

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université Aboubakar Belkaid – 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

MEDJAHED Ibrahim & SALHI Yacine Oussama

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Nutrition & Pathologie

Thème

**POTENTIEL ANTIOXYDANT DES DECHETS OLEICOLES LIQUIDES
DE LA REGION DE TLEMCEEN ET EXPLORATION DE L'ACTIVITE
ANTI-INFLAMMATOIRE *IN VIVO* DE LEURS EXTRAITS BRUTS**

Soutenu le 30 /06/ 2022, devant le jury composé de :

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

Année universitaire 2021 – 2022

Dédicaces

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma très chère mère,

Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices. Puisse dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher père,

de tous les pères, tu es le meilleur. Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme. En témoignage de brut d'années de sacrifices, de sollicitudes, d'encouragement et de prières. Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et vos efforts. En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour. Puisse dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur.

A ma sœur, tu as été à mes côtés pendant toutes les étapes de ce travail, je t' en suis très reconnaissant. Aucune dédicace ne peut exprimer la profondeur des sentiments fraternels et d'amour, d'attachement que j'éprouve à votre égard. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection en souvenirs de notre indéfectible union qui s' est tissée au fil des jours. Puisse dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité.

A mon frère nadir, je ne saurai traduire sur du papier l'affection que j'ai pour toi, je n'oublierai jamais ces merveilleux moments passés ensemble intelligent que tu es, j'implore Allah de te réserver un avenir meilleur.

Mon binôme Yacine, trésor ami, je souhaite que dieu le guide dans son chemin académique et professionnel.

Dédicace à tous *la famille MEDJAHED* sans exception, *la famille SALHI* en particulier islam, *la famille MERGHACHE*. Que ce travail soit pour vous un modeste témoignage de ma profonde affection.

A mes amis et collègues : Ahmed, Wail, Abd el Kafi, Fares Ismail, Mustapha, Abd el Samad . Tous mes amis il me serait difficile de vous citer tous, vous êtes dans mon cœur, affectueusement.

Ibrahim

Dédicaces

Je dédie ce travail à tous ceux qui m'ont soutenue durant toute la période de mon projet de fin d'étude, précisément :

A mon très cher père MOHAMED, tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours.

A ma très chère mère, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime Mama et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A mon cher frère ISLEM, a tous les moments d'enfance passés avec toi mon frère, en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

A mes petites sœurs Mes belles, vous ne savez pas à quel point je vous aime. Je vous souhaite du succès dans votre carrière. Je serai et je m'efforcerai d'être votre modèle de réussite.

A mes proches Brahim, Hamza et Khalil Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Toute Ma Famille :

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A mon chère oncle Abdelkader et ma grand-mère.

A tous la famille *Salhi, Rahmani, Mimouni, Medjahed*,

Yacine

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier dieu de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

*Nos plus vifs et chaleureux remerciements s'adressent à notre encadreur **M^{lle} BADID NAIMA**, Maitre de Conférences, à l'université de Tlemcen, que nous estimons énormément, pour les conseils qu'elle nous a prodigués, ses encouragements, son encadrement, sa disponibilité, et pour nous avoir écouté et soutenu tout le long de notre travail. Nous lui avouons que c'est un grand honneur de travailler avec vous.*

Nous remercions chaleureusement les membres de jury, qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir lire et évaluer avec attention notre travail :

***M^{me} BENHAMMOU-BELYAGOUBI NABILA** Professeur, à l'université de Tlemcen, pour nous avoir enseignée durant notre cursus et pour avoir acceptée d'être à examiner notre travail*

***M^{me} KHALDI DARINE**, Maitre Assistante, à l'université de Tlemcen pour avoir accepté d'être Présidente de jury et examiner notre travail.*

*Nous remercions également **M^r BELYAGOUBI LARBI**, le Vice Doyen qualifié pour gérer aimablement les préoccupations des étudiants, pour nous avoir écouté, aidé, orienté, et conseillé durant notre cursus universitaire.*

*Nous tenons à remercier les Directeurs des huileries vers lesquelles nous nous sommes déplacés, **M^r HENNANE ABDELKADER**, **M^r DIB**, ainsi que le Directeur de l'huile **HAKIKI**, pour nous avoir ouvert leurs portes, pour leurs aides précieuses, et les informations qu'ils nous ont procurées.*

المخلص

تطلق صناعة الزيتون كمية كبيرة من نفايات الزيتون السائل في البيئة دون معالجة مسبقة. تسبب هذه المخلفات تلوث البيئات الطبيعية بسبب ثرائها بالمركبات الفينولية. يركز هذا العمل على تحديد المركبات الفينولية، أي متعدد الفينول والعفص القابلة للتحلل المائي والمكثف والفلافونول، ثم تقييم الأنشطة البيولوجية للمرجان الخام من خلال ثلاثة اختبارات. كمية مضادات الأكسدة الإجمالية لتنظيف الشق الحر DPPH وتظهر النتائج البارزة في ثراء متعدد الفينول ، والفلافونول والعفص القابل للتحلل ، بالنسبة للقدرة لمضاد الالتهاب كان هناك تثبيط بنسبة 100٪ في حجم ساق الفئران المعالجة بالجرعتين الثانية والثالثة بالمستخلص الخام للمرجان.

الكلمات المفتاحية: مرجان الزيتون - التلوث - المركبات الفينولية - نشاط مضادات الأكسدة- نشاط مضاد الالتهاب.

RESUME

L'industrie oléicole rejette une quantité considérable de déchets oléicoles liquides dans l'environnement sans traitement préalable. Ces résidus provoquent une pollution des milieux naturels due à leur richesse en composés phénoliques. Ce travail cible le dosage des composés phénoliques à savoir les polyphénols, les tanins hydrolysables et condensés et les flavonols ensuite à évaluer les activités antioxydantes des margines bruts à travers trois tests : la capacité antioxydante totale, le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer. Les résultats marquants montrent la richesse en polyphénols, flavonols et tanins hydrolysables et un potentiel de réduction du DPPH élevé. L'activité anti-inflammatoire pour la dose 3 de l'extrait souligne un pourcentage d'augmentation de l'œdème (%AUG) significatif aboutissant à la disparition totale de l'œdème à partir de la 4^{ème} heure. Pour le pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH), les doses 2 et 3 donnent 100% du taux d'inhibition de l'inflammation à la 6^{ème} heure avec guérison totale de l'œdème.

Mots clés : Margine – pollution - composés phénoliques –activité antioxydante- activité anti-inflammatoire.

ABSTRACT

The olive industry releases a considerable amount of liquid olive waste into the environment without prior treatment. These residues cause pollution of natural environments due to their rich phenolic compounds. This work focuses on the determination of phenolic compounds, namely polyphenols, hydrolysable and condensed tannins and flavonols and then to evaluate the antioxidant activities of raw margins through three tests: total antioxidant capacity, trapping the free radical DPPH and reducing iron. The results showed noticeable values of polyphenols, flavonols, hydrolysable tannins and a distinctive trapping DPPH radical. The anti-inflammatory activity for the dose 3 of the extract highlighted a significant percentage increase of edema (%AUG) leading to the total disappearance of edema from the 4th hour. For the percentage inhibition of edema (%INH), the doses 2 and 3 gave 100% of the rate of the inhibition of the inflammation at the 6th hour with total recovery of edema.

Keywords: Margin- pollution - phenolic compounds – antioxidant activity- anti-inflammatory activity.

TABLES DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS.....	I
LISTE DES TABLEAUX.....	II
LISTE DES FIGURES	III
LISTE DES PHOTOS.....	IV
INTRODUCTION GENERALE	1
Matériels & METHODES.....	8
I.Dosage des métabolites secondaires de la margine	9
I.1 Dosage des phénols totaux	9
I.2 Dosage des flavonoïdes	9
I.3 Dosage des tanins condensés.....	9
I.4 Dosage des tanins totaux	10
I.5 Dosage des tanins hydrolysables.....	11
I.6 Dosage des flavonols.....	11
II.Les activités antioxydantes de la margine	11
II.1 Capacité antioxydante totale (CAT)	11
II.2 Réduction de fer	11
II.3 Test du piégeage du radical libre DPPH (2.2 diphényl-1-picrylhydrasyl).....	12
III.L'activité anti-inflammatoire de la margine.....	12
III.1 Préparation de l'échantillon des rats « Wistar ».....	12
III.1.1 Elevage de l'échantillon de rats	13
III.1.2 Besoins nutritionnels.....	13
III.1.3 Test de toxicité.....	13
III.1.4 Préparation des lots de rats	14
III.1.5 Caractéristiques de l'échantillon cible de rats	14
III.1.6 Gavage	14
III.1.7 Mesure de l'œdème	14

III.1.8 Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)	15
III.1.9 Calcul du Pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH).....	15
III.1.10 Traitement statistique.....	15
DISCUSSION.....	Error! Bookmark not defined.
CONCLUSION.....	18
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	20

LISTE DES ABREVIATIONS

AlCl₃ :	Trichlorure d'aluminium
AINS	Anti inflammatoire non-stéroïdiens
AO :	Azote organique
CAT :	Capacité antioxydante total
COI :	Conseil Oléicole International
CP :	Les composés phénoliques
DO :	La densité optique
DOPEG	Dihydroxyphenylglycol
DPPH :	2.2 diphényl-1-picrylhydrazyl
EC50 :	Efficient Concentration value
FeCl₃ :	Chlorure de fer
Ha :	Hectare
HCL :	L'acide chlorhydrique
ITAFV :	Institut technique de l'arboriculture fruitière & de la vigne
K₃[Fe(CN)₆ :	Ferricyanure de potassium
MG :	Matière Grasse
MM :	Matière minérale
MO :	Matière organique
MS :	Matière sèche
Na₂CO₃ :	Carbonate de sodium
NaNO₂ :	Nitrite de sodium
NaOH :	Hydroxyde de sodium

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales composantes des margines.....	5
Tableau 2 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.....	6
Tableau 3 : Poids des rats dans chaque lot.	14
Tableau 4 : Oliviers de la wilaya de Tlemcen	Error! Bookmark not defined.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les processus d'extraction de l'huile d'olive.....4

Figure 2 : Taux de déchets oléicoles en fonction de la productivité d'olive à huile**Error! Bookmark not defined.**

Figure 3 : diagramme de système d'extraction discontinue par pression.**Error! Bookmark not defined.**

Figure 4 : Système d'extraction continue avec centrifugation à 2 phases.**Error! Bookmark not defined.**

Figure 5 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes, flavonols dans la margine brute.....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 6 : Teneurs en tanins dans l'extrait brut **Error! Bookmark not defined.**

Figure 7 : Test du piégeage du radical libre DPPH par la margine brute. Standard Acide Ascorbique (AA), Extrait brute de margine (EB)..... **Error! Bookmark not defined.**

Figure 8 : Réduction du fer dans la margine brute. Standard Acide Ascorbique (AA), Extrait brute de margine (EB)..... **Error! Bookmark not defined.**

Figure 9 : Capacité antioxydante totale (CAT) de la margine brute. Standard1 Acide Ascorbique (AA), Standard2 Acide Gallique (AG), Extrait brute de margine (EB).4.....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 10 : Pourcentage d'augmentation de l'œdème de la patte (%AUG) durant les six heures qui ont suivi l'induction de l'inflammation. Groupe témoin (TI). Groupe standard traité avec le Diclofénac à 50mg/kg (STD). Groupes traités avec l'extrait aqueux de la margine brute dose 50mg/g(EMD1). Groupe traités avec l'extrait aqueux de la margine brute dose150mg/g (EMD2), Groupe traités avec l'extrait aqueux de la margine brute dose 200mg/kg (EMD3)..... **Error! Bookmark not defined.**

Figure 11 : Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (% INH) durant les six heures qui ont suivi l'induction de l'inflammation. Groupe standard traité avec le Diclofénac à 50mg/kg (STD). Groupes traités avec l'extrait aqueux de la margine brute dose 50mg/g(EMD1). Groupe traités avec l'extrait aqueux de la margine brute dose150mg/g (EMD2), Groupe traités avec l'extrait aqueux de la margine brute dose 200mg/kg (EMD3) .
..... **Error! Bookmark not defined.**

LISTE DES PHOTOS

Photo 01 : Spectrophotomètre.....	10
Photo 02 : Bain marie	10
Photo 03 : Cage d'élevage.....	13
Photo 04 : Elevage des rats.....	13
Photo 05 : Sonde de gavage.....	15
Photo 06 : Pied à Coulisse.....	15
Photo 07 : Presse hydraulique.....	18
Photo 08 : Moule de granite à deux roues (Huilerie Hannane Sebra)	18
Photo 09 : Scourtin de pressage.....	19
Photo 10 : Broyeur-Malaxeur.....	19
Photo 11 : Centrifugeuse horizontale à décanteur.	19
Photo 12 : Citerne en inox pour le stockage de l'huile.....	20
Photo 13 : Centrifugeuse verticale.....	20

INTRODUCTION GENERALE

L'oléiculture en Algérie couvre une superficie de 432.961 ha produisant environ 3,30% de la production mondiale d'huile (**Hadj et al., 2018**). Le climat favorable et les traditions oléicoles ancestrales constituent un avantage compétitif pour le développement du secteur oléicole et peuvent contribuer à l'autosuffisance en huile végétales. Selon le Conseil Oléicole International (**C.O.I., 2017**), l'Algérie produit 80 000 tonnes d'huile d'olive et occupe la neuvième place au niveau mondial, alors que cette production est principalement dédiée à la consommation locale.

Actuellement, l'olivier est cultivé sur tout le territoire national, allant des zones humides aux zones arides et sahariennes. La répartition géographique montre de nombreuses zones oléicoles importantes ; en particulier, les zones côtières du pays se révèlent favorables au développement de l'olivier. Les superficies occupaient plus de 471 000 hectares (**Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires, 2016**). La majorité des zones oléicoles sont situées dans les régions montagneuses et collinaires (**Khoumeri, 2009**), ainsi que dans les plaines de l'ouest du pays (Mascara, Sig, Relizane, etc.). Et dans des vallées comme la Soummam et dans le sud entre les délégations de Biskra et d'Eloued. Aujourd'hui, ces surfaces de culture se sont considérablement accrues par la mise en place d'un programme national de développement de l'oléiculture intensive dans les zones steppiques, présahariennes et sahariennes.

Il existe de nombreux cultivars d'oliviers en Algérie ; 36 cultivars sont homologués par l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne, où le cultivar d'olive le plus important est « Chemlal » occupant 40% de l'olivieraie algérienne, cultivé pour l'extraction d'huile d'olive. Il a une productivité élevée et une saison de production peu alternée. Elle était rustique et tardive, autostérile, et toujours associée à d'autres variétés qui assurent sa pollinisation comme les variétés « Sigoise » ou « Azeradj ». Le cultivar Chemlal est trop souvent confondu par erreur avec le cultivar tunisien « Chemlali ». Le cultivar Sigoise poussant dans la plaine de la région de Mascara occupe 25% de l'olivieraie algérienne ; il a une double vocation (huile d'olive et olives de table). C'est un cultivar saisonnier, tolérant à l'eau salée, moyennement résistant au froid et à la sécheresse.

Il se caractérise par une floraison précoce avec une intensité moyenne, un faible taux de nouaison (0,70 %), un taux de pulpe cœur moyen (6,44 %), la pulpe se détache facilement du cœur et la productivité est moyenne et alternée. C'est un cultivar en extension sur tout le territoire national et caractérisé comme un bon pollinisateur de Chemlal. Actuellement, peu de travaux sont consacrés à une analyse comparative de la qualité des olives en Algérie et notamment dans la région de l'Est où de nouvelles plantations d'oliviers se développent.

La filière oléicole, en plus de sa principale production oléicole (huile d'olive vierge et huile de grignons) produit deux résidus majeurs : Des eaux résiduaires liquides appelées margine et un autre résidus solide appelé grignon (**Nefzaoui, 1991**). Les composés des olives sont très riches en substances phénoliques, mais seulement 2% du contenu phénolique total du fruit est entré dans la phase, le reste huileux est perdu dans l'eau de végétation (53 %) et le grignons (45 %) (**Rodis et al., 2002**)

L'huile d'olive est l'huile extraite du fruit de l'olivier, ils obtenues par extraction au solvant, par procédures de ré-estérification ou par n'importe quel mélange avec d'autres types d'huiles sont exclues. Contrairement à d'autres huiles végétales ou d'autres produits, l'huile d'olive ne nécessite pas d'étape de raffinage ou transformation chimique. A leur arrivée au moulin, les olives sont pressées et passées dans un système de bandes de lavage, qui les nettoiera et leur permettra d'enlever les impuretés (terre, cailloux, feuilles, etc.) avant le broyage. Ce dernier est conçu pour détruire les cellules des olives afin qu'elles puissent libérer leur contenu. A ce stade du processus, les olives sont réduites en une pâte plus ou moins homogène dans un bac de malaxage. Ce système de mélange permet la coalescence des microgouttelettes d'huile libérée de leurs lipovacuoles cellulaires fusionnant pour former des gouttes d'huile. Les phases solide et liquide seront ensuite séparées par pressage horizontal ou centrifugation. La phase solide contient les restes du noyau ainsi que la peau et la pulpe Olives sans huile. Cette phase solide est appelée « grignons » et constitue l'une des deux principaux sous-produits de la production d'huile d'olive. La phase liquide est un mélange eau-huile qui doit être séparé libérant la phase aqueuse appelée phase humide ou margine présentant le deuxième sous-produit du processus de fabrication (**Figure 1**) (**Veillet, 2010**). La margine est un liquide trouble, aqueux, noir et contient un peu de graisse émulsionnée facilement fermentescible (**Kiritsakis et al., 2017., Gueboudji et al., 2021**). Les principales caractéristiques des margines sont résumées dans le (**tableau 1**). Elle a un effet toxique sur le sol, les micro-organismes, les plantes et les organismes marins (**Morón et al., 2019., Babiÿ et al., 2019**).

La margine représente environ 98% de la teneur totale en phénols des olives, allant de 0,5 à 24g/l (**Alaoui et al., 2016**) et des flavonoïdes (**Tzathas et al., 2019**). La pollution est principalement due aux fortes concentrations de composés phénoliques (**Sciubba et al., 2020**). En raison de leur acidité, des niveaux élevés de demande biologique en oxygène et des besoins chimiques en oxygène, les margines sont hautement contaminantes et phytotoxiques. D'autre part, ces eaux de végétations sont une source précieuse de molécules telles que les nutriments végétaux, les anthocyanes, les flavonoïdes, les polysaccharides et plusieurs composés

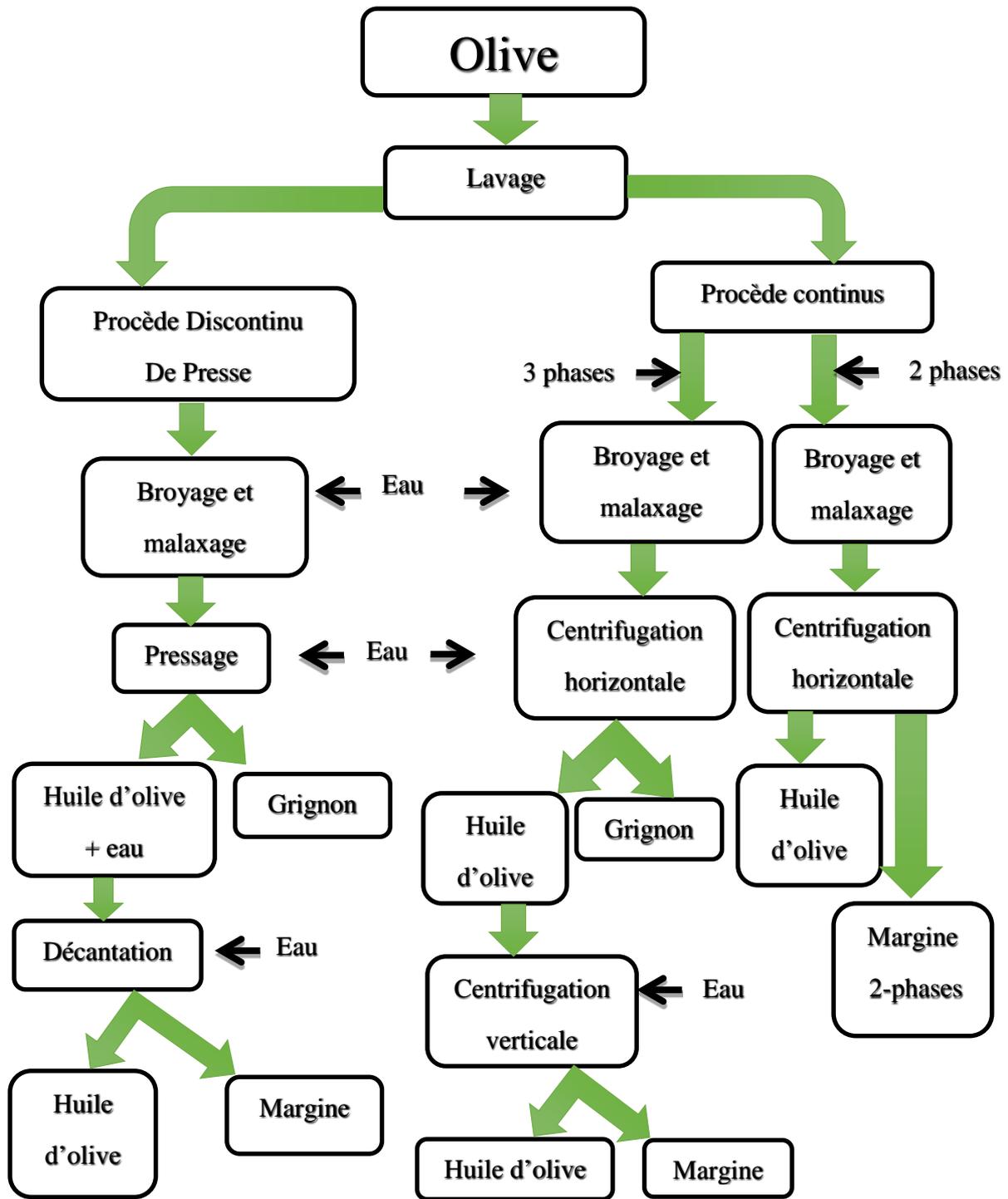


Figure 1 : Les processus d'extraction de l'huile d'olive (Morillo et al., 2009).

Phénoliques ayant des applications industrielles telles que les engrais, les antioxydants, les médicaments antifongiques et antibactériens, les agents cytoprotecteurs, les agents gélifiants et stabilisants dans la conservation des aliments (**Tableau 2**). En conséquence, des efforts importants ont été faits pour passer de la détoxification des margines à sa commercialisation en maximisant la récupération des produits chimiques bioactifs à haute valeur ajoutée (**Khan et al., 2020**).

Les propriétés physiques et chimiques des margines varient considérablement en fonction des facteurs climatique, de la variété d'olive, de la maturité des fruits, temps de stockage et méthode d'extraction (**Fiorentino et al., 2003**).

Selon les études antérieures, diverses activités biologiques émanant des margines sont enregistrées dépendamment de leur composition et de la variété des olives. L'activité anti-inflammatoire occupe une place primordiale dans les aspects bio fonctionnels de ces eaux résiduelles oléicoles.

La margine est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour un large éventail des soucis de santé dans divers pays. (**Beauchamp et al., 2005**). La quantité des composés phytochimiques trouvée dans cette espèce végétale est énorme, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés ont des propriétés anti inflammatoires (**Han et al., 2007**).

Tableau 1 : Principales composantes des margines (Lutwin et al., 1996).

Composants	Poids de la matière fraîche %
Matière sèche (MS)	1,4-17%
Matières minérales (MM)	10-15%
Sucres divers	30-50%
Graisses et huiles diverses	12-35%
Composés phénoliques (CP)	5,0-25%
Azote organique (AO)	< 10%

INTRODUCTION GENERALE

Tableau 2 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.

Composés phénoliques	Activité biologique	Références
Acides Phénols	Antifongique, antioxydante Antibactérienne	(Bruneton, 1999)
Tanins	Effet stabilisant sur le collagène, anti- oxydant, antidiarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur	(Balasundram Et al, 2006)
Flavonoïdes	Antitumorale, anti carcinogène, anti - inflammatoire, Antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, Antimicrobienne, hypotenseur, diurétique.	(Hennebelle, 2007)
Coumarines	Anticoagulante, antioxydante, protectrice vasculaire et Antioœdémateuse.	(Li Et al, 2007)
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, antioxydant	(Habauzitet Horcajada, 2008)
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, Antitumoraux, antifongiques et anti- inflammatoires.	(Bondia-Pons Et al, 2009)
Tannins galliques et Catéchiqes	Antioxydantes	//
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques	(Gresele Et al, 2011)

INTRODUCTION GENERALE

Le but de ce travail s'illustre dans le domaine d'exploitation et de valorisations des résidus issus des technologies oléicoles à savoir les déchets liquides ou margines. Les objectifs visés concernent :

- ❖ Le dosage des fractions bioactives dans l'extrait brut à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins totaux, les tannins hydrolysables, les tannins condensés et les flavonols.
- ❖ L'évaluation des activités biologiques dont la capacité antioxydante totale (CAT), le piégeage du radical libre (DPPH) et la réduction du fer (FRAP) dans l'extrait brut.
- ❖ L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo chez le rat Wistar.

Matériels & METHODES

I. Dosage des métabolites secondaires de la margine

I.1 Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux est déterminé par le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de **(Singleton et Rossi, 1965)**. Le réactif est réduit lors de l'oxydation de phénol, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène, l'absorption est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

Une prise de 200 µL de l'extrait dilué a été introduite dans des tubes à essais, puis 1000 µL du réactif du Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 800 µL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5% sont additionnés. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min à l'abri de la lumière et à une température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORTD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif afin d'exprimer les teneurs en milligramme (mg) équivalents d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG /g MS).

I.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est déterminé en utilisant la technique de **(Zhishen et al., 1999)**. Une quantité de 500 µL de l'extrait dilué est mélangée avec 1500 µL d'eau distillée, suivi par 150µL de nitrite de sodium (NaNO_2) à 5%. Après 5 min ,150µL de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10 % est ajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500µL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance est déterminée à 510 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECTROD 200 Plus (**Photo 1**). Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

I.3 Dosage des tanins condensés

La quantité des tanins condensés est déterminée par la méthode de vanilline en milieu acide **(Julkunen-titto, 1985)**. Cette méthode est basée sur la capacité de vanilline en présence d'HCl à réagir avec les tanins, l'absorbance est mesurée à 550 nm.

Un volume de 50 µL de l'extrait dilué est ajouté à 1500 µL de la solution vanilline/méthanol (4%) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µL de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre le blanc à l'aide

d'un spectrophotomètre SPECORD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalents de la catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

I.4 Dosage des tanins totaux

Le dosage des tanins totaux facilement extractibles est réalisé utilisant la réaction. Cette méthode est basée sur la propriété des pro anthocyanidines à se transformer, lors d'une hydrolyse acide, par chauffage à 100 °C dans le bain marie (**Photo 02**), en anthocyanidines colorées par rupture de la liaison interflavane (**Ribéreau-Gayon et Stonestreet, 1966**). On compare la différence de coloration avec un témoin non chauffé, par spectrophotométrie à 550 nm.



Photo 01 : Spectrophotomètre UV-Visible



Photo 02 : Evaporateur rotatif

Des volumes de 2 ml de l'extrait dilué au 50^{ème} fois sont mis dans 2 tubes à essai, auxquels sont ajoutés 1 ml d'eau distillée et 3 ml d'acide chlorhydrique 12N. L'un des deux tubes est chauffé pendant 30 min au bain marie à 100 °C. Pour finir, 0.5 ml d'éthanol est ajouté dans chaque tube. La densité optique (DO) est lue à 550 nm dans une cuve de 1 cm de parcours optique. La différence de DO entre le tube hydrolysé et le témoin donne la quantité de tanins totaux présents dans l'extrait de *P. Atlantica* par la relation suivante :

$$\text{Tanins totaux (g/L)} = 19.33 \times (\text{DOhydrolyse} - \text{DOtémoin})$$

I.5 Dosage des tanins hydrolysables

Le taux des tanins hydrolysables est déterminé par la méthode de **(Mole et Waterman, 1987)** qui est basée sur la réaction avec le chlorure ferrique. Un volume de 1 ml de l'extrait est mélangé avec 3.5 ml de la solution de FeCl₃ (1.62 g est dissous dans 0.01M de HCl). Le mélange donne une coloration rouge violette au complexe d'où la formation des ions (Fe⁺³). L'absorbance a été lue à 660 nm après 15 secondes. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents d'acide gallique par g de la matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (mg EAG/ g MS).

I.6 Dosage des flavonols

Le dosage des flavonols a été réalisé par la méthode de **(Kumaran et al. 2007)**. Une prise de 0.25 ml de l'extrait brut est mélangé avec 1.5 ml d'acétate de sodium à 50 mg/ml et 0.25 ml de AlCl₃ à 2 mg/ml. Le mélange est homogénéisé et incubé à température ambiante durant 150 min. L'absorbance est lue à 440 nm.

Le contenu en flavonols est exprimé en milligramme (mg) équivalents de quercétine par gramme du poids de la matière sèche (mg QE/ g MS).

II. Les activités antioxydantes de la margine

II.1 Capacité antioxydante totale (CAT)

La CAT de l'extrait brut des fruits immatures de *P. atlantica* a été examiné par la méthode de phosphomolybdène de **(Prieto et al., 1999)**.

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 qui contient 3 ml de la solution CAT et 0.3 ml de l'eau distillée et il a été 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 contrôle positif. Les valeurs de la CAT sont exprimées en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

II.2 Réduction de fer

Le pouvoir réducteur de l'échantillon a été déterminé selon la méthode **(Oyaizu, 1986)**. Des dilutions (0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/ml) ont été préparées. Un volume de 500 µl de chaque dilution a été mélangé avec 1250 µl d'une solution tampon (0.2 M, pH=6.6) et 1250 µl de solution du ferricyanure de potassium [1% K₃[Fe (CN)₆]. Le mélange a été incubé

pendant 30 min à 50°C, puis de l'acide trichloracétique à 10 % (1250 µl) a été ajouté. Après centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 min, un volume du sur nageant (1250 µl) a été mélangé avec de l'eau distillée (125 µl) et une solution fraîchement préparée de FeCl₃ (250 µl, 0.1%). L'absorbance a été mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif.

La concentration EC₅₀ est un indice utilisé pour comparer la capacité réductrice de l'extrait par rapport au contrôle positif. Elle est définie comme la concentration des antioxydants nécessaires à la réduction de 50% de la concentration initiale du ferricyanure de potassium.

II.3 Test du piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl)

Un volume de 50 µl de différentes concentrations (0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml) de l'extrait est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0.025 g/l) fraîchement 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 à l'aide d'un spectrophotomètre. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH à la même concentration utilisée. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH sont calculés à partir de la formule suivante:

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

AE : représente l'absorbance de l'échantillon.

AC : représente l'absorbance de contrôle négatif.

Pour comparer l'efficacité de cet extrait avec celle de l'acide ascorbique, nous avons calculé la concentration efficace EC₅₀ (Efficient Concentration value) qui est définie comme la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration initiale du radical DPPH à 50 %. Ce paramètre est déterminé en traçant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations.

III.L'activité anti-inflammatoire de la margine

L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux margine a été déterminée suivant le modèle expérimental de l'œdème aigu de la patte chez les rats induit par la carragénine selon la méthode de (Winter et al. 1962).

III.1 Préparation de l'échantillon des rats « Wistar »

III.1.1 Elevage de l'échantillon de rats

Les rats sont placés dans des cages (**Photo 03**) en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable, équipées de biberons et tapissée d'une épaisse couche de sciure renouvelée tous les 3 à 4 jours. L'échantillon des rats nécessite 2 à 3 mois pour acquérir les caractéristiques podérales de recherche (poids idéal). (**Photo 04**).



Photo 03 : Cage d'élevage



Photo 04 : Elevage des rats Wistar

III.1.2 Besoins nutritionnels

Les quantités d'éléments nutritifs devant entrer dans la composition du régime alimentaire des rats selon **ROGERS (1979)** sont :

- ✓ Les protéines et des lipides en quantités raisonnables,
- ✓ Des sels minéraux comme le calcium,
- ✓ Des acides aminés essentiels et des vitamines.

Concernant l'aliment en granulés (aliment de lapin, aliment de volaille), la valeur énergétique pour 100 g d'aliment est de 310 kcals. Les rats consomment environ 12 à 30 g d'aliments secs et boivent 140 ml d'eau/kg de poids corporel à raison de 2 ml d'eau pour chaque gramme de nourriture qu'ils mangent (**N.R.C., 1978**).

III.1.3 Test de toxicité

Pour évaluer la toxicité aigüe de l'extrait, trois lots de trois rats ont été utilisés. Les animaux de trois premiers lots ont reçu chacun, par voie orale, une seule dose de l'extrait : 50mg/kg ; 150mg/kg ; 200mg/kg.

Les signes d'intoxication ainsi que le taux de mortalité ont été observés le jour même après administration de l'extrait. Ensuite, ils ont été observés le deuxième jour.

III.1.4 Préparation des lots de rats

- Le premier lot est constitué de 5 rats Wistar témoins.
- Le deuxième lot est constitué de 5 rats Wistar comme contrôle.
- Le troisième, quatrième et cinquième lot sont constitués chacun de 5 rats Wistar.

III.1.5 Caractéristiques de l'échantillon cible de rats

Durant le suivi de l'élevage, sont sélectionnés 25 rats Wistar adultes de sexes confondus, dont le poids s'échelonnait de 170 à 240g. Les rats étaient répartis en cinq lots identifiés individuellement au niveau de la queue par des marqueurs colorés (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Poids des rats dans chaque lot.

Lot témoin (g)	Lot standard (g)	Lot 1 (g)	Lot 2 (g)	Lot 3 (g)
172	198	211	185	221
170	225	177	183	185
193	209	184	196	196
188	243	201	179	210
190	202	179	184	197

III.1.6 Gavage

Les 25 rats subissent une injection unique d'un agent inflammatoire « la caragénine » au niveau de la patte droite, induisant un état inflammatoire provoquant un œdème de la patte. La dose administrée est de 50mg/kg (**Lompo et al., 1998**).

Les rats témoins ont reçu par voie orale de l'eau physiologique afin de rester dans les mêmes conditions expérimentales.

Le deuxième lot de rats sont gavés avec du diclofénac à l'aide de sonde de gavage (**Photo 05**) à une concentration de : 50mg/kg.

Les troisième, quatrième et cinquième lot sont gavés avec trois doses de l'extrait de margine brute à des concentrations respectives de :50mg/150mg/200mg.

III.1.7 Mesure de l'œdème

Le diamètre de la patte a été mesuré, l'aide d'un pied à coulisse digital (**Photo 06**) Avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'une heure pendant six heures. L'évolution de l'œdème de la patte a été mesurée chaque heure jusqu'à 6 heure.



Photo 05 : Sonde de gavage



Photo 06 : Pied à coulisse

III.1.8 Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)

Le pourcentage d'augmentation (%AUG) de l'œdème est calculé pour chaque groupe RAT. Il est donné par la formule suivante (Ndiaye et al., 2006)

D_n : diamètre de la patte 1 heure après l'injection de la carragénine.

D_o : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

$$\%AUG = (D_n - D_o) \times 100 / D_o$$

III.1.9 Calcul du Pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH)

Le pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de RAT traitées par rapport au lot témoin. Il est obtenu par la formule suivante (Ndiaye et al, 2006) :

$$\%INH = (\%AUG \text{ témoin} - \%AUG \text{ traité}) \times 100 / \%AUG \text{ témoin}$$

III.1.10 Traitement statistique

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

DISCUSSION

DISCUSSION

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des extraits bruts des eaux résiduaires oléicoles ou margines au niveau de la wilaya de Tlemcen. L'étude est réalisée selon deux axes ; une caractérisation du potentiel antioxydant de l'extrait brut et une évaluation *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire.

Les résultats obtenus des analyses phytochimiques mettent en lumière une richesse dominante de ces eaux résiduaires en polyphénols, en flavonols et tanins hydrolysables. Les activités antioxydantes de l'extrait brut de margine marquent un potentiel antioxydant spectaculaire en ce qui concerne le piégeage du radical libre DPPH comparée à celle de l'acide ascorbique. Noter que la capacité réductrice d'un composé peut servir comme indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Yang et al., 2008**). Les résultats relatifs à la capacité antioxydante totale et la réduction du fer ont montré une efficacité antioxydante moyenne à faible comparée à celle de l'acide ascorbique. Ce rendement modeste est probablement lié au fait que les fractions bioactives sont maintenues non libérées dans des liaisons covalentes rigides dans l'extrait brut. Les résultats obtenus pour l'analyse de ces résidus oléicoles possédant des activités antioxydantes moyenne à remarquables suggèrent que ces derniers ont la capacité notable pour donner des électrons aux radicaux libres réactifs tel le radical libre DPPH, le convertissant en espèces non-réactives plus stables et achevant de la sorte les réactions en chaîne des radicaux libres. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **EL Moudden et al., (2020)**.

Dans l'activité anti-inflammatoire, l'induction de l'œdème a été provoquée par une injection unique de 0.1ml /rat de caragénine au niveau de la patte droite (**Djebli, 2021**). L'appréciation de l'inflammation a été déterminée par le pourcentage d'augmentation (%AUG) et d'inhibition (%INH) du volume de la patte. Il est à noter que le groupe traité avec la dose 2 de l'extrait brut souligne des effets notables quant à la diminution de l'œdème de patte comparés à la dose 1, STD et témoins, avec des fluctuations plus ou moins homogènes pour atteindre la guérison totale au niveau de la 6^{ème} heure. Le groupe traité avec la dose 3 de l'extrait brut, souligne un fait marquant de guérison totale de l'œdème à partir de la 4^{ème} heure. Concernant le taux d'inhibition de l'œdème, les rats traités avec les doses de l'extrait brut 2 et 3, expriment une augmentation du pourcentage d'inhibition spectaculaire et parallèle pour les deux doses, atteignant 100% avec guérison totale de l'œdème à la 6^{ème} heure.

CONCLUSION

CONCLUSION

La composition phytochimique et le potentiel antioxydant des déchets oléicoles dits margines brutes étaient profondément investigués. Pour les pays méditerranéens, les margines présentent une source très polluante de l'environnement via sa richesse notable en composés phénoliques.

L'idéal en recherche biotechnologique serait d'exploiter cette composition en molécules bioactives pour la mise au point de nouveaux produits sur le marché et réduire et/ou recycler ces déchets nocifs pour l'environnement.

Les aspects phytochimiques de ces résidus, le potentiel antioxydant et thérapeutique ; cas de son rôle dans la modulation de l'inflammation trouvé en amont font des margines un substrat multivarié de composés complexes fonctionnel. Leur exploitation pour l'identification et la purification de molécule bioactives peut répondre à des problématiques bio-industrielles et sanitaires importantes à savoir ; la conservation des produits alimentaires et nutraceutiques, la cosmétique, etc. Également, la valorisation de ces résidus peut faire l'objet de production de protéines d'organismes unicellulaires (P.O.U.) appelée biomasse destinée à l'alimentation animale et minimisant la pollution environnementale.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALAOUI NS, EL-LAGHDACH, A, STITOU, M, & BAKKALI, A. (2016). Traitement Et Valorisation Des Eaux Usées Des Moulins A Huile. Méditerr. J. Chem. 5(3), 458–464.

ALI HAIMOUD S, ALLEM R, MEROUANE A (2016). Antioxidant and anti-inflammatory properties of Widely consume d date palm (Phoenix dactylifera L.) Fruit varieties in Algerian oases. Journal of Food Biochemistry. 40: 463-471.

BALASUNDRAM N, SUNDRAM K. AND SAMMAN S. (2006). Phenolic Compounds In Plants And Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, And Potential Use. Food Chem., 99: 191–203.

BEAUCHAMP G, KEAST R, MOREL D, LIN J, PIKA J, HAN Q, SMITH A.B. ET BRESLIN P.A.S. (2005). Ibuprofen like activity in extra-virgin olive oil. Revue Nature, 437: 45-46.

BEGUM R, SHARMA M, PILLAI KK, AERI V, SHELIYA MA (2015). Inhibitory effect of Careya arborea on inflammatory biomarkers in carrageenan-induced inflammation. Pharm Biol. 53 (3): 437–445. **KUEDO Z, SANGSURIYAWON A, KLAYPRADIT W, TIPMANEE CHONPATHOMPIKUNLERT P** (2016). Effects of astaxanthin from Litopenaeus Vannamei on carrageenan-induced edema and pain behavior in mice. Molecules 21 (3) : 382.

BENCHEGRA H, ET HADDAD. (2013). Extraction et caractérisation des composés phénoliques de Myrtus communis L en vue de leur incorporation dans la margarine [Thèse de doctorat, Université Abderrahmane MIRA de Bejaia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences Alimentaires], Algerie, 78.

BENYAHIA N, ET ZEIN K. (2003). Analyse Des Problèmes De L'industrie De L'huile D'olive Et Solutions Récemment Développées. 2ème Conférence Internationale Swiss Environmental Solutions For Emerging Countries (Sesec II). Lausanne, Suisse., P.1-7.

BONDIA-PONS I, AURA A-M, VUORELA S, KOLEHMAINEN M, MYKKANEN H, AND POUTANEN K. (2009). Rye Phenolics In Nutrition and Health. J. Of Cereal Science., (3): 1–14.

BOUHLALI EDT, EL HILALY J, ENNASSIR J, BENLYAS M, ALEM C et al. (2018). Antiinflammatory properties and phenolic profile of six Moroccan datefruit (Phoenix dactylifera L.) varieties. J. King Saud Uni-Sci. 30(4) : 519–526.

BRUNETON J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie Plantes Médicinales. Techniques Et Documentation, 3ème Ed, Lavoisier, Paris. 1120 P.

Caponio F et Catalano P, (2010). Le marteau écrase contre le disque écrase. L'influence de la température de travail sur la qualité et la conservation de l'huile d'olive vierge. Resource.Technology. (213):219-224p.

CHEMOURI FZ, GHEZLAOUI B, DJELLOUL B, BENABADJI N. (2015). Phyto-Diversity Of The Vegetation Of The Tlemcen Mountains (Western Algeria). Rev.Ecologia Balkanica. Vol.7 N° 2. P 1-11.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CHEN L, DENG H, CUI H, FANG J, ZUO Z ET AL.** (2017). Inflammatory Responses And Inflammation-Associated Diseases In Organs. *Oncotarget*. 9(6) : 7204-7218.
- Coi,** Bulletin Marché Oléicole. (2017). Bulletin Du Marché. Conseil Oléicole International (Cio), 121,
- CROZIER A, CLIFFORD M.N, AND ASHIHARA H.** (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure And Role In The Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd: 12-17.
- DI GIOVACCHINO L, SESTILI S, DI VINCENZO D.** (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 587-601.
- DJEBLI N, RAIS MUSTAFA M, KESKIN M, KOLAYLI S** (2021). Anti-Ulcerogenic and Cytoprotective Effects of Saharian (Sidr) Honey from Algeria. *Comb Chem High Throughput Screen*. 24 (10): 1664-1670.
- EL ABED H, CHAKROUN M, ABDELKAFI-KOUBAA Z, DRIRA N, MARRAKCHI N.** (2018). Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antitumoral Effects of Aqueous Ethanolic Extract from Phoenix dactylifera L. Parthenocarpic Dates. *Biomed Res Int*. 2018:1542602.
- EL MOUDDEN, YOUSRA EL IDRISSE, WALID BELMAGHRAOUI, OUMAIMA BELHOUSSEINE, CHAKIR EL GUEZZANE, TAOUFIK BOUAYOUN, HICHAM HARHAR.** (2020) Olive mill wastewater polyphenol-based extract as a vegetable oil shelf life extending additive. p44.
- FERRERO-MILIANI L, NIELSEN O, ANDERSEN P, GIRARDIN S.** (2007). Chronic Inflammation: Importance Of NOD2 And NALP3 In Interleukin-1 β Generation. *Clin Exp Immunol*. 147(2):227-35.
- GRESELE P, CERLETTI C, GUGLIELMINI G, PIGNATELLI P, DE GAETANO G. AND VIOLI F.** (2011). Effects of resveratrol and other wine Polyphenols On Vascular Function: An Update. *J. Of Nutr. Biochem.*, (22) : 201–211.
- GUEBOUDJI Z, KADI, K. & NAGAZ, K.** (2021) Evaluation De l'Effet Anticoagulant Des Extraits Phénoliques De Deux Sous-Produits De Moulin A Huile : Olivees Eaux Usées Des Moulins Et Les Grignons Des Moulins A Huile. *EJOSAT* (28): 826–830.
- HABAUZIT V. AND HORCAJADA M.N.** (2008). Phenolic Phytochemicals And Bone. *Phytochem Rev.*, (7): 313–344.
- HADJ ST, REBIHA, K, & TERKI, D.** (2018). Caractérisation Physico Chimique Et Organoleptique Des Huiles D'olive Vierges De Quelques Variétés Algériennes. *Revue*
- HAMDI M,** (1996). Digestion anaérobie des eaux usées des moulins à huile. *Biochimie des procédés*. (31) :105-110.
- HAN T LI, H.L, ZHANG Q.Y, HAN P, ZHENG H.C, RAHMAN K. ET QIN L.P.** (2007). Bioactivityguided fractionation for anti-inflammatory and analgesic properties and constituents of *Xanthium Strumarium* L. *Phytomedicine*, 14(12), 825-9.
- HARBORNE J. B.** (1989). General Procedures And Measurement Of Total Phenolics. In J. B. Harborne (Ed.). *Methods In Plant Biochemistry*: London: Academic Press. Volume Plant Phenolics: 1–28.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- HENNEBELLE T, SAHPAZ, S, SKALTSOUNIS, A.L. AND BAILLEUL, F.** (2007). Phenolic Compounds And Diterpenoids From *Marrubium Peregrinum*. *Biochem. Syst. Ecol.*, (35): 624-626.
- KAPELLAKIS I. E, TSAGARAKIS, K.P, CROWTHER, J. C.** (2008). Olive Oil History, Production And By-Product Management *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* (7), 1 – 26.
- KEHILI HE, ZERIZER S, BELADJILA KA, KABOUCHE Z.** (2016). Anti-inflammatory effect of Algerian date fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Agric. Immunol.* 27 (6): 820–829.
- KHAN YH, HADI, SM, MOHAMMAD, RM ET AZMI, AS.** (2020). Activité Anticancéreuse Prooxydante Des Composés Polyphénoliques Dérivés De Plantes: Un Phénomène Sous-Estimé. Dans *Functional Foods In Cancer Prevention And Terapy* (Ed. Kabir, Y.) 221–236 .
- KHOUMERI L.** (2009). Influence De La Photopériode, Des Milieux De Culture Et Des Hormones De Croissance Sur Le Développement In Vitro Des Embryons Et Des Microboutures De L'olivier (*Olea Europaea L.*) *Var.Chemlal. Mémoire Ing*, 100 P.
- KIRITSAKIS A. & SHAHIDI, F.** (2017). Olives And Olive Oil As Functional Foods: Bioactivity, Chemistry And Processing 279–294.
- LI H.B, CHENG K.W, WONG C.C, FAN K.W, CHEN F. AND TIAN Y.** (2007). Evaluation Of Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content Of Different Fraction Of Selected Microalgae. *Food Chem.*, (102): 771-776.
- LUTWIN B, FIESTAS ROS DE URSINOS J, A, GEISSEN K, KACHOURI M, KLIMM E, De Ladorde Monpezat G, Xanthoulis D.** (1996). Les Expériences Méditerranéennes Dans Le Traitement Et L'élimination Des Eaux Résiduares Des Huileries D'olives, Editions (GTZ) GmbH, Eschborn. République Fédérale d'Allemagne.
- MACHEIX J.J, FLEURIET A. AND P. SARNI-MANCHADO.** (2006). Composés énoïques Dans La Plante - Structure, Biosynthèse, Répartition Et Rôles. *Les Polyphénols En Agroalimentaire*. Lavoisier, Paris.
- MAHESH S. PASCHAPUR, M. B, RAVI KUMAR AND SACHIN R.** (2009). Evaluation of anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Borassus flabellifer L.* male flowers (inflorescences) in experimental animals PP 50-51.
- MEDZHITOV R.** (2010). Inflammation (2010): New Adventures Of An Old Flame. *Cell.* 140(6) : 771-6.
- MORILLO JA, ANTIZAR-LADISLAO B, MONTEOLIVA-SAÑCHEZ M, RAMOSCORMENZANA A, RUSSEL.** (2009). Les processus d'extraction de l'huile d'olive.
- MORÓN MC, POZO-MORALES, L, BENITO MORA, C, GARVI, D. & LEBRATO, J.** (2019). Outil De Contrôle Des Déversements OMW Basé Sur Le Suivi Du P-Coumaric Dégradation Acide Par HPLC. *Environ. Technol.* 40 Pp.
- NATHAN C ET DING A.** (2010). Nonresolving Inflammation. *Cell.* 140(6) : 871-82.
- NDIAYE M, SY GY, DIEYE AM, TOURE MT, FAYE B.** (2006) Evaluation De L'activité Anti-Inflammatoire De Feuilles D'*annona Reticulata* (Annonaceae) Sur L'œdème Aigu De La Patte De Rat Indidit Par La Carragénine Pp. 179-186.
- NEFZAOUI A.** (1991). Contribution A La Rentabilité De L'oléiculture Par Une Valorisation Optimale Des Sous-Produits. *Option Méditerranéennes*, (16), 101-108.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Observatoire National Des Filières Agricoles Et Agroalimentaires (2016).

RODIS P.S, KARATHANOS V.T, MANTAZAVINO A. (2002). Partitioning Of Olive Oil Antioxidants Between Oil And Water Phases. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 50, 596-601.

SCIUBBA F. ET AL. (2020). Déchets Des Moulins A Huile: Une Source De Molécules Bioactives Pour La Croissance Des Plantes Et La Protection Contre Les Agents Pathogènes. *La Biologie.* 9(12), 450.

TZATHAS K, CHRYSAGI, E, LYBERATOS, G, VLYSSIDES, A. & VLYSIDIS. (2019) A. Prétraitement Des Déchets Des Moulins A Huile Pour L'extraction De L'huile Résiduelle Et Des Composés A Haute Valeur Ajoutée. *Déchets Biomasse Valoriz.* (11), 4025.

VEILLET S. (2010). Enrichissement Nutritionnel De L'huile D'olive : Entre Tradition Et Innovation. These De Doctorat En Sciences De L'Université d'Avignon Et Des Pays De Vaucluse. 153p.

WINTER CA, RISLEY GA, NUSS GW (1962). Carrageenan- induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 3:544–547.

TSAI DS, HUANG MH, TSAI JC, CHANG YS, CHIU YJ et al. (2015). Analgesic and antiInflammatory activities of rosataiwanensisnakai in mice. *J. Med. Food* 18 (5): 592–600.

XIA EQ, DENG G.F, GUO Y.J. & LI H.B. (2011). Biological Activities Of Polyphenols From Grapes. *International Journal Of Molecular Sciences,* 11(2), 622-646.

YESILADA Ö. (1999). Traitement Des Eaux Usées Du Moulin A Huile D'olive Avec Des Champignons. *Journal Turc De Biologie,* 23 (2), 231-240.

ZBAKH H, EL ABBASSI A. (2012). Potential Use Of Olive Mill Wastewater In The Preparation Of Functional Beverages: A Review. *J Funct Foods,* (4), 53-65.

ZHU ZZ, MA KJ, RAN X, ZHANG H, ZHENG CJ, et al. (2011). Analgesic, antiinflammatory and antipyretic activities of the petroleum ether fraction from the ethanol extract of *Desmodium podocarpum*. *Journal of Ethnopharmacology* 133(3) : 1126-1131.

ZIOGASV, TANOU G. B, MOLASSIOTIS, A. A DIAMANTIDIS G. B ET VASILAKAKIS M. (2010). Activités antioxydantes et anti-radicaux libres des extraits phénoliques d'olives. *Food, Chem.* 120 :1097-1103.

المخلص

تطلق صناعة الزيتون كمية كبيرة من نفايات الزيتون السائل في البيئة دون معالجة مسبقة. تسبب هذه المخلفات تلوث البيئات الطبيعية بسبب ثرائها بالمركبات الفينولية. يركز هذا العمل على تحديد المركبات الفينولية، أي متعدد الفينول والعفص القابلة للتحلل المائي والمكثف والفلافونول، ثم تقييم الأنشطة البيولوجية للمرجان الخام من خلال ثلاثة اختبارات. كمية مضادات الأكسدة الإجمالية لتنظيف الشق الحر DPPH وتظهر النتائج البارزة في ثراء متعدد الفينول ، والفلافونول والعفص القابل للتحلل ، بالنسبة للقدرة لمضاد الالتهاب كان هناك تثبيط بنسبة 100% في حجم ساق الفران المعالجة بالجرعتين الثانية والثالثة بالمستخلص الخام للمرجان.

الكلمات المفتاحية: مرجان الزيتون - التلوث - المركبات الفينولية - نشاط مضادات الأكسدة- نشاط مضاد الالتهاب.

Résumé

L'industrie oléicole rejette une quantité considérable de déchets oléicoles liquides dans l'environnement sans traitement préalable. Ces résidus provoquent une pollution des milieux naturels due à leur richesse en composés phénoliques. Ce travail cible le dosage des composés phénoliques à savoir les polyphénols, les tanins hydrolysables et condensés et les flavonols ensuite à évaluer les activités antioxydantes des margines bruts à travers trois tests : la capacité antioxydante totale, le piégeage du radical DPPH et la réduction du fer. Les résultats marquants montrent la richesse en polyphénols, flavonols et tanins hydrolysables et un potentiel de réduction du DPPH élevé. L'activité anti-inflammatoire pour la dose 3 de l'extrait souligne un pourcentage d'augmentation de l'œdème (%AUG) significatif aboutissant à la disparition totale de l'œdème à partir de la 4^{ème} heure. Pour le pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH), les doses 2 et 3 donnent 100% du taux d'inhibition de l'inflammation à la 6^{ème} heure avec guérison totale de l'œdème.

Mots clés : Margine – pollution - composés phénoliques –activité antioxydante- activité anti-inflammatoire.

Abstract

The olive industry releases a considerable amount of liquid olive waste into the environment without prior treatment. These residues cause pollution of natural environments due to their rich phenolic compounds. This work focuses on the identification and determination of phenolic compounds, namely polyphenols, hydrolysable and condensed tannins and flavonols and then to evaluate the biological activities of raw margins through three tests: total antioxidant capacity, trapping the DPPH radical and reducing iron. The striking results show polyphenols flavonols and hydrolysable tannins and a high DPPH reduction potential The anti-inflammatory activity for dose 3 of the extract highlights a significant (%AUG) leading to the total disappearance of edema from the 4th hour. For the %INH (% edema inhibition) doses 2 and 3 give 100% of the rate of inflammation inhibition at the 6th hour with total recovery of edema.

Keywords: Margine – pollution - phenolic compounds – antioxidant activity- anti-inflammatory activity.