

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبي بكر بلقايد - تلمسان

Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Et science de la terre et de l'univers



MEMOIRE

**Pour l'obtention du Diplôme de Master professionnel en Sciences
écologiques**

Option : Toxicologie industrielle et environnementale

Par

Mme. SELLALI Chaïma

&

Mme. CHERIGUI Fatima

**Etude in vitro de l'activité anti-inflammatoires, la viabilité cellulaire
par test MTT et de l'analyse phytochimique de l'extrait aqueux de
grignon d'olive**

Devant le jury :

Encadrante : **Mme HADDAM Nahida**

Professeur. Université de Tlemcen

Présidente : **Mme MARZOUK Amel**

Professeur. Université de Tlemcen

Examinatrice : **Mme MEDJDOUB Amel**

M.C.B. Université de Tlemcen

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, nous tenons à remercier chaleureusement notre directrice de recherche, **Mme HADDAM Nahida**, pour sa patience, ses conseils avisés et son soutien indéfectible tout au long de ce travail. Son expérience et sa rigueur scientifique ont été des atouts précieux pour la mise en œuvre de ce projet.

Nous remercions **Mme MARZOUK amel** et **Mme MEDJDOUB amel** d'avoir pris le temps de lire notre mémoire et de partager leurs commentaires constructifs avec nous.

Nous exprimons nos profonds remerciements à **Melle BENOUSSAR nesrine** et **Melle fatima** les doctorantes pour ses compréhensions, ses conseils et ses aides, pour sa gentillesse et ses orientations efficaces.

Dédicaces

Avec l'aide de **DIEU** le tout puissant, nous avons pu réaliser cet ce modeste travail, que je dédie :

À la communauté scientifique dans l'espoir qu'il lui sera utile

À mes parents, **RAFIKA** et **ABDELKADER**, pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon bien-être. Ils ont toujours cru en moi et m'ont encouragé à poursuivre mes rêves. Je suis immensément reconnaissant pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.

À mes grands-parents **ALI** et **ZAHIYA**, pour leur sagesse, leur gentillesse et leur présence réconfortante. Ils ont toujours été là pour moi, pour me prodiguer des conseils avisés et me partager leurs expériences de vie. Je suis honoré de leur amour et de leur soutien.

A mes frères, **AYOUB**, **AMINE**, **ABDELHADI**. Vous êtes mes piliers, mes confidents et mes meilleurs amis. Depuis notre enfance, vous avez partagé avec moi mes joies et mes peines, mes rêves et mes aspirations. Je suis reconnaissant pour votre soutien , vos encouragements .

À mes amies sincères, **SALIHA**, **IKRAM**, **RANIA**, **BOUCHRA**, qui ont partagé mes joies et mes peines, mes rêves et mes aspirations. Votre présence dans ma vie a été un véritable cadeau, et je suis infiniment reconnaissante de l'amitié qui nous lie.

A mon binôme Melle **FATIMA**, Ce mémoire est le fruit de notre travail en commun, de notre synergie et de notre amitié. Je suis infiniment reconnaissante d'avoir pu partager cette expérience avec toi.

A toute personne qui m'ont aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement. Ce mémoire est le fruit de votre amour et de votre soutien, et je vous le dédie avec tout mon cœur.

Sellali chaima

Dédicaces

Je dédie ce projet :

À mon cher père

À mon père « **CHABANE** », aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi, ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation, je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

À ma très chère mère

À ma très chère mère, honorable, aimable « **RACHIDA** » tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager, ta prière et ta bénédiction m'ont été un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

À mes chères sœurs et mon frère

À mes chères sœurs « **IMANE** » et « **HALIMA** » et mon frère « **WALID** » en témoignage de l'attachement de l'amour et de l'affection que je porte pour vous, je vous remercie d'être l'épaule sur laquelle je peux toujours compter, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

À mes chères amies

À mes chères amies « **CHAIMA** », « **IKRAM** », « **SALIHA** », « **FATIMA** » je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs sur que je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous chérissons 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 bonheurs.

À mon cher binôme

Sans oublier mon binôme « **CHAIMA** » pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Cherigui fatima

Résumé :

La culture de l'olivier couvre environ 11 millions d'hectares dans le monde, produisant plus de 20 millions de tonnes d'olives par an, principalement pour l'huile d'olive. Les sous-produits principaux sont la margine et les grignons d'olive (GO), dont la production mondiale atteint environ 2,9 millions de tonnes, avec 156 100 quintaux annuels en Algérie, Ce qui conduit à des pollutions nocives pour l'environnement écologique d'où l'importance de valoriser ce sous-produit

Cette étude vise à évaluer in vitro les activités biologiques de l'extrait aqueux de GO, en particulier son potentiel anti-inflammatoire et son effet sur la viabilité cellulaire via le test MTT, ainsi qu'à réaliser une analyse phytochimique de l'extrait. Les résultats montrent que l'extrait est riche en tanins, saponines, polyphénols et flavonoïdes, et l'absence de quinones et de protéines. Nous avons également constaté que L'extrait présente un effet anti-inflammatoire notable à haute concentration (3000 µg/mL) et moindre à faible concentration (250 µg/mL), et exerce Le test MTT a révélé que l'extrait aqueux de grignon d'olive exerce un effet inhibiteur sur la viabilité cellulaire, et cet effet est dose-dépendant. À des concentrations plus élevées (3000 µg/ml), l'extrait est plus cytotoxique,

En conclusion, les grignons d'olive, au-delà d'être des déchets nocifs, peuvent être valorisés dans divers domaines grâce à leurs propriétés biologiques intéressantes

Mot clés : Grignon d'olive, extrait aqueux, screening phytochimique, anti-inflammatoire, MTT, toxicité.

Abstract:

Olive cultivation covers approximately 11 million hectares worldwide, producing over 20 million tons of olives per year, primarily for olive oil. The main by-products are olive mill wastewater and olive pomace, with a global production of around 2.9 million tons, and 156,100 quintals annually in Algeria, leading to harmful ecological pollution. This highlights the importance of valorizing this by-product.

This study aims to evaluate the in vitro biological activities of the aqueous extract of Olive pomace, particularly its anti-inflammatory potential and its effect on cell viability using the MTT assay, as well as to conduct a phytochemical analysis of the extract. The results show that the extract is rich in tannins, saponins, polyphenols, and flavonoids, with no quinones or proteins present. We also found that the extract exhibits a notable anti-inflammatory effect at high concentration (3000 µg/mL) and a lesser effect at low concentration (250 µg/mL). The MTT assay revealed that the aqueous extract of olive pomace has an inhibitory effect on cell

viability, which is dose-dependent. At higher concentrations (3000 µg/mL), the extract is more cytotoxic.

In conclusion, olive pomace, beyond being harmful waste, can be valorized in various fields due to its interesting biological properties.

Keywords: Olive pomace, aqueous extract, screening phytochimique, anti-inflammatory, MTT, toxicity.

ملخص :

تغطي زراعة شجرة الزيتون حوالي 11 مليون هكتار في جميع أنحاء العالم، وتنتج أكثر من 20 مليون طن من الزيتون سنويا، خاصة لزيت الزيتون. المنتجات الثانوية الرئيسية هي المارجين وثقل الزيتون، الذي يصل إنتاجه العالمي إلى حوالي 2.9 مليون طن، مع 156100 قنطار سنوي في الجزائر، مما يؤدي إلى تلوث ضار للبيئة، ومن هنا تأتي أهمية تقييم هذا المنتج الثانوي.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الأنشطة البيولوجية للمستخلص المائي لثقل الزيتون في المختبر، ولا سيما إمكاناته المضادة للالتهابات وتأثيره على بقاء الخلية من خلال اختبار انتقال العدوى (MTT)، وكذلك إجراء تحليل كيميائي نباتي للمستخلص.

أظهرت النتائج أن المستخلص غني بالعفص والصابونين والبوليفينول والفلافونويد وغياب الكينونات والبروتينات. وجدنا أيضا أن المستخلص له تأثير ملحوظ مضاد للالتهابات بتركيز عال (3000 دولار جم/مل) وأقل بتركيز منخفض (250 دولار جم/مل)، وأن اختبار (MTT) كشف أن المستخلص المائي لثقل الزيتون يمارس تأثيرا مثيرا على بقاء الخلية، وهذا التأثير يعتمد على الجرعة. بتركيزات أعلى (3000 جم / مل)، يكون المستخلص أكثر سمية للخلايا.

في الختام، يمكن استعادة ثقل الزيتون، بالإضافة إلى كونه نفايات ضارة، في مجالات مختلفة بفضل خصائصه البيولوجية المثيرة للاهتمام.

الكلمات المفتاحية : ثقل الزيتون، مستخلص مائي، فحص كيميائي نباتي، مضاد الالتهاب، اختبار انتقال العدوى (MTT)، السمية.

Liste des Figures

- Figure 01** : Croissance et développement de l'olivier
- Figure 02** : Production oléicole mondiale : estimations pour la saison 2010/2011 (données du Conseil oléicole international)
- Figure 03** : Carte oléicole d'Algérie
- Figure 04** : Le fruit d'olive
- Figure 05** : grignon d'olive (des photos originale Huilerie Ouzidane Tlemcen)
- Figure 06** : Des photos originales de Huilerie Ouzidane Tlemcen
- Figure 07** : photo originale de grignon d'olive séché et broyé
- Figure 08** : photo originale de macération
- Figure 09** : photo originale de filtration
- Figure 10** : photo originale de l'étuve et du rotavapeur utilisé
- Figure 11** : photo originale de l'extraits de grignon d'olive après séchage
- Figure 12** : Figure 12 : photo originale de centrifugeuse utilisé
- Figure 13** : photo originale de résultat de la séparation de lymphocytes sur ficoll
- Figure 14** : lame de numérotations de malosse
- Figure 15** : photo originale des cellules de lymphocyte sur microscope
- Figure 16** : photo originale de l'incubateur utilise
- Figure 17** : photo originale de lecture de la plaque ELISA
- Figure 18** : photo originale de les produit utilisé
- Figure 19** : avant l'interaction
- Figure 20** : après l'interaction
- Figure 21** : pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines par Diclofénac
- Figure 22** : pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique par l'extrait aqueux de grignon d'olive
- Figure 23** : Comparaison de taux d'inhibition de la dénaturation protéique entre diclofénac et l'extrait aqueux de grignon d'olive
- Figure 24** : Le graphique présente les résultats du test MTT pour l'évaluation de l'effet de l'extrait aqueux de grignon d'olive sur la viabilité cellulaire après 48 heure

Liste des Tableaux

Tableau 01 : classification botanique de l'olivier selon.

Tableau 02 : Les différents composants du grignon d'olive.

Tableau 03 : Composition chimique indicative des différents types de grignons.

Tableau 04 : Facteurs qui déclenchent la réaction inflammatoire

Tableau 05 : Représentation des résultats de screening phytochimiques réalisé sur les grignons d'olive

Tableau 5 : Rendements de la macération de G.O dans l'eau distillée

Liste des abréviations

GO : grignon d'olive

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens

MTT : (Bromure de 3-(4,5- diméthylthiazol-2-yl) -2,5-diphényl tétrazolium)

BSA : albumine sérique bovine

TCR : T cell receptor

BCR: B-cell receptor

FeCl₃: chlorure ferrique

K₃Fe (CN)₆ : Le ferricyanure de potassium

NaOH : L'hydroxyde de sodium

g : Gramme

PH : Potentiel Hydrogène.

ml : Millilitre

% : Pourcentage

UV : ultraviolet

°C : Le degré Celsius

µg : Le microgramme

ADF : Acid Detergent Fibre

ADL : Acid Detergent Lignin

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

Gr: Grignon

NDF: Neutral Detergent Fiber

C: Carbone

AND: Acide Désoxyribonucléique

Cu SO₄ : Sulfate de Cuivre

DO : Oxygène dissous

GR : Globule rouge

Sommaire

Titres	PAGES
Introduction	13
Partie Bibliographique	16
Chapitre 01 : Généralité sur l'olivier et le fruit d'olive	17
I- L'olivier	18
1-Présentation De L'olivier	18
1-1-Historique	18
2-Classification botanique de L'olivier 1.....	19
3-Description botanique de La plante	19
4-Croissance et développement de l'olivier	20
5-La culture de l'olivier	21
5-1-Culture de l'olivier dans le monde	21
5-2-Culture de l'olivier en Algérie	22
II- L'olive	23
1-Le fruit d'olive	23
1-1-les variétés d'olive	24
2-L'huile d'olive	25
2-1-Les trois catégories d'huile d'olive	25
3-L'extraction d'huile d'olive	26
3-1-Les étapes d'extraction d'huile d'olive	26
4-Les principaux sous-produits d'olive	28
4-1-Margine (Déchet liquides)	28
4-2-Grignons (Déchets solides)	28
4-3-Les noyaux (Déchets solides)	28
Chapitre 02 : Généralité sur les grignons d'olive	29

1-Grignon d'olive	30
2-Types de grignon d'olive	30
2-1-Grignon brut.....	30
2-2-Grignon épuisé	30
2-3-Grignon partiellement dénoyauté.....	30
2-4-Grignon humide	30
2-5-Grignon issus des huileries modernes	31
3-Valorisation et Domaines d'utilisation de grignon d'olive	31
3-1-Utilisation des grignons comme combustibles.....	31
3-2-Production de biodiesel	31
3-3-Utilisation pour l'alimentation des troupeaux	31
3-4-Utilisation dans le tannage des peaux	32
3-5- Le compostage	32
3-6-Savon	32
3-7-Extraction de polyphénols	32
3-8-La production de furfural	32
4-Huil de grignon d'olive	33
5-L'extraction aqueux	33
5-1-Les étapes d'extraction aqueux d'huile de grignon d'olive	33
6-Caractéristiques de grignon d'olive	34
6-1-Caractéristiques physiques	34
6-2-Caractéristiques chimiques	35
6-3-Composition chimique des grignons d'olives	35
Chapitre 03 : Généralité sur la toxicité	37
I-La toxicité.....	38
1-La toxicité	38
2-Type de toxicité	38

3-La dose	39
4-Relation dose effet /dose réponse	39
5-Méthode d'étude de toxicité	39
5-1-Etude in vivo	40
5-2-Etude Épidémiologique. ;;	40
5-3-Etudes théoriques par modélisation	40
5-4-Etude in vitro	41
5-4-1-des exemples des études in vitro	41
II- L'inflammation	42
1-L'inflammation	42
2-Les facteurs déclenchant l'inflammation	42
3-Type d'inflammation	43
4-Les cellules de l'inflammation	43
5-Anti-inflammatoires	45
6- Les effets nocifs de substances inflammatoires ou les effets toxiques causés par Une inflammation excessive in vitro	46
Matériels Et Méthodes	48
1-Matières végétales	49
2-Préparation de l'extrait aqueux de grignon d'olive	49
3-Détermination, in vitro, de l'activité anti-inflammatoire, screening phytochimique Et le tes MTT du grignon d'olive	52
3-1-Screening phytochimique	52
3-2-L'activité Anti-inflammatoire	52
3-3-Test MTT	53
Résultats et interprétations	56
Discussions	62
Conclusion	68
Référence bibliographique	70

Introduction

Introduction :

L'olivier, aussi connu sous le nom scientifique *Olea europaea*, est un petit arbre persistant de la famille des Oléacées. C'est la plante la plus ancienne cultivée par l'homme, célèbre pour ses fruits et son huile [1]. Principalement cultivé dans les régions de climat méditerranéen [2], l'olivier est capable de s'adapter à des conditions environnementales extrêmes telles que la sécheresse, la salinité et la chaleur, bien qu'il soit sensible au gel. Il peut atteindre une hauteur moyenne de 10 à 13 mètres dans les régions chaudes avec une pluviométrie adéquate, mais est généralement plus petit dans les climats froids [3].

L'olivier, joue un rôle crucial dans l'agriculture mondiale. Sa culture s'étend sur plus de 11 millions d'hectares à travers le globe, donnant naissance à une production annuelle de plus de 20 millions de tonnes d'olives. La transformation de ces fruits en huile d'olive constitue l'utilisation principale de cette récolte [4].

En Algérie, l'olivier trône en maître parmi les arbres fruitiers, occupant une place prépondérante dans le paysage agricole du pays. Sa culture s'étale sur plus d'un tiers (environ 34,09%) de la surface consacrée aux cultures fruitières, témoignant de son importance capitale tant sur le plan économique que social [5].

En Algérie, il existe 1 705 huileries dédiées à la transformation des olives. Parmi celles-ci, 85% relèvent du secteur traditionnel, tandis que 10% sont des installations modernes [6].

L'huile d'olive, obtenue par pressage des olives, est un produit naturel riche en acides gras essentiels, bénéfique pour la santé humaine [7]. Au-delà de son utilisation en cuisine, elle suscite un intérêt croissant dans les domaines médical et cosmétique en raison de ses propriétés prometteuses [6].

La transformation des olives en huile donne naissance à des sous-produits, appelés rejets d'huilerie d'olive. Ce sous-produit est le grignon (Déchets solide) et la margine (Déchets liquide) [8]. La production mondiale de grignons d'olives atteint environ 2,9 millions de tonnes. En Algérie, ce chiffre s'élève à 156.10^4 quintaux par an [9].

Les grignons d'olive, est des résidus solides, représentent environ 30% du poids des olives traitées [4]. L'élimination de ces sous-produits sur le terrain peut entraîner des problèmes nocifs

pour la santé humaine et l'environnement [7]. Loin d'être de simples déchets, ils recèlent un potentiel intéressant et peuvent être valorisés de différentes manières.

La valorisation de ces résidus revêt désormais une importance double, à la fois écologique et économique. En effet, leur traitement permettrait de réduire une pollution croissante tout en améliorant la rentabilité du secteur oléicole, notamment dans les pays du sud de la Méditerranée, comme l'Algérie. Par ailleurs, il est devenu évident que la pollution écotoxicologique issue de ce secteur est de plus en plus préoccupante. Cette pollution inclut divers types, tels que la pollution des sols, des eaux par les composés phénoliques et autres substances toxiques présentes dans les déchets de production. Cela souligne ainsi l'urgence d'agir., soulignant ainsi l'urgence d'agir [10].

Dans ce cadre, cette étude a pour objectif de réduire l'une des principales sources de pollution de l'oléiculture, à savoir le grignon d'olive. Notre travail de Master a pour objectif de Déterminant in vitro la cytotoxicité des extraits aqueux des grignons d'olive d'une huilerie de la région de Tlemcen (Ouzidane). Elle inclut également une analyse phytochimique ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques, notamment leur potentiel anti-inflammatoire et leur effet sur la viabilité et la prolifération des cellules par le test MTT. Ces recherches visent à ouvrir de nouvelles perspectives d'application dans des domaines variés tels que la nutrition, la cosmétique et la pharmacologie .

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE 01 : **Généralité sur l'olivier et le** **fruit d'olive**



I. L'olivier :

1. Présentation de l'olivier :

L'olivier (*Olea europaea*) aussi appelé Zaytoun ou Jetun, est un petit arbre persistant de la famille des Oléacées. C'est la plante la plus anciennement cultivée par l'homme. Elle est connue pour ses fruits et son huile. Plus de 11 millions d'ha sont consacrés à la culture de l'olivier dans le monde, ce qui donne lieu à plus de 20 millions de tonnes d'olives par an [1], principalement dans les régions de climat méditerranéen[2]. L'olivier est un arbre qui bien adapté à des environnements extrêmes tels que la sécheresse, la salinité, la chaleur et les températures basses, mais il est sensible au gel. Il tolère une pluviométrie d'environ 220 mm par an. Dans les régions chaudes avec une forte pluviométrie ou une irrigation abondante en été, l'olivier peut atteindre en moyenne 10 à 13 m de hauteur avec un tronc de 1,50 à 2 m de diamètre, tandis que dans les climats froids, les arbres sont généralement plus petits. À l'état naturel, il conserve une forme compacte et épineuse [3].

L'olivier possède des branches grises et rigides ainsi qu'une écorce grisâtre. Ses feuilles sont opposées, lancéolées ou ovales-lancéolées, mucronées et courte pétiolées. Elles sont vertes sur le dessus et cendrées sur la face inférieure. Les fleurs de l'olivier sont petites, brèves, axillaires et disposées en grappes dressées plus courtes que les feuilles [11].

1.1. Historique :

L'olivier, bien qu'intégré au paysage méditerranéen, n'est pas originaire de cette région. En réalité, ses racines se trouvent dans la région du Caucase, où sa culture a débuté il y a environ 6 000 à 7 000 ans. De là, il a progressivement migré vers le sud, atteignant les côtes de la Syrie, de la Palestine et de l'Égypte. C'est ainsi que l'olivier s'est naturalisé dans le bassin méditerranéen, devenant un élément indissociable de son paysage et de sa culture [12].

Cet arbre est intimement lié aux mythes fondateurs des cultures méditerranéennes, qu'il s'agisse de la Bible, du Coran ou des grands textes classiques grecs. Elle est mentionnée dans le Saint Coran comme un arbre sacré qui représente l'humanité universelle [13].

L'olivier se distingue par sa richesse génétique exceptionnelle. En effet, on recense actuellement plus de 2000 variétés d'olivier cultivées à travers le monde, dont 262 en

Espagne, 476 en Italie et plus de 150 en Algérie. Cette diversité témoigne de l'histoire et de l'adaptation de l'olivier à différents environnements et pratiques culturelles [14]. L'essor de nouvelles variétés d'olivier repose sur la préservation du patrimoine génétique oléicole et la gestion durable de ce précieux germoplasme [15].

2. Classification botanique de l'olivier :

Tableau 01 : classification botanique de l'olivier selon [16]

Règne	Plantes
Sous- règne	Tracheobionate
Division	Magnoliphytes
Embranchement	Spermaphytes
Sous- Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Gentianales
Famille	Oléacées
Genre	Olea
Espèce	Oleauropea

3. Description botanique de la plante :

L'olivier est celui d'un arbre toujours vert, se présente sous des formes et des tailles variées. Sa hauteur moyenne se situe entre 6 et 8 mètres, mais certains spécimens peuvent atteindre 13 mètres de haut [17].

3.1. Les feuilles :

- L'olivier est un arbre à feuilles persistantes, c'est-à-dire qu'il garde ses feuilles toute l'année. Elles vivent trois ans et se renouvellent par tiers.
- Ses feuilles sont simples, lisses, coriaces, lancéolées et pointues.
- Elles sont vert foncé dessus et cendrées dessous.

3.2. Le tronc :

- L'olivier, dans sa jeunesse, se présente avec un tronc droit et lisse et d'une écorce gris verdâtre

- Le tronc de l'olivier se transforme avec le temps, devenant plus tortueux et rugueux. L'écorce se pare d'une teinte gris-cendré, presque noire, et se couvre parfois de mousse

3.3. Les racines :

- L'arbre se multiplie par bouture ou par semis, ce qui influence son système racinaire
- Le système racinaire de l'olivier varie selon son mode de reproduction.
- La racine pivot, présente dans les semis, permet à l'arbre d'accéder à l'eau en profondeur, tandis que les racines fasciculées des boutures s'adaptent à des sols plus superficiels.

3.4. Les fleurs :

- La floraison de l'olivier est un événement bref et précieux, qui se déroule en mai ou en juin.
- Les fleurs, petites et blanc verdâtre, se regroupent en grappes à la base des feuilles. Un minuscule calice à quatre sépales protège une corolle tout aussi petite, composée de quatre pétales étalés et soudés.
- Selon la variété d'olivier, chaque grappe peut compter de vingt à quarante fleurs. Mais la nature est sélective : seulement 5 à 10 % d'entre elles seront fécondées.

4. Croissance et développement de l'olivier :

La plupart des oliviers dans le monde sont cultivés par clonage, car cette méthode présente des caractéristiques spécifiques de la variété [18].

- **Germination des graines :** Les graines d'olivier mettent entre 25 et 50 jours pour germer, mais leur capacité à germer est significativement faible.
- **Stade de jeunesse :** Les oliviers issus de graines ont un long stade de jeunesse (4 à 9 ans) caractérisé par une croissance végétative vigoureuse et une ramification abondante.
- **Stade de maturité :** Olive les arbres issus de boutures ont un stade de maturité plus rapide (3 à 7 ans) avec des branches simples
- **Feuilles :** Les feuilles d'olivier vivent 2 à 3 ans.
- **Floraison :** La floraison a lieu chaque année au printemps sur une partie de les branches de l'année précédente.
- **Pollinisation :** La pollinisation des olives se fait par le vent et la fertilisation croisée.

- **Développement des fruits :** Seulement 1 à 5 % des fleurs se transforment en fruits mûrs en raison d'une interruption physiologique, du stress hydrique, des maladies et des ravageurs. Le développement des olives dure de 6,5 à 7 mois, en se concentrant sur la formation d'huile. Dans le mésocarpe au cours des 20 à 40 derniers jours.

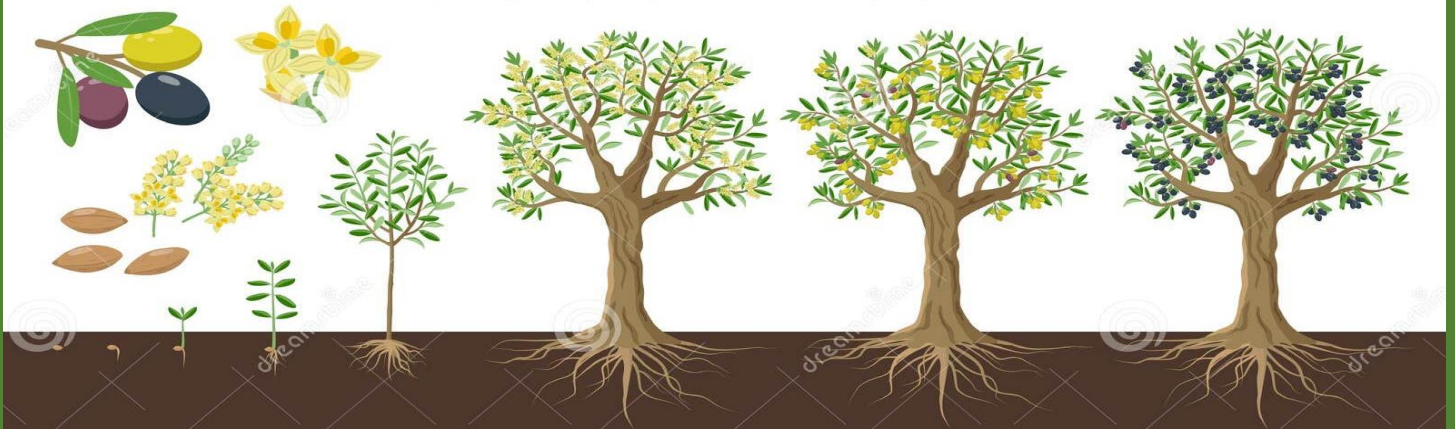


Figure 01 : Croissance et développement de l'olivier [19]

5. La culture de l'olivier :

5.1. Culture de l'olivier dans le monde :

Depuis des temps immémoriaux, l'homme cultive l'olivier pour récolter ses olives et en extraire l'huile d'olive.

L'olivier occupe une place de choix dans l'agriculture mondiale. Les terres dédiées à la culture de l'olivier s'étendent actuellement sur environ 11 millions d'hectares à travers le monde, générant une production annuelle de plus de 20 millions de tonnes d'olives. La majeure partie de cette production est destinée à la fabrication d'huiles d'olive [4].

Plus de la moitié des oliveraies du monde, soit 53%, se situent dans les pays de l'Union européenne. Le Maghreb se positionne en deuxième place avec 27% de la superficie oléicole mondiale, suivi par le Moyen-Orient avec 18%. Enfin, les pays du continent américain comptabilisent 2% des surfaces plantées en oliviers.

Sa culture, répartie dans les deux hémisphères, offre deux saisons de récolte. La première, s'étalant d'octobre à avril, se déroule dans l'hémisphère Nord, tandis que la seconde, d'avril à juillet, illumine l'hémisphère Sud. Cependant, le bassin Méditerranéen se distingue comme le berceau de l'oléiculture, concentrant 98 % de la production mondiale d'huile d'olive [20].

Son importance ne se limite plus à la production d'huile et d'olives de table, car les sous-produits comme le grignon et le noyau sont devenus une source significative de matière première alimentaire pour les animaux [6].

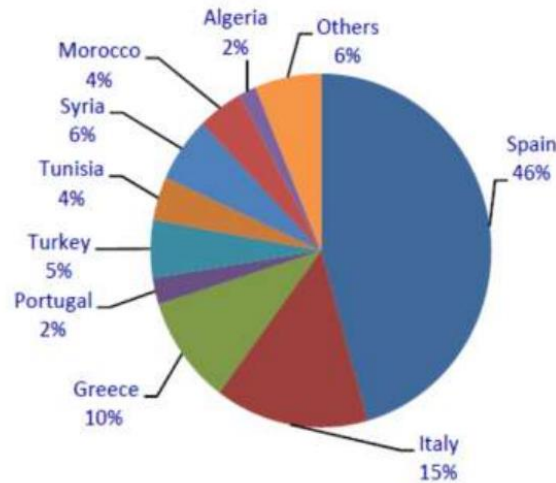


Figure 02 : Production oléicole mondiale : estimations pour la saison 2010/2011 (données du Conseil oléicole international) [6]

5.2. Culture de l'olivier en Algérie :

En Algérie, l'olivier occupe une place de choix parmi les arbres fruitiers. Sa culture s'étend sur plus d'un tiers (environ 34,09%) de la superficie dédiée aux cultures fruitières, soulignant son importance économique et sociale [5].

Selon Shaw de Secor, la répartition de l'oléiculture en Algérie se caractérise par trois zones principales [6] :

- **Région centrale :** 54% de la superficie oléicole, concentrée dans les wilayas de M'sila, Djelfa et Tiaret.
- **Région de l'Est :** 29% de la superficie oléicole, avec les wilayas de Batna, Sétif et Guelma comme principales productrices.
- **Région de l'Ouest :** 17% de la superficie oléicole, concentrée dans les wilayas de Tlemcen, Sidi Bel Abbès et Mascara.
- Il est important de noter la présence d'une oléiculture dans **le Sud du pays**, bien que moins importante en termes de superficie, avec environ 18 000 arbres (statistique du ministère de l'agriculture, 2005).

Le massif des Monts Kabylie se distingue comme le principal noyau de production d'olives en Algérie, représentant 90% de la production nationale. La

majorité des exploitations oléicoles dans cette région appartient à des populations berbères. L'Algérie dispose également de deux grandes taches d'oléiculture, situées à Guelma et Tlemcen, qui contribuent à la formation et au développement de la filière oléicole dans le pays [6].

L'oléiculture algérienne est en grande partie à caractère familiale ou l'autoconsommation est privilégiée. Cela limite la vente sur le marché. En matière d'exportation, l'Algérie exporte des quantités modestes vers le Canada, la France et la Jordanie. Le chiffre d'affaires de la filière oléicole s'élève à 1,5 milliard de dinars pour l'huile d'olive et 900 millions de dinars pour l'olive de table. Le pays dispose de 1 705 huileries pour transformer les olives, dont 85% sont des installations traditionnelles et 10% des installations modernes [6].

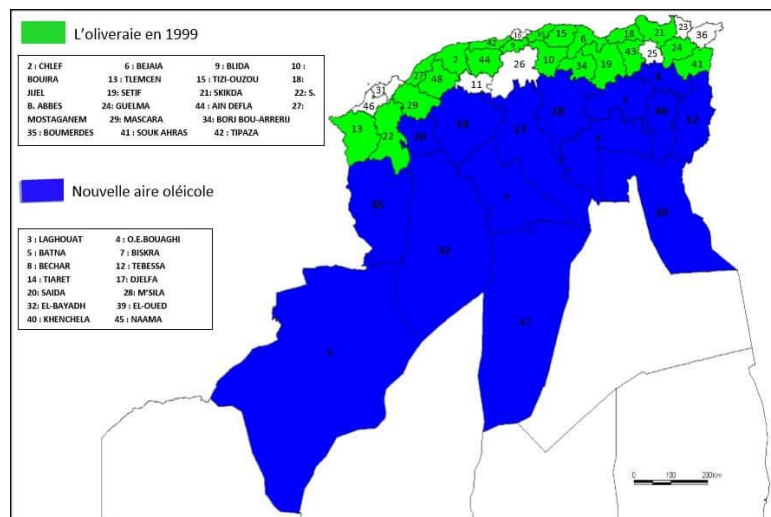


Figure 03 : Carte oléicole d'Algérie [21].

II. L'olive

1. Le fruit d'olive :

L'olive, bien plus qu'un simple fruit, est une drupe à la pulpe charnue et riche en secrets. Sa peau, appelée épicarpe, enveloppe une pulpe généreuse, le mésocarpe, qui abrite un noyau dur, l'endocarpe, lui-même contenant une amande huileuse. La pulpe, véritable trésor, concentre la majorité de l'huile, tandis que le noyau n'en représente que 2% [17].

La pulpe charnue de cette drupe, appelée mésocarpe, est riche en matière grasse. Cette composition comprend 17 à 30 % de matière grasse, 70 à 75 % d'eau, 1,5 % de protéines, 3 à 6 % de polysaccharides et 1,5 à 2 % de tanins [11].

Contrairement aux idées reçues, il n'existe pas d'oliviers à olives noires et d'oliviers à olives vertes. Tous les oliviers produisent des olives vertes qui, à maturité, se parent de différentes couleurs : noir, violet ou rouge foncé. Cependant, certaines variétés se destinent davantage à la consommation verte (Lucques, Salonenque, Picholine), tandis que d'autres se révèlent plus savoureuses noires (Grossane, Tanche, Cailletier) [17].

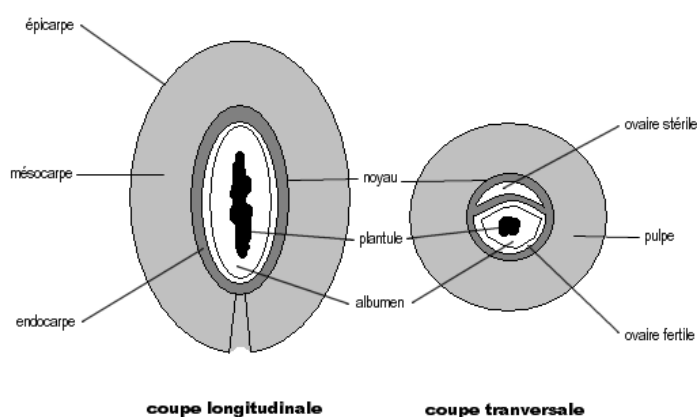


Figure 04 : Le fruit d'olive [22]

1.1. Les variétés d'olive :

Le monde des olives est riche et varie, avec des cultivars répondant à différents usages. On peut les classer en trois grandes catégories :

- **Olives pour l'huile** : Ces olives regorgent d'huile de qualité, offrant des saveurs et des textures uniques à chaque variété. Assurer une production d'huile stable et qualitative pour garantir une bonne rentabilité [7]. Par ex : Picual, Arbequina, Blanqueta en Espagne [18]. En Algérie, on trouve principalement ; le Chemlal, le Limli [7].
- **Olives de table** : Croquantes, charnues, marinées ou noires, ces olives subliment les apéritifs et les salades [18]. Par ex : Picholine du Languedoc en France ; En Algérie, on trouve la variété Sigoise [7].
- **Olives à double usage** : Polyvalentes, ces olives se savourent aussi bien en huile qu'à la table, offrant une double expérience gustative. Par ex : Tanche en France et Arauco en Argentine [18].

2. L'huile d'olive :

L'huile d'olive, obtenue par pressage des olives, est un produit naturel riche en acides gras essentiels et bénéfiques pour la santé humaine [7].

L'huile d'olive, bien plus qu'un simple condiment, est un véritable trésor aux multiples facettes. Elle occupe une place centrale dans le régime méditerranéen, prôné par les diététiciens pour ses bienfaits sur la santé. Mais ses vertus ne s'arrêtent pas là : elle est également au cœur de recherches prometteuses dans les domaines médical et cosmétique [6].

2.1. Les trois catégories d'huile d'olive :

Le monde de l'huile d'olive se décline en trois catégories distinctes, chacune offrant ses propres caractéristiques et saveurs [17].

➤ Huile d'olive vierge : le nectar des fruits

Véritable pur jus de fruit, l'huile d'olive vierge est obtenue par des procédés mécaniques à froid, sans aucun traitement chimique. Elle se distingue par son goût irréprochable et son acidité variable, définissant ses différentes appellations [17] :

- **Vierge extra dite de première pression** : un trésor culinaire dont l'acidité ne dépasse jamais 1%, offrant une expérience gustative exceptionnelle.
- **Vierge fine** : une huile au goût impeccable et à l'acidité légèrement supérieure, entre 1,5 et 2%.
- **Vierge courante ou semi-fini** : une huile savoureuse avec une acidité maximale de 3%, parfaite pour un usage quotidien.

➤ Huile d'olive raffinée : une seconde chance

Lorsque l'huile d'olive vierge présente un goût défectueux ou une acidité trop élevée, elle est transformée par raffinage. Ce processus lui permet de retrouver une neutralité en goût et en odeur, la rendant idéale pour certains types de cuisson [17].

➤ Huile d'olive pure : un mariage harmonieux

L'huile d'olive pure est un mélange d'huile d'olive vierge et d'huile d'olive raffinée. Elle offre un équilibre entre goût et prix, la rendant accessible pour une utilisation quotidienne [17].

3. L'extraction d'huile d'olive :

Depuis toujours, l'olivier est cultivé pour son précieux fruit et l'huile qu'il recèle. Si les techniques d'extraction ont évolué au fil du temps, les étapes fondamentales du processus n'ont pas changé. De la récolte au tri, du broyage au malaxage et enfin à la séparation des phases liquides, chaque étape est essentielle pour obtenir une huile d'olive de qualité [7].

3.1. Les étapes d'extraction d'huile d'olive :

➤ **La récolte des olives** : Il existe plusieurs méthodes de ramassage des olives [7] :

- Ramassage à la main : Meilleure méthode mais plus coûteuse.
- Supports mécaniques : Râteau automatique.
- Machines vibrantes : Font tomber les olives des arbres.

Il est important de choisir la méthode de récolte des olives appropriée pour maintenir la qualité de l'huile, afin qu'il y ait un équilibre entre qualité et coût.

➤ **Stockage** : Le stockage des olives après la récolte est une étape cruciale pour obtenir une huile d'olive de qualité. Il existe plusieurs règles de base à respecter pour un stockage optimal [7] :

- Presser les olives dans les 12 à 24 heures après la récolte.
- Utiliser des cassettes peu élevées pour éviter d'écraser les olives.
- Conserver les cassettes dans un endroit aéré, frais et à l'abri du soleil.

Le non-respect des règles de stockage peut entraîner détérioration du goût et de l'odeur de l'huile et dégradation des olives (oxydation, fermentation) [7].

- L'oxydation, tel un voleur sournois, s'attaque aux composés des olives, les privant de leur saveur et les rendant amères.
- La fermentation, quant à elle, transforme les sucres naturels en alcool, dénaturant l'arôme et le goût.

➤ **Défoliation et lavage des olives** :

Avant d'être pressées, les olives se dénudent de leurs feuilles et brindilles, et se nettoient dans un bain purifiant. Si quelques feuilles récalcitrantes s'obstinent à rester accrochées, nul besoin de s'en alarmer. En petite quantité, elles apportent une touche subtile à l'huile, rehaussant sa couleur et son parfum d'une élégante complexité [7].

➤ **Broyage :**

Le broyage des olives avec leurs noyaux permet d'obtenir une huile plus riche en goût et en arômes. La durée du broyage est importante car elle affecte la qualité de l'huile. Un broyage trop court peut ne pas libérer toute l'huile, tandis qu'un broyage trop long peut donner une huile amère [23].

Il existe Deux types de broyeurs :

- **Les broyeurs à meules en pierres** : Traditionnelles, action mécanique par rotation de roues en pierre [23].
- **Les broyeurs mécaniques** : Modernes, plus rapides et automatisés, utilisent des marteaux ou des couteaux [23].

Une fois les olives broyées, y compris la pulpe et le noyau, elles sont transformées transforment en une pâte onctueuse Cette étape cruciale permet à l'huile précieuse de se révéler et de se libérer de son écrin végétal [7].

➤ **Malaxage :**

Le but est de regrouper les petites gouttelettes d'huile dispersées dans la pâte en des gouttes plus larges et de les isoler des autres composants solides et liquides. Ce procédé se fait à l'aide d'un dispositif appelé malaxeur, équipé d'un système permettant de chauffer la pâte de manière contrôlée pendant une période de brassage continue et lente [23].

➤ **Extraction :**

L'extraction de l'huile consiste à séparer les différentes phases présentes dans le mélange, à savoir la phase solide (les grignons), la phase aqueuse (les margines) et la phase huileuse. Ce processus se divise en deux étapes distinctes : la première consiste à séparer la phase liquide (eau + huile) des grignons, tandis que la seconde étape vise à séparer la phase huileuse des margines. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour réaliser cette séparation, parmi lesquelles on trouve la séparation par pression et la séparation par centrifugation [23].

- Le pressage est une technique ancestrale d'extraction d'huile d'olive. La pâte d'olive est pressée entre des courtines, séparant l'huile et l'eau des grignons. L'huile et l'eau sont ensuite séparées par décantation naturelle. Cette méthode traditionnelle, bien que lente, produit une huile de haute qualité sans ajout d'eau [23].
- La centrifugation à trois phases utilise des centrifugeuses horizontales à haute vitesse et de l'eau pour séparer la pâte d'olive en trois phases : grignons, eau et huile. L'huile et l'eau

sont ensuite centrifugées verticalement pour les purifier davantage. Cette méthode est rapide mais peut affecter la qualité de l'huile [23].

4. Les principaux sous-produits d'olive :

L'industrie oléicole est un secteur important dans le bassin méditerranéen et dans d'autres régions du monde. La production d'huile d'olive génère cependant une quantité importante de sous-produits, dont les grignons, les margines et les noyaux.

4.1. Margine : (Déchets liquides)

Lors de l'extraction d'huile d'olive par centrifugation, l'eau ajoutée à la pâte d'olive crée un liquide appelé « margine ». Ce liquide est produit en grande quantité dans le procédé à trois phases, car il nécessite plus d'eau. De plus, les margines sont générées à deux étapes distinctes : après la première centrifugation (horizontale) et après la centrifugation de l'huile [8].

4.2. Grignons : (Déchets solides)

Les grignons d'olive, issus du pressage ou de la centrifugation des olives, sont des résidus solides composés de la pulpe et des noyaux. On peut les valoriser en les transformant en aliments pour animaux ou en huile de grignons d'olive par extraction chimique [8].

4.3. Les noyaux : (Déchets solides)

Les noyaux d'olive constituent une part importante de l'olive entière. En moyenne, ils représentent environ 20% du poids des olives. Pour illustrer cela, on peut dire que 100 kilogrammes d'olives fraîches contiennent environ 22 kilogrammes de noyaux d'olive. Cette quantité se compose de 4 kilogrammes de graines et de 18 kilogrammes d'endocarpes [4].

Les noyaux d'olive sont une biomasse supplémentaire produite lors du processus d'extraction de l'huile d'olive dans les moulins. Chaque année, environ 30 000 tonnes de noyaux d'olive sont générées par l'industrie d'Olives de table [4].



CHAPITRE 02 : **Généralité sur Le grignon** **d'olive**



I. Grignon d'olive :

1. Grignon d'olive :

Les grignons d'olive sont un sous-produit de la production d'huile d'olive [4]. Ce sont les résidus solides qui restent après le broyage des olives et l'extraction de l'huile. Ils se composent principalement de peau d'olive, de pulpe d'olive et de fragments de noyaux d'olive [17]. Les grignons d'olive représentent environ 30% du poids des olives traitées.



Figure 05 : grignon d'olive (des photos originale Huilerie Ouzidane Tlemcen)

2. Types de grignon d'olive :

On trouve des grignons d'olives en abondance dans les pays du pourtour méditerranéen. Il existe trois types de grignons, qui dépendent du procédé d'extraction et des machines utilisées dans les huileries :

2.1. Grignon brut :

Sont les résidus solides de l'huile d'olive obtenus après la première pression à l'aide de presses hydrauliques traditionnelles [24].

2.2. Grignon épuisé :

Le grignon épuisé est le résidu obtenu après l'extraction de l'huile du grignon brut. Cette extraction est généralement réalisée à l'aide d'un solvant, l'hexane étant le plus souvent utilisé [25].

2.3. Le grignon partiellement dénoyauté :

Les débris du noyau de la pulpe sont partiellement séparés grâce au tamisage ou à la ventilation [25] :

- Si l'huile n'est pas extraite par solvant, on le qualifie de « grasé »
- On le désigne comme étant « dégraissé ou épuisé » lorsque son huile est extraite à l'aide de solvants.

2.4. Le grignon humide :

Dans les huileries à deux phases, le grignon est traité pour extraire entre 40 et 60 % de l'huile restante. Ensuite, il est dirigé vers des usines spécialisées dans l'extraction d'huile de grignon, où un processus de séchage est effectué pour réduire l'humidité à 8 % [25].

2.5. Les grignons issus des huileries modernes :

Grâce à l'extraction en chaîne continue ou au pressage à froid, on obtient un jus riche en eau et à la fermentation rapide à partir de ces fruits [24].

3. Valorisation et Domaines d'utilisation de grignon d'olive :

Le grignon d'olive, un sous-produit de la production d'huile d'olive, trouve de nombreuses applications dans divers domaines. On peut le valoriser de plusieurs façons :

3.1. Utilisation des grignons comme Combustible :

Les noyaux d'olive sont reconnus comme un excellent biocombustible solide, grâce à sa teneur élevée en lignine et à son faible taux d'humidité, ils surpassent d'autres combustibles solides naturels. Leur combustion est d'autant plus intéressante qu'ils s'enflamment facilement et dégagent peu de cendres. Ces caractéristiques font des noyaux d'olives une source d'énergie renouvelable efficace et propre [4].

3.2. Production de biodiesel :

Le biogazole, est un biocarburant liquide produit à partir d'huiles végétales ou de graisses animales. Il s'agit d'une alternative renouvelable au diesel classique issu du pétrole, utilisé pour alimenter les moteurs diesel des véhicules tels que les voitures, les camions et les générateurs d'électricité [26].

La fabrication du biogazole implique un processus appelé "transestérification". Ce procédé consiste à mélanger des huiles végétales ou des graisses animales avec un alcool (méthanol ou éthanol) en présence d'un catalyseur (souvent de l'hydroxyde de sodium). Cette réaction chimique produit le biogazole et du glycérol comme sous-produit [26].

Le grignon d'olive peut également être valorisé pour la production de biocarburants de deuxième génération, comme le biodiesel. Des recherches se penchent sur l'optimisation de ce procédé, notamment pour en améliorer le rendement, qui est actuellement limité par la faible teneur en matière grasse du grignon d'olive [4].

3.3. Utilisation pour l'alimentation des troupeaux

La valeur nutritive des grignons d'olives est modérée. Ils peuvent être utilisés comme source d'énergie et de fibres pour les ruminants, mais leur utilisation doit être prudente

en raison de leur faible digestibilité et de leur teneur potentiellement élevée en tannins [27].

- La digestibilité de la matière sèche et organique est faible (20 à 50%) pour tous les types de grignons.
- Les matières grasses sont hautement digestibles (60 à 90%).
- La digestibilité des matières azotées est modérée (en moyenne 20 à 25%) et variable.
- La digestibilité de la cellulose brute est très variable, allant de 0 à 40%.

3.4.Utilisation dans le tannage des peaux :

Autrefois, un mélange de grignons d'olives et de fientes de pigeons était utilisé pour le tannage des peaux, car les grignons sont riches en tanins et en composés phénoliques aux propriétés tannantes. Ce procédé traditionnel est encore employé dans quelques petites tanneries artisanales, notamment à des fins touristiques [28].

3.5.Le compostage :

Des analyses de la croissance des tomates ont révélé que seul le compost issu de la pulpe de grignon après extraction de l'huile (grignon épuisé) produit des résultats comparables à ceux d'un compost de valeur agronomique classique. En revanche, l'utilisation de compost de grignon non épuisé, composé d'un mélange de pulpe et de coque, entrave la croissance des plants de tomates [28].

3.6.Savon :

L'obtention de savon à partir de l'huile de grignons extraite implique une hydrolyse de l'huile en présence de soude à 30%. Le mélange réactionnel est ensuite chauffé à reflux pendant six heures, puis traité par une solution de chlorure de sodium à 200 g/l.Ce processus aboutit à deux phases distinctes : une phase solide constituant le savon et une phase aqueuse riche en glycérine. Après un repos d'une nuit, le savon est séparé de la phase aqueuse [28].

3.7.Extraction de polyphénols :

Les polyphénols des grignons ont des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui peuvent être intéressantes pour l'industrie agroalimentaire et cosmétique.

3.8.La production de furfural :

Les grignons d'olive, renferment des pentoses, des sucres pouvant être transformés en furfural, un composé précieux pour l'industrie. Ce processus implique deux étapes

clés : une hydrolyse pour libérer les pentoses, suivie d'une déshydratation pour les convertir en furfural [28]. Le furfural trouve son utilité principale dans la fabrication d'huiles lubrifiantes de haute qualité lors du raffinage des distillats de pétrole. Son extraction à partir des grignons d'olive offre une alternative durable et valorisante à ces sous-produits agricoles [28].

4. Huile de grignon d'olive :

L'huile de grignon d'olive est une huile végétale extraite des grignons d'olive, qui sont les résidus solides restants après l'extraction de l'huile d'olive vierge. Les grignons sont constitués de la peau, de la pulpe et des noyaux des olives. L'huile de grignon d'olive a une couleur jaune foncé à brunâtre et une saveur forte et amère. Elle a un point d'inflammation élevé et est stable à la chaleur.

L'huile de grignons, ne peut être utilisée dans l'alimentation humaine. En cause, sa forte acidité et sa teneur en benzo(a)pyrène, un composé cancérigène pouvant dépasser 260 mg/kg, soit bien au-dessus de la limite internationale de 2 mg/l pour l'huile de table [28].

5. L'extraction aqueuse :

Ce processus, apparu dans les années 50, permet d'extraire simultanément l'huile et les protéines sous forme de concentrat ou d'isolat. Contrairement aux méthodes utilisant des solvants organiques, il exploite l'immiscibilité entre l'huile et l'eau. En suspendant l'huile dans l'eau, une démixtion de phase devrait se produire en raison de l'instabilité thermodynamique du mélange. Le procédé typique est fondé sur la flottation à l'eau chaude, initialement utilisée pour extraire l'huile des tourteaux dans les environnements ruraux [29]. Ce processus, apparu dans les années 50, permet d'extraire simultanément l'huile et les protéines sous forme de concentrat ou d'isolat. Contrairement aux méthodes utilisant des solvants organiques, il exploite l'immiscibilité entre l'huile et l'eau. En suspendant l'huile dans l'eau, une démixtion de phase devrait se produire en raison de l'instabilité thermodynamique du mélange [29]. Le procédé typique est fondé sur la flottation à l'eau chaude, initialement utilisée pour extraire l'huile des tourteaux dans les environnements ruraux [29].

5.1. Les étapes d'extraction aqueux d'huile de grignon d'olive :

- **Le broyage :** Le broyage est réduit la taille des fibres et uniformise la poudre, transformant ainsi la matière première en "farine" [30].
- **La macération :**La macération est une technique d'extraction qui consiste à immerger de la poudre végétale dans un solvant pendant une durée prolongée à température ambiante, afin d'en extraire les principes actifs [31].
- **Le séchage :** Le séchage de la matière végétale est crucial pour optimiser l'extraction et la qualité des huiles essentielles. En effet, une température élevée peut altérer ces composés fragiles, tandis qu'un séchage rapide permet de limiter leur dégradation naturelle. Le choix de la méthode de séchage dépend de la partie végétale utilisée [32].
- **La filtration :** La filtration est une technique permettant de séparer les particules solides, qu'elles soient en suspension ou dissoutes, d'un liquide en le faisant passer à travers un matériau poreux. Dans le cas d'un film biologique, ce dernier retient et dégrade les composés organiques présents dans l'eau [33].

6. Caractéristiques de grignon d'olive :

6.1.Caractéristiques physiques :

Les grignons bruts, composés de fragments de coque, de peau et de pulpe d'olive broyées, contiennent environ 25% d'eau et une quantité d'huile résiduelle. Cette composition favorise une détérioration rapide [34].

La différence principale entre les grignons bruts et les grignons épuisés réside dans leur teneur en huile et en eau. En effet, les grignons épuisés ont été déshydratés au cours du processus d'extraction, ce qui réduit leur teneur en huile et en eau.

Les grignons épuisés partiellement dénoyautés se composent principalement de la pulpe d'olive (mésocarpe). Ils conservent également une petite quantité de coques, impossible à éliminer complètement par les techniques de tamisage ou de ventilation Actuelles [34].

Tableau 2 : Les différents composants du grignon d'olive [34].

Composants	Olive (%)	GO brut (%)	GO épuisé (%)
Eau	49	27	17
Huile	27	9	2
Coque	14	43	55
Pulpe	9	21	26

6.2. Caractéristiques chimiques :

La composition chimique des grignons d'olive n'est pas figée, elle dépend de plusieurs facteurs : Stade de maturité des olives, Procédé d'extraction de l'huile, Épuisement par les solvants. La composition chimique des grignons d'olive est complexe et variable, mais ils se caractérisent généralement par une richesse en eau, en cellulose et en matière grasse résiduelle, ainsi qu'une faible teneur en protéines, en minéraux et en carbohydrates solubles [35].

Tableau 03 : Composition chimique indicative des différents types de grignons [34].

Type	% de la Matière Sèche				
	Matière Sèche	Matières minérales	Matières Azotées Totales	Cellulose brute	Matières Grasses
Grignon brut	75–80	3–5	5–10	35–50	8–15
Gr. gras part. dénoyauté	80–95	6–7	9–12	20–30	15–30
Grignon épuisé	85–90	7–10	8–10	35–40	4–6
Gr. épuisé part. dénoyauté	85–90	6–8	9–14	15–35	4–6
Pulpe grasse	35–40	5–8	9–13	16–25	26–33

6.3. Composition chimique des grignons d'olives :

La biomasse lignocellulosique est principalement composée de trois éléments clés présents dans les parois végétales : la cellulose, l'hémicellulose et la lignine.

➤ **Cellulose brute :**

Les grignons se caractérisent par une teneur élevée en lignine (27%) et une faible teneur en hémicellulose (10%) et cellulose (15%), les classant comme un substrat hautement lignifié et peu digestible [36].

L'analyse des fibres des grignons d'olive selon la méthode de Van Soest et al. (1975) a mis en évidence des teneurs très élevées en constituants pariétaux : lignine ADL, cellulose (ADF - ADL) et hémicellulose (NDF - ADF) [36].

➤ **Matières minérales (cendres) :**

Dans des conditions normales, la contamination est minime (3-5%), mais un contact avec le sol peut l'augmenter [37].

➤ **Matières grasses (lipides) :**

La quantité de matière grasse dans les grignons d'olive est notable, mais elle dépend de la méthode d'extraction de l'huile utilisée.

La composition en acides gras des grignons d'olive est caractérisée par une forte proportion d'acides gras insaturés C16 et C18, représentant 96% de l'ensemble des acides gras. Les grignons bruts représentent une source d'énergie notable grâce à leurs matières grasses, mais cet apport est nettement plus faible dans les grignons épuisés [38]

➤ **Matières azotées totales :**

La quantité de matière azotée présente dans les grignons d'olive n'est pas uniforme et dépend du type de grignon. En moyenne, les grignons contiennent environ 10% de matière azotée par rapport à la matière sèche, la majeure partie étant concentrée dans l'endocarpe [39].

➤ **Polyphénols :**

Les grignons d'olive renferment des composés phénoliques, substances aux propriétés antimicrobiennes, provenant d'une part de l'olive elle-même, dont la teneur en composés phénoliques oscille entre 0,3% et 5%, et d'autre part de la dégradation de la lignine induite par le traitement subi par les grignons [40].

La toxicité des grignons d'olive est principalement attribuée à leur teneur élevée en polyphénols, des composés organiques complexes qui résistent difficilement à la biodégradation [41].



CHAPITRE 03 : **Généralité sur la toxicité**



I. La toxicité :

1. La toxicité :

La toxicité est une propriété fondamentale d'une substance chimique qui détermine sa capacité à causer des dommages à un organisme vivant. La toxicité regroupe tous les méfaits qu'un poison peut causer à un organisme vivant. C'est la capacité propre à une substance chimique d'endommager un être vivant et d'en faire un produit dangereux [42].

La toxicité d'une substance est déterminée par un certain nombre de facteurs, notamment :

- **La dose** de la substance à laquelle l'organisme est exposé
- **La voie d'exposition** (ingestion, inhalation, contact cutané)
- **L'âge** et l'état de santé de l'organisme
- **La présence d'autres substances** dans l'organisme la toxicité peut se manifester de deux manières principales, chacune ayant des conséquences différentes sur l'organisme [43] :
 - **La toxicité lésionnelle** est plus rare mais plus grave, avec un risque de séquelles durables.
 - **La toxicité fonctionnelle** est plus fréquente mais moins grave, avec une récupération généralement complète.

2. Types de toxicité :

2.1. La toxicité aiguë : (exposition unique < 24 heures)

La toxicité aiguë survient lorsqu'une personne est exposée à une substance toxique sur une courte période, généralement moins de 24 heures, à une dose élevée. Les effets se manifestent rapidement et peuvent entraîner la mort ou la guérison complète dans un court laps de temps [44].

2.2. La toxicité subaiguë : (exposition répétée ≤ 1 mois)

Cette toxicité est caractérisée par les effets nocifs observés chez les animaux de laboratoire exposés de manière répétée à l'agent toxique pendant une période pouvant aller jusqu'à environ la moitié de leur durée de vie.

Cela implique qu'une exposition répétée et fréquente sur plusieurs jours ou semaines est nécessaire avant que les symptômes ne se manifestent [45].

2.3. La toxicité subchronique : (exposition répétée de 1 à 3 mois)

La toxicité subchronique chez les animaux expérimentaux se caractérise par l'administration répétée ou prolongée d'un agent toxique sur une période comprise entre plusieurs semaines (généralement 28 jours) et 3 mois (90 jours), ce qui représente une fraction relativement courte de la durée de vie moyenne de l'espèce étudiée [46].

2.4. La toxicité chronique : (exposition répétée > 3 mois)

La toxicité chronique, c'est quand un organisme est exposé à de petites doses d'une substance toxique sur une longue période. Cela peut causer des dommages graves, même si la dose n'est pas assez forte pour tuer immédiatement. Les effets peuvent apparaître lentement et sans symptômes clairs, et peuvent être permanents [47].

3. La dose :

La quantité d'une substance toxique à laquelle un organisme est exposé est appelée dose. En général, plus la dose est élevée, plus les effets toxiques sont intenses et diversifiés (*C'est la dose qui fait le poison*) [48].

4. Relation dose effet / dose réponse :

4.1. Relation dose effet : L'augmentation des doses généralement entraîne une intensification et une variété accrue des effets toxiques, ce qui est connu sous le nom de relation dose-effet ou exposition-effet, qui décrit la corrélation entre l'exposition et la gravité des effets observés [48].

4.2. Relation dose réponse : L'impact d'une substance toxique sur un groupe d'individus exposé à la même dose peut varier. Cette variabilité est décrite par la relation dose-réponse, ou relation exposition-réponse, qui représente la corrélation entre l'exposition à une substance et le nombre d'individus présentant un effet donné [48]. L'augmentation de la dose d'une substance toxique à laquelle un individu est exposé peut entraîner une intensification des effets néfastes ressentis. Plus la dose de poison est élevée, plus il y a de personnes qui tombent malades.

5. Méthode d'étude de toxicité :

5.1. Etude in vivo :

Étude in vivo, C'est une recherche scientifique menée sur des organismes vivants entiers. Les études expérimentales sur l'animal jouent un rôle crucial dans la compréhension des effets toxiques des substances et l'évaluation des risques

potentiels pour la santé humaine. La rigueur méthodologique et le respect de principes fondamentaux sont essentiels pour garantir la fiabilité et la pertinence des résultats obtenus [43]. Voici quelques domaines où les études in vivo sont couramment utilisées :

- **Développement de médicaments** : Tester l'efficacité et la sécurité des nouveaux médicaments chez les animaux avant de les administrer aux humains.
- **Recherche en biologie** : Étudier le fonctionnement des organismes vivants et comprendre les causes des maladies.
- **Toxicologie** : Évaluer les effets nocifs potentiels des produits chimiques, des polluants et d'autres substances sur les animaux.
- **Nutrition** : Étudier les effets des différents aliments et régimes alimentaires sur la santé.

5.2. Étude Epidémiologique :

L'épidémiologie étudie la fréquence et la répartition des phénomènes de santé dans le temps et dans l'espace, ainsi que le rôle des facteurs qui déterminent cette fréquence et cette répartition au sein des populations humaines [49].

Rôles de l'épidémiologie [49] :

- Surveillance de l'état de santé de la population - Épidémiologie descriptive.
- Recherche des causes des maladies - Épidémiologie analytique.
- Évaluation du diagnostic, du traitement et des actions de santé publique - Épidémiologie expérimentale.

5.3. Les études théoriques par modélisation :

Les études théoriques par modélisation constituent un outil précieux pour la compréhension du monde vivant. Elles permettent d'explorer des phénomènes complexes, de tester des hypothèses et de développer de nouvelles connaissances. Cependant, il est important de garder à l'esprit les limites de la modélisation et de combiner cette approche avec des études expérimentales pour obtenir une vision complète des processus biologiques [50].

La modélisation offre de nombreux avantages dans le domaine des études théoriques

- **Observer des phénomènes difficiles à étudier in vivo ou in vitro**

- Tester des hypothèses
- Prédire des comportements
- Développer de nouveaux outils thérapeutiques

5.4. Etude in vitro :

Contrairement aux études in vivo qui observent des organismes entiers dans leur milieu naturel, les études in vitro se déroulent dans un environnement contrôlé en laboratoire. Elles permettent d'isoler des éléments d'un organisme, tels que des micro-organismes (bactéries, champignons...), des cellules (musculaires, nerveuses...) ou des molécules biologiques (protéines, ADN...), pour les étudier en détail [51].

Ces éléments sont isolés de leur environnement habituel et placés dans un milieu contrôlé en laboratoire, souvent représenté par des éprouvettes, des flacons ou des boîtes de Pétri. En étudiant leur comportement et leurs interactions dans cet environnement simplifié, les scientifiques peuvent :

- Comprendre les mécanismes biologiques fondamentaux
- Tester l'effet de médicaments sur des cellules isolées
- Analyser le fonctionnement des protéines
- Explorer les interactions entre les gènes et leur environnement

Les études in vitro sont essentielles pour la recherche scientifique et médicale. Elles ont joué un rôle clé dans de nombreuses avancées, comme : Le développement de nouveaux médicaments, La compréhension des maladies, L'exploration des potentialités de la biologie moléculaire [51].

5.4.1. Des exemples des étude in vitro :

- **Culture cellulaire** : Isoler, cultiver et identifier des cellules provenant d'organismes multicellulaires pour étudier leur croissance, leur fonction et leur réponse à des stimuli [51].
- **Purification des protéines** : Isoler une protéine spécifique d'un mélange complexe pour étudier sa structure, sa fonction et ses interactions avec d'autres molécules.
- **Fécondation in vitro** : Féconder des ovules avec des spermatozoïdes en laboratoire pour aider les couples infertiles à concevoir [51].

- **Diagnostic in vitro** : Réaliser des tests sur des échantillons de sang, de cellules ou de tissus pour diagnostiquer des maladies ou surveiller l'état de santé d'un patient.
- **Etude ADME** : Evaluer l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion de médicaments ou de produits chimiques dans l'organisme [51].

II. L'inflammation :

1. L'inflammation :

L'inflammation est une réponse complexe du système vasculaire et tissulaire face à des agents agressifs tels que les agents pathogènes, les irritants ou les cellules endommagées [52]. Son objectif principal est de résoudre l'infection ou de réparer les dommages, ramenant ainsi le corps à un état d'équilibre. Les symptômes inflammatoires incluent généralement la rougeur, la douleur, la chaleur et l'enflure. Le processus inflammatoire se déroule en quatre phases : la reconnaissance de l'agent pathogène, le recrutement des cellules immunitaires sur le site infecté, l'élimination du microorganisme et la résolution de l'inflammation. Bien que la réaction inflammatoire soit bénéfique dans la défense de l'organisme, elle peut entraîner des conséquences néfastes en raison de la surproduction de certains médiateurs [53].

2. Les facteurs déclenchant l'inflammation :

L'inflammation peut être causée par des éléments externes (exogènes) ou internes (endogènes) comme le résume le tableau 1. Quelle que soit son origine, la réaction inflammatoire suit toujours la même séquence : une phase vasculaire, suivie d'une phase cellulaire et enfin d'une phase de réparation. Il est important de noter que ces trois phases ne se succèdent pas de manière linéaire mais s'imbriquent et se chevauchent [54].

Tableau 04 : Facteurs qui déclenchent la réaction inflammatoire_[54].

Origine exogène	Agents microbiens : bactéries, virus, parasites, champignons, toxines.
------------------------	--

	Agents chimiques : caustiques, toxines, venins, acides, bases, médicaments.
	Agents physiques : brûlures, gelures, radiations, coupures, piqûres.
Origine endogène	Microcristaux : goutte, chondrocal des articulaires, rhumatismes hydroxyapatites, Auto anticorps, Libération enzymatique

3. Types d'inflammation :

3.1. L'inflammation aiguë :

L'inflammation aiguë est de courte durée, durant de quelques minutes à quelques jours. Ses principales caractéristiques incluent la fuite de protéines plasmatiques et la migration des leucocytes vers une zone extravasculaire. Ces réactions, médiées par des facteurs chimiques produits par les cellules ou le plasma, entraînent les symptômes classiques de l'inflammation tels que le gonflement, la rougeur, la douleur, la chaleur et la perte de fonction. Elle se déroule en trois étapes principales : la circulation sanguine vers la zone inflammée, suivie d'une vasodilatation et d'une perméabilité vasculaire avec migration des leucocytes phagocytaires vers les tissus environnants [55].

3.2. L'inflammation chronique :

L'inflammation chronique dans les tissus survient généralement en l'absence d'un stimulus réel. Elle peut être causée par des agents physiques ou chimiques persistants, une susceptibilité génétique, la persistance de corps étrangers, des expositions chimiques continues, des épisodes récurrents d'inflammation aiguë ou des agents pathogènes spécifiques [55].

4. Les Cellules de l'inflammation :

Le foyer inflammatoire est constitué d'une variété de cellules provenant du sang et des tissus conjonctifs locaux. Ces cellules jouent des rôles essentiels dans la réponse immunitaire et la réparation tissulaire [56].

4.1. Les lymphocytes :

Les lymphocytes B et T sont des acteurs clés de notre système immunitaire, nous protégeant contre une multitude d'agents pathogènes. Ils possèdent des récepteurs uniques à leur surface (TCR pour les lymphocytes T et BCR pour les lymphocytes B) qui leur permettent de reconnaître des molécules spécifiques aux agents pathogènes, appelées antigènes [57].

4.2. Les macrophages :

Les macrophages occupent une position centrale et vitale dans la réponse immunitaire, agissant comme des présentateurs d'antigènes aux lymphocytes lors de la mise en place d'une immunité spécifique. Ils servent également de support aux lymphocytes, en partie par la libération de facteurs solubles. En outre, les macrophages jouent un rôle fondamental dans la protection en ingérant et en éliminant les organismes envahisseurs [58].

4.3. Les mastocytes

Les mastocytes jouent un rôle essentiel dans la défense contre les infections et les blessures en déclenchant une réponse inflammatoire rapide et efficace. Ces cellules sentinelles stockent des granules remplis de substances chimiques, appelées médiateurs inflammatoires. Lorsqu'ils sont exposés à des agents pathogènes ou à d'autres substances nocives, les mastocytes libèrent ces médiateurs inflammatoires, déclenchant ainsi une réponse inflammatoire [59].

4.4. Les monocytes

Patrouillant dans le sang, les monocytes font partie de la première ligne de défense de l'organisme. Ces cellules, issues de la lignée myéloïde, sont de puissants phagocytes, capables d'ingérer et de détruire les ennemis microscopiques, tels que les bactéries, les virus et les parasites [60].

4.5. Les plaquettes

Loin de se limiter à leur rôle dans la coagulation sanguine, les plaquettes s'avèrent être des acteurs clés de l'inflammation. Lors d'une inflammation, ces minuscules cellules sanguines libèrent un arsenal de médiateurs chimiques, des molécules messagères qui influencent divers aspects de la réponse inflammatoire [61].

4.6. Les neutrophiles

Les neutrophiles, ou polynucléaires neutrophiles, jouent un rôle crucial en libérant diverses molécules telles que des protéinases, des radicaux libres, des chimioquinas

et des cytokines pro-inflammatoires. De plus, ils participent également au processus de réparation tissulaire [62].

4.7. Les polynucléaires éosinophiles

Moins nombreux que leurs cousins neutrophiles, les polynucléaires éosinophiles, ou éosinophiles, ne représentent que 1 à 3 % des globules blancs. Malgré leur faible nombre, ils jouent un rôle crucial dans la défense contre les parasites et les allergies [63].

4.8. Les Mastocytes et Les basophiles

Siégeant dans des compartiments distincts - les mastocytes dans les tissus (peau, poumons...) et les basophiles dans le sang - ces deux types cellulaires partagent des traits communs qui les rendent redoutables face aux allergènes [64].

- **Arsenaux chimiques :** Mastocytes et basophiles renferment des granules, de petits sacs remplis d'histamine, une substance clé dans les réactions allergiques.
- **Récepteurs affûtés :** Leur surface est dotée de récepteurs IgE à haute affinité, prêts à capturer les immunoglobulines IgE spécifiques à un allergène particulier.
- **Déclenchement explosif :** Lors de la rencontre avec l'allergène correspondant, ces récepteurs déclenchent la libération explosive du contenu des granules, libérant une cascade de réactions allergiques

5. Anti-inflammatoires :

Les anti-inflammatoires, qu'ils soient d'origine synthétique ou naturelle, constituent une aide précieuse pour soulager l'inflammation et ses symptômes. Cependant, il est important de choisir le traitement le plus adapté à chaque cas et de se soucier des potentiels effets secondaires. L'utilisation de plantes médicinales peut offrir une alternative intéressante aux anti-inflammatoires synthétiques, mais il est important de consulter un professionnel de santé avant de les utiliser.

5.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), largement prescrits pour leurs effets anti-inflammatoires, antipyrétiques (réduction de la fièvre) et antalgiques (soulagement de la douleur), incluent des médicaments courants tels que l'aspirine, l'ibuprofène et le paracétamol. Leur mécanisme d'action repose sur l'inhibition de la production de prostaglandines et de thromboxanes, des médiateurs

inflammatoires. Cependant, ils sont associés à des effets secondaires tels que des troubles digestifs et une augmentation du risque cardiovasculaire [65].

5.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) :

Les anti-inflammatoires stéroïdiens, comprenant à la fois des substances naturelles produites par les glandes surrénales et des médicaments synthétiques tels que la cortisone, exercent une action significative sur toutes les étapes de l'inflammation. Malgré leur efficacité, ils sont associés à des effets secondaires importants, notamment des perturbations métaboliques et la suppression de la fonction des glandes surrénales [66]

6. Les effets nocifs de substances inflammatoires ou les effets toxiques causés par une inflammation excessive in vitro :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) font partie des médicaments les plus utilisés au monde, en vente libre ou sur ordonnance. Leur efficacité contre la douleur, l'inflammation et la fièvre est connue depuis longtemps, expliquant leur large prescription dans des situations diverses comme l'arthrose, les rhumatismes inflammatoires, les douleurs dentaires et les dysménorrhées [67].

Si les AINS sont des alliés précieux contre la douleur et l'inflammation, ils ne sont pas sans risque. En effet, ils figurent parmi les médicaments les plus souvent associés à des effets indésirables, dont certains peuvent être graves.

6.1. Des conséquences digestives majeures :

Chaque année, les AINS sont responsables d'environ 260 000 hospitalisations et 26 000 décès dans le monde, principalement à cause d'effets indésirables digestifs graves. Les ulcères gastroduodénaux, hémorragies et perforations représentent les complications les plus redoutées [67].

Chaque année, 2 à 4% des patients sous AINS développent un ulcère compliqué (perforation, ulcère creusant ou saignement), dont 1 à 2% subissent une complication grave.

6.2. Altération de la fonction rénale :

Les AINS peuvent interférer avec le bon fonctionnement des reins, en particulier chez les personnes déjà fragilisées par une diminution du débit sanguin rénal ou une déshydratation [67].

6.3. Augmentation de la pression artérielle :

Tous les AINS provoquent une augmentation de la pression artérielle, ce qui peut accroître le risque d'accident vasculaire cérébral et d'infarctus du myocarde [67].

6.4. Réactions allergiques et toxiques :

Dans des cas plus rares, les AINS peuvent déclencher des réactions allergiques (cutanées ou hépatiques) ou des effets toxiques (comme la phototoxicité) [67].

MATERIELS ET METHODES

Notre étude est réalisée au sein du laboratoire de recherche de la faculté de biologie université « Abou Bakr Belkaid » Tlemcen.

Nos travaux ont porté sur l'étude des propriétés anti inflammatoire, screening phytochimique et test MTT de l'extrait aqueux de grignon d'olive.

1. Matière végétale :

Pour notre expérimentation, nous avons collecté des grignons d'olives auprès d'une huilerie locale située dans la région d'Ouzidene, dans la wilaya de Tlemcen.



Figure 06 : Des photos originales de Huilerie Ouzidane Tlemcen

2. Préparation de l'extrait aqueux de grignon d'olive :

2.1. Séchage et broyage :

Le grignon d'olive brut a été séché à l'air libre dans un endroit sec, ventilé et ombragé. Après séchage, il a été broyé à l'aide d'un Moulinex pour obtenir une poudre avec une teneur en matière sèche moyenne de 90%.



Figure 07 : photo originale de grignon d'olive séché et broyé

1.1. Macération :

Une masse de 10g de la poudre est mise à macérer dans un volume de 100ml d'eau distillé, dans un bécher recouvert d'un papier aluminium. Après cela le mélange est agité pendant une heure, à l'aide d'un agitateur magnétique et laisser le mélange macérer pendant 24 heures à une température ambiante.

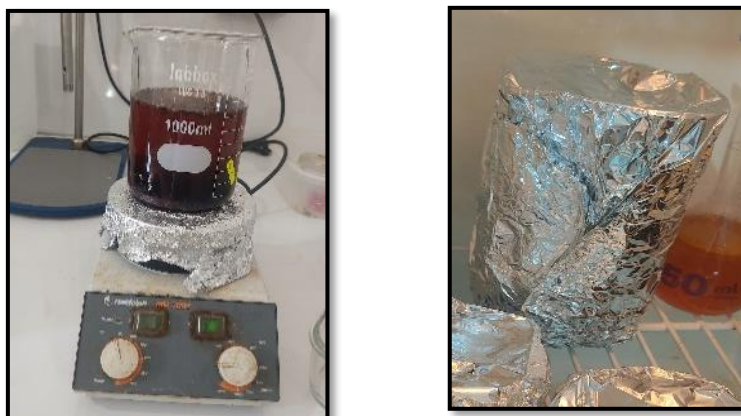


Figure 08 : photo originale de macération

1.2. Filtration :

Le mélange a été filtré après 24 heures, ce qui a permis de séparer la phase liquide (extrait aqueux) de la phase solide (résidu).



Figure 09 : photo originale de filtration

1.3. L'évaporation :

Le filtrat placé dans un rotavapeur à 40 °C pour assurer L'évaporation du solvant, Pendant 24 heures. Et puis nous l'avons mis dans l'étuve.



Figure 10 : photo originale de l'étuve et du rotavapeur utilisé

2.2. Extraits de grignon d'olive après séchage :

Le rendement en pourcentage de grignon d'olive en extrait sec a été calculé par la formule :

$$R(\%) = (M / M_0) \cdot 100$$

- **R(%)** : rendement en pourcentage.
- **M** : masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- **M₀** : masse en gramme du matériel végétal de départ.

Nous avons gratté l'extrait séché avec une spatule et l'avons rempli dans une Eppendorf pour commencer nos expériences.

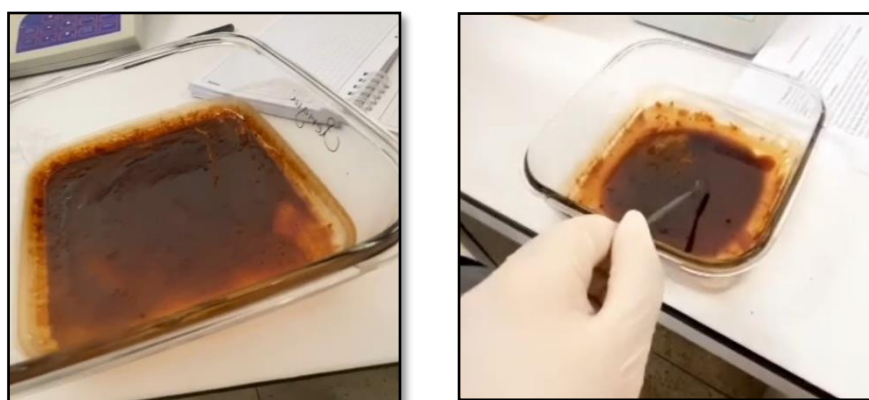


Figure 11 : photo originale de l'extraits de grignon d'olive après séchage

3. Détermination, in vitro, de l'activité anti-inflammatoire, screening phytochimique et le test MTT du grignon d'olive :

3.1. Screening phytochimique :

Les tests phytochimiques, constituent des analyses qualitatives permettant d'identifier les différents groupes de composés chimiques présents dans une partie végétale. Ces tests reposent sur des réactions physico-chimiques spécifiques qui permettent de déceler la présence de substances chimiques particulières.

- **Saponines** : 5 ml de l'extrait à tester sont bien mélangés avec 10ml d'eau distillé pendant 15secondes. Après 15min l'apparition d'un mousse persistant indique une réaction positive [68].
- **Polyphénol** : 5ml d'extrait polaire, bien mélangés avec un volume égal de réactif de Burton, composé de $FeCl_3$ 2M et de $K_3Fe(CN)_6$. L'apparition d'une coloration bleu violacé, indiquant la présence de polyphénols [69].
- **Flavonoïdes** : 2,5 ml d'extrait aqueux sont mélangés à 2,5 ml d'acide chlorhydrique. Ensuite, 0,25 g de magnésium est ajouté. La formation d'une coloration rose-rouge indique la présence de Flavonoïdes [68].
- **Quinones** : On a ajouté 2 ml d'hydroxyde de sodium 10M à 5 ml de l'extrait et on a agité énergiquement. L'apparition rapide ou lente d'une coloration rouge-orange indique la présence de quinones [68].
- **Tanin** : 1 ml d'extrait aqueux a été mélangé à 1 ml d'eau distillée et additionné de quelques gouttes de $FeCl_3$ à 1%. L'observation d'une coloration vert foncé ou bleu-vert confirme la présence de tanin [68].
- **Protéines** : Dans un tube à essai, 2 ml de NaOH à 20% a été ajoutée à 1g de grignon d'olive, puis ajoute quelques gouttes de $CuSO_4$ à 2%. L'apparition d'un couleur violet indique Le résultat positif [70].

3.2. L'activité Anti-inflammatoire :

L'activité anti inflammatoire in vitro des extraits de grignon d'olive a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines [71].

➤ Dosage de l'activité d'inhibition de la dénaturation des protéines :

La méthode consiste a préparé quatre solutions :

- **La solution d'essai** (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse BSA 0,5% w/v et 0,05 ml des défiants extraits de la plante avec des concentrations varier (250,500, 1000,2500 et 3000 μ g/ml).

- **La solution control test** (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml d'eau distillé.
- **La solution contrôle produit** (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml Des défèrent extraits de la plante avec des concentrations varier (250, 500, 1000,2500 et 3000 µg/ml).
- **La solution standard test** (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml de la solution standard Diclofénac sodium avec des concentrations varié (250, 500, 1000,2500 et 3000µg/ml).

Les échantillons ont été incubées à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était Augmenté jusqu'à 57 °C pendant 3 min. Après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate buffer saline (PH 6,3) a été ajouté aux solutions [70]. L'absorbance a été lue par spectrophotomètre UV-visible à 255 nm et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines été calculée comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = 100 - \left[\frac{(\text{DO test solution d'essai} - \text{DO de contrôle des produits})}{\text{DO de test control}} \right] \times 100.$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées, et les résultats sont comparés avec le diclofénac sodium.

3.3. Test MTT :

La viabilité et la prolifération des cellules cultivées in vitro des extraits de grignon d'olive à été effectuée selon cette méthode [72] :

1. Isolement des lymphocytes à partir du sang humain

- Prélever le sang dans un tube EDTA
- Dans d'autre tube, Déposer 2 volumes de sang avec 1 volume de Ficoll-Hippiques
- Centrifuger le tube à 2000 t/min pendant 45 minutes



Figure 12 : photo originale de centrifugeuse utilisé

- Après centrifugation, plusieurs couches distinctes seront visibles dans le tube : La couche supérieure est le plasma, La couche intermédiaire est la zone d'interface où se trouvent les lymphocytes et La couche inférieure est constituée le ficoll et des globules rouges et des granulocytes.

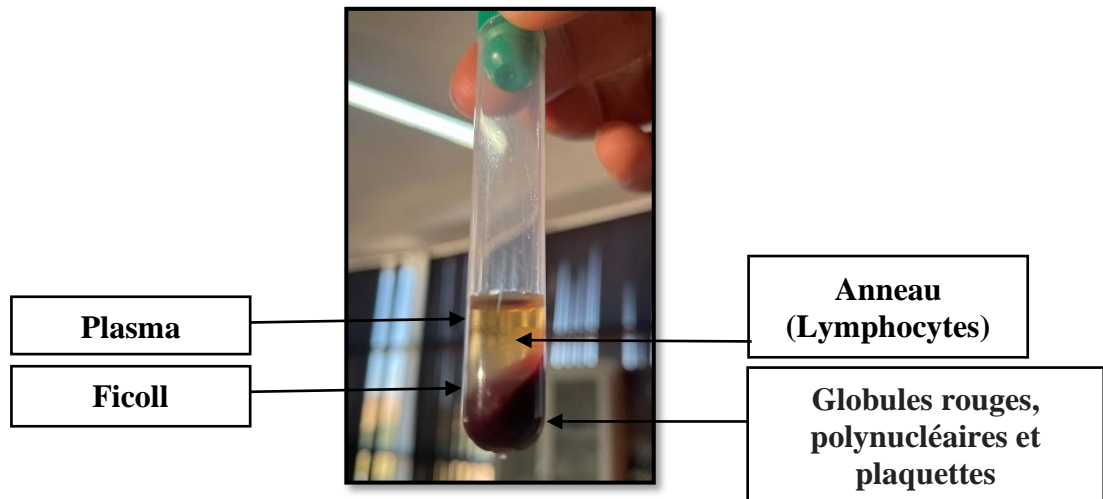


Figure 13 : photo originale de résultat de la séparation de lymphocytes sur ficoll

- Aspirer délicatement la couche anneau (environ 1 ml) contenant les lymphocytes dans un nouveau tube à centrifuger stérile.
- Après lavage deux fois et centrifugation on a jeté le surnage
- Préparation du milieu RPMI : 500ml RPMI+13 ml de Hepes (poudre préparée à 10%) 5 ml de glutamine (poudre préparée à 10%) +5 ml d'antibiotique (la streptomycine et la pénicilline + sérum de veau 10%). De ce mélange, prenez 100 μ l ,et Ajusté une solution de bleu de trypan .

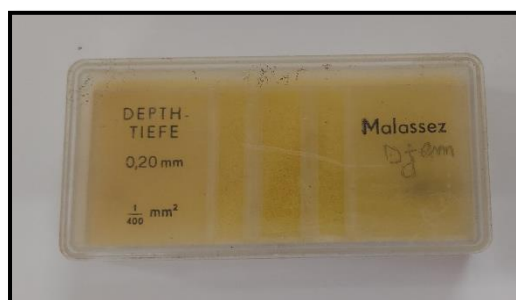


Figure 14 : lame de numérotations de malossez

- Compter les cellules vivantes (cellules non colorées) au microscope.
- Calculer le nombre de lymphocytes par ml.



Figure 15 : photo originale des cellules de lymphocyte sur microscope

2. Test MTT :

- Dans une plaque Elisa, nous avons ajouté les quatre concentrations de notre extrait, répétant l'opération trois fois pour obtenir trois séries de 375, 750, 1500 et 3000 $\mu\text{g/ml}$. Ensuite, 100 μl de la solution RPMI ont été ajoutés à toutes les concentrations.
- La plaque a été incubée pendant 48 heures (figure 15), puis 100 μl de la solution ont été prélevés. Ensuite, 10 μl de MTT ont été ajoutés et la plaque a été incubée pendant 2 heures à 37 °C. Après cela, 50 μl de tampon de MTT ont été ajoutés et la plaque a été incubée pendant 30 minutes à 37 °C. Enfin, la lecture a été effectuée à 570 nm.



Figure 16 : photo originale de l'incubateur utilisé



Figure 17 : photo originale de lecture de la plaque ELISA

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

1. Etude phytochimique qualitative :



Figure 18 : photo originale de les produit utilisé

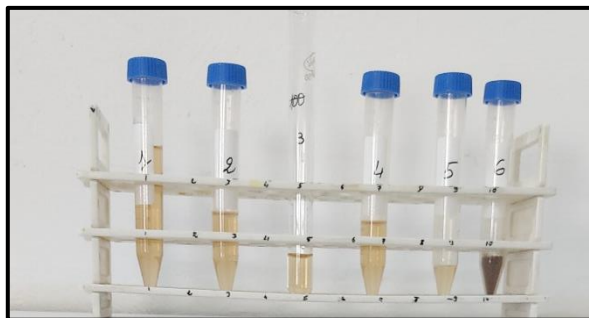


Figure 19 : avant l'interaction

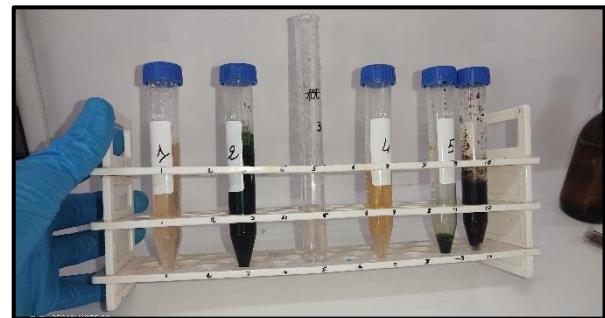



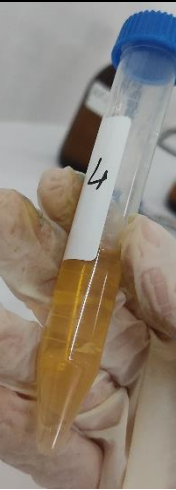




figure 20 : Après l'interaction

Tableau 06 : Représentation des résultats de screening phytochimiques réalisé sur les grignons d'olive

Saponines	Polyphénols	Flavonoïde	Quinones	Tanins	Protéines
+++	+++	++	-	+++	-
					

(-) : Absence (++) : présence moyenne (+++) : présence plus forte

L'analyse phytochimique de notre extrait de grignon d'olive a révélé un profil riche et varié en composés bioactifs. Les tanins, les saponines et les polyphénols se distinguent par leur présence remarquable, tandis que les flavonoïdes sont présents de manière modérée. En revanche, les tests de recherche de protéines et de quinones se sont avérés négatifs.

2. Etude quantitative (rendements d'extraction du G.O) :

Le calcul de rendement est réalisé pour la macération du grignon d'olive dans l'eau distillée. Le résultat sont récapitulés dans le Tableau 8.

Tableau 5 : Rendements de la macération de G.O dans l'eau distillée

Macérations	Extrait aqueux de G.O
Rendements (%)	11,96

3. Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux de grignon d'olive :

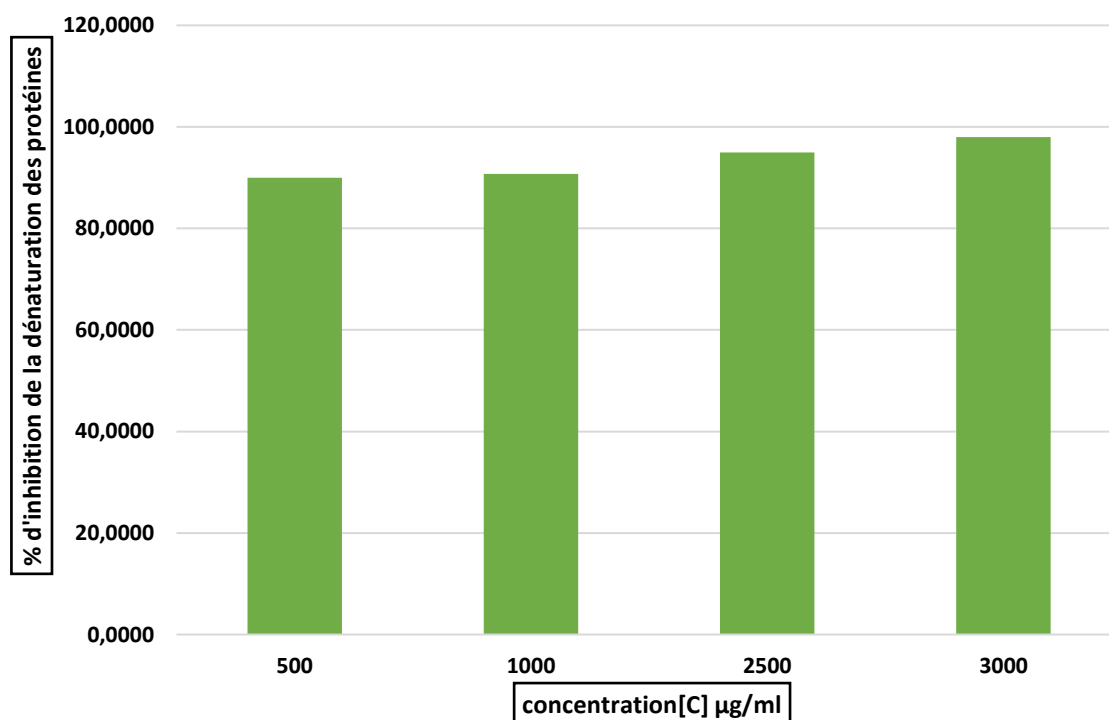


Figure 21 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines par Diclofénac

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de notre extrait aqueux de grignon d'olive, nous avons mené une étude in vitro utilisant le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) induite par un traitement thermique. Ce test vise à mesurer la capacité

de l'extrait à protéger la protéine BSA (albumine sérique bovine) de la dénaturation provoquée par la chaleur. La dénaturation des protéines est un phénomène lié à l'inflammation, et l'inhibition de ce processus par l'extrait suggère une action protectrice contre l'inflammation.

D'après nos résultats, le Diclofénac se distingue comme un inhibiteur hors pair de la dénaturation protéique, affichant un taux d'inhibition proche de 100%. Cette performance remarquable vient confirmer son efficacité redoutable dans la lutte contre l'inflammation.

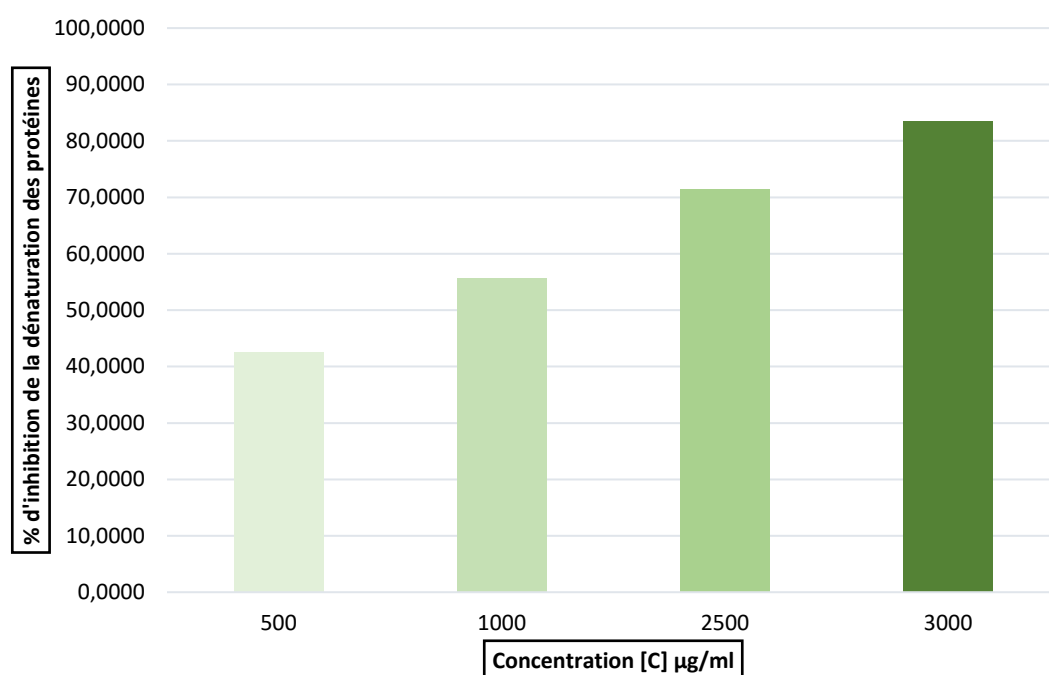


Figure 22 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique par l'extrait aqueux de grignon d'olive

Les résultats représentés dans la figure n°21 indiquent que l'extrait présente un effet significatif sur l'inhibition de la dénaturation protéique, avec une inhibition minimale de 42,52 % observée à la concentration la plus basse (500 µg /ml). Cet effet anti-dénaturant s'intensifie à mesure que la concentration augmente jusqu'à atteindre 83,50 % à la concentration la plus élevée (3000 µg/ml).

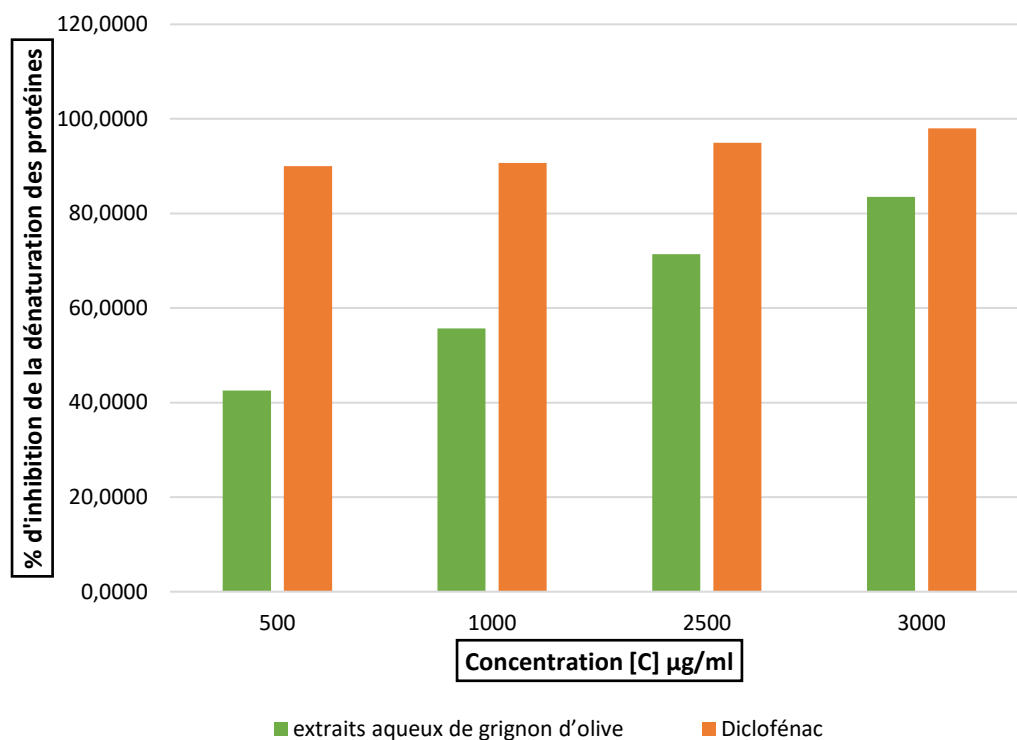


Figure 23 : Comparaison de taux d'inhibition de la dénaturation protéique entre diclofénac et l'extrait aqueux de grignon d'olive.

Les résultats représentés dans la Figure n°22 montrent que l'effet anti-dénaturant de diclofénac est plus important par rapport à l'extrait et ce pour les quatre concentrations.

D'après notre évaluation de l'histogramme, il est évident que l'inhibition de la dénaturation protéique de l'extrait augmente avec la concentration. Parmi les différentes concentrations évaluées, celle de 3000 µg/ml se rapproche le plus de l'efficacité observée avec le Diclofénac.

Nos résultats révèlent une haute signification statistique ($P = 0,0001$) lors de la comparaison de la dénaturation des protéines entre différentes concentrations d'extrait aqueux de grignons d'olive et diverses concentrations de Diclofénac. De même, une analyse des différentes concentrations d'extrait aqueux de grignons d'olive démontre également une haute signification statistique ($P = 0,0001$). Cependant, lorsqu'on compare les diverses concentrations de Diclofénac, une haute signification statistique ($P = 0,0001$) est observée, à l'exception des concentrations de 500 µg/ml et 1 000 µg/ml, pour lesquelles aucun effet significatif n'a été constaté ($p > 0,05$).

4. Le test MTT :

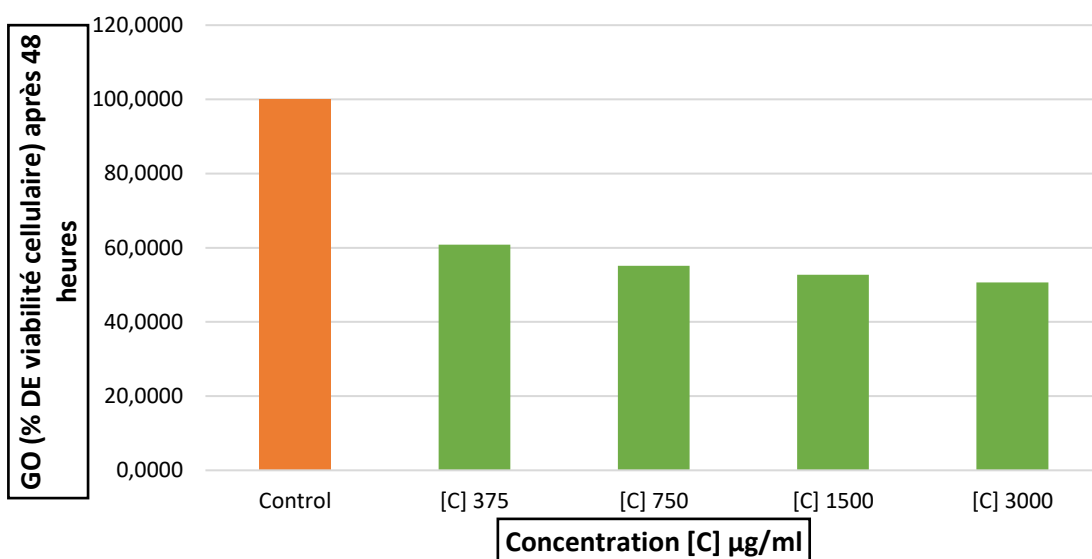


Figure 24 : Le graphique présente les résultats du test MTT pour l'évaluation de l'effet de l'extrait aqueux de grignon d'olive sur la viabilité cellulaire après 48 heures.

Le test MTT est un test de colorimétrie couramment utilisé pour évaluer l'activité métabolique cellulaire. Il permet d'estimer indirectement la viabilité et la prolifération des cellules cultivées *in vitro*.

Nous avons utilisé le test MTT pour évaluer l'effet de l'extrait de grignon d'olive sur la viabilité et la prolifération cellulaire. Cela permettrait de déterminer si l'extrait possède des propriétés cytotoxiques ou si au contraire il stimule la croissance cellulaire.

Le contrôle agit comme un point de référence. Il montre la viabilité cellulaire attendue en l'absence de l'extrait. Idéalement, la viabilité cellulaire dans le contrôle devrait être proche de 100 %, indiquant que les cellules sont en bonne santé et se multiplient normalement.

Les résultats représentés dans la Figure n°23 montrent que l'extrait aqueux de grignon d'olive a un effet inhibiteur sur la viabilité cellulaire. Cela signifie que l'extrait tue les cellules. L'effet inhibiteur est dose-dépendant, À des concentrations plus élevées (3000 µg/ml), l'extrait est plus cytotoxique, et à des concentrations faible (375 µg/ml) la cytotoxicité est modéré.

Le pourcentage de viabilité cellulaire après 48 heures d'exposition à une dose de 375 µg/ml est supérieur à celui observé après 48 heures d'exposition à des doses de 750 µg/ml, 1500 µg/ml et 3000 µg/ml. Cette différence significative est confirmée par un test ANOVA qui montre une haute signification statistique ($p = 0.0001$).

DISCUSSION

L'industrie mondiale de l'huile d'olive joue un rôle majeur, cultivant plus de 11 millions d'hectares d'oliveraies et produisant plus de 20 millions de tonnes d'olives par an, principalement pour l'extraction d'huile [4]. Cette activité engendre d'importantes quantités de grignons d'olive, riches en humidité, pulpe et fragments de pierre [73], dont l'élimination sur le terrain peut entraîner des problèmes environnementaux [4].

En Algérie, l'industrie oléicole génère annuellement d'énormes volumes de grignons, souvent déversés dans la nature malgré leur contenu précieux en huiles. Extraire ces huiles non seulement atténuerait l'impact écologique, mais offrirait aussi une nouvelle source de valeur pour diverses applications telles que les cosmétiques, les lubrifiants et les biocarburants.....ect [74].

Notre travail de master sur les activités biologiques et l'analyse phytochimique de l'extrait aqueux du grignon d'olive contribue à la valorisation de ses déchets d'olive.

L'extraction est un processus utilisé pour séparer un composé d'un mélange. Cette méthode repose sur l'emploi d'un agent d'extraction pour séparer de manière sélective un ou plusieurs composés d'un mélange, en se basant sur leurs propriétés chimiques et/ou physiques. Plusieurs techniques d'extraction sont disponibles, parmi lesquelles les plus couramment utilisées sont l'extraction liquide-liquide ou solide-liquide [75].

L'extraction solide-liquide, technique fondamentale en chimie, permet d'isoler un composé cible à partir d'un mélange solide. Le choix du solvant est crucial pour le succès de l'extraction, car il influence la solubilité des différents composants du mélange. Parmi les solvants les plus utilisés : eau, éthanol et méthanol [76].

L'eau est un solvant polaire qui convient particulièrement aux composés polaires simples tels que les sucres et les acides organiques. L'éthanol, quant à lui, est un solvant semi-polaire efficace pour une variété plus étendue de composés, notamment les polyphénols et certains lipides. Enfin, le méthanol est un solvant polaire pratique particulièrement efficace pour extraire les composés polaires complexes tels que les flavonoïdes et les anthocyanines.

Dans notre étude, on a utilisé l'eau pour obtenir un extrait aqueux de grignon d'olive, pour son faible coût, sa moindre toxicité son respect pour l'environnement par rapport aux autres extraits de plus proche, c'est le plus proche de la vie quotidienne

Après avoir comparé le rendement de notre extrait aqueux avec celui des extraits éthanoliques et méthanoliques de grignon d'olive [77], ainsi que des extraits éthanolique et méthanolique de grignon d'olive délipidé [78], nous avons constaté que :

- Notre approche d'extraction aqueuse a permis d'obtenir un rendement de **11,96%**, par rapport à **8%** pour les méthodes d'extraction éthanolique et **9%** pour les extraits

méthanolique. Les mêmes valeurs ont été obtenues pour le cas du grignon d'olive délipidé. Ces résultats démontrent que l'extraction aqueuse est une méthode plus efficace pour extraire les composés d'intérêt du grignon d'olive, que ce soit avec ou sans délipidation préalable. Il est important de noter que ces résultats peuvent varier en fonction de la source du grignon d'olive, de la méthode de préparation du matériau et des conditions d'extraction spécifiques

L'objectif du screening phytochimique des extraits de grignon d'olive est d'identifier et de définir les composés bioactifs contenus dans ces sous-produits de l'industrie oléicole. Cette étape revêt une importance fondamentale dans l'exploitation des grignons d'olive, qui renferment un potentiel considérable en tant que fournisseurs de composés à haute valeur ajoutée. Ce procédé de criblage phytochimique est basé sur des réactions de précipitation ou de coloration générées par des réactifs spécifiques adaptés à chaque classe de composés. Ces analyses qualitatives nous ont fourni des informations sur la composition initiale de l'extrait aqueux de grignons d'olive. Nous avons observé une concentration plus élevée de tanins, de saponines et de polyphénols, ainsi qu'une concentration moyenne de flavonoïdes, tandis qu'aucune protéine ni quinone n'a été détectée.

Après avoir comparé les résultats des tests phytochimiques des trois extraits de grignon d'olive : aqueux, éthanolique [79] et méthanolique[80], on a remarqué que :

- Les trois extraits[79][80], présentent une teneur moyenne en flavonoïdes (++) . Les flavonoïdes sont des composés antioxydants connus pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé.
- Les tanins sont présents en quantité plus forte (+++) dans l'extrait aqueux, tandis qu'ils présentent une teneur moyenne (++) dans de l'extrait éthanolique[79] et méthanolique[80]. Les tanins ont des propriétés astringentes et antioxydantes.
- Les saponines sont présentes en quantité plus forte (+++) dans les trois extraits[79][80]. Les saponines ont des propriétés détergentes et antimicrobiennes.
- Les quinones sont présentes en quantité moyenne (++) dans les deux extraits éthanoliques [79] et méthanolique[80] alors qu'ils étaient absents dans notre extrait aqueux (-). Les quinones ont des propriétés antioxydantes et antibactériennes.
- Les Polyphénols sont présents en quantité plus forte (+++) dans Les trois extraits [79][80]. Les Polyphénols ont des propriétés antioxydantes, Anti-inflammatoires et anticancéreuses.

Après avoir comparé les résultats des analyses phytochimiques de notre extrait aqueux de grignon d'olive à d'autres extraits aqueux du même déchet [79], nous avons constaté une cohérence sauf une différence réside dans l'absence de quinones dans notre extrait. Ce résultat peut être due à l'environnement, la nature de culture des olives ainsi que la méthode d'extraction de l'huile d'olive ou les concentrations utilisées dans l'analyse phytochimique.

La composition phytochimique des extraits de grignon d'olive détermine leurs propriétés biologiques et potentiels applications. Le choix du solvant d'extraction et d'autres facteurs influence la nature des composés extraits. La connaissance de la composition phytochimique est essentielle pour valoriser au mieux les extraits de grignon d'olive et développer de nouvelles applications.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines présentent des pourcentages d'inhibition l'extrait aqueux de grignon d'olive. La réaction inflammatoire est un processus physiologique de défense de l'organisme contre une agression entraînant une altération tissulaire. Son rôle principal est d'éliminer ou d'isoler l'agent agresseur (bactérie, virus, parasite, tissu lésé) du reste de l'organisme et de favoriser la réparation tissulaire aussi rapidement que possible. Cette réponse, appelée inflammation aiguë, est bénéfique pour l'organisme car elle lui permet de restaurer son intégrité physiologique. Cependant, si cette inflammation persiste et devient chronique, elle peut devenir néfaste. Dans ce cas, des traitements médicamenteux sont nécessaires pour la contrôler. Dans le traitement de l'inflammation, deux types de médicaments sont couramment utilisés : les anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) [81]. Le Diclofénac, un AINS reconnu, possède des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, antithrombotiques et antipyrétiques. Ces actions sont attribuées à ses interactions avec les phospholipides, composants essentiels des membranes cellulaires [82]. La dénaturation protéique désigne le processus par lequel une protéine perd sa structure tridimensionnelle native, c'est-à-dire sa conformation tridimensionnelle spécifique, sous l'action de facteurs tels que la chaleur, des agents infectieux ou des substances chimiques comme les acides ou les bases fortes [83]. Notre résultat montre que le Diclofénac se distingue par son efficacité remarquable en tant qu'inhibiteur de la dénaturation protéique, avec un taux d'inhibition approchant les 100%. De son côté, l'extrait de grignon d'olive présente un effet anti-dénaturant significatif, montrant une inhibition minimale de 42,52% et maximale de 83,50%. Cette capacité anti-dénaturante de l'extrait augmente proportionnellement à sa concentration, avec une concentration de 3000 µg/ml se rapprochant le plus de l'efficacité observée avec le Diclofénac.

Après avoir comparé les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines de notre extrait aqueux de grignon d'olive avec des extraits éthanoliques et méthanoliques de grignon d'olive [77] et des extraits éthanoliques et méthanoliques de grignon d'olive délipidés [84], on a remarqué que :

- Toutes les études démontrent que les composés testés (Diclofénac et les extraits de grignon d'olive) possèdent une activité anti-dénaturante des protéines [77][84].
- Comparé à l'extrait méthanolique, l'extrait éthanolique présente un effet protecteur contre la dénaturation des protéines plus important, et ce, pour toutes les concentrations étudiées. L'effet anti-dénaturant de les deux extraits augmente avec la concentration. Cet effet reste toujours légèrement faible comparé au Diclofénac pour les deux extraits [77].
- L'extrait méthanolique et éthanolique de grignons d'olive délipidé ont des effets protecteurs significatifs contre la dénaturation des protéines, pour toutes les concentrations étudiées. L'effet anti-dénaturant de les deux extraits augmente avec la concentration. Cet effet reste toujours fort comparé au Diclofénac pour les deux extraits [84].

Après avoir comparé nos résultats avec ceux de l'extrait éthanolique et méthanolique de grignon d'olive [77], nous avons observé une similitude marquée. Tandis que ces résultats étaient complètement différents de ceux de l'extrait éthanolique et méthanolique de grignon d'olive délipidé [84]. En effet, ces derniers ont démontré une efficacité supérieure à celle du diclofénac.

Pour évaluer l'activité métabolique des cellules on a utilisé Le test MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium), une technique colorimétrique largement utilisée. Il fournit une estimation indirecte de la viabilité et de la prolifération des cellules.

Notre extrait aqueux de grignon d'olive présente des propriétés cytotoxiques à des concentrations élevées (3000 µg/ml), mais peut également stimuler la croissance cellulaire à faible concentration (375 µg/ml). La variation de la viabilité cellulaire entre les différentes concentrations est statistiquement hautement significative ($p = 0,0001$).

En comparant l'activité cytotoxique in vitro de l'extrait aqueux de grignons d'olive à différentes concentrations (375 à 3000 µg/mL) avec celle des extraits phénoliques à différentes concentrations (0,4 à 50 µg/mL) [84] par le test MTT, nous avons observé :

- Une similitude notable dans leur action. En effet, les deux extraits montrent une activité cytotoxique dose-dépendante, c'est-à-dire que leur effet inhibiteur sur la viabilité cellulaire augmente avec l'augmentation de leur concentration.

- Par rapport aux concentrations, les extraits phénoliques sont plus efficaces que l'extrait aqueux de grignons d'olive, car ils montrent de bons résultats à de faibles concentrations, contrairement à notre extrait aqueux. Cette différence d'efficacité peut être attribuée à la concentration plus élevée de composés phénoliques actifs dans les extraits purifiés. Les composés phénoliques sont bien connus pour leurs propriétés biologiques, y compris leur capacité à induire une cytotoxicité. Ainsi, la présence de ces composés en plus grande quantité permet aux extraits phénoliques d'obtenir des résultats significatifs à des concentrations plus faibles.

Les deux types d'extraits présentent une activité cytotoxique dose-dépendante. Cette observation est cruciale car elle indique que les deux extraits peuvent potentiellement être utilisés pour des applications nécessitant une régulation de la croissance cellulaire (anticancéreux).

CONCLUSION

L'olivier est un arbre emblématique de la Méditerranée, avec une importance économique, culturelle et environnementale majeure. Sa culture et ses produits dérivés, notamment l'huile d'olive, jouent un rôle crucial dans le développement durable des régions oléicoles.

Cependant, la production d'huile d'olive génère de nombreux déchets ou sous-produits, tels que les grignons et la margine, qui constituent une véritable menace écologique. L'accumulation croissante de ces sous-produits dans les espaces naturels et les décharges sauvages représente un risque considérable pour l'environnement. La présence de composés phénoliques et d'autres substances toxiques dans ces déchets peut entraîner la contamination des sols et des eaux, affectant ainsi la biodiversité et la santé humaine.

Dans ce travail de Master, nous avons procédé à l'extraction aqueuse des grignons d'olive, puis nous avons testé leurs activités biologiques *in vitro*. Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des grignons d'olive, avec pour objectif de les utiliser dans le domaine thérapeutique, en particulier en médecine traditionnelle.

L'extraction aqueuse du grignon d'olive a donné un bon rendement de 11,96%. Les grignons d'olives se distinguent par une forte concentration en tanins, saponines et polyphénols, ainsi qu'une concentration modérée en flavonoïdes. En revanche, aucune protéine ni quinone n'y a été détectée selon le test screening phytochimique sur l'extrait aqueux de GO.

Les résultats de notre extrait aqueux de grignon d'olive (GO) présentent une activité anti-inflammatoire dépendante de la concentration. À des concentrations élevées (3000 µg/ml), les extraits de GO induisent une inhibition et une dénaturation protéique importante (83%), mais inférieure à celle du Diclofénac.

Le test MTT a révélé que l'extrait aqueux de grignon d'olive exerce un effet inhibiteur sur la viabilité cellulaire, et cet effet est dose-dépendante. À des concentrations plus élevées (3000 µg/ml), l'extrait est plus cytotoxique, et à des concentrations faibles (375 µg/ml) la cytotoxicité est modérée.

L'extrait aqueux de grignons d'olive est riche en composés bioactifs qui peuvent être utilisés pour fabriquer des médicaments naturels (anti-inflammatoires et anticancéreux....) ou des compléments alimentaires. Il peut également être utilisé pour fabriquer des cosmétiques (des produits anti-âge, anti-acné....). mais surtout, cela nécessite une coopération entre chercheurs de diverses disciplines, dont la chimie, la biologie, la pharmacie et la médecine pour mieux comprendre les mécanismes d'action et améliorer l'efficacité de l'extrait.

Nous proposons la création d'une start-up de recyclage des sous-produits d'olive, soutenue financièrement par l'État, il serait utile d'établir des partenariats avec les industries

pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires intéressées par la valorisation des sous-produits oléicoles.

En perspectives, il est souhaitable de réaliser d'autres études complémentaires pour :

- Déterminer et purifier les molécules bioactifs responsables des activités biologiques et déterminer leur mécanisme et mode d'action.
- Evaluer leur activité anti-inflammatoire du GO in vivo pour étudier la toxicité.
- Etudes de toxicité aiguë, subaiguë, sub-chronique et chronique de l'extrait aqueux de grignon d'olive pour la détermination de la dose sans effet toxique.
- Étudier la sécurité et la toxicité de l'extrait in vivo.

REFERENCES

- [1] Cuevas, M., et al., *Drying kinetics and effective water diffusivities in olive stone and olive-tree pruning*. Renewable Energy, 2019. **132**: p. 911-920.
- [2] Lavee, S., *Biologie et physiologie de l'olivier*. Encyclopédie mondiale de l'olivier, Servers Editorials Estudi Balm, Barcelona, Spain, 1997.
- [3] Loussert, R. and G. Brousse, *L'olivier. Techniques agricoles et production méditerranéennes*. Maisonneuve et Larose, Paris, 1978: p. 460.
- [4] García Martín, J.F., et al., *Energetic valorisation of olive biomass: Olive-tree pruning, olive stones and pomaces*. Processes, 2020. **8**(5): p. 511.
- [5] Faostat. (2013). Site web : <http://faostat.fao.org/>
- [6] Abdessemed, S., *Contribution à la caractérisation et à l'identification des écotypes d'olivier Olea europaea. L dans la région des Aurès*. 2017, Université de Batna 2.
- [7] SELAIMIA, R., *Etude de l'huile d'olive d'Algérie*. 2018, universié de guelma.
- [8] Benyahia, N. and K. Zein, *Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées*. Contribution spéciale de Sustainable Business Associates (Suisse) à SESEC II, 2003(2-7).
- [9] Mouzaoui, K., L. Yazzag, and F. Moulti-Mati, *Composés phenoliques des grignons d'olive provenant d'huileries traditionnelle et moderne: essai de purification de l'oleuropeine et de l'hydroxytyrosol*. Sciences & Technologie. C, Biotechnologies, 2014: p. 9-15.
- [10] imane, A.f.t., *essai de valorisattion des grignons d'olives. Etude comparative* 2020, Université de Blida 1.
- [11] Khan, Y., et al., *Olea europaea: a phyto-pharmacological review*. Pharmacognosy Reviews, 2007. **1**(1): p. 114-118.
- [12] Villa, P., *La culture de l'olivier*. 2003: De Vecchi.
- [13] Breton, C., et al., *De l'olivier à l'oléastre: origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen*. Cahiers Agricultures, 2006. **15**(4): p. 329-336 (1).
- [14] Larbi, K.b.D., *Contribution à l'étude de la situation de l'oléiculture dans*

La Daira de Guemmar, wilaya d'El Oued en Algerie. 2022, Universite echahid hamma d'el-OUED.

[15] Bahri, N., et al., *Caractérisation morphologique et évaluation agronomique des variétés d'olivier. Par Oumkaltoum Krimi Bencheqroun, Chercheuse en amélioration génétique de l'olivier (CRRRA Meknès).* 2016.

[16] Henry, S., *L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique.* 2003, Université Henri Poincare –Nancy.

[17] Roland BOLMONT, L.B., Jean-Pierre JAUBERT et le Chantier BT de l'ICEM, *L'olivier.* 3 ed. 1998.

[18] Gaby Schmelzer, A.G.-F., Randolph arroo, *Ressources végétales de l'Afrique tropicale 11(1) : Plantes médicinales 1.* 2008.

[19] Dreamstime. Site wibe : <https://fr.dreamstime.com/pousse-croissante-jeune-plant-graines-froom-d-%C3%A9tapes-olivier-floraison-des-fruit-m%C3%BBrs-olives-verdissent-les-noir-image191670872>

[20] BOURAS, N., *Faisabilité de mise en place d'une indication géographique sur l'olive de table variété" SIGOISE" de Sig-W. Mascara.* 2015, ENSA.

[21] OGAB, S.Z., Fatima Zohra, *Caractérisation morphologique, culturelle et pathogénique de Verticillium dahliae Kleb., agent causal de la verticilliose de l'olivier (Olea europea L.).* 2017, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

[22] Henry, S., *L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique sciences pharmaceutiques.* 2003, Université Henri Poincare –Nancy.

[23] Agrihorti, *La culture de l'olivier. Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.* 2017.

[24] Chaabane, K., R. Bergaoui, and M. Ben Hammouda, *Utilisation de différents types de grignons d'olive dans l'alimentation des lapereaux.* World Rabbit Science, 1997. **5**(1).

[25] Nefzaoui, A., *Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. 3. Valorisation des margines.* Nouvel Olivier, 1993.

- [26] Ma, F. and M.A. Hanna, *Biodiesel production: a review*. Bioresource technology, 1999. **70**(1): p. 1-15.
- [27] Nefzaoui, A., *Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier*. Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie. Étude FAO production et santé animales, 1984. **43**.
- [28] Sebban, A., et al., *Schema de valorisation des grignons d'olives produits par les maasras marocaines*. Environnement, Ingénierie & Développement, 2004.
- [29] Rosenthal, A., D. Pyle, and K. Niranjana, *Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction*. Enzyme and microbial technology, 1996. **19**(6): p. 402-420.
- [30] Lagattu, F., et al., *Etude de la rigidité et de la cristallinité de matériaux composites à matrice thermoplastique renforcés par des charges d'origine végétale*. Revue des composites et des matériaux avancés. Volume X–n, 2000. **1**: p. 1.
- [31] Lagnika, L., *Etude phytochimique et activité antipaludique de substances naturelles issues de plantes Béninoises*. Strasbourg, Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin, 2005: p. 179-185.
- [32] Ahmed, T., O. Ali, and Z. Nawal, *La Cinétique De Séchage Des Feuilles D'eucalyptus SP Ou ON Suit La Variation De Masse En Fonction De La Durée Du Séchage*.
- [33] Yaman, C., J. Martin, and E. Korkut, *Effects of wastewater filtration on geotextile permeability*. Geosynthetics International, 2006. **13**(3): p. 87-97.
- [34] Sansoucy, R. and G.d.T. sur la Valorisation, *Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen*. 1984.
- [35] Nefzaoui, A., *Valuation of lingo cellulosic residues in the diet of ruminants by treatment with alkali, Application to pomace oil*. PhD Dr, Ing. Faculty of Science. Catholic University of Leuven, 1985: p. 345.
- [36] Mennane, Z., et al., *Caractérisation physico-chimique et microbiologique des grignons d'olive de 26 huileries traditionnelles de la région de Beni Mellal (Maroc)*. Les technologies de laboratoire, 2010. **5**(19).

- [37] Perrin, J., *Minor components and natural antioxidants in olives and olive oil*. Revue Francaise des Corps Gras (France), 1992. **39**(1).
- [38] Nefzaoui, A., *Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier*. Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie. Étude FAO production et santé animales, 1984. **43**.
- [39] Nefzaoui, A., *Valorisation des sous-produits de l'olivier*. Options Méditerranéennes, 1991. **16**: p. 101-108.
- [40] Kernou Ourdia , N., *Bioamélioration du grignon d'olive par culture submergée d'une souche locale de Streptomyces*. 2015.
- [41] Milanese, M., et al., *Numerical study of anaerobic digestion system for olive pomace and mill wastewater*. Energy Procedia, 2014. **45**: p. 141-149.
- [42] Nada, D. and K. Loubna, *Evaluation des effets toxiques d'une plante médicinale du genre Thymus chez un modèle biologique*. 2021, Université Larbi Tébessi Tébessa.
- [43] Laurine, M.T., *RÔLE DU PHARMACIEN CLINICIEN DANS LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS ADULTES TRAITES PAR ANTI-INFECTIEUX POUR UNE INFECTION OSTÉO-ARTICULAIRE*. 2022, Université de Lille.
- [44] Bouhali, H., S. Boumekik, and I.E. Ghorab, *Contribution à l'étude d'un produit de pêche destiné à la consommation humaine: la carpe commune (Cyprinus carpio)*. 2021, Université-Jijel-.
- [45] Schoderet, M., *Pharmacologie: des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques*. 3 ed. 1998.
- [46] Plan chlordecone.Site wib. <https://www.chlordecone-infos.fr/lexique/toxicit%C3%A9%20subaigu%C3%ABsubchronique>
- [47] Bensakhria, A., *Toxicité Aigue*. Toxicologie Générale, Chapitre II, 2018: p. 21-28.
- [48] Lapointe, G., *Notions de toxicologie*. 2004: Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec.
- [49] Hamdi-Cherif, M., et al., *Cancer in setif, Algeria, 1986–2010*. Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer, 2014. **6**: p. 166-173.

- [50] Kahane, S. and K. Gerdes, *Syntaxe théorique et formelle: Volume 1: Modélisation, unités, structures*. 2023: Language Science Press.
- [51] Morein, N., M. Kumars, and G. Dunders, *Microbiologie médicale II: stérilisation, diagnostic de laboratoire et réponse immunitaire*. Cambridge Stanford Books.
- [52] Sarkhel, S., *Evaluation of the anti-inflammatory activities of Quillaja saponaria Mol. saponin extract in mice*. Toxicology reports, 2016. **3**: p. 1-3.
- [53] Barton, G.M., *A calculated response: control of inflammation by the innate immune system*. The Journal of clinical investigation, 2008. **118**(2): p. 413-420.
- [54] Danowski, R. *Inflammation en rhumatologie*. in *Annales de Kinésithérapie*. 1991.
- [55] Arulseivan, P., et al., *Role of antioxidants and natural products in inflammation*. Oxidative medicine and cellular longevity, 2016. **2016**.
- [56] Rousselet, M., et al., *Inflammation et pathologie inflammatoire*. Association française des enseignants et chercheurs en anatomie pathologie, 2005: p. 1-57.
- [57] O'Connor, C. and A. Nichol, *Inflammation, immunity and allergy*. Anaesthesia & Intensive Care Medicine, 2015. **16**(7): p. 328-333.
- [58] de Chanville, C.B., *Rôle des monocytes dans la régulation de la réponse inflammatoire au cours du sepsis*. 2018, Sorbonne université.
- [59] Serhan, C.N., P.A. Ward, and D.W. Gilroy, *Fundamentals of inflammation*. 2010: Cambridge University Press.
- [60] Trabsa, H., *Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales*. 2015, Université Ferhat Abbas.
- [61] Tariket, S., et al., *Le contenu des granules alpha des plaquettes module la réponse inflammatoire, après injection systémique de lipopolysaccharides dans un modèle murin*. Transfusion Clinique et Biologique, 2019. **26**(3): p. S89.
- [62] Eming, S.A., T. Krieg, and J.M. Davidson, *Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms*. Journal of Investigative Dermatology, 2007. **127**(3): p. 514-525.

- [63] Zaineb, K. and -H. Amina, *L'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de Myrtus communis L. sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats de la souche Wistar*. 2017, Université des Frères Mentouri Constantine.
- [64] Mencia-Huerta, J., *Rôle des mastocytes et des polynucléaires basophiles et éosinophiles dans les phénomènes inflammatoires*. Veterinary Research, 1993. **24**(4): p. 358-359.
- [65] Jouzeau, J.-Y., et al., *Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase*. Gastroentérologie clinique et biologique, 2004. **28**: p. 7-17.
- [66] Muster, D., *Médicaments de l'inflammation*. EMC-Stomatologie, 2005. **1**(1): p. 21-29.
- [67] Blain, H., *Exploration in vitro et ex vivo du pouvoir inhibiteur des anti-inflammatoires non stéroïdiens vis-à-vis des iso-enzymes de la cyclooxygénase*. 2002, Université Henri Poincaré-Nancy 1.
- [68] Karumi, Y., *Identification of Active Principles of M. balsamina (Balsam Apple) Leaf Extract* Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. Journal of Medical Sciences, 2004. **4**(3): p. 179-182.
- [69] Singleton, V.L. and J.A. Rossi, *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. American journal of Enology and Viticulture, 1965. **16**(3): p. 144-158.
- [70] Bekro, Y.-A., et al., *Etude ethnobotanique et screening phytochimique de Caesalpinia benthamiana (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae)*. Sciences & nature, 2007. **4**(2): p. 217-225.
- [71] Williams, L., et al., *The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process*. West Indian Medical Journal, 2008. **57**(4).

- [72] Mosmann, T., *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. Journal of immunological methods, 1983. **65**(1-2): p. 55-63.
- [73] Speroni, C.S., et al., *Micronization and granulometric fractionation improve polyphenol content and antioxidant capacity of olive pomace*. Industrial Crops and Products, 2019. **137**: p. 347-355.
- [74] Moussaoui, R. and A. Youyou, *EXTRACTION DE L'HUILE À PARTIR DU GRIGNON D'OLIVE AVEC LE MELANGE: ACETONE-TRICHLOROETHYLENE*. Sciences & Technology. A, exactes sciences, 2005: p. 47-51.
- [75] Khadidja, M., *Extraction liquide-solide de l'ion cadmium par la résine Lewatit TP 208*. 2014, UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID-TLEMCCEN.
- [76] Leybros, J. and P. Frémeaux, *Extraction solide-liquide. I. Aspects théoriques*. Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés, 1990. **2**: p. J2780. 1-J2780. 21.
- [77] Boulouar, S.L., I, *Etude in vitro des activités anti-hémolytiques et anti-inflammatoires des extraits du grignon d'olive*. 2021, UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID-TLEMCCEN.
- [78] Beddi, Z.H.K., Y, *Etude des activités anti-hémolytiques et anti-inflammatoires in vitro des extraits de grignons d'olive délipidés*. 2020, Université de Tlemcen.
- [79] Nouria, D.B., *Evaluation des caractéristiques bio- toxicologiques et physicochimiques des extraits métaboliques du grignon d'olive de la région de Tlemcen*. . 2022, Université de Tlemcen.
- [80] Stambouli, W.S., H.D. , *Evaluation Des Paramètres Biochimiques Au Cours De La Toxicité Subaiguë Par Des extraits méthanoliques du Grignon d'olive Chez Des Rats Wistars*. 2020, Université de Tlemcen.
- [81] Weill, B. and F. Batteux, *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. 2003: De Boeck Supérieur.

[82] Moreno, M.M., et al., *The membrane-activity of Ibuprofen, Diclofenac, and Naproxen: A physico-chemical study with lecithin phospholipids*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2009. **1788**(6): p. 1296-1303.

[83] Lanneau, D., *Rôle des Protéines de Choc Thermique HSP90 et HSP70 dans la différenciation macrophagique*. 2010, Dijon.

[84] LEOUIFOUDI, I., *carractérisation et identification des composés phénoliques extraits des margines et des grignouns d'olive marocaine et étude de leur effects antioxydants et anticancéreux in vitro*. 2014.