

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université AboubekrBelkaid – Tlemcen
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

ABDELLAOUI Amina & BENMANSOUR Radjaâ

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Nutrition & Pathologie

Thème

DOSAGE DES FLAVONOÏDES, EXTRACTION ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES DES ALCALOÏDES ET SAPONOSIDES DANS LES DECHETS OLEICOLES LIQUIDES

Soutenu le 30 Juin 2022, devant le jury composé de :

Présidente	Khaldi Darine	Maitre Assistante	Université de Tlemcen
Encadreur	Badid Naima	Maitre de Conférences	Université de Tlemcen
Examinatrice	Benhammou Belyagoubi Nabila	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021 – 2022

REMERCIEMENTS

On remercie dieu le plus puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminé ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pat aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de *M^{elle} BADID Naima*, Maitre de Conférences, à l'université de Tlemcen, on la remercie pour la qualité de sa encadrement exceptionnelle, pour sa patience malgré sa charge académique et professionnelle, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos sincères remerciements s'adressent également à :

M^{eme} KHALDI Darine , Maitre Assistante, à l'université de Tlemcen, pour nous avoir enseigné durant notre cursus et pour avoir accepté d'être le présidente de jury, et examiner notre travail.

M^{eme} BELYAGOUBI BENHAMMOU Nabila, Professeur, à l'université de Tlemcen, pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.

DÉDICACES

Premièrement, je remercie Allah le Tout-Puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage d'accomplir ce travail.

Je dédie cette œuvre : Mes chers parents Mon cher père Abdelkrim, Signe de fierté et d'honneur, cet ouvrage est à vous, vous trouverez ici toute mon affection et ma profonde reconnaissance pour toutes ces années de sacrifice pour moi.

Ma chère Maman *Sakina*,

Aucun mot n'exprimera jamais l'amour que j'ai pour toi. Ton amour, ta patience, tes encouragements et tes prières ont été pour moi la garantie du succès. J'espère que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et témoignage de ma profonde affection.

Ma douce sœur Kheira et son époux amine, mon petit prince Ilyess,
Mesfrères bien-aimés Mohammed, Abdelhadi et Moncef.

Et à toute la famille "Abdellaoui"

Ma chère copine mon binôme «Radjaa» qui a partagée avec moi les moments difficiles De ce travail et à tout sa famille « Benmansour »

Tous mes amis (es) sans exception et mes collègues de promo nutrition et pathologie 2022.

Amina

DÉDICACES

En premier lieu, nous remercions Allah le Tout-Puissant de nous recevoir ouvert les portes du savoir et qui sans lui ce travail ne serait jamais réalisé.

Je dédie cette œuvre humble et profonde à mes chers parents pour tous leurs sacrifices leur amour leur tendresse les accompagne tout au long de mes études.

A mes chères sœurs Nessrine, Wissem et mon frère Mohamed Abdelkarim de leur encouragement constant et de leur soutien moral.

A ma meilleure amie ma binôme « Amina » qui a partagée avec moi les moments difficiles et des bon souvenir de ce travail et à tout sa famille « Abdellaoui ».

Tous mes amis (es) sans exception et mes collègues de promo nutrition et pathologie 2022.

Radjaa

الملخص

الخطر الرئيسي على هذه الصناعة والزراعة هو المياه النباتية التي يتم إنتاجها أثناء عصر زيت الزيتون. تشكل هذه المخلفات الكبيرة مشكلة بيئية خطيرة في مناطق البحر الأبيض المتوسط. بالإضافة إلى ذلك، فإنها توفر مصادر واعدة للمركبات النشطة بيولوجيًا مثل الفلافونويد والقلويدات والصابونيات. تتضمن هذه الدراسة استخراج وجرعات الفلافونويد لتحديد نشاطها المضاد للأكسدة. تتضمن هذه الدراسة استخراج وقياس الفلافونويد و تقييم نشاطها المضاد للأكسدة. النتيجة المعبر عنها بشكل صحيح لاجمالي القدرة المضادة للأكسدة و الطاقة الاختزالية. تقييم النشاط المضاد للأكسدة في الصابونيسيدات . الغرض الرئيسي من هذا العمل هو استعادة مخلفات زيت الزيتون و اهدافها للتوصيف الفيزيائي-الكميائي

الكلمات المفتاحية: - بقايا الزيتون - المياه النباتية - المركبات الفلافونيدية - الكلويد و صابونيزدات - مضاد الاكسدة

RESUME

L'eau végétale qui résulte du processus de pressage de l'huile d'olive est le principal déchet dangereux de cette industrie et de l'agriculture. Ces grands résidus représentent un problème écologique majeur dans les régions méditerranéennes. D'autre part, ils offrent des sources prometteuses de composés bioactifs à savoir les flavonoïdes, alcaloïdes et saponosides. Cette étude consistait à doser les flavonoïdes, extraire les alcaloïdes et les saponosides et, évaluer leurs activités antioxydantes. Les résultats obtenus des analyses phytochimiques mettent en lumière une richesse dominante de ces eaux résiduaires en flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes.

Mots clés : Margine – les déchets oléicoles – flavonoïdes – alcaloïdes – saponosides – antioxydants ;

ABSTRACT

The main risk to this industry and agriculture is the plant-based water that is produced during the pressing of olive oil. These large residues pose a serious environmental issue in Mediterranean regions. This study consisted of measuring the flavonoids, extracting the alkaloids and saponosids and evaluating their antioxidant activities. The obtained results from the phytochemical analyzes highlight a dominant richness of olive mill waste waters in flavonoids, saponosids and alkaloids.

Key words: Margin - oleic acid waste- flavonoids - alkaloids – saponosids - anti-oxidants.

TABLES DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	I
LISTE DES TABLEAUX	II
LISTE DES FIGURES	III
LISTE DES PHOTOS.....	IV
INTRODUCTION GENERALE	1
MATERIELS & METHODES	10
1. Analyse phytochimique	11
1.2 Dosage des flavonoïdes	11
1.3.Extractions des alcaloïdes.....	11
1. 4. Extractions des saponosides	12
2. Étude de l'activité antioxydante	14
2.1 Capacité antioxydante totale (CAT).....	14
2.2 Test du piégeage du radical libre DPPH.....	14
2.3. Réduction de fer.....	15
DISCUSSION	16
CONCLUSION	19
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	21

LISTE DES ABREVIATIONS

AGS	: Acides gras saturés
RL	: Radicaux libres
OMWW	: Olive Mill Waste waters
C O I	: Conseil Oléicole International
D S A	: Direction des services agricoles
DPPH	: 2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyl
K	: Potassium
Mg	: Magnésium
Ca	: Calcium
Cl-	: Chlorure
PO₄³⁻	: Phosphate
SO₄²⁻	: Sulfates
Fe	: Fer
Cu	: Cuivre
Zn	: Zinc
Mn	: Manganèse
MeOH	Méthanol
AE	Acétat d'ethanol
ED	Eau distillé
Na₂CO₃	: Carbonates de sodium
FRAP	: Ferric Reducing Ability of Plasma
DMSO	Diméthylsulfoxyde

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Principales composantes des margines (LUTWIN et al. 1996)	4
Tableau 2. Composé minéraux des margines (SALEVEMINI, 1985).....	5
Tableau 3. Une classe de composés phénoliques (flavonoïdes) (BRUNETON.,1999 ;	7

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Les différentes opérations d'extraction d'huile d'olives.	3
Figure 2. Les étapes d'extraction des saponosides et des alcaloides	13

LISTE DES PHOTOS

Photo	Titre	P.
Photo 1 :	Evaporateur rotatif.....	15

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le patrimoine oléicole mondial compte actuellement environ 750 millions d'oliviers cultivés sur une superficie de 9,23 millions d'hectares. Les pays méditerranéens comptent 715 millions d'oliviers sur une superficie d'environ 8.16 millions d'hectares, soit 95 % du patrimoine oléicole mondial (EL HAJJOUJI, 2007 ; FIORENTINO *et al* ,2003).L'olivier dont l'espèce *Olea europaea L.* est un arbre qui peuple essentiellement les pays du bassin méditerranéen. Depuis longtemps, son fruit était considéré comme une richesse naturelle pour ses nombreuses utilisations, y compris l'utilisation de son huile comme aliment et alicament pour de nombreuses maladies telles que la dermatologie, les maladies cardiovasculaires, la tension artérielle, les cancers, le diabète, l'obésité, le vieillissement, les troubles de l'appareil digestif et le système immunitaire, ect. Le principal objectif de la culture d'olivier c'est la production d'huile d'olives. Le principe de base d'extraction d'huile d'olives reste toujours le même, même si ses méthodes ont évolué. L'oléiculture en Algérie se caractérise plus spécialement par sa diversité variétale, par le nombre d'huileries qui dépasse les 1600 huileries ; la région de Tlemcen à elle seule, comporte 31 huileries (D.S.A., 2021) exploitant les variétés « *chemlal, sigoise et arbicana* ».

Avec le développement du secteur oléicole, les systèmes traditionnels discontinus (lavage des olives, broyage mécanique, malaxage) sont actuellement remplacés par des équipements modernes. Ce perfectionnement permet d'extraire l'huile en continue à travers des phases successives et la séparation par centrifugation de l'huile des eaux de végétation. (FRANCESCO, 1993). Trois systèmes d'extraction sont à présent utilisés (Figure 01) : procédés discontinus ou systèmes à presses et procédés continus ou systèmes à centrifugation. Ce dernier se déroule soit selon un procédé continu à trois phases ou en un procédé continu à deux phases (MORILLO *et al* 2009).

La technologie oléicole, génère des sous-produits issus de l'extraction de l'huile d'olive longtemps négligés et rejetés dans la nature non traités: un solide appelé grignon et l'autre liquide appelé margine (NEFZAOUI ,1991).

- Grignons ou tourteaux d'olive : sont des déchets solides issus de la première pression ou centrifugation, ils sont formés des pulpes et des noyaux d'olives. Ce produit peut être transformé en un produit destiné à l'alimentation animale (CHIFALO *et al* 2004 ; MARTIN-GARCIA *et al* ,2003).
- Les margines sont les effluents liquides résiduels (RAMOS-CORMENZANA *et al.*, 1995). Noter que le pressage de 1 tonne d'olives produit en moyenne 1,5 tonnes de margines avec les modes de production modernes (BENYAHIA *et al.*, 2003)

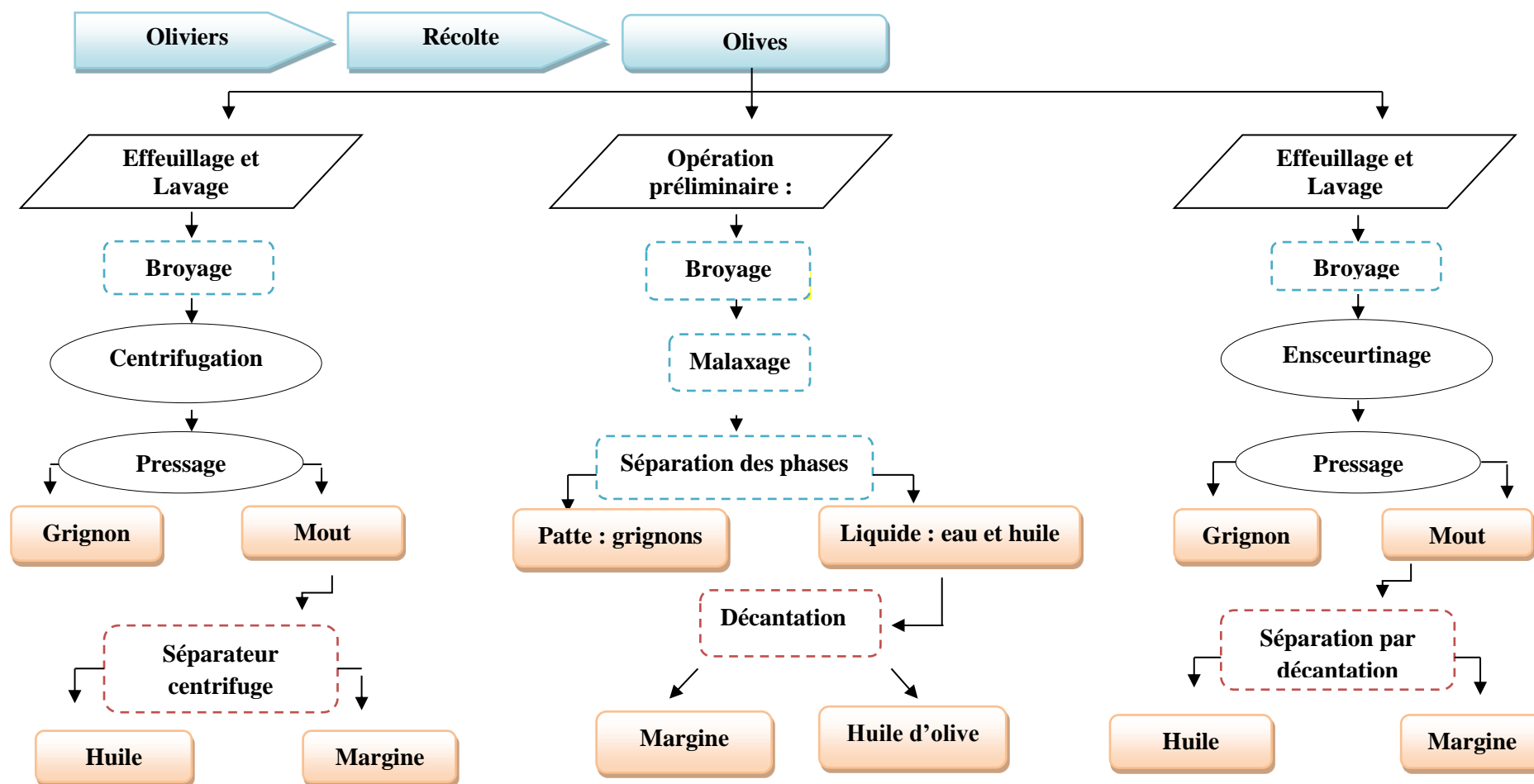


Figure 1. Les différentes opérations d'extraction d'huile d'olives.

Ces dernières années, des recherches élaborées tendent à étudier et/ou à valoriser ces coproduits dans le but principal est de minimiser la pollution de l'environnement ; mais aussi d'en rechercher des molécules d'intérêt biologique. Se basant sur l'état actuel du sujet des technologies oléicoles, l'opération d'extraction des huiles nécessite de grandes quantités d'eau, par conséquent cette industrie engendre d'importantes quantités d'effluents liquides (les margines). Les margines, ou eaux de végétation, sont des rejets liquides très riches en matières organiques (composés phénoliques, lipides), souvent répandues en l'état dans la nature, de manière incontrôlée sur les sols agricoles ou parfois stockées provisoirement dans des cuves, exposant ainsi les systèmes eau-sol-plante, à une pollution inéluctable. Différents traitements d'épuration leurs sont appliqués : biologiques, physiques chimiques. Coûteux et encore insuffisants, ces traitements consistent tous à réduire leur impact sur l'environnement (**ARDA *et al.*, 2010 ; KAVVADIS *et al.*, 2010**). Dans le souci de réduire les coûts des différents traitements appliqués aux margines et de rationaliser la gestion de leurs rejets, beaucoup de recherches ont établi des essais de valorisation de ces rejets dans divers domaines à savoir dans le compostage, en agriculture et même dans l'industrie pharmaceutique (**BENHAOUN et LAZZERI, 2007**). Il faut souligner que les installations modernes présentent des inconvénients dus essentiellement à la forte consommation d'eau chaude, dont le volume peut parfois être supérieur à celui des olives utilisées, cela se traduit par une augmentation de la production de margine. Ces dernières sont constituées principalement par l'eau que rejettent les fruits d'oliviers lors de l'extraction de l'huile, caractérisées par un aspect noirâtre. Au total, 100 Kg d'olives peuvent produire 50 litres de margine par centrifugation et environ 10 litres par la pression classique (**MARTIN *et al.*, 1991**). La composition de la margine a été étudiée par de nombreux chercheurs et comprend environ 83 à 94% de matières organiques et 0,4 à 2,5% de substances minérales (**Tableau 01**) (**RAMOS-CORMENZANA, 1986 ; RANALLI, 1991**). La fraction minérale a été analysée de façon approfondie et résumée dans le **tableau 02** (**SALEVEMINI, 1985**).

Tableau 1. Principales composantes des margines (LUTWIN et al. 1996)

Composant	% en poids de la matière fraîche
Matière sèche	1,4-17
Sucres divers	30-50
Graisses et huiles diverses	12-35
Azote organique	5,0-25
Azote organique	<10%

Tableau 2. Composé minéraux des margines (SALEVEMINI, 1985)

ÉLÉMENTS	Concentration (mg /l)
Phosphors (P042-)	800,6
Chlore (Cl-)	270,2
Sulfate (S042 -)	16,68
Sodium	5370,9
Potassium	15295,5
Calcium	1167,6
Magnesium	410, 3
Fer	103,4
Aluminium	8,34
Chrome	0,66
Nickel	3,36
Cobalt	1,33
Manganèse	1,66
Cadmium	0,83
Oxyde de silicium (SiO2	41,7
Zinc	10,0

Les grignons ne posent pas de difficultés environnementales particulières et sont actuellement encours de différents itinéraires d'utilisation et de mise à niveau, notamment : la production de charbon et de bois, et l'exploitation possible des copeaux de bois à des fins de production de pâte (JARDAK, 1999). D'autre part, les margines présentent une forte concentration de polyphénols et de matière organique (CAMURATI *et al.*, 1984). Une fois relâchées sans traitement préalable, ces margines affectent négativement l'environnement, grâce à leur capacité à inhiber le développement des plantes et de certains microorganismes (FILIDEI *et al.*, 2003). On peut citer :

- *Pollution des eaux* : Les margines sont le plus souvent relâchées dans les récepteurs, les cours d'eau, sans contrôle préalable et compromettant sérieusement la qualité de ces eaux de surface ; une charge élevée de matière organique empêche ces eaux de l'auto-purification et la pollution peut parcourir de très grandes distances (MERBIRUK *et al.*, 2002).
- *Pollution des sols* : L'acidité élevée des margines a des effets néfastes sur le sol et ses constituants. La microflore bactérienne du sol peut être détruite par l'acidification de

l'environnement. En outre, la viscosité des margines conduit à la formation d'un dépôt huileux qui fait que le sol est imperméabilisé en premier lieu et son asphyxie par la suite (**CADILLON, 1991**).

- *Pollution de l'air* : Les mauvaises odeurs posent des problèmes de pollution de l'air par le haut taux d'ammoniacque et d'autres gaz produits lors du traitement de ces effluents (**MECHICHI et SAYADI, 2005 ; LACOMELLI, 2000**). Il en résulterait une pollution atmosphérique importante en raison de la fermentation anaérobie et de la production gazeuse (méthane) (**FUNG, 1997**).

De nombreux traitements et d'exploitation des margines sont en cours d'essais, à titre d'exemple :

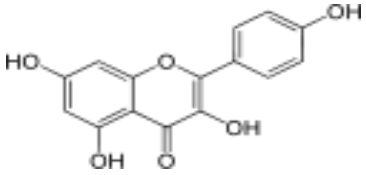
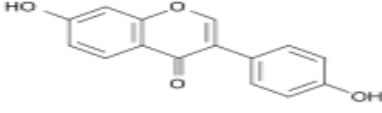
- *Biodégradation normale des margines dans les étangs ouverts* : Ce processus d'évacuation consiste à accumuler les margines dans les réservoirs de sorte qu'ils s'évaporent et donc éviter leur libération dans la nature. Le désavantage de ce mode d'évacuation est qu'en tentant d'éviter la pollution de l'eau, nous risquons de causer une pollution de l'environnement en raison des problèmes de manque d'esthétisme et les mauvaises odeurs causées par les étangs d'évaporation.

- *Usage des margines comme fertilisant* : Grâce à leur teneur élevée en minéraux, les margines peuvent être utilisées comme engrais (**FIESTAS, 1982**), l'utilisation des margines n'est pas sans risque : salinité, acidité élevée, effet phytotoxique (**NEFZAOU, 1991**).

- *Valorisation par récupération de quelques composants* : L'expérience dans ce secteur est récente. Il s'agit, de particulier de la récupération des composants aromatiques et phénoliques dont l'intérêt biologique est très recherché. On citera :

- *Les flavonoïdes* : sont à l'origine de l'apparition de pigments jaunes, orange et rouges de divers organes végétaux. Elles sont caractérisées par la présence d'un noyau aromatique et ont une structure générale en C6-C3-C6, composées de deux cycles benzoïques reliés par un cycle pyronique (**HAKKINE, 2000**). Ceux-ci sont associés aux sucres, à quelques exceptions près, comme les flavanes. Ce groupe est représenté par plusieurs sous-catégories, notamment les flavones (lutéoline, apigénine et leurs glucosides), les flavanols (rutine, quercétine), les anthocyanes (cyanidine-3-O- glucosides) et les flavanones (**Tableau 03**) (**HARBORNE et al., 1998**). Cette classe chimique est utilisée pour des bénéfices spécifiques (**Tableau 04**)

Tableau 3. Une classe de composés phénoliques (flavonoïdes) (BRUNETON.,1999 ;

Squelettes Carbonées	Classes	Exemple	Structures chimiques
- C ₆ -C ₃ -C ₆	-Flavonoïdes -Flavonols -Anthocyanes -Flavanones	-Kaempférol	
	Isoflavonoïdes	-Daidzéine	

Les flavonoïdes peuvent agir de diverses manières dans les processus réglementaires de Stress oxydatif (COTELLE 2001, NIJVELDT 2001, PETERSON AND DWYER 1998): par captage directe des radicaux, en chélatant des métaux de transition tels que le fer (ce qui empêche la réaction de Fenton) ainsi qu'en inhibant l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives d'oxygène (ERO).

Toutefois, les flavonoïdes se comportent probablement comme des prooxydantset engendrer une altération des protéines, de l'ADN ou encore des lipides membranaires et des Glucides (VAN DER WOUDE *et al.*, 2005, OIKAWA *et al.*, 2001, GALATI *et al.*, 2001).

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (FAVIER, 2003)

L'activité antioxydante de ces molécules est principalement basée sur la présence d'un grand nombre de liaisons doubles conjuguées dans leur structure (MORTENSEN *et al.*, 2001) par trois mécanismes, à savoir : ils interagissent avec des radicaux libres ($ROO\cdot$) par abstraction d'hydrogène, transfert d'électron et addition du radical (EL-AGAMEY *et al.*, 2004). Leur fonction comme antioxydants dans les espèces végétales est responsable de leur potentiel antioxydant dans les aliments (VAN DEN BERG *et al.*, 2000).

- *Les alcaloïdes* : Les alcaloïdes sont des composés azotés élémentaires qui sont extraits soit dans l'eau acide, soit dans des solvants tels que le chloroforme après alcalisation. Ils précipitent habituellement avec des réactifs iodométriques (réactif Dragendorff) et sont très souvent biologiquement actifs. Il existe des molécules telles que la quinine (anti-malaria), les médicaments (cocaïne), les anticancéreux (vincristine et taxol), les molécules utilisées comme poisons (strychnine) et les stimulants (caféine). La plupart des alcaloïdes naturels proviennent de plantes (GAVOT, 2009). Cette famille de métabolites secondaires a été étudiée en particulier pour les questions médicales et économiques associées. Leurs actions biologiques les mettent aussi au cœur des phénomènes d'interactions défensives face aux pressions biotiques (herbivores, micro-organismes). L'amertume est une caractéristique anti-nutritionnelle qui caractérise généralement les alcaloïdes. On distingue habituellement les éléments suivants : les alcaloïdes vrais, les proto-alcaloïdes, les pseudo-alcaloïdes.

• *Les saponosides* : Les saponosides (ou saponines) sont des hétérosides à géninestéroïdique ou triterpénique, caractérisés principalement par leurs propriétés tensioactives. Ces propriétés se traduisent notamment par la formation de mousse par agitation dans l'eau (pouvoir aphrogène). L'amphiphilie des saponosides explique leurs interactions avec les membranes et leurs éventuelles propriétés anticancéreuses et hypocholestérolémiantes (LORENT *et al.* 2014).

Le but principal de ce travail concerne la valorisation des déchets oléicoles liquides dont les objectifs ciblent :

- La caractérisation physicochimique des margines (cendres, pH.)
- L'identification des flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes dans les margines.
- L'évaluation de leurs propriétés biologiques à savoir la capacité antioxydante totale, la réduction du fer et le test de piégeage du radical libre DPPH.

Ce travail est subdivisé en cinq chapitres : une introduction générale comportant l'état actuel su sujet, ensuite la méthodologie du travail expérimental, les résultats obtenus et interprétation, la discussion des résultats et enfin la conclusion.

MATERIELS & METHODES

1. Échantillonnage

La margine utilisée dans cette expérimentation provient d'huilerie de Ouzidane située dans la région de « Tlemcen » lors de la campagne oléicole 2020/2021, (un procédé d'extraction moderne de centrifugation à 3 phases est utilisé). Une fois au laboratoire, les margines réceptionnées à l'état liquide ont été stockées au frais (4°C) jusqu'au moment de l'emploi pour éviter l'auto-oxydation d'échantillon et la polymérisation des composés phénoliques. En raison de sa forte teneur en humidité, le sous-produit liquide d'olive subit une étape préliminaire de séchage dans une étuve à $35 \pm 30^\circ\text{C}$. La margine obtenue est notée ci-après par MG séchée.



Photo 1 : Margine déshydratée (séchée)



Photo 2 : Margine brute

2. Analyse phytochimique

2.1 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est déterminé en utilisant la technique de **ZHISHEN** et al., (1999). Le principe de dosage est le suivant.

- ❖ Un volume de 1ml d'extrait dilué avec 1ml de solvant spécifique pour chaque fraction liquide et 1mg dissocié dans 1ml de solvant spécifique pour les phases solides (préparation de solution mère).

- ❖ Une quantité de 500µl de solution mère d'extrait mélangée avec 1500µl d'ED, puis 150µl de nitrite de sodium (NaNO_2) à 5%. Après 5min,

- ❖ 150µl de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% est ajouté à la solution. Après 6min d'incubation à la température ambiante, 500µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est ajouté. Finalement, le mélange est agité avec un vortex pour homogénéiser le contenu des tubes à hémolyses. La lecture est déterminée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.2 .Extractions des alcaloïdes

Une quantité de 10g de margine déshydratée bien mélangée dans 200ml d'éthanol/eau distillée. L'échantillon à analyser est préparé par ultrasons pendant 15min à température de 30°C . Les

ultrasons permettent de fragmenter les solides pour accélérer leur solubilisation ou perturber la membrane des cellules de façon non destructive pour en libérer le contenu, facilitant la préparation des analytes. Le mélange est ensuite filtré et évaporé à sec. L'extrait qui résulte est solubilisé dans 100ml de HCl (2M). Une filtration du nouveau mélange est réalisée ou le reste obtenu dans le papier filtre Wattman est lavé avec l'acétone (phase A). Le mélange subit une délipidation avec l'hexane dans une ampoule à décanté (répétée 2 fois) pendant 30min, suivi par une séparation des phases hexanique (phase B) et celle aqueuse. La phase aqueuse est mélangée avec le NH₄OH à 25% jusqu'à le pH 10, suivi de l'ajout de chloroforme (v/v) et est décantée pendant 30min (répétée 2 fois). Enfin, on procède à la séparation du mélange résultant en 2 phases : phase chloroforme notée C et phase aqueuse notée « D ». Les phases obtenues sont concentrées à sec à l'évaporateur rotatif. Puis récupérées pour les analyses relatives aux différentes activités à savoir : la CAT, le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (**Figure 02**).

2.3 Extractions des saponosides

On procède à une délipidation (v/v) par hexane d'un volume 100ml des margines brutes (margine liquide), répétée deux fois, ensuite on réalise une séparation des phases : phase hexanique et phase aqueuse. La phase aqueuse est mélangée avec le MeOH (v/v), suivie par un traitement aux ultrasons (15min ; 30Hz) et une macération pendant 24h. Le mélange est filtré ensuite la phase MeOH est évaporée. L'extrait résultant de l'évaporation est solubilisé dans 100ml de MeOH ensuite additionné par 100ml d'acétone froid (précipitation des saponosides) (**Figure 02**).

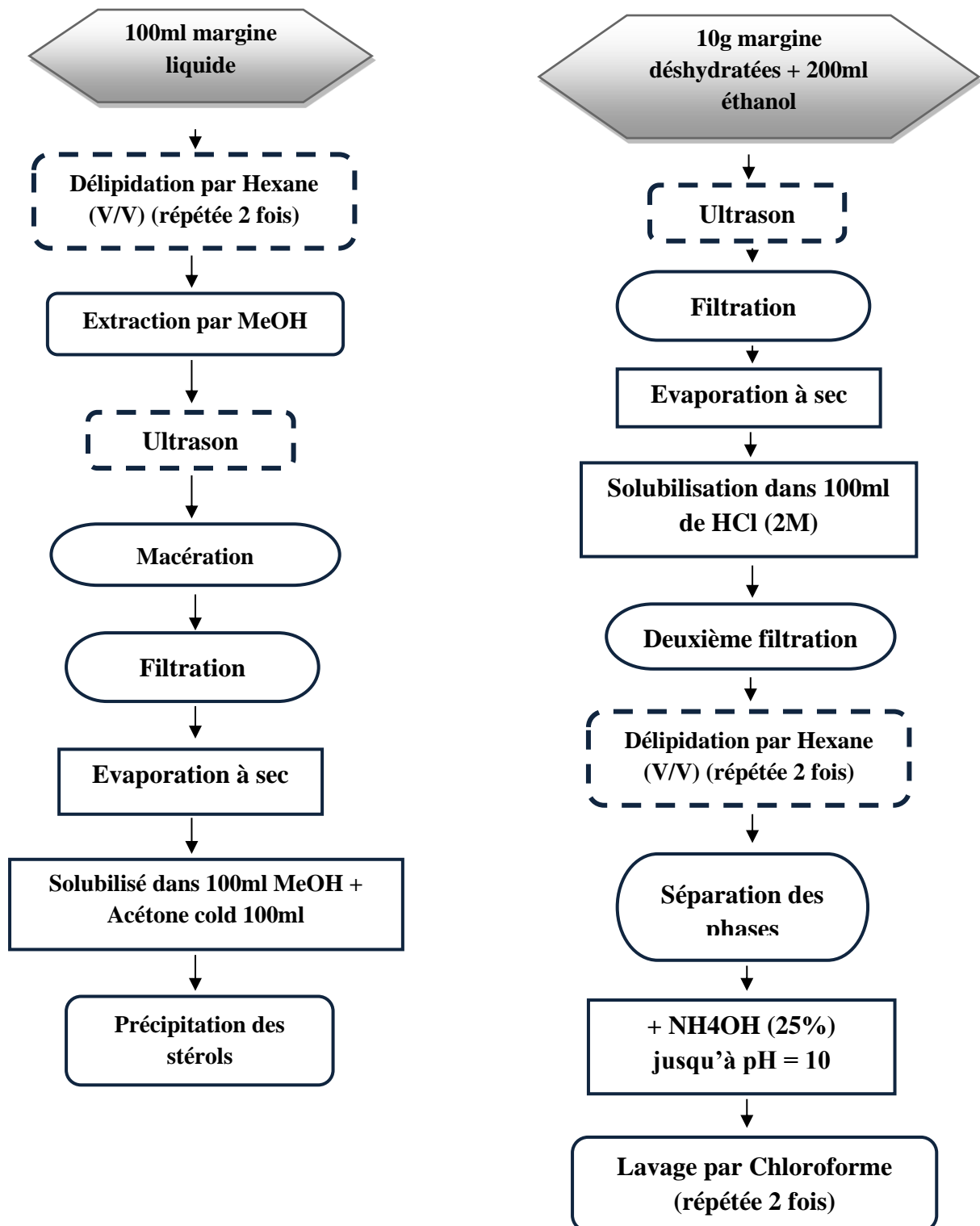


Figure 02. Les étapes d'extraction des saponosides et les alcaloïdes.

Remarque : Toutes les phases passent par l'évaporation au rotavapor (Evaporateur rotatif) (**Photo 01**).



Photo 01. Evaporateur rotatif

3. Étude de l'activité antioxydante

3.1 Capacité antioxydante totale (CAT)

La méthode de phosphomolybdène de **PRIETO et al. (1999)** a été effectuée pour examiner et déterminer quantitativement de la CAT de la margine.

Un volume de 300 μL de l'extrait dilué a été ajouté à 3 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0.6M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes ont été fermés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre le blanc incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide ascorbique comme standard. Les scores de la CAT sont exprimés en (mg) équivalents d'acide ascorbique par (g) de matière sèche (mg EAA/g MS).

3.2 Test du piégeage du radical libre DPPH

La préparation de la DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est effectuée par la dissolution de 0.25 mg du DPPH dans 1 ml d'éthanol. La préparation est gardée à l'abri de la lumière.

Un volume de 50 μL de l'extrait est ajouté à 1950 μL de la solution éthanolique du DPPH nouvellement préparée. Après incubation à l'abri de la lumière pendant 30 min et à la température ambiante. La lecture des absorbances est effectuée à 515 nm dont l'acide

ascorbique est utilisé comme standard antioxydant. En ce qui concerne la préparation du contrôle négatif, 50 μ L d'éthanol et 1950 μ L de la solution éthanolique du DPPH sont mélangés. Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH sont calculés à partir de la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (I \%)} = [(AC - AE) / AC] \times 100.$$

AC : exprime l'absorbance du contrôle négatif

AE : représente l'absorbance de l'échantillon.

3.3. Réduction de fer

Le pouvoir réducteur de l'échantillon a été déterminé selon la méthode d'**OYAIZU (1986)**. 1250 μ L d'une solution tampon (0.2 M, pH=6.6) est ajouté à 500 μ L de chaque dilution, suivi par l'addition de 1250 μ L de solution du ferricyanure de potassium [1% K₃[Fe (CN)₆]. Après une incubation à 50°C du mélange pendant 30 min, on rajoute 1250 μ L d'acide trichloroacétique à 10 %. Une centrifugation à 3000 t/min a été réalisée pendant 10 min. Par la suite, on rajoute 1250 μ L du surnagent mélangé avec 125 μ L de l'eau distillée et 250 μ L de solution FeCl₃ (à 0.1%) depuis peu préparée. L'absorbance a été déterminée à 700 nm dont l'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif. L'augmentation de l'absorbance dans le terrain indique l'augmentation de la réduction de fer.

La concentration EC₅₀, indiquée comme la concentration des antioxydants nécessaires à la réduction de 50% de la concentration primaire du ferricyanure de potassium, est un indice utilisé pour comparer le pouvoir réducteur de l'extrait par rapport au standard.

4. Etude statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne arithmétique des valeurs individuelles suivie par la valeur de l'écart-type.

DISCUSSION

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des déchets oléicoles spécifiquement les margines. L'étude est réalisée selon deux axes : Identification des flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes dans les déchets oléicoles liquides, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques.

Les résultats obtenus des analyses phytochimiques mettent en lumière une richesse dominante de ces eaux résiduaires en Flavonoïdes, Saponosides et Alcaloïdes avec des valeurs respectives de 407,08mgEQ/g MS, 94.001mgEQ/g MS. Pour les activités anti-oxydantes, la fraction d'acétate d'éthyle reflète le pouvoir extracteur le plus puissant comparé aux autres solvants. Par ailleurs, les données de l'extraction 4 ont montré que la sonification suivie d'une acidification et la séparation ultérieure soulignait la meilleure méthode pour la récupération des composés phénoliques. En ce qui concerne les activités réalisées sur les extraits, la fraction acétate d'éthyle a révélé une CAT de 232.65 ± 157.82 mg EAG/ g MS et un pouvoir réducteur plus élevé que celui des autres extraits (n-butanol et méthanol) avec des concentrations EC50 à raison de 1.32 ± 0.68 mg/ml, 1.43 ± 0.46 mg/ml et 2.12 ± 4.03 mg/ml respectivement. Le potentiel de piégeage du radical libre DPPH s'est révélé très élevé dans toutes les fractions avec un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 91.47 ± 75.56 %, 90.12 ± 83.49 % et 94.03 ± 86.21 % pour l'acétate d'éthyle, le n-butanol et le méthanol respectivement et $135,182 \pm 39,223$ mg EAG/g MS, $167,067 \pm 1.262$ mg EAG/g MS pour les alcaloïdes et saponosides respectivement.

Il est à signaler que les caractéristiques phytochimiques des flavonoides, alcaloïdes et saponosides présents dans les eaux résiduaires oléicoles peuvent être exploitées dans divers domaines tels que les sciences biologiques et médicales, la pharmaceutique et la santé, l'agro-alimentaire,.... Par ailleurs, la récupération de ces molécules bioactives joue un rôle important dans la lutte contre la pollution de l'environnement.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des déchets oléicoles spécifiquement les margines. L'étude est réalisée selon deux axes : Identification des flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes dans les déchets oléicoles liquides, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques.

Les résultats obtenus des analyses phytochimiques mettent en lumière une richesse dominante de ces eaux résiduaires en flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes. Pour les activités antioxydantes, la fraction acétate d'éthyle reflète le pouvoir extracteur le plus puissant comparé aux autres solvants. Par ailleurs, les données de l'extraction 4 ont montré la meilleure méthode pour la récupération des composés phénoliques. En ce qui concerne les activités réalisées sur les extraits, la fraction acétate d'éthyle a révélé une CAT avec un pouvoir réducteur plus élevé que celui des autres extraits. Le potentiel de piégeage du radical libre DPPH a révélé des données intéressantes quant à l'activité de piégeage du radical suscité par les alcaloïdes et les saponosides.

Il est à signaler que les caractéristiques phytochimiques des flavonoïdes, alcaloïdes et saponosides présents dans les eaux résiduaires oléicoles peuvent être exploitées dans divers domaines tels que les sciences biologiques et médicales, la pharmaceutique et la santé, l'agro-alimentaire, etc. Par ailleurs, la récupération de ces molécules bioactives joue un rôle important dans la lutte contre la pollution de l'environnement.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les déchets oléicoles liquides appelés « margines » présentent une source polluante d'environnement. Ces déchets issus de la production de l'huile d'olive présentent des difficultés dans leur traitement et/ou recyclage vue leur richesse en matières organiques ; pour cela, des stratégies de valorisation s'imposent.

L'objectif principal confié par La présente étude porte sur l'analyse phytochimique des margines et exploitation de leurs propriétés biologiques, notamment l'activité des antioxydants. Nos extractions ont révélé la présence de métabolites secondaires qui contiennent des flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes qui ont un pouvoir antioxydant significatif.

Ces résultats orientent vers une méthodologie de minimisation du risque lié à l'aspect polluant des margines en les utilisant dans différents secteurs à savoir sont : secteur médical, secteur pharmaceutique, cosmétiques, etc.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AISSAM H.,(2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat national. Université sidi mohamed ben abdellah. Fes. 156p.
- ARDA Y., NAZLI B. P., SEMRA Y .T. (2010).** Performance evaluation on the treatment of olive mill waste water in vertical subsurface flow constructed wetlands. *Desalination*, 262 :209–214.
- ARTS I.C., HOLLMAN P.C., FESKENS E.J. (2001).** Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Am J Clin Nutr*, 74, 227-232.
- BENHAOUN G., LAZZERI YVETTE. (2007).** L'olivier en Méditerranée: du symbole à l'économie. édition L'harmattan, 33p.
- BENYAHIA N., ZEIN K.(2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et Bioremediation of Alpechin. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 249-268.
- BRUNETONJ., (1999).** Pharmacogénosie (Photochimie plantes médicinales) 3e Ed : Paris, France.
- CADILLON M., LACASSIN J.C., (1991).** La valorisation agronomique des margines. Société du Canal de Provence et d'Aménagement de la Région Provençal, France, 1991, 10 p.
- CAMURATI,F.,LANZANI ,A.,ARPINO ,A.,RUFFO,C. ,&FEDELI,E.,(1984).** Le acque di vegetazione dalla lavorazione delle olive : tecnologia ed economia di recupero di sottoprodotti. "vegetation water from olive processing :Technologie and economical aspects in the recovery of by-products". *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 61 (LXI)(4) , 283-292.
- CHIMI H., (1997)** Sous-produits de la transformation des olives: possibilités de valorisation et de traitement des margines. Cours international sur l'amélioration de la qualité de l'huile d'olive. 30-11.
- CHIOFALO B., LIOTTA L. ZUMBO A., CHIOFALO V.(2004).** Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research*, 55 : 169–176.
- CUSHINE T.TP., LAMB A.J., (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. antimicrob. Ag.*, 26, 343-356.
- EL HAJJOUJI H.(2007).** Evolution des caractéristiques physico-chimiques, spectroscopiques et écotoxicologiques des effluents d'huileries d'olive au cours de traitements biologique et chimique. Thèse de doctorat. Université de Marrakech. 148p.
- FIESTAS ROS DE URSINOS J.A., (1981).** Différentes utilisations des margines. Actes du Séminaire.De l'environnement dans le secteur oléicole en Italie. *Olivae*, 47: 15-20.
- FILIDEI S., G. MASCIANDRO ET B. CECCANTI., (2003).** Anaerobic digestion of olive oil mill effluents: Evaluation of wastewater, the organic load and phytotoxicity reduction. *Water, Air Soil Pollut.* 145, 79-94.
- FIorentino A., Gentili A., ISIDORI M., MONACO P., NARDELLI A., PARRELLA A., TEMUSSI F.(2003).** Environmental effects caused by olive mill Waste waters : toxicity comparison of low-molecular-weight phenol Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 :1005–1009.
- FRANCESCO G.L. (1993).** Evaluations économiques sur l'innovation technologique. Les problèmes
- GAVOT A., (2009).** Support des cours sur les métabolites secondaires. Université de Rennes 1- L2. U2 PHR.
- HARBORNE, J.B., (1998)** Textbook of Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 5th Edition, Chapman and Hall Ltd, London, 21-72.

- HARWOOD, JA. AND APARICIO, R., (2000).** Handbook of olive oil: Analysis and properties Aspen Publication, Inc., Gaithersburg, 17-59.
- HIRANO R., SASAMOTO W., MATSUMOTO A., ITAKURA H., IGARASHI O., KONDO K., (2008)** Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *J. Nutr Sci Vitaminol.*, 47, 357-362.
- HOOPER L., KROON P.A., RIMM E.B., COHN J.S., HARVEY I., LE CORNU K.A., RYDER J.J., HALL W.L., CASSIDY A., (2008).** Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 88, 38-50.
- JARDAK T. (1999).** Le secteur oléicole en Tunisie: Potentiel, contraintes et perspectives. The olive oil wastes Remediation Symposium. Sfax, Tunisia. 46-51.
- KAVVADIAS V., DOULA M.K., KOMNITSAS K., LIAKOPOULOU N.(2010).** Disposal of olive oil mill wastes in evaporation ponds: Effects on soil properties. *Journal of Hazardous Materials*, 182 : 144–155.
- KOSMIDER B., OSIECKA R. (2004).** Flavonoid Compounds: A Review of Anticancer Properties and Interactions with cis-Diamminedichloroplatinum (II). *Drug. Dev. Res.*, 63, 200- 211. l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), 93-110. Tunisie.
- LACOMELLI A., (2000).** Olive mill waste water & SAP adopted by BACRON contracting parties. Work Shop on Agro- industry development in the coastal areas, with special focus on the olive oil industry. Beirut –Lebanon 4- 6.
- LACOMELLI, A.,(2000).** Olive mill waste water & SAP adopted by BACRON contracting parties. Work Shop on Agro- industry development in the coastal areas, with special focus on the olive oil industry. Beirut –Lebanon 4- 6
- LORENT JH, QUETIN-LECLERCQ J, MINGEOT-LECLERCQ MP. (2014)** The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells. *OrgBiomolChem.* 28 ;12(44): 8803-22.
- Lorent JH., Quetin-Leclercq J., Mingeot-Leclercq MP., (2014)** The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells. *OrgBiomolChem.* 28; 12(44): 8803-22.
- LOTITO S. B, FREI B. (2006).** Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radic. Biol. Med.*, 41, 1727-1746.
- LOTITO S., B, FREI B., (2006).** Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon *Free Radic. Biol. Med.*, 41, 1727-1746.
- Lutwin B., Fiesta Ros De Ursino JA., Geiscen K., Kachouri M., Klimm E., De Loderde Monpezat G., Xanthoulis DD., (1996).** Les expériences méditerranéennes dans le traitement et l'élimination des eaux résiduelles des huileries d'olives, Editions (GTZ) GmbH, Eschorn.
- Lutwin B., Fiestas Ros De Ursinos J.A., Geissen K., Kachouri M., Klimm E., De Loderde Monpezat G., Xanthoulis D. (1996)** Les expériences méditerranéennes dans le traitement et l'élimination des eaux résiduelles des huileries d'olives, Editions (GTZ) GmbH, Eschborn. République Fédérale d'Allemagne.
- MARTIN A., BORJA R., GARCIA I., FIESTAS J.A. (1991)** Kinetics of methane production from olive mill wastewater. *Process. Biochem.*, 26, 101-107.

- MARTIN-GARCIA A.I, MOUMEN A, YANEZ-RUIZ D.R, MOLINA-ALCAIDE E., (2003).**
Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 107 : 61–74.
- Mechichi T., Sayadi S., (2005).** Evaluating process imbalance of anaerobic digestion of olive mill wastewater. *Proc biochem* ,40,139-145.
- MERCADER A. G., DUCHOWICZ P. R., FERNÁNDEZ F. M., CASTRO E. A., BENNARDI D. O., AUTINO J. C., ROMANELLI G. P., (2008).** QSAR prediction of inhibition of aldose reductase for flavonoids. *Bioorgan. Med. Chem.*, 16, 7470–7476.
- MORILLO J. A., ANTIZAR-LADISLAO B., MONTEOLIVA-SÁNCHEZ M., RAMOS-CORMENZANA A., RUSSELL N. J. (2009).** Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology Biotechnology*, 82 : 25–39.
- NAKAGAWA K., KAWAGOE M., YOSHIMURA M., ARATA H., MINAMIKAWA T., NAKAMURA M., MATSUMOTO A., (2000).** Differential effects of flavonoid quercetin on oxidative damages induced by hydrophilic and lipophilic radical generators in hepatic lysosomal fractions of mice. *J. Health Sci.*, 46, 509-512.
- NEFZAOU A. (1991).** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous produits. *Option méditerranéennes*, 16 : 101-108.
- NIJVELDT R.J., VAN NOOD E., VAN HOORN D.E.C., BOELEN P.G., VAN NORREN K., VAN LEEUWEN P.A.M., (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, 418-425.
- OYAIZU M (1986):** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr* 44: 307–315.
- PLOCHMANN K. KORTE G. KOUTSILIERI E. RICHLING E. RIEDERER P. RETHWILM A. SCHREIER P. SCHELLER C., (2007).** Structure–activity relationships of favonoid-induced cytotoxicity on human leukemia cells. *Arch. Biochem. Biophys*, 460, 1-9.
- PLOCHMANN K. KORTE G. KOUTSILIERI E. RICHLING E. RIEDERER P. RETHWILM A. SCHREIER P. SCHELLER C. (2007).** Structure–activity relationships of favonoid-induced cytotoxicity on human leukemia cells. *Arch. Biochem. Biophys*, 460, 1-9.
- RAMOS-CORMENZANA A., (1986).** Physical, chemical, microbiological and biochemical characteristics of vegetation water. In: *Inter. Symp.: On olive by-products valorization*. Sevilla-Spain. 41-60.
- RANALLI A., (1991)** The effluent from olive mills : Proposals for re-use and purification with reference to Italian legislation. *Olivae*, 37, 30-39.
- RYAN D., ROBARDS K. ET LAVÉE S. (1998).** Evaluation la quantité de l'huile d'olive .*Olivae*.72 :23-41
- SALVEMINI F. (1985)** Composizione chimica e valutazione biologica di un mangime ottenuto essicando e torcendo le acque di vegetazione delle olive. *Riv. Delle Sostanze Grasse*, 112, 559-564
- SEBASTIEN V., (2010).** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : entre tradition et innovation. *Alimentation et nutrition*. Université d'Avignon, Français.NNT.
- SEBASTIEN VEILLET.** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : entre tradition et innovation. *Alimentation et nutrition*. Université d'Avignon, 2010. Français.NNT : 2010AVIG0237 _ tel-00518042
- TOVAR, D., ZAMBONINO, J., CAHU, C., GATESOUBE, F.J., VAZQUEZ-JUAREZ, R., LESEL, R., (2002).** Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 204 (1-2), 113–123

TSAGARIKI E., HARRIS N., LAZARIDES, KONSTANTINOS B. P. (2007). Olive mill waste water treatment. Sprigerlink, 133-157.

YOCHUM L., KUSHI L.H., MEYER K., FOLSOM A.R., (1999). Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am. J. Epidemiol.*, 149, 943-949.

ZHISHEN J., MENGCHENG T., JIANMING W (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*; 64: 555-559

ZIAEE A., ZAMANSOLTANI F., NASSIRI-ASL M., ABBASI E. (2009). Effects of rutin on lipid profile in hypercholesterolaemic rats. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 104, 253-258.

ZIAEE A., ZAMANSOLTANI F., NASSIRI-ASL M., ABBASI E. (2009). Effects of rutin on lipid profile in hypercholesterolaemic rats. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 104, 253-258.

المخلص

الخطر الرئيسي على هذه الصناعة والزراعة هو المياه النباتية التي يتم إنتاجها أثناء عصر زيت الزيتون. تشكل هذه المخلفات الكبيرة مشكلة بيئية خطيرة في مناطق البحر الأبيض المتوسط. بالإضافة إلى ذلك، فإنها توفر مصادر واعدة للمركبات النشطة بيولوجيًا مثل الفلافونويد والقلويدات والصابونيات. تتضمن هذه الدراسة استخراج وجرعات الفلافونويد لتحديد نشاطها المضاد للأكسدة وتتضمن هذه الدراسة استخراج وقياس الفلافونويد و تقييم نشاطها المضاد للأكسدة. النتيجة المعبر عنها بشكل صحيح لاجمالي القدرة المضادة للأكسدة و الطاقة الاختزالية. تقييم النشاط المضاد للأكسدة في الصابونيسيدات. الغرض الرئيسي من هذا العمل هو استعادة مخلفات زيت الزيتون و اهدافها للتوصيف الفيزيائي-الكميائي لمياه النباتات

الكلمات المفتاحية: - بقايا الزيتون - المياه النباتية - المركبات الفلافونيدية - الكلويد و صابونيزدات - مضاد الاكسدة

RESUME

L'eau végétale qui résulte du processus de pressage de l'huile d'olive est le principal déchet dangereux de cette industrie et de l'agriculture. Ces grands résidus représentent un problème écologique majeur dans les régions méditerranéennes. D'autre part, ils offrent des sources prometteuses de composés bioactifs à savoir les flavonoïdes, alcaloïdes et saponosides. Cette étude consistait à doser les flavonoïdes, extraire les alcaloïdes et les saponosides et, évaluer leurs activités antioxydantes. Les résultats obtenus des analyses phytochimiques mettent en lumière une richesse dominante de ces eaux résiduaires en flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes.

Mots clés : Margine – les déchets oléicoles – flavonoïdes – alcaloïdes – saponosides – antioxydants.

ABSTRACT

The main risk to this industry and agriculture is the plant-based water that is produced during the pressing of olive oil. These large residues pose a serious environmental issue in Mediterranean regions. This study consisted of measuring the flavonoids, extracting the alkaloids and saponosids and evaluating their antioxidant activities. The obtained results from the phytochemical analyzes highlight a dominant richness of olive mill waste waters in flavonoids, saponosids and alkaloids.

Key words: Margin - oleic acid waste- flavonoids - alkaloids – saponosids - anti-oxidants.