méthode de correction de Blumenkrantz et Asboe, (1973) permet de déterminer les teneurs en ose neutre et en acide uronique, en prenant en compte l'interférence des acides uroniques dans le dosage des oses neutres et réciproquement (tableau 12).

La méthode pour le dosage colorimétrique des « flavonoïdes hydrolysés totaux » est la même que celle citée par Jamila Hadj Salem et al., 2010. Afin de mieux extraire les flavonoïdes, nous avons rajouté une étape en amont du dosage : aAjout de 5 mL d'acide chlorhydrique (37%) à chaque 20 mL d'échantillon, puis chauffage pendant 10 h à 85 ° C).

Tableau 12 : Cractéristiques des dosages colorimétriques utilisés pour la détermination de la composition biochimique des échantillons

	Longueur d'onde (nm)	Réactifs	Groupe chimique recherché	Etalon	Gamme de sensibilité du dosage (g. L^{-1})	Références
Protéines	650	Réactif de Folin $CuSO_4$ 0,5 %	Liaison peptidique et phénol	Albumine de sérum bovin	0,04-0,2	Lowry et al.,. 1951 Frølund et al., 1995
Phénol	650	Réactif de Folin	Phénol	Acide gallique	0,04-0,2	Frølund et al., 1995
Polysaccharides	492	Phénol 5 % Acide sulfurique 95 %	Ose neutre (avec au moins 5 (H-COH)) principalement	Glucose	0,02-0,1	Dubois et al., 1956
Acide uronique	520	Tétraborate de sodium 12,5 mM Acide sulfurique 95 % Metahydroxydiphenyl (MHDP) à 0,15%	Acide uronique (avec au moins 5(H-C-OH))principalement	Acide glucuronique	0,05-0,5	Blumenkrantz et Asboe, 1973
Tanins totaux	550	Acide chlorhydrique 37%, Ethanol absolu, 96 %	Liaison de la fonction hydroxyle des tanins et la fonction amine des protéines	Catéchine	0,01-0,1	Bate Smith et al., 1965
Tanins condensés	500	Vaniline 4% Acide chlorhydrique 37%,	Flavan-3olesFlavan-3,4-dioles	Catéchine	0,01-0,1	Sun et al., 1998
Flavonoïdes totaux	420	$AlCl_3$ 2% Ethanol absolu, 96 %	C6-C3-C6	Catéchine	0,05-0,2	Salem et al., 2010

5.6. Chromatographie liquide à haute performance à exclusion stérique (HPLC-SEC) couplée à une détection UV

La chromatographie liquide d'exclusion stérique (CES) permet de séparer les molécules organiques en fonction de leur taille. La longueur d'onde d'absorbance du détecteur est 210 nm. Cette longueur d'onde est non spécifique et permet de détecter l'ensemble des molécules organiques de l'échantillon (Simon et al., 2009).

La colonne Superdex 75 10/300 GL est caractérisée par un volume de perméation total de 23 mL (déterminé par l'injection d'une solution d'azide à environ 0.6 $g.L^{-1}$) et un intervalle théorique de séparation de 0,1-70 kDa. Toutes les mesures ont été effectuées à un débit de 0.3 $mL.min^{-1}$ avec une pression maximale de 15 bars.

La phase mobile alcaline est réalisée comme suit : NaCl, 100 mM ; Tris-HCl 25 mM ajustée à pH 10,0 ± 0,1 avec du NaOH 3M. Avant utilisation, la phase mobile est filtrée à 0,22 µm avec des filtres en nitrate de cellulose puis dégazée sous vide pendant 20 min.
Les échantillons sont filtrés (filtre d'acétate de cellulose de 0,22 µm (SPARTAN 13 / 0,2 RC Whatman)) avant d'être injectés dans la colonne (volume injecté de 100 µL).

La calibration des colonnes CES est réalisée par des étalons protéiques (0,1 $g.L^{-1}$ environ) de masse moléculaire comprises dans l'intervalle 0,1-70 kDa : Thyroglobuline 304.8 kDa ; Albumine de sérum bovin, 69 kDa; Ribonucléase a, 13,7 kDa; Hormone libérant de la thyrotropine, 3,6 kDa ; et Tyrosine 0,2 kDa. Pour les courbes d'étalonnage de masse, le logarithme de la masse moléculaire est tracé en fonction du volume de rétention selon l'équation 2:

Log (MW) = -0.132 (Ve) + 7.692 $(r^2 = 0.99)$ *(équation 2)*

M : masse moléculaire (kDa)

Ve : volume d'élution (mL)

5.7. Chromatographie liquide à haute performance à phase inverse (HPLC IP)

La chromatographie liquide à haute performance à phase inverse (HPLC-IP) a été utilisée pour identifier et quantifier les composés flavonoïdes dans les extraits. La longueur d'onde d'absorbance du détecteur est 368 nm. Cette longueur d'onde permet de détecter les flavonoïdes (Tsao et al., 2003). La phase mobile est composée de deux solvants : le solvant A qui est une solution ionique est une solution tampon (acide acétique à 6% dans de l'acétate de sodium à 2 mM (pH 2,57 ± 0,01)); et le solvant B qui est polaire est une solution d'acétonitrile. L'élution est réalisée en mode gradient de la phase mobile. L'évolution du gradient se fait en 4 étapes (avec %A = 100- %B) : 1-) 0 % B à 15 % B en 45 min, 2-) 15 % B à 30 % B en 15 min, 3-) 30 % B à 50 % B en 5 min, et 4-) 50 % B à 100 % B en 5 min. Le débit de la phase mobile est de 1 $mL.min^{-1}$, pour une durée totale de 90 min.

Avant injection dans la colonne, les polyphénols sont extraits dans un solvant polaire de méthanol. Pour cela, une masse d'échantillon de 2,00 g est mélangé à 150 mL de méthanol à 80% (à température ambiante) pendant 60 minutes. L'extrait est soumis ensuite à une hydrolyse acide afin d'éliminer des interactions entre les polyphénols et d'autres molécules présentes dans l'extrait. L'hydrolyse acide se déroule comme suit : 200,0 mg d'extrait sont mélangés à 24 mL de méthanol, 5 mL de HCl (1N) concentré et 1 mL d'eau, la solution obtenue est chauffée à reflux pendant 10 heures à 85°C (Bobinaité et al., 2013). Les échantillons sont ensuite dilués (v / v 50 %, avec de l'acétonitrile: méthanol à 1: 3) et mélangé avec un étalon interne (acide hydroxycinnamique de concentration finale de 0,25 mg. mL^{-1}). Le volume injecté dans le système est de 20,0 µL.

Deux flavonoides ont permis d'étalonner qualitativement le système: le kaempférol et la quercétine, qui ont un facteur relatif de temps de rétention (Rf) de 1,53 et 1,48, respectivement. Par ailleurs, pour la quercétine (Rf = 1.48), la surface du pic a été exprimée en fonction de la concentration en quercétine (g. L^{-1}). L'étalonnage quantitatif de la quercetine par le système est décrite selon l'équation 3 suivante :

$$Rf_{1.48} = 33{,}696{,}321.\ [quercétine] + 3{,}832{,}065\ (r^2 = 0.99).\ \text{(équation 3)}$$

L'aire de la surface du pic de la quercétine est exprimée en U.A. et la quercétine en g. L^{-1}

5.8. Titrage acido-basique

Les fonctions ionisables des échantillons ont été détectées en utilisant un titrage acido-basique. Pour cela, 50 mL de solutions contenant 10 g L^{-1} de solide ou extraits à différentes valeurs de pH ont été placées à une température constante de 22°C et ajustés à un pH d'environ 2 par HCl (1 M). Les titrages ont été effectués sous atmosphère d'azote. L'évolution du pH est suivie en fonction du volume de NaOH (burette de 25 ± 0,1 mL (Hirschmann EM Techcolor) remplie de NaOH (0,1 M)).

5.9. Turbidimètre

La turbidité résiduelle des solides en suspension a été mesurée par un turbidimètre (Hanna HI 88713) et exprimée en unité de turbidité néphélométrique (NTU) conformément à la méthode de néphélométrie standard.

5.10. Test enzymatique

Dans le but de confirmer l'identification de la famille biochimique responsable de la coagulation floculation, des hydrolyses enzymatiques sur la fraction « précipité » des extraits ont été réalisées dans les conditions spécifiques d'actions des enzymes (voir tableau 13). Chaque préparation d'enzyme de 1 % (m/m enzyme/ précipité) d'un volume de 10 mL a été ajoutée à une solution de précipité à différentes valeurs de pH et de température, selon les paramètres optimaux de fonctionnement de l'enzyme (tableau 12). L'hydrolyse dure deux heures. La préparation (précipité potentiellement digéré et enzyme) est ensuite ajoutée à un litre de l'effluent synthétique. Deux témoins ont été préparés afin de vérifier l'effet des enzymes. Pour, le témoin 1, la préparation se compose de l'enzyme seulement, afin de vérifier l'inactivité coagulante de l'enzyme. Pour le témoin 2, la préparation contient le précipité seulement, afin de confirmer l'activité coagulante du précipité dans les mêmes conditions opératoires. Ensuite toutes les préparations ont été testées en coagulation floculation par Jar Test dans les conditions optimales (voir la partie 6 suivante).

Tableau 13 : Conditions opératoires d'utilisation des enzymes

Enzyme	Molécule biochimique hydrolysée	pH	Température en °C
Protéase	Protéines	9.0 ± 0.1	55
Cellulase	Cellulose	5.0 ± 0.1	50
α amylase	Amidon	7.0 ± 0.1	20
Lignine peroxydase	Lignine	3.0 ± 0.1	30
Tyrosinase	Tanin	6.5 ± 0.1	25

6. Coagulation floculation en Jar Test

L'unité Jar Test est composée de six réacteurs agités, contenant chacun 1 L d'eau synthétique ou d'effluent réels (lixiviats ou de textiles).

6.1. Les différents types d'effluents

6.1.1. Effluent synthétique

L'effluent synthétique a la composition suivante : 300 mmol L^{-1} de $NaHCO_3$, 14 mmol L^{-1} de KCl, 66 mmol L^{-1} de $CaCl_2$, 51 mmol L^{-1} de $MgSO_4$, 60 mmol L^{-1} de $MgCl_2$, 13 mmol L^{-1} de KNO_3, 24 mmol L^{-1} de $Mg(NO_3)_2$, 60 mmol L^{-1} de $Ca(NO_3)_2$, 140 mmol L^{-1} de SiO_2, 10 mg L^{-1} d'acide humique et 1g L^{-1} de kaolin. Le mélange est agité pendant 24 heures puis dilué pour obtenir une turbidité entre 300 et 350 NTU. Le pH est ajusté par ajout de NaOH ou de HCl (1N).

6.1.2. Effluents réels

6.1.2.1. Textile

L'effluent de l'industrie textile d'une compagnie de lavage et délavage des jeans (Multiwash) à Fès au Maroc. L'effluent est caractérisé par une forte valeur de la demande chimique en oxygène (DCO =1,26 g. L^{-1}), un pH de 6,6, une turbidité initiale plutôt faible de 214 NTU (inférieure à celle de l'effluent synthétique précédemment utilisé, 350 NTU) et la présence de métaux, surtout du fer et du zinc, qui peut s'expliquer par le fait que les colorants synthétiques contiennent des métaux lourds (tableau 14).

Tableau 14 : caractéristiques de l'effluent textile

pH	Turbidité (NTU)	DCO ($mg.L^{-1}$)	Conductivité (ms/cm)	Fe ($mg.L^{-1}$)	Cr ($mg.L^{-1}$)	Zn ($mg.L^{-1}$)	Mn ($mg.L^{-1}$)	Ni ($mg.L^{-1}$)	Cu ($mg.L^{-1}$)
6,45	214	1266	2,13	2,.61	0,094	0,36	0,15	0,03	0,09

6.1.2.2. Lixiviat

Les échantillons de lixiviat ont été prélevés au niveau de la décharge publique contrôlée de la ville de Fès implantée dans la commune d'Aïn Beda sur la route de Sidi harazem à environ 11km du centre de Fès. Les caractéristiques du lixiviat sont données dans le tableau 15.

Tableau 15 : Caractéristiques de lixiviat de la décharge contrôlée de la ville de Fès

pH	Turbidité (NTU)	DCO ($mg\ L^{-1}$)	Conductivité (ms/cm)	Fe ($mg\ L^{-1}$ l)	Zn ($mg\ L^{-1}$)
7.7	2053	5400	24.6	33.7	4.7

6.2. Paramètres de la coagulation floculation

La première étape de la coagulation floculation consiste à agiter la solution à 250 rotations par minute (tr / min) pendant 10 minutes tandis que le floculant est ajouté progressivement au réacteur. Au cours de la deuxième étape, la vitesse est de 50 trs/min pendant 30 minutes. La dernière étape est la sédimentation des flocs formés au bout de 2 heures.

6.3. Détermination de l'efficacité du procédé

L'abattement de la turbidité et de l'absorbance à 254 nm est calculé selon l'équation 4 suivante :

$$Abattement\ (\%) = \frac{\text{Turbidité ou absorbance initiale} - \text{Turbidité ou absorbance finale}}{\text{Turbidité ou absorbance initiale}}\ X\ 100 \quad \text{(équation 4)}$$

Résultats et discussions

Chapitre 1 Coagulation floculation par *Opuntia ficus indica :* constituants impliqués et mécanisme

I. Introduction

Plusieurs travaux de recherches ont étudié le pouvoir floculant d'*Opuntia ficus indica* en traitement des eaux par coagulation floculation (Zhang et al., 2006 ; Miller et al., 2008 ; Betatache et al., 2014) sur des effluents synthétiques ou réels et ont montré sa forte activité coagulante et floculante en condition alcaline, à des doses différentes, selon la nature des effluents à traiter. Plusieurs auteurs ont montré que ce coagulant/floculant agit selon deux mécanismes : adsorption et pontage ou adsorption et neutralisation des charges (Miller et al., 2008 ; Jadhav et Mahajan, 2014 respectivement). Cependant, les groupes fonctionnels et l'identification des matières actives du cactus responsable du phénomène de coagulation floculation est pas ou peu étudié. En effet, seuls Miller et al., (2008) ont montré que des monomères glucidiques, tels que, le D galactose, L rhamnose, D xylose et L arabinose, sont responsables de 30 à 50 % seulement de l'abattement de la turbidité en présence d'acide galacturonique. Il existe donc d'autres molécules responsables de la coagulation floculation. En effet, la littérature indique que le cactus contient, des polyphénols, des protéines, des polysaccharides potentiellement acteurs de la coagulation floculation (Oladoja et al., 2017). L'objectif de notre étude, est de progresser, en terme d'identification des constituants actifs d'*Opuntia ficus indica,* ainsi que de comprendre son mécanisme de fonctionnement en condition optimale.

Ce premier chapitre, se divise en deux parties, la première est consacrée à une caractérisation selon une approche globale autour de la fonctionnalisation des éléments présents dans le cactus en poudre. Pour cela nous avons réalisé des extractions en phase aqueuse à différents pH à partir du matériel brut (poudre de cactus), afin d'isoler les molécules les plus réactives en coagulation floculation. L'expérimentation a été menée sur un effluent synthétique (Miller et al., 2008), composé essentiellement de kaolin et d'acide humique. Les résultats obtenus en Jar test ont été exprimés en abattement de la turbidité et d'absorbance à 254 nm.

Afin d'identifier les fonctions des molécules actives impliquées, nous avons réalisé une série d'analyses sur les différentes extractions et/ou sur le matériel brut : mesures du potentiel zéta, titrage acido-basique des fonctions, spectrométrie UV (240 et 280 nm).

La deuxième partie, est consacrée à une identification plus avancée des molécules, toujours avec un fractionnement selon la variation de solubilité avec le pH, mais également un

fractionnement par ultrafiltration (<3000 Da ; >10000 Da) et par chromatographie à exclusion stérique (HPLC SEC). Une fois, les familles biochimiques d'*Opuntia ficus indica* responsables du meilleur abattement de la turbidité et d'absorbance déduites, une identification plus précise a été menée par, chromatographie à phase inverse (HPLC IP), et dosage colorimétrique. Les résultats ont été confrontés à ceux obtenues par une approche enzymatique. Cette approche consiste à dégrader de manière sélectives des classes de molécules biochimiques puis d'en estimer l'impact sur l'abattement de la turbidité.

L'objectif final de ce chapitre est de proposer un modèle du fonctionnement avec les « molécules actives » associés à la coagulation/floculation optimale de l'effluent synthétique.

II. Identification of functional groups of *Opuntia ficus-indica* involved in coagulation process after its active part extraction

Cette partie est restituée au format de la publication acceptée et publiée dans

Environmental Science and Pollution Research, 25 (2018), 11111-11119

II.1. Introduction

The production of drinking water from most raw water resources typically involves a coagulation–flocculation process with a destabilization of colloidal solution (coagulation) and the flocculation (mechanical or chemical) of solid particles to obtain suspended material (Lee et al. 2014a). The treatment of both synthetic water and industrial wastewater normally entails the use of conventional chemical coagulants, including Al2 (SO4)3, Fe (SO4)3, FeCl3, and other derivatives of these materials (e.g., poly ferric chloride and poly aluminum chloride). These inorganic materials lead to efficient sludge settlement through charge neutralization of colloidal particles and strongly a physical flocculation. Achemical flocculation (coagulation–flocculation) with natural or synthetic polymers may supplement the process (Fu and Wang 2011, Jiangya et al. 2017). However, several drawbacks of using inorganic coagulants are frequently reported. According to the literature, possible residual aluminum in treated water may have human health implications, and the large quantity of metallic sludge produced

which disposal itself is another problem (Bodlund et al. 2014; Freitas et al. 2015). Recent studies, conducted on the flocculation process during synthetic water and industrial wastewater treatment, have shown that natural organic polymers are preferentially used over inorganic and synthetic polymers in the flocculation reaction (Miller et al. 2008; Nharingo and Moyo 2016; Li et al. 2014). Natural polymers are in fact more advantageous than inorganic compounds by virtue of producing denser and more compact flakes, which are biodegradable and less toxic thanmetallic compounds. A strong attention is given to starch-based flocculants for water treatment with many possibilities of hemisynthesis for the improvement of these flocculation performances (Wu et al., 2016). Natural polymers are used in lower doses and produce smaller amounts of sludge (Renault et al. 2009; Freitas et al. 2015; Zhang et al. 2006). Jones and Bridgeman (2016) have shown the efficiency of addition of purified seed extracts of Hibiscus vitifolius Linn as coagulant aids. Currently, it is discovered that all plants being studied for flocculants production have mucilaginous constituents and it is predicted that some of the active ingredients in the mucilage (polysaccharides) are responsible for the flocculating property (galactomannan and galactan for Nirmali seeds; Yin 2010), but the most studied plant of the natural coagulant (Moringa oleifera) shows that the active agents are dimeric cationic proteins (Ndabigengesere et al. 1995). Opuntia ficus-indica has received greater attention over the past few years and has been extensively investigated for its pharmaceutical properties (anti-cancer effect, anti-diabetic effect, neuroprotective (Feugang et al. 2006; Kaur et al. 2012) and physicochemical constituents (Ibanez et al. 1983; Miller et al. 2008)). Numerous studies have revealed that Opuntia ficus-indica contains different biochemical compounds (e.g., carbohydrates, polyphenols, proteins), reporting that some of these constituents contain active ingredients with coagulation– flocculation capabilities (Yin 2010; Miller et al. 2008; Torres et al. 2014).

To date, information is still sorely lacking as regards the overall coagulation capabilities of Opuntia spp. and its action mechanism. According to the literature, cactus operates primarily through a flocculation mechanism (Miller et al. 2008), a polymer-like material originating from the cactus species. However, all studies investigating the flocculating property of bioflocculants focused solely on the flocculation process, in analyzing the effects of (i) flocculant dose, (ii) contact time, and (iii) pH on flocculation efficiency (Betatache et al. 2014; Bouaouine et al. 2017; Aboulhassan et al. 2016). Until now, no study has investigated the relationship existing between soluble chemical species and flocculation. In this context, the

objectives of this laboratory-scale work program were to obtain more information about the active constituent of Opuntia ficus-indica and enhance knowledge of coagulation mechanism of synthetic water by this cactus. To achieve these objectives, flocculation process efficiency was studied, and water extractions have been done under various pH conditions. Materials (raw material and extractible) were characterized using zeta potential, colloidal particle size distribution, and spectroscopy (i.e., UV-visible, infrared (IR)). Moreover, the ionizable

II.2. Materials and Methods

II.2.1. Preparation of Cactus Materials

Opuntia ficus-indica belong to the Cactaceae family and member of *Opuntia* kind was collected in a wild plantation near Fez (Morocco). The cactus pads were washed, and all thorns were removed and dried at 80°C for 24 hours. The material was crushed and sieved through a set of 0.5-1.0 mm diameter sieves; this cactus powder was then stored at 4°C. The dryness and volatile dry weight (%VDW) of the prepared Cactus Solid Material (CSM) were: 81±1 and 77±1%, respectively. In order to isolate the active components, this cactus material was fractionated based on its solubility in water. This approach relied on the water extraction of soluble compounds (Water-Extracted Material, WEM) from 1 g of dry weight (DW) powdered cactus in 100 mL of deionized water at two distinct pH values (7 and 10). After stirring for 24 hours, the cactus extracts were filtered through a 20-µm fiberglass filter (Whatman). The filter paper was washed several times by distilled water. Then, a second filtration at 0.45 µm (cellulose acetate - Whatman) was carried out before drying the retentate at 105°C.

Afterwards, the solution of WEM carried out at pH =10 ($WEM_{pH\ 10}$) was acidified to pH 7. The soluble extract in alkaline solution precipitate with the acidification. The precipitate was recovered by filtration (0.45 m). The active molecules isolated in the precipitate, were resolubilized in a basic medium and named “precipitate”. The filtrate and the “precipitate” from $WEM_{pH\ 10}$, were conserved to quantify the residual and efficient flocculation property respectively.

II.2.2. Characterization of materials

The zeta potential and particle size distribution of the colloidal solution were determined by a Malvern Master Zetasizer 3000 device. The pH of Cactus Solid Material (CSM) or Water-

Extracted Material (WEM) was set at various values (3 to 12) for 2 hours, followed by a 0.45-µm filtration (cellulose acetate) before conducting the measurements. The Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy analysis was performed on the CSM by applying an infrared spectrometer (Betatache et al. 2014; M. Tatzber et al. 2007) in the range of 400-4,000 cm^{-1}. The CSM was prepared under high pressure (12-15 tons) in the presence of KBr powder (KBr > 99% Acros organics). The cactus solid material was observed under a scanning electron microscopic (SEM) (QUANTA FEG 450, FEI, USA) at different magnifications ranging from (300 × to 40000 ×).

Dry weight (DW in $g.L^{-1}$) of the material was performed at 105°C during 24h, the volatile dry weight content (VDW expressed in % ($g.L^{-1}$/ $g.L^{-1}$: VDW/DW) at 550°C during 2 hours. The total organic carbon (TOC) of the WEM was determined using a TOC-meter (Analytik Jena CLD-TOC multi N/C 2100S). The UV-Vis analyses of organic matter from the WEM were performed with a UV-visible spectrophotometer (UV 2300).

The ionizable functions of CSM or WEM were derived manually using acid-base titration. 50 mL of solutions containing 10 $g.L^{-1}$ of solid at different pH values were placed at a constant temperature of 22°C and adjusted every interval at a pH of around 2 by HCl (1M). The titrations were performed under a nitrogen atmosphere. The pH was detected by a pH Meter GLP 22 CRISON equipped with a CRISON codigo electrode: 5221 (pH 0-12 ± 0.1), coupled to a 25 ± 0.1-mL burette (Hirschmann EM Techcolor) filled with NaOH (0.1M).

Microscopy picture were performed with an optical microscope (NIKON Eclipse LV1100POL) at magnification of 10 coupled with a CCD camera (Nikon Japan P-I). Image treatment was performed with software NIS-Element F2.20.

The viscosity was measured with RM200 Lamy rheometer in WEM solution and in flocculated suspended solution for a shear rate between 250 and 500 s^{-1} to avoid settling of solid.

II.2.3. Jar-test experiments

A synthetic water was introduced to draw a robust comparison among all experiments. An ionic strength was established in order to mimic natural water by salt solubilization (Table 1). functions of these materials were analyzed by means of acid–base titration.

Table 1 Ionic balance of synthetic water

	Cations (µmol)					Anions (µmol)				
	K^+	Na^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Si^{4+}	Cl^-	HCO_3^-	SO_4^{2-}	NO_3^-	NO_2^-
Values	29	283	81	108	140	171	283	51	134	140

The synthetic water was completed by thoroughly mixing kaolin (1 $g.L^{-1}$) and humic acid (10 mg L^{-1}) (Sigma Aldrich for both). The preparation was left for 24 hours without stirring. This time is necessary for the swelling of the clay but hydradation was incomplete and kaolinite settling was observed. The supernatant was used as a stable solution. This stock solution (Table 1) was diluted to achieve the desired turbidity between 300 and 350 Nephelometric Turbidity Units (NTU); the pH value equaled 6.5 ± 0.4, and the absorbance at 254 nm was 1.2 ± 0.2. The unit employed herein was composed of six stirred reactors (VELP Scientifica JTL6), each containing 1 L of synthetic water. The first step of the Jar-test consisted of stirring the stock solution at 250 rotations per minute (rpm) for roughly 10 minutes while the flocculant was gradually added to the reactor. During the second step, the speed was reduced to 50 rpm for 30 min. The last step entailed sedimentation of the flocs that had formed over a 2-hour period.

The efficiency of the cactus material was measured determining the removal of turbidity or absorbance at 254 nm in synthetic water. The residual turbidity of suspended solids was then measured by a turbidimeter (Hanna HI 88713) and expressed in NTU in accordance with the standard nephelometry method. The absorbance of soluble substances was measured at a wavelength of 254 nm ($Abs_{254\ nm}$), which is capable of absorbing aromatic groups like humic substances. The removal of turbidity or $Abs_{254\ nm}$ was calculated using the following formula:

$$Removal\ (\%) = \frac{\text{Initial Turb or Abs 254 nm} - \text{Residual Turb or Abs 254 nm}}{\text{Initial Turb or Abs 254 nm}}\ X\ 100$$

II.3. Results and Discussion

II.3.1. Characterization of materials

The observation of CSM by SEM (Fig. 1) showed irregular colloidal particles with various size included between more of 1 mm and few hundred nm.

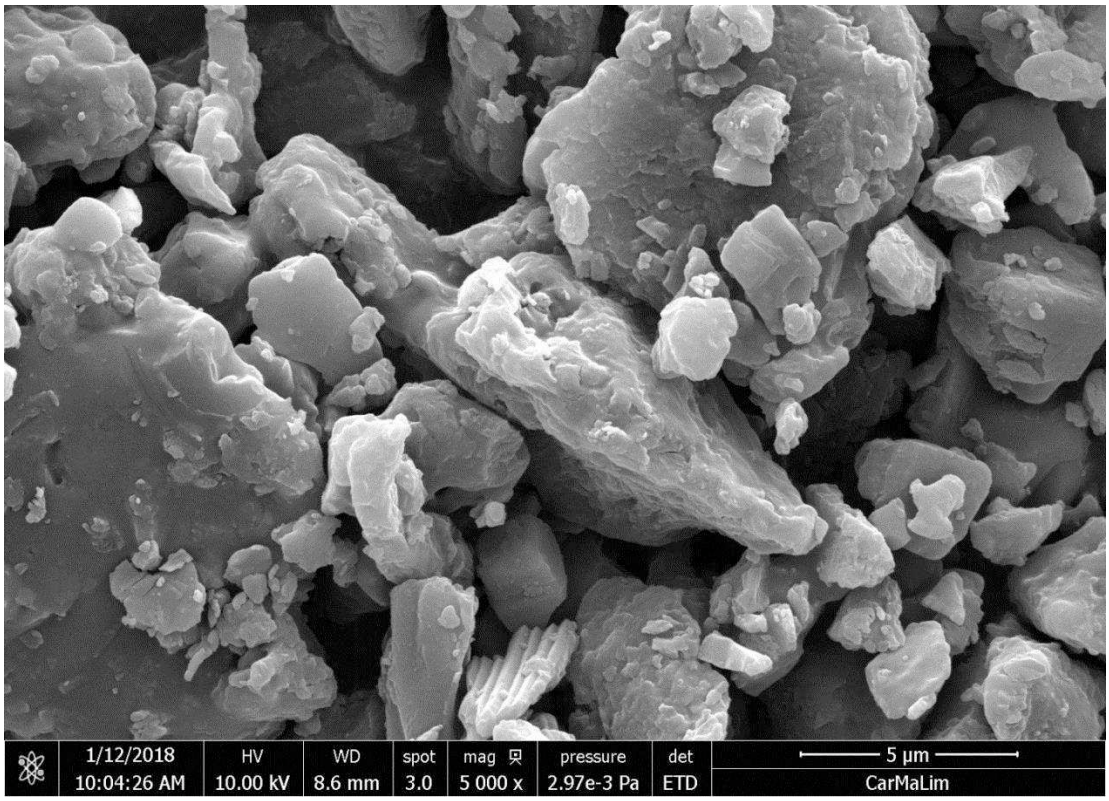


Fig. 1 Observation by SEM of cactus solid material (CSM)

Figure 2 presents the zeta potential variation for the colloidal solution of cactus solid material (CSM) and synthetic water, as well as the particle size distribution at different pH values (from 3 to 12) for CSM. For CSM and the synthetic water, regardless of the pH values, zeta potential is negative, and the synthetic water is more negative than CSM. For CSM, the evolution of zeta potential displays a gradual decrease from -7 mV at pH 3 to -30 mV at pH 12, as does the synthetic water from -10mV to -37 mV, respectively. In parallel, the colloidal particle size of CSM increases from 110 nm to 289 nm as pH from 3 to 10, and subsequently decreases (216 nm at pH 12). The colloidal size variation can be explained by the presence of organic monomers undergoing polymerization depending on the number and characteristic variations of ionized groups. Maximum polymerization was detected at pH 10.

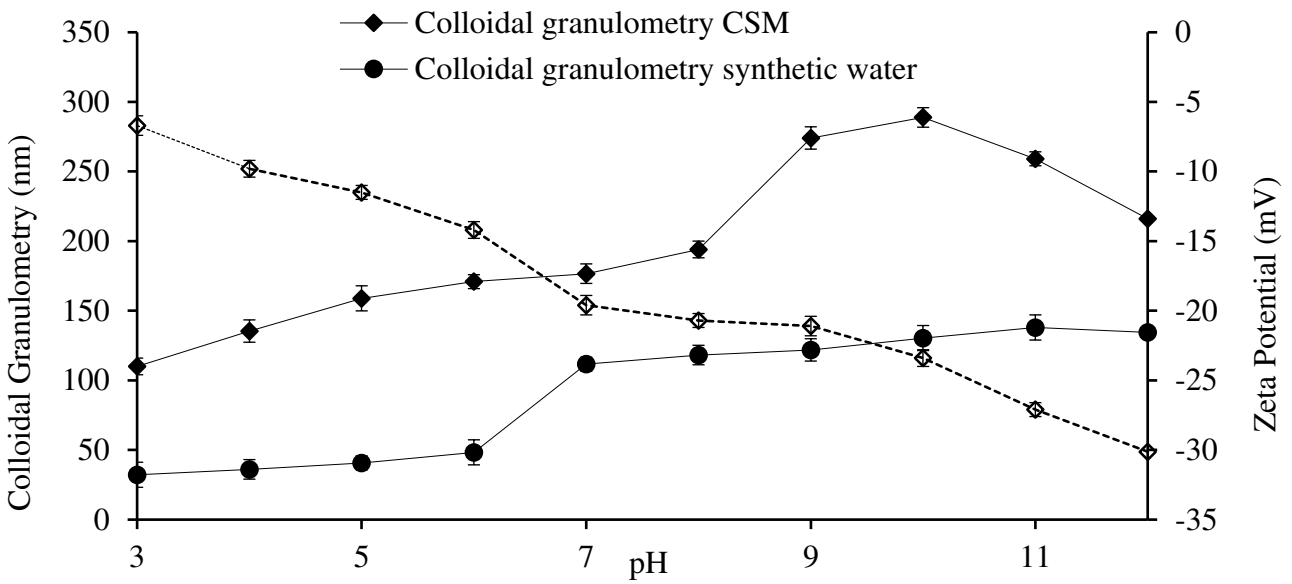


Fig.2 Variation of zeta potential and colloidal granulometry at different values of pH for 10 g L^{-1} of cactus solid material (CSM) and synthetic water

*n = 3 (independent assays)

In contrast (Fig. 3), FTIR has been implemented to identify the presence of functional groups on the CSM; a peak is found between 3,200 cm^{-1} and 3,500 cm^{-1}, which could be correlated with the existence of carboxylic acids (Betatache et al. 2014). Band absorption between 2,800 cm^{-1} and 3,000 cm^{-1} may be explained by the presence of CH_3 and CH_3-O. The vibrations of strips at 1,620 cm^{-1} and 1,430 cm^{-1} indicate the existence of groups C=O and phenol groups (M. Tatzber et al. 2007), respectively. In addition, the peaks at 1,320 cm^{-1} and 1,050 cm^{-1} prove the appearance of -COOH groups, aromatic proteins, phosphoric groups and polysaccharides (Bouatay and Mhenni 2014; Thomas and Chittenden 1964). The FTIR analysis confirms the presence of ionizable groups like hydroxyl, carboxyl or phosphoric groups.

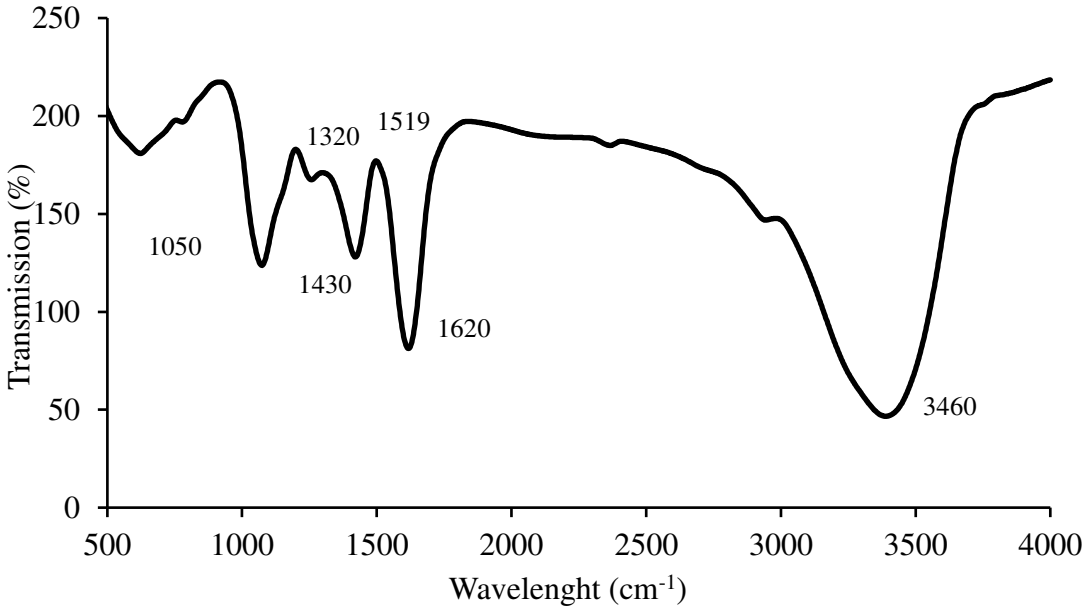


Fig. 3 FTIR spectrum for 2.5 mg of cactus solid material (CSM)

Accordingly, acid-base titrations of CSM have been conducted in order to identify these groups (Table 3), with five pKa being detected. The first sites identified with pKa_1 (i.e. 2.1-2.9) likely correspond to the -COOH group from free amino acids (Vcelakova et al. 2004). pKa_2 (4.5-5.5) and pKa_3 (6-7) are most likely associated with carboxyl groups and phosphoric groups, respectively (Cox et al. 1999). pKa_4 (8.6-9.9) may be assigned to the phenol function (Martin Ragnar et al. 2000) from lignin (Herrero-Martinez et al. 2005) or tannin, such as catechin (Tungjai et al. 2008). This pKa might also be assigned to some free amino acids. pKa_5 (11-12.2) may also be ascribed to arginine amino acids (Sjoholm et al. 1974). Table 4 summarizes, based on the literature, the possible ionizable groups, along with possible associated molecules and their correspondence to functional groups and molecules identified in FTIR for the CSM.

The characteristics of water-extracted material (WEM), at pH values of both 7 ($WEM_{pH\ 7}$) and 10 ($WEM_{pH\ 10}$), are presented in Table 2.

Table 2 Characteristics of WEM $_{pH\ 7}$ and WEM $_{pH\ 10}$

pH Extraction	Extraction yield (DW/ DW) %	colloidal Granulometry nm	VDW %	TOC g (C) / g of Dry weight	Abs $_{210\ nm}$ for 1g Dry weight	Abs $_{280\ nm}$ for 1g Dry weight
7,0	34 ± 2	160 ± 2	16 ± 1	0,045 ± 0,001	0.53± 0.03	0.08 ± 0,01
10,0	51± 2	208 ± 3	31 ± 1	0.16 ± 0,01	0.9 ± 0.1	0.13 ± 0.02

WEM: water extract material

*n = 3 (independent assays)

Extraction yield increases with pH from 34% to 51% of dry weight (factor=1.5). Concerning the change in global organic matter of the WEM fraction, the absorbance at 210 nm and 280 nm (Abs $_{210\ nm}$ and Abs $_{280\ nm}$ for 1 g dry weight) increases (by a factor > 1.5) with pH; this trend is also observed for TOC content (factor > 3). At pH 10, we have therefore obtained more organic material than at pH 7, with an organic component slightly differentiated by absorbance (a more conjugated bond in WEM $_{pH\ 10}$. The viscosity of WEM appeared not significantly different of pure water. An increase in particle size (from 160 to 208 nm) was also noticed from pH 7 to pH 10; two reasons can be cited: i) modification of polymer conformation when considering possible new ionized groups; and ii) the characteristic variation of organic WEM components based on pH of extracted molecules in alkaline conditions.

II.3.2. Coagulation-flocculation efficiency

In order to identify optimal conditions pH for the flocculation, the coagulant dose was set at 100 mg of CSM for 1 liter of synthetic water and three parameters were measured as a function of pH value: turbidity removal, microscopic observations of the sludge after coagulation-flocculation and viscosity observations of the sludge after coagulation-flocculation (Fig. 4). In fig 4 C, results show the evolution of turbidity removal versus pH for the synthetic water alone or in a solution with CSM.

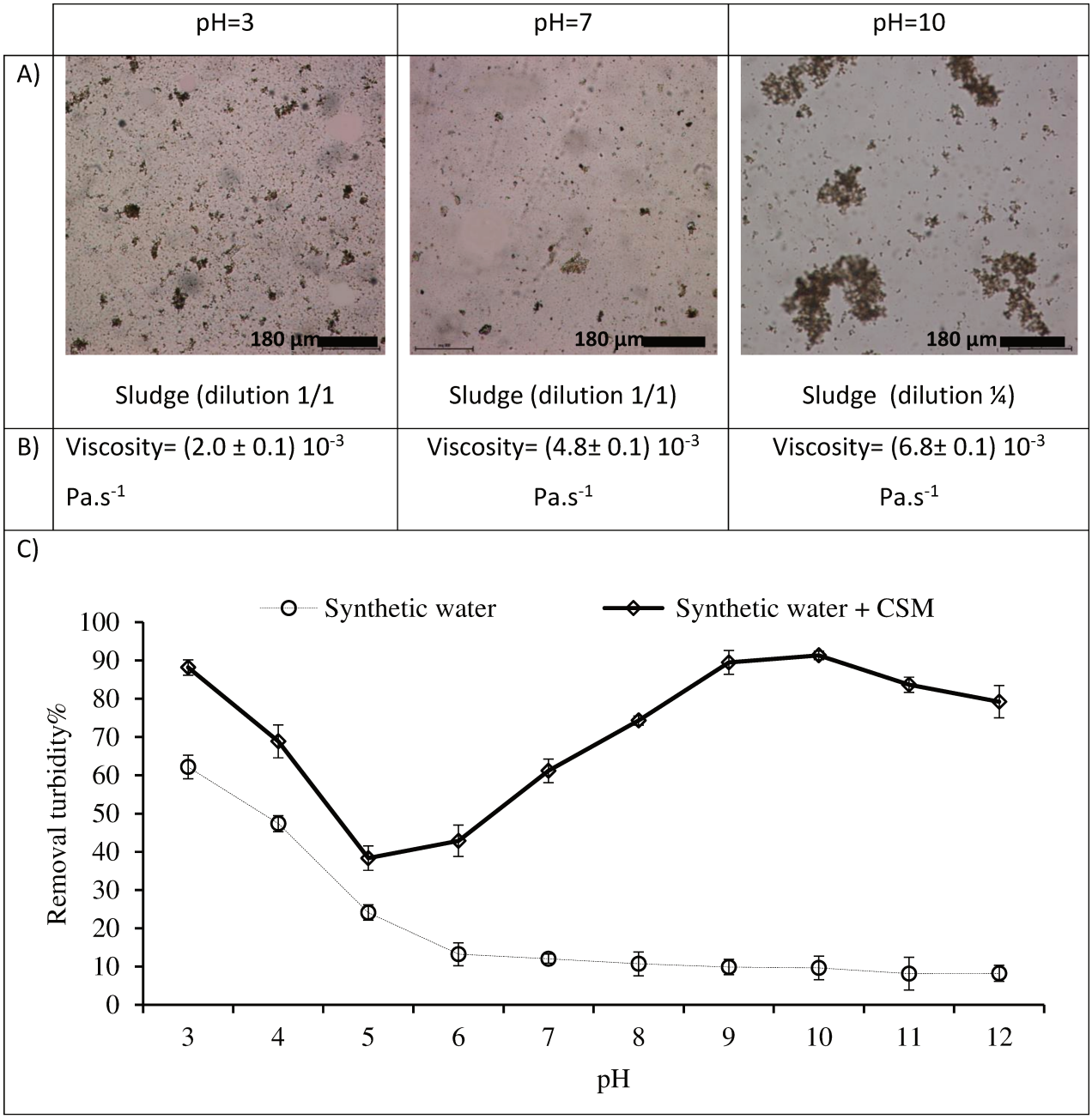


Fig. 4 Impact of the pH on the efficiency of the coagulation-flocculation process (fixed dose of 100 mg of cactus solid material (CSM) for 1L of synthetic water).

A/ Optic microscopic observations of sludge formed after coagulation–flocculation (pH 3, 7 and 10), B/ Viscosity (Pa.s–1) of sludge formed after coagulation –flocculation (pH 3, 7 and 10) at 20°C, C/ Variation of removal of turbidity (%) for synthetic water + CSM and synthetic water alone.

*n = 3 (independent assays)

Three ranges can be observed: in acidic condition (from pH 3 to 5) the removal turbidity is great but decreases with pH value (63% to 40%, respectively). In the second range, from pH 5 to 6, the turbidity decrease is weakest. Beyond pH 6 and when CSM is present in solution, removal turbidity and the settling increase, reaching a maximum of 92%. Lastly, from pH 10 to 12, removal dips slightly from 92% to 78%. In the absence of CSM the turbidity of synthetic water is slightly reduced. These results confirm that the optimal flocculation pH equals 10.0 and the minimum occurs at around 6 (Miller et al. 2008; Zhang et al. 2006; Torres et al. 2014). As shown in Figure 2, as pH is decreasing, zeta potential increases for the synthetic water (up to -10 mV) and lies close to neutrality at pH 3. Colloids form of synthetic water can thus coagulate in the first range of acidic condition. Between pH 6 and 7 the colloidal suspension of synthetic water is relatively stable and more and more with the pH increase (with or without CSM). On the other hand, a flocculation phenomenon is observed in alkaline condition when CSM is introduced. Microscopic observation (fig. 4A) and viscosity measurement (fig. 4B) at pH values (3, 7 and 10) confirm the three mechanisms:

-mechanism I around pH 3: Mechanical coagulation of particles in synthetic water: floc from sludge measuring between 10 and 30 µm.

-mechanism II around pH 7: Stabilized colloidal suspension with poor concentration of suspended matter (particle size of floc from sludge less than 10 µm).

-mechanism III around pH 10: Coagulation-flocculation by adsorption with particles size of floc from sludge ranging between 70 µm and 400 µm.

Figure 5 depicts the variation in turbidity and Abs $_{254\ nm}$ removals as a function of CSM dose (between 0 and 60 mg L^{-1}) at pH 10.0. The highest turbidity and absorbance removal rate equals 96% and 83%, respectively, for 35 mg L^{-1} of CSM. The same tendency was observed for turbidity and Abs $_{254\ nm}$ because humic acids were absorbed into flocs during coagulation flocculation process. These optimal conditions are comparable to results found by (Miller et al. 2008), who worked on a synthetic water of kaolin. In contrast, (Zhang et al. 2006) achieved a higher turbidity removal with a dose of 60 mg L^{-1}. Many studies have demonstrated the efficiency of cactus in the field of wastewater treatment (Bouaouine et al. 2017; Betatache et al. 2014; Nharingo et al. 2016; Torres et al. 2014).

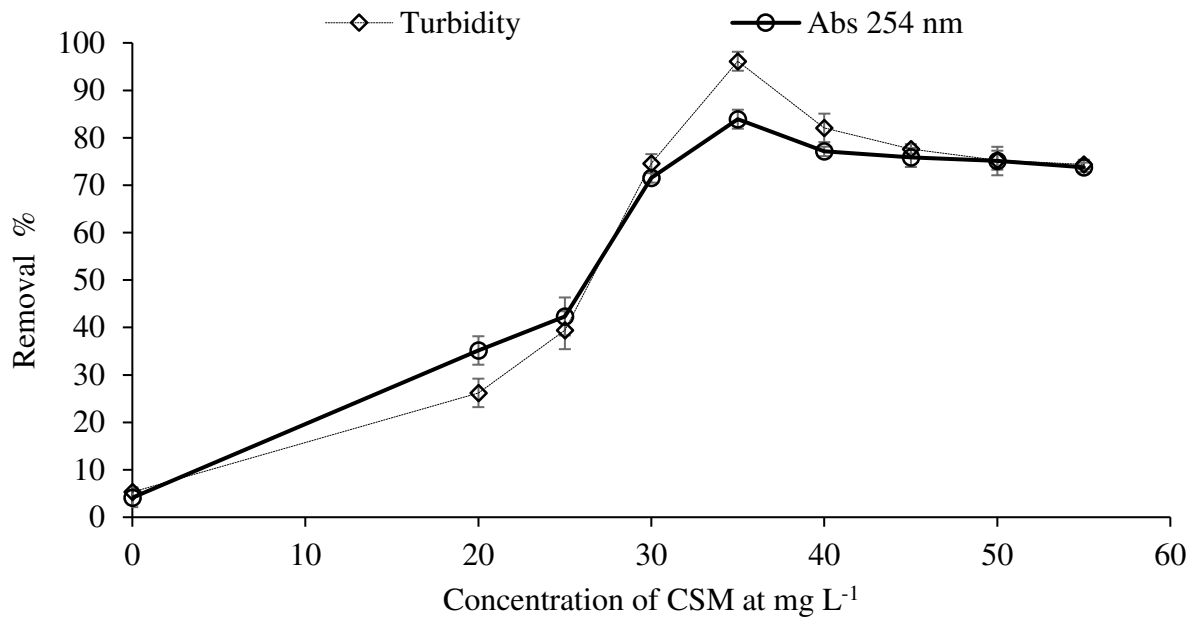


Fig. 5 Turbidity and absorbance $_{254\ nm}$ removals upon dose of cactus solid material (CSM) at pH 10

* n = 3 (independent assays)

Given that regardless of pH value, the zeta potential of colloids for both CSM and synthetic water are negative (Fig. 2), then colloidal neutralization is infeasible with CSM. This statement suggests that colloids and suspended CSM not operate through a colloidal neutralization of particles in the synthetic water, but instead through an adsorption mechanism and bridging between particles. Furthermore, the cactus at pH 10.0 exhibits a negatively charged backbone (Fig. 2) due to carboxyl and phenol groups (Fig. 3), which have allowed the polymer molecules to extend into solution and produce loops and tails to promote the bridging of flocs, like other bioflocculants: tannin and anionic cellulose (Lee et al. 2014b).

The optimal activity of CSM at pH=10 may in fact be correlated with quantitative aspects as well as with the nature of active molecules extracted and transferred into solution. To better comprehend the pH influence, a water extraction for two pH values was performed, one at the maximum flocculation efficiency (pH =10) the other at pH=7, where flocculation appears to be minimal (Fig. 4). The flocculent activity of the water-extracted material at pH 7 (WEM $_{pH\ 7}$) and pH 10 (WEM $_{pH\ 10}$) was investigated in the subsequent stage of this study.

In order to confirm the efficiency of water-extracted material (WEM) as a flocculant, Figure 6 examines the variation in turbidity removal with the WEM dry weight dose for both extraction pH values (WEM $_{pH\ 7}$ and WEM $_{pH\ 10}$). The coagulant effect has also been tested for the residual solid after extraction at pH 7 and 10. It was observed that a 35 mg L^{-1} dry weight dose allows optimal removal with all extracted or residual solids. The best turbidity removal value was obtained for WEM $_{pH\ 10}$, with a removal rate of 90%, whereas WEM $_{pH\ 7}$ displayed a removal rate of 48% for both. It was also found that the residual solids after extraction at pH 7 or 10 exhibit similar low efficiency (20 to 30%) for turbidity removal. This settling with rare flocculant molecules with the residual solid can be associated to a sweep flocculation mechanism with the high concentration of colloids in the solution. Moreover, the removal of CSM (Fig. 4) and WEM $_{pH\ 10}$ is nearly identical (96% vs. 91% for turbidity removal). These results prove that flocculant molecules are mainly extracted at pH=10, while the role of the residual solid phase during treatment with CSM remains very weak.

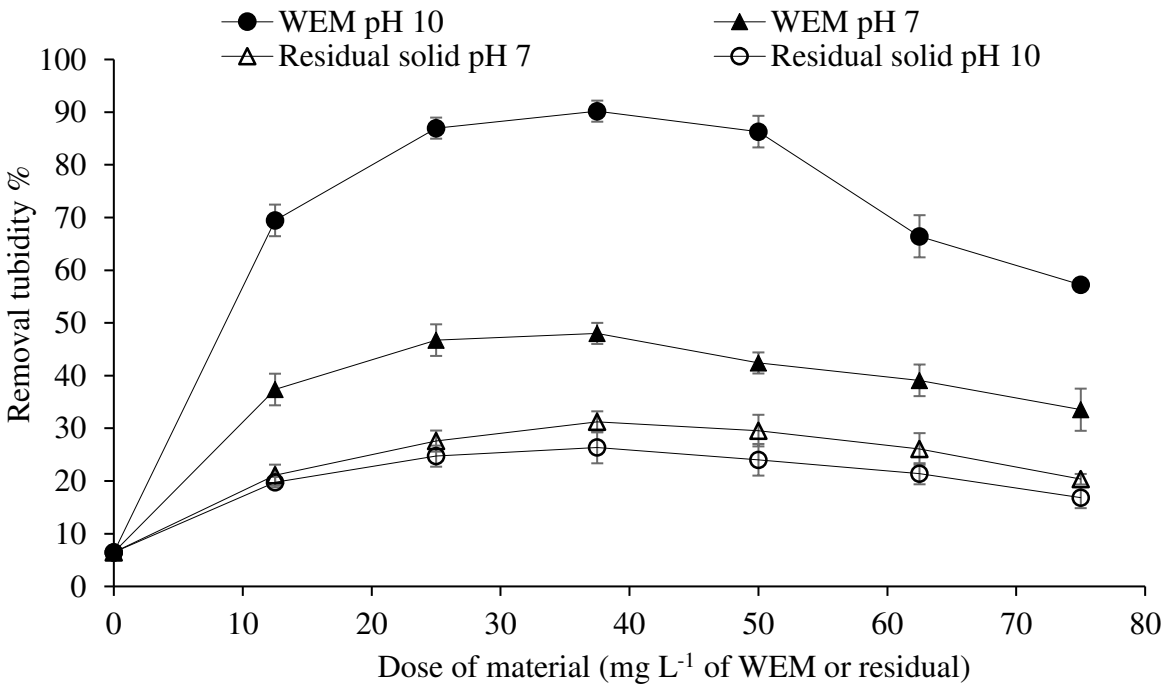


Fig. 6 Variation of removal of turbidity at different doses of dry weight WEM (water extract material) at pH = 7 and 10 for synthetic water at pH 10

*n = 3 (independent assays)

To isolate the more active molecules contained in the solution at pH=10, the WEM $_{pH\ 10}$ (optimum flocculation) was acidified at pH=7, resulting in a precipitation. Turbidity removal at optimal dose (i.e. 35 mg L^{-1}) for a synthetic water at pH 10.0 is compared (see Fig. 7) among: "WEM $_{pH\ 7}$", "WEM $_{pH\ 10}$", a pellet from WEM $_{pH\ 10}$ precipitated at pH 7 (precipitate), and the WEM $_{pH\ 10}$ supernatant precipitated at pH 7 (filtrate). The precipitate contains (nearly) all of the active flocculant molecules compared to WEM $_{pH\ 10}$, with a turbidity removal rate equal to 91% ± 1% and 93% ± 2%, respectively. It was also determined that the turbidity removal rate of WEM $_{pH\ 7}$ is actually greater than that of the filtrate, reaching 50% and 16%, respectively.

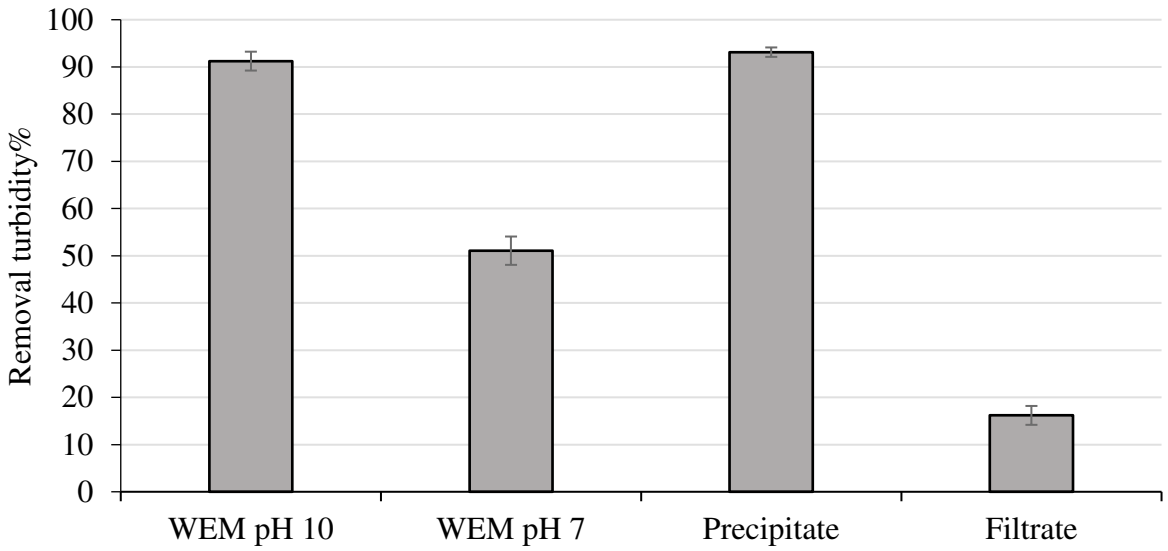


Fig.7 Comparison of removal of turbidity between various all cactus preparations at an optimal dose of 35 mg L^{-1}

*n = 3 (independent assays)

To identify the components involved in the defined flocculation process, let us now compare the pKa of WEM $_{pH\ 7}$, WEM $_{pH\ 10}$ and both the precipitate and filtrate; The pKa_s values of the various ionizable groups are listed in Table 3. Among the five pKa_s values from CSM, the four cactus preparations reveal values of less than 5 pKa.

Table 3 pKa_s values for all cactus preparations

PK_as	CSM (Cactus solid material)	WEM $_{pH\ 10}$	WEM $_{pH\ 7}$	Precipitate	Filtrate
pKa_1	2.3 ± 0.6	2.9 ± 0.5	2.3 ± 0.6		
pKa_2	5.5 ± 0.6	6.0 ± 0.2	4.8 ± 0.4	4.7 ± 0.4	4.8 ± 0.5
pKa_3	7.0 ± 0.6				
pKa_4	9.0 ± 0.6	9.0 ± 0.6		9.0 ± 0.6	
pKa_5	12.0 ± 0.6	12.0 ± 0.6			11.0 ± 0.5

WEM: water extract material

*n = 2 (independent assays)

WEM $_{pH\ 10}$ contains the same functional groups as CSM, except for phosphoryl groups (pKa_3), which explains the improved extraction removal rate at pH 10. However, the most striking result is that the precipitate contains just 2 pKa ($pKa_{2\ and\ 4}$), thus involving the more active ionizable groups. In sum, should the active constituents be ionizable, then it may be confirmed that the major activity of ionizable groups is associated with pKa_4 since pKa_2 is common to the filtrate and precipitate, except that the turbidity removal rate of the filtrate is merely 16%.

pKa_4, which is common to CSM, WEM $_{pH\ 10}$ and the precipitate, is present in molecular form from the active compounds. According to the literature, pKa_4 (8.6-9.9) could correspond to phenol groups associated with lignin (Gross and Seybold 2001). Moreover, compared to groups identified in FTIR (Fig. 3), we have observed that all of the investigated CSM spectra shared certain spectral similarities with phenol groups. A band, due to the presence of a phenol stretch, has been observed between 1,430 cm^{-1} and 1,620 cm^{-1}, especially at 1,519 cm^{-1}, which could correspond to tannin (including catechin) (Robb et al. 2002) or free aromatic amino acids. In considering the flocculation mechanism, the most active molecules in both WEM $_{pH\ 10}$ and the precipitate are quite possibly tannins, like catechin and lignin.

Table 4 FTIR bands and ionisable groups of different pKa detected

Values of pKa	Possible ionisable groups	References (pKa)	FTIR bands and correspondence	References (FTIR)	Possibility of the molecules associated with the ionisable group
2.3-2.9	Carboxyl	Vcélakova et al., 2004	1050 cm^{-1}	Bouatay et al., 2014	Tryptophan, Lysine and glycine
4.5-5.5	Carboxyl	Cox et al., 1999	3200-3500 cm^{-1}	Betatache et al., 2014	Uronic acids
6-7	Phosphoric	Cox et al., 1999	1320 cm^{-1} and 1600-2725 cm^{-1}	Thomas et al., 1964	Phosphoric acids
8.6-9.9	Phenol	Ragnar et al., 2000 and Martinez et al., 2005	1430-1620 cm^{-1}	Tatzber et al., 2007	Tannin (whose Catechin) and Lignin and aromatic amino acid
11-12.2	Amine	Sjoholm et al., 1974	1499-1602 cm^{-1}	Venyaminov et al., 1990	Tyrosine

II.4. Conclusion

The study explores that *Opuntia Ficus-indica* can efficiently remove colloid in water solution by a coagulation-flocculation mechanism with an optimal pH value of 10.0. The zeta potential has suggested that this material operates through a flocculation mechanism, with the adsorption of water-soluble biomolecules and a bridging between particles. A large quantity of material may be extracted in water at pH 10 and isolated by precipitation at pH=7. This fraction shows similar efficiency when compared to the raw material. The FTIR results and the identification of a specific function of water extractible material at pH 10 (pKa of 9.0 ± 0.6), suggest the presence of a phenol group, possibly originating from lignin and tannin (especially

catechin). Bioflocculation properties of such molecules stemming from plants had not been revealed yet.

III. Identification and role of *Opuntia ficus indica* constituents in the coagulation-flocculation mechanism of colloidal solutions

Cette partie est restituée au format de la publication soumise au journal **Separation & purification technology (en cours de revision)**

III.1. Introduction

The use of natural flocculants has recently become a promising solution in the wastewater treatment of various polluted effluents by virtue of their coagulation-flocculation mechanisms (Sciban et al., 2009; Sanvano et al., 2013; Chethana et al., 2016; Freitas et al., 2018). The increasing demand for environmentally friendly technologies has focused attention on various natural polyelectrolytes, which are being used as either coagulants or flocculants in water and wastewater treatment and moreover are capable of being substituted for metal salts and all synthetic polyelectrolyte flocculants. Examples include plant organism preparation from *Moringa oleifera* seed or from cactus as well as the application of specific biochemical families extracted from plant organisms (Gopalakrishnan et al., 2016; Miller et al., 2008). Bioflocculants are used as mucilage (polysaccharide polymers): starch from rice and maize (Abdelaal et al., 2006), polysaccharide from *Ocimum basilicum* (Shamsnejati et al., 2015), or sodium alginate from algae (Freitas et al., 2018). However, other biochemical families are also involved, such as protein from fava beans and from *Cocos nucifera* (Fatombi et al., 2013), or polyphenols from grape seed or *Acacia* mearnsii (Kukic et al., 2015; Fatombi et al., 2013; Jeon et al., 2009; Missio et al., 2017).

The high reactivity of *Opuntia ficus indica* in synthetic surface water treatment during the coagulation-flocculation process has been confirmed by many authors (Miller et al., 2008; Betatache et al., 2014; Gomes et al., 2016; Bouaouine et al., 2018). *Opuntia ficus indica* contains natural polysaccharides (mucilage), proteins and polyphenol (Stintzing et al., 2005). Miller et al., (2008) demonstrated that the mix of monomer sugars contained in *Opuntia ficus indica* (galactose, rhamnose and arabinose) only allowed for a limited removal of turbidity for a synthetic kaolin solution (around 50%); moreover, to date, no data from the literature has pointed to active constituents contributing to high turbidity removal rates.

In a previous study Bouaouine et al., (2018) investigated the action of all cactus-extracted materials for turbidity removal in a synthetic solution with both kaolin and humic acid. Results showed an optimal coagulation flocculation at pH 10 in addition to chemical groups, especially phenol groups, being involved in the flocculation. Phenol groups were indeed identified as the most active extracted constituents providing the greatest efficiency in the coagulation-flocculation mechanism.

Polyphenols are polycyclic compounds with hydroxyl groups containing phenol, whether substituted or not, and mainly exist in association with sugars (glucose, galactose, arabinose, etc.). Some polyphenols can form complexes with macromolecules, in particular proteins, via hydrogen bonds or hydrophobic interactions (Bruneton 2009). Polyphenols have already been used in wastewater treatment applications as flocculants: Jeon et al., (2009) demonstrated that catechin (flavonoid) and tannic acid (tannin) were both involved in the molecular flocculation mechanism.

In this study, our aim is twofold: i) identify the active biochemical constituents of *Opuntia ficus indica* involved in flocculation, and ii) propose a coagulation-flocculation model of colloidal suspension under alkaline conditions. Accordingly, the extracted biochemical constituents of cactus under various pH conditions and fractionated by ultrafiltration systems have been investigated with: colorimetric dosage, Inverted Phase Chromatography (IPC), Size Exclusion Chromatography (SEC), and enzymatic treatment.

III.2. Materials and Methods

III.2.1. Fractionation of active components

As presented in a previous study (Bouaouine et al., 2018), isolating the active agents from the cactus solid material (CSM) requires performing a water extraction under alkaline conditions. This approach entails the water extraction of soluble constituents from 1 g of dry weight (DW) powdered cactus in 100 mL of distilled water at pH 10 (WEM 10). After stirring for 24 hours, the cactus extracts were filtered at 0.45 µm (cellulose acetate-Whatman). Next, the WEM 10 was acidified to pH 7 to precipitate active substances, and the precipitate (PP) was recovered by means of filtration (0.45 µm). The precipitate was lyophilized (Cryotec COSMOS-80), and 1

g was solubilized in 100 mL (pH 10). The soluble constituents at pH 7 (WEM 7) were then prepared for a comparative study with other extracts.

The PP was further fractionated by ultrafiltration systems, i.e. Sartorius Stedim ultrafiltration cells-MWCO PES membranes (GmbH 37070, Germany) at an equivalent 3,000 and 10,000 Da.

III.2.2. Characterization of cactus extracts

III.2.2.1. Colorimetry

The contents of various biomolecules of the extracted cactus were determined using colorimetric assays performed with a spectrophotometer (Cadas 50 S, Dr Lange). The main parameters and references of the methods applied herein are summarized in Table 1.

Table 1: Main parameters of the colorimetric methods used for the biochemical quantification of cactus extracts

Extract content	Calibration curve concentration (mg L^{-1})	Wavelength (nm)	Reagent used	Standard	Reference
Proteins	0-200	650	Folin's reagent Copper sulfate 0.5% (w/w)	Bovine albumin serum (96%, sigma)	*Frolund et al., 1996
Phenols	0-200	650	Folin's reagent	Gallic acids (Aldrich)	*Frolund et al., 1996
Polysaccharides	0-100	492	Phenol 5% (w/w) Sulfuric acid 95%	Glucose (recaptur, prolabo)	Dubois et al., 1956
Uronic acids	0-250	520	Sodium tetraborate 12.5 mM Sulfuric acid 95%	Glucuronic acid (99%, Aldrich)	Blumenkrantz et al., 1973
Total tannins	0-100	550	Ethanol 96%, Hydrochloric acid 37%	Catechin (97%, Sigma Aldrich)	Bate-Smith et al., 1965
****Total flavonoids**	0-200	420	$AlCl_3$ 2% (w/w) Absolute ethanol	Catechin (Sigma Aldrich)	Salem et al., 2010
Total condensed tannins	0-100	500	Vanillin 4% (w/w) Hydrochloric acid 37%	Catechin (99%, Sigma Aldrich)	Sun et al., 1998

**Frolund's method was applied in order to correct the colorimetric detection interference between the peptide bond from the protein and phenol group and the bond from the protein and humic acid in a complex matrix like biological sludge (the polyphenol standard was changed to "humic acid" from "gallic acid").*

***The total hydrolyzed flavonoid method was the same as that cited by Jamila Hadj Salem et al., 2010, in adding 5 mL of HCl (37%) and heating for 10 h at 85°C.*

Based on the cactus biomolecule contents, proteins, carbohydrates (polysaccharide and uronic acid) and polyphenols (present in flavonoid, tannins and lignin in the cactus) were all investigated. More specifically, total tannins, condensed tannins and total flavonoids could also be quantified.

The biomolecule contents are expressed with respect to the reagent used for the standard calibration curve in a "g equivalent (eq) standard reagent per g of dry weight (DW) of cactus material, WEM 10, WEM 7 and precipitate PP".

III.2.2.2 Chromatography

High Performance Size Exclusion Chromatography (HP-SEC), coupled to a diode array UV detector (L7455), was carried out with a Superdex 75 10/300 GL column. The theoretical resolving range reported by the manufacturer is 0.1-7 kDa. The total permeation volume was estimated at 23 mL using NaN_3. All measurements were conducted using a mobile phase at a flow rate of 0.3 $mL.min^{-1}$. This phase was prepared with 25mM Tris HCl and 100 mM NaCl. The pH was adjusted to 10.0 ± 0.1 by a 3M NaOH solution. The mobile phase was then filtered through a 0.22-µm cellulose nitrate filter (Sartorius) and degassed before use. In all runs, 100 µL of the extracted cactus (WEM 10 and PP at 100 mg L^{-1} for both) were previously filtered with a 0.22-µm cellulose acetate filter (SPARTAN 13/0.2 RC Whatman). The apparent molecular weight (aMW) of cactus extract components was estimated using five proteins as calibration standards: bovine serum albumin (BSA) (Sigma) (69.3 kDa), Ribonucleases A (Sigma) (13.7 kDa), thyrotropin-releasing hormone (TRH) (Sigma) (3.62 kDa), Tyroglobuline, and tyrosine (Sigma) (0.18 kDa). For the mass calibration curves, the logarithm of the molecular mass is plotted as a function of the retention volume (Equation 1):

Log (MW) = -0.132 (Ve) + 7.692 (r^2= 0.99). (Eq. 1)

aMW: apparent molecular weight in Daltons;

Ve: elution volume in mL.

The High Performance Inverted Phase (HP-IP) was used to identify and quantify the flavonoid compounds in cactus extracts. The assay system included an automated Agilent (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) 1100 series, with a diode array detector (DAD). Two mobile phases were introduced, i.e. an initial phase (A) of 6% acetic acid in 2 mM sodium acetate (pH 2.57 ± 0.01); and the second phase of acetonitrile. The gradient evolution of phase A (in %)

can be observed in Figure 4 (grey feature). Cactus extract samples were prepared for the polyphenol extraction in 150 mL of 80% methanol in water at room temperature for 60 min. The acid hydrolysis step was prepared using 24 mL of methanol, 5 mL of concentrated HCl and 1 mL of water, with all solutions being refluxed for 10 hours at 85°C, as mentioned in the Bobinaité et al., 2013 method. Then, before injection, the samples were diluted (50% v/v, with acetonitrile: methanol at 1:3) and an internal standard (hydroxycinnamic acid, sigma Aldrich) was added (final concentration: 0.25 mg mL^{-1}). The injection volume was set at 20 µl. The flow rate was 1 $mL.min^{-1}$, for a total run time of 90 min. The detector was set at a specific absorbance for flavonoid: 368 nm (Tsao et al., 2003). A calibration for the identification of flavonoid with a relative factor (R_f) was implemented by a series of standards: kaempferol (sigma) and quercetin (sigma Aldrich), with an R_f of 1.53 and 1.48, respectively. For the quercetin calibration range, the surface area of the quercetin peak (R_f = 1.48) was plotted as a function of quercetin concentration (g L^{-1}). This range corresponds to the following (Equation 2):

Surface area of the quercetin peak

$_{Rf1.48}$ *= 33,696,321. [quercetin] + 3,832,065 (r^2= 0.99).* *(Eq. 2)*

Surface area of the quercetin peak $_{Rf\ 1.48}$ *in A.U.*

Quercetin, in g L^{-1}

III.2.3. Jar Test

The coagulation-flocculation process made use of a synthetic saline solution of kaolinite (1 g L^{-1}) and humic acid (10 mg L^{-1}) (Sigma Aldrich) in order to achieve a turbidity of between 300 and 350 nephelometric turbidity units (NTU) [15].

A rapid stirring at 250 rotations per minute (rpm) for 10 min, followed by a slower speed reduced to 50 rpm for 30 min and lastly the 2-hour sedimentation step allowed for the formation of flocs.

The flocculent efficiency was measured by determining turbidity removal in a synthetic solution by means of a turbidimeter (Hanna HI 88713). Turbidity (Turb) removal was calculated as follows:

$$Removal\ (\%) = \frac{\text{Initial Turb of the synthetc solution} - \text{Residual Turb after treatment}}{\text{Initial Turb of the synthetic solution}}\ X\ 100 \textit{(Eq. 3)}$$

All coagulation-flocculation tests were conducted at pH 10 (for optimal flocculation).

III.2.4. Enzymatic treatment

To select the active macromolecules in the 10,000+ Da fraction precipitates (PP), we tested three hydrolytic enzymes for the degradation of three compounds found in the cactus (lignin, sugars and proteins) due to lignin peroxidase (Sigma Aldrich), α amylase (Sigma Aldrich) and the protease alcalase from *Bacillus licheniformis* (Sigma Aldrich), respectively. Each enzyme (1% (W/W)) was added to the PP fraction > 10,000 Da (1.7 g L^{-1}, final volume: 10 mL). All samples were incubated for 2 hours at different pH and temperature values, which were established based on the nature of each enzyme. Afterwards, the 10-mL preparation was added to 1 L of a synthetic solution of kaolin containing 17 mg of the active molecule present in the PP fraction < 3,000 Da and tested in the coagulation-flocculation process by Jar Test under optimal conditions. Next and in order to compare these results, we performed another control test under the same conditions. Control 1 represents the final test, except for the fact that the enzymes were prepared alone without adding PP > 10,000 Da. On the other hand, Control 2 offered a confirmation of the coagulation-flocculation process by the PP fraction > 10,000 Da, except that this sample was incubated under the same conditions without adding any enzymes.

III.2.5. Size of colloids and flocs

The particle size distribution of the colloidal solution and flocs formed after the coagulation-flocculation process was determined by diffracting a LED laser light of 10 mW, 470 nm, 4 mW He-Ne, and 632.8 nm for a blue and red light source respectively, with a size range extending from 10 nm to 3.5 mm (Malvern Master sizer 3000 and Malvern Master zetasizer 3000 devices). All samples were set at an optimal flocculation pH of 10 for 2 hours with 50 mg L^{-1} before conducting the measurements.

III.3. Results and Discussion

A previous study found that active molecules in coagulation-flocculation by a cactus material are soluble under alkaline conditions and must be isolated by means of solubilization at pH 10 and precipitation at pH 7. These precipitated and extracted materials were compared for the optimal flocculation conditions of a synthetic solution. It was observed that the alkaline soluble material (WEM 10) and PP (precipitate) presented a nearly identical highest efficiency compared to the CSM (cactus solid material): 91% ± 2%, 93% ± 1%, and 96% ± 2%, respectively (n=3). A weak synergistic effect of insoluble CSM material seems to complement the effect of WEM 10. To identify the most reactive part in the precipitate, we decided to split this extract into three fractions. Figure 1 shows the variation in turbidity removal by a Jar test experiment with fractionated parts of the precipitate compared to CSM under optimal conditions (35 mg L^{-1}, pH 10).

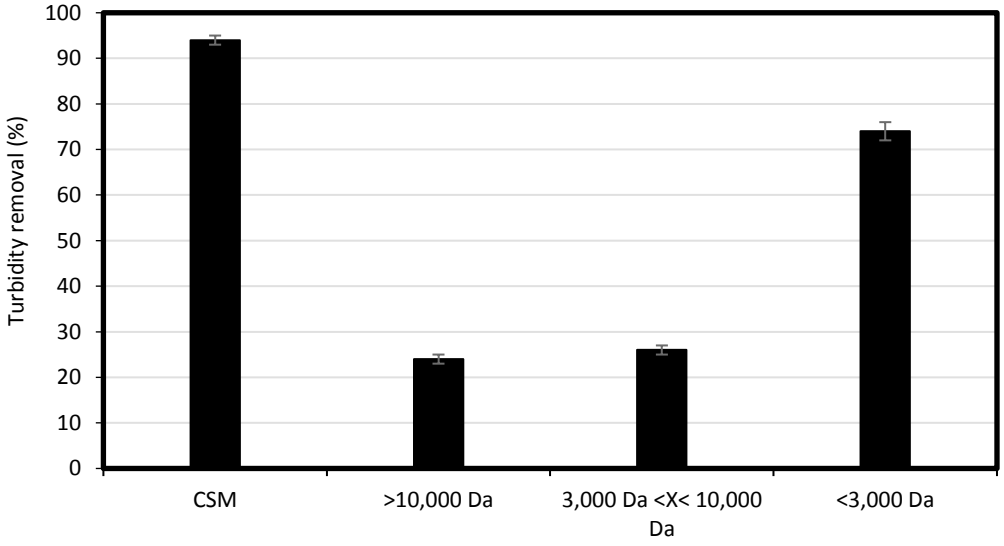


Fig. 1: Coagulation flocculation results of the size-fractionated parts of the PP (precipitate), compared to CSM (cactus solid material) under optimal conditions (35 mg L^{-1}, pH 10)

n=3

The fraction < 3,000 Da proved to be the most efficient (74% ± 2%), followed by a nearly similar turbidity removal from both the fraction > 10,000 Da and the one between 3,000 Da and 10,000 Da (24% ± 1% and 26% ± 1%, respectively). This figure also suggests that the molecular

weight of active molecule(s) is < 3,000 Da. However, the molecules included in the fraction > 3,000 Da most likely contribute through a synergistic effect up to the optimum yield observed with CSM.

Afterwards, we performed a size fractionation by HPLC-SEC, coupled with a UV (220 nm) detection, to identify the apparent molecular weight (aMW) fraction involved in the coagulation-flocculation mechanism. Figure 2 displays the SEC fingerprints of both WEM 10 and PP.

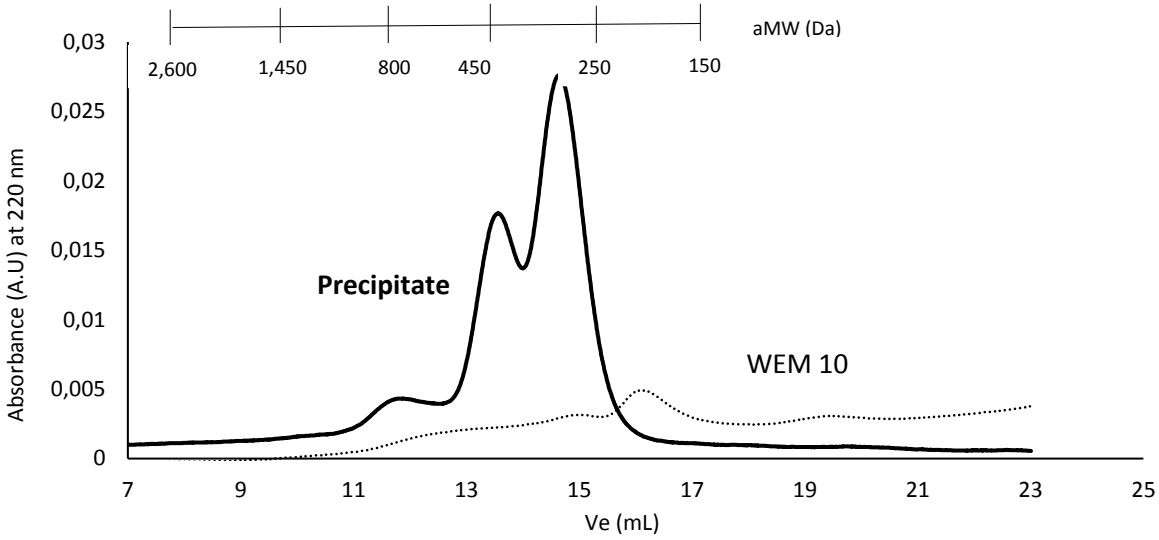


Fig. 2: Size distribution of WEM 10 and Precipitate (PP) by SEC (HPSEC) at λ = 220 nm

Figure 2 indicates that the soluble part at pH 10 (WEM 10) contains a large amount of small aMW compounds, averaging from 250 to 450 Da in size. In the precipitate (PP), two peaks are distinctly detected with an aMW of between 300 and 800 Da. The active compound found in the < 3,000 Da PP fraction therefore actually contains a very low aMW (300 to 800 Da). The major components in cactus extracts are determined by colorimetric dosage (in equivalent standard g/g of dry weight cactus extract), with the two ratios (R) WEM 10 / WEM 7 and PP / WEM 10 being calculated (Fig. 3).

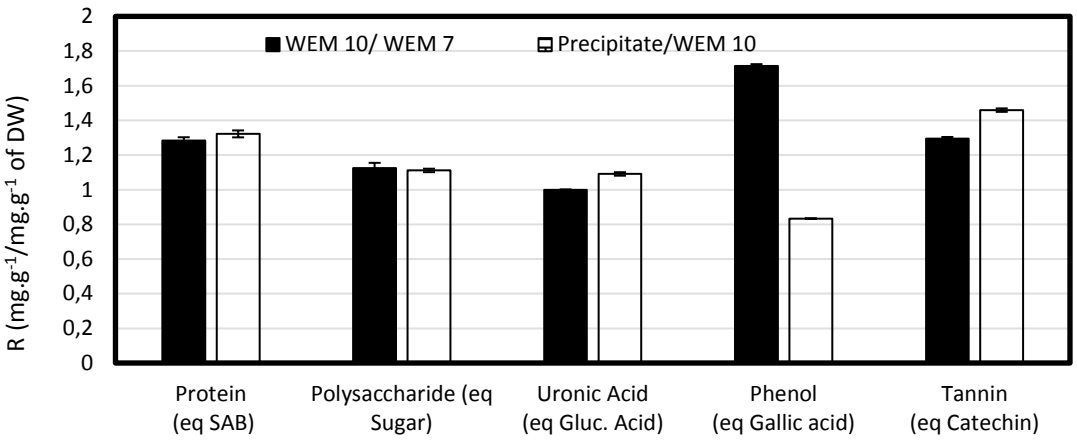


Fig. 3: Ratio (R) of the content of specific biochemical molecules between two cactus extract fractions: the WEM 10/WEM 7 and precipitate/WEM 10 ratios

n=3

Let's now observe that the WEM 10/WEM 7 ratios for proteins, polysaccharides and phenols are greater than 1, thus resulting in a preferential extraction under alkaline conditions for both these classes of molecules. This preferential extraction has also been verified for tannins (R=1.3). Soluble and active molecules in the coagulation-flocculation process at pH 10 are included in these compound classes. The PP (extractible materials at pH 10 and insoluble at pH 7) is highly enriched in tannins compared to the alkaline-soluble part (R=1.5). It would therefore appear that tannins constitute a particularly active group in flocculation-coagulation at pH 10.

In order to specify the tannin biochemical families responsible for the coagulation-flocculation phenomenon, we determined by means of colorimetric assay the condensed tannins and total flavonoids for WEM 10 and PP. Table 2 lists the concentrations of the main tannin components.

Table 2: Contents of specific polyphenols: total tannin condensed tannin and flavonoids from cactus extracts, as determined by colorimetric methods

Sample	Tannins $mg.g^{-1}$ of DW (Catechin Eq.)	Condensed tannins, in $mg.g^{-1}$, of DW (Catechin Eq.)	Flavonoids (in $mg.g^{-1}$) of DW (Catechin Eq.)
WEM 10	220 ± 1	6 ± 1	190 ± 1
Precipitate	320 ± 2	12 ± 2	310 ±2

*n=3

DW: dry weight

Like in the previous results (Fig. 3), the concentration of total tannins increased between WEM 10 and PP, from 220 $mg.g^{-1}$ to 320 $mg.g^{-1}$ of DW (factor < 1/1.5). For condensed tannins, a rise in concentration was also found between WEM 10 and PP, from 6 $mg.g^{-1}$ to 12 $mg.g^{-1}$ of DW (factor = 1/2). This same trend was observed for total flavonoids, with a strong increase between the WEM 10 and PP, from 190 $mg.g^{-1}$ to 310 $mg.g^{-1}$ of DW (factor > 1/1.6).

These results reveal that the molecules responsible for the coagulation-flocculation mechanism have been included in the total flavonoids or condensed tannins. Nevertheless, i) as the SEC fingerprint of WEM 10 and PP (Fig. 2) showed, the active compound in the coagulation-flocculation process has a very low aMW [300-800 Da] and ii) as cactus *opuntia ficus indica* contains polyphenols, especially flavonoids[16]; hence, we decided to pursue the analysis with a monomeric molecule such as flavonoid. Figure 4 presents an example of an HP-IP fingerprint of PP coupled with a UV (at 273 nm).

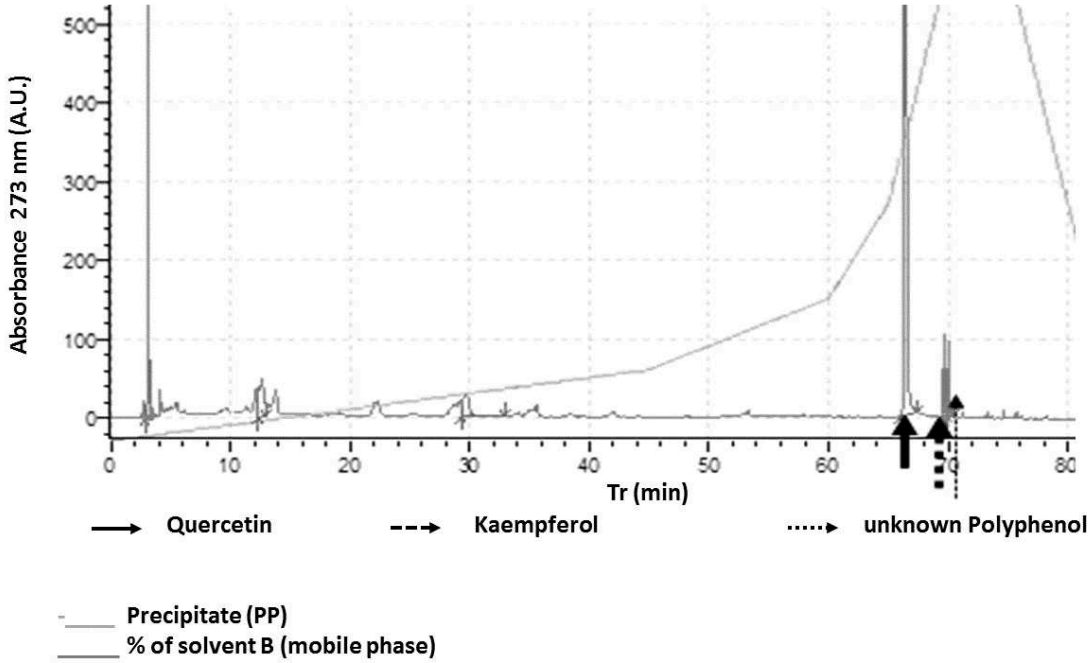


Fig. 4: HP-IP fingerprint of PP, coupled with a 273-nm absorbance detection: Isolation and identification of the main polyphenolic substances in the precipitate

Figure 4 indicates that two polyphenolic forms were detected, namely quercetin (Rf = 1.48) and kaempferol (Rf = 1.54), in addition to another unknown identified type of polyphenol (Rf = 1.55). The % of each peak detected account for 95%, 2.5% and 2.3% of the total summed area of the detected peak for quercetin, kaempferol and the unknown polyphenol, respectively. The "quercetin" flavonoid is thus the major compound in the PP. Fatombi et al., 2013, demonstrated the efficacy of tannin groups, especially flavonoids like catechin, in the coagulation-flocculation process.

The content ($g.g^{-1}$ of cactus fraction extract DW) of quercetin in all active CSM extracts, notably WEM 10 and the precipitate, was determined after the HP IP / 273 nm analysis. The quercetin content equaled: 0, 61, and 333 $mg.g^{-1}$ of DW for WEM 7, WEM 10 and PP, respectively. The tremendous increase in quercetin content from WEM 7 to WEM 10 and then to PP confirms that quercetin constitutes an active constituent responsible for the coagulation-flocculation phenomenon. At pH 10, clays exhibit a high anionic and cationic exchange capacity (Huang et al., 1975). Cationic sites may be present on the surface of clays and allow for anion absorption under divergent pH conditions; they are attributed to oxides of iron, aluminum or calcium (Huang et al., 1975; Xu et al., 1988). To confirm these results, we compared the turbidity removal by coagulation flocculation with various doses of quercetin or precipitate (Fig. 5).

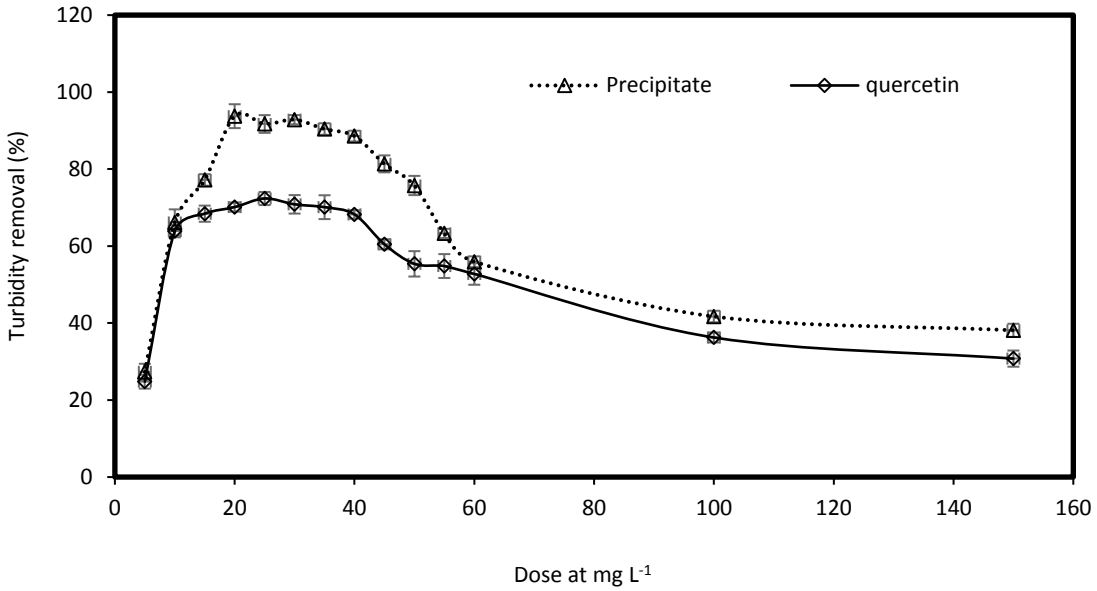


Fig. 5: Comparison of turbidity removal rates between quercetin and the precipitate (PP) by means of coagulation flocculation and settling at pH 10 for various material doses (mg) n = 3

We observed an increase in turbidity removal for approximately the same dose (20 mg L^{-1}), with a better efficiency of PP (93%) compared to quercetin (70%). For a high concentration of material introduced (> 60 mg L^{-1}), the efficiency is low and similar for both.

If quercetin is the active compound, it presents a lower efficiency (see also the black bar in Fig. 6) than precipitate, hence another active molecule must be contributing to the

coagulation-flocculation process. This other molecule, soluble under alkaline conditions, must be a macromolecule (i.e. polymer with high molecular weight) involved in the flocculation mechanism. To confirm this hypothesis, we tested adding the PP fraction > 10,000 Da (17 mg) to quercetin (18 mg), and the same turbidity removal rate (93% ± 1%) as that in the[15] study was found (Fig. 6, blank bars).

To identify the active biochemical class of compounds present in the PP fraction > 10,000 Da, we treated this active fraction with three hydrolytic enzymes (i.e. α amylase, lignin peroxidase and protease alcalase). If the active polymer is hydrolyzed, then the mix of modified PP fraction > 10,000 Da and quercetin must yield a lower efficiency for turbidity removal after the coagulation-flocculation process. The test preparation with enzymes and PP > 10,000 Da, incubated under optimal enzyme activity conditions, has been added to quercetin and the synthetic solution for this coagulation-flocculation process. Two controls were performed to validate this result: Control 1 (preparation with PP fraction > 10,000 Da alone), and Control 2 (preparation with the enzyme alone). The three series of Control 1 and Control 2 show a turbidity removal efficiency at 93% ± 1% and 68% ± 1%, respectively.

Coagulation-flocculation results after degradation by the three enzymes reveal no effect for lignin peroxidase and protease alcalase, with a 91% ± 1% and 90% ± 2% turbidity removal rate, respectively. For α amylase however, the removal of turbidity by coagulation-flocculation was reduced to 64% ± 2%. The α amylase act upon α-glycosidic bonds and hydrolyze these bonds to produce α-anomeric mono- or oligosaccharides (Van der Maarel et al., 2002).

These results demonstrate that macromolecules containing glucose are involved in the flocculation process under alkaline conditions. Among such polymers, we tested starch (as previously indicated by Lamghari et al., 1998 in cactus). Starch is a mixture of amylose and amylopectin (> 10,000 Da). The glucose units are linked by α (1-4) bonds and α (1-6) bonds, which are responsible for ramifications in the molecular structure. Amylose is slightly branched, whereas amylopectin is a branched molecule with long branches every 24 to 30 glucose units via α (1-6) bonds.

The ratio of amylose to amylopectin depends on the botanical source of the starch. Starch isolation has proven to be best at pH 10 (Lumdubwong et al., 2000). We also tested another synthetic glucosidic polymer: a dextran formed by glucose units linked by α (1-6) bonds but

with no branching. Next, we tested a combination of quercetin, starch extracted from potatoes and dextran (gray bars in Fig. 6).

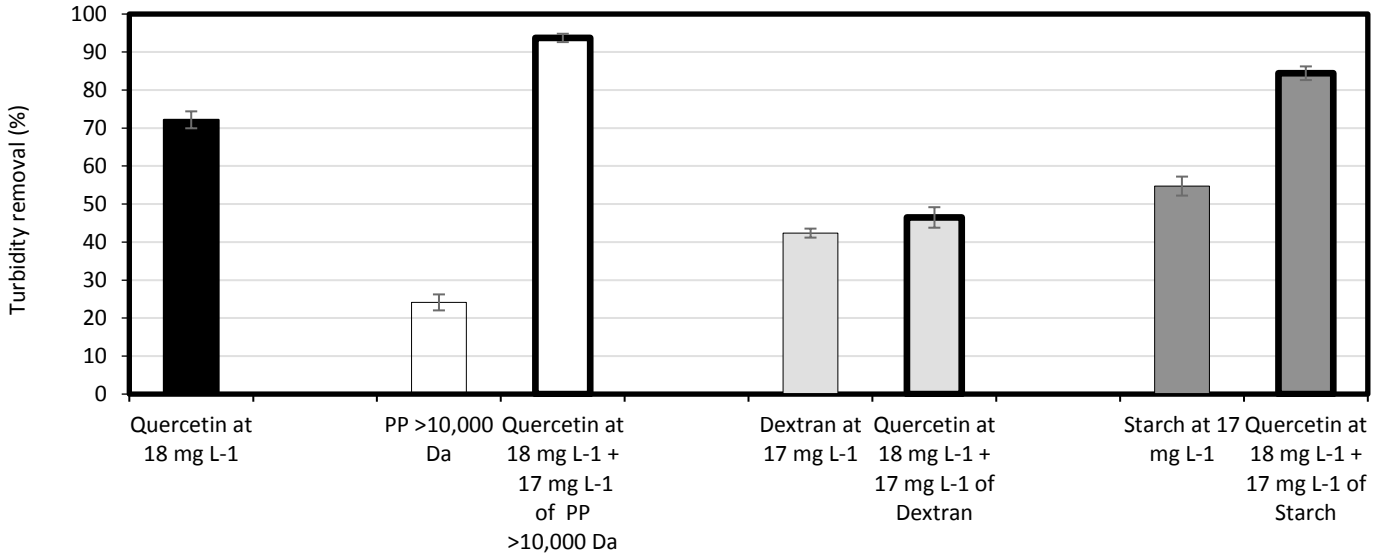


Fig. 6: Comparison of turbidity removal rates after the coagulation-flocculation process with a combination of quercetin and the precipitate > 10,000 Da or glucosidic macromolecules

n = 2

Results showed that the mix of quercetin and starch is better than the combination of quercetin and dextran, with a turbidity removal rate of 84% ± 2% and 46% ± 3%, respectively, compared to quercetin with the precipitate fraction > 10,000 Da (93% ± 2%). This same trend was observed when using both of them alone without quercetin, yielding 54% ± 2% and 42% ± 1% for starch and dextran, respectively. The active glucosidic polymer must therefore be a branching polymer. The efficiency of starch or PP > 10,000 Da, in combination with quercetin, is very similar, and the lower efficiency with starch might be due to the nature of the molecules used in our experiments (extracted from potatoes). Starch is indeed found in cactus *Opuntia ficus indica* (Lamgnari et al., 1998), but the percentage of amylase and amylopectine and hence the percentage of branching, may differ from that of potatoes. The presence of hydrogen bonds between the carbohydrate oxygen atoms and the hydroxyl group of polyphenols, along with hydrophobic type interactions, could explain the interaction between quercetin and the glucosidic polymer (Mateus et al., 2004).

Table 3 lists the size distribution of colloids and flocs formed by CSM and all fractionated parts of cactus *Opuntia ficus indica*. These results serve to propose a model of the role of each active constituent in the coagulation-flocculation mechanism.

Table 3: The size distribution of colloids and flocs formed after treatment, and the model of quercetin and starch in the coagulation-flocculation mechanism

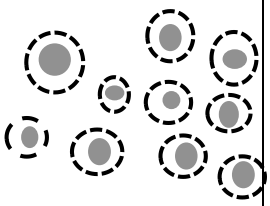
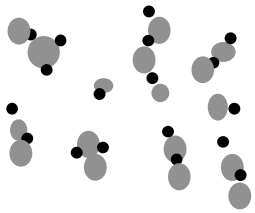
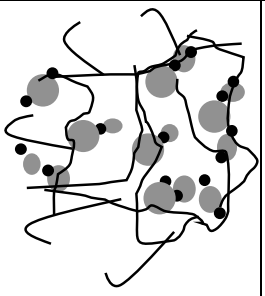
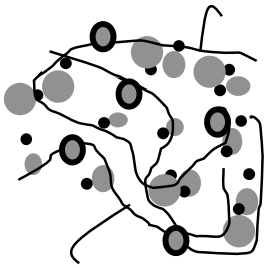
Samples	Colloids	Flocs formed by quercetin	Flocs formed by the precipitate (PP)	Flocs formed by CSM
Size, in µm	0.05-0.15	1-10	100-200	300-400
Mechanism model				
Captions	Repulsive colloidal particles	• Coagulant: quercetin Quercetin - Colloidal particles	Flocculent: branching starch	CSM effect

Table 3 shows that under optimal conditions (pH 10, 18 mg L^{-1} of quercetin or PP < 3,000 Da), an increasing particle size (from 0.15 µm to 10 µm) and 72% ± 1% turbidity removal after adding quercetin to the synthetic colloidal solution. Quercetin is thus acting as a coagulant that neutralizes colloids after the adsorption phenomenon. A flocculation by bridging was observed through the formation of large flocs between 100 and 200 µm after adding 17 mg L^{-1} of branching starch or PP > 10,000 Da, which led to obtaining a high turbidity removal rate (84% ± 2% for potato starch and 93% ± 1% for PP). A solid effect increased the efficiency to 96% ± 2% by forming more large flocs between 300 and 400 µm.

III.4. Conclusion

Quercetin and starch are the most active significant biochemical constituents in cactus *Opuntia ficus indica*, contributing synergistic effects to the coagulation-flocculation

mechanism. The effluent was a synthetic solution with colloidal particles from kaolin, and the optimal coagulation-flocculation conditions were set at: 35 mg L^{-1} (18 mg L^{-1} of quercetin and 17 mg L^{-1} of starch), and an alkaline condition (pH 10). A model action was suggested, with quercetin promoting a colloidal material destabilization (coagulant) through anion exchanges and bridges; otherwise, the starch forms a large cross-linked polymeric network responsible for flocculation and settling.

Acknowledgments

The authors would like to thank the bilateral Toubkal PHC program for its financial support.

IV. Conclusion

L'étude des propriétés floculantes d'*Opuntia ficus indica* réalisée sur un effluent synthétique contenant du kaolin et des substances humiques a été menée dans un premier temps avec l'ensemble du cactus (raquettes) séché à 80 °C et réduit en poudre. Le meilleur abattement de la turbidité observé avec ce matériel est supérieur à 96 % ± 2% aux conditions optimales (pH = 10,0 et de 35 mg L^{-1} de matière solide). Ces résultats confirment ceux montrés par Miller et al., (2008) et Zhang et al., (2006), pour le traitement d'un effluent synthétique préparé à base de kaolin et qui ont obtenu respectivement un abattement de la turbidité de 98 % et 93 % pour une dose de 35 mg L^{-1} et 60 mg L^{-1}. L'étude a confirmé que la majorité des matières actives responsables de la coagulation floculation, sont extraites au pH optimal de coagulation/floculation (pH = 10.0) et peuvent être isolées et concentrées par précipitation à pH 7 ; cet extrait concentré appelé « précipité » a un abattement de la turbidité (dans les mêmes conditions que précédemment) de 93 % ± 1 %. Le titrage acido-basique des groupes fonctionnels et la comparaison avec ceux identifiés par infrarouge ont permis de confirmer que les groupes phénols, hydroxyles des polysaccharides et amines (NH_2), (qui ont des pKa_s respectifs d'environ 9 ; 11 ; 12), sont responsables du phénomène de coagulation floculation du cactus. Les essais en Jar Test ont montré que le coagulant en poudre comme le précipité réagissent selon un mécanisme d'adsorption et pontage sur la charge colloïdale de l'effluent synthétique de kaolin, puisque l'effluent et toutes les préparations de cactus sont chargés négativement. Par ailleurs, la différence remarquée entre l'abattement de la turbidité de cactus en poudre et le « précipité » est due essentiellement à l'effet du solide (absent dans le précipité).

Le fractionnement de l'extrait alcalin d'*Opuntia ficus indica* par ultrafiltration a montré d'une part que la fraction <3000 Da est responsable de 72% de l'abattement de la turbidité, ce qui a été confirmé en chromatagraphie d'exclusion stérique par une fraction entre 300 et 800 Da, spécifiquement retrouvée du « précipité ». Les dosages colorimétriques ont confirmé un enrichissement des tanins et surtout des flavonoïdes dans la fraction extraite en condition alcaline et dans le « précipité ». Le dosage des molécules présentes dans les différentes fractions par chromatographie en phase inverse a confirmé la présence d'une concentration beaucoup plus importante de la quercétine libre dans le précipité que dans les autres fractions d'*Opuntia ficus indica*. Les essais en Jar Test ont révélé que la combinaison entre la quercétine et la fraction >10000 Da conduit au même abattement de la turbidité que le précipité isolé. Une approche enzymatique a également permis de déduire que l'effet coagulant/floculant de l'amidon en combinaison avec la quercétine est identique à celui du précipité (l'α amylase qui hydrolyse l'amidon induisait une diminution de l'abattement) La quercétine et l'amidon représentent donc les constituants biochimiques actifs d'*Opuntia ficus indica*, et sont responsables du phénomène de coagulation floculation avec un effet de synergie. Le modèle d'action proposé est le suivant : les colloïdes sont déstabilisés d'abord par adsorption de la quercétine et ensuite l'amidon forme un réseau polymérique qui est responsable de la floculation en structurant le floc qui peut atteindre des tailles de l'ordre de 400 µm. La figure 21 synthétise le modèle proposé.

Une application du cactus sur des effluents réels sera présentée au chapitre 3.

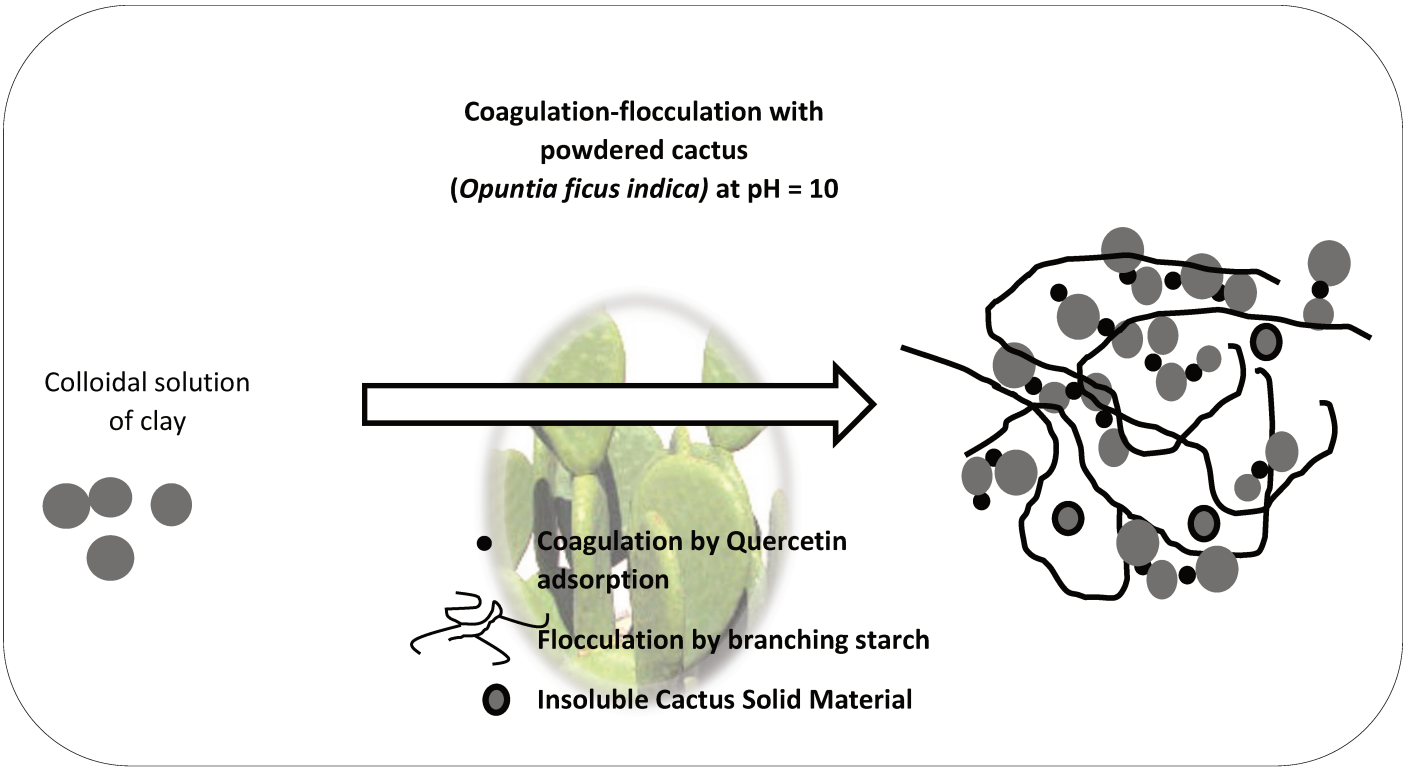


Figure 21 : Modèle d'action des constituants biochimiques de cactus *Opuntia ficus indica*

Chapitre 2 : Coagulation floculation avec les margines *:*

substances actives et mécanisme

I. Introduction

Les margines qui sont les résidus liquides de la production d'huile d'olives, constituent un problème environnemental important pour les pays producteurs. Les études montrent par ailleurs, des difficultés majeures pour établir des voies de conditionnement ou de valorisation. Les margines sont des effluents riches en polysaccharides, protéines et polyphénols et de nombreux auteurs ont montré que ces molécules pouvaient être réactives dans des processus de coagulation-floculation (Miller et al., 2008 ; Jeon et al., 2009 ; Fatombi et al., 2013). Nous avons voulu voir s'il était possible de valoriser les margines dans le procédé de traitement des eaux.

Ce chapitre a plusieurs objectifs : i) vérifier la faisabilité d'utiliser les margines comme un nouveau biofloculant pour le conditionnement d'une eau de surface ii) déterminer les conditions opératoires optimales et iii) identifier les constituants actifs responsables de la floculation afin de faciliter la mise en œuvre.

Afin d'atteindre ces objectifs, les margines ont d'abord été dégraissées. Ensuite une caractérisation de ce matériel brut séché a été réalisée, par des mesures physicochimiques (granulométrie, potentiel zêta) et par une recherche des groupes fonctionnels (spectrophotométrie infrarouge et ultra-violet (240, 280 nm). Ensuite un fractionnement a été réalisé par une solubilisation sélective du matériel brut à différentes valeurs du pH. Les différentes fractions sont ensuite testées comme biofloculant sur une eau synthétique composée essentiellement d'acide humique et de kaolinite. L'étude des familles biochimiques responsables de la floculation a été réalisée par titrage acido-basique, dosage colorimétrique et par une approche enzymatique sélective de molécules possiblement actives. Ces analyses ont été réalisées sur les différentes fractions solubilisées aux différents pH et sur le matériel brut. Par ailleurs, une combinaison entre le sulfate d'aluminium et une préparation du matériel issu des margines a été étudiée, afin d'évaluer le potentiel des margines à se substituer aux coagulants chimiques.

II. Reuse of olive mill wastewater as bioflocculant for water treatment processes

Cette partie est restituée au format de la publication soumise au journal **Chemosphere**

II.1 Introduction

The literature reports a multitude of processes for water and wastewater treatment, including adsorption, membrane filtration, electrocoagulation and coagulation flocculation. In the latter case, chemical reagents destabilize the colloidal particles, leading to the formation of microfloc bonding together in a flocculation mechanism for the subsequent production of larger flakes, which tend to separate more easily. The coagulants and flocculants currently required for industrial water treatment, i.e. metal salts and/or synthetic polymers, may have several environmental consequences, namely: i) a possible increase in the metal concentration in water (with implications for human health); and ii) the production of large sludge volumes. For these reasons, alternative coagulants and flocculants have been considered for environmental applications. Biopolymers may be quite attractive since they are natural low-cost products, characterized by their environmentally-friendly behavior.

Some of the reported bioflocculants, including biopolymers (starches, chitosan, alginates), have shown their potential in the flocculation process. The biochemical family extracted from plants can also be used; this family comprises: Polysaccharides from *Ocimum basilicum* (Shamsjenati *et al.*, 2015), starches from rice (Abdel-Aal *et al.*, 2006), proteins from *Cocos nucifera* and *Moringa oleifera* (Fatombi *et al.*, 2013; Ndabigengesere *et al.*, 1995; Boualaadjoul et al.,2018), polyphenols from cactus *Opuntia ficus indica*, Turkish acorn, and grape seed (Bouaouine *et al.*, 2018; Ozacar *et al.*, 2002; Jeon *et al.*, 2009). Some polyphenols form complexes with macromolecules and especially with proteins via hydrogen bonds or hydrophobic interactions (Bruneton *et al.*, 2009). Polyphenols have already been introduced in wastewater treatment as flocculants: Jeon *et al.* (2009) demonstrated that catechin (flavonoid) and tannic acid (tannin) were involved in the molecular flocculation mechanism.

Olive mill wastewater (OMW) is a byproduct of the three-phase processes of olive oil extraction, with a global annual production of up to 8.4 million m^3 of OMW (Roig *et al.*, 2006). This black liquid is composed of the olive fruit vegetation water, the water used for washing and treatment, plus a portion of the olive pulp and residual oil (Scioli *et al.*, 1997). OMW is a

foul-smelling acidic liquid composed of water (83-92%), organic matter (4-16%) and minerals (1-2%) (Perez *et al.*, 1998). The organic load, as reflected in both the high biological oxygen demand (BOD) (up to 100 g L^{-1}) and chemical oxygen demand (COD) (up to 200 g L^{-1}), contains mostly sugars, polyphenols and fats (Hamdi *et al.*, 1993). The use of OMW as organic compost without any treatment could cause a degradation of soil or water, due in particular to its phenolic constituents (antimicrobial activity) as well as to the low range of pH (4-5) (Elhajjouji *et al.*, 2007).

OMW contains a wide variety of compounds, such as polyphenol, polysaccharides, tannins and proteins (Michael *et al.*, 2014), and therefore is potentially involved in the coagulation-flocculation mechanism. According to the literature however, no information exists to date as regards the efficiency of OMW as a bioflocculant for water treatment.

Given this context, the objectives of the present study are threefold: i) highlight the capabilities of OMW materials as an alternative to chemical coagulant/flocculant reagents; ii) enhance current knowledge about the most active constituents potentially involved in wastewater treatment; and iii) propose a use in the field of water treatment. To achieve these objectives, water-soluble chemical compounds have been isolated. These materials were first characterized using overall physicochemical methods (zeta potential, colloidal particle size distribution and spectroscopy). The active molecule groups were then determined by means of acid-base titration, selective enzymatic treatment and colorimetric dosage. The potential of this bioflocculant in the water treatment of colloidal solutions has been studied by combining OMW and aluminum sulfate.

III. II.2 Materials and methods

IV.1. Bioflocculent preparation

IV.1.1. Preparation of defatted oil mill waste materials

The defatted olive mill wastewater (DOMW) used herein was extracted from a modern semi-oil mill in Fez (Morocco); moreover, no chemical additives were used during production of this olive oil. During an initial step, the lipid residual was extracted from the concentrated suspension by organic solvents. These solvents (60 mL (2/1, v/v chloroform/hexane)) were

then introduced into a suspension of OMW (100 mL) and shaken for 2 hours at room temperature. This step was repeated six times in order to ensure maximum recovery of the lipid. The defatted material (DOMW) was subsequently dried at 80°C for 24 hours, freeze-dried and stored at 4°C. The volatile dry weight (%VDW) equaled: 78% ± 1%.

IV.1.2. Water solubilization at various pH levels

To isolate its active constituents, the DOMW material was fractionated based on its solubility in water according to pH. This procedure relied on the solubilization of compounds (water-solubilized material, WSM) from 1 g of DOMW materials in 100 mL of deionized water at two distinct pH values (6 and 11). After stirring for 24 h, the solubilized DOMW was initially filtered through a 20-µm fiberglass filter (Whatman). The filter paper was washed several times using distilled water. A second filtration at 0.45 µm (cellulose acetate - Whatman) was performed in order to obtain the WSM 6 and WSM 11 results. The filtrates were freeze-dried and stored at 4°C. Next, the WSM solution derived at pH = 11 (WSM 11) was acidified to pH 6. The soluble extract in the alkaline solution precipitated out with the acidification. The precipitate was recovered by filtration (0.45 µm), and the active molecules isolated in the precipitate were re-solubilized in a basic medium (pH 11) and named "precipitate" (PP). This PP was also freeze-dried and stored at 4°C.

IV.2. Physicochemical characterization of materials

Immediately after preparation, the solutions of WSM 6 and 11 and DOMW solution underwent 105°C for 24 hours to determine the dry weight (DW) of the material. The volatile dry weight content (VDW, expressed in percent of DW) was obtained by heating at 550°C for 2 hours.

The absorbance measurement was set at 210 nm (with the majority of organic molecules being absorbed) and at 280 nm (absorption of aromatic groups) by shaking 10 g of dry weight in 1 L; afterwards, a 0.45-µm filtration (cellulose acetate) was performed before the measurement.

The zeta potential was determined by diffracting LED laser light 10 mW, 470 nm and 4 mW He-Ne, 632.8 nm for a blue and red light source, respectively, with a size range from 3.5 nm to 10 mm (Malvern Master Zetasizer 3000 device). The pH of DOMW or WSM was set at various values (from 3 to 12) by shaking 10 g of solid in 1 L for 2 hours. A 0.45-µm filtration (cellulose acetate) was performed before conducting the zeta measurements of colloidal suspension.

The Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy analysis was performed on the DOMW materials by applying an infrared spectrometer over the range of 400-4000 cm^{-1}. The DOMW was prepared under high pressure (12-15 tons) in the presence of KBr powder (KBr > 99% Acros organics).

The ionizable functions of DOMW or WSM were derived manually using acid-base titration. Solutions (50 mL) containing 10 g L^{-1} of solid at different pH values were placed at a constant temperature of 22°C and adjusted to a pH 2+/- 0.2 by introduction of HCl (1 M). Titrations were performed under a nitrogen atmosphere. The pH was detected by a pH meter (GLP 22 CRISON) equipped with a CRISON Codigo electrode: 5221 (pH: 0-12 ± 0.1), coupled to a 25 ± 0.1-mL burette (Hirschmann EM Techcolor) filled with NaOH (0.1 M).

IV.3. Colorimetry

The content of various biomolecules of the solubilized DOMW was determined by means of colorimetric assays performed with a spectrophotometer (Cadas 50 S, Dr. Lange). The main parameters and references of the methods used herein are summarized in Table 1.

Table 1 Main parameters of the biochemical quantification methods used for the solubilized defatted olive mill waste (DOMW)

Extract content	Wave length (nm)	Calibration curve Concentration ($mg.L^{-1}$)	Reagent used	Standard	Reference
Proteins	650	0-200	Folin reagent Copper sulfate 0.5% (w/w)	Bovine albumin serum (96%, sigma)	*Frolundet al., 1995
Phenol	650	0-200	Folin reagent	Gallic acids (Aldrich)	*Frolundet al., 1995
Polysaccharides	492	0-100	Phenol 5% (w/w) Sulfuric acid 95%	Glucose(recaptur, prolabo)	Dubois et al. 1956
Uronic acids	520	0-250	Sodium tetraborate 12.5 mM Sulfuric acid 95%	Glucuronic acid (99%, Aldrich)	Blumenkrantz and Asboe Hansen 1973
Total tannins	550	0-100	Ethanol 96%, Hydrochloric acid 37%	Catechin (97%, Sigma Aldrich)	Bate Smith et al. 1965
****Total flavonoid**	420	0-200	$AlCl_3$ 2% (w/w) Absolute ethanol	Catechin (Sigma Aldrich)	Jamila Hadj Salem et al., 2010
Total condensed tannin	500	0-100	Vanilin 4% (w/w) Hydrochloric acid 37%	Catechin (99%, Sigma Aldrich)	Sun et al. 1978

**Frolund's method was applied to correct colorimetric detection interference between peptidic link from protein and phenol group from protein and humic acid in complex matrix like biological sludge (we changed polyphenol standard "humic acid" for "gallic acid").*

***Total flavonoid hydrolyzed method was the same cited by Jamila Hadj Salem et al., 2010, and by adding 5mL of HCl (37%) and heating for 10 hours at 85°C.*

Based on the DOMW material biomolecular content, proteins, carbohydrates (polysaccharides and uronic acid) and polyphenols (flavonoids, tannins and lignin) were investigated. More specifically, the total tannins, total flavonoids and condensed tannins were quantified.

Biomolecular content is expressed on the basis of the reagent used for the standard curve calibration in mass unit of equivalent standard reagent per mass of dry weight (DW) of DOMW material, WSM 11, WSM 6 and PP.

IV. 4. Coagulation flocculation experiment

A solution was prepared in water by adding kaolin (1 g L^{-1}), humic acid (10 g L^{-1}) (Sigma Aldrich) and mineral salts in order to mimic a natural surface water. This solution was diluted to achieve a desired turbidity between 300 and 350 nephelometric turbidity units (NTU). The pH value equaled 6.5 ± 0.4, and the absorbance performed with a UV-visible spectrophotometer (UV 2300) at 254 nm was 1.2 ± 0.2. The prepared solution was named "synthetic water".

The device used for these coagulation-flocculation experiments was composed of six stirred reactors (VELP Scientifica JTL6), each containing 1 L of synthetic water. The first step of the jar test consisted of stirring the stock solution at 250 rotations per minute (rpm) for roughly 10 min while the flocculant was gradually added to the reactor. During the second step, the speed was reduced to 50 rpm for 30 min. The last step entailed sedimentation of the flocs that had formed over a 2-hour period. The coagulation-flocculation efficiency was measured by both turbidity and absorbance at a 254-nm removal. The residual turbidity of suspended solids was then measured using a turbidimeter (Hanna HI 88713) and expressed in NTU, in accordance with the standard nephelometric method. The absorbance of soluble substances was measured at a wavelength of 254 nm (Abs_{254}), which is characteristic of aromatic groups from humic substances. The turbidity, or Abs_{254} removal rate, was calculated with the following formula

$$Removal\ (\%) = \frac{\text{Initial Turb or abs of the synthetc solution } - \text{Residual Turb or abs after treatment}}{\text{Initial Turb or abs of the synthetic solution}}$$

(eq 1)

The substitution of aluminum sulfate, $Al_2(SO_4)_3$ (AS) (prolabo) by PP in water treatment was further investigated. An initial treatment with PP at pH 11 was conducted before the subsequent treatment with AS at pH 7, as adjusted by HCl.

IV.5. Enzymatic treatment

To identify the active (macro) molecules in the DOMW material, hydrolytic enzymes were tested for the degradation of targeted compounds found in the DOMW: sugars-tannins and proteins by α amylase (Sigma Aldrich), cellulase (Alfa aesar), tyrosinase (Sigma Aldrich), and the protease alcalase from *Bacillus licheniformis* (Sigma Aldrich), respectively. Each enzyme

(1% (w/w)) was added to the PP (1.7 g/L, final volume: 10 mL). All samples were incubated for 2 hours at different pH and temperature values, depending on the nature of each enzyme. Afterwards, the 10-mL preparation was added to 1 L of synthetic solution of kaolin containing 65 mg of the DOMW precipitate (PP) and then tested in the coagulation-flocculation process by means of the Jar Test under optimal conditions. In order to compare these results, other controls were then performed under the same conditions. Control 1 represents the last test, except for the fact that enzymes were prepared alone without adding PP. Control 2 provided a confirmation of the coagulation-flocculation process by PP, except that this batch was incubated under the same conditions without adding any enzymes.

V. Results and discussion

V.1. Coagulation flocculation effect

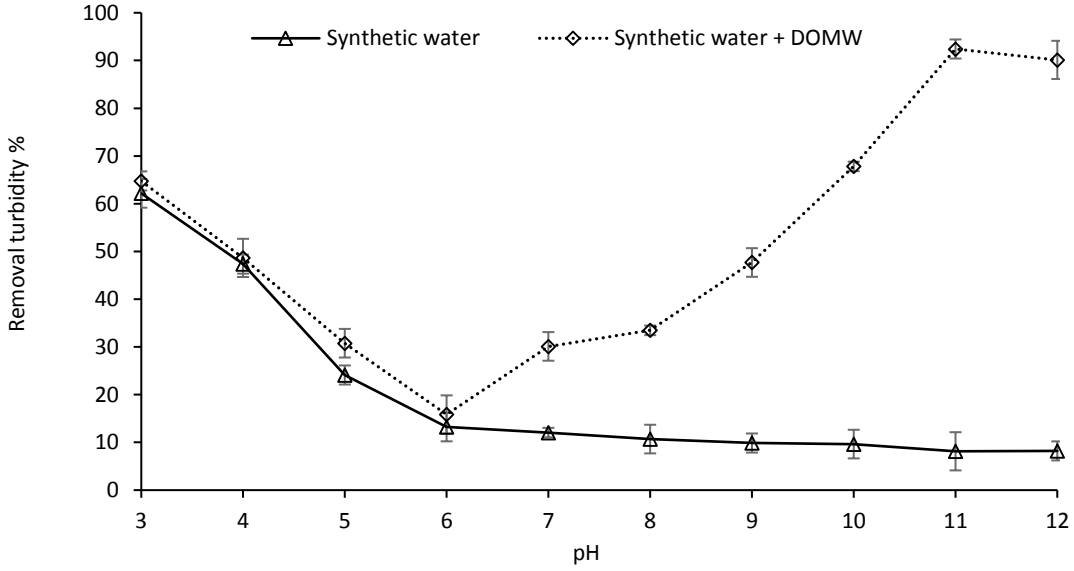


Fig. 1 Effect of pH on the efficiency of the coagulation– flocculation process (fixed dose of 100 mg of defatted olive mill waste (DOMW) material for 1 L of synthetic water).

*n = 3 (independent assays)

In the presence of DOMW, three ranges can be observed. Under an acidic condition (from pH 3 to 6), turbidity removal rates do not differ significantly for synthetic water alone or in combination with DOMW, yet they do decrease with pH value from 64% to 15%; these results indicate the absence of any DOMW effect. In the second range, from pH 6 to 11, when DOMW

is present in solution, the turbidity removal rate reaches its top efficiency of 92% ± 2% at pH 11. Lastly, from pH 11 to 12, removal remains nearly stable from 92% to 90% ± 1%. In the absence of DOMW, the turbidity of synthetic water is slightly reduced. It is also observed that the optimal coagulation-flocculation pH equals 11.0 while the minimum occurs at around 6. The first range is common to synthetic water without DOMW, and the mechanism is a coagulation with a reduction in the repulsive effect between colloidal particles in acidic media. Beyond pH=6, the active coagulation-flocculation phenomenon by DOMW is observed.

The characteristics of water-solubilized material at both pH values 6 (WSM 6) and 11 (WSM 11) are presented in Table 2.

Table 2: Characteristics of WSM 6 and WSM 11

pH of WSM	Solubilization (RS/DOMW) (%DW)	VDW %	$Abs_{210\ nm}$ for 1g dry weight	$Abs_{280\ nm}$ for 1g dry weight
6.0	2.1 ± 0.1	30 ± 2	0.64 ± 0.01	0.13 ± 0.02
11.0	2.7 ± 0.1	44 ± 1	0.94 ± 0.03	0.21 ± 0.01

WSM: Water solubized material

DW: Dry weight

RS: Residual solid

*n = 3 (independent assays)

The solubilization of matter increases with pH from 2.1 to 2.7 (factor = 1.3), featuring an enrichment in organic matter (VDW increases from 30 ± 2 to 44 ± 1 for WSM 6 and WSM 11, respectively). This trend also pertains to the change in global organic matter of the WSM fraction: the absorbance at 210 and 280 nm increases with pH by a factor > 1.47 for the two wavelengths. At pH 11, WSM 11 contains more organic material than WSM 6 (increase of Abs 210 nm), with an organic component slightly differentiated by the specific Abs 280 nm, which involves the presence of a conjugated bond. WSM 11 thus contains more molecules enriched in aromatic groups than WSM 6.

To better understand the optimal coagulation-flocculation reaction at pH 11, both the DOMW and colloidal charge in synthetic water are characterized by zeta potential at different pH values ranging from 3 to 12 (Fig. 2).

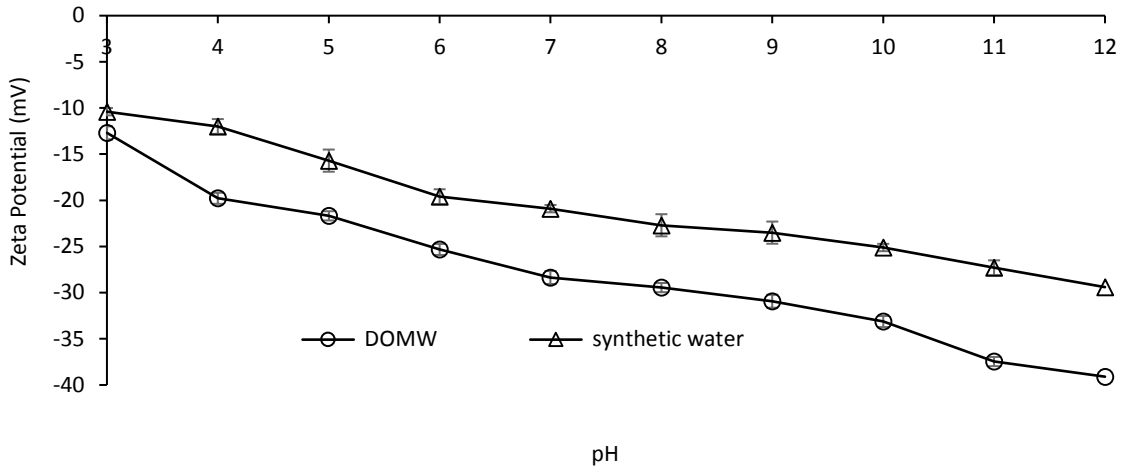


Fig.2 Variation of zeta potential at different values of pH for 10 g L^{-1} of degreased oil mill waste (DOMW) material and synthetic water.

*n = 3 (independent assays)

For DOMW, the evolution of zeta potential exhibits a gradual decrease, from -12 mV at pH 3 to -39 mV at pH 12, as does the synthetic water, from -10 to -29 mV. Independent of pH value, the zeta potential remains negative at both levels, and the DOMW is likewise more negative than synthetic water. As such, clays and DOMW colloids do not function through a direct neutralization of particles in the synthetic water, but instead through a flocculation mechanism, especially an adsorption/bridging mechanism. The optimal activity of DOMW at pH = 11 in fact corresponds to: i) qualitative aspects as well as the nature of active molecules solubilized and transferred into solution (more molecules enriched in aromatic groups (Table 2)); and perhaps ii) acquisition of the best active form at alkaline pH. To better grasp the influence of pH, DOMW solubilization was performed at two pH values, i.e. pH = 11, the maximum flocculation efficiency, and pH = 6, where flocculation appears to be minimized (Fig. 1). Moreover, in order to isolate the specific active constituents of DOMW materials soluble at pH 11, the pH is adjusted afterwards to 6, for the formation of a precipitate (which means that at pH 6, component WSM 11 is inactive). The flocculant activity of the water-solubilized material at pH 6 (WSM 6), pH 11 (WSM 11) and the precipitate (PP) was investigated during the subsequent stage of this study.

Figure 3 exhibits the variation in turbidity removal by coagulation-flocculation with WSM 6, WSM 11 and PP at a process pH of 11.

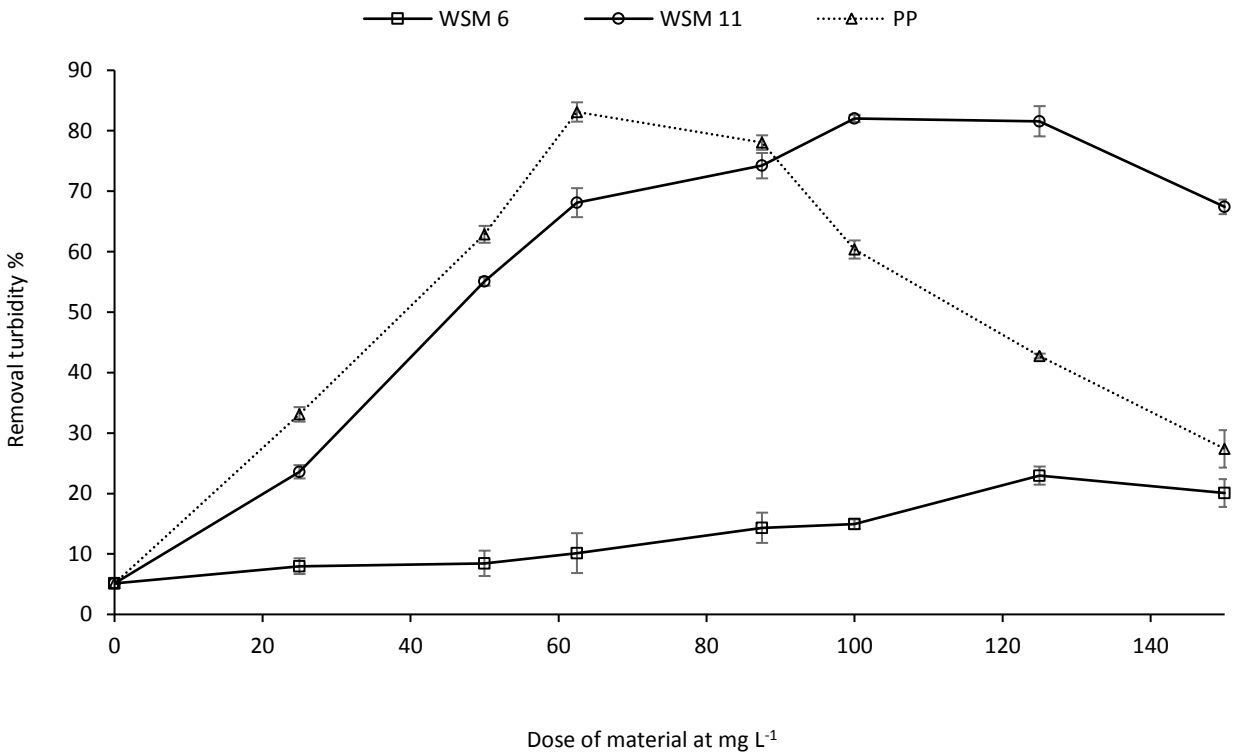


Fig. 3: Variation in turbidity removal at different doses (dry weight) of water-solubilized material WSM 6 and WSM 11 and precipitate (PP) by means of the coagulation-flocculation of synthetic water at pH 11

*n = 3 (independent assays)

It is observed that both PP and WSM 11 display nearly the same efficiency, with a turbidity reduction of: 82% ± 2%, yet with a lower dose for PP: 62.5 mg L^{-1} and 100 mg L^{-1}, respectively. On the other hand, WSM 6 shows a weak efficiency of: 23% ± 1%, with a treatment rate of 125 mg L^{-1}. These results confirm that the active flocculant molecules have concentrated in the PP, compared to WSM 11 and WSM 6, and moreover prove that active flocculants are primarily solubilized at pH 11.

V.2. Identification of functional groups

FTIR has been carried out to identify the presence of functional groups on the DOMW (Fig. 4); the band detected between 3600 and 3700 cm^{-1} might correspond to "OH" stretching vibrations (Saikia *et al.*, 2010). Peak absorption between 2800 and 3000 cm^{-1} is represented

by "CH_2" and "C-H" (Elhajjouji *et al.*, 2007; Droussi *et al.*, 2009). The presence of "C=O" stretching in carboxyls, acids and ketones was confirmed by the peak at 1728 cm^{-1} (Elhajjouji *et al.*, 2007). The vibrations of strips at 1580 and 1430 cm^{-1} confirm the presence of both "C=O" and phenol groups (Akerholm *et al.*, 2003; M. Tatzber *et al.*, 2007; Droussi *et al.*, 2009), respectively. In addition, the peaks at 1100 and 710 cm^{-1} prove the presence of -COOH groups from aromatic proteins, secondary alcohols and polysaccharides (Thomas and Chittenden, 1964; Elhajjouji *et al.*, 2007; Droussi *et al.*, 2009). The FTIR analysis has confirmed the detection of ionizable groups like hydroxyl and carboxyl.

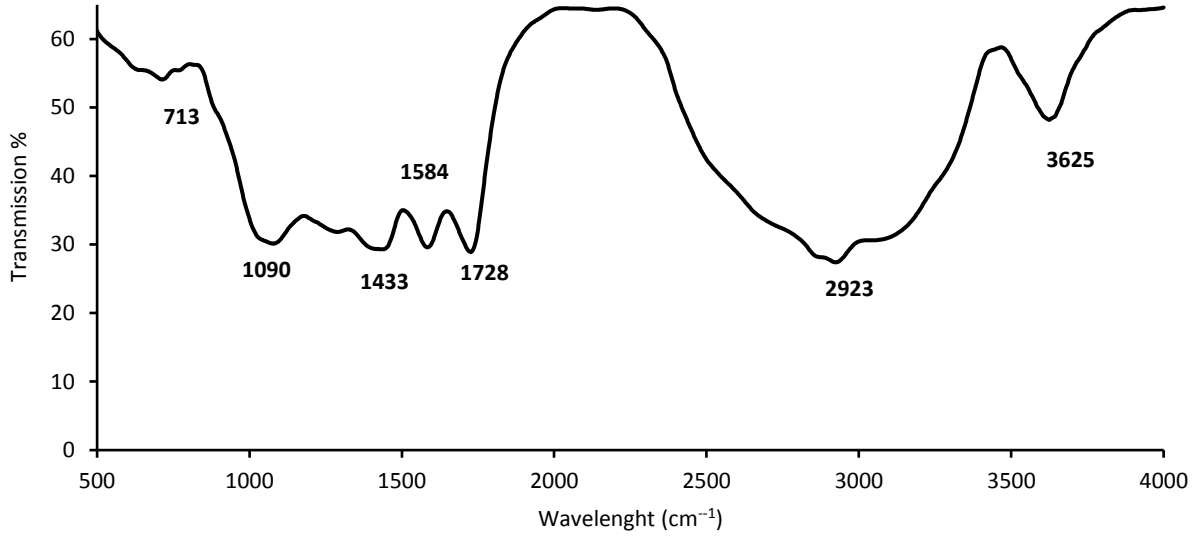


Fig.4 FTIR spectrum for 2.5 mg of defatted olive mill waste (DOMW) material

Acid-base titrations of DOMW materials (Table 2) have led to detecting four acidic constants (pka_s). pKa_1 (2.5 ± 0.2) corresponds to the carboxyl group from free amino acids (Vcélakova *et al.*, 2004). pKa_2 (6.5 ± 0.3) is mainly correlated with -COOH from polysaccharides and secondary alcohols (Droussi *et al.*, 2009). pKa_3 (9.0 ± 0.4) may be associated with the phenol groups (Martin Ragnar *et al.*, 2000) from either lignin (Herrero Martinez *et al.*, 2005) or tannin, e.g. catechin (Tungjai *et al.*, 2008). Lastly, pKa_4 (11-12) could correspond to amino acids like tyrosine (Sjoholm *et al.*, 1974) or else to free sugars, such as glucose, arabinose and fructose (John Wiley *et al.*, 2012).

Table 3: pKa_s values for all defatted olive mill waste (DOMW) used as a raw material (DOMW), Water solubized material (WSM) at pH values of 6 and 11 and precipitate (PP).

pKa_s	DOMW (defatted olive mill waste)	WSM 11	WSM 6	PP
pKa_1	2.5 ± 0.2			
pKa_2	6.5 ± 0.3		6.5 ± 0.3	
pKa_3	9,0 ± 0.4	9,0 ± 0.3		9,0 ± 0.4
pKa_4	12,0 ± 0.7	11.8 ± 0.4	11,0 ± 0.8	12,0 ± 0.5

*n= 2

According to the literature, a comparison between the results detected in FTIR bands and acidic constants of ionizable groups (Fig. 4 and Table 3) has revealed that pKa_1, which corresponds to carboxyl groups (Vcélakova *et al.*, 2004) as confirmed by the appearance of a peak at 1100 cm^{-1} (Bouatay *et al.*, 2014), might possibly be associated with tryptophan. The presence of -COOH groups has already been proven (Droussi *et al.*, 2009) by pKa_2 and the band at 710 cm^{-1} (Thomas *et al.*, 1964), which may be corroborated by the uronic acid (polysaccharides) (Elhajjouji *et al.*, 2007). Furthermore, given its correlation with phenol groups, pKa_3 (Droussi *et al.*, 2009) has also been detected in FTIR by the stretching vibrations between 1430 and 1580 cm^{-1} (Tatzber *et al.*, 2007); this presence may be pertain to the tannins and/or lignin. Lastly, pKa_4, represented by -C=O groups (Elhajjouji *et al.*, 2007; John Wiley *et al.*, 2012) and having appeared in FTIR by the peak absorption at 1728 cm^{-1} (Moran *et al.*, 2008), could correspond to polysaccharides.

The defatted olive mill waste (DOMW) material displays four acidic constants, whereas WSM 6, WSM 11 and PP only present two pKa_s. pKa_2, which represents uronic acids, is observed to be common between DOMW and WSM 6 materials (except for the fact that the removal efficiency of WSM 6 is only 23%). pKa_3, which corresponds to phenol groups, and pKa_4 may however align with sugars and proteins, with a commonality across the DOMW material, WSM 11 and PP. From these observations, polyphenols, proteins and sugars are suspected to all be correlated with turbidity removal efficiency.

V.3. Identification of the biochemical class of molecule

In order to identify the major constituents involved in the flocculation reaction, we have determined by means of colorimetric assays the main biochemical families, i.e. proteins, polysaccharides, uronic acid, phenol and tannins included in phenol family, for the defatted olive mill waste (DOMW) materials and the three preparations (WSM 6, WSM 11 and PP). Figure 5 presents two ratios of the same biochemical components: WSM 11 / WSM 6, and PP / WSM 11.

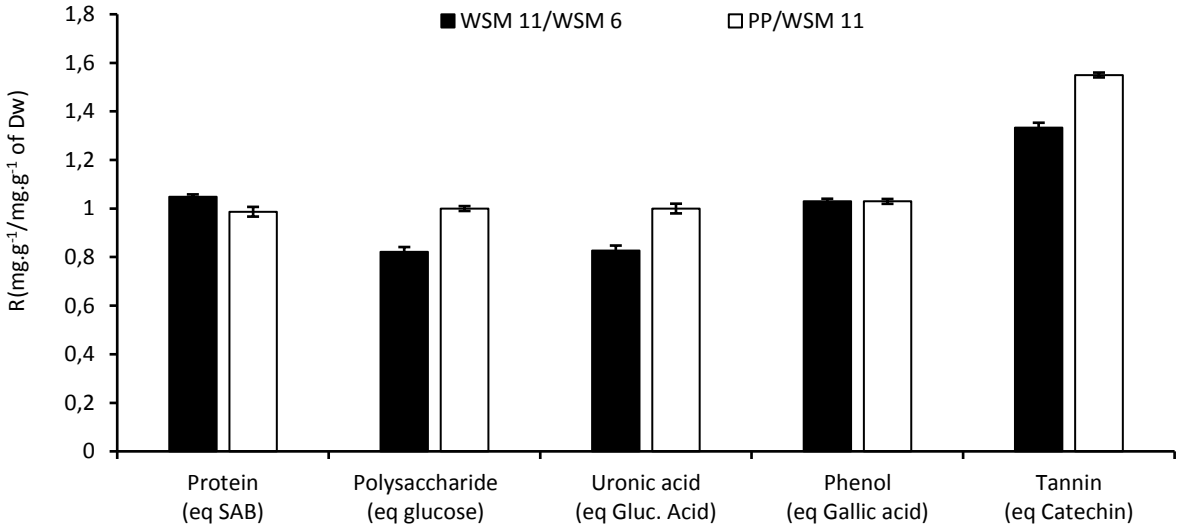


Fig. 5: Ratio (R) of the content of specific biochemical molecules between two solubilized defatted olive mill waste (DOMW) materials: the WSM 11/WSM 6 and PP/WSM 11 ratios

*n = 3 (independent assays)

Figure 5 shows that the ratio [WSM 11 / WSM 6] for protein and phenol nearly exceed 1. For tannin, the ratio [WSM 11 / WSM 6] is greater than 1 (1.33), and this same trend was observed with the ratios between PP and WSM 11 (1.55). The phenol/polyphenol family includes tannins and lignin, which indicates that tannins are especially solubilized at pH 11 and concentrated in PP, as compared to other biochemical families. These results confirm that phenol groups (see Table 2) and therefore tannins could be among the most active molecules in the flocculation process and soluble at pH 11.

In order to specify the biochemical group for tannins, which includes condensed tannins and flavonoids, the condensed tannins and total flavonoids for WSM 6, WSM 11 and PP were determined (Table 3). The increase in total tannin concentrations between WSM 6 and WSM 11 (factor = 1.33) and between WSM 11 and PP (factor = 1.55) confirms the specific solubilization in alkaline pH and the concentration by precipitation, respectively. For condensed tannins, an increase was also found in concentrations between WSM 6 and WSM 11 (factor = 1.3) and between WSM 11 and PP (factor = 1.2). This same trend was also observed for total flavonoids, with a strong increase from WSM 6 to WSM 11 (factor > 1.3), hence an increase between WSM 11 and PP (factor > 2.1).

Table 4: Contents of specific polyphenols: total tannin, condensed tannin and flavonoids from solubilized defatted olive mill waste (DOMW), as determined by colorimetric methods

Sample	Tannins $mg.g^{-1}$ of DW (Catechin Eq.)	Condensed tannins, in $mg.g^{-1}$, of DW (Catechin Eq.)	Flavonoids (in $mg.g^{-1}$) of DW (Catechin Eq.)
WSM6	30 ± 1	20 ± 2	12 ± 2
WSM11	40 ± 1	26 ± 1	16 ± 3
Precipitate (PP)	62 ± 1	31 ± 1	34 ± 2

*n=3

DW: dry weight

These results reveal that the molecules responsible for the flocculation mechanism belong to flavonoids and/or condensed tannins. Other authors have demonstrated that polyphenols (Jeon *et al.*, 2009), proteins (Ndabigenegesere *et al.*, 1995) and polysaccharides (Miller *et al.*, 2008) represent the active molecules in grape seed, *Moringa Oleifera* and cactus *Opuntia ficus indica*, respectively. For these reasons, other tests are essential in confirming the potential of proteins and polysaccharides (according to the results in Table 4 and Fig. 5) to be the constituents responsible for the flocculation mechanism by DOMW.

To complete the investigation of flocculent biochemical molecules present in PP, we processed this fraction with four hydrolytic enzymes (Table 5): α amylase, cellulase, protease

alcalase, and tyrosinase. If active molecules are being hydrolyzed, then the modified PP shows lower efficiency for the flocculation of synthetic water. To validate these results, two controls were performed: Control 1 (preparation with enzyme alone), and Control 2 (preparation without any enzymes, i.e. PP alone); the four Controls 1 and Controls 2 indicate a turbidity removal efficiency of: 15% ± 1% and 83% ± 1%, respectively.

Flocculation results after degradation by enzymes show no effect for α amylase and protease alcalase, with 79% ± 2% and 80% ± 3% turbidity removal rates, respectively. With cellulose however, turbidity removal by coagulation-flocculation was decreased to 60% ± 2% and to an even greater extent with tyrosinase: 24% ± 4%. These results demonstrate that enzymatic treatments are in agreement with colorimetric dosages (Fig. 5 and Table 4), FTIR and acid-base titrations (Fig. 4, Table 3), thus confirming that tannins (condensed tannins and/or flavonoids) and cellulose, present in DOMW materials (Hamdi *et al.*, 1993), constitute the active groups responsible for the flocculation phenomenon by DOMW. Data from the literature confirm the efficiency of cellulose from cotton pulp in coagulation-flocculation (Song *et al.*, 2010). These results thus suggest that tannin and/or flavonoid may act as a coagulant by destabilizing colloids (i.e. adsorption phenomenon): cationic sites (iron oxides, aluminum or calcium) may be present on the surface of clays due to synthetic water and allow for anion absorption (Huang *et al.*, 1975; Xu *et al.*, 1988). After coagulation, the cellulose interacts with polyphenol (Aldred *et al.*, 2009) and may form a large cross-linked polymeric network responsible for flocculation by bridging.

V.4. Highlighting step for water treatment

Coagulation-flocculation reactions with DOMW material and PP (Figs. 1 and 3) are indicative of the potential for substituting chemical coagulants by DOMW. Additional research has been proposed to experiment on integrating the most active material of DOMW (PP) in a water treatment process, by means of substituting a portion of the metal salt (aluminum sulfate (AS)).

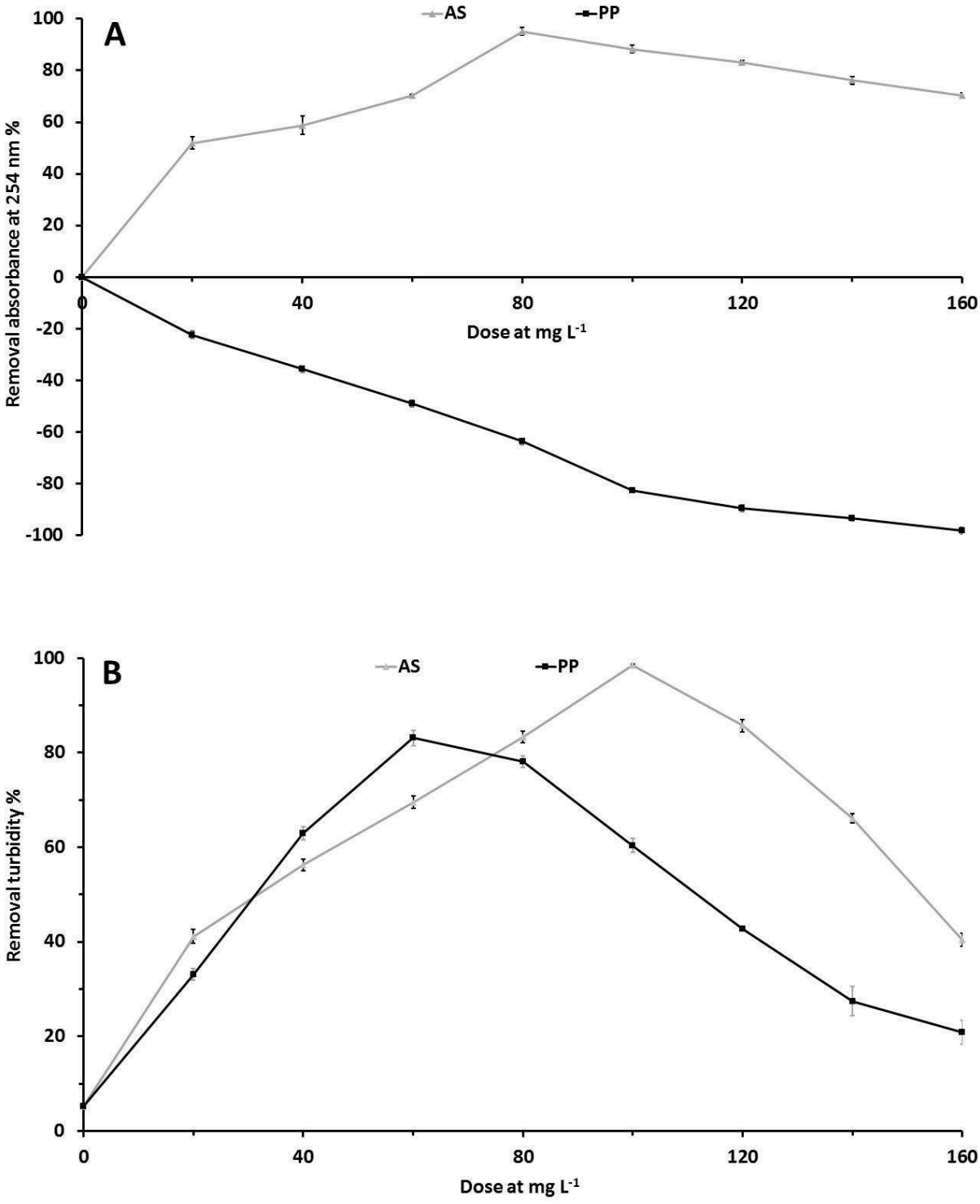


Fig. 6 Efficiency of aluminum sulfate (AS) (at pH 7) and the DOMW precipitate (PP) (at pH 11) in the coagulation flocculation process at different doses **A.** Variation of removal absorbance at 254 nm **B.** Variation in turbidity removal rate

n=3 (independent assays)

Figures 6A and B show the variation of absorbance at 254 nm and turbidity removal rates, respectively, at different doses from 0 to 160 mg L^{-1}. From Figure 6A, the best efficiency of AS was observed at 80 mg L^{-1}, with 95% ± 2% removal absorbance, followed by a slight decrease to 70% ± 1% at 160 mg L^{-1}. In parallel, the use of PP shows a decrease until -98% ± 1% at 160 mg L^{-1}. In contrast, Figure 6B suggests that the best turbidity removal rates with AS and PP are 98% ± 1% and 83% ± 1%, with a treatment rate of 100 mg L^{-1} and 60 mg L^{-1}, respectively. As shown in Figure 6, the efficiency of PP for turbidity removal is high yet still less than AS. The direct use of PP however is complicated by the location of colored compounds in the material, with an increase of approximately 50% in the absorbance of synthetic water. For this reason, we investigated the combination of PP with AS. Figures 7A and B present the variation in absorbance and turbidity removal for a combination of PP and AS at different mixture doses (maximum = 100 mg L^{-1}), with the first treatment using PP at pH 11, followed by a treatment with AS at pH 7. Figure 7A shows that the substitution of 50% AS by PP generates an absorbance removal of 15% ± 1%. In Figure 7B, under the same conditions, a turbidity removal rate of 86% ± 1% was obtained, meaning that absorbance and turbidity removal improved after decreasing the AS substitution by PP.

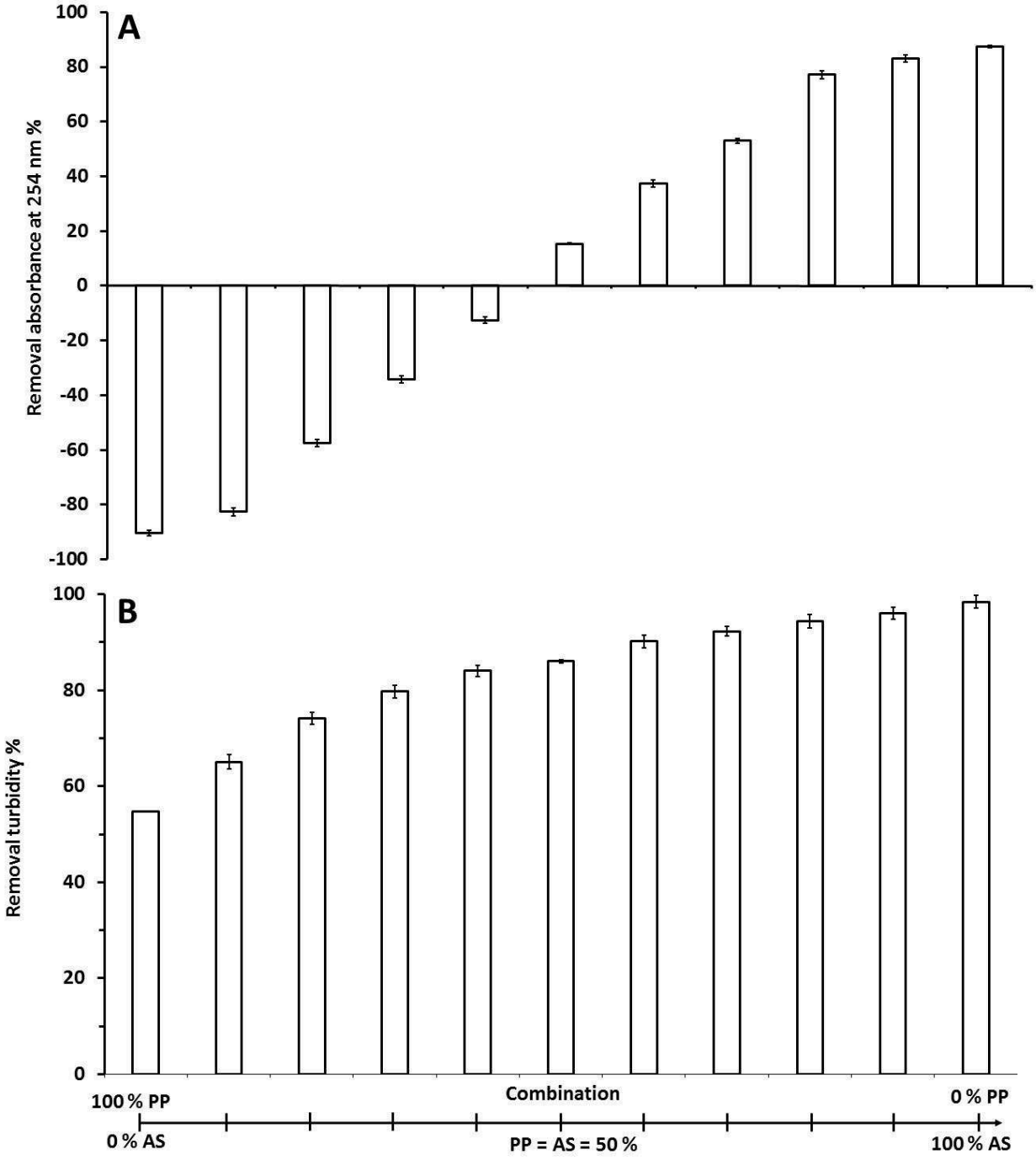


Fig. 7 Treatment in combination with the coagulation flocculation process, by the precipitate (PP) at pH 11, followed by aluminum sulfate (AS) at pH 7 at a final mixture dose of 100 mg L^{-1}

-A) Variation in removal absorbance at 254 nm - B) Variation in turbidity removal rate

n=3 (independent assays)

These results demonstrate the possible substitution of AS by PP with respectively 53% ± 1% and 92% ± 1% for absorbance and turbidity removal, when 30% of AS is substituted by PP.

In this case, if a color decrease in the effluent is not necessary, a substitution rate of 50% AS is indeed possible with turbidity and absorbance decreases of 86% and 15%, respectively.

IV. Conclusion

This study has demonstrated that olive mill wastewater (OMW) could be reused in wastewater treatment reliant on a flocculation process. A high turbidity removal rate of 92% ± 1% of synthetic water was obtained with the specific part of the material (PP), soluble under alkaline conditions, used as the flocculant at pH 11 and with a treatment rate of 100 mg L^{-1}. Enzymatic treatment, colorimetric dosage, FTIR and acid-base titration all confirm that tannins and/or flavonoids and cellulose constitute the active groups responsible for the flocculation phenomenon. The isolated material (PP) does not allow for a direct use of the discoloration, but a combination of PP and AS (50/50) has been found to offer high efficiency, with respectively 15% ± 1% and 86% ± 1% of absorbance (254 nm) and turbidity removal.

Acknowledgments

The authors would like to thank the bilateral Toubkal PHC program for its financial support.

V. Conclusion

Cette étude réalisée sur eau synthétique représentative d'une eau de surface, a confirmé la possibilité de valoriser les margines en les utilisant en tant que biofloculant. Les conditions optimales opératoires du matériel brut (margines dégraissées et lyophilisées) sont obtenues pour un pH de 11, et un taux de traitement de 100 mg L^{-1}. L'abattement de turbidité obtenue est de 92%. Par ailleurs, les résultats ont montré que la majorité des constituants actifs responsables de la coagulation floculation, sont solubilisés au pH optimal de floculation (pH = 11,0) et une partie de la fraction solubilisée à pH = 11 précipite à pH 7. Le précipité a montré une activité floculante (abattement de la turbidité de 83 %) avec un taux de traitement réduit à 62,5 mg L^{-1}. La fraction solubilisée à pH 6 est celle qui a montré l'abattement le plus faible (23 %). L'analyse des potentiels zêta a montré que quel que soit la dose des margines brutes et quel que soit le pH, celui-ci est négatif. Le potentiel zêta de la phase colloïdale étant lui aussi fortement négatif, nous pouvons donc déduire que le mécanisme de coagulation/floculation correspond à l'adsorption et pontage (floculation). Cependant, l'utilisation du matériel brut des margines ou de la fraction alcaline isolée par précipitation entraine une augmentation de

la concentration en composés colorés solubles. La neutralisation de l'effluent avec HCl (1N) après traitement par le précipité et l'ajout sulfate d'aluminium a montré une réduction de la couleur. Une masse de sulfate d'aluminium réduite de 50 % par rapport à un traitement optimum sans biofloculant, permet un abattement de la turbidité et de l'absorbance à 254 nm de 86% et 15 % respectivement.

Afin de déterminer les fonctions et molécules impliquées dans la floculation, nous avons tout d'abord effectué l'analyse infrarouge sur le matériel brut. Puis nous avons réalisé des titrages acido-basiques et dosages colorimétriques (protéines, polysaccharides, polyphénols (tanins et flavonoïdes)) sur les fractions solubilisées aux différents pH dont le précipité, ainsi que sur le matériel brut. L'analyse des matériaux par infrarouge et titrage acido-basique a montré l'implication des groupements fonctionnels phénols, amines, carboxyles et hydroxyles des polysaccharides dans le phénomène de floculation. Les dosages colorimétriques ont confirmé dans la fraction précipitée, l'enrichissement en tanins et surtout en flavonoïdes et tanins condensés. Par ailleurs, une approche enzymatique a montré que les tanins et la cellulose représentent les matières actives responsables de la floculation. Le mécanisme de floculation correspondrait donc à de l'adsorption et pontage par des flavonoïdes et/ou des tanins condensés dans un premier temps, puis a une stabilisation des flocs par le polymère de cellulose. La figure 22 synthétise le modèle proposé.

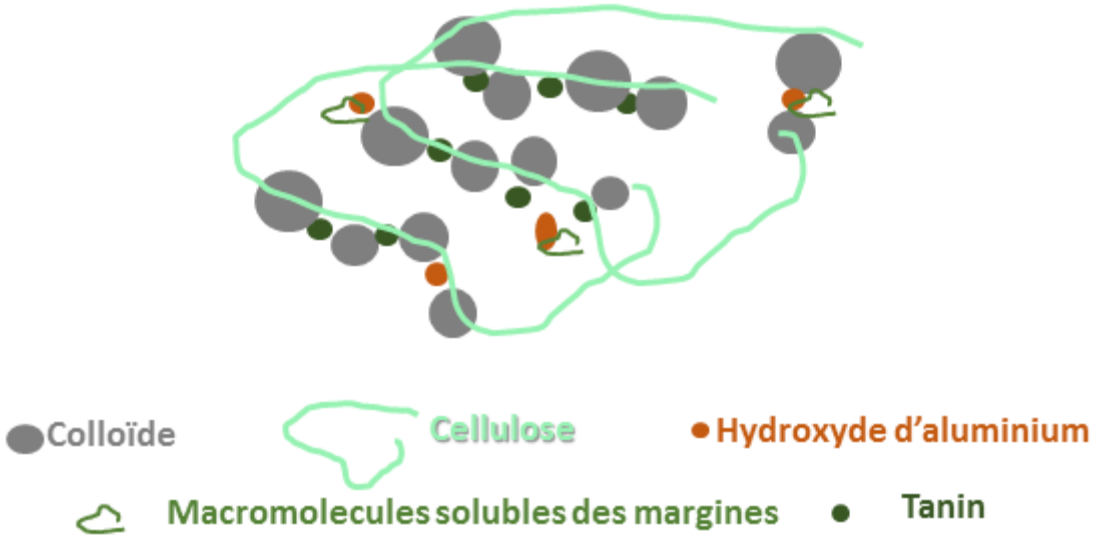


Figure 22 : Modèle d'action des constituants biochimiques des margines

Chapitre 3 : Application d'*Opuntia ficus indica* pour le traitement d'effluents industriels

I. Introduction

Après avoir montré dans le chapitre 1 le pouvoir floculant d'*Opuntia ficus indica* sur une eau de surface synthétique (effluent synthétique) composée de kaolinite et d'acides humiques, une étude de son activité coagulante/floculante sur des effluents industriels réels dont la charge est variable qualitativement et quantitativement reste indispensable. En effet il faut dans un premier temps évaluer l'efficacité du biofloculent « en condition réelle », établir les conditions optimales du procédé (pH, dose, ajout éventuel d'un coagulant métallique). Dans un deuxième temps, il faudrait analyser les mécanismes mis en jeu dans la coagulation floculation et notamment voir s'ils sont identiques avec ceux établis avec le couple cactus/effluent synthétique. Ce chapitre s'oriente essentiellement dans la « partie procédé » sans analyse du mécanisme impliqué. La première est consacrée à la mise en œuvre du traitement d'un effluent de l'industrie textile d'une compagnie de lavage et délavage de jeans à Fès au Maroc. Cet effluent est caractérisé par une forte valeur de la demande chimique en oxygène (DCO =1,26 g. L^{-1}), un pH de 6,6, une turbidité initiale plutôt faible de 214 NTU (inférieure à celle de l'effluent synthétique précédemment utilisé, 350 NTU), une coloration bleue mesurée par absorbance à 290 nm et 675 nm à 1.9 et 0.8 respectivement et la présence de divers métaux, avec des concentrations élevées en fer et zinc (>0,3 mg. L^{-1}). Cette étude présente une comparaison de l'efficacité du traitement d'un effluent de l'industrie textile par des réactifs chimiques les plus utilisés en coagulation floculation, tels que la chaux, le sulfate d'aluminium, le chlorure ferrique et une préparation simple d'*Opuntia ficus indica* (séchage et broyage). Cette comparaison est établie sur les paramètres suivants : abattement de la turbidité, abattement de la couleur (absorbance à 290 nm et 675 nm) et de quelques éléments métalliques (Fe, Zn) et le volume de boues généré à l'issue de la coagulation floculation.

La deuxième partie, est consacrée à la faisabilité d'un traitement d'un effluent de lixiviat provenant de la décharge publique contrôlée de la ville de Fès (Maroc) par coagulation floculation à l'aide d'*Opuntia Ficus indica.* Cet effluent très chargé et composé de molécules organiques très stables est considéré comme difficile à traiter par voie biologique. Un traitement physicochimique est souvent pratiqué et l'utilisation d'une préparation simple à partir d'une ressource végétale disponible est une alternative intéressante à l'utilisation de sels métalliques. L'effluent est caractérisé par une turbidité initiale de 2053 NTU, une DCO de

5,4 g L^{-1}, un pH de 7,6 et la présence d'éléments métalliques en concentration variable (de 0.14 à 33.7 mg L^{-1}). L'efficacité du procédé est mesurée en termes d'abattement de la turbidité et volumes des boues générées afin de déterminer les conditions opératoires optimales.

II. Comparative study between Moroccan cactus and chemicals coagulants for textile effluent treatment

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans **Journal of Materials and Environmental Sciences, 8 (2017), 2687-2693**. La restitution se fera au format de l'article.

II.1. Introduction

The treatment of textile effluents has been the subject of several studies [1-2] and has revealed the need to treat or optimize the treatment of wastewater before discharge into the environment. The coagulation-flocculation process has exhibited great efficiency in eliminating pollution during the treatment of textile effluents [3-7]. Most of these studies agree in concluding that the optimization and adjustment of the effluent physicochemical parameters or of the coagulant treatment rate can lead to flocculation and efficient pollutant removal [8-10]. Many studies have been conducted to evaluate the efficiency of several coagulants in water treatment [11-12]. The most commonly used in wastewater treatment are the trivalent salts of iron ($FeCl_3$, $Fe_2(SO_4)_3$) and aluminum ($Al_2(SO_4)_3$) [13-17]. When applying coagulation-flocculation treatment, a large amount of sludge may sometimes be generated. This factor must be taken into consideration when choosing the coagulant [18-19]. Furthermore, in order to minimize the toxic effects of chemical coagulants, more natural coagulants and flocculants have been introduced, such as chitosan [20-23], cactus [24-26], tannin and moringa oleifera[27]. In this context, a comparative study of the natural coagulant cactus with chemical coagulants such as (Lime, Ferric $chloride_3$ and Aluminum sulfate $Al_2(SO_4)_3$) was conducted. The coagulation-flocculation process efficiency for treating the effluent was evaluated in terms of turbidity, sludge production, metal contamination and color removal.

II.2. Materials and methods

2.1. Characteristics of the effluent

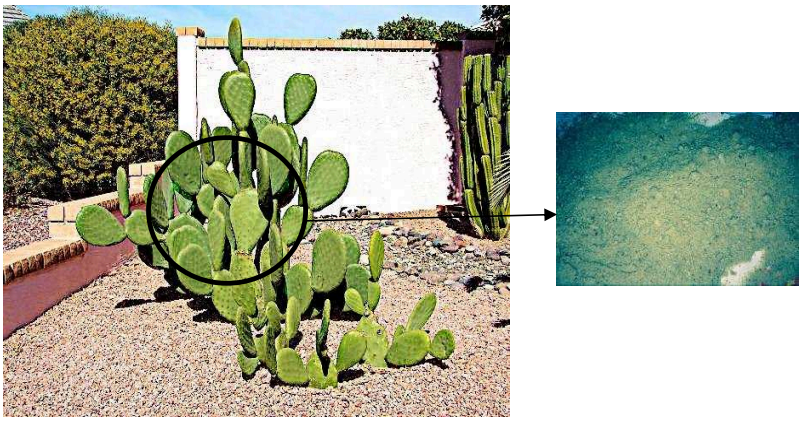
The treatment process was applied to the textile effluent from the MWH Company in Fez (Morocco), whose characteristics are given in table 1.

Table 1.Textile effluent characteristics

pH	Turbidity (NTU)	COD (mg L^{-1})	Conductivity (ms/cm)	Fe (mg L^{-1} l)	Cr (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Ni (mg L^{-1})	Cu (mg L^{-1})
6,45	214	1266	2,13	2,61	0,094	0,36	0,15	0,03	0,09

2.2. Natural coagulant

The cactus was harvested at a wild plantation near Fez (picture1). The cactus pads were washed and all thorns were removed and dried at 80°C. The material was ground and sieved to obtain a solid powder with a diameter of 0.5-1.00 mm.



picture1: Moroccan Cactus

II. 2.3. Procedure Jar-Test and analytical techniques

Coagulation-flocculation tests were performed using a jar-test apparatus (Floculateur Velp) equipped with four stirred reactors (Flocculator Fisher 1198). Different concentrations of the selected coagulant were added to the effluent, using the optimal pH of the coagulant. The mixture was then quickly stirred at 200 rpm for 10 min. Thereafter, the speed was reduced to 30 rpm for 30 min to facilitate floc formation. UV-Vis analyses were performed on a UV-visible

spectrophotometer (UV 2300), and metal elements in both the raw and treated textile effluent were analyzed by ICP (Inductively Coupled Plasma) after mineralization.

II.3. Results and discussion

II. 3.1. Coagulation-flocculation results

The study of treating textile effluent by coagulation-flocculation using aluminum sulfate is illustrated in Figure 1a. It shows the evolution of the turbidity and the volume of the sludge produced as a function of the dose of the coagulant. These results show that the turbidity decreases with the increase of the aluminum sulfate. The optimal dose obtained has been estimated at 3 g L^{-1} with a turbidity of around 4 NTU and a removal efficiency of approximately 98%. The amount of sludge produced after 2 h of settling was 360 mL/L. The effluent exhibits significant discoloration.

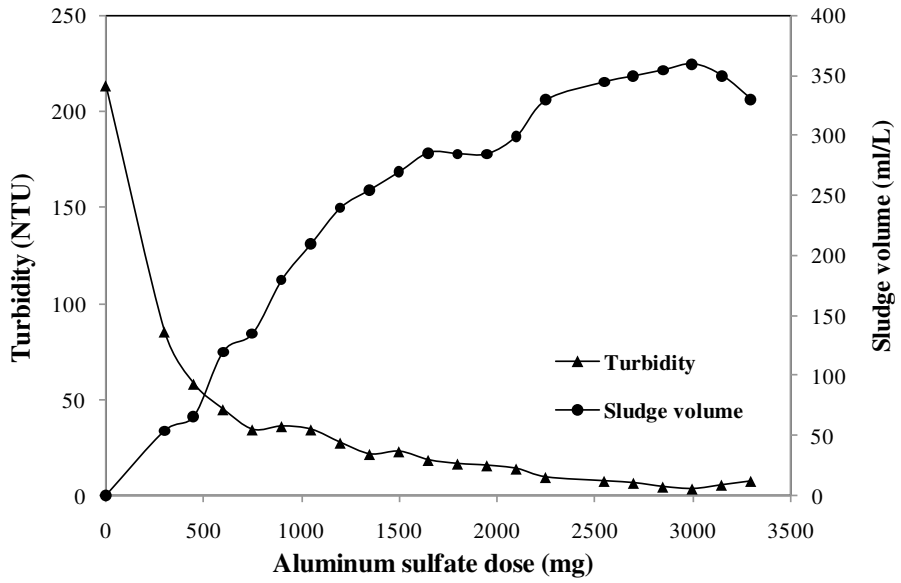


Figure1a: Evolution of turbidity and sludge volume depending on the dose of $Al_2(SO_4)_3$

The study of treating effluent using a Ferric chloride is illustrated in Figure 1b. The optimal dose obtained has been estimated at 3,2 g L^{-1} with a turbidity of around 5 NTU and a removal efficiency of approximately 97%. The amount of sludge produced after 45 mn of settling was 380 mL/L.

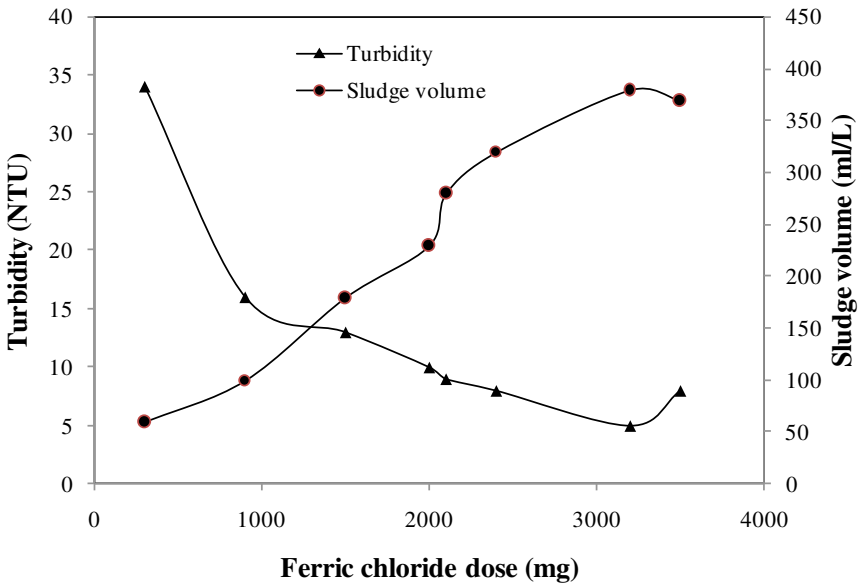


Figure 1b: Evolution of turbidity and sludge volume depending on the dose of $FeCl_3$

The study of treating effluent using a lime is illustrated in Figure 1c. The optimal dose obtained has been estimated at 1,3 g L^{-1} with a turbidity of around 17 NTU and a removal efficiency of approximately 93 %. This efficiency of removal of the turbidity remains lower than that obtained with ferric chloride and aluminum sulfate. On the other hand, decanting is done much faster in the case of lime. The amount of sludge produced after 30 min of settling was 70 mL/L.

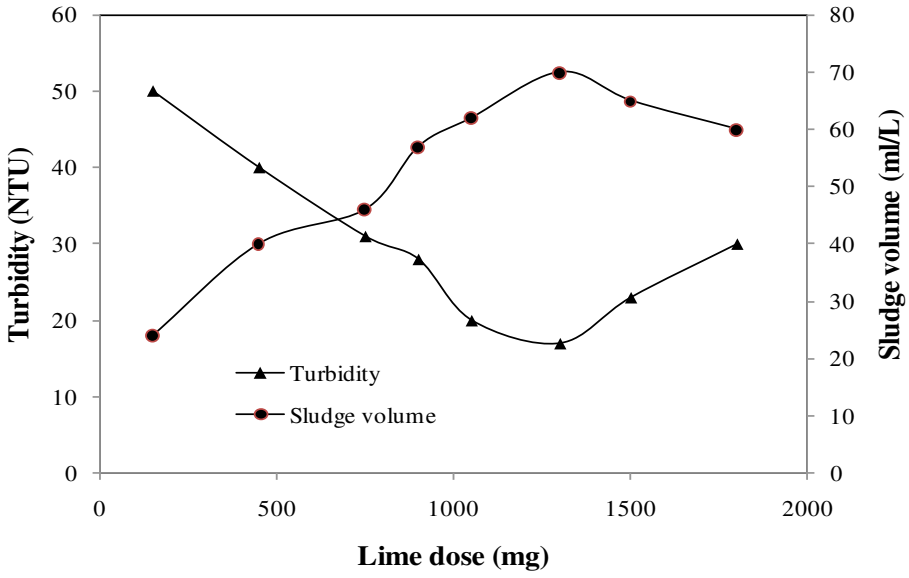


Figure 1c: Evolution of turbidity and sludge volume depending on the dose of $Ca(OH)_2$

The study of treating textile effluent by coagulation-flocculation using a cactus-based product is illustrated in Figure 1d. The optimal dose obtained (with an optimal pH of 10) has been estimated at 33 mg L^{-1} with a turbidity of around 4 NTU and a removal efficiency of approximately 96 %. The amount of sludge produced after five hours of settling was 3.3 ml/L. The sludge volume remained very low with significant discoloration of the effluent.

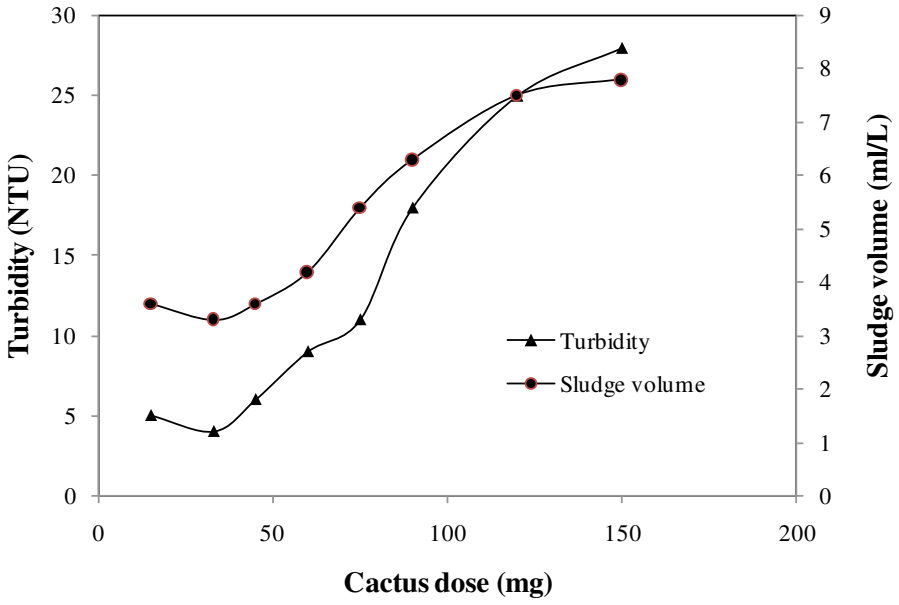


Figure 1d: Evolution of turbidity and sludge volume depending on the dose of Cactus

The cactus was compared with three chemical coagulants, including aluminum sulfate, ferric chloride and lime. Figure 2 shows the evolution of the parameters (turbidity, sludge volume production and settling time) of the treated effluent depending on coagulant type. These results demonstrate that the ratio between the amount of sludge produced and the removal of turbidity is basically the same for both the ferric chloride and aluminum sulfate coagulants. As regards the lime coagulant, the sludge volume decreases yet it exerts less of an effect on turbidity than $FeCl_3$ and $Al_2(SO_4)_3$.

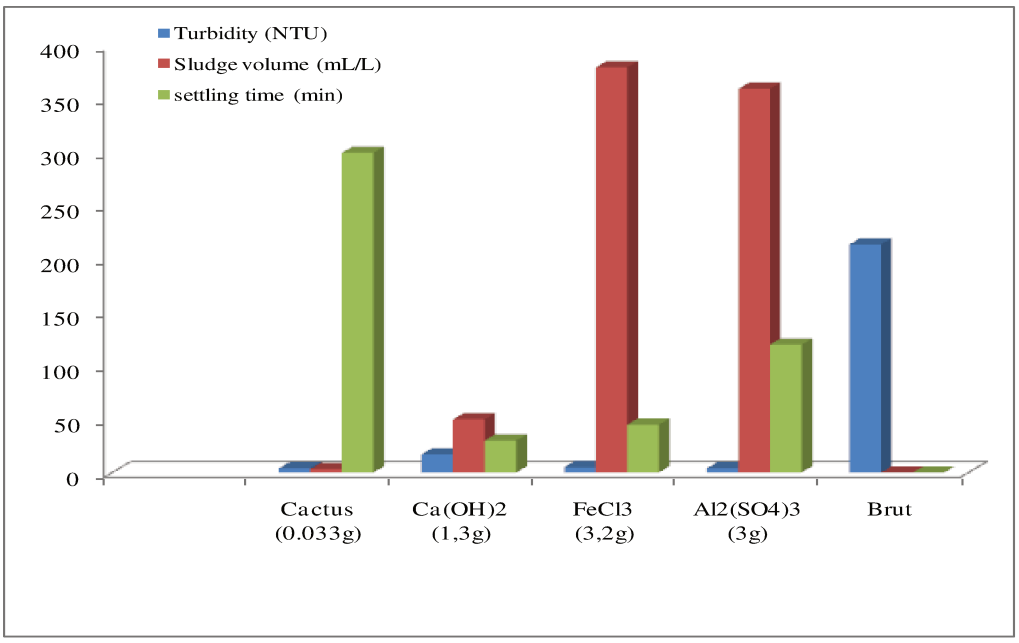


Figure 2: Evolution of the turbidity, the volume of sludge and the settling time according to the type of coagulants

Use of the new cactus product has eliminated turbidity to a similar extent as the ferric chloride and aluminum sulfate. The main difference between the two classes of coagulant (chemical and natural) is more distinct in the difference of both the amount of added coagulant and sludge production. We actually observed that in the case of cactus, the optimal dose and sludge volume are very small compared to what is associated with other chemical coagulants. The settling velocity, however, is much faster in the case of lime, followed by ferric chloride, aluminum sulfate and lastly the cactus.

3.2. UV-visible absorption spectrophotometer (case of the cactus)

Figure 3 displays UV-vis spectra in a wavelength range between 200 and 800 nm for of the effluent before and after coagulation treatment process in the presence of various coagulant cactus doses.

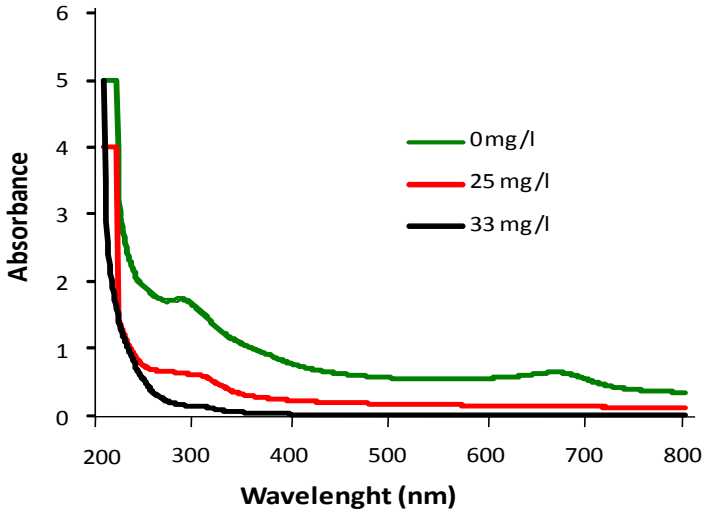


Figure 3: UV-vis absorbance spectra of the raw effluent and treated with cactus

The raw effluent spectrum shows two broad bands located at wavelengths 290 nm and 675 nm; these absorbance bands decrease with the amount of coagulant. They disappear altogether in the presence of the optimal cactus concentration.

3.3. Heavy metals analysis

The results of heavy metals analysis in both raw effluent and effluent treated with cactus flocculants and aluminum sulfate are displayed in Table 2.

Table 2: Concentrations of metallic elements in the raw effluent and treated

Metals mg L^{-1}	**Fe**	**Cr**	**Zn**	**Mn**	**Ni**	**Cu**
Raw effluent	2,61	0,094	0,36	0,15	0,03	0,09
Effluent treated with $Al_2(SO_4)_3$	0,53	0,017	0,13	0,07	0,02	0,02
Effluent treated with Cactus	0,32	0,008	0,03	0,06	0,02	0,009

Several metallic elements were present in the effluent. Fe being the most prevalent, followed by Zn, Mn and Cr. Treatment of the effluent by coagulation showed that aluminum Sulfate is most suitable for the elimination of Cr with an elimination rate of 83%. Fe and Zn are

eliminated with percentages of 72 % and 63 %. Furthermore, cactus is in particular very suitable for removing copper, chromium and zinc. The metal reduction percentage actually exceeded 92 %.

II. 4 Conclusion

In this study, the treatment of a textile effluent by a coagulation-flocculation process has been evaluated. The present work concerns a comparative study of the cactus with chemical coagulants. The coagulation-flocculation process efficiency was assessed in terms of turbidity, sludge production, metal pollution, absorbance and color removal. Results obtained show that the optimal dose for aluminum sulfate is estimated at 3 g L^{-1} with a removal rate of 98 % in turbidity. The lime allows a turbidity elimination of 93 % for an optimal dose of 1.3 g L^{-1} and seems to be more suitable for the treatment of the effluent studied with a low sludge production (70 mL/L for 30 min of settling). Ferric chloride gives 97 % turbidity elimination and produces slightly the same amount of settled sludge as aluminum sulfate (380m L/L). Use of the cactus exhibited a very significant effect on turbidity removal (96%) and reduced sludge production (3.3 ml/L) compared to previous coagulants.

Analysis of the heavy metals showed that aluminum sulfate is particularly suitable for the removal of Cr, Fe and Zn respectively, while for the cactus, the metal reduction percentage exceeded 92 %, especially as regards copper, chromium and zinc.

A comparative study of the cactus with chemical coagulants indicates that the cactus may be used in small quantities with low sludge production. In addition, cactus is non-polluting and biodegradable flocculant.

III. Utilisation d'*Opuntia ficus indica* avec des effluents fortement chargés (lixiviat)

III.1. Introduction

L'implantation de décharges dans des sites non appropriés ou non aménagés spécifiquement à cet effet accentue le risque de contamination des eaux de surface et souterraines [13-16], et par conséquent celui sur la santé humaine [1-3]. Suite à une évolution bio-physico-chimique des déchets entassés et à l'action de la pluie, un jus appelé lixiviat est généré. Cet effluent constitue une source potentielle de pollution pour l'environnement avec une charge carbonée très forte contenant de nombreux composés solubles organiques et métalliques. De manière

plus générale, le problème de la gestion des déchets est quotidien et planétaire et la situation est dramatique dans les pays en développement [4-6] et notamment au Maroc [7-9]. La décharge publique contrôlée de Fès reçoit plus de 1000 tonnes par jour de déchets de toute nature. Le lixiviat peut contenir beaucoup de matières organiques biodégradables mais aussi rapidement de la matière réfractaire à la biodégradation constituées dans la majeure partie par des molécules associées à des substances humiques, « des substances humiques like » [10]. Il contient également de l'azote ammoniacal, des éléments métalliques, des organochlorés et des sels inorganiques [11-12]. La coagulation-floculation est un procédé qui a montré une grande efficacité de l'élimination de la pollution dans le traitement des effluents [17-18]. Ce processus peut être appliqué directement sur les lixiviats pour éliminer la charge colloïdale et de la matière organique dissoute sans être affectée par la toxicité des lixiviats [19]. Au cours des dernières années, un large éventail d'expériences en laboratoire ou à l'échelle pilote a été menée pour évaluer l'efficacité de plusieurs coagulants [20-22]. Les rendements observés lors du traitement des lixiviats par des sels métalliques est souvent faible, de plus les boues générées sont polluées (Amokrane et al., 1994 ; Ishak et al., 2017 ; Smaoui et al., 2018 ; Zolfaghari et al., 2018). Les biofloculants ont montré leur potentiel pour divers types d'effluents (Freitas et al., 2018), surtout pour les lixiviats (Zouboulis et al., 2004 ; Renou et al., 2008).

D'après les résultats obtenus par Yin et al., (2007), *Opuntia ficus indica*, peut s'avérer un bon floculant pour ce type d'effluent. Pour cette étude, nous avons limité le suivi à la turbidité de l'effluent et au volume de boue produit pour le cactus et des coagulants métalliques classiques.

III.2. Matériels et méthodes

Le cactus utilisé dans cette étude a été récolté dans une implantation sauvage à Fès (Maroc). Les épines ont été retirées, puis les cladodes sont lavés par de l'eau ultrapure et séchés à 80 °C. Le matériau a été broyé par un broyeur domestique et enfin tamisé pour obtenir une poudre de cactus de diamètre entre 0.5 et 1 mm.

Les échantillons de lixiviat ont été prélevés au niveau de la décharge publique contrôlée de la ville de Fès implantée dans la commune d'Aïn Beda sur la route de Sidi harazem à environ 11km du centre de Fès. Les caractéristiques du lixiviat sont données dans le tableau 16 ci-dessous :

Tableau 16 : Caractéristiques de lixiviat de la décharge contrôlée de la ville de Fès

pH	Turbidité (NTU)	DCO (mg L^{-1})	Conductivité (ms/cm)	Fe (mg L^{-1} l)	Zn (mg L^{-1})	DCO/DBO_5
7.7	2053	5400	24.6	33.7	4.7	3.2

Selon le rapport DCO/DBO_5 qui égale 3,2; les lixiviats se trouvent chargés en matières organiques peu biodégradables et en éléments métalliques (fer :33.7 mg L^{-1}). Par ailleurs la turbidité, la DCO et la conductivité marquent des valeurs très élevées.

Pour chaque coagulant/floculant, les paramètres retenus sont établis après optimisation de la dose et du pH optimal pour le procédé qui est défini par le meilleur abattement de turbidité.

III.2. Résultats et discussion

Une comparaison de traitement entre les coagulants chimiques et le cactus, en termes d'abattement de la turbidité, du taux de traitement optimal, du pH et du volume des boues est représentée sur la figure 23.

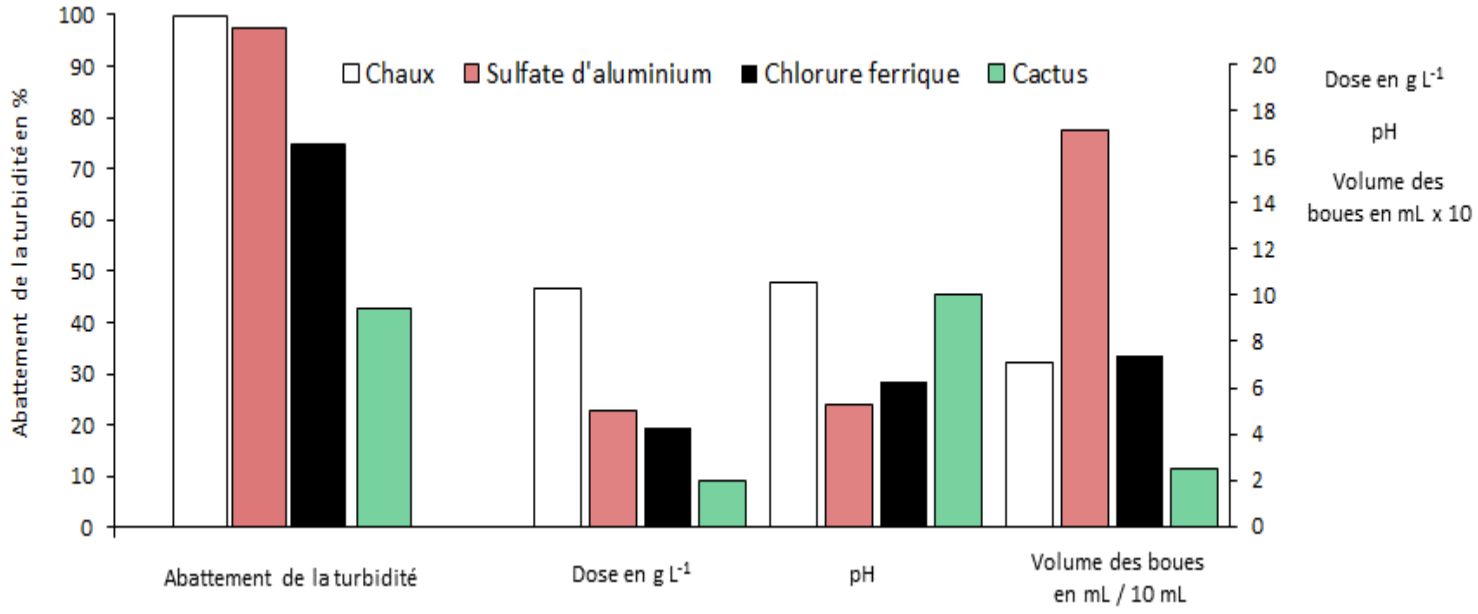


Figure 23 : Comparaison de l'efficacité de traitement en fonction du type de coagulant

Le rapport abattement/taux de traitement est présenté dans le tableau 17. Le meilleur rapport correspond au cactus, suivi par le sulfate d'aluminium, le chlorure ferrique et la chaux. Le

meilleur rapport abattement/volume des boues (tableau 16), correspond aussi au cactus, suivi par la chaux, le chlorure ferrique et le sulfate d'aluminium. Le cactus produit moins de boues par rapport aux autres coagulants car il n'apporte pas de charge colloïdale supplémentaire. Cependant cette absence de phénomène de coagulation par neutralisation colloïdale conduit à un rendement nettement inférieur du traitement. L'ajustement de pH lors de l'utilisation d'*Opuntia ficus indica* a été réalisé à la soude afin de n'observer que le mécanisme de floculation. Ce faible rendement pourra être facilement compensé par une régulation du pH à la chaux qui produit une forte coagulation et floculation avec la possible formation d'une fraction insoluble et colloïdale de précipités calciques : hydroxyapatite (Liu et al., 2001).

Tableau 17 : Comparaison des abattements de traitement en fonction du taux de traitement et du volume des boues.

Rapport	Chaux	Sulfate d'aluminium	Chlorure ferrique	Cactus
Abattement/taux de traitement %/ (mg L^{-1}))	9.7	19.5	17.4	21.4
Abattement/volume des boues %/ (mg L^{-1})	1.4	0.6	1,0	1.7

IV. Conclusion

L'étude de faisabilité du traitement de deux effluents de nature et de composition très différente par *Opuntia ficus indica* séché et broyé a montré une bonne efficacité de traitement pour des valeurs de pH basique dans les deux cas. Le tableau 18 synthétise les différentes conditions obtenues pour le traitement optimum de ces deux effluents.

Tableau 18 : Bilan du traitement des effluents par le cactus en poudre

Floculant	Type de l'effluent	pH optimal	Dose optimale en mg L^{-1}	Abattement de la turbidité en %
Opuntia ficus indica en poudre	Textile	10	33	98
	Lixiviat	10	2000	42

Les deux effluents (textile et lixiviat) ont la même valeur du pH optimal de 10.0 comme obtenue pour le traitement de l'eau de surface synthétique. Par contre, les doses optimales varient entre 33 mg L^{-1} et 2 g L^{-1}, cette variation dépend essentiellement de la charge polluante et de la turbidité initiale de l'effluent à traiter. Les mécanismes de coagulation-floculation d'*Opuntia ficus indica* dépendent aussi des constituants de l'effluent initial qui peuvent intervenir dans le mécanisme de coagulation entre des colloïdes présents ou introduits (effluent synthétique) ou dans la floculation par la présence de macromolécules solubles (lixiviat et effluent de textile).

Finalement, l'étude comparative entre ce coagulant naturel et les coagulants chimiques a montré une très bonne compétitivité avec un fort pouvoir de floculation pour le cactus qui peut être utilisé dans le traitement des effluents de l'industrie textile ou de lixiviats de décharges avec de faibles quantités par rapport aux sels métalliques, tout en produisant un minimum de boue en plus d'être un coagulant non polluant, non toxique et biodégradable.

Le pH optimal de traitement (10,0) représente un inconvénient, mais la combinaison d'un traitement par *Opuntia ficus indica* avec un ajustement du pH à la chaux peut être une solution adéquate et présenterait deux avantages :

- Améliorer l'efficacité du traitement
- Former des boues plus denses

References

Pour faciliter la lecture les références numérotées ont été reprises dans l'ensemble des références bibliographiques en fin de manuscrit.

Partie 1

1. Birhanli A., Ozmen, M.,*Drug Chem. Toxicol*. 1 (2005) 51–65.
2. Dogan E.E., YesiladaE.,Ozata L., Yologlu S., *Drug Chem. Toxicol*. 28 (2005) 289–301.
3. Georgiou D., Aivazidis A., Hatiras J. And Gimouhopoulos K., *Water Research,* 37 (2003) 2248-2250.
4. Kim T.H, Park C., Shin E.B And Kim S., *Desalination,* 161 (2004) 49-58.
5. Yang C.L., Mcgarrahan J., *Journal of Hazardous Materials,* 127 (2005) 40-47.
6. Kang S-F., Liao C-H., Chen M-C., *Chemosphere,* 46 (2002) 923-928.
7. Selcuk H., *Dyes And Pigments,* 64 (2005) 217-222.
8. Chen.T., Gao.B., Yue. Q,*Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects,*355 (2010) 121 - 129.
9. Akshaya K V., Rajesh R D., Puspendu B., *Journal of Environmental Management*, 93 (2012) 154-168.
10. Huseyin S., *Dyes Pigm*., 64 (2005) 217-222.
11. Sangyong K., Chulhwan P., Tak-Hyum K., Jinwon L.,Seung-Wook K., Cod, L. *Biosci. Bioeng.*, 95 (2003) 102-105.
12. Shyh-Fang K., Chih-Hsaing L. And Mon-Chun C., *Chemosphere*, 46 (2002) 923-928.
13. Khalil F., BouaouineO.,ChtiouiH., SouabiS., AboulhassanM.A., OuammouA.,*J. Mater. Environ. Sci*. 6 (5) (2015) 1337-1342.
14. Bidhendi GR.N., Torabian A., Ehsani H., RazmkhahN.,*Iranian Journal of Environmental Health, Science and Engineering,* 4 (2007) 29 - 36.
15. Aboulhassan M A, Souabi S., Yaacoubi A., BauduM.,.*Journal of Hazardous Materials* B138 (2006) 40-45.
16. Golob, V., Vinder A., SimonicM.,.*Dyes and Pigments* 67 (2005) 93 - 97.
17. MajdyI., CherkaouiE., NounahA., KhamarM., *J. Mater.Environ. Sci*. 6 (3) (2015) 834-839. 18. Avinash A., Kadam Harshad S. Lade, Dae Sung Lee,.*Bioresource technology* 176 (2015) 38 - 46.
19. James C.R.,O'melia C.R., *J Am Water Works Assoc*.,74 (1982)148-151.
20. MahmoodiN.M., Salehi R., Arami M., BahramiH.,*Desalination,* 267 (2011) 64 - 72.
21. Renault F., Sancey B., Badot P.M., CriniG.,*European Polymer Journal,* 45 (2009) 1337 - 1348.
22. Guibal E., RoussyJ.,*Reactive and Functional Polymers,* 67 (2007) 33 - 42.
23. Chi F.H., ChengW.P.,*Journal of Polymers and the Environment,* 14 (2006) 411 - 417.
24. FedalaN., Louinci H.,Drouiche,*Ecological Engineering*, 77 (2015) 33 – 36.
25. Abid A., Zouhri A., Ider A., KholteiS.,*Revue des Energies Renouvelables,* 12 (2) (2009) 321-330.
26. Zhang J., Zhang F., Luo Y., Yang H.,*Process Biochemistry,* 41 (2006) 730–733.
27. Beltran-Heredia J., Sanchez-Martin J., Delgado-Regalado A., Jurado-Bustos C.,*Journal of Hazardous Materials,* 170 (2009) 43 – 50.

Partie 2

1. Nhari F., Sbaa M., Vasel J L., Fekhaoui M., El Morhit M., J. Mater. Environ. Sci., Soil contamination of the landfill uncontrolled by heavy metals: case of the landfill of Ahfir-Saidia. 5 (5) (2014) 1477-1484.
2. Chofqi A., Younsi E., Lhadi K., Mania J., Mudry J., Veron A., Journal of African Earth Sciences. 39 (3-5) (2004) 509- 516.
3. Idlahcen A., Souabi S., Taleb A., Zahidi K., Bouezmarni M., Scientific Study & Research, Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry. 15 (1) (2014) 35-50.
4. Elfeki M., Tkadlec E., J. Mater. Environ. Sci. 6 (2015) 756-764.
5. Singh U K., Kumar M., Chauhan R., Ramanathan A., Subramanian V., Environmental Monitoring and Assessment. 141 (1-3) (2008) 309-321.
6. Ying L.A., Jinhui L.A., Shusheng C.B., Weihua D., Journal of Environmental Pollution. 165 (2012) 77-90.
7. Jirou Y., Harrouni Ch., Arroud A, Daoud S, Fox H and Fatmi M., J. Mater. Environ. Sci. 5 (2014) 1816-1824.
8. Hafid N., El hadek M., J. Mater. Environ. Sci. 5 (2014) 2145-2150.
9. El bada N., Mountadar M., J. Mater. Environ. Sci. 3 (4) (2012) 786-799.
10. Kang KH., Shin HS., Park H., Water Res. 36(16) (2002) 4023-4032.
11. Wang ZP., Zhang Z., Lin YJ., Deng NS., TaoT., Zhuo K., J. Hazardous Mater 95(1/2) (2002) 153-159.
12. Chemlal R., Azzouz L., Kernani R., Abdi N., Lounici H., Grib H., Mameri N., Drouiche N., Ecological Engineering, 73 Dec (2014) 281–289.
13. Zume J T., Tarhule A., Christenson, Ground Water Monitoring and Remediation. 26 (2) (2006) 62- 69.

14. Khalil F., Chtioui H., Souabi S., Zakarya D., Aboulhassan MA., Revue L'eau, L'industrie, Les nuisances, 282 (2005) 58.
15. Chtioui H., Khalil F., Souabi S., Aboulhassan MA., Déchets, Sciences et Techniques. N° 49 (2008) 1er Trimestre.
16. El kharmouz.M., Sbaa.M., Chafi A., Saadi S., Larhyss Journal. n°16 (Décembre 2013) 105-119.
17. Berradi M., Chabab Z., Arroub H., Nounah H., El Harfi A., J. Mater. Environ. Sci. 5 (2) (2014) 360-365.
18. Majdy I, Cherkaoui E, Nounah A, Khamar M., J. Mater. Environ. Sci. 6 (3) (2015) 834-839.
19. Amor C., Torres-Socías E., Peres J., Maldonado M., Oller I., Malato S., Lucas M., Journal of Hazardous Materials. 286 (2015) 261-268.
20. Huseyin S., Dyes Pigm. 64 (2005) 217-222.
21. Sangyong K., Chulhwan P., Tak-Hyum K., jinwon L. and Seung K., Biosci. Bioeng. 95 (2003) 102-105.
22. Shyh-Fang K., Chih-Hsaing L. and Mon-Chun C., Chemosphere. 46 (2002) 923-928.
23. Al-Hamadani A.J.Y., Umar M., J.K.M., M.N., Journal of hazardous materials. 15 (2011

Discussion générale et conclusion et

L'objectif principal de cette étude, a été d'isoler et identifier les principaux constituants actifs responsables du phénomène de coagulation floculation par *Opuntia ficus indica*, ainsi que de proposer un modèle général de réaction afin de proposer une mise en œuvre de ses propriétés floculantes et optimiser son usage en traitement des eaux. Il s'agit également de valoriser un déchet liquide, les margines et d'apprécier sa réactivité pour le traitement d'effluents par coagulation floculation. Comme pour le cactus, les familles biochimiques responsables de la floculation ont été identifiées.

A l'issue de notre étude sur ces deux matériaux biosourcés, nous pouvons proposer une méthodologie afin d'évaluer le potentiel de végétaux soupçonnés d'être des biofloculants. Ainsi, nous proposons une démarche physico-chimique et biochimique, basée sur l'étude de la coagulation floculation d'une eau usée synthétique par des matériaux biosourcés (figure 24).

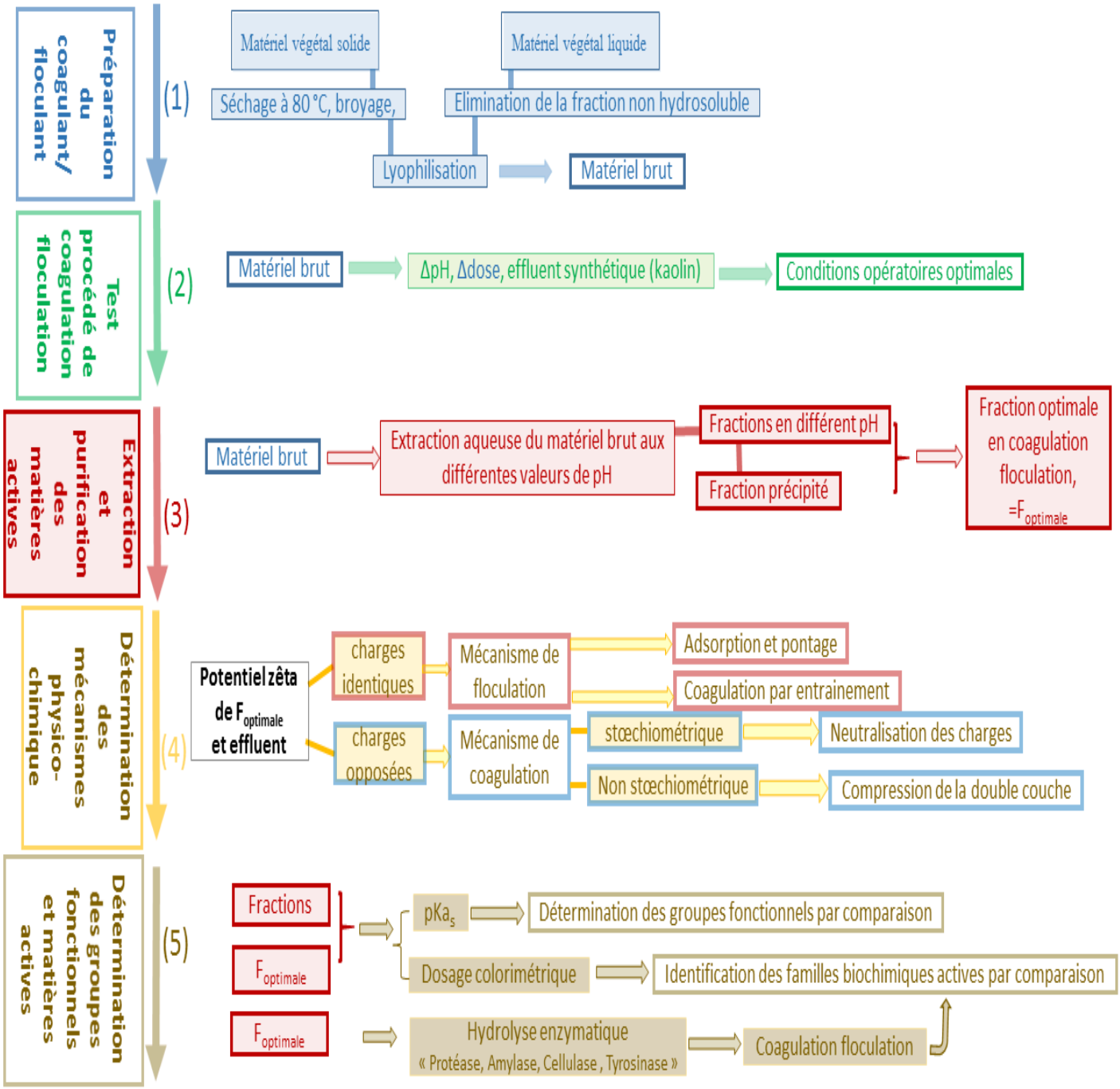


Figure 24 : Démarche des analyses physico-chimiques et biochimiques de détermination des conditions opératoires optimales et mode de fonctionnement des matières actives identifiées

- Préparation du coagulant : La préparation du matériel solide passe d'abord par une étape de séchage à 80 °C, suivi d'un broyage, si le matériel est graisseux, une étape de déshuilage et dégraissage avec des solvants organiques (chloroforme et l'hexane) est réalisé en amont de la préparation.

- Réactions de coagulation floculation : cette étape reste indispensable, afin de i)) juger le potentiel de floculation de la ressource végétale soupçonnée sur un effluent synthétique représentant une eau de surface et ii) de déterminer les conditions optimales de la réaction (taux de traitement, pH).

Les conditions optimales sont déterminées par une série de test en coagulation floculation (variation du pH et du taux de traitement). L'efficacité du procédé dépend essentiellement de la destination envisagée d'eaux traitées et de la réglementation.

1) Extraction et purification des matières actives :

L'isolement et la purification des constituants responsables de la floculation passent par :

- une étape d'extraction aqueuse aux différentes valeurs de pH et notamment à la valeur de pH ou la floculation est optimale.
- La détermination de l'efficacité du traitement des fractions extraites par une méthode jar test,
- la précipitation de la fraction spécifiquement soluble en milieu alcalin avec la neutralisation du pH
- une comparaison de l'efficacité du traitement du matériel brut et des fractions isolées par une méthode jar test aux conditions optimales,

2) Détermination des mécanismes physicochimiques :

La détermination mécanistique nécessite :

un suivi de la variation du potentiel zêta en fonction de pH pour la préparation à base de la ressource végétale, ainsi que pour l'effluent à traiter afin de différencier un mécanisme de neutralisation des colloïdes de charge contraire (coagulation) ou comme dans notre étude la totalité des colloïdes chargés négativement qui implique un mécanisme de floculation par adsorption et pontage.

3) Détermination des groupes fonctionnels et matières actives :

L'identification des matières actives passe par une comparaison des groupes fonctionnels identifiés par un titrage acido-basique (pKa_s) du matériel brut ou des extraits. Le pKa commun

aux fractions qui ont montré la meilleure réactivité représente le ou les groupe(s) fonctionnel(s) actif(s)

i) La détermination des familles biochimiques par dosage colorimétrique permet d'affiner la recherche.

ii) La teneur en biomolécules des différentes fractions et de l'extrait brut est déterminée par dosages des protéines, des glucides (polysaccharides et acide uronique) et des polyphénols (flavonoïdes, tanins et lignine). L'enrichissement de la fraction optimale en une ou plusieurs biomolécules comparées aux autres fractions, permet l'identification des familles biochimiques.

iii) La comparaison entre des pKa avec les molécules biochimiques permet d'identifier la famille biochimique impliquée.

iv) La destruction partielle ou totale des familles biochimique soupçonnées par voie enzymatique permet de confirmer l'identification des familles moléculaires actives. Ainsi, des enzymes hydrolytiques sont utilisées pour la dégradation de composés ciblés de la fraction active isolée: sucres ; tanins et protéines par les enzymes respectifs, α amylase, cellulase ; tyrosinase, et protéase. Les préparations contenant l'enzyme et le substrat sont incubées 2 heures à différentes valeurs de pH et de température en fonction de la nature de chaque enzyme. Ensuite, la préparation hydrolysée est ajoutée à 1 L de solution synthétique et utilisée pour des expériences de coagulation-floculation.

La préparation hydrolysée par voie enzymatique qui conduit à la diminution partielle ou totale de l'activité coagulante contenait la molécule active.

Finalement, une comparaison entre le ou les groupe(s) fonctionnel(s) proposé(s) la ou les molécule(s) biochimique(s) identifiée(s) par dosage colorimétrique et la ou les molécule(s) active(s) détruites par voie enzymatique conduit à une identification précise confirmation des constituants actifs de la ressource végétale.

- **Conditions opératoires**

L'efficacité de traitement de différents effluents par le cactus et les margines sont présentées dans le tableau 19.

Tableau 19 : Bilan de traitement en coagulation floculation des différents effluents par *Opuntia ficus indica* et un extrait de margines.

Floculant	Type d'effluent	pH optimal	Dose optimale en mg L^{-1}	Abattement de la turbidité en %	Abattement/dose (% / mg)	Mécanisme proposé	Matière active
Opuntia ficus indica en poudre	Synthétique Ac. Humique/ kaolinite	10	35	96	2.74	Adsorption et pontage	Tanins et amidon
	Textile	10	33	98	2.9	Adsorption et pontage ; Floculation par entrainement	
	Lixiviat	10	2000	42	0.02	Non déterminé	
Précipité d'*Opuntia ficus indica*	Synthétique de kaolin	10	35	93	2.65	Adsorption et pontage	
Margines brutes	Synthétique de kaolin	11	100	92	0.92	Adsorption et pontage	Tanins et cellulose
Précipité des margines	Synthétique de kaolin	11	62.5	83	1.3		

La comparaison des conditions opératoires optimisées pour les préparations du cactus et des margines à partir des matériaux bruts, a montré une efficacité en coagulation floculation avec des conditions alcalines (pH 10 et 11 respectivement). Le taux de traitement optimum varie entre 33 mg L^{-1} et 2 g L^{-1} pour les différents effluents.

Pour un effluent synthétique, représentant une eau de surface, la valeur de l'abattement de la turbidité pour 1 mg de matériel brut d'*Opuntia ficus indica* en poudre ou de margines brutes dégraissées est de 2,74 et 0,92, respectivement. De même, les préparations (extraites en mileu alcalin) de cactus et de margine ont montré une modification de ce facteur de (2,65 et 1,3 respectivement). La différence d'efficacité relevée entre les deux matériaux montre que le cactus est plus concentré en matières actives. Par ailleurs, la légère diminution du facteur d'efficacité entre le cactus brut et la fraction extraite peut être expliquée par un effet additif

de la masse de solide qui peut améliorer la densité du floc. Ainsi, pour le traitement des eaux, le cactus brut et l'extrait alcalin des margines peuvent être préférentiellement utilisés.

La prochaine partie examinera les constituants actifs des deux floculants.

- **Les matières actives extraites**

La préparation à base d'*Opuntia ficus indica* (phase spécifiquement soluble en milieu alcalin) utilisée aux conditions optimales (pH 10 ; 35 mg L^{-1}) a montré un abattement de 93 % de la turbidité. De même, la préparation à base de margines (phase spécifiquement soluble en milieu alcalin) a montré une réduction de la turbidité de 83 % aux conditions optimales (pH 11 ; 62.5 mg L^{-1}) mais un taux de traitement élevé par rapport au cactus (>1.8). Cette diminution en terme d'abattement et cette augmentation de la dose pour les margines peut-être expliquée par une fraction moins importante de molécules floculantes dans la matière extraite et/ou des constituants moins actifs.

Le figure 25, représente la composition chimique des deux biofloculants bruts selon les données de la littérature.

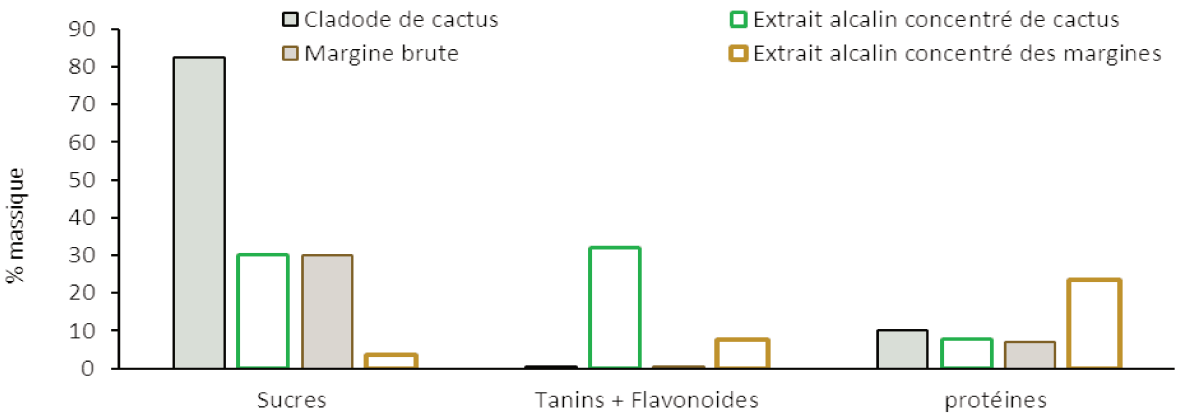


Figure 25 : Comparaison de la composition chimique des matériaux bruts et de leur biofloculant

La composition chimique des deux biomatériaux bruts, montre des grandeurs comparables en polyphénols (tanins et flavonoïdes) et protéines. Par contre, le matériel brut de cactus a montré un fort enrichissement en sucres par rapport aux margines brutes, ce qui peut

partiellement expliquer la différence du taux de traitement observée aux conditions optimales de traitement par les matériaux bruts. Cette variation est aussi probablement liée à la différence de qualité des sucres responsables de la floculation dans les deux matériaux.

La comparaison des pourcentages massique des sucres, protéines et tanins présents d'une part dans les matériaux bruts (selon la littérature) et d'autre part dans les extraits alcalins concentrés (nos travaux) montre notamment un enrichissement en tanins (>53 fois) et (>15 fois) dans la fraction alcaline par rapport aux matériaux bruts de cactus et des margines respectivement. Les tanins ont la propriété d'être des composés hydrosolubles à des pH élevés. Ces résultats confirment la contribution positive des tanins en coagulation floculation.

Dans le cas des sucres et contrairement aux tanins, on note une diminution de la fraction alcaline par rapport aux matériaux bruts de cactus et des margines de (2,75 fois) et (>8 fois) respectivement. Cependant, qualitativement il faut signaler que dans le cas du concentré d'extrait alcalin, on est en présence de différents types de sucre responsables du phénomène de coagulation floculation et notamment pour une grande part d'amidon dans le cas du cactus et de cellulose pour les margines. En effet, la littérature montre que les olives ne contiennent presque pas d'amidon, alors que le cactus contient autant d'amidon que de cellulose (tableau 19)

La cellulose associée aux extraits de margines est une molécule active dans la floculation. Or pour le cactus n'a pas montré une contribution de la cellulose à la floculation. En effet, l'amidon représente un meilleur floculant (Teh et al., 2014) comparé à la cellulose qui demande des modifications de structure (greffage) ou de charges (fonctionnalisation). De par sa conformation, l'amidon (ramifiée) est plus réactif que la cellulose (linéaire). Comme le tableau 20 montre, on observe très peu d'amidon dans les margines, ce qui justifie la présence de l'activité floculante de la cellulose par rapport à l'amidon « par defaut ».

Tableau 20 : Pourcentage d'amidon et de cellulose dans les cladodes de cactus et dans les olives

Composés	Cladode de cactus	Références	Olives	Références
Amidon (%)	12	Bhira et al., 2012	0.1	Aissam et al., 2003
Cellulose (%)	15	Bhira et al., 2012	5	Aissam et al., 2003

Concernant les protéines, le cactus brut a montré un pourcentage massique équivalent à la fraction alcaline. Néanmoins, la fraction spécifiquement soluble en milieu alcalin des margines est enrichi en protéines par rapport aux margines brutes avec une augmentation de la solubilité des protéines aux pH alcalins (Goutefongea et al., 1971).

- **Mécanismes moléculaires mis en jeu**

Modèle envisagé

L'approche enzymatique et le dosage colorimétrique ont montré que les tanins (flavonoïdes et/ou tanins condensés) et les celluloses représentent les matières actives responsables de la floculation par les margines dégraissées. De même, les tests ont révélé que les tanins, (surtout les flavonoïdes) et l'amidon sont responsable de la floculation par *Opuntia ficus indica*. La figure 26 permet de mieux visualiser le mécanisme proposé. Les tanins (quercétine) peuvent déstabiliser les colloïdes par adsorption et pontage.

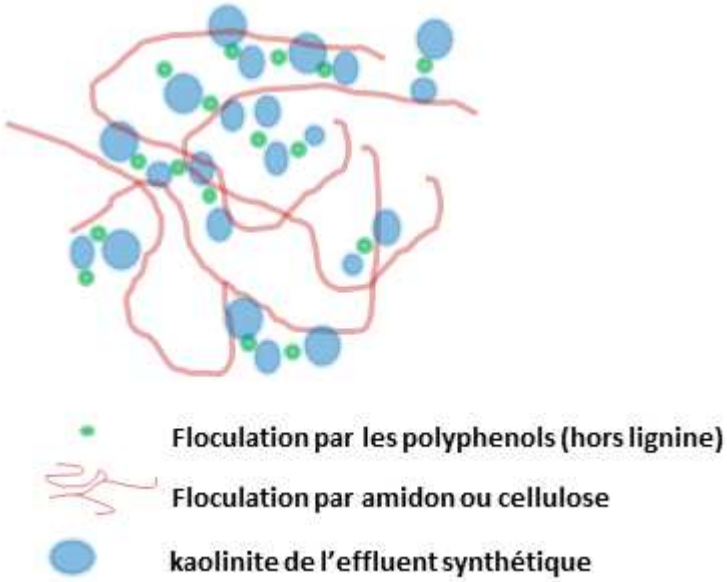


Figure 26 : modèle d'action des constituants biochimiques actifs des deux matériaux : formation d'un floc

La cellulose joue le même rôle que l'amidon (Crini et al., 2009) et forme unréseau de polymères qui structure les flocs et facilitent la floculation (figure 26). D'autres études sont indispensables, afin de considérer une éventuelle synergie et interaction entre les polyphénols et l'amidon ou la cellulose.

Interactions chimiques potentiellement mis en jeu

La mesure du potentiel zêta a révélé que les colloïdes de l'effluent comme des solutions floculantes utilisées dans cette étude, sont chargés négativement, ce qui justifie le mécanisme de floculation proposé. La quercétine (et les tannins) qui est ionisée en milieu très basique (pKa ≈ 9) (Kuntic et al., 2003) peut établir les liaisons ioniques avec l'élément Al de la kaolinite. Cette interaction peut être une interaction ionique directe ou être lié à un échange anionique figure 28). D'après de nombreux auteurs (Grim 1953) l'adsorption des anions se ferait essentiellement par remplacement des hydroxyles d'argiles. Wey et al., (1954 ; 1956) ont montré un accord entre la capacité d'échanges d'anions et les ions Al^{3+}.

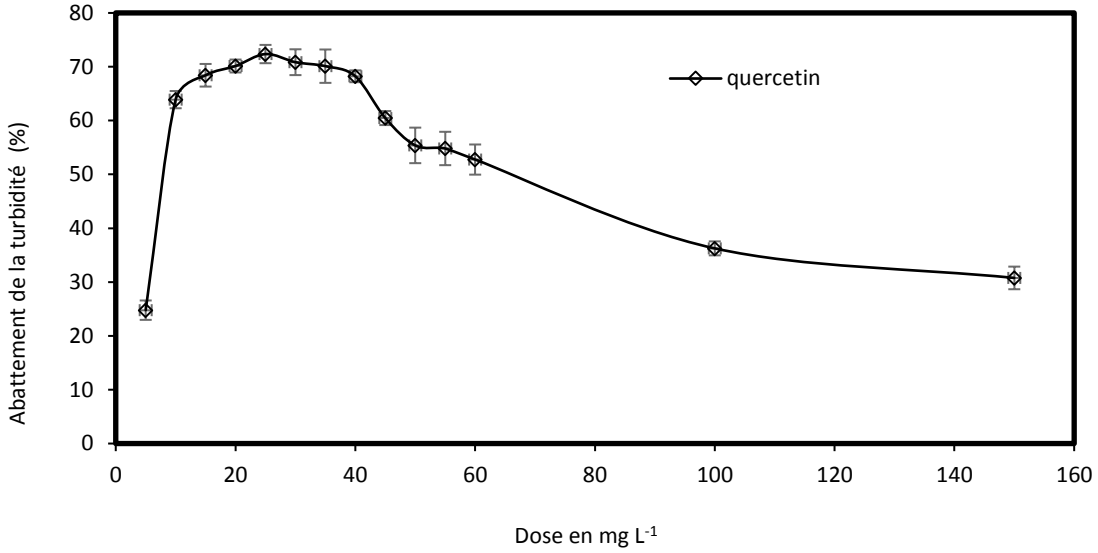


Figure 27 : variation de l'abattement de la turbidité en fonction de la dose de la quercétine à pH 10

Par ailleurs, l'évolution de l'abattement de la turbidité montre qu'à partir d'une dose de 10 mg L^{-1}, la quercétine commence à déstabiliser les kaolinites La diminution de l'abattement observée à partir de 40 mg L^{-1}, peut être due à une saturation en quercétine (anionique) accentuant la charge négative des colloïdes recouverts et entrainant une restabilisation des flocs déjà structurés.

L'amidon ou la cellulose peuvent également s'adsorber sur la kaolinite par des liaisons hydrogènes (figure 28) et contribuer à la structuration des flocs et à une floculation par pontage et entrainement. Faurie (2014) a montré que la présence des polysaccharides limite la formation des complexes tanins-protéines selon deux mécanismes d'interactions possibles :

- les polysaccharides chargés (poly-électrolytes) pourraient former des complexes tertiaires avec les agrégats tanins-protéines et favoriser ainsi la solubilité du complexe,

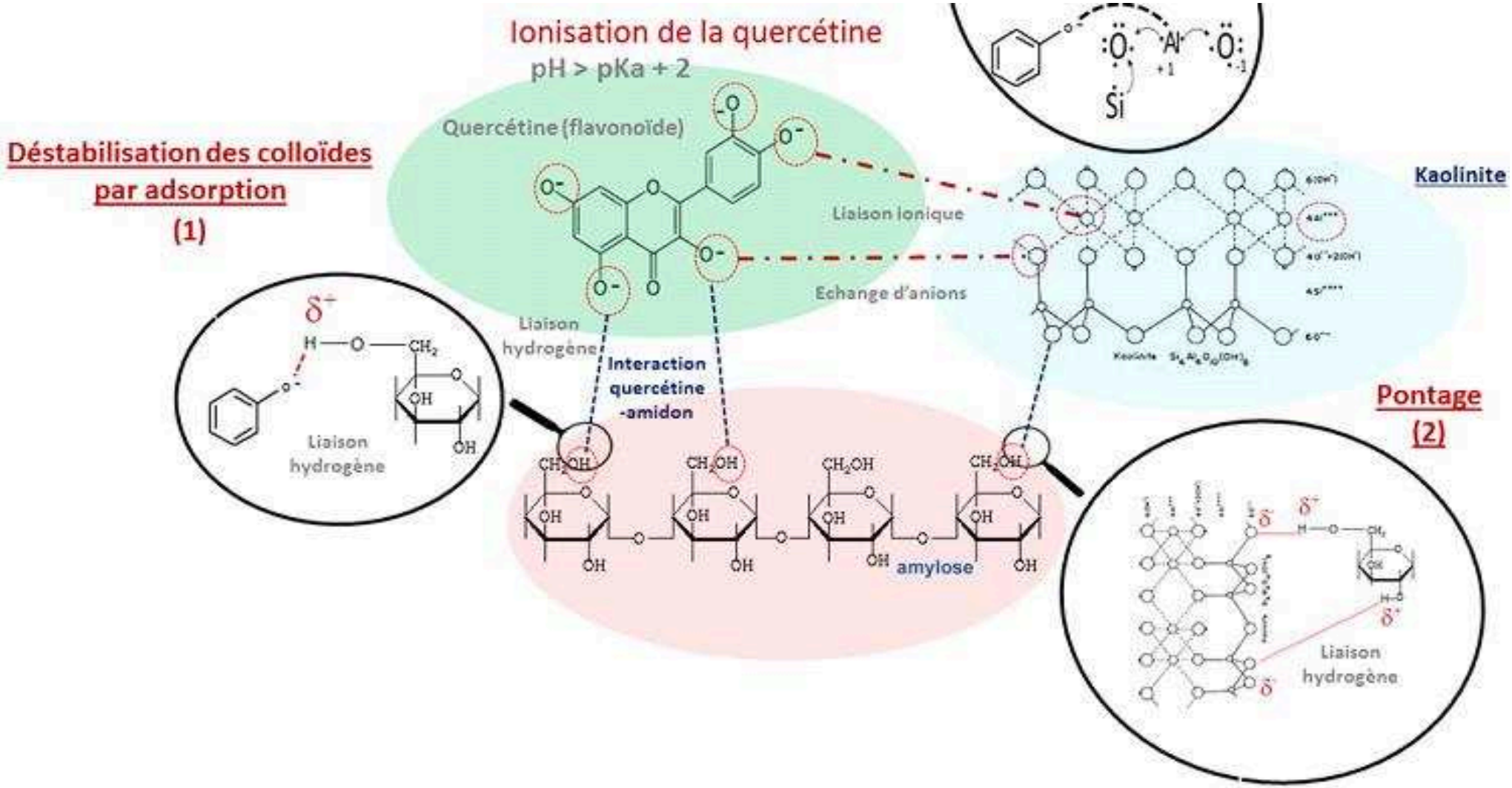


Figure 28 : Interactions chimiques mises en jeu en coagulation floculation entre quercétine, kaolinite et amidon ou cellulose

- les polysaccharides présenteraient une plus grande affinité pour les tanins et pourraient encapsuler ces derniers et ainsi dissocier les complexes tanins-protéines,

Dans notre étude la deuxième hypothèse nous permet de confirmer l'affinité des polysaccharides pour les tanins.

Peu d'études des interactions moléculaires et des liaisons entrant en jeu ont été réalisées. Mateus et al., (2004) suggèrent la présence de liaisons hydrogènes entre les atomes d'oxygène des carbohydrates et le groupe hydroxyle des polyphénols, ainsi que des interactions de type hydrophobes.

Il faut noter que les acides humiques introduits dans la composition de l'effluent synthétique contribuent à la structuration du floc par adsorption (non représenté). De la même façon, Le traitement de l'effluent de l'industrie textile par *Opuntia ficus indica* a montré une forte contribution de floculation par entrainement, cela est dû à la contribution des macromolécules des colorants présents qui par leur adsorption sur les flocs entrainent une forte structuration du floc.

Perspectives :

En perspective à ce travail, l'efficacité de coagulation floculation des préparations à base des margines sur des effluents réels présenterait une première étape. De plus, une étude des interactions entre les constituants responsables de la floculation permettrait de mieux comprendre les mécanistiques de fonctionnement.

Références bibliographiques

A

Abdelaal, S.; Gad, Y.; Dessouki, A. **2006.** Use of Rice Straw and Radiation-Modified Maize Starch/Acrylonitrile in the Treatment of Wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, *129* (1–3), 204–215.

Aboulhassan, M.A., Souabi, S., Yaacoubi, A., Baudu, M., **2006**. Improvement of paint effluents coagulation using natural and synthetic coagulant aids. Journal of Hazardous Materials 138, 40–45. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.05.040

Aboulhassan, MA, Souabi, S. Yaacoubi, A, Baudu, M. **2016**. Coagulation efficacy of a tannin coagulant agent compared to metal salts for paint manufacturing wastewater treatment. Desalination Water Treat, 57:19199–19205.

Ahmad, A., Wong, S., Teng, T., Zuhairi, A., **2008**. Improvement of alum and PACl coagulation by polyacrylamides (PAMs) for the treatment of pulp and paper mill wastewater. Chemical Engineering Journal 137, 510–517. https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.03.088

Aissam Halah, **2003**. Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase.

Åkerholm, M., Hinterstoisser, B., Salmén, L., **2004**. Characterization of the crystalline structure of cellulose using static and dynamic FT-IR spectroscopy. Carbohydrate Research 339, 569–578. https://doi.org/10.1016/j.carres.2003.11.012

Al-Hamadani, Y.A.J., Yusoff, M.S., Umar, M., Bashir, M.J.K., Adlan, M.N., **2011**. Application of psyllium husk as coagulant and coagulant aid in semi-aerobic landfill leachate treatment. Journal of Hazardous Materials 190, 582–587. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.03.087

Alinsafi, A., Khemis, M., Pons, M.N., Leclerc, J.P., Yaacoubi, A., Benhammou, A., Nejmeddine, A., **2005**. Electro-coagulation of reactive textile dyes and textile wastewater. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 44, 461–470. https://doi.org/10.1016/j.cep.2004.06.010

Al Samawi AA, Shokralla EM, **1996**. An investigation into an indigenous natural coagulant. J Environ Sci Health A Toxic Hazard Subst Environ Eng 1881–1897.

Allouche, N., Fki, I., Sayadi, S., **2004**. Toward a High Yield Recovery of Antioxidants and Purified Hydroxytyrosol from Olive Mill Wastewaters. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52, 267–273. https://doi.org/10.1021/jf034944u

Al-Saati, N.H.A., Hwaidi, E.H., Jassam, S.H., **2016**. Comparing cactus (*Opuntia spp*.) and alum as coagulants for water treatment at Al-Mashroo Canal: a case study. International Journal of Environmental Science and Technology 13, 2875–2882. https://doi.org/10.1007/s13762-016-1114-0

Alu'datt, M.H., Alli, I., Ereifej, K., Alhamad, M., Al-Tawaha, A.R., Rababah, T., **2010**. Optimisation, characterisation and quantification of phenolic compounds in olive cake. Food Chemistry 123, 117–122. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.011

Alves, N.M., Mano, J.F., **2008**. Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. International Journal of Biological Macromolecules 43, 401–414. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2008.09.007

Amokrane Ahcen, **1994**. Epuration des lixiviats de décharge : prétraitement par coagulation-floculation, traitement par osmose inverse, post-traitement par incinération.

Amor, C., Torres-Socías, E.D., Peres, J.A., Maldonado, M.I., Oller, I., Malato, S., Lucas, M.S., **2015**. Mature landfill leachate treatment by coagulation/flocculation combined with Fenton and solar photo-Fenton processes. Journal of Hazardous Materials 286, 261–268. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.036

Amuda, O., Amoo, I., **2007**. Coagulation/flocculation process and sludge conditioning in beverage industrial wastewater treatment. Journal of Hazardous Materials 141, 778–783. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.044

Artajo, L.-S., Romero, M.-P., Suárez, M., Motilva, M.-J., **2007**. Partition of phenolic compounds during the virgin olive oil industrial extraction process. European Food Research and Technology 225, 617–625. https://doi.org/10.1007/s00217-006-0456-0

Asrafuzzaman, M., Fakhruddin, A.N.M., Hossain, M.A., **2011**. Reduction of Turbidity of Water Using Locally Available Natural Coagulants. ISRN Microbiology 2011, 1–6. https://doi.org/10.5402/2011/632189

Aviani, I., Raviv, M., Hadar, Y., Saadi, I., Dag, A., Ben-Gal, A., Yermiyahu, U., Zipori, I., Laor, Y., **2012.** Effects of harvest date, irrigation level, cultivar type and fruit water content on olive mill wastewater generated by a laboratory scale 'Abencor' milling system. Bioresource Technology 107, 87–96. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.041

Ayadi, M.A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M., Attia, H., **2009**. Cladodes from Opuntia ficus indica as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. Industrial Crops and Products 30, 40–47. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.01.003

Aziz HA, Alias S, Adlan MN, Faridah A, Asaari AH, Zahari MS. **2007.** Colour removal from landfill leachate by coagulation and flocculation processes. Bioresource Techn**,** 98:218-220.

B

Babayemi, K.A., Okechukwu. Dominic. Onukwuli, **2015**. Phosphate removal from phosphorus containing wastewater by coagulation/flocculation process using Gossypium spp. (GS) as coagulant. Current Advances in Environmental Science 3, 1–5. https://doi.org/10.14511/caes.2015.030101

Bate-Smith, E. C. **1965.** Recent progress in the chemical taxonomy of some phenolic constituents of plants. *Bulletin de la Société Botanique de France*, *112* (sup1), 16–28.

Banks, W.A., Niehoff, M.L., Drago, D., Zatta, P., **2006**. Aluminum complexing enhances amyloid β protein penetration of blood–brain barrier. Brain Research 1116, 215–221. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.112

Barka, N., Ouzaouit, K., Abdennouri, M., Makhfouk, M.E., **2013**. Dried prickly pear cactus (Opuntia ficus indica) cladodes as a low-cost and eco-friendly biosorbent for dyes removal from aqueous solutions. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 44, 52–60. https://doi.org/10.1016/j.jtice.2012.09.007

Barrios Pimienta, E., Barbera, G., Inglese, P, **1993**. Cactus pear (Opuntia spp., Cactaceae) international network: an effort for productivity and environmental conservation for arid and semi-arid lands. Cactus and Succulent Journal 225–229.

Batista, A.M.V., Mustafa, A.F., Santos, G.R.A., de Carvalho, F.F.R., B. Dubeux, J.C., Lira, M.A., Barbosa, S.B.P., **2003.** Chemical Composition and Ruminal Dry Matter and Crude Protein Degradability of Spineless Cactus. Journal of Agronomy and Crop Science 189, 123–126. https://doi.org/10.1046/j.1439-037X.2003.00008.x

Belbahloul Mounir, Zouhri Abdeljalil and Anouar Abdellah, **2014**. Evaluation of the effect of age of cladode and solvent on yield of mucilage and pectin from cactus pads. International Journal of Scientific & Engineering Research 1446–1450.

Beltrán Heredia, J., Sánchez Martín, J., **2009.** Removing heavy metals from polluted surface water with a tannin-based flocculant agent. Journal of Hazardous Materials 165, 1215–1218. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.09.104

Betatache, H., Aouabed, A., Drouiche, N., Lounici, H., **2014**. Conditioning of sewage sludge by prickly pear cactus (Opuntia ficus Indica) juice. Ecological Engineering 70, 465–469. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.06.031

Bharti, S., Mishra, S., Sen, G., **2013**. Ceric ion initiated synthesis of polyacrylamide grafted oatmeal: Its application as flocculant for wastewater treatment. Carbohydrate Polymers 93, 528–536. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.072

Bhira Oumnya, **2012**. Potentialités thérapeutiques d'*Opuntia ficus indica* au Maroc et en

Bhole AG, **1995**. Relative evaluation of a few natural coagulants. Journal Water Supply Research Technology 284–290.

Bialik, E., Stenqvist, B., Fang, Y., Östlund, Å., Furó, I., Lindman, B., Lund, M., Bernin, D., **2016**. Ionization of Cellobiose in Aqueous Alkali and the Mechanism of Cellulose Dissolution. The Journal of Physical Chemistry Letters 7, 5044–5048. https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.6b02346

Biggs, S., Habgood, M., Jameson, G.J., Yan, Y., **2000**. Aggregate structures formed via a bridging

flocculation mechanism. Chemical Engineering Journal 80, 13–22. https://doi.org/10.1016/S1383-5866 (00)00072-1

Birhanlı, A., Ozmen, M., **2005**. Evaluation of the Toxicity and Teratogenity of Six Commercial Textile Dyes Using the Frog Embryo Teratogenesis Assay– *Xenopus*. Drug and Chemical Toxicology 28, 51–65. https://doi.org/10.1081/DCT-39689

Blumenkrantz, N.; Asboe-Hansen, G. **1973.** New Method for Quantitative Determination of Uronic Acids. *Analytical Biochemistry*, *54* (2), 484–489.

Bobinaitė, R.; Viškelis, P.; Šarkinas, A.; Venskutonis, P. R. **2013.** Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of raspberry fruit, pulp, and marc extracts. *CyTA - Journal of Food*, *11* (4), 334–342.

Bodlund I, Pavankumar AR, Chelliah R, Kasi S, Sankaran K, Rajarao, GK. **2014.** Coagulant proteins identified in Mustard: a potential water treatment agent. Inter J Environ Sci Techn.**,** 11:873–880.

Bolto, B., Gregory, J., **2007**. Organic polyelectrolytes in water treatment. Water Research 41, 2301–2324. https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.03.012

Borja, R., Banks, C.J., Sánchez, E., **1996**. Anaerobic treatment of palm oil mill effluent in a two-stage up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) system. Journal of Biotechnology 45, 125–135. https://doi.org/10.1016/0168-1656(95)00154-9

Bouaouine O, Baudu M, Khalil F, Chtioui H, Zaitan H. **2017.** Comparative study between Moroccan cactus and chemicals coagulants for textile effluent treatment. J Mater Environ Sci.**,** 8:2687–2693.

Bouaouine, O.; Bourven, I.; Khalil, F.; Baudu, M. **2018.** Identification of Functional Groups of Opuntia Ficus-Indica Involved in Coagulation Process after Its Active Part Extraction. *Environmental Science and Pollution Research*, 11111-11119

Bouatay F, Mheni MF. **2014.** Use of the Cactus Cladodes Mucilage (Opuntia Ficus Indica) As an Eco-Friendly Flocculants: Process Development and Optimization using Stastical Analysis. Int J Environ Res.**,** 8:1295–1308.

Boulaadjoul, S., Zemmouri, H., Bendjama, Z., Drouiche, N., **2018**. A novel use of Moringa oleifera seed powder in enhancing the primary treatment of paper mill effluent. Chemosphere 206, 142–149. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.123

Boutaric A., **1931**. Les colloides et l'état colloidal. Félix alcan.

Bratby J, **2007**. Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment, 2nd edn. IWA Publishing.

Bravo, L., **2009**. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. Nutrition Reviews 56, 317–333. https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x

Bruneton Jean. **2009.** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.)*.

Burret, F., Lebreton, P., Voirin, B., **1982**. Les Aglycones Flavoniques De Cactees: Distribution, Signification. Journal of Natural Products 45, 687–693. https://doi.org/10.1021/np50024a006

Burret, F., Rabesa, Z., Zandonella, P., Voirin, B., **1981**. Contribution Biochimique à la Systématique de l'Ordre des centrospermales. Biochemical Systematics and Ecology 9, 257–262. https://doi.org/10.1016/0305-1978(81)90005-3

C

Capasso, R., de Martino, A., Arienzo, M., **2002**. Recovery and Characterization of the Metal Polymeric Organic Fraction (Polymerin) from Olive Oil Mill Wastewaters. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 2846–2855. https://doi.org/10.1021/jf011442c

Castello-Garcia, E., Cassano, A., Criscuoli, A., Conidi, C., Drioli, E., **2010**. Recovery and concentration of polyphenols from olive mill wastewaters by integrated membrane system. Water Research 44, 3883–3892. https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.05.005

Chatjipavlidis, I., Antonakou, M., Demou, D., Flouri, F., Balis, C., **1996**. Bio-fertilization of olive oil mills liquid wastes. The pilot plant in Messinia, Greece. International Biodeterioration & Biodegradation 38, 183–187. https://doi.org/10.1016/S0964-8305 (96)00049-2

Chemlal, R., Azzouz, L., Kernani, R., Abdi, N., Lounici, H., Grib, H., Mameri, N., Drouiche, N.,

2014. Combination of advanced oxidation and biological processes for the landfill leachate treatment. Ecological Engineering 73, 281–289. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.09.043

Chen, T., Gao, B., Yue, Q., **2010**. Effect of dosing method and pH on color removal performance and floc aggregation of polyferric chloride–polyamine dual-coagulant in synthetic dyeing wastewater treatment. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 355, 121–129. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.12.008

Chethana, M.; Sorokhaibam, L. G.; Bhandari, V. M.; Raja, S.; Ranade, V. V. **2016.** Green Approach to Dye Wastewater Treatment Using Biocoagulants. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, *4* (5), 2495–2507.

Chi, F.H., Cheng, W.P., **2006**. Use of Chitosan as Coagulant to Treat Wastewater from Milk Processing Plant. Journal of Polymers and the Environment 14, 411–417. https://doi.org/10.1007/s10924-006-0027-2

Chofqi, A., Younsi, A., Lhadi, E.K., Mania, J., Mudry, J., Veron, A., **2004**. Environmental impact of an urban landfill on a coastal aquifer (El Jadida, Morocco). Journal of African Earth Sciences 39, 509–516. https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2004.07.013

Chougui, N., Tamendjari, A., Hamidj, W., Hallal, S., Barras, A., Richard, T., Larbat, R., **2013.** Oil composition and characterisation of phenolic compounds of Opuntia ficus-indica seeds. Food Chemistry 139, 796–803. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.054

Choy, S.Y., Prasad, K.M.N., Wu, T.Y., Ramanan, R.N., **2015**. A review on common vegetables and legumes as promising plant-based natural coagulants in water clarification. International Journal of Environmental Science and Technology 12, 367–390. https://doi.org/10.1007/s13762-013-0446-2

Cox JS, Smith DS, Warren LA, Ferris FG. **1999.** Characterizing Heterogeneous Bacterial Surface Functional Groups Using Discrete Affinity Spectra for Proton Binding. Environ Sci Techn, 33: 4514–4521.

Cramer G. M., **1978**. Estimation of toxic hazard: a decision tree approach. Food and cosmetics

toxicology 255–276.

Crini, G., Badot, P.-M., Guibal, É., **2009**. Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application. Presses universitaires de Franche-Comté, Besançon.

D

Das, R., Ghorai, S., Pal, S., **2013**. Flocculation characteristics of polyacrylamide grafted hydroxypropyl methyl cellulose: An efficient biodegradable flocculant. Chemical Engineering Journal 229, 144–152. https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.05.104

Das, R., Panda, A.B., Pal, S., **2012.** Synthesis and characterization of a novel polymeric hydrogel based on hydroxypropyl methyl cellulose grafted with polyacrylamide. Cellulose 19, 933–945. https://doi.org/10.1007/s10570-012-9692-6

Davidson, L.R., **1980**. Handbook of Water Soluble Gums and Resins. McGraw Hill, NewYork.

De Marco, E., Savarese, M., Paduano, A., Sacchi, R., **2007**. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. Food Chemistry 104, 858–867. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.005

Derjaguin B & Landau L., **1941**. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solution of electrolytes. Acta Physicochim.

Di Serio, M.G., Lanza, B., Mucciarella, M.R., Russi, F., Iannucci, E., Marfisi, P., Madeo, A., **2008.** Effects of olive mill wastewater spreading on the physico-chemical and microbiological characteristics of soil. International Biodeterioration & Biodegradation 62, 403–407. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.03.006

Dihang Moise Desir, **2007.** Mécanismes de coagulation et de floculation de suspensions d'argiles diluées rencontrées en traitement des eaux.

Direction de la production végétale, **2018** (DPV)

Dogan, E.E., Yesilada, E., Ozata, L., Yologlu, S., **2005**. Genotoxicity Testing of Four Textile Dyes in Two Crosses of Drosophila Using Wing Somatic Mutation and Recombination Test. Drug and Chemical Toxicology 28, 289–301. https://doi.org/10.1081/DCT-200064473

Droussi, Z., D'orazio, V., Provenzano, M.R., Hafidi, M., Ouatmane, A., **2009**. Study of the biodegradation and transformation of olive-mill residues during composting using FTIR spectroscopy and differential scanning calorimetry. Journal of Hazardous Materials 164, 1281–1285. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.09.081

DuBois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A.; Smith, F. **1956.** Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, *28* (3), 350–356.

E

El bada N., Mountadar M., **2012**. Evaluation méso-économico-environnementale de la gestion des déchets solides de la ville d'Azemmour (Maroc) (Evaluation meso-economic-environmental management of solid waste from the city of Azemmour (Morocco)). Journal Materials & Enviromental Science 786–799.

El feki M., Tkadlec E., **2015**. Treatment of municipal organic solid waste in Egypt. Journal Materials & Enviromental Science 756–764.

Elhajjouji, H., Fakharedine, N., Aitbaddi, G., Winterton, P., Bailly, J., Revel, J., Hafidi, M., **2007.** Treatment of olive mill wastewater by aerobic biodegradation: An analytical study using gel permeation chromatography, ultraviolet–visible and Fourier transform infrared spectroscopy. Bioresource Technology 98, 3513–3520. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.033

El Kossori Radia Lamghari, Christian Villaume, Essadiq El Boustani, Yves Sauvaire, Luc Méjean, **1998.** Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (Opuntia ficus indica sp.). Plant Foods for Human Nutrition 263–270.

El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M., Latruffe, N., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., **2014**. Nopal Cactus (Opuntia ficus-indica) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. Molecules 19, 14879–14901. https://doi.org/10.3390/molecules190914879

El-Samahy S.K., Abd El-Hady E.A., Habiba R.A., and Moussa T.E., **2006**. Chemical and Rheological Characteristics of Orange-Yellow Cactus-Pear Pulp from Egypt. Journal of the Professional Association for Cactus Development 39–51.

F

Fatombi, J.K., Lartiges, B., Aminou, T., Barres, O., Caillet, C., **2013**. A natural coagulant protein from copra (Cocos nucifera): Isolation, characterization, and potential for water purification. Separation and Purification Technology 116, 35–40. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.05.015

Faurie Benoit, **2014**. Les sucres et l'astringence : effet des polysaccharides présents dans le vin sur les interactions tanins-protéines. Bordeaux.

Fedala, N., Lounici, H., Drouiche, N., Mameri, N., Drouiche, M., **2015.** Physical parameters affecting coagulation of turbid water with *Opuntia ficus-indica* cactus. Ecological Engineering 77, 33–36. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.01.007

Feugang J. M., Konarski P., Zou D., Stintzing F. C. and Zou C. **2006.** Nutritional and medicinal use of Cactus pear (Opuntia spp.) cladodes and fruits. Frontiers in Bioscience., 11: 2574-2589.

Fki, I., Allouche, N., 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. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.014

Freitas, T.K.F.S., Almeida, C.A., Manholer, D.D., Geraldino, H.C.L., de Souza, M.T.F., Garcia, J.C., **2018.** Review of Utilization Plant-Based Coagulants as Alternatives to Textile Wastewater Treatment, in: Muthu, S.S. (Ed.), Detox Fashion. Springer Singapore, Singapore, pp. 27–79. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4780-0_2

Freitas, T.K.F.S., Oliveira, V.M., de Souza, M.T.F., Geraldino, H.C.L., Almeida, V.C., Fávaro, S.L., Garcia, J.C., **2015.** Optimization of coagulation-flocculation process for treatment of industrial textile wastewater using okra (A. esculentus) mucilage as natural coagulant. Industrial Crops and Products 76, 538–544. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.06.027

Frølund, B.; Palmgren, R.; Keiding, K.; Nielsen, P. H. **2011.** Extraction of Extracellular Polymers from Activated Sludge Using a Cation Exchange Resin. *Water Research* **1996**, *30* (8), 1749–1758.

Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., Nielsen, P.H., **1996**. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. Water Research 30, 1749–1758. https://doi.org/10.1016/0043-1354

Fu F, Wang Q. **2011.** Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. J Environ Manag., 92:407–418.

G

Gandhi, N., Sirisha, D., Sekhar, K.B.C., **2013**. Biodepollution of paint manufacturing industry wastewater containing chromium by using coagulation process. Journal of Arts, Science & Commerce 110–118.

García-Gómez, A., **2003.** Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. Bioresource Technology 86, 59–64. https://doi.org/10.1016/S0960-8524 (02)00106-2

Gebrekidan, A., Nicolai, H., Vincken, L., Teferi, M., Asmelash, T., Dejenie, T., Zerabruk, S., Gebrehiwet, K., Bauer, H., Deckers, J., Luis, P., De Meester, L., van der Bruggen, B., **2013**. Pesticides Removal by Filtration over Cactus Pear Leaves: A Cheap and Natural Method for Small-Scale Water Purification in Semi-Arid Regions. CLEAN - Soil, Air, Water 41, 235–243. https://doi.org/10.1002/clen.201200042

Genaro-Mattos, T.C., Maurício, Â.Q., Rettori, D., Alonso, A., Hermes-Lima, M., **2015**. Antioxidant Activity of Caffeic Acid against Iron-Induced Free Radical Generation—A Chemical Approach. PLOS ONE 10, e0129963. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129963

Georgiou, D., Aivazidis, A., Hatiras, J., Gimouhopoulos, K., **2003**. Treatment of cotton textile wastewater using lime and ferrous sulfate. Water Research 37, 2248–2250. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00481-5

Golob, V., Vinder, A., Simonic, M., **2005**. Efficiency of the coagulation/flocculation method for the treatment of dyebath effluents. Dyes and Pigments 67, 93–97. https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2004.11.003

Gomes, L., Troiani, E.P., Malpass, G.R.P., Nozaki, J., **2016**. *Opuntia ficus indica* as a

polyelectrolyte source for the treatment of tannery wastewater. Desalination and Water Treatment 57, 10181–10187. https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1035677

Gopalakrishnan, L.; Doriya, K.; Kumar, D. S. Moringa Oleifera: **2016.** A Review on Nutritive Importance and Its Medicinal Application. *Food Science and Human Wellness*, *5* (2), 49–56.

Gortzi, O., Lalas, S., Chatzilazarou, A., Katsoyannos, E., Papaconstandinou, S., Dourtoglou, E., **2008**. Recovery of Natural Antioxidants from Olive Mill Wastewater Using Genapol-X080. Journal of the American Oil Chemists' Society 85, 133–140. https://doi.org/10.1007/s11746-007-1180-z

Goutefongea R., **1971**. Influence du pH et de la température sur la solubilité des protéines musculaire du porc. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 233–244.

Graham, N., Gang, F., Fowler, G., Watts, M., **2008.** Characterisation and coagulation performance of a tannin-based cationic polymer: A preliminary assessment. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 327, 9–16. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.05.045

Grim E. Ralph, **1953.** Clay mineralogy. Mc Graw Hill Book 384.

Gross KC, Seybold PG. **2001.** Substituent effects on the physical properties and pKa of phenol. International J Quantum Chem., 85:569–579.

Guibal, E., Roussy, J., **2007**. Coagulation and flocculation of dye-containing solutions using a biopolymer (Chitosan). Reactive and Functional Polymers 67, 33–42. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2006.08.008

Gunaratna, K.R., Garcia, B., Andersson, S., Dalhammar, G., **2007**. Screening and evaluation of natural coagulants for water treatment. Water Science & Technology: Water Supply 7, 19. https://doi.org/10.2166/ws.2007.147

H

Hafid N., El hadek M., **2014**. Etude des déchets urbains déposés dans une ancienne décharge non contrôlée (Study of municipal waste filed in uncontrolled landfill). Journal Materials &

Enviromental Science 2145–2150.

Hamdi, M., **1993**. Future prospects and constraints of olive mill wastewaters use and treatment: A review. Bioprocess Engineering 8, 209–214. https://doi.org/10.1007/BF00369831

Herrero-Martínez JM, Sanmartin M, Rosés M, Bosch E, Ràfols C. **2005.** Determination of dissociation constants of flavonoids by capillary electrophoresis. Electrophoresis**.,** 26:1886–1895.

Huang, P. M. **1975.** Retention of Arsenic by Hydroxy-Aluminum on Surfaces of Micaceous Mineral Colloids1. *Soil Science Society of America Journal*, *39* (2), 271.

Huang, R.Y.M., Pal, R., Moon, G.Y., **1999.** Characteristics of sodium alginate membranes for the pervaporation dehydration of ethanol–water and isopropanol–water mixtures. Journal of Membrane Science 160, 101–113. https://doi.org/10.1016/S0376-7388 (99)00071-X

I

Ibanez-Camacho R, Meckes-Lozoya M, Mellado-Campos V. **1983.** The hypoglucemic effect of *Opuntia streptacantha* studied in different animal experimental models. J Ethnopharm, 7:175–181.

Ishak, A.R., Hamid, F.S., Mohamad, S., Tay, K.S., **2017**. Removal of organic matter from stabilized landfill leachate using Coagulation-Flocculation-Fenton coupled with activated charcoal adsorption. Waste Management & Research 35, 739–746. https://doi.org/10.1177/0734242X17707572

Israelachvili, J.N., **2011.** Intermolecular and surface forces, 3. ed. ed. Elsevier, Acad. Press, Amsterdam.

J

Jadhav, M.V., Mahajan, Y.S., **2014.** Assessment of feasibility of natural coagulants in turbidity removal and modeling of coagulation process. Desalination and Water Treatment 52, 5812–5821. https://doi.org/10.1080/19443994.2013.816875

Jankovic Stevan, **1974.** Manuel de chimie de l'environnement.

James, C.R., O'Melia, C.R., **1982**. Considering sludge production in the selection of coagulants. Journal - American Water Works Association 74, 148–151. https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.1982.tb04875.x

Jansson, P., Kenne, L., Lindberg, B., **1975**. Structure of the extracellular polysaccharide from xanthomonas campestris. Carbohydrate Research 45, 275–282. https://doi.org/10.1016/S0008-6215 (00)85885-1

Jeon, J.-R., Kim, E.-J., Kim, Y.-M., Murugesan, K., Kim, J.-H., Chang, Y.-S., **2009**. Use of grape seed and its natural polyphenol extracts as a natural organic coagulant for removal of cationic dyes. Chemosphere 77, 1090–1098. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.08.036

Jiangya M, Fu K, Fu X. Guan Q, Ding L, Shi J, Zhu G, Zhang X, Zhang S, Jiang L. **2017.** Flocculation properties and kinetic investigation of polyacrylamide with different cationic monomer content for high turbid water purification, Sep Purif Techn**,** 182:134-143.

John Wiley, **2012**. Applications of ion chromatography in the analysis of pharmaceutical and biological products, first edition.

Jones A N, Bridgeman J. **2016.** Investigating the characteristic strength of flocs formed from crude and purified Hibiscus extracts in water treatment. Water Res**,** 103:21-29.

K

Kang, K.-H., Shin, H.S., Park, H., **2002**. Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. Water Res. 36, 4023–4032.

Kang, S.-F., Liao, C.-H., Chen, M.-C., **2002**. Pre-oxidation and coagulation of textile wastewater by the Fenton process. Chemosphere 46, 923–928.

Kaur M., Kaur A. and Sharma R. **2012.** Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: A Review. J of applied pharma Sci**.,** 07: 15-18.

Kazi, T., Virupakshi, A., **2013**. Treatment of tannery wastewater using natural coagulants. International Journal Innov. Research Science Engineering Technology 4061–4068.

Khalil F., Bouaouine O., Chtioui H., Souabi S., Aboulhassan M.A., Ouammou A., **2015**. Traitement des lixiviats de décharge par coagulation-floculation (Treatment of Landfill Leachate by coagulation-flocculation. Journal of Materials and environmental sciences 1337–1342.

Khanbabaee Karamali, and Teunis van Ree, **2001.** Tannins: Classification and Definition. Nat. Prod. Rep. 641–649.

Khoufi, S., Aloui, F., Sayadi, S., **2008**. Extraction of antioxidants from olive mill wastewater and electro-coagulation of exhausted fraction to reduce its toxicity on anaerobic digestion. Journal of Hazardous Materials 151, 531–539. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.017

Kim, T., Park, C., Shin, E., Kim, S., **2004**. Decolorization of disperse and reactive dye solutions using ferric chloride. Desalination 161, 49–58. https://doi.org/10.1016/S0011-9164(04)90039-2

Kukić, D. V.; Šćiban, M. B.; Prodanović, J. M.; Tepić, A. N.; Vasić, M. A. Extracts of Fava Bean (Vicia Faba L.) Seeds as Natural Coagulants. *Ecological Engineering* **2015**, *84*, 229–232.

Kuntic´V., N. Pejic´, S. Mic´ic´, D. Malesˇev, Z. Vujic, **2003**. Determination of dissociation constants of quercetin. Pharmazie 439–440.

L

La Mer V.K. and Healy T.W., **1966.** Reviews of pure and applied chemistry, in: Index to Reviews, Symposia Volumes and Monographs in Organic Chemistry. Elsevier, p. 125. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-012210-6.50076-4

Lafka, T.-I., Lazou, A.E., Sinanoglou, V.J., Lazos, E.S., **2011**. Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes. Food Chemistry 125, 92–98. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.041

Lakhtar, H., Ismaili-Alaoui, M., Philippoussis, A., Perraud-Gaime, I., Roussos, S., **2010.** Screening of strains of Lentinula edodes grown on model olive mill wastewater in solid and liquid state culture for polyphenol biodegradation. International Biodeterioration & Biodegradation 64, 167–172. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.10.006

Lee, C.S., Chong, M.F., Robinson, J., Binner, E., **2014a.** A Review on Development and Application of Plant-Based Bioflocculants and Grafted Bioflocculants. Industrial & Engineering Chemistry Research 53, 18357–18369. https://doi.org/10.1021/ie5034045

Lee, C.S., Robinson, J., Chong, M.F., **2014b.** A review on application of flocculants in wastewater treatment. Process Safety and Environmental Protection 92, 489–508. https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.04.010

Lee, D.W., Lim, C., Israelachvili, J.N., Hwang, D.S., **2013**. Strong Adhesion and Cohesion of Chitosan in Aqueous Solutions. Langmuir 29, 14222–14229. https://doi.org/10.1021/la403124u

Lee, K.E., Morad, N., Teng, T.T., Poh, B.T., **2012**. Development, characterization and the application of hybrid materials in coagulation/flocculation of wastewater: A review. Chemical Engineering Journal 203, 370–386. https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.06.109

Li, J., Jiao, S., Zhong, L., Pan, J., Ma, Q., **2013**. Optimizing coagulation and flocculation process for kaolinite suspension with chitosan. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 428, 100–110. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.03.034

Li Y, Li Q, Hao D, Hu Z, Song D, Yang M. **2014.** Characterization and flocculation mechanism of an alkali-activated polysaccharide flocculant from Arthrobacter sp. B4. Biores Techn**,** 170:574–577.

Li, Y., Li, J., Chen, S., Diao, W., **2012**. Establishing indices for groundwater contamination risk assessment in the vicinity of hazardous waste landfills in China. Environmental Pollution 165, 77–90. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.12.042

Liu, D.-M., Troczynski, T., Tseng, W.J., **2001.** Water-based sol–gel synthesis of hydroxyapatite: process development. Biomaterials 22, 1721–1730. https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00332-X

Liu, H., Yang, X., Zhang, Y., Zhu, H., Yao, J., **2014**. Flocculation characteristics of polyacrylamide grafted cellulose from Phyllostachys heterocycla: An efficient and eco-friendly flocculant. Water Research 59, 165–171. https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.022

Lowry O., Rosebrough N., Fan A., Randall R. **1951**. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193, 265-275.

Lumdubwong, N.; Seib, P. A. Rice Starch Isolation by Alkaline Protease Digestion of Wet-Milled Rice Flour. *Journal of Cereal Science* **2000**, *31* (1), 63–74.

Mateus, N.; Carvalho, E.; Luís, C.; de Freitas, V. **2004.** Influence of the Tannin Structure on the Disruption Effect of Carbohydrates on Protein–tannin Aggregates. *Analytica Chimica Acta*, *513* (1), 135–140.

M

Mahmoodi, N.M., Salehi, R., Arami, M., Bahrami, H., **2011**. Dye removal from colored textile wastewater using chitosan in binary systems. Desalination 267, 64–72. https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.09.007

Mahmut Ozacar and, I. Ayhan Sengil, **2002**. The Use of Tannins from Turkish Acorns (Valonia) in Water Treatment as a Coagulant and Coagulant Aid. Turkish J. Eng. Env. Sci 255 – 263.

Majdoub, H., Picton, L., Le Cerf, D., Roudesli, S., **2010.** Water Retention Capacity of Polysaccharides from Prickly Pear Nopals of *Opuntia Ficus Indica* and *Opuntia Litoralis*: Physical–Chemical Approach. Journal of Polymers and the Environment 18, 451–458. https://doi.org/10.1007/s10924-010-0159-2

Malainine, M.E., Dufresne, A., Dupeyre, D., Mahrouz, M., Vuong, R., Vignon, M.R., **2003.** Structure and morphology of cladodes and spines of Opuntia ficus-indica. Cellulose extraction and characterisation. Carbohydrate Polymers 51, 77–83. https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00157-1

Marouf abderrazak, G.T., **2015**. Abrégé de biochimie appliquée.

Mateus, N., Carvalho, E., Luís, C., de Freitas, V., **2004**. Influence of the tannin structure on the disruption effect of carbohydrates on protein–tannin aggregates. Analytica Chimica Acta 513, 135–140. https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.08.072

Mbogo S.A., **2008.** A novel technology to improve drinking water quality using natural

treatment methods in rural Tanzania. Journal Environmental health 46–50.

McConn, M.M., Nakata, P.A., **2004**. Oxalate Reduces Calcium Availability in the Pads of the Prickly Pear Cactus through Formation of Calcium Oxalate Crystals. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52, 1371–1374. https://doi.org/10.1021/jf035332c

Medina, E.M.D., Rodríguez, E.M.R., Romero, C.D., **2007**. Chemical characterization of Opuntia dillenii and Opuntia ficus indica fruits. Food Chemistry 103, 38–45. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.064

Michael, I., Panagi, A., Ioannou, L.A., Frontistis, Z., Fatta-Kassinos, D., **2014**. Utilizing solar energy for the purification of olive mill wastewater using a pilot-scale photocatalytic reactor after coagulation-flocculation. Water Research 60, 28–40. https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.032

Miller, S.M., Fugate, E.J., Craver, V.O., Smith, J.A., Zimmerman, J.B., **2008.** Toward Understanding the Efficacy and Mechanism of *Opuntia* spp. as a Natural Coagulant for Potential Application in Water Treatment. Environmental Science & Technology 42, 4274–4279. https://doi.org/10.1021/es7025054

Ministère de l'eau et de l'environnement, **2014.** Les sources de pollution de l'eau au Maroc.

Ministère de l'énergie, des mines, de l'eau et de l'environnement **2014.**

Mishra, A., Bajpai, M., **2005**. Flocculation behaviour of model textile wastewater treated with a food grade polysaccharide. Journal of Hazardous Materials 118, 213–217. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.11.003

Mishra, A., Yadav, A., Agarwal, M., Rajani, S., **2004**. Polyacrylonitrile-grafted Plantago psyllium mucilage for the removal of suspended and dissolved solids from tannery effluent. Colloid & Polymer Science 282, 300–303. https://doi.org/10.1007/s00396-003-0895-0

Mishra Anuradha, Rajani Srinivasan, Rashmi Dubey, **2002.** Flocculation of Textile Wastewater by Plantago psyllium Mucilage. Macromolecular Materials and Engineering 592–596.

Mishra, S., Mukul, A., Sen, G., Jha, U., **2011.** Microwave assisted synthesis of polyacrylamide

grafted starch (St-g-PAM) and its applicability as flocculant for water treatment. International Journal of Biological Macromolecules 48, 106–111. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.10.004

Mishra, S., Sinha, S., Dey, K.P., Sen, G., **2014**. Synthesis, characterization and applications of polymethylmethacrylate grafted psyllium as flocculant. Carbohydrate Polymers 99, 462–468. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.047

Missio, A. L.; Tischer, B.; dos Santos, P. S. B.; Codevilla, C.; de Menezes, C. R.; Barin, J. S.; Haselein, C. R.; Labidi, J.; Gatto, D. A.; Petutschnigg, A. **2017.** Analytical Characterization of Purified Mimosa (Acacia Mearnsii) Industrial Tannin Extract: Single and Sequential Fractionation. *Separation and Purification Technology*, *186*, 218–225.

Molina-Alcaide, E., Yáñez-Ruiz, D.R., **2008**. Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. Animal Feed Science and Technology 147, 247–264. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.021

Monje, P.V., Baran, E.J., **2002.** Characterization of Calcium Oxalates Generated as Biominerals in Cacti. PLANT PHYSIOLOGY 128, 707–713. https://doi.org/10.1104/pp.010630

Montree Tungjai, , Wilart Poompimon, , Chatchanok Loetchutinat, , Suchart Kothan, Nathupakorn Dechsupa, and Samlee Mankhetkorn, **2008**. Spectrophotometric Characterization of Behavior and the Predominant Species of Flavonoids in Physiological Buffer: Determination of Solubility, Lipophilicity and Anticancer Efficacy. The Open Drug Delivery Journal, 10–19.

Morán, J.I., Alvarez, V.A., Cyras, V.P., Vázquez, A., **2008**. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. Cellulose 15, 149–159. https://doi.org/10.1007/s10570-007-9145-9

Munoz de Chavez, M., Chavez, A., Valles, V., Roldan, J.A., **1995**. The Nopal: A Plant of Manifold Qualities, in: Simopoulos, A.P. (Ed.), World Review of Nutrition and Dietetics. S. Karger AG, pp. 109–134. https://doi.org/10.1159/000424468

N

Ndabigengesere, A., Narasiah, K.S., **1998**. Use of Moringa Oleifera Seeds as a Primary Coagulant in Wastewater Treatment. Environmental Technology 19, 789–800. https://doi.org/10.1080/09593331908616735

Ndabigengesere, A., Narasiah, K.S., Talbot, B.G., **1995**. Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using Moringa oleifera. Water Research 29, 703–710. https://doi.org/10.1016/0043-1354 (94)00161-Y

Nharingo, T., Zivurawa, M.T., Guyo, U., **2015**. Exploring the use of cactus *Opuntia ficus indica* in the biocoagulation–flocculation of Pb (II) ions from wastewaters. International Journal of Environmental Science and Technology 12, 3791–3802. https://doi.org/10.1007/s13762-015-0815-0

Nharingo T, Moyo M. **2016.** Application of *Opuntia ficus-indica* in bioremediation of wastewaters. A critical review. J Environ Manag., 166:55–72.

Niaounakis, M., Halvadakis, C.P., **2006**. Olive processing waste management: literature review and patent survey, 2. ed. ed, Waste management series. Elsevier, Amsterdam.

No, H.K., Meyers, S.P., **2000.** Application of Chitosan for Treatment of Wastewaters, in: Ware, G.W. (Ed.), Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer New York, New York, NY, pp. 1–27. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6429-1_1

O

Oladoja, N.A., Unuabonah, E.I., Amuda, O.S., Kolawole, O.M., **2017**. Mechanistic Insight into the Coagulation Efficiency of Polysaccharide-based Coagulants, in: Polysaccharides as a Green and Sustainable Resources for Water and Wastewater Treatment. Springer International Publishing, Cham, pp. 13–35. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56599-6_2

Osborne T.B., **1924**. The vegetable proteins, Green and Co. ed.

Özacar, M., Şengil, İ.A., **2003**. Evaluation of tannin biopolymer as a coagulant aid for coagulation of colloidal particles. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering

Aspects 229, 85–96. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2003.07.006

P

Pal, S., Ghorai, S., Dash, M.K., Ghosh, S., Udayabhanu, G., **2011**. Flocculation properties of polyacrylamide grafted carboxymethyl guar gum (CMG-g-PAM) synthesised by conventional and microwave assisted method. Journal of Hazardous Materials 192, 1580–1588. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.06.083

Pal, S., Mal, D., Singh, R.P., **2008.** Characterization of cationic starch: An efficient flocculating agent. Journal of Applied Polymer Science 108, 2674–2681. https://doi.org/10.1002/app.27623

Pal, S., Mal, D., Singh, R.P., **2005**. Cationic starch: an effective flocculating agent. Carbohydrate Polymers 59, 417–423. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.06.047

Pal, S., Sen, G., Ghosh, S., Singh, R.P., **2012**. High performance polymeric flocculants based on modified polysaccharides—Microwave assisted synthesis. Carbohydrate Polymers 87, 336–342. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.052

Palluault Vincent, **2010**. Nouveaux traitements de surface respectueux de l'environnement par des gels polymères réticulables Application à la préparation des surfaces d'usage dans le secteur aéronautique.

Parsons Roger, **1981**. The theoretical double layer at solid liquid interfaces. Journal Elctroanalyses chemistry, 118, 3-18.

Patale Varsha and Punita Parikh, **2010.** A Preliminary study on *coccinia indica* fruit mucilage extract as coagulant-flocculant for turbid water treatment. Journal of Pure and Applied Sciences 27–30.

Perez J., De La Rubia T., Ben Hamman O., and Martinez J., **1998**. Phanerochaete flavido-alba Laccase Induction and Modification of Manganese Peroxidase Isoenzyme Pattern in Decolorized Olive Oil Mill Wastewaters. Applied and Environmental Microbiology 2726–2729.

Q

Qiu, Y., Chen, Y., Pei, Y., Matsuda, H., Yoshikawa, M., **2003.** New constituents from the fresh stems of Opuntia dillenii. Journal Chinese Pharmaceutical Science 1–5.

Qiu, Y., Chen, Y., Pei, Y., Matsuda, H., Yoshikawa, M., **2002**. Constituents with Radical Scavenging Effect from Opuntia dillenii: Structures of New α-Pyrones and Flavonol Glycoside. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 50, 1507–1510. https://doi.org/10.1248/cpb.50.1507

R

Rachdi, R., Srarfi, F., Shimi, N.S., **2017**. Cactus *Opuntia* as natural flocculant for urban wastewater treatment. Water Science and Technology 76, 1875–1883. https://doi.org/10.2166/wst.2017.370

Ragnar, M., Lindgren, C.T., Nilvebrant, N.-O. **2000.** pKa -Values of Guaiacyl and Syringyl Phenols Related to Lignin. J Wood Chem Techn, 20:277–305.

Rani, G.U., Mishra, S., Pathak, G., Jha, U., Sen, G., **2013**. Synthesis and applications of poly (2-hydroxyethylmethacrylate) grafted agar: A microwave based approach. International Journal of Biological Macromolecules 61, 276–284. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.07.003

Rani, G.U., Mishra, S., Sen, G., Jha, U., **2012**. Polyacrylamide grafted Agar: Synthesis and applications of conventional and microwave assisted technique. Carbohydrate Polymers 90, 784–791. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.069

Rehm, B.H.A. (Ed.), **2009**. Alginates: Biology and Applications, Microbiology Monographs. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-92679-5

Renault, F., Sancey, B., Charles, J., Morin-Crini, N., Badot, P.-M., Winterton, P., Crini, G., **2009.** Chitosan flocculation of cardboard-mill secondary biological wastewater. Chemical Engineering Journal 155, 775–783. https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.09.023

Renou, S., Givaudan, J.G., Poulain, S., Dirassouyan, F., Moulin, P., **2008**. Landfill leachate treatment: Review and opportunity. Journal of Hazardous Materials 150, 468–493. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.077

Richardson, M., **1978**. Flavonols and C-glycosylflavonoids of the Caryophyllales. Biochem. System. Ecol. 283 – 286.

Rinaudo, M., **2006**. Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in Polymer Science 31, 603–632. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001

Robb CS, Geldart SE, Seelenbinder JA, Brown PR. **2002.** Analysis of green tea constituents by HPLC-FTIR. J Liq Chrom Related Techn, 25:787–801.

Rodrigues, A.C., Boroski, M., Shimada, N.S., Garcia, J.C., Nozaki, J., Hioka, N., **2008**. Treatment of paper pulp and paper mill wastewater by coagulation–flocculation followed by heterogeneous photocatalysis. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 194, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2007.07.007

Rodriguez-Felix, A., Cantwell, M., **1988**. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). Plant Foods for Human Nutrition 38, 83–93. https://doi.org/10.1007/BF01092314

Roig, A., Cayuela, M.L., Sánchez-Monedero, M.A., **2006**. An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. Waste Management 26, 960–969. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.07.024

S

Saikia, B.J., Parthasarathy, G., **2010**. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Characterization of Kaolinite from Assam and Meghalaya, Northeastern India. Journal of Modern Physics 01, 206–210. https://doi.org/10.4236/jmp.2010.14031

Salem, J. H.; Humeau, C.; Chevalot, I.; Harscoat-Schiavo, C.; Vanderesse, R.; Blanchard, F.; Fick, M. **2010.** Effect of Acyl Donor Chain Length on Isoquercitrin Acylation and Biological Activities of Corresponding Esters. *Process Biochemistry*, *45* (3), 382–389.

Sangyong Kim., Chulhwan Park., Tak-Hyun Kim., Jinwon Lee., Seung-Wook Kim., **2003.** COD reduction and decolorization of textile effluent using a combined process, Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol 95, Issue 1, pp 102-105.

Sanyano, N.; Chetpattananondh, P.; Chongkhong, S. **2013.** Coagulation–flocculation of Marine Chlorella Sp. for Biodiesel Production. *Bioresource Technology*, *147*, 471–476

Schweizer Marc, **1997**. Nopal le médecin du bon dieu.

Scioli, C., Vollaro, L., **1997**. The use of Yarrowia lipolytica to reduce pollution in olive mill wastewaters. Water Research 31, 2520–2524. https://doi.org/10.1016/S0043-1354

Šćiban Marina B., Mile T. Klašnja and Jelena Lj. Stojimirović, **2005**. Investigation of coagulation activity of natural coagulants from seeds of different leguminose species. Acta Period Technol 81–87.

Šćiban, M.; Klašnja, M.; Antov, M.; Škrbić, B. **2009.** Removal of Water Turbidity by Natural Coagulants Obtained from Chestnut and Acorn. *Bioresource Technology*, *100* (24), 6639–6643.

Sellami, M., Zarai, Z., Khadhraoui, M., Jdidi, N., Leduc, R., Ben Rebah, F., **2014**. Cactus juice as bioflocculant in the coagulation–flocculation process for industrial wastewater treatment: a comparative study with polyacrylamide. Water Science & Technology 70, 1175. https://doi.org/10.2166/wst.2014.328

Selcuk, H., **2005.** Decolorization and detoxification of textile wastewater by ozonation and coagulation processes. Dyes and Pigments 64, 217–222. https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2004.03.020

Sen, G., Ghosh, S., Jha, U., Pal, S., **2011.** Hydrolyzed polyacrylamide grafted carboxymethylstarch (Hyd. CMS-g-PAM): An efficient flocculant for the treatment of textile industry wastewater. Chemical Engineering Journal 171, 495–501. https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.04.016

Sen, G., Kumar, R., Ghosh, S., Pal, S., **2009**. A novel polymeric flocculant based on polyacrylamide grafted carboxymethylstarch. Carbohydrate Polymers 77, 822–831. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.03.007

Shahidi, F., Naczk, M., **2004**. Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press, Boca Raton, Fla.

Shak, K.P.Y., Wu, T.Y., **2015**. Optimized use of alum together with unmodified Cassia

obtusifolia seed gum as a coagulant aid in treatment of palm oil mill effluent under natural pH of wastewater. Industrial Crops and Products 76, 1169–1178. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.072

Shamsnejati, S., Chaibakhsh, N., Pendashteh, A.R., Hayeripour, S., **2015**. Mucilaginous seed of Ocimum basilicum as a natural coagulant for textile wastewater treatment. Industrial Crops and Products 69, 40–47. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.045

Shyh-Fang K, Chih-Hsaing L, Mon-Chun C. **2002**. Pre-oxidation and coagulation of textile wastewater by the Fenton process, *Chemosphere* ; 46:923-928.

Simon, S., Païro, B., Villain, M., D'Abzac, P., Van Hullebusch E., et Lens, P. **2009.** Evaluation of size exclusion chromatography (SEC) for the characterization of extracellular polymeric substances (EPS) in anaerobic granular sludges. Bioresource Technology. 100, 6258-6268.

Singh, R.P., Karmakar, G.P., Rath, S.K., Karmakar, N.C., Pandey, S.R., Tripathy, T., Panda, J., Kanan, K., Jain, S.K., Lan, N.T., **2000**. Biodegradable drag reducing agents and flocculants based on polysaccharides: Materials and applications. Polymer Engineering & Science 40, 46–60. https://doi.org/10.1002/pen.11138

Singh, R.P., Pal, S., Mal, D., **2006**. A High Performance Flocculating Agent and Viscosifiers Based On Cationic Guar Gum. Macromolecular Symposia 242, 227–234. https://doi.org/10.1002/masy.200651031

Singh, U.K., Kumar, M., Chauhan, R., Jha, P.K., Ramanathan, A., Subramanian, V., **2008.** Assessment of the impact of landfill on groundwater quality: A case study of the Pirana site in western India. Environmental Monitoring and Assessment 141, 309–321. https://doi.org/10.1007/s10661-007-9897-6

Sjöholm I, Stigbrand T. **1974.** Circular dichroism studies on the copper ligand structure of umecyanin by spectropolarimetric titration. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Prot Structure, 371:408–416.

Smaoui, Y., Mlaik, N., Bouzid, J., Sayadi, S., **2018**. Improvement of anaerobic digestion of landfill leachate by using coagulation-flocculation, Fenton's oxidation and air stripping

pretreatments. Environmental Progress & Sustainable Energy 37, 1041–1049. https://doi.org/10.1002/ep.12781

Song, Y., Zhang, J., Gan, W., Zhou, J., Zhang, L., **2010.** Flocculation Properties and Antimicrobial Activities of Quaternized Celluloses Synthesized in NaOH/Urea Aqueous Solution. Industrial & Engineering Chemistry Research 49, 1242–1246. https://doi.org/10.1021/ie9015057

Sonntag, R.C., Russel, W.B., **1986.** Structure and breakup of flocs subjected to fluid stresses. Journal of Colloid and Interface Science 113, 399–413. https://doi.org/10.1016/0021-9797 (86)90175-X

Sowmeyan R, Santhosh J, Latha R, **2011.** Effectiveness of herbs in community water treatment. International Research Journal Biochemistry Bioinformatic 297–303.

Stintzing, F.C., Carle, R., **2005.** Cactus stems (Opuntia spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. Molecular Nutrition & Food Research 49, 175–194. https://doi.org/10.1002/mnfr.200400071

Sun, B.; Ricardo-da-Silva, J. M.; Spranger, I. **1998.** Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46* (10), 4267–4274.

Suopajärvi, T., Koivuranta, E., Liimatainen, H., Niinimäki, J., **2014**. Flocculation of municipal wastewaters with anionic nanocelluloses: Influence of nanocellulose characteristics on floc morphology and strength. Journal of Environmental Chemical Engineering 2, 2005–2012. https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.08.023

Swathi, M., Sathya, S.A., Aravind, S., Ashi, S.P.K., Gobinath, R., Saranya, Devi D, **2014.** Experimental studies on tannery wastewater using Cactus powder as an adsorbent. International Journal Appl. Science Engineering Research 436–446.

Szyguła, A., Guibal, E., Palacín, M.A., Ruiz, M., Sastre, A.M., **2009**. Removal of an anionic dye (Acid Blue 92) by coagulation–flocculation using chitosan. Journal of Environmental Management 90, 2979–2986. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.04.002

T

Tardat-Henry, M., Beaudry, J.-P., Collège d'enseignement général et professionnel de Saint-Laurent, Québec (Province), Direction générale de l'enseignement collégial, **2000.** Chimie des eaux. Le Griffon d'argile, Sainte-Foy.

Tatzber M, Stemmer M, Spiegel H, Katzlberger C, Haberhauer G, Gerzabek MH. **2007.** An alternative method to measure carbonate in soils by FT-IR spectroscopy. Environ Chem Letters., 5:9–12.

Teh, C.Y., Wu, T.Y., Juan, J.C., **2014**. Potential use of rice starch in coagulation–flocculation process of agro-industrial wastewater: Treatment performance and flocs characterization. Ecological Engineering 71, 509–519. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.07.005

Teles, F. F. F., Whiting, F. M., Price, R. L., Brown, W. H., Reid, B. L., Wegner, T. N., Renuncio, E., **1994.** Prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) cactus as a source of vitamin. A. Rev. Ceres 396–406.

Teles, F.F.F., Stull, J.W., Brown, W.H., Whiting, F.M., **1984**. Amino and organic acids of the prickly pear cactus (Opuntia ficus indica L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 35, 421–425. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740350410

Thakre VB, Bhole AG, **1985**. Relative evaluation of a few natural coagulants. Journal of the Institution of Engineers : Environmental Engineering Division 89–92.

Thomas LC, Chittenden RA. **1964.** Characteristic infrared absorption frequencies of organophosphorus compounds—I.The phosphoryl (P=O) group. Spectrochim Acta, 20:467–487.

Tie, J., Jiang, M., Li, H., Zhang, S., Zhang, X., **2015**. A comparison between *Moringa oleifera* seed presscake extract and polyaluminum chloride in the removal of direct black 19 from synthetic wastewater. Industrial Crops and Products 74, 530–534. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.004

Torres, L.G., Carpinteyro-Urban, S.L., **2012**. Use of Prosopis laevigata Seed Gum and Opuntia ficus-indica Mucilage for the Treatment of Municipal Wastewaters by Coagulation-Flocculation. Natural Resources 03, 35–41. https://doi.org/10.4236/nr.2012.32006

Torres LG, Cadena G, Carpinteyro-Urbán S, Corzo LJ (2014) New Galactomannans and Mucilages with Coagulant-Flocculant Activity for an Environment Friendly Treatment of Wastewaters. Current Adv Environ Sci 2:52-58.

Tsao, R.; Yang, R.; Young, J. C.; Zhu, H. **2003.** Polyphenolic Profiles in Eight Apple Cultivars Using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51* (21), 6347–6353.

Tungjai M, Poompimon W, Chatchanok L, Kothan S. **2008.** Spectrophotometric Characterization of Behavior and the Predominant Species of Flavonoids in Physiological Buffer: Determination of Solubility, Lipophilicity and Anticancer Efficacy. The Open Drug Delivery, J 2:10–19.

V

van der Maarel, M. J. E. .; van der Veen, B.; Uitdehaag, J. C. .; Leemhuis, H.; Dijkhuizen, L. **2002.** Properties and Applications of Starch-Converting Enzymes of the α-Amylase Family. *Journal of Biotechnology*, *94* (2), 137–155.

Varsha Patale and Jay Pandya, **2012**. Mucilage extract of Coccinia indica fruit as coagulant-flocculent for turbid water treatment. Asian Journal of Plant Science and Research 442–445.

Včeláková K, Zusková I, Kenndler E, Gaš B. **2004.** Determination of cationic mobilities and pKa values of 22 amino acids by capillary zone electrophoresis. Electrophoresis, 25:309–317.

Venyaminov SY, Kalnin, NN. **1990.** Quantitative IR spectrophotometry of peptide compounds in water (H_2O) solutions. I. Spectral parameters of amino acid residue absorption bands. Biopolymers, 30:1243–1257.

Verma, A.K., Bhunia, P., Dash, R.R., **2012**. Supremacy of Magnesium Chloride for Decolourisation of Textile Wastewater: A Comparative Study on the Use of Different Coagulants. International Journal of Environmental Science and Development 118–123. https://doi.org/10.7763/IJESD.2012.V3.200

Verwey, E, J. W. & Overbeek, J. TH. G, **1948**. Theory of the Stability of Lyophohic Colloids, Elsevier.

Vishali, S., Karthikeyan, R., **2015.** *Cactus opuntia* (*ficus - indica*): an eco-friendly alternative

coagulant in the treatment of paint effluent. Desalination and Water Treatment 56, 1489–1497. https://doi.org/10.1080/19443994.2014.945487

Vlyssides A.G., Loizidou M., Gimouhopolous K. and Zorpas A., **1998**. Olive oil processing wastes production and their characteristics in relation to olive oil extraction methods. Fresenius enviromental bull. 308–313.

W

Wang, J.-P., Chen, Y.-Z., Ge, X.-W., Yu, H.-Q., **2007.** Optimization of coagulation–flocculation process for a paper-recycling wastewater treatment using response surface methodology. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 302, 204–210. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.02.023

Wang, J.-P., Chen, Y.-Z., Wang, Y., Yuan, S.-J., Yu, H.-Q., **2011**. Optimization of the coagulation-flocculation process for pulp mill wastewater treatment using a combination of uniform design and response surface methodology. Water Research 45, 5633–5640. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.023

Wang, J.-P., Chen, Y.-Z., Yuan, S.-J., Sheng, G.-P., Yu, H.-Q., **2009**. Synthesis and characterization of a novel cationic chitosan-based flocculant with a high water-solubility for pulp mill wastewater treatment. Water Research 43, 5267–5275. https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.08.040

Wang, J.-P., Chen, Y.-Z., Zhang, S.-J., Yu, H.-Q., **2008**. A chitosan-based flocculant prepared with gamma-irradiation-induced grafting. Bioresource Technology 99, 3397–3402. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.014

Wang, Z., Zhang, Z., Lin, Y., Deng, N., Tao, T., Zhuo, K., **2002**. Landfill leachate treatment by a coagulation–photooxidation process. Journal of Hazardous Materials 95, 153–159. https://doi.org/10.1016/S0304-3894(02)00116-4

Wong, S., Teng, T., Ahmad, A., Zuhairi, A., Najafpour, G., **2006**. Treatment of pulp and paper mill wastewater by polyacrylamide (PAM) in polymer induced flocculation. Journal of Hazardous Materials 135, 378–388. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.11.076

Wey R., **1954**. Sur l'adsorption de l'anion phosphorique par la montmorillonite. C.R. Ac. Sci.

Whey R., **1956**. - L'adsorption des anions par des minéraux argileux bien définis. Congo Int. Sei. Sol. 75–78.

Wiegner G., **1935**. Ionen Umtausch und Struktur. Congo Int. Sc. Sol. Oxford 5–28.

Wu, C., Wang, Y., Gao, B., Zhao, Y., Yue, Q., **2012**. Coagulation performance and floc characteristics of aluminum sulfate using sodium alginate as coagulant aid for synthetic dying wastewater treatment. Separation and Purification Technology 95, 180–187. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.05.009

Wu H, Liu Z, Li A. **2016.** Evaluation of chain architectures and charge properties of various starch-based flocculants for flocculation of humic acid from water. Water Res., 96:126-135.

X

Xu H., Allard B., and Grimvall A. **1988.** Influence of pH and organic substance on the adsorption of As (V) on geologic materials. *Water Air Soil Pollut*. 40th ed, pp 293–305.

Y

Yang, C., Mcgarrahan, J., **2005**. Electrochemical coagulation for textile effluent decolorization. Journal of Hazardous Materials 127, 40–47. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.05.050

Yang, Y., Li, Y., Zhang, Y., Liang, D., **2010**. Applying hybrid coagulants and polyacrylamide flocculants in the treatment of high-phosphorus hematite flotation wastewater (HHFW): Optimization through response surface methodology. Separation and Purification Technology 76, 72–78. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.09.023

Yang, Z., Shang, Y., Huang, X., Chen, Y., Lu, Y., Chen, A., Jiang, Y., Gu, W., Qian, X., Yang, H., Cheng, R., **2012a**. Cationic content effects of biodegradable amphoteric chitosan-based flocculants on the flocculation properties. Journal of Environmental Sciences 24, 1378–1385. https://doi.org/10.1016/S1001-0742 (11)60962-5

Yang, Z., Yuan, B., Huang, X., Zhou, J., Cai, J., Yang, H., Li, A., Cheng, R., **2012b**. Evaluation of the flocculation performance of carboxymethyl chitosan-graft-polyacrylamide, a novel

amphoteric chemically bonded composite flocculant. Water Research 46, 107–114. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.024

Yang, Z., Yang, H., Jiang, Z., Cai, T., Li, Haijiang, Li, Haibo, Li, A., Cheng, R., **2013**. Flocculation of both anionic and cationic dyes in aqueous solutions by the amphoteric grafting flocculant carboxymethyl chitosan-graft-polyacrylamide. Journal of Hazardous Materials 254–255, 36–45. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.03.053

Yin Chun Yang, Suhaimi bin Abdul Talib, Lim Ying Pei, Mohd. Safirun Nizan bin Ismail, Siti Nor Aisah bin AbdRazak, and Ahmad Mahyuddin bin Mohd. Mohtar, **2007.** Turbidity Removal from surface water and landfill leachate using cactus opuntia. Journal - The Institution of Engineers, Malaysia 61–64.

Yin, C.-Y., **2010.** Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment. Process Biochemistry 45, 1437–1444. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.05.030

Z

Zafar, M.S., Tausif, M., Mohsin, M., Ahmad, S.W., Zia-ul-Haq, M., **2015**. Potato Starch as a Coagulant for Dye Removal from Textile Wastewater. Water, Air, & Soil Pollution 226. https://doi.org/10.1007/s11270-015-2499-y

Zafra, A., Juarez, M., Blanc, R., Navalon, A., Gonzalez, J., Vilchez, J., **2006**. Determination of polyphenolic compounds in wastewater olive oil by gas chromatography–mass spectrometry. Talanta 70, 213–218. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.12.038

Zahari A., Tazi A., Azzi M., **2014.** Optimisation des conditions de traitement des margines par un superoxydant K3FexMnyO8 [Optimization of treatment conditions of Olive Oil Mill Wastewater by superoxidant K3FexMnyO8]. Journal Materials & Enviromental Science 484–489.

Zhang, J., Zhang, F., Luo, Y., Yang, H., **2006**. A preliminary study on cactus as coagulant in water treatment. Process Biochemistry 41, 730–733. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.08.016

Zhao, Y.X., Gao, B.Y., Wang, Y., Shon, H.K., Bo, X.W., Yue, Q.Y., **2012**. Coagulation performance and floc characteristics with polyaluminum chloride using sodium alginate as coagulant aid: A preliminary assessment. Chemical Engineering Journal 183, 387–394. https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.01.036

Zhbankov, R., Firsov, S., Buslov, D.., Nikonenko, N.., Marchewka, M.., Ratajczak, H., **2002.** Structural physico-chemistry of cellulose macromolecules. Vibrational spectra and structure of cellulose. Journal of Molecular Structure 614, 117–125. https://doi.org/10.1016/S0022-2860 (02)00252-1

Zhu, H., Zhang, Y., Yang, X., Shao, L., Zhang, X., Yao, J., **2016.** Polyacrylamide grafted cellulose as an eco-friendly flocculant: Key factors optimization of flocculation to surfactant effluent. Carbohydrate Polymers 135, 145–152. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.049

Zolfaghari, M., Dia, O., Klai, N., Drogui, P., Brar, S.K., Buelna, G., Dubé, R., **2018**. Removal of Pollutants in Different Landfill Leachate Treatment Processes on the Basis of Organic Matter Fractionation. Journal of Environment Quality 47, 297. https://doi.org/10.2134/jeq2017.09.0360

Zouboulis, A.I., Xiao-Li Chai, Katsoyiannis, I.A., **2004**. The application of bioflocculant for the removal of humic acids from stabilized landfill leachates. Journal of Environmental Management 70, 35–41. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2003.10.003

Zume, J.T., Tarhule, A., Christenson, S., **2006.** Subsurface Imaging of an Abandoned Solid Waste Landfill Site in Norman, Oklahoma. Groundwater Monitoring & Remediation 26, 62–69. https://doi.org/10.1111/j.1745-6592.2006.00066.x

Résumé :

Les biofloculants sont une alternative durable aux sels métalliques et aux polymères de synthèse pour le traitement des eaux par coagulation floculation (CF). La littérature a surtout décrit les paramètres optimaux pour l'application des matériaux biosourcés en CF. En étudiant deux exemples, Opuntia ficus indica, connu pour ses propriétés coagulantes et les margines, un déchet peu valorisable issu de la trituration des olives, nous proposons une méthodologie pour déterminer la nature des molécules actives et appréhender le mécanisme de CF impliqué. L'expérimentation a été menée sur un effluent synthétique à base de kaolinite. Les conditions optimales de CF, ont été déterminées par la méthode classique du jar test couplée à de la zétamètrie et de la microscopie. Pour les margines, les conditions optimales sont obtenues pour un pH de 11 et une dose d'extrait de 62.5 mg L^{-1}. La couleur des margines impose néanmoins l'utilisation de 50 mg L^{-1} de coagulant métallique ($Al_2 (SO_4)_3$). Nous avons ensuite basé notre étude sur une approche comparative de différentes fractions hydrosolubles en fonction du pH, dans les deux cas les molécules actives ont montré une solubilité maximale au pH optimal de CF. La détermination des pKa, la réalisation de dosages colorimétriques (protéine, sucres, polyphénols, tanin) et l'analyse infrarouge du matériel brut a permis d'envisager les familles de molécules impliquées (dans les deux cas, les tanins / flavonoïdes et les sucres). Des expériences de CF effectuées après digestions enzymatiques permet de confirmer l'identification des molécules impliquées dans le mécanisme. Ainsi la CF se fait par adsorption et pontage pour les deux matériaux. La faisabilité du traitement d'eaux résiduaires (industrie textile, lixiviat de décharge) par des extraits d'Opuntia ficus indica a été validé. Les tanins/ flavonoïdes et particulièrement la quercétine pour le cactus, s'adsorbent sur les colloïdes de l'effluent puis un polymère d'amidon (cactus) ou de cellulose (margine) permet la floculation par adsorption et pontage.

Mots clefs : Traitement des eaux, Biofloculant, Opuntia ficus indica, Margine, Tanin, Polymère glucidique, Modèle.

Abstract

Biofloculants represent a sustainable alternative to metal salts and to synthetic polymers for water treatment by coagulation flocculation (CF). The optimal parameters of biomatrerials applicated in CF were mainly described by literature data. Opuntia ficus indica, known for its flocculating properties and olive mill waste (OMW), which its reuse not deeply examined, were chosen in our study. A methodology was proposed in order to determine the nature of the active molecules and to better understand the involving mechanism in CF. The experiment was conducted on a synthetic water based on kaolinite. The optimal conditions of CF were determined by jar test coupled with zeta potential and microscopy. For OMW, the optimum conditions are obtained for a pH of 11 and an extract dose of 62.5 mg L^{-1}. The removal of OMW colors requires the use of 50 mg L^{-1} of a metal coagulant (Al_2 $(SO_4)_3$). Afterwards, our study was based on a comparative approach of different water-soluble fractions as function of pH. The active molecules showed a maximum solubility at the optimal pH of CF, in both cases. The characterization of the raw materials by pKa, colorimetric assays (proteins, sugars, polyphenols and tannins) and the infrared analysis allowed to determine the molecules involved in CF (In both cases, tannins / flavonoids and sugars). CF experiments performed after enzymatic approach confirm the identification of molecules involved in the mechanism and suggest that the two materials operate through an adsorption and bridging mechanism. The efficiency of wastewater treatment (textile industry, landfill leachate) by Opuntia ficus indica extracts has been validated. Tannins/ flavonoids and especially quercetin for cactus promotes a colloidal material destabilization (coagulant) through anion exchanges and bridges; otherwise, the starch (cactus) or cellulose (OMW) forms a large cross-linked polymeric network responsible for bridging.

Keywords: Wastewater treatment, Bioflocculant, Opuntia ficus indica, Olive mill waste, Tannin, Glucidic polymer, Model.