

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 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 d'Agronomie



MÉMOIRE

Présenté par

AMRAOUI Meriem

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Nutrition & Pathologie

Thème

CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES DES SOUS-PRODUITS OLEICOLES DES HUILLERIES (SPO) DE LA WILAYA DE TLEMCEN

Soutenu le 23 /09/ 2024, devant le jury composé de :

Présidente	NAS Fatima	Maitre de Conférences	Université de Tlemcen
Encadreur	BADID Naima	Maitre de Conférences	Université de Tlemcen
Examinatrice	MEDJDOUB Houria	Maitre de Conférences	Université de Tlemcen

Année universitaire 2024 – 2025

DEDICACES

Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce travail à :

Mon cher Papa pour ses encouragements, son soutien, sa générosité et ses conseils qui m'ont été d'une très grande aide.

Ma chère Maman pour son amour inestimable, sa confiance, son soutien et ses sacrifices.

Ma seule sœur Marwa « My Candy », et mes frères Zakaria et Mohammed, merci à vous pour toute l'aide que vous m'avez donnée.

La personne la plus proche, mon amie de cœur Sarah pour son Soutien moral et ses conseils.

Et tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir dans les moments difficiles. Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et le fruit de votre soutien infaillible.

REMERCIEMENTS

*Tout d'abord, nous remercions le bon Dieu qui nous a donné la force
et le courage d'accomplir cette œuvre.*

Je tiens à remercier mon professeur, **D^rBADID Naima**, Maitre de Conférences au département de Biologie, Faculté SNVSTU, Université de Tlemcen.

Merci pour votre présence et votre encadrement efficace. Je vous remercie pour votre compréhension et votre grande gentillesse ainsi que pour la confiance que vous nous avez témoignées tout au long de cette étude, vous avez toujours été là pour nous guider.

Mes vifs remerciements s'adressent aux membres du jury :

D^r MEDJDOUB Houria, Maitre de Conférences au département de Biologie, faculté SNVSTU, Université de Tlemcen. Je tiens à lui exprimer ma sincère gratitude pour son soutien et ses conseils pertinents et d'avoir accepté d'examiner ce travail de mémoire. Elle a su créer un environnement de travail motivant et encourageant, me permettant de donner le meilleur de moi-même.

D^r NAS Fatima, Maitre Assistante au département de Biologie, faculté SNVSTU, Université de Tlemcen. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance et remerciements d'avoir accepté de présider ce jury.

Je remercie également les ingénieurs des laboratoires pédagogiques de la faculté
SNV-STU de l'université de Tlemcen, particulièrement **M^r FEROUANI**
Miloud et **M^{me} ZAZOUA Leila** pour leur précieuse aide et soutien.

J'adresse également mes remerciements et ma reconnaissance à mes collègues et
à tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce
travail.

المخلص

تحتاج صناعة الزيت الزيتي إلى استخراج كميات كبيرة من المياه، مما يؤدي إلى تحرير كميات كبيرة من
مخلفات الطحين من الزيوت الغنية بالجزئيات النشطة بيولوجيًا. إن هذه الدراسة هي الاستخلاص
باستخدام مذيبين مختلفين من مركبات فينولية من نفس المنتجات الزيتية من الزيتون، بما في ذلك
جرعاتها في المستخلصات. من أجل تحسين أفضل عملية تجزئة، تم تحقيق استخلاص السائل السائل مع
خلات الإيثيل والبيوتانول. تم تحقيق جرعة الفينول بالكامل باستخدام الطريقة التي تستخدم
تفاعل FolinCiocalteu والحمض الذي يغلي كمياري داخلي ؛ سلوي الفلافونويدات بواسطة التقنية التي
تستقر على تكوين المجمعات الملونة بين الفلافونويدات وكلور الألومنيوم (AICI3) باستخدام الكاتشين
كتحكم إيجابي. مبدئيًا، بعد إحصائيات بدل الإقامة اليومي في تلمسان، تمثل سنة 2022 ارتفاعًا كبيرًا
في مخلفات الصناعة الزيتية

الكلمات المفتاحية: الزيت الزيتي المنتج - الاستخلاص - المذيبات - البوليفينول - الفلافونويدات

Résumé

L'industrie oléicole de l'huile d'olive nécessite lors de son extraction de grandes quantités d'eau, ce qui en conséquence libère d'énormes quantités des eaux résiduelles des moulins à huiles riches en molécules bioactives.

Le but de cette étude est l'extraction avec deux solvants différents des composés phénoliques des sous-produits oléicoles de l'olivier, ensuite leur dosage dans les extraits. Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode utilisant le réactif FolinCiocalteu et l'acide gallique comme standard interne ; celui des flavonoïdes par la technique qui repose sur la formation de complexes colorés entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$)

Mots clés : SPO – Extraction – Solvants - Polyphénols – Flavonoïdes.

Abstract

The olive oil industry requires large quantities of water during its extraction, which consequently releases huge quantities of wastewater from oil mills rich in bioactive molecules. The aim of this study is the extraction with two different solvents of phenolic compounds from the margins and then their dosage in the extracts. In order to optimize the best fractionation yield, liquid-liquid extraction with ethyl acetate and n-butanol was carried out. The dosage of total phenols was carried out by the method based on Folin Ciocalteu reagent using gallic acid as an internal standard; that of flavonoids by the technique which responds to the composition of color complexes including flavonoids and aluminum chloride

(AlCl₃), **Keywords:** SPO – Extraction – Solvents – Polyphenols – Flavonoids.

TABLES DES MATIERES

Dédicaces	
REMERCIEMENTS	
الملخص.....	
Résumé	
Abstract.....	
TABLES DES MATIERES	
LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES PHOTOS	
INTRODUCTION GENERALE	
Introduction générale	1
PREMIERE PARTIE <i>Synthèse bibliographique</i>	4
CHAPITRE 1 <i>Généralité sur la production oléicole</i>	4
I. Industrie oléicole.....	4
1. L'olivier	4
2. Classification botanique	4
3. La Production Oléicole dans le monde	5
4. La production oléicole en Algérie.....	6
5. Méthode d'extraction d'huile d'olive	6

II. Sousproduit oléicole de l'olivier	10
1. Définition.....	10
2. Caractéristiques physico- chimiques	11
CHAPITRE 2 Les composés phénolique.....	13
I. Généralité.....	11
1. Définition.....	11
2. Classification	11
II. Les composés phénoliques majeur des SPOs	12
III. Rôle des polyphénols	15
IV. L'effet anti oxydant.....	14
V. L'effet anti inflammatoire.....	14
CHAPITRE 3 <i>Implication des polyphénols en pathologies nutritionnelle</i>	14
1. Inflammations	16
2. Le diabète	16
3. Les pathologies neurodégénératives	17
DEUXIEME PARTIE <i>Méthodologie de recherche Expérimentale</i>	17
1. Échantillonnage	19
2. Extraction des composés phénoliques	20
2.1 Extraction des composés phénoliques.....	20
2.2 Extraction des composés phénoliques.....	20
3. Analyse phytochimique.....	22
3.1 Dosage des polyphénols totaux.....	22

3.1.1 Le principe	22
3.1.2 Mode opératoire	22
3.1.3 Préparation des solutions	22
3.2 Dosage de flavonoïde	24
3.2.1 Principe	24
3.2.2 Mode opératoire	24
3.2.3 Préparation des solutions	24
4. Evaluation de l'activité antioxydante	26
4.1 Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRP	26
4.1.1 Principe	26
4.1.2 Mode opératoire	26
4.1.3 Préparation des solutions	26
TROISIEME PARTIE <i>Résultats et discussion</i>	29
1. Présentation du produit objet.....	30
1.1. Rendement industriel du sous-produit	30
1.2 Extraction liquide- liquide	30
2. Analyse quantitative des composés phénoliques dans	31
3. Analyse quantitative des flavonoïdes dans les extraits.....	32
4. Pouvoir Réducteur du fer	Erreur ! Signet non défini.
.....	Erreur ! Signet non défini.
4.3.....	Erreur ! Signet non défini.
4.4.....	Erreur ! Signet non défini.

4.5. Effet de l'acide ascorbique	Erreur ! Signet non défini.
4.6. Calcul de la concentration	33
Conclusion	35
Conclusion et perspectives	36
Références bibliographiques	37

LISTE DES ABREVIATIONS

SPO : Sous- produits oléicoles

SPO : Sous-produit oléicole M1
M1

SPO : Sous-produit oléicole M2
M2

C O I : Conseil Oléicole International

CP : Composés Phénoliques

Na₂CO₃ : Carbonates de sodium
3

AE : Acétate d'éthyle

BUT /B : Butanol

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

NaNO₂ : Nitrite de sodium
2

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

NaOH : D'hydroxyde de sodium

FRP : Ferricreducing power

Fe³⁺ : Ions ferriques

Fe²⁺ : Ions ferreux

TCA : Acide trichloracétique

K₃Fe : Ferricyanure de potassium

FeCl₃ : Chlorure ferrique

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	P.
Tableau 1 :	Situation botanique de l'espèce <i>Olea europea</i>	4
Tableau 2 :	Implication des polyphénols en pathologies nutritionnelles.....	17
Tableau 3 :	Rendement moyen des extractions liquides-liquides des extraits.	32
Tableau 4 :	Valeurs des EC ₅₀ enregistrées (mg/mL).....	41

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	P.
Figure 1	Processus d'extraction de l'huile d'olive et principaux sous-produits obtenus.	7
Figure 2	Composition chimique de SPO.	9
Figure 3	Classification des composés phénoliques majeurs.	12
Figure 4	4 structures des composés phénoliques présents dans les SPOs.	13
Figure 5	Processus d'extraction des polyphénols SPO-1.	22
Figure 6	Processus d'extraction des polyphénols SPO-2.	23
Figure 7	Protocole utilisé pour le dosage de polyphénol totaux.	25

Figure 8	Protocole utilisé pour le dosage de flavonoïde.	27
Figure 9	Protocole d'évaluation du pouvoir antioxydant (FRP).	29
Figure 10	Taux de production de SPOs par année au niveau de la wilaya de Tlemcen (D.S.A., 2023)	31
Figure 11	Courbe d'étalonnage à l'acide gallique pour dosage des phénols totaux	32
Figure 12	Teneurs en phénols totaux dans les extraits M1 en fonction des solvants utilisés (EAC : Equivalent en acide gallique, MS : matière sèche	34
Figure 13	Teneurs en phénols totaux dans les extraits M2 en fonction des solvants utilisés (EAC : Equivalent en acide gallique, MS : matière sèche	34
Figure 14	Courbe d'étalonnage à la catéchine pour dosage des flavonoïdes	35
Figure 15	Teneurs en flavonoïdes dans l'extrait M1 en fonction des solvants utilisés (EC : Equivalent en catéchine, MS : matière sèche)	35
Figure 16	Teneurs en flavonoïdes dans l'extrait M2 en fonction des solvants utilisés (EC : Equivalent en catéchine, MS : matière sèche	36
Figure 17	Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait Acétate d'éthyle –M1	38
Figure	Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en	38

18	fonction des concentrations de l'extrait Acétate d'éthyle –M2	
Figure 19	Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait n-butanol –M1	39
Figure 20	Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait n-butanol –M2	39
Figure 21	Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'Acide ascorbique	41

LISTE DES PHOTOS

Numéro	Titre	P
Photo 1 :	SPO M1.....	19
Photo 2 :	SPO M2.....	19
Photo 3 :	SPO sèche.....	19
Photo 4 :	Etape d'homogénéisation des deux sous-produits : SPO1 (a) et SPO2 (b)	21
Photo 5 :	Phases de décantation des deux sous-produits : SPO1 (a) et SPO2 (b)	21

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction générale

La culture de l'olivier (*Olea europaea.*) pour la fabrication de l'huile d'olive est l'une des activités agricoles les plus anciennes de l'humanité. L'huile d'olive est un ingrédient essentiel du régime méditerranéen en raison de sa haute valeur nutritionnelle et de ses bienfaits pour la santé. L'olivier est principalement cultivé dans la région méditerranéenne parmi dont notre pays l'Algérie, l'Europe et le Moyen-Orient (**Sygouniet al., 2019**).

Le processus de fabrication de l'huile d'olive génère généralement de grandes quantités de deux résidus dits coproduits (déchets) ; l'un solide (grignons) et l'autre liquide (eaux usées du moulin à huile) Sous-produit oléicole« SPO» souvent produit 20 % d'huile, 30% de grignons et 50% de SPO(**Visioliet al., 1999**).

Les sous-produit oléicoles (SPO) sont riches en composés phénoliques, ce qui les rend potentiellement toxiques pour l'environnement, affectant l'air, les micro-organismes et les plantes. La gestion appropriée de ces déchets constitue donc un défi en raison de leur coût élevé et de leurs impacts environnementaux. Cependant, il existe un intérêt croissant pour la réutilisation durable des déchets alimentaires, y compris les SPO. Les composés phénoliques contenus dans les SPO possèdent des effets biologiques bénéfiques bien documentés, telles que des propriétés anti-inflammatoires, anti-angiogénique. Par conséquent, la récupération de ces polyphénols bioactifs à partir des sous-produits de la chaîne alimentaire représente une opportunité significative en termes de durabilité et de valorisation des ressources(**Cuffaroet al., 2023**).

Le présent travail s'intéresse à la valorisation des sous-produitsoléicoles (SPO) liquides par la préparation de différents extraits suite à l'utilisation de solvants de polarités différentes et l'évaluation de leur pouvoir antioxydant. Les expériences ont été faites au niveau des laboratoires pédagogiques de la faculté SNV-STU.

PREMIERE PARTIE
Synthèse bibliographique

CHAPITRE 1 Généralité sur la production oléicole

CHAPITRE 1

Généralité sur la production oléicole

I. Industrie oléicole

1. L'olivier

L'olivier, un arbre fruitier connu scientifiquement sous le nom (*Olea europaea*). subsp. *Europaea* var. *europaea*), est largement reconnu pour ses olives, des fruits polyvalents consommés de diverses manières, notamment sous forme d'huile d'olive, l'une des principales huiles alimentaires. Cultivée depuis des millénaires, cette variété est principalement établie dans les régions au climat méditerranéen, provenant d'une sous-espèce d'*Olea europaea*, une espèce appartenant à la famille des Oléacées, qui comprend des arbres et des arbustes.

Classé parmi les fruits les plus riches en composés antioxydants, l'olive est botaniquement une drupe, caractérisée par sa forme ellipsoïdale et sa peau lisse. Son mésocarpe, charnu et gras, enveloppe un noyau ligneux contenant une graine, sa forme ovoïde étant distinctive. Initialement verte, elle vire au noir à pleine maturité dans la plupart des variétés. Dans l'hémisphère nord, elle atteint sa maturité entre octobre et décembre. Les scientifiques et les économistes portent de plus en plus d'attention à ce fruit et à son huile pour leur haute valeur diététique et leur abondance en antioxydants phénoliques (Kader, 2002.)

2. Classification botanique

Tableau 1 : Situation botanique de l'espèce *Olea europea* .(Kader, 2002).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Oleaceae

Genre	Olea
Espèce	<i>Olea europaea</i>

3. La Production Oléicole dans le monde

Les oliviers s'étendent sur plus de 11 millions d'hectares dans 47 pays répartis sur les cinq continents. Ils sont cultivés dans les deux hémisphères, permettant ainsi deux périodes de récolte : entre octobre et avril dans l'hémisphère Nord, et entre avril et juillet dans l'hémisphère Sud. Malgré cette répartition, la majeure partie, soit 98 % de la production mondiale, est concentrée dans le bassin Méditerranéen. Environ 12 000 huileries existent à travers le monde, avec plus de 80 % utilisant des systèmes de centrifugation. L'huile d'olive est aujourd'hui consommée dans plus de 160 pays.

En 2012, la production et la consommation d'huile d'olive ont atteint respectivement 3,1 millions de tonnes, représentant 1,7 % des 184 millions de tonnes de matières grasses comestibles (dont 24 millions de tonnes d'origine animale). Ce secteur économique stratégique joue un rôle de premier plan à l'échelle internationale, caractérisé par des dynamiques spécifiques de production et de consommation. **(Anonyme Étude internationale sur les coûts de production de l'huile d'olive – 2015).**

4. La production oléicole en Algérie

L'Algérie est l'une des principaux pays méditerranéens dont le climat est des plus propices à la culture de l'olivier. La culture de l'olivier revêt une grande importance pour l'Algérie et elle constitue une source de subsistance pour plusieurs familles.

Représentant 45 pour cent de la superficie totale des arbres fruitiers, ce qui la place au premier rang national dans ce domaine, les capacités de production étant réparties sur l'ensemble du territoire national.

La superficie plantée d'oliviers est de 440 mille hectares, avec une production supérieure à 100 millions de litres d'huile d'olive pour la saison 2023. Ainsi, l'Algérie occupe la quatrième place mondiale en termes de production d'olives de table et la septième place en matière de production d'huile d'olive

5. Méthode d'extraction d'huile d'olive

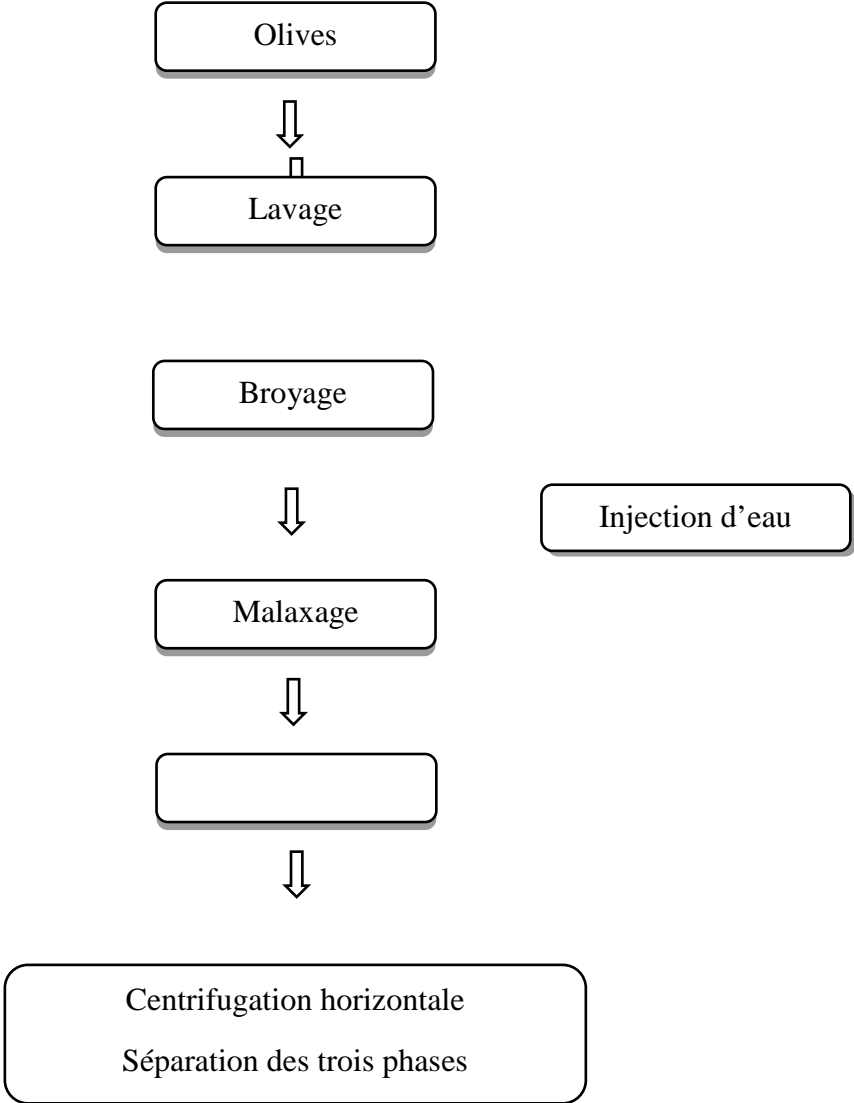
L'huile d'olive est très appréciée pour sa saveur caractéristique qui est fortement influencée par plusieurs paramètres tels que : la maturité des olives, la variété de ces dernières, les techniques culturales et le mode d'extraction.

Les différentes étapes de leur extraction comprennent trois processus principaux : le concassage, le malaxage et la centrifugation. Après le lavage, les olives sont broyées dans le seul but de faciliter la libération des gouttelettes d'huile, qui formeront ensuite des gouttes plus grosses par le processus de malaxage. Traditionnellement, la phase de malaxage consiste en un lent mélange de la pâte d'olive à des températures allant de 27 à 32 °C, pendant 30 à 60 min, selon la matière première, qui peut être plus facilement séparée (Ferroet al., 2023)

Le processus de production de l'huile d'olive génère généralement deux types de résidus considérés comme des déchets : l'un est solide, appelé grignons, et l'autre est liquide, connu sous le nom Sous-produit oléicole (SPO) (Visioliet al., 1999). Ces résidus sont souvent produits dans les proportions suivantes : environ 20 % d'huile, 30 % de grignons et 50 % de SPO

(Figure 1).

Les grignons sont des résidus issus soit du processus traditionnel de première pression des olives, soit du processus continu de centrifugation. Ils sont constitués de peaux, de résidus de pulpe et de fragments de noyaux, contenant encore une certaine quantité d'huile appelée huile de grignons. Cette quantité d'huile varie en fonction de la méthode d'extraction chimique utilisée (Nefzaoui., 1991).



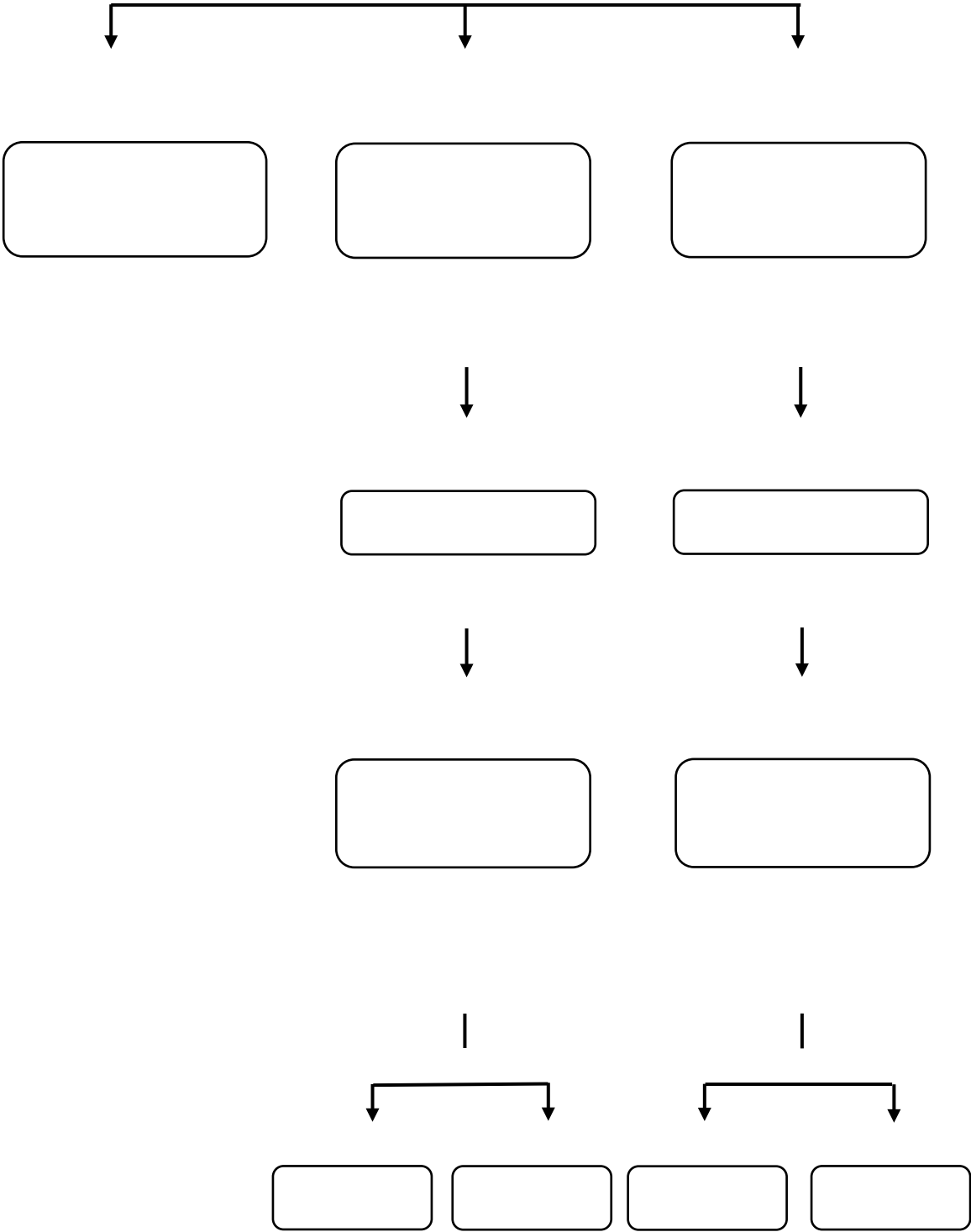


Figure 1 : Processus d'extraction de l'huile d'olive et principaux sous-produits obtenus

(Ayadiet al., 2014)

II. Sous-produit oléicole de l'olivier

1. Définition

Le SPO est un liquide brun foncé avec un pH variant entre 3 et 6. Il est constitué d'une émulsion stable comprenant de l'eau végétative, de l'eau ajoutée lors du traitement, des olives, des résidus d'huile et des fragments de pulpe d'olive.

La SPO, quant à elle, est principalement composée d'eau issue des olives (plus de 50 % des fruits) ainsi que d'eau ajoutée pendant le processus d'extraction. Sa composition varie selon la variété et le stade de maturité des olives, ainsi que selon le système utilisé pour l'extraction (pressage ou centrifugation). Par exemple, dans le processus d'extraction le plus courant, qui est la centrifugation dans les moulins à olives en trois étapes, la composition de la SPO peut être influencée. En moyenne, les eaux usées traitées contiennent environ 83,2 % d'eau, 1,8 % de sels inorganiques et 15 % de composants organiques, dont 7,5 % de sucres (Bottino et al., 2020).

Les eaux usées des moulins à huile sont un résultat inévitable du processus d'extraction de l'huile d'olive, et leur production est saisonnière et croissante. Leur volume a augmenté en parallèle avec la hausse de la consommation mondiale d'huile d'olive, passant d'environ 2,6 à 2,97 millions de tonnes (Cuffaro et al., 2023).

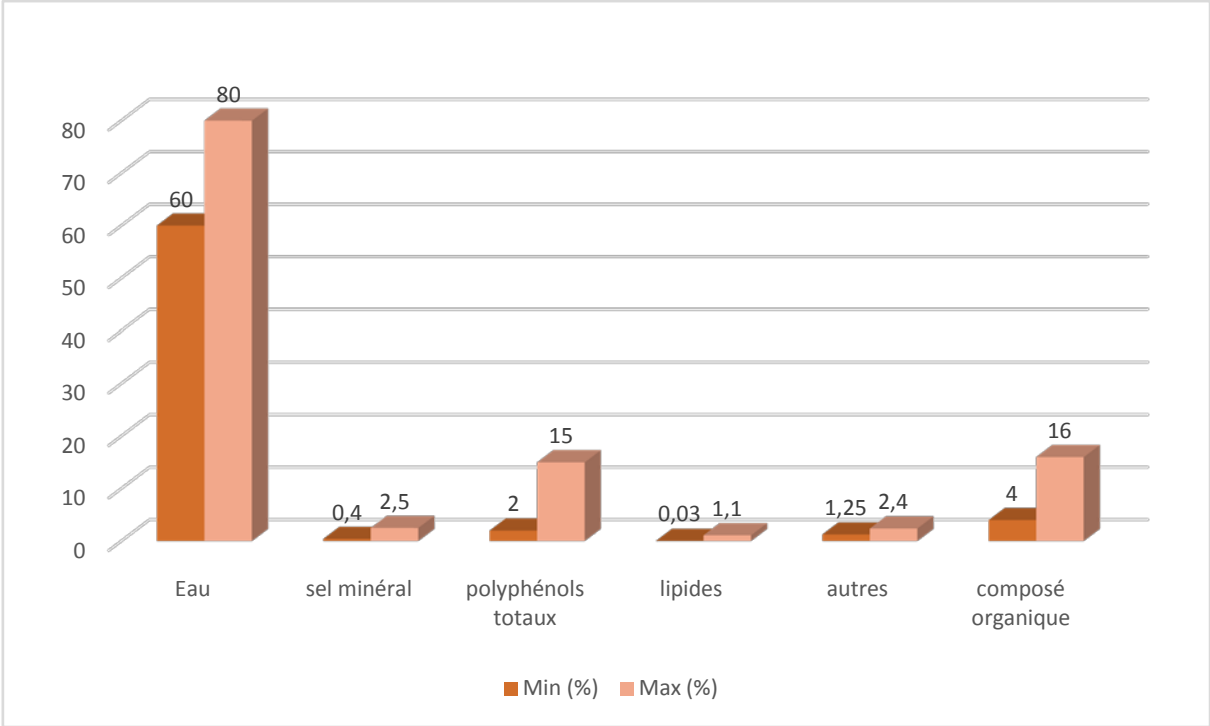
2. Caractéristiques physico- chimiques

La SPO se caractérisent par une teneur élevée en minéraux salins (0,4 à 2,5 %). Généralement, les SPO sont constitués de 2 à 15 % de la teneur totale en polyphénols, de 0,03 à 1,1 % de lipides et de 4 à 16 % de composés organiques, tels que des glucides (2 à 8 g/100 g), de la pectine, la lignine et les tanins.

Malheureusement, ces déchets aqueux représentent un problème environnemental crucial et ont été les déchets les plus polluants produits par les moulins à olives de la région méditerranéenne au fil des années. Souvent éliminés dans des bassins d'évaporation ou dans divers récepteurs environnementaux, les SPO provoquent des odeurs fortes, une infertilité des sols, une inhibition de la croissance des plantes, une pollution des cours d'eau naturels et de graves effets sur les eaux souterraines, la faune aquatique et l'état écologique.

Les composés phénoliques sont la principale cause de toxicité en raison de leur faible poids moléculaire. Seuls 1 à 2 % du total des composés phénoliques produits lors du broyage de la pulpe d'olive restent dans la phase huileuse. En comparaison, environ 98 % sont perdus dans les SPO.

Cependant, ces composés phénoliques possèdent des effets biologiques bénéfiques bien documentés, tels que des propriétés anti-inflammatoires, anti-angiogéniques et chimio-préventives. Par conséquent, la récupération de ces polyphénols bioactifs à partir des sous-produits de la chaîne alimentaire représente une opportunité significative en termes de durabilité et de valorisation des ressources (Al-hmoudet al., 2020).



CHAPITRE 2

Les composés phénolique

I. Généralité

1. Définition

Les composés phénoliques sont des composés naturels exclusivement synthétisés par les plantes, connus par leur composition chimique basée sur les substances phénoliques et par leurs propriétés antioxydantes. Ils sont principalement trouvés dans les fruits, les légumes, le thé vert et les céréales complètes. Ces molécules sont constituées d'au moins deux cycles phényle et de substituants hydroxyle, formant un groupe varié de composés phénoliques.

Les polyphénols sont classées en deux grandes catégories : les flavonoïdes et les nonflavonoïdes, chacune comprenant plusieurs sous-classes définies par leur structure moléculaire, le nombre d'unités phénoliques et les types de liaisons entre ces unités. Dans les plantes, les polyphénols sont largement distribués dans les tissus végétaux, principalement sous forme de glycosides. Les flavonoïdes, parmi les polyphénols, sont le sous-groupe le plus significatif, partagent tous une structure de base de diphenylpropanes (C6-C3-C6), pouvant être se présentant sous forme de glycosides ou d'aglycones dans leur état naturel(Singlaet al., 2019).

2. Classification

A ce jour, environ 8 000 de type de polyphénols ont été répertoriés dans la littérature scientifique. Ces composées se classent en diverses catégories, telle que les acides phénoliques (acide hydroxy-benzoïdes et hydroxy-cinnamique), les flavonoïdes (flavanols, flavones, isoflavones, anthocyanes, flavanones), les stilbènes (comme le resvératrol et le picéatannol, les lignanes comme le sésamol, le pinorésinol, le sinol et lentérodol, ainsi que d'autre comme les tannin (hydrolysables, et non hydrolysables et condensés), les lignines, les

xanthones, les chorones, et les anthraquinones. (La **figure 3**) illustre la classification des polyphénols.

Ces composés, abondamment présents dans notre alimentation, sont des métabolites secondaires dérivés principalement de l'acide phénolique, des catéchines, des flavones et des isoflavones (Shweta et al., 2021).

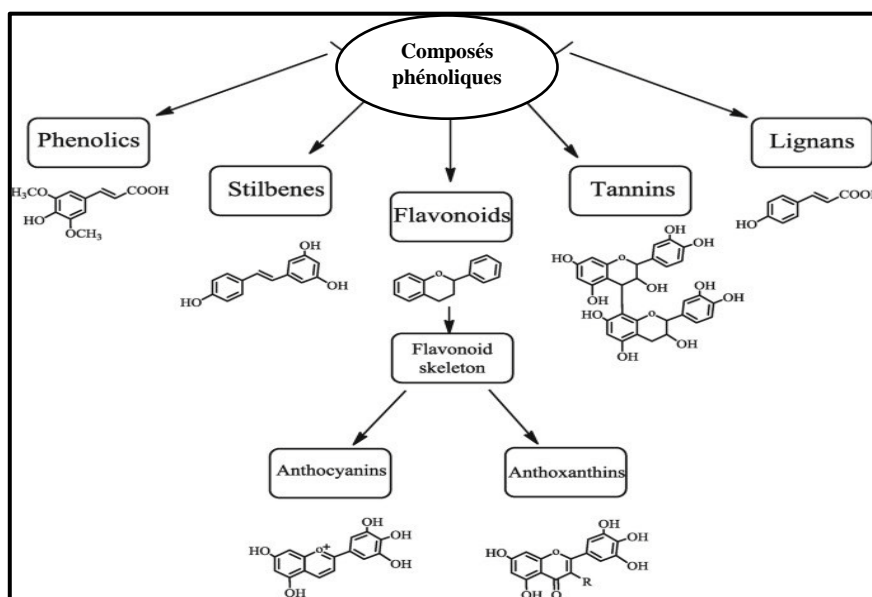


Figure 3 : Classification des composés phénoliques majeurs.

II. Les composés phénoliques majeur des SPOs

Les polyphénols jouent un rôle crucial dans le maintien de la santé en régulant divers aspects tel que le métabolisme, l'obésité, les maladies chroniques et la croissance cellulaire. L'huile d'olive de SPOs contient au moins 30 types de polyphénols, parmi lesquels :

- **Hydroxytyrosol (HT) :** Parmi les polyphénols les plus abondants dans les SPO, il agit comme un puissant antioxydant avec des effets bénéfiques sur l'inflammation, la protection cardiovasculaire et neuroprotectrice.

- **Tyrosol (TYR)** : Un composé phénolique présentant des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoire et antimicrobiennes, étant un procureur de l'HT.
- **Oleuropéine** : Un sécoiridoïde glycosylé qui possède des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes.
- **Verbascoside** : Un glycoside phénylpropanoïdes reconnu pour des propriétés antioxydantes, anti inflammatoire et neuroprotectrices.
- **Ligstroside** : Un polyphénol qui agit comme un antioxydant et anti-inflammatoire, soutenant également la santé cardiovasculaire.
- **Lutéoléine** : une flavone ayant des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoire et anticancéreuses documentés.

En outre, le SPOs peut contenir d'autres polyphénols tels que l'acide vanilline, l'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide chlorogénique, l'acide férulique et l'acide linoléique qui contribuent également à ses propriétés bénéfiques sur la santé (Albinet al., 2023).

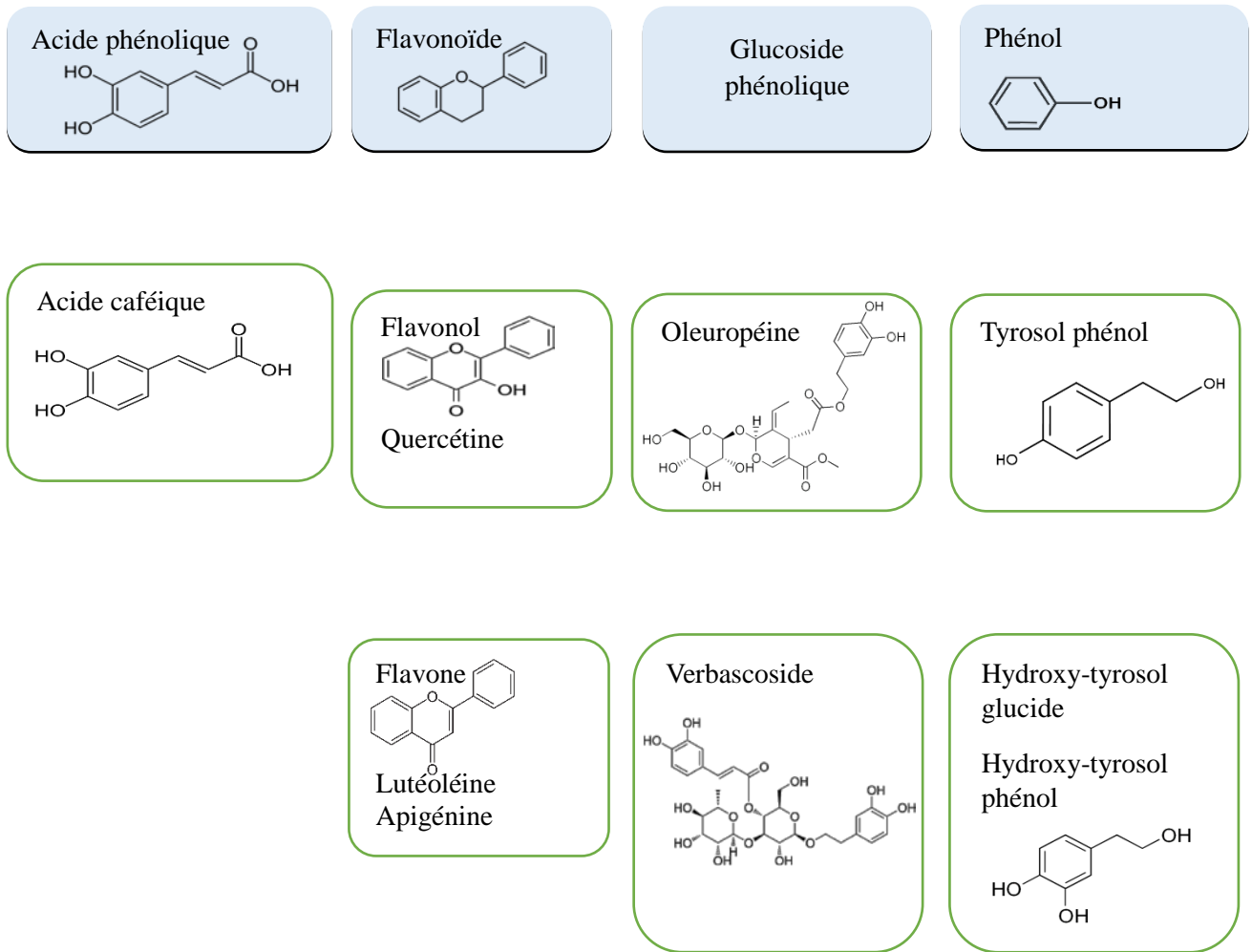


Figure 4 : Structures des composés phénoliques présents dans les SPOs.

III. Rôle des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent agir comme agents chimio-préventifs en influençant plusieurs mécanismes cellulaires essentiels. Ils modulent le cycle cellulaire, favorisent l'induction de l'apoptose (mort cellulaire programmée), et régulent des processus épigénétique. Ces actions sont cruciales pour la prévention des diverses maladies notamment en contribuant à la protection contre les dommages cellulaires et favorisant la santé globale à long terme en raison de leurs interactions avec des nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes

Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées : veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, et hépato-protectrice. **(Lecciet al., 2021)**. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire en augmentant la production d'oxyde nitrique, ce qui aide à maintenir la pression sanguine normale et à la prévenir la formation de caillots sanguins. De plus, leur capacité à limiter l'oxydation des lipides sanguins contribue à réduire la formation de plaques d'athérome dans les artères, aident ainsi à prévenir l'athérosclérose et les complications associées comme la thrombose **(Abu Bakaretet al., 2009)**.

IV. L'effet anti oxydant

Les propriétés antioxydantes des polyphénols et des métabolites secondaires dépendent de la construction chimique des groupes fonctionnels attachés, plus précisément, de la permutation des groupes fonctionnels autour de la structure nucléaire. Le nombre de résidu hydroxyle affecte grandement l'activité antioxydante en piégeant les RL et en perturbant la chélation des ions métalliques (**Heim et al., 2002 ; Liu et al., 2019**).

V. L'effet anti inflammatoire

L'effet de modulation immunitaire des polyphénols est soutenu par différentes études : Certains polyphénols ont un impact sur les populations de cellules immunitaires, modulent la production de cytokines et l'expression de gènes pro-inflammatoires.

Les polyphénols répriment les macrophages en inhibant la cyclooxygénase-2 (COX-2), l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS), réduisant ainsi la production de TNF- α , d'interleukine-1-bêta (IL-1- β) et d'expression d'IL-6 (De plus, les polyphénols, tels que le gingérol et la quercétine (**Varricchio E et al 2019**)).

De même, l'EGCG bloque l'activation κ dB NF κ B dans les cellules épithéliales humaines et régule à la baisse l'expression de l'iNOS, la production de NO dans les macrophages, ce qui entraîne son immuno-modulation.

CHAPITRE 3

Implication des polyphénols en pathologies nutritionnelles

1. Inflammations

L'inflammation est une réponse naturelle de l'organisme à une agression, régulée pour protéger les tissus. Cependant, une régulation défectueuse peut conduire à un état inflammatoire chronique, souvent observé dans des pathologies comme l'obésité, le diabète de type II, les maladies cardiovasculaires et le cancer, qui ont toutes une composante inflammatoire. Les études montrent que les polyphénols peuvent diminuer les marqueurs de l'inflammation et agir sur plusieurs cibles moléculaires au cœur des voies de signalisation inflammatoires.

Les polyphénols sont traditionnellement reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, mais des recherches récentes ont mis en lumière leur rôle en tant que modulateurs des voies de signalisation de l'inflammation. Des études sur des sujets en bonne santé ont montré qu'un régime riche en fruits et légumes est associé à une réduction des marqueurs inflammatoires comme la CRP et l'IL-6 dans le plasma, tandis que la consommation d'anthocyanes est liée à une diminution des cytokines circulantes telles que l'IL-8, l'IL-13 et l'IFN- α (Lenoir, 2011).

Des recherches in vitro ont spécifiquement montré que des flavonoïdes comme la lutéoline et l'apigénine inhibent la production de cytokines comme l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13, que la quercétine inhibe la production de TNF- α par des macrophages stimulés par le lipopolysaccharide (LPS), et que le kaempférol diminue l'expression et la sécrétion de TNF- α , IL-1 β et IL-6 dans les mastocytes. De plus, il est maintenant établi que les polyphénols exercent leur activité anti-inflammatoire en inhibant l'activation du facteur de transcription NF- κ B, à la fois in vitro et in vivo (Varricchio e, et al., 2019).

2. Le diabète

De nombreuses plantes médicinales sont traditionnellement utilisées pour traiter le diabète, et les polyphénols qu'elles contiennent sont considérés comme responsables de leurs effets thérapeutiques. Des études ont montré que

CHAPITRE 3 Implication des polyphénols en pathologies nutritionnelle

l'administration aiguë ou chronique de polyphénols peut influencer la glycémie de plusieurs manières : en inhibant l'absorption du glucose au niveau intestinal et en améliorant son assimilation par les tissus périphériques. Les anthocyanes diacylés, par exemple, sont connus pour induire une baisse de la glycémie. Divers composés comme la (épi)catéchine, l'épigallocatechine, le gallate d'épicatéchine, les isoflavones du soja et l'acide chlorogénique ont été étudiés pour leur capacité à inhiber les glycosidases intestinales, réduisant ainsi le transport intestinal du glucose. Des recherches *in vitro* ont également montré que les polyphénols peuvent augmenter l'absorption du glucose par les tissus périphériques. Par exemple, l'acide caféique ainsi que des extraits de thé vert et de thé noir ont démontré cette capacité. Les polyphénols peuvent agir sur les tissus périphériques de diverses manières pour réduire la glycémie, notamment en inhibant la gluconéogenèse, en modulant la réponse adrénergique à l'absorption du glucose, ou en stimulant la libération d'insuline par les cellules β du pancréas (Senani O et al., 2016).

3. Les pathologies neurodégénératives

Les pathologies associées au vieillissement cérébral, telles que la maladie d'Alzheimer, diverses formes de démence et la maladie de Parkinson, sont caractérisées par plusieurs changements cellulaires et moléculaires. Ces incluent une diminution du fonctionnement des mitochondries, l'apoptose des neurones, l'accumulation de protéines agrégées et le stress oxydant. Les antioxydants, notamment les polyphénols, pourraient jouer un rôle bénéfique dans ces maladies. Des études indiquent que des interventions alimentaires améliorent la mémoire et la cognition. Cependant, les propriétés antioxydantes seules des flavonoïdes présents dans ces aliments pourraient ne pas expliquer entièrement leurs effets bénéfiques sur le cerveau, surtout étant donné leur faible concentration à ce niveau. Les polyphénols pourraient également aider à prévenir diverses pathologies cérébrovasculaires. Des recherches récentes

CHAPITRE 3 Implication des polyphénols en pathologies nutritionnelle

montrent une corrélation entre la démence et la diminution du flux sanguin, avec une étude montrant qu'une consommation de flavanols de cacao augmentait le flux sanguin cérébral chez l'homme. En outre, la dégénérescence neuronale et l'inflammation sont également impliquées dans ces maladies. Ainsi, le potentiel protecteur des polyphénols dans le cerveau semble résider dans leur capacité à protéger les neurones contre les neurotoxines et l'inflammation, à activer la signalisation synaptique et à stimuler le flux sanguin. (Casamenti F.,2019).

Tableau 2 : Implication des polyphénols en pathologies nutritionnelles (Bennetau P.,2014).

<i>Pathologies</i>	<i>Composés phénoliques</i>	<i>Alimentations</i>
<i>L'Inflammation</i>	Lutéoline- l'apigénine- Quercétine	Feuille d'olive-SPO - Oignon Baies - Céleri.
<i>Le diabète</i>	Acide chlorogénique -acide caféique	Feuille d'olive - SPO- Pomme - l'avoine - café.
<i>Les pathologies neurodégénérative</i>	Acides hydroxy-benzoïques- Resvératrol-Curcumine- Myrtilles	Feuille d'olive- huile d'olive Thé vert - raisin rouge

DEUXIEME PARTIE

Méthodologie de recherche Expérimentale

1. Échantillonnage

LesSPOs utilisés dans cette expérimentation ont été réceptionnés à l'état liquide (aqueux et huileux) et stockée à -18°C jusqu'à son utilisation, afin d'éviter la polymérisation des composés phénoliques et l'auto-oxydation de l'échantillon.

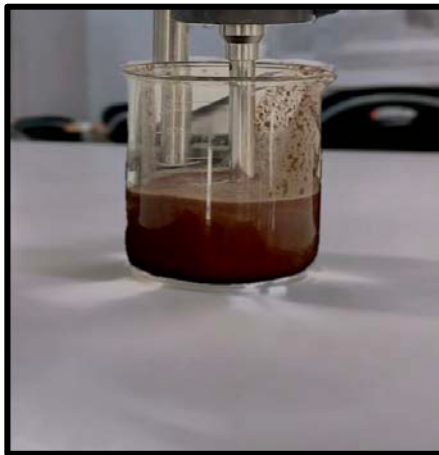


Photo 1 : SPO-M 1



Photo 2 : SPO-M 2



Photo 3 : SPO sèche

2. Extraction des composés phénoliques

2.1 Extraction des composés phénoliques à partir du sous-produit oléicole

M1

Le sous- produit oléicole de type 1 SPO-M1) (**Photo 4**) pendant 15 min à 6500 tour/min, suivie d'une filtration..

La phase aqueuse de cet extrait subit un premier lavage à l'acétate d'éthyle (AE), (v/v) pendant 30 minutes. Ainsi la phase AE est séparée de la phase aqueuse et est concentrée à l'évaporateur rotatif pour l'analyse des composés phénoliques.

Un deuxième lavage de la phase aqueuse est réalisé avec le n-butanol (But, v/v) pendant 30 minutes afin de récupérer la phase butanol pour l'évaluation des composés phénoliques à son niveau (**Figure 5**).

2.2 Extraction des composés phénoliques à partir du sous-produit oléicole

M2

Le sous- produit oléicole -M2 d'une filtration. Ensuite l'extrait filtré fait l'objet d'une délipidation à l'hexane (v/v), pendant une décantation de 30 minutes(**Photo 5b**). (**Figure 6**).



Photo 4 : SPO1 (a) et SPO2 (b)



Photo 5 : Phases de décantation des deux sous-produits : SPO1 (a) et SPO2 (b)

3. Analyse phytochimique

3.1 Dosage des polyphénols totaux

3.1.1 Le principe

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, l'absorption est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 700nm.

3.1.2 Mode opératoire

Une prise de 100 µl de l'extrait SPO 1et 2 (AE et B) dilué a été introduite dans des tubes à essais, additionné de 2mL de carbonate de sodium ($\text{Na}_2 \text{CO}_3$) à 2%. Les tubes sont agités et incubés durant 5 min à l'abri de la lumière et à température ambiante, ensuite 100 ul du réactif du Folin-Ciocalteu dilué une fois est ajouté suivi d'une incubation durant 5 min.

L'absorbance est mesurée à 700 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

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).

3.1.3 Préparation des solutions

Carbonate de sodium ($\text{Na}_2 \text{CO}_3$) 2% : 2g + éthanol complété à 100mL.

Acide gallique : 5 mg + éthanol complété a 10 mL.

Le réactif de Folin-Ciocalteu : 1mL de folin + 1mL eau distillé.

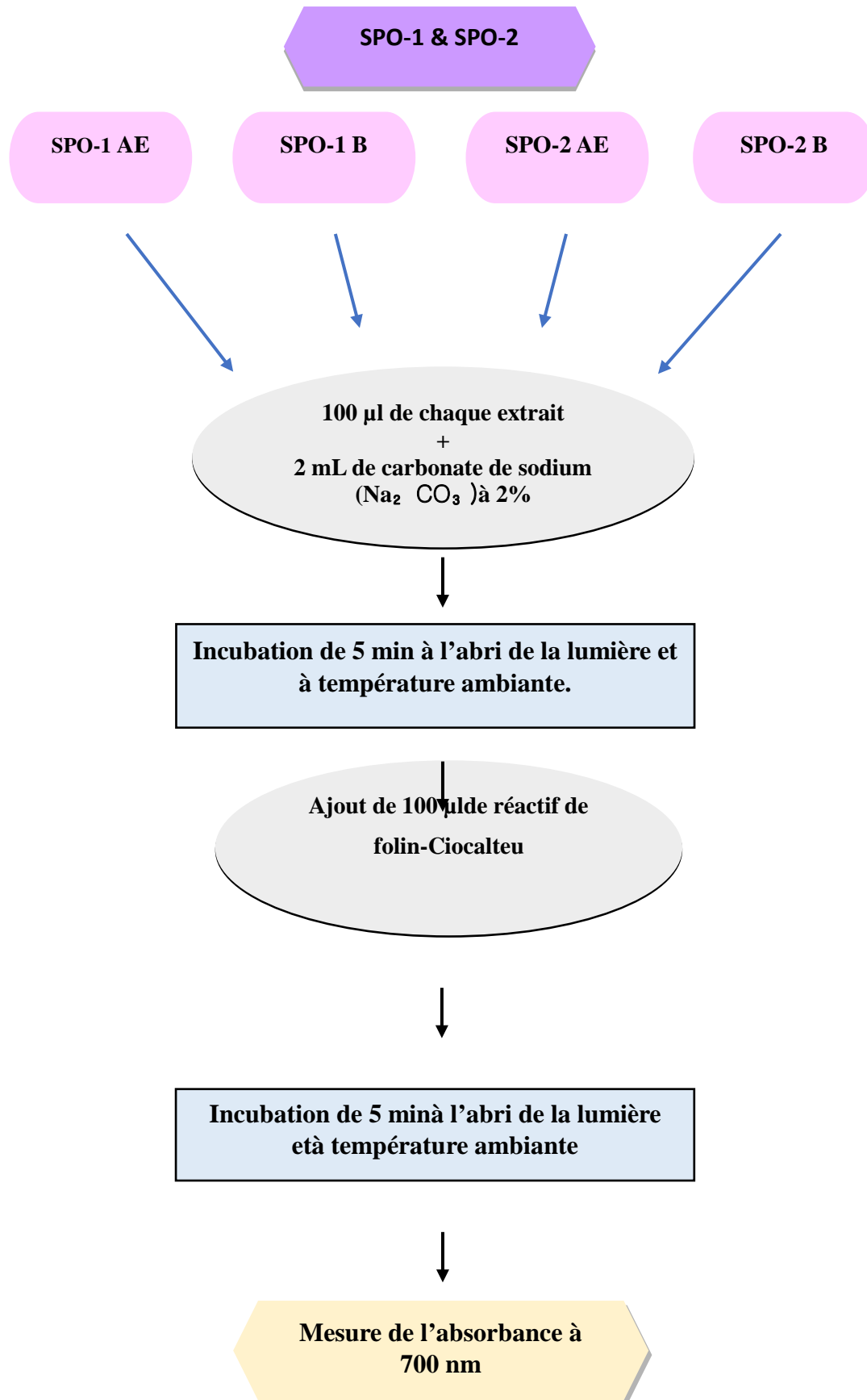


Figure 7 : Protocole utilisé pour le dosage des polyphénols totaux.

3.2 Dosage de flavonoïde

3.2.1 Principe

Selon le travail d'**Ardestani&Yazdanparast (2007)**, cette méthode repose sur la formation de complexes colorés entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium (AlCl_3). La couleur du complexe dépend du type de flavonoïde présent. L'intensité de la couleur est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible, ce qui permet de déterminer la quantité de flavonoïdes dans l'échantillon.

3.2.2 Mode opératoire

La mesure de l'absorbance se fait par spectrophotomètre en utilisant un blanc à une longueur d'onde de 510 nm.

Dans les mêmes conditions opératoires, une gamme d'étalonnage de la catéchine a été réalisée en parallèle à différence concentration. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

3.2.3 Préparation des solutions

Catéchine : 5 mg ajusté 10 mL eau distillée.

AlCl_3 : 10 g ajusté à 100 mL eau distillée.

NaNO_2 : 15 g ajusté à 100 mL eau distillée.

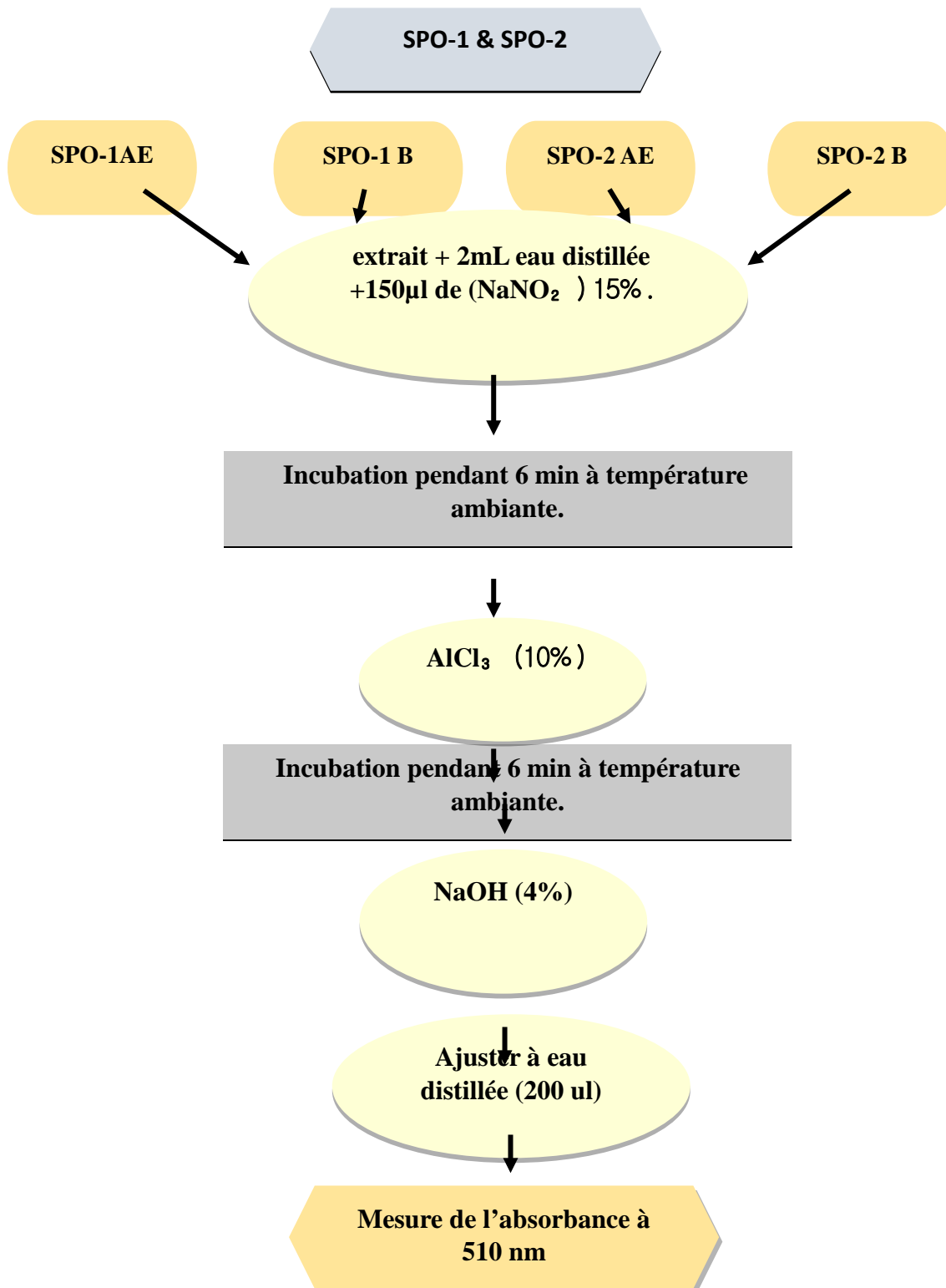


Figure 8 : Protocole utilisé pour le dosage des flavonoïdes.

4. Evaluation de l'activité antioxydante

4.1 Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRP

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode du pouvoir réducteur de l'extrait connu par Ferricreducing power (FRP).

4.1.1 Principe

La méthode de réduction de fer « FRP » est une technique qui permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (Oyaizu, 1986).

4.1.2 Mode opératoire

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc préparé semblablement en remplaçant l'extrait par l'éthanol.

4.1.3 Préparation des solutions

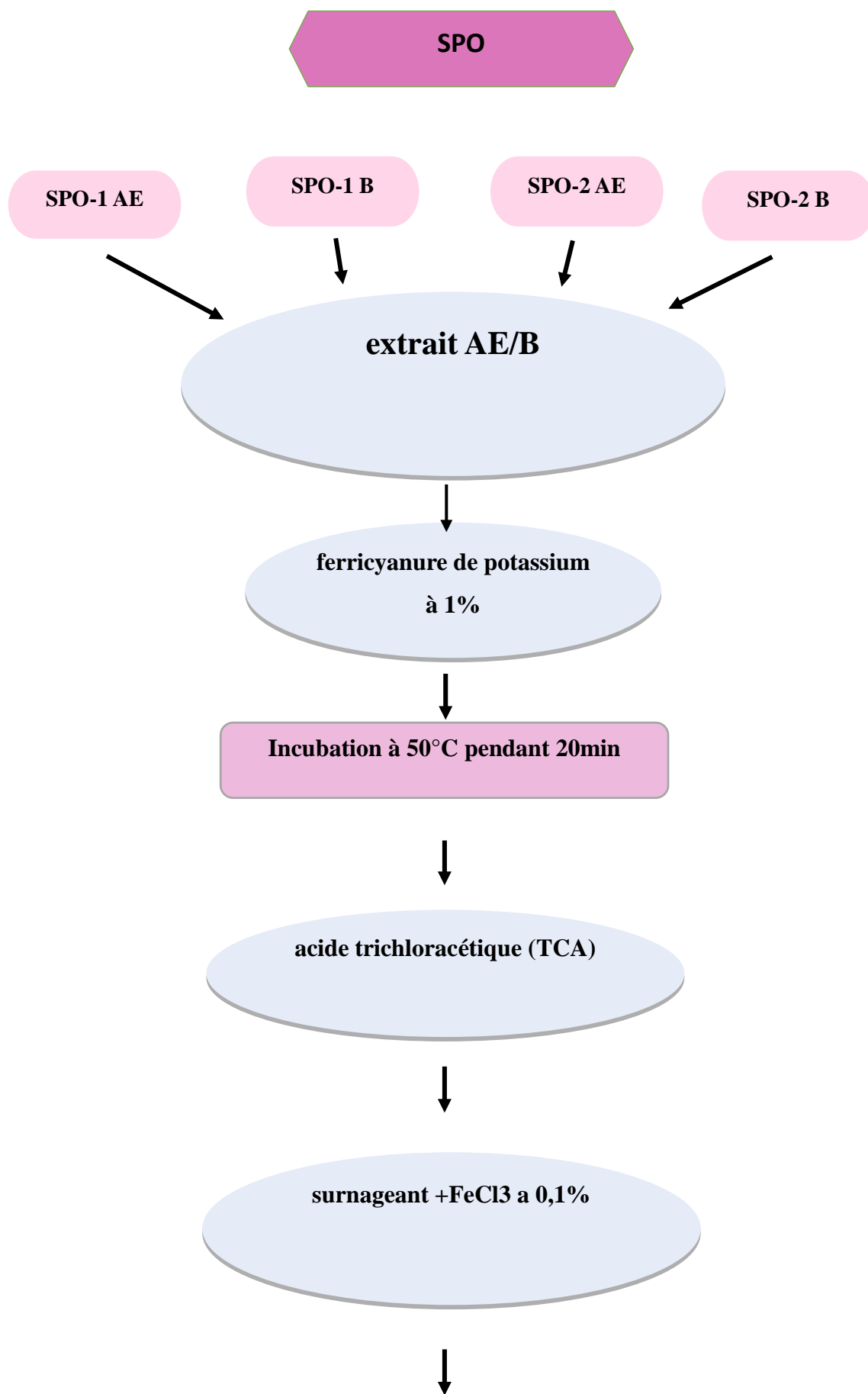
Solution tampon de phosphate 0,1M ; pH= 6,6 :

- 1 litre d'acide NaH_2PO_4 , 0,1M ; 1 litre de Na_2HPO_4 , 0,1M (v/v)

Solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%

Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%

Solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl_3 à 0,1%



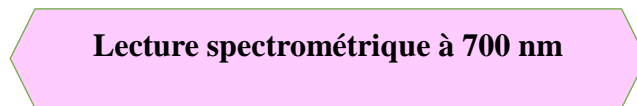


Figure 9: Protocole d'évaluation du pouvoir antioxydant (FRAP).

Troisième Partie

Résultats et discussion

1. Présentation du produit objet de l'étude

L'aspect des extraits objet de l'étude est représenté sur la photo ci-dessous. L'extrait des SPOs brutes est très riche en lipides et est de couleur brune à violette avec un aspect fluide.

1.1. Rendement industriel du sous-produit

Selon les statistiques, la productivité moyenne globale pour les dix dernières années des industries oléicoles souligne :

- ❖ Olives à l'huile est
- ❖ Huile d'olive
- ❖ Grignons
- ❖ SPO
- ❖ Le taux de production de SPOs par année est représenté dans la figure 10.

1.2 Extraction liquide- liquide

Cette dernière consiste à utiliser des solvants d'extraction de polarités différentes. Le rendement moyen des extractions en % est représenté dans le tableau 3.

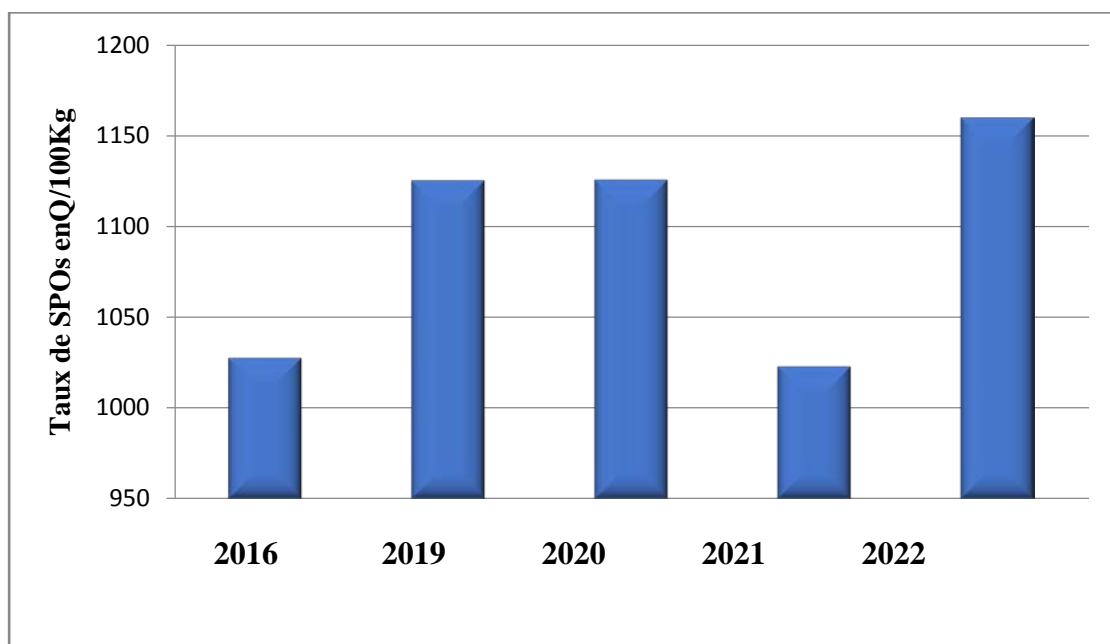


Figure 10 : Taux de production de SPOs par année au niveau de la wilaya de Tlemcen

Tableau 3 : Rendement moyen des extractions liquides-liquides des extraits

Extrait	Extrait M1 (mg)
1-M1	0.666 ± 0.23
2-M1	1,000 ± 0.26
3-M2	68.833 ± 0.98
4-M2	47.300 ± 1.08

2. Analyse quantitative des composés phénoliques dans les extraits M1 et M2

La détermination de la teneur en composés phénoliques est obtenue par la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, selon l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie en utilisant l'acide gallique comme Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG /g MS) (Figure 11).

Figure 11 : Courbe d'étalonnage à l'acide gallique pour dosage des phénols totaux

La figure 12 met en lumière les différentes concentrations en phénols totaux dans les extraits M1 de SPOs. Analyse quantitative des flavonoïdes dans les extraits M1 et M2

Le dosage des flavonoïdes était déterminé par la méthode de. La courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC /g MS) (Figure 14).

Les résultats obtenus pour les flavonoïdes montrent que leurs niveaux dans les extraits fluctuent selon la nature du solvant d'extraction. La figure 15 traite les différentes concentrations de ces derniers dans les extraits M1 de SPOs.

Figure 12 : Teneurs en phénols totaux dans les extraits M1 en fonction des solvants utilisés (EAC : Equivalent en acide gallique, MS : matière sèche)

Figure 13 : Teneurs en phénols totaux dans les extraits M2 en fonction des solvants utilisés (EAC : Equivalent en acide gallique, MS : matière sèche)

Figure 14 : Courbe d'étalonnage à la catéchine pour dosage des flavonoïdes

Figure 15 : Teneurs en flavonoïdes dans l'extrait M1 en fonction des solvants utilisés (EC : Equivalent en catéchine, MS : matière sèche)

Figure 16 : Teneurs en flavonoïdes dans l'extrait M2 en fonction des solvants utilisés (EC : Equivalent en catéchine, MS : matière sèche)

Il est à remarquer que la teneur en polyphénols et flavonoïdes au niveau de ces sous-produits liquides de l'industrie oléicole de l'olivier à fait l'objet de résultats divers dans les études antérieures. Il faut souligner l'impact de la race botaniques des olives et également la localisation géographiques (montagnes, plaines), résultats argumentés par Leouifoudiet al., (2015) et El Mouddenet al., (2022).

Figure 17 : Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait Acétate d'éthyle –M1

Figure 18 : Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait Acétate d'éthyle –M2

Figure 19 : Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait n-butanol –M1

Figure 20 : Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait n-butanol –M2

4.6. Calcul de la concentration efficace 50 (EC₅₀)

Figure 21 : Variation d'absorbance du pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'Acide ascorbique

Conclusion

Conclusion

Ce travail nous a permis de réaliser une étude phyto-chimique des sous-produits liquides de l'industrie oléicole de l'olivier communément appelés SPOs obtenus à partir de l'extraction de l'huile d'olive. Cette étude a été consacrée à la quantification des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux en utilisant deux solvants différents.

Les SPOs sont des effluents liquides acides très polluantes pour la nature et riches en composés bioactifs tels les polyphénols. Les solvants d'extraction ont une influence sur leur concentration en polyphénols et en flavonoïdes, due à leur polarité. Sur la base de tests en laboratoire et études antérieures, les solvants choisis étaient l'acétate d'éthyle et le n-butanol.

Hormis l'aspect polluant préoccupant la communauté scientifique, les SPOs représentent une source biologique de composés phénoliques naturels et d'antioxydants, il est conseillé de les exploiter dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires.

Références bibliographiques

ALBINI A, ALBINI F, CORRADINO P, et al. (2023).From antiquity to contemporary times: how olive oil by-products and waste water can contribute to health. *Frontiers in Nutrition*, vol. 10, p. 1254947)

Auteur (Année).Characterization and valorisation of Plants. Algeria. *Genet. Biodiv. J, Spécial issue*, 116-122.

AL-HMOUD L, AL-SAIDA B, ET SANDOUQAA.(2020). Olive mill wastewater treatment: A recent review. *Jordanian Journal of Engineering and Chemical Industries*, 2020, mvol. 3, no 3, p. 91-106).117.

AYADI M, FOURATI H, ALI TRIKI M. (2014). De l'olivier à l'huile : un processus maîtrisé. Institut de l'olivier-Tunisie (<http://www.tunisiaoliveoil.com>).

ARDESTANI A, YAZDANPARAST R. (2007).Flavonoids as potential therapeutic agents for type 1 diabetes. *Med Hypotheses* 69:4–955

BOTTINO A, CAPANNELLI G, COMITE, A, ET AL. (2020). Treatment of olivemill wastewater through integrated pressure-driven membrane processes. *Membranes*, 2020, vol. 10, no 11, p. 334

CUFFARO D, BERTOLINI A, BERTINIS, RICCI C, CASCONI M , DANTI S, DIGIACOMO M. (2023)Olive Mill Wastewater as Source of Polyphenols with Nutraceutical Properties. *Nutrients*, 15(17), 3746)

D.S.A., Direction des services agricoles de la wilaya de Tlemcen. (2023). *Statistiques Agricoles*.

EL MOUDDEN H, EL IDRISSE Y, EL GUEZZANE C, LAKHLIFI EL IDRISSE Z, HARHAR H et al. (2022). Spatial Variation of Phytochemical and Antioxydant Activities of Olive Mill Wastewater : A Chemometric Approach. *Sustainability*, 14(21), 14488 ; <https://doi.org/10.3390/su142114488>

Étude internationale sur les coûts de production de l'huile d'olive – 2015).

FERRO, MIGUEL D., et al. (2023).« A New Laboratory Scale Olive Oil Extraction Method with Comparative Characterization of Phenolic and Fatty Acid Composition." Fonds 12.2: 380.)

GUEBOUDJI Z, KADI K, NAGAZ K. (2021). Extraction and Quantification of Polyphénols of Olive Oil Mill Wastewater from the Cold Extraction of Olive Oil in the Region of Khenchela-

KADER A. (2002).(Eds.). Postharvest technology of horticultural crops (Vol. 331). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources (2002).

LECCI R, D'ANTUONO I, CARDINALI A, et al. (2021).Antioxidant and pro-oxidant capacities as mechanisms of photoprotection of olive polyphenols on UVA-damaged human keratinocytes. *Molecules*, 2021, vol. 26, no 8, p. 2153.)

LENOIR L. (2011). Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. **2011.** Thèse de doctorat. Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand

LEOUI, FOUJII, HARNAFI H, ZYADA. (2015). Olive Mill Waste Extracts : Polyphénols Content, Antioxydant, and AntimicrobialActivities. *Adv PharmacolSci* ; 714138. doi : 10.1155/2015/714138

ABU BAKARM, MOHAMED A, RAHMAT, AND J. FRY. (2009). "Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of bambangan (*Mangifera pajang*) and tarap (*Artocarpus odoratissimus*) *Food Chemistry*, vol. 113, no. 2, pp. 479-483,2009

NEFZAOUIA. (1991).Valeur nutritive des ensilages combinés de fientes de volailles et de grignons d'olives. I. Influence de la durée d'accumulation des fientes et des proportions respectives de fientes et de grignons sur la

composition chimique et les caractéristiques fermentaires des ensilages. In: Annales de Zootechnie. EDP Sciences, 1991. p. 105-111.

OYAIZU M. (1986), Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese journal of nutrition and dietetics, 1986, vol. 44, no 6, p. 307-315.

SHWETA U, MOLATH, ALEENA, CHOKSI, HINAL, et al. (2021). Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases. Int. J. Physiol. Nutr. Phys. Educ, vol. 6, no 1, p. 293-301

SINGLA, RAJEEV K., DUBEY, ASHOK K., GARG, ARUN, et al. (2019). Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. Journal of AOAC International, 2019, vol. 102, no 5, p. 1397-1400

SINGLETON, VERNON L, ET ROSSI, JOSEPH A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture, 1965, vol. 16, no 3, p. 144-158

SYGOUNI, VARVARA, PANTZIAROS, ALEXIS G, IAKOVIDES, IAKOVOS C, et al. (2019). Treatment of two-phase olive mill wastewater and recovery of phenolic compounds using membrane technology. Membranes, 2019, vol. 9, no 2, p. 27.

VARRICCHIO E, COCCIA E, ORSO G, et al. (2019). Influence of polyphenols from olive mill wastewater on the gastrointestinal tract, alveolar macrophages and blood leukocytes of pigs. *Italian Journal of Animal Science*, 2019.

SENANI-OULARBI, N. MARIE, J. C., MOULTI-MATI, F., et al. (2016). Preliminary effects of olive mill wastewater on the glucose absorption

in mice. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 2016, vol. 2, no 2.

CASAMENTI F, et STEFANI M.(2017). Olive polyphenols: New promising agents to combat aging-associated neurodegeneration. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 2017, vol. 17, no 4, p. 345-358.

BENNETAU P, CATHERINE. (2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 2014, vol. 49, no 4, p. 151-159.

الملخص

تحتاج صناعة الزيت الزيتي إلى استخراج كميات كبيرة من المياه، مما يؤدي إلى تحرير كميات كبيرة من مخلفات الطحين من الزيوت الغنية بالجزئيات النشطة بيولوجيًا. إن هذه الدراسة هي الاستخلاص باستخدام مذيبين مختلفين من مركبات فينولية من نفس المنتجات الزيتية من الزيتون، بما في ذلك جرعاتها في المستخلصات. من أجل تحسين أفضل عملية تجزئة، تم تحقيق استخلاص السائل السائل مع خلاص الإيثيل والبيوتانول. تم تحقيق جرعة الفينول بالكامل باستخدام الطريقة التي تستخدم تفاعل Folin Ciocalteu والحمض الذي يغلي كمعيار داخلي؛ سلوي الفلافونويدات بواسطة التقنية التي تستقر على تكوين المجمعات الملونة بين الفلافونويدات وكلور الألومنيوم (AlCl₃) باستخدام الكاتشين كتحكم إيجابي. مبدئيًا، بعد إحصائيات بدل الإقامة اليومي في تلمسان، تمثل سنة 2022 ارتفاعًا كبيرًا في مخلفات الصناعة الزيتية. نتائج تحليل الكيماويات النباتية ذات أهمية كبيرة في الفينولات بأكملها (106 ± 3,11 مجم EAG/g MS مقابل 44 ± 0,28 مجم EAG/g MS مقابل 6 ± 1,50 مجم EAG/g MS للكمسور M1 من أسيتات الإيثيل والبيوتانول على التوالي) تختلف مقادير الفلافونويدات في المستخرج M1 من 1,52 ± 4,96 مجم EC/g MS مقابل 8,82 ± 24,87 مجم EC/g MS. n-butanol et, de 74,66 ± 9,98 mg EC/g MS vs 120,09 ± 22,89 مجم acétate d'éthyle vs 120,09 ± 22,89 mg EC/g MS . بيوتانول .

الكلمات المفتاحية: الزيت الزيتي المنتج - الاستخلاص - المذيبات - البوليفينول - الفلافونويدات

Résumé

L'industrie oléicole de l'huile d'olive nécessite lors de son extraction de grandes quantités d'eau, ce qui en conséquence libère d'énormes quantités des eaux résiduelles des moulins à huiles riches en molécules bioactives.

Le but de cette étude est l'extraction avec deux solvants différents des composés phénoliques des sous-produits oléicoles de l'olivier, ensuite leur dosage dans les extraits. Afin d'optimiser le meilleur rendement de fractionnement, une extraction liquide-liquide avec de l'acétate d'éthyle et du n-butanol a été réalisée. Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode utilisant le réactif Folin Ciocalteu et l'acide gallique comme standard interne ; celui des flavonoïdes par la technique qui repose sur la formation de complexes colorés entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium (AlCl₃) en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

A priori, selon les statistiques de la DSA de Tlemcen, l'année 2022 représente le taux le plus élevé en eaux résiduelles de l'industrie oléicole. Les résultats de l'analyse phytochimiques soulignent des teneurs importantes en phénols totaux (106 ± 3,11 mg EAG/g MS ; 44 ± 0,28 mg EAG/g MS *versus* 6 ± 1,50 mg EAG/g MS pour les fractions M1 d'acétate d'éthyle et du n-butanol respectivement. Les teneurs en flavonoïdes varient dans l'extrait M1 de 4,96 ± 1,52 mg EC/g MS pour acétate d'éthyle *versus* 24,87 ± 8,82 mg EC/g MS pour le n-butanol et, de 74,66 ± 9,98 mg EC/g MS pour acétate d'éthyle *vs* 120,09 ± 22,89 mg EC/g MS pour le n-butanol.

Mots clés : Sous-produit oléicole (SPO) – Extraction – Solvants - Polyphénols – Flavonoïdes.

Abstract

The olive oil industry requires large quantities of water during its extraction, which consequently releases huge quantities of wastewater from oil mills rich in bioactive molecules. The aim of this study is the extraction with two different solvents of phenolic compounds from the margins and then their dosage in the extracts. In order to optimize the best fractionation yield, liquid-liquid extraction with ethyl acetate and n-butanol was carried out. The dosage of total phenols was carried out by the method based on Folin Ciocalteu reagent using gallic acid as an internal standard; that of flavonoids by the technique which responds to the composition of color complexes including flavonoids and aluminum chloride (AlCl₃), using catechin as a positive control. A priori, according to the statistics of the DSA of Tlemcen, the year 2022 represents the highest rate of wastewater from the olive industry. The results of the phytochemical analysis highlight significant contents of total phenols (106 ± 3.11 mg EAG/g DM; 44 ± 0.28 mg EAG/g DM *vs* 6 ± 1.50 mg EAG/g DM for the M1 fractions of ethyl acetate and n-butanol respectively. The flavonoid contents vary in the M1 extract from 4.96 ± 1.52 mg EC/g DM for ethyl acetate *vs* 24.87 ± 8.82 mg EC/g DM for n-butanol and from 74.66 ± 9.98 mg EC/g DM for ethyl acetate *vs* 120.09 ± 22.89 mg EC/g DM for n-butanol.

Keywords: SPO (oleic by-product)– Extraction – Solvents – Polyphenols – Flavonoids.