

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**Université A. MIRA - Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département : des Sciences Alimentaires**  
**Filière : Sciences des Aliments**  
**Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire**



**Réf :.....**

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Caractérisation de quelques margines issues de  
la production d'huile d'olive**

Présenté par :  
**HADDADI Tinhinane & IDIR Farida**  
Soutenu le : **20 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> OUCHEMOUKH N.	MCA	Présidente
M <sup>me</sup> SOUFI O.	MCB	Promotrice
M <sup>elle</sup> ISSAADI O.	MAA	Examinatrice

**Année universitaire : 2017 / 2018**



## REMERCIEMENTS

*Avant tout propos, nous remercions le bon dieu de  
Nous avoir prêté courage, force et patience pour  
Réaliser ce modeste travail.*

*Nous adressons tous nos sincères remerciement à  
Toute personne ayant contribué de près ou de loin à la  
Réalisation de ce travail et particulièrement :*

*À M<sup>M</sup> Soufi Ouahiba d'avoir accepté de nous encadré  
afin de mieux réaliser notre travail.*

*À les membres du jury, de lire notre mémoire et d'accepter de  
l'évaluer.*

*À tous les personnels d'ITAF*

*À tous les enseignants qui nous ont enseigné pendant notre cycle  
d'étude.*



# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à ceux qui me sont chers, en  
L'occurrence :*

- Mes inestimables parents Amar et Zahra qui  
Ont tout sacrifié pour que je puisse réussir.*
- Ma grande sœur Noura et son mari Madjid.*
- Ma sœur Sabrina et son mari Djeloul.*
- Mes nièces Yasmine et Yousef.*
- Mes très chers frères Nourdine et Halim.*
- Mes très chères sœurs Ferial, Fairouze, Amira.*
- A toute ma famille.*
- A toutes mes copines.*
- A toi ma meilleure et adorable binôme Tinhinane*

*Farida*



# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à ceux qui me sont chers, en l'occurrence :*

- A mes inestimables parents Said et Houria qui ont tout sacrifié pour que je puisse réussir, que Dieu les protège et les accorde une longue et heureuse vie pleine de santé.*
- A mon très cher mari Sofiane pour sa patience et son encouragement après deux ans de mariage, que Dieu le garde pour moi.*
- A mon grand frère Kaci et son fiancé Meriem.*
- A mes très chers frères Saadi et Massinissa.*
- A ma grande mère Zahoua que Dieu l'accorde une longue vie pleine de santé.*
- A mes oncles et tantes.*
- A mes beaux parents, belles sœurs et mon beau frère.*
- A toute ma grande famille.*
- A toutes mes chères copines et mes amis (es).*
- A toute la promotion Science Alimentaire 2017-2018.*
- A toi ma meilleure et adorable binôme Farida.*

*Tinhinane*





### Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Composition chimique générale des margines.	<b>6</b>
<b>II</b>	Les substances minérales des margines.	<b>6</b>
<b>III</b>	Caractéristiques, origine et photographie des quartes variétés étudiées.	<b>12</b>
<b>IV</b>	Les substances bactériennes testées	<b>18</b>
<b>V</b>	Activité antimicrobienne	<b>32</b>

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Représentation schématique d'une coupe transversale de l'olive.	<b>3</b>
<b>2</b>	Structure de base des flavonoïdes	8
<b>3</b>	Structure des deux types de pronthocyanidines	9
<b>4</b>	Structures chimiques des composés phénoliques des margines	9
<b>5</b>	Indice de maturité des olives étudiées..	20
<b>6</b>	Poids des olives étudiés	21
<b>7</b>	Taux d'humidité des margines des variétés étudiées	22
<b>8</b>	Teneur en composés phénoliques totaux de margines des variétés étudiées.	23
<b>9</b>	Teneur en flavonoïdes de margines des variétés étudiées.	24
<b>10</b>	Teneur en flavonols de margines des variétés étudiées.	25
<b>11</b>	Teneur en ortho-diphénols de margines des variétés étudiées.	26
<b>12</b>	Teneur en tannins de margines des variétés étudiées.	27
<b>13</b>	Teneur en pouvoir réducteur de margines des variétés étudiées.	27
<b>14</b>	Activité antiradicalaire de margines des variétés étudiées.	28
<b>15</b>	Pourcentage d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des margines des variétés étudiées.	30



## **Abréviations**

- **C.O.I** : Conseil Oléicole Internationale.
- **CPT** : Composés phénoliques totaux.
- **DCO** : Demande Chimique en Oxygène
- **DBO** : Demande Biologique en Oxygène.
- **DPPH** : Radical 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl.
- **e<sup>-</sup>** : électron.
- **EAS** : équivalente d'acide ascorbique.
- **EAG** : équivalent d'acide gallique.
- **Eq** : équivalent de quercétine.
- **EC** : équivalent de catéchine.
- **H** : Humidité.
- **IM** : Indice de maturité.
- **ITAFV** : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.
- **rpm** : Rotation par minute.

# *Sommaire*

## Sommaire

Introduction.....	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
I. Généralité sur les olives.....	2
I.1. Oléiculture .....	2
I.1.1. production mondiale d'huile d'olive.....	2
I.1.2. Oléiculture algérienne.....	2
I.2. Olives .....	3
I.3. Sous produits de l'oléiculture.....	3
a. Grignons ou tourteaux.....	3
b. Margines.....	4
II. Margines.....	5
II.1. Caractéristiques physico-chimiques des margines.....	5
II.2. Caractéristiques microbiologiques des margines.....	5
II.3. Composition chimique des margines.....	6
II.3.1. Fraction minérale.....	6
II.3.2. Fraction organique.....	7
III. Antioxydants des margines.....	7
III.1. Composés phénoliques.....	7
III.1.1. Flavonoïdes.....	8
III.1.2. Flavonols.....	8
III.1.3. Tannins.....	9
IV. Activité antioxydante.....	10
V. Pouvoir antioxydant des polyphénols.....	10

VI. Impacte des margines sur l'environnement.....	11
VI.1. Pollution des eaux.....	11
VI.2. Pollution du sol.....	12

## Matériels et méthodes

I. Echantillonnage.....	13
I.1. Paramètres physico-chimiques.....	14
I.1.1. Poids moyen des olives.....	14
I.1.2. Indice de maturité du fruit.....	14
I.1.3. Taux d'humidité de la pâte et du fruit.....	15
I.2. Préparation des extraits.....	15
II. Composés phénoliques.....	16
II.1. Composés phénoliques totaux.....	16
II.2. Ortho-diphénols .....	16
II.3. Flavonoïdes.....	16
II.4. Flavonols .....	17
II.5. Tannins.....	17
III. Mesure de l'activité antioxydante.....	17
III.1. Pouvoir réducteur.....	17
III.2. Activité antiradicalaire.....	18
III.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène.....	18
IV. Activité antimicrobienne.....	19
IV.1. Les souches bactériennes.....	19
IV.2. Préparation des milieux de culture.....	19

V.3.Préparation de l'inoculum.....	20
V.4.Diffusion en puits .....	20
V. Analyse statistiques.....	20

## Résultats et discussion

I. Analyse physico-chimique .....	21
I.1.Taux d'humidité .....	21
I.2. Indice de maturité .....	21
I.3.Poids des olives .....	22
II. Composés phénoliques.....	23
II.1.Composés phénolique totaux.....	23
II.2. Flavonoïdes.....	24
II. 3. Flavonols.....	25
II.4. Ortho-diphénols.....	26
II.5. Tannins.....	27
III. Activité antioxydante.....	28
III.1.Pouvoir réducteur.....	28
III.2. Activité antiradicalaire.....	29
III.3. Activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène.....	30
IV. Relation activité antioxydante et teneur en composés phénoliques.....	31
V. Activité antimicrobienne.....	32

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes.



# Introduction

## **Introduction**

La production d'huile d'olive se concentre principalement dans les pays du pourtour Méditerranéen: Espagne, Italie, Grèce, Turquie, Syrie, Tunisie et Maroc (**COI, 2001**). L'industrie oléicole génère deux résidus, l'un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons). Dans les unités de trituration dotées d'équipements relativement modernes, le processus de production met en jeu l'addition de 110 kg d'eau pour 100 kg d'olive. Ceci produit alors plus de 1500 kg de margine par tonne d'olive traitée (**Ouabou et al. 2014**).

Les margines constituent des rejets polluants pour l'environnement en raison de leur matière organique (MO) peu biodégradable et de leur pH acide. (**Aggoun et al, 2013**). Ces effluents, fortement chargés en matières organiques, affectent la qualité des eaux dans lesquelles elles sont déversées. En plus de leur aspect très coloré, leur forte charge organique exige une forte consommation d'oxygène (**Ouabou et al.2014**).

Les margines sont riches en composés de valeur, telles que les substances antioxydants qui peuvent être utilisées en industries pharmaceutique et en cosmétique, les plus importants antioxydants commercialisables trouvés dans la pulpe d'olive sont le tyrosol, l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine (**Roig et al., 2006**).

Dans ce cadre s'inscrit la présente étude qui a pour but de comparer l'activité antioxydante (le pouvoir réducteur, Activité antiradicalaire, inhibition de peroxyde d'hydrogène) des margines issues de quatre variétés d'olives (Azeradj, Azeboudj, Aberkane et Chemlal), de la région d'Akbou (Béjaia). D'autre part, les teneurs en diverses substances antioxydants (les flavonoïdes, flavonols, ortho-diphénols et tannins) ont été également déterminées, ainsi que l'activité antimicrobienne. Pour cela, le travail est subdivisé en trois parties :

**-La première partie** est réservée à la synthèse bibliographique, cette dernière inclut des Généralités sur l'olives, les margines et leurs composition.

**-La deuxième partie** expérimentale présente le matériel et les méthodes utilisées pour effectuer les dosages des composés phénoliques et estimer l'activité antioxydante et antimicrobienne.

**-La troisième partie** est consacrée aux résultats obtenus ainsi que leurs interprétations.

*Synthèse*

*bibliographique*

## **I. Généralités**

### **I.1. Oléiculture**

#### **I.1.1. Production mondiale d'huile d'olive**

La production d'huile d'olive se concentre principalement dans les pays du pourtour méditerranéens Espagne, Italie, Grèce, Turquie, Syrie, Tunisie et Maroc (COI, 2001).

Dans le bassin méditerranéen, les quantités de margines produites dépassent 30 millions de m<sup>3</sup> par an, ce qui est équivalent à 3 750 000 litres d'eau de végétation (Zouari *et al.*, 1996).

Le conseil oléicole International (COI 2017/2018) estime que la production mondiale de l'huile d'olive atteindrait 2900 000 tonnes, notant une augmentation de la production d'huile d'olive par rapport à la dernière campagne.

La production européenne arrive en tête avec l'Espagne, l'Italie, la Grèce et le Portugal, dont la production atteindrait environ 1800000 (t), puis l'Algérie, Maroc, la Tunisie et la Turquie enregistreraient quant à eux une production, de plus de 800 000 tonnes. Les pays non membres, comme la Syrie, l'Australie et le Chili, produiraient conjointement 177 000 t d'huile d'olive. Alors que le principal importateur d'huile d'olive reste les Etats-Unis et l'union européenne.

#### **I.1.2. Oléiculture algérienne**

L'oléiculture algérienne est située principalement dans la partie nord du pays, où la plupart des vergers (80%) sont situés dans des zones montagneuses (Chaoukiet *al.*, 2006). La production de l'huile d'olive en Algérie connaît également une croissance comparativement à la campagne écoulée pour atteindre une production autour de 80 mille tonnes.

Le rendement prévisionnel pour les olives à huile établi par les Directions des Services Agricoles des wilayas potentielles oscille entre 7 et 25 q/ha. Ce dernier enregistre un seuil intéressant notamment dans la wilaya de Skikda, Tizi ouzou et Jijel avec respectivement 25, 21 et 21 q/ha » (COI, 2017/2018). La wilaya de Bejaia à elle seule occupe une superficie de 51874 hectares avec une production d'huile d'olive de 123316 hectolitre. DSA Bejaia. (2015).

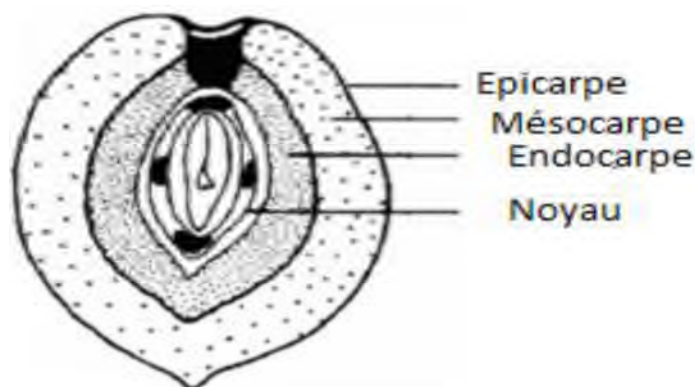
## **I.2.Olives**

Le fruit de l'olivier est une drupe de forme ovoïde ou ellipsoïde, qui peut être subdivisé en trois parties anatomiques: l'épicarpe, le mésocarpe, le noyau d'endocarpe. (Niaounakis *et al.*, 2006).(figure 1).

-**L'épicarpe** : c'est la couche externe de l'olive, il contient l'épiderme avec sa cuticule et il représente 1 à 3% du poids de fruit (Bianchi, 2003).

-**Le mésocarpe** : (pulpe, chair) constitue la majeure partie du tissu, car il contient 60 à 85% du poids sec total du fruit entier, et renferme divers constituants : eau, lipides, protéines, sucre, minéraux, etc. (Niaounakis et Halvadakis 2006).

- **L'endocarpe** : Chaque variété d'olive est caractérisée par la taille du noyau, son poids, sa forme et son degré de détachement de la pulpe. En effet, ces paramètres déterminent la qualité du produit fini (Bianchi, 2003., Rodriguez *et al.*, 2008).



**Figure 1** : Représentation schématique d'une coupe transversale de l'olive (Niaounakis *et al.*, 2006).

## **I.3. Sous-produits de l'oléiculture**

### **a. Grignons ou tourteaux**

Les grignons sont les résidus solides issus de la première pression ou centrifugation, sont formés des pulpes et noyaux d'olives. Ce sous-produit peut être transformé en un produit destiné à l'alimentation animale ou en huile dite de grignons d'olive après extraction chimique (Chiofalo *et al.*, 2004., Martin-Garcia *et al.*, 2003).

**Le grignon brut:** c'est le résidu de la première extraction de l'huile par pression de l'olive entière, ses teneurs relativement élevées en eau (24%) et en huile (9%) favorisent son altération rapide lorsqu'il est mis à l'air libre.

**Le grignon épuisé:** c'est le résidu obtenu après déshuilage du grignon brut par un solvant, généralement l'hexane.

**- le grignon partiellement dénoyauté:** résulte de la séparation partielle du noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation

-il est dit "gras" si son huile n'est pas extraite par solvant

-il est dit "dégraissé ou épuisé" si son huile est extraite par solvant (**Sansoucy, 1984**).

## **b. Les margines**

C'est le résidu liquide aqueux brun qui s'est séparé de l'huile par centrifugation ou sédimentation après le pressage (**Fedeli et Camurati, 1981**).

## **II. Margines**

Les margines sont obtenues lors de l'extraction de l'huile d'olive après rajout d'eau aux cours du broyage et contenue dans le fruit. La qualité et la quantité des margines dépendent de l'opération d'extraction d'huile d'olive. Elles sont aussi influencées par la variété d'olives, la saison de cueillette, le taux de maturation des fruits et les conditions climatiques, on estime généralement qu'un kilogramme d'olives fournit de 1 à 1,5 litre de margines en fonction du système d'extraction utilisé (**Achak *et al.*, 2009**).

### **II.1. Caractéristiques physico-chimiques des margines**

Les margines sont de couleur brun à brun rougeâtre, d'aspect troublé (**Mebirouk 2002; Sansoucy, 1984**). Sa couleur sombre dépend de l'âge et le type des olives transformées ainsi que la technologie utilisée. Ces effluents ont une forte charge saline et sont acides (4-5,5), riches en matières organiques et en polyphénols. (**Ait Baddi *et al.* 2004**).

Les margines se caractérisent également par des valeurs élevés en demande chimique en oxygène (DCO) et demande biologique en oxygène (DBO) en plus des matières grasses et des composés phénoliques (**Benitez, 1997**).

### **II.2. Caractéristiques microbiologiques**

Dans les margines, seuls quelques microorganismes arrivent à se développer. Ce sont essentiellement des levures et des moisissures. Dans la plupart des cas, il y a absence de microorganismes pathogènes et ils ne posent alors aucun problème du point de vue sanitaire

(**El-Abbassi, 2012 ; Ntougias *et al.* 2013**). L'activité antimicrobienne des margines est liée essentiellement à l'action exercée par les phénols monomériques et les pigments bruns catéchol-mélaninique (**Hamdi *et al.*, 1993**).

Ces effluents agissent sur les bactéries en dénaturant les protéines cellulaires et en altérant les membranes (**Ranalli, 1991**).

### II.3. Composition chimique des margines

Les principaux composés des margines sont : l'eau (83,2 %), les substances organiques (15%) et les substances minérales (1,8%) (Tableau I). (**Fiestas Ros De Ursinos et Borja. 1992**). La composition chimique des margines varie en fonction du stade de maturation des olives, du processus d'extraction, des conditions climatiques et de la variété des olives (**Sayadi et al. 1993**).

**Tableau I :** Composition chimique des margines (**Sousoucy , 1984, FAO**).

Composés	Teneur en (%)
Eau	83-88%
Matière organique	10,5-15 %
Matière minérale	1,5%-2,4%
Matière azotée totale	1,25%-2,4%
Matière grasse	0,03%-1%
Polyphénols	1,0%-1,5%

#### II.3.1. Fraction minérale

Les margines contiennent une fraction minérale très variée (tableau II). Elles sont très riches en potassium, sodium, calcium et phosphore. Dans certains cas, ces effluents pourraient renfermer des traces de métaux lourds tels que le Nickel, le cadmium et le cobalt (**Chamkha, 2001**). Les substances minérales sont composées de 0,06 à 2 kg d'azote 0,1 à 0,5 kg de phosphore 1,2 à 3,6 kg de potassium et de 0,05 à 0,2kg de magnésium (**Nefzaoui,1987**).

**Tableau II :** Les substances minérales des margines (**Lutwin et al., 1996**).

Fraction minérale	La teneur en (%)
Calcium	0,2-2,5
Phosphore	0.5
Potassium	5-15
Magnésium	3,0



### **II.3.2. Fraction organique**

Les margines comportent deux fractions organiques:

- ✚ **Une fraction insoluble** constituée essentiellement de pulpes d'olives qui représente la matière en suspension et colloïdale (**Fki et al., 2005**).
- ✚ **Une fraction soluble** dans la phase aqueuse qui contient des sucres, lipides, acides organiques, pectines, composés phénoliques (**Hamdi, 1991**), vitamines et traces de pesticides (**Kapellakis et al., 2008**).

## **III. Antioxydants des margines**

### **III.1. Composés phénoliques**

Les composés phénoliques (CP), sont des molécules du métabolisme secondaire spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (**Bruneton, 1999**).

La teneur en composés phénoliques dans les margines dépend du système d'extraction de l'huile d'olive (**Annaki et al., 1999**). En général, elle varie entre 3 et 5 g. (**Balice et al., 1997 ; Oukili et al., 2001 ; Casa et al., 2003 ; Fenice et al., 2003**).

#### **III.1.1. flavonoïdes**

Ce groupe comprend plus de 6000 molécules ayant comme structure de base le diphénylpropane (figure 2) un carbone de propane diphénylique et deux noyaux aromatiques (benzéniques) liés entre eux par une chaîne linéaire de trois carbones. La chaîne de trois formes a un noyau de pyranne fermé avec l'un des deux noyaux benzéniques un (o-hétérocycle) (**Aruoma ; Bahorun. Jen, 2003, Ghedira, 2005**). Il a été montré que les margines contiennent un ensemble de flavonoïdes tels que: lutéoline-7-glucoside, l'héspéridine, la catéchine, les glycosides de cyanidine (**Ghedira, 2005**).

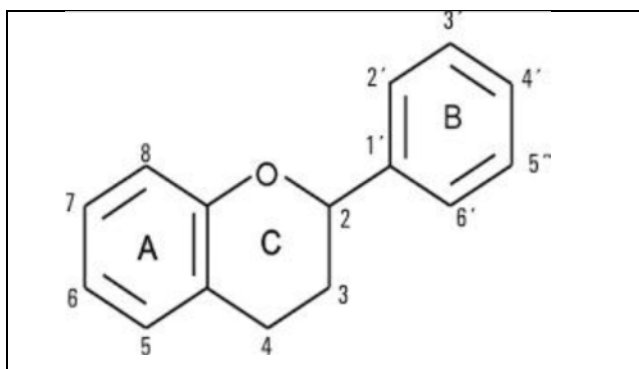


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003)

### III.1.2. flavonols

Les Flavonols caractérisés par la présence d'une double liaison en position 2-3 et d'un groupement hydroxyle en C3. Les composés principaux sont le Kaempférol, la quercétine, l'isorhamnétine et la myricétine.

Les anthocyanes : constituent le groupe de pigments solubles dans l'eau. Ils sont dissous dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs et des tissus auxquels ils donnent des couleurs rose, rouge, bleu et violet (Mazza et Miniati, 1993).

### III.1.3. Tannins

Leur structure est très complexe (figure 3) résultant de la condensation de certaines formes simples (Macheix *et al.*, 2005). Ils sont classés conventionnellement en:

-**Tannins hydrolysables**: ils sont constitués par une molécule estérifiée par l'acide gallique ou un de ces dérivés. Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique.

-**Tannins condensés**: appelés aussi flavotanins. Ils sont formés par la polymérisation de la catéchine à différents degrés. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3 000. Le catéchol mélaninique est le flavotanin le plus retrouvé en quantité élevée dans les margine (Monties, 1980).

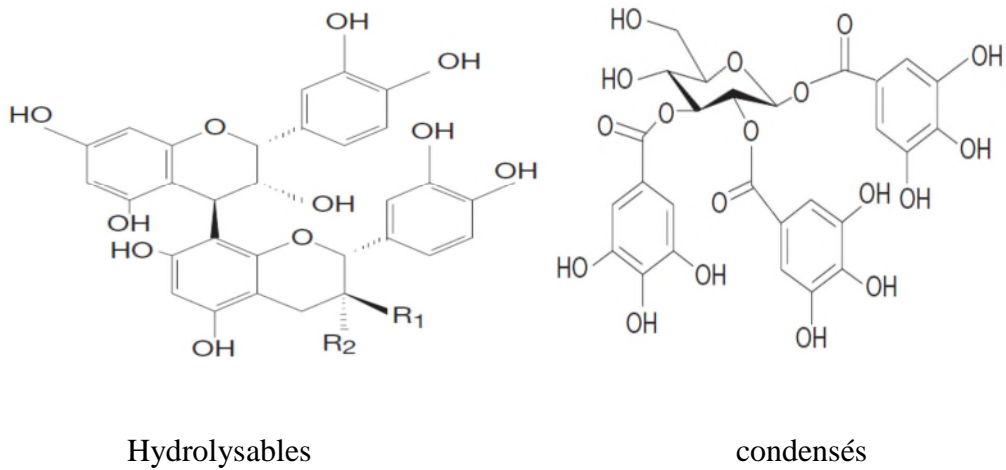


Figure 3 : Structure des deux types de proanthocyanidines (Monties, 1980).

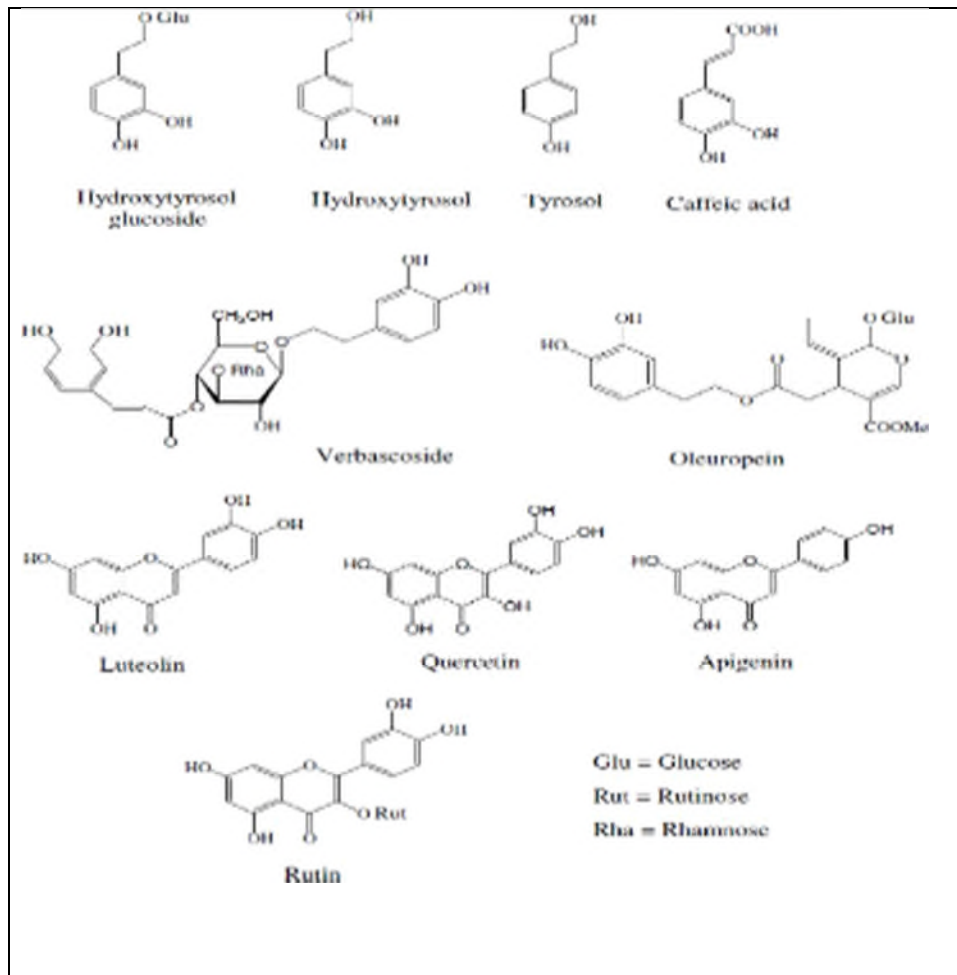


Figure 4 : Structures chimiques des composés phénoliques des margines (Obied *et al.*, 2007).

#### **IV. Activité antioxydante**

L'activité antioxydante des extraits phénoliques des margines a été déterminée en utilisant deux méthodes basées sur différents mécanismes. Une est l'essai de piégeage du radical DPPH•, la plus utilisée pour étudier les polyphénols des plantes, y compris ceux des margines, et l'autre est l'essai du pouvoir réducteur qui est choisi en raison du fait que le complexe Fe-polyphénols a été manifesté comme inhibiteur de la formation des radicaux oxygénés associés à des nombreuses pathologies, et probablement aussi de la croissance de certains microorganismes pathogènes (**Turkmen et al., 2007**).

L'action antioxydante des composés phénoliques dépend de leur capacité à piéger les radicaux libres et leur aptitude à réduire le fer (**Turkmen et al., 2007**).

Le terme "antioxydant" recouvre un ensemble d'activités diverses ou plusieurs espèces sont habiles à ralentir ou à empêcher l'oxydation des substrats biologiques.

Les principaux mécanismes de l'activité antioxydante (**Helliwell, 1994. Bouzid et al., 2011**) sont :

- Piégeage direct des espèces oxygénées réactives (EOR).
- Inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydatif.
- Chélation d'ions métalliques.

#### **V. Pouvoir antioxydant des polyphénols**

Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique (**Skerget et al., 2005**). Ce nom provient du composé parent le plus simple, le phénol. Les polyphénols naturels peuvent donc être des molécules simples comme les acides phénoliques, mais aussi des composés hautement polymérisés comme les tanins. Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à ce jour dans le règne végétal. On compte pas loin de 8000 composés (**Hennebelle et al., 2004**).

Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences. A ce titre, les polyphénols, particulièrement abondants dans une alimentation riche en produits végétaux, pourraient jouer un rôle protecteur important particulièrement l'effet

antioxydant, par leur implication dans la prévention de diverses pathologies associées au stress oxydatif (maladies cardiovasculaires, cancers.. etc.) (**Akagawa et al., 2001**).

## **VI. Impact des margines sur l'environnement**

Les margines constituent jusqu'à présent un problème environnemental majeur pour les pays producteurs d'huile d'olive. La plupart des processus de traitement biologique, physico-chimique ou de valorisation de margine ont montré leur limite à cause de la complexité de cet effluent très chargé en matière organique et minérale et en composés phénoliques. Ces derniers sont toxiques pour la faune et la flore difficilement biodégradable (**Belaid et al., 2002**).

### **VI.1. Pollution des eaux**

Les margines sont peu dégradables à cause des substances phytotoxiques et antimicrobiennes qu'elles contiennent. Les margines sont le plus souvent rejetées dans des récepteurs naturels, des cours d'eau, sans aucun traitement préalable et nuisent fortement à la qualité de ces eaux de surfaces. La très forte charge en matières organiques empêche ces eaux de s'auto-épurer et la pollution peut s'étendre sur de très longues distances.

Les margines rejetées dans la nature par épandage sur les sols peuvent aussi poser des problèmes environnementaux. Par ce mode d'élimination des effluents, les eaux souterraines peuvent être polluées, ce qui affecte la qualité de l'eau potable. L'épandage des margines, très riches en éléments azotés, peut causer une pollution par les nitrates situées dans la zone ou à proximité de la zone d'épandage (**Benyahia et Zein., 2003**).

### **VI.2. Pollution des sols**

Épandues sur les sols, les margines diminuent la qualité des sols. Les substances toxiques contenues dans ces eaux se fixent dans les sols. Certaines de ces substances telles que les phénols peuvent inhiber l'activité microbienne du sol, d'autres, des résidus de pesticides notamment, sont nocives aux plantes (**Benyahia et Zein., 2003**).

# *Partie pratique*





*Matériel*

*et méthodes*

## I. Echantillonnage

La présente étude porte sur des margines issues de la production d'huile provenant de quatre variétés: Aberkane, Azeradj, Chemlal et Azeboudj (tableau III) récoltées en Janvier 2018 dans la région d'Akbou à Béjaïa. Deux échantillons différents de chaque variété sont prélevés.

**Tableau III** : Caractéristiques, origine et photographie des variétés étudiées (ITAF, 1999)

Variété	Caractéristique	Photographie
<b>Aberkane (AB)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Synonymes : Avarkane.</li> <li>-Variété rustique et de saison.</li> <li>-Diffusion : restreinte</li> <li>-Rendement en huile : 16 à 20%.</li> </ul>	
<b>Azeradj (AZ)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Synonymes : Aradj, Adjeraz.</li> <li>- Une masse de 5g.</li> <li>-Destinée plutôt à la conserverie.</li> <li>-Diffusion : occupe plus de 20% du verger oléicole Algérien plus précisément à Béjaïa (Akbou et Sadouk).</li> <li>-Rendement en huile : 24 à 28%.</li> </ul>	
<b>Chemlal (C)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Synonymes : Achamlal, Achamli, Achemlal.</li> <li>-Diffusion : occupe 40% du verger oléicole Algérien, se localise principalement en Kabylie.</li> <li>-Une masse de 2,5g. Taux de rendement en huile : 18 à 22%.</li> <li>-Plutôt destinée à la fabrication d'huile d'olive de bonne qualité.</li> </ul>	
<b>Azeboudj (ZB)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Origine : la Kabylie.</li> <li>-Couleur: noire.</li> </ul>	



La cueillette manuelle est la technique la plus ancienne et la seule utilisée encore en Algérie. Elle est réalisée par chute naturelle du fruit, à la main ou encore avec de simples instruments de gaulage. Il est conseillé d'utiliser les filets de récolte pour recueillir les fruits car ils amortissent la chute des fruits et limitent les dégâts dus à la rupture de l'épicarpe en contact avec le sol et améliore les rendements de récoltes (ITAFV). L'extraction des olives a été faite au niveau de l'institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) de Béjaia en date du 29/01/2018 au moyen d'un oléo-doseur selon un système de pression traditionnelle, les étapes de trituration sont les suivantes : broyage, malaxage et centrifugation.

- Broyage : réalisé par un broyeur à marteau.
- Malaxage : cette opération a été effectuée dans des récipients métalliques pendant 30 minutes.
- Centrifugation: réalisée à l'aide d'une centrifugeuse verticale ayant une vitesse de 5000 rpm/min, après une minute la pâte malaxée se sépare en deux phases, un solide (grignons) et l'autre liquide (huile et eau de végétation).

Après décantation, les margines ont été récupéré dans des flacons ombrés étiquetés et conservés au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse.

## **I.1.Paramètres physico-chimiques**

### **I.1.1.Indice de maturité du fruit**

L'indice de maturité est un paramètre qui peut nous renseigner, d'une façon globale, sur la maturité des fruits (Ajana *et al.*, 1999); Sa détermination est basée sur l'appréciation de la coloration d'un lot de 100 fruits d'olives prélevé au hasard, Sur ces fruits, la couleur est déterminée d'une façon visuelle, selon une échelle de coloration variante du vert intense jusqu'à une coloration noire sur toutes les parties des fruits. Cet indice varie de 0 à 7.

L'indice de maturité (IM) est déterminé selon la formule suivante :

$$IM = [(0*n0) + (1*n1) + (2*n2) + (3*n3) + (4*n4)+(5*n5) + (6*n6) (7*n7)] /100$$

Où n est le nombre de fruits, et les chiffres de **0** à **7** représentent:

**0**: épiderme vert intense;

**1**: épiderme vert jaunissant;

**2**: épiderme vert avec taches rougeâtres;

**3**: épiderme rougeâtre à violet;

**4**: épiderme noir à pulpe blanche;

**5**: épiderme noir et pulpe violette sur moins de la moitié de la pulpe;

**6**: épiderme noir et pulpe violette sur plus de la moitié de la pulpe;

**7**: épiderme noir et pulpe entièrement violette.

### **I.1.2. poids moyen des olives**

Le poids moyen des olives permet d'évaluer la grosseur du fruit. Un échantillon de cent fruits est prélevé au hasard puis pesé par une balance analytique (**El Antari et al., 2003**).

### **I.1.3. Taux d'humidité des margines**

Le taux d'humidité ou teneur en eau est la perte de masse que subit l'échantillon, après séchage à une température voisine de 105°C, dans une étuve isotherme et à une pression atmosphérique, jusqu'à stabilisation du poids (**Agar et al., 1998**). Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage massique selon la formule ci-après

$$H (\%) = (P_0 - P_1 / P_0) \times 100$$

Où : **H (%)** : l'humidité est exprimée en pourcentage de masse.

**P** : le poids de la capsule vide.

**P<sub>0</sub>** : le poids de la capsule et la prise d'essai.

**P<sub>1</sub>**: le poids de la capsule et la prise d'essai après le séchage.

## **I.2. Préparation des extraits**

Une masse de 0,3g des margines brutes est homogénéisée avec 15ml du solvant d'extraction (acétone 50%). Après agitation, le mélange est centrifugé à 5000rpm/20 min. L'opération est répétée deux fois. Les surnageant obtenus sont combinés et lavés avec l'hexane. La phase hexanique est retirée et la phase méthanolique est récupérée et constitue l'extrait, ce dernier conservés au froid.

## **II. Composés phénoliques**

### **II.1. Composés phénoliques totaux (CPT)**

La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée selon la méthode décrite par **Kahkonen *et al.* (1999)**.

La teneur en composés phénoliques des extraits est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu qui est basée sur la réduction en milieu alcalin du mélange phosphotungstique et phosphomolybdique du réactif de Folin par les groupements réducteurs des composés phénoliques totaux, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu, qui présentent un maximum d'absorption à 760 nm. Un volume de 0,2ml d'extrait est mélangé avec 0,7ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange est agité pendant 3 minutes puis additionné de 0,4ml de carbonate de sodium. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesuré à 720nm. La concentration en composés phénoliques est estimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de margine en se référent à une courbe d'étalonnage (Annexe1, figure 1).

### **II.2. Ortho-diphénols**

La concentration en *ortho*-diphénols totaux est estimée selon la méthode de **Tovar *et al.* (2002)** : 2ml d'extrait sont additionnées de 0,5 ml de molybdate de sodium (5%). Le mélange est agité puis incubé pendant 15 minutes. L'absorbance est mesuré à 350 nm et la concentration des *ortho*-diphénols est calculée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de margine par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe 1, figure 2).

### **II.3. Flavonoïdes**

Un volume de 0,1 ml d'extrait est mélangé avec 0,4 ml d'eau distillée, 0,03 ml de nitrite de sodium et 0,02 ml de chlorure d'aluminium. Après incubation pendant 5 minutes, le mélange est additionné de 0,2 ml d'hydroxyde de sodium (1M) et de 0,25 ml d'eau distillée (**Kim *et al.*, 2003**). L'absorbance est mesurée à 510 nm et la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine par 100 g de matière en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe 1, figure 3).

### **II.4. Flavonols**

La méthode rapportée par **Kumaran et Karunakaran (2007)** est utilisée pour estimer la teneur en flavonols : un volume de 0,5 ml du chlorure d'aluminium (2%) et de 0,75 ml d'acétate de sodium est ajouté à 0,5 ml d'extrait. Après incubation pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance est lue à 440 nm. La concentration en flavonols est exprimée en mg équivalent de quercétine par 100 g de matière par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe 2, figure 4).

### **II.5. Tannins**

Un dosage colorimétrique implique le clivage oxydatif de pro-anthocyanidines avec du sulfate ferreux. Un volume d'extrait (0,5 mL) est mélangé avec 5 ml d'une solution de sulfate ferreux (77 mg de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dissous dans 500 ml de HCl/n-butanol). Le mélange est incubé au bain marie à 95°C pendant 15 min et l'absorbance est mesurée à 530 nm. La concentration de pro-anthocyanidines est exprimée en mg équivalents de cyanidine-3-glucoside par 100 g de matière en utilisant le coefficient d'extinction molaire à  $34700 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

## **III. Mesure de l'activité antioxydante**

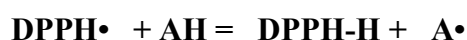
### **III.1. Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de **Gülçin *et al.* (2002)**. Il est basé sur la réduction des ions ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) en présence d'un antioxydant qui a le pouvoir de céder des électrons, une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Un volume de 0,25ml d'extrait est mélangé avec 0,25 ml de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 0,25 ml de ferricyanure de potassium (5%). Après incubation à 50°C pendant 20 min, un volume de 0,25ml d'acide trichloracétique (10%) est additionné au mélange. Après incubation pendant 5minutes. Un volume de 0,2 ml de chlorure ferrique (0,1%) est ajouté et l'absorbance est mesurée à 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique par 100 g de margine en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe 2, Figure 5).

### **III.2. Activité antiradicalaire**

Le test audiphényl picrylhydrazyl est une méthode très utilisée pour déterminer la capacité des extraits à céder des protons et/ou des électrons, la réduction du radical DPPH• implique une baisse de l'absorbance. Sous forme radicalaire, le DPPH• absorbe à 515 nm (William *et al.*, 1995).



Un volume de 0,1 ml d'extrait est additionné de 1 ml de DPPH•. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au témoin contenant le DPPH• et le solvant d'extraction est mesuré à 517 nm (Turkmen *et al.*, 2006).

L'activité antiradicalaire est calculée en mg équivalent d'acide ascorbique/100 g de margine en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe, figure 6). D'autre part, le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

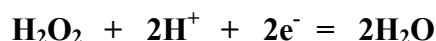
$$\text{Pourcentage d'inhibition du DPPH (\%)} = (\text{Abs}_b - \text{Abs}_e / \text{Abs}_e) \times 100$$

**Abs<sub>b</sub>** : Absorbance du blanc.

**Abs<sub>e</sub>** : Absorbance de l'extrait.

### **III.3. Activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène**

Le principe de la méthode utilisée est la réduction du peroxyde d'hydrogène par un antioxydant selon la réaction suivante (Wettasinghe et Shahidi, 2000) :



La capacité des extraits à piéger le peroxyde d'hydrogène est déterminée par la méthode décrite par **Atmani *et al.* (2009)**. Un volume de 0,15 ml d'extrait est ajouté à 1 ml de solution de peroxyde d'hydrogène et 1,35 ml de tampon phosphate (0,1M ; pH 7,4), après incubation pendant 20 minutes, l'absorbance est mesurée à 230 nm. Le pourcentage d'inhibition du peroxyde d'hydrogène est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [A_t - A_e / A_t] \times 100$$

$A_t$  : Absorbance du témoin ;

$A_e$ : Absorbance de l'extrait.

#### **IV. Activité antimicrobienne**

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion en puits.

##### **IV.1. Les souches microbienne**

Trois souches (tableau IV), sur lesquelles nous avons testées l'activité antibactérienne des extraits ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'homme.

**Tableau IV** : Les souches microbiennes testées.

<b>Souche</b>	<b>Type de microorganismes</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif
<i>Salmonella typhi</i>	Gram négatif
<i>Candidas albicans</i>	Levure

##### **IV.2. Préparation du milieu de culture**

➤ milieu Plate Count Agar (PCA)

La gélose PCA est un milieu recommandé pour le dénombrement standardisé des bactéries, préparé comme suit :

Mettre en suspension 23g de la gélose PCA dans un litre d'eau distillée, porter le milieu à ébullition sous agitation constante jusqu'à dissolution complète, répartir

en flacons puis auto-claver pendant 20 minute à 121 C° et introduire dans des boites de Pétri stérile.

### ➤ Muller-Hinton

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton, préparé comme suit :

Dissoudre 54,5g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, répartir en flacons puis auto-claver pendant 20 minute à 121°C et finalement couler le milieu dans les boites de Pétri.

### V.3. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37C° pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à testées ( $10^{+7}$  UFC/ml). Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique.

### V.4. Diffusion en puits

L'activité antimicrobienne des différents extraits a été étudiée pour chaque souche bactérienne. A partir d'une culture de 24h ( $10^{+7}$ UFC/ml). L'ensemencement de l'inoculum est réalisé en surface du milieu Muller-Hinton préalablement couler dans des boites de Pétri, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur (l'extrémité épaisse) ensuite 50µl d'extrait distribué dans chaque puits. Les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37 C° pendant 24h et les auréoles d'inhibition sont mesurées par un pied à coulisse le diamètre des puits est inclus dans le tableau des résultats.

## VI. Analyse statistique

Les résultats représentent la moyenne de trois essais. Une analyse de la variance, ANOVA par le logiciel STATISTICA 5.5 est utilisée pour une comparaison des résultats et le degré de signification des données est estimé à la probabilité  $P<0,05$ .





*Résultats*

*et discussion*

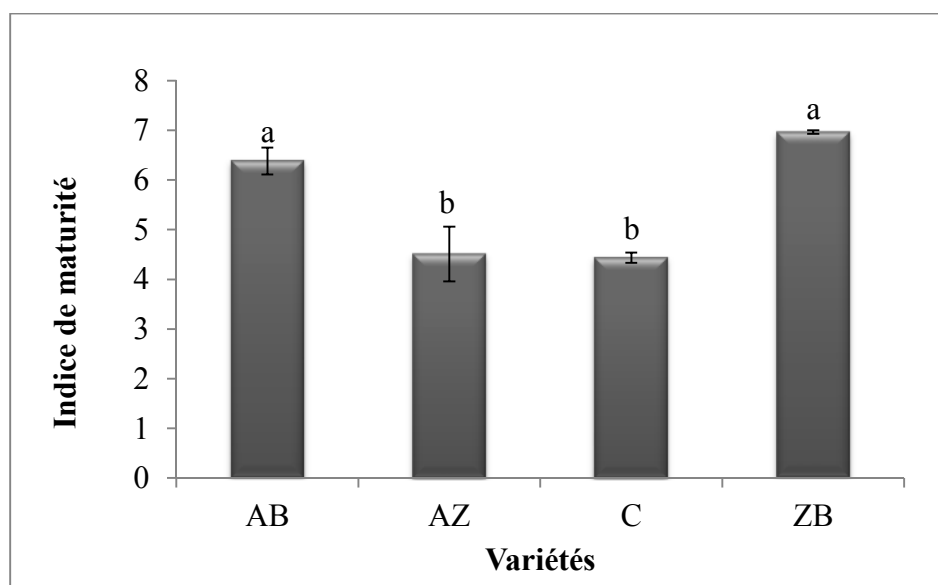
## I. Analyses physico-chimiques

### I.1. Indice de maturité

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les variétés étudiées. Les résultats indiquent que la variété Chemlal présente le plus faible degré de maturité (4,435), contrairement à la variété Azeboudj qui présente l'indice de maturité le plus élevé (6,965).

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les deux variétés (Aberkan et Azeboudj), et entre les deux variétés (Azeradj et Chemlal).

En effet, Plusieurs paramètres peuvent influencer, l'indice de maturité, notamment la date de récolte, la charge des oliviers surtout si cette dernière est importante, il se produit une grande compétition entre ces fruits, et par conséquent de faibles valeurs de l'indice de maturité, au moment de la récolte (**Cimato., 1990**).



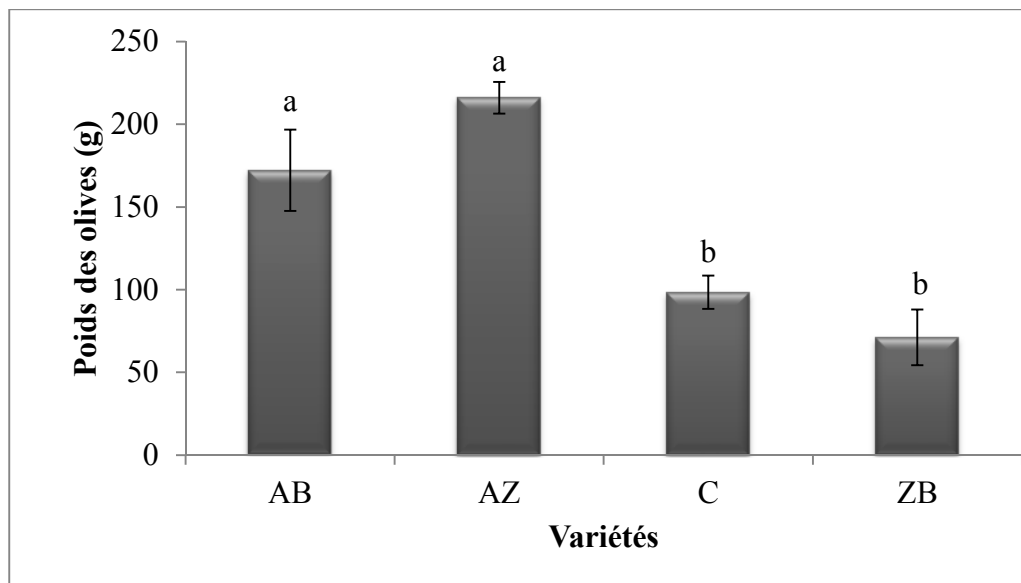
**Figure 5:** Indice de maturité des olives étudiées.

*Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées.  $a > b$ .*

Selon **Bendriss (2010)**, la période optimale de récolte est estimée aux valeurs de l'indice de maturité allant de 2,8 à 3,5. C'est la fourchette coïncidant à un rendement maximal en huile ainsi qu'un taux en polyphénols plus élevé (**Mahhou et al. 2011**). Ces résultats concordent avec ceux de la présente étude.

## I.2. Poids des olives

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre le poids des olives étudiées. D'après les résultats obtenus, on remarque que la variété Azeboudj est caractérisée par le poids du fruit le plus faible (71g) contrairement à la variété Azeradj (216g). Les valeurs obtenues diffèrent de celles constatées par **Abaza et al., (2002)**. Ces différences peuvent être expliquées par les conditions culturales (**Cimato, 1990; Michelakis, 1995**). Selon **Cimato (1990)**, les différences observées sont principalement liées à l'effet variétal qui a une incidence significative sur ce paramètre.



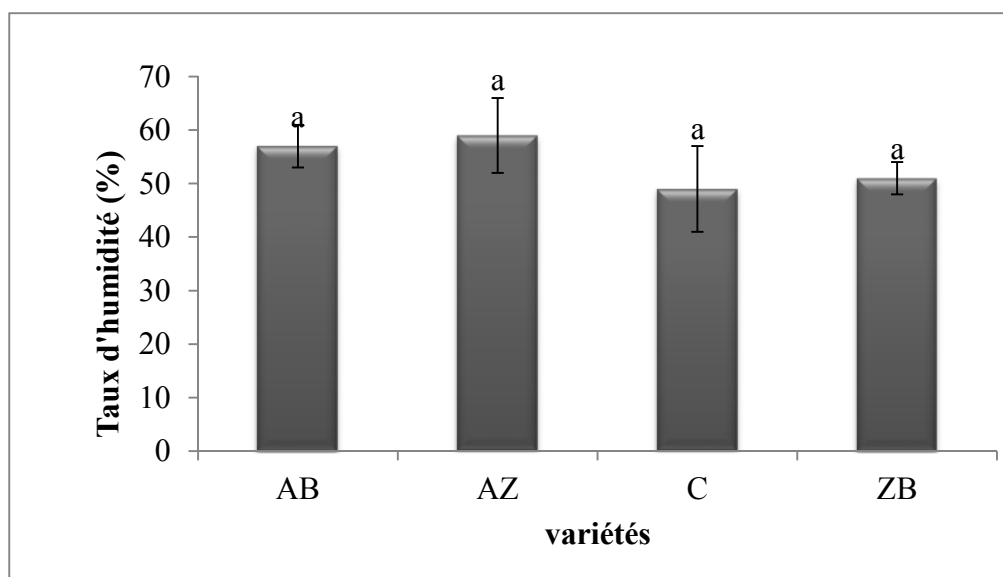
**Figures 6 :** Poids des olives des variétés étudiées.

*Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées, (a>b).*

## I.3. Taux d'humidité

Les teneurs en eau des margines analysées sont illustrées dans la figure 5. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les variétés étudiées.

Les résultats ont montré que les variétés étudiées renferment des teneurs élevées en eau. Ces résultats peuvent s'expliquer par l'ajout d'une quantité importante d'eau pour faciliter la séparation des différentes phases (huile, margine et grignon) aux cours de l'extraction de l'huile d'olive (**Blaide et al., 2002**).



**Figure 7 :** Taux d'humidité des margines des variétés étudiées.

*Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées.*

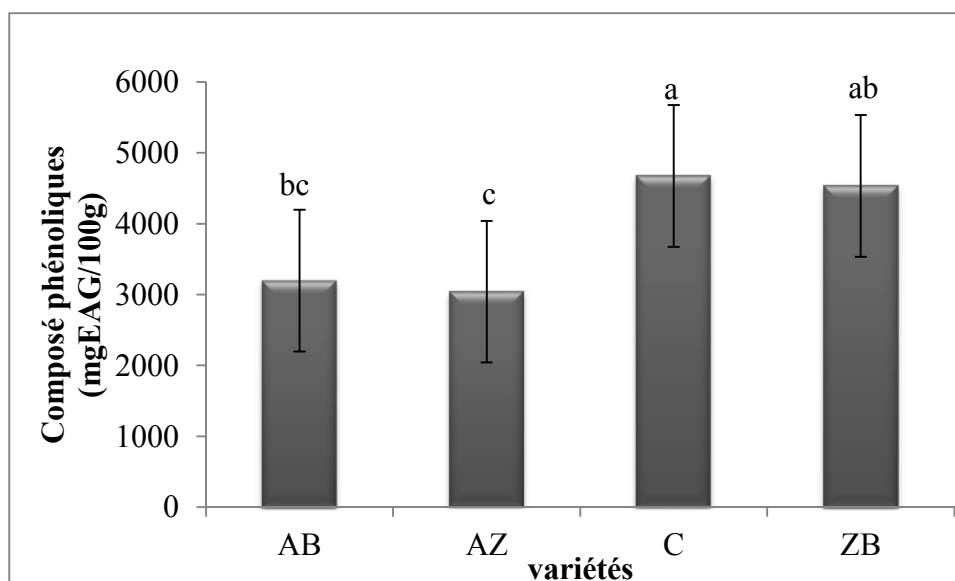
Toute fois, les margines analysées renferment des teneurs inférieures à celles obtenues par **Ouabou *et al.*, (2014)** qui ont mené une étude sur des margines issues de variétés d'olive marocaines.

## **II. Composés phénoliques**

### **II.1. Composés phénoliques totaux**

D'après les résultats obtenus, la teneur des margines en composés phénoliques diffèrent significativement ( $P < 0,05$ ) entre les variétés étudiées (figure 8), les margines de la variété Chemlal renferment la concentration la plus élevée (4674mg/100g) suivi de la variété Azeboudj (4535mg/100g), Alors que la faible concentration est enregistrée dans les margines issues de la variété Azeradj (3040mg/100g).

Les margines analysées renferment des teneurs inférieures à celles obtenues par **Fezzani et Ben cheikh (2007)**, par contre elles sont plus élevées par rapport à celles déterminées par **Moussaoui (2007).** et **Ouabou *et al.* (2014).**



**Figure 8 :** Teneur en composés phénoliques totaux de margines des variétés étudiées.

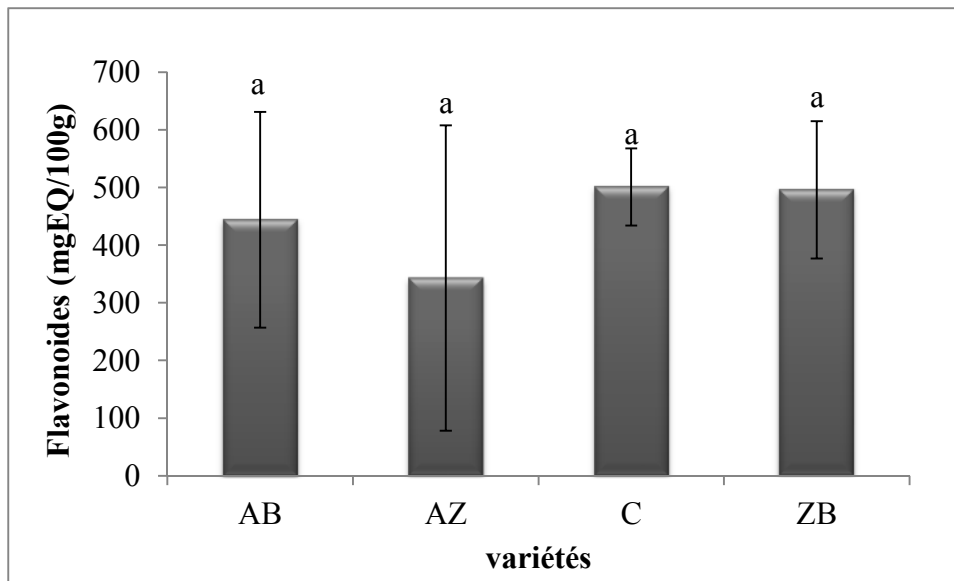
Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées, (a>b>c).

Ces différences peuvent s'expliquer par l'impact des conditions climatiques ainsi que d'autres facteurs: la période de récolte des olives et/ou le cultivar (**Criado et al., 2004., Vinha et al., 2005., Leouifoudi et al., 2015**).

Selon **Blaid et al. (2002)**, la répartition de ces composés varie d'un échantillon à un autre en fonction de plusieurs facteurs tels que : l'état de maturation des olives, les conditions d'extraction de l'huile d'olive et l'état des margines.

## II.2. Flavonoïdes

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les variétés analysées. Les margines analysées renferment des teneurs inférieures à celles enregistrées par **El-Abassi et al. (2012)** qui ont mené une étude sur des margines issues des variétés d'olive marocaines.



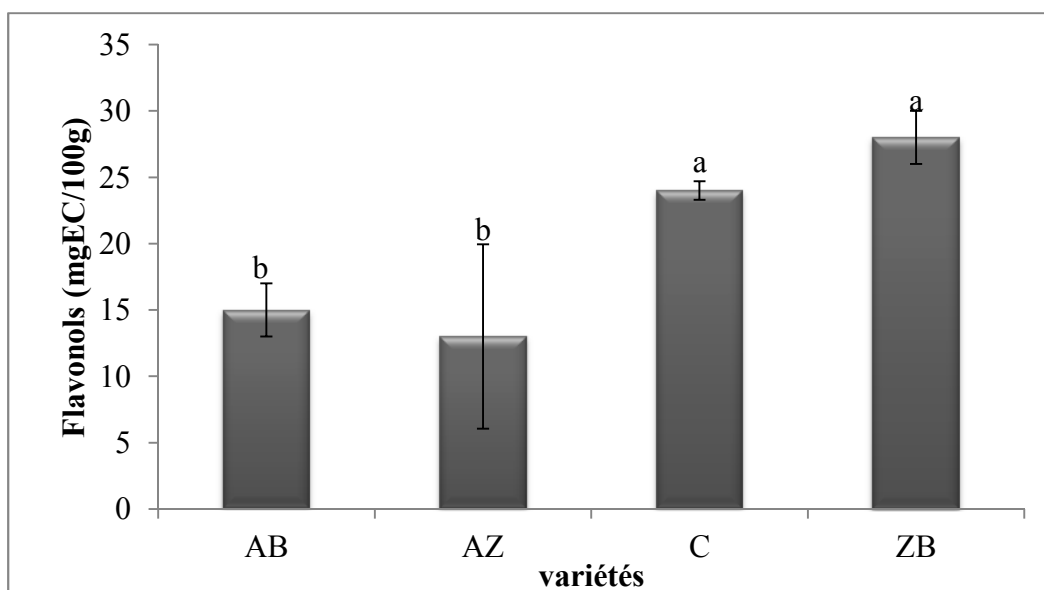
**Figure 9** : Teneur en flavonoïdes de margines des variétés étudiées.

Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées.

### II.3. Flavonols

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les variétés étudiées (figure 10). Les résultats montrent que la teneur en flavonols la plus élevée est notée dans la variété Azeboudj (28mg/100g), par contre la plus faible valeur est obtenue dans la variété Azeradj (13mg/100g).

Ces différences peuvent être expliquées par l'effet variétal (**Ouabou *et al.*, 2014**). Les margines analysées renferment des teneurs supérieures à celles obtenues par **El-Abassi *et al.* (2012)**.



**Figure 10:** Teneur en flavonols de margines des variétés étudiées.

Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P < 0.05$ ) entre les margines des variétés étudiées, (**a>b**).

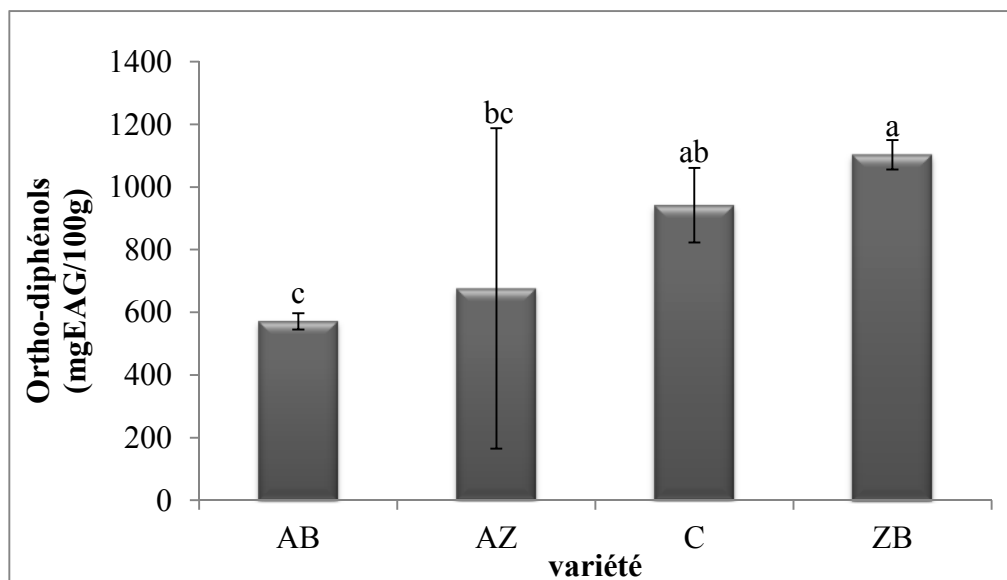
Selon **khoufi et al, (2006)**, les différences constatées peuvent être liées au temps de conservation ainsi qu'au degré de maturité.

#### II.4.Ortho-diphénols

Les teneurs en *ortho*-diphénols des margines analysées sont illustrées dans la figure 11. D'après les résultats obtenus, la teneur des margines en *ortho*-diphénols diffère significativement ( $P < 0,05$ ) entre les variétés étudiées, les margines de la variété Azeboudj renferment la concentration la plus élevée (1349mg/100g), suivi de la variété Chemlal ,(1153mg/100g), Alors que la faible concentration est noté dans les margines issues de la variété Aberkane (698mg/100g).

Dans les margines, les *ortho*-diphénolsont été rapportés être les composés phénoliques majeurs, atteignant environ 70% de la teneur totale en composés phénoliques (**El-Abassi et al., 2012**). Certains auteurs ont également constaté que les *ortho*-diphénolsconstituent les principaux composés phénoliques des grignons d'olive, atteignant des concentrations entre 1624 à 2872 mg/kg (**Rubio et al., 2012**).

La présente étude a démontré que les concentrations en ortho-diphénols dans les margines sont très variables selon la variété, et constituent un taux relativement moyen (20-29%) des composés phénoliques des margines étudiées.



**Figure 11:** Teneur en ortho-diphénols de margines des variétés étudiées.

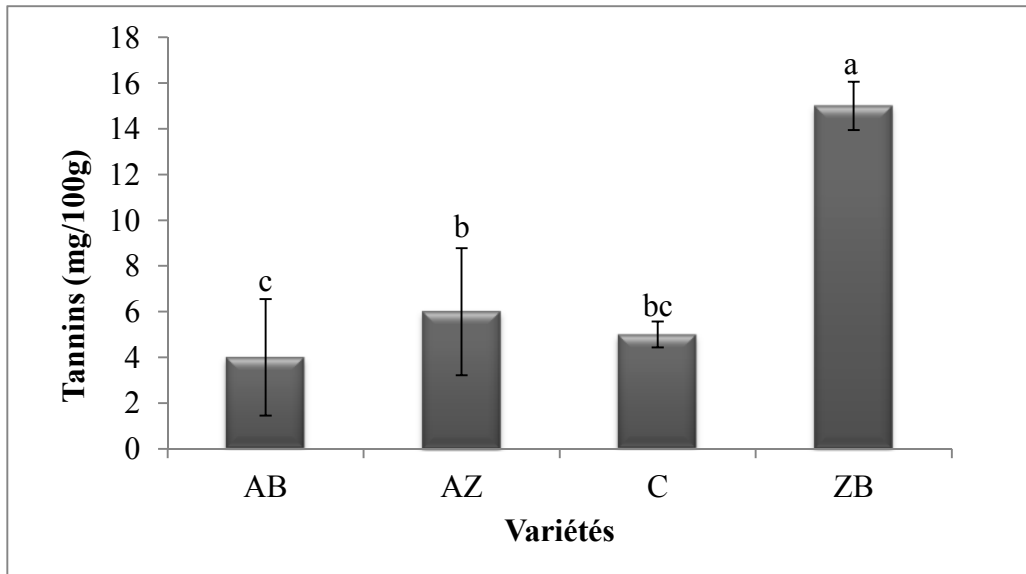
Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées, (a>b>c).

Parmi les variétés analysées, la variété Azeboudj renferme une teneur en ortho-diphénols (1349mg/100g) supérieure à celle obtenue par **Casa et al. (2003)**. Ces différences des concentrations peuvent être dues à plusieurs facteurs tel que : la période de récolte des olives et/ou le cultivar (**Criado et al, 2004**).

## II.5.Tannins

Les résultats de l'analyse statistique ont montré que, la teneur des margines en tannins diffèrent significativement ( $P < 0,05$ ) entre les variétés étudiées, les margines de la variété Azeboudj renferment la concentration la plus élevée (15mg/100g), contrairement à la variété Aberkane (4mg/100g). Ces variations peuvent être liées à la variété (**Annaki et al., 1991**). Les margines analysées renferment des teneurs inférieures à celles obtenues par **Bouknana et al. (2014)** qui ont mené une étude sur des margines issues du système d'extraction traditionnel et moderne.





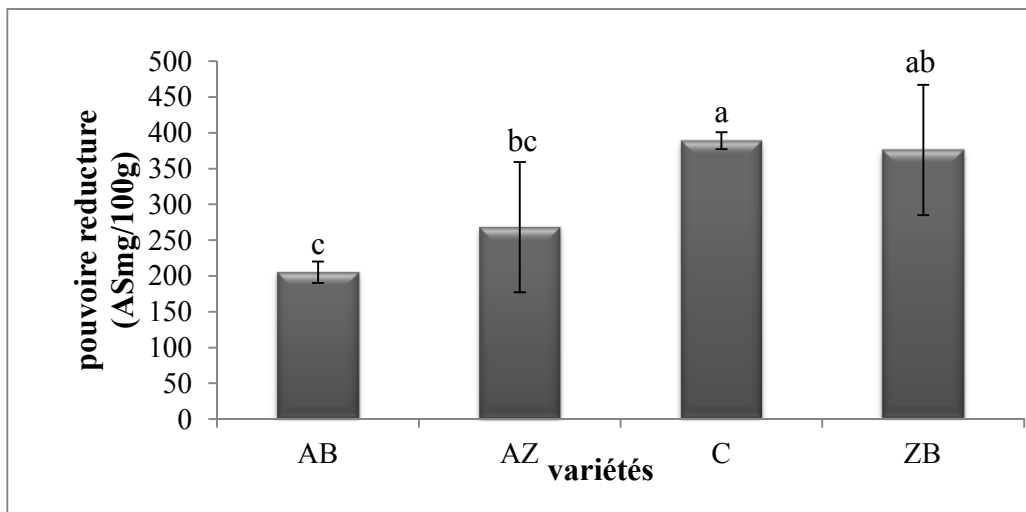
**Figure 12:** Teneur en tannins de margines des variétés étudiées.

Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées, (a>b>c).

### III. Activité antioxydante

#### III.1. Pouvoir réducteur

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ( $P < 0,05$ ) du pouvoir réducteur des margines étudiées (figure 13).



**Figure 13:** Pouvoir réducteur de margines des variétés étudiées.

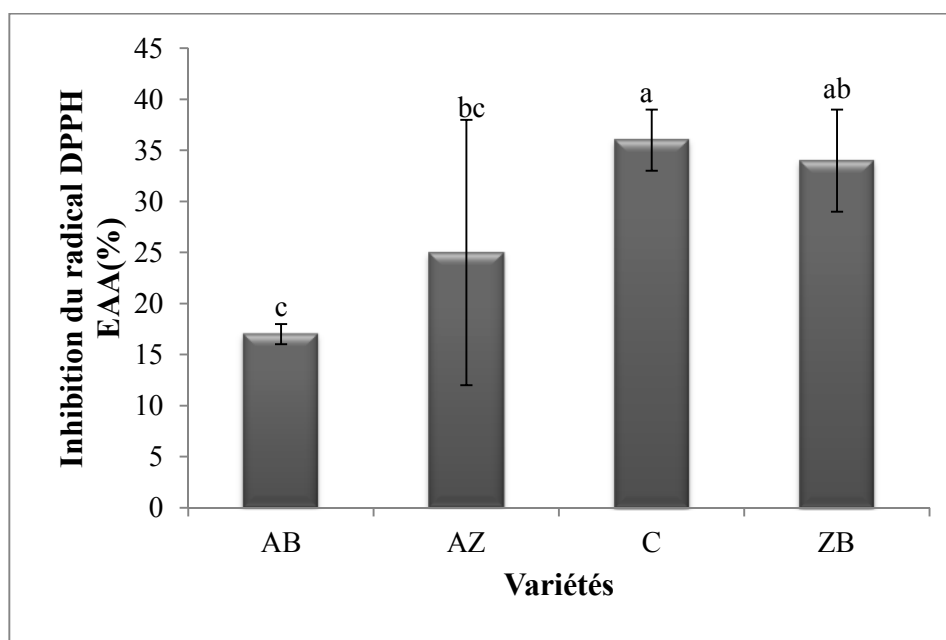
Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées, (a>b>c).

Les extraits de margines de la variété Chemlal exercent la meilleure activité réductrice (389mg/100g), suivi de celles de la variété Azeboudj (376mg/100 g), puis la variété Azeradj (268 mg/100g), et enfin la plus faible activité réductrice est noté dans les extraits des margines de la variété Aberkane (205mg/100 g).

Ces différences semblent être dues aux fonctions phénoliques ayant un pouvoir réducteur élevé engagées dans des liaisons glycosidiques et libérées après rupture de cette même liaisons exerçant ainsi une meilleure activité (Cretu *et al.*,2013).

### III.2. Activité antiradicalaire

Le test (DPPH) est l'un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité antiradicalaire (Laguerre *et al*, 2007). Cette activité est liée à la concentration en composés phénoliques et à la nature de ces composés (Leouifoudi *et al.*, 2015).L'activité antiradicalaire des margines analysées est illustrée dans la figure 14. L'analyse statistique a révélé des différences significatives ( $P<0,05$ ) du taux d'inhibition des radicaux DPPH• des margines étudiées. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est obtenu dans les margines de la variété Chemlal (36%), suivi de celle de la variété Azeboudj avec un taux de 34 %, enfin le faible taux est noté dans les margines de la variété Aberkane17%.



**Figure 14:** Activité antiradicalaire de margines des variétés étudiées.

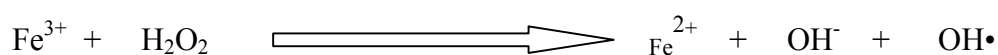
Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P<0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées, (a>b>c).

Les margines analysées renferment des taux inférieurs à ceux obtenus par **Leouifoudi *et al.*, (2015)**, qui ont mené des études sur les activités antioxydantes des margines issues de zones montagneuses et celles issues des plaines.

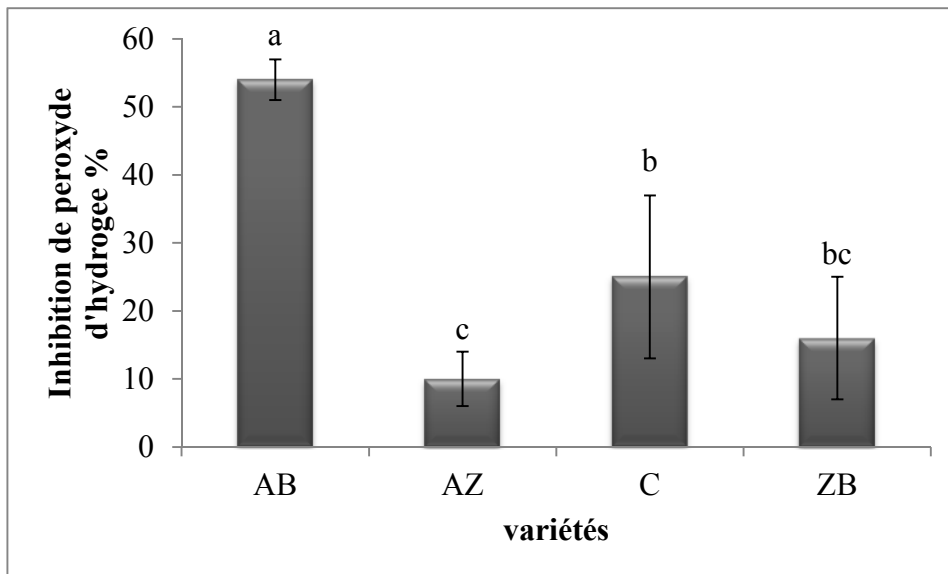
Selon **Oboh, (2006)**, l'activité de piégeage du radical DPPH• peut être expliquée par les concentrations élevées en composés phénoliques. L'activité antioxydante observée peut également être liée à la composition chimique des extraits testés (**Leouifoudi *et al.*, 2015**).

### **III.3. Activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène**

Le peroxyde d'hydrogène est un produit non radicalaire, mais très réactif et susceptible de réduire des radicaux hydroxyles présence de fer ferreux, qui est basée sur la production des radicaux hydroxyles à partir de la décomposition du peroxyde d'hydrogène catalysée par les sels ferreux (**Bouhjira, 2011**).



L'analyse statistique a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ) du taux d'inhibition des peroxyde d'hydrogène des margines étudiées, le pourcentage d'inhibition le plus élevé est obtenu dans les margines de la variété Aberkane (54%), suivi de la variété Chemlal (25%), puis de la variété Azeboudj avec un taux de 16%, alors que le faible taux est enregistré dans les margines de la variété Azeradj avec un taux de 10%.



**Figure 15 :** Pourcentage d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des margines des variétés étudiées.

Les barres verticales représentent les écarts type, les lettres minuscules indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les margines des variétés étudiées, (**a>b>c**).

Les données de la littérature concernant le peroxyde d'hydrogène des margines d'olives sont limitées, toutefois l'effet variétal peut influencer cette activité et être à l'origine des différences constatées entre les margines des variétés étudiées (Ucella., 2001). Les margines analysées renferment des taux supérieures à ceux obtenus par (Gulcin ., 2010).

#### IV. Relation activité antioxydante/teneurs en composés phénoliques

Le pouvoir réducteur des extraits présente de bonne corrélation linéaire positive avec les teneurs en composés phénoliques ( $r = 0,99$ ), flavonols ( $r = 0,94$ ), flavonoïdes ( $r = 0,99$ ), ortho-diphénols ( $r = 0,98$ ), tannins ( $r = 0,99$ ). Ceci confirme l'implication de ces derniers dans l'activité réductrice, ce qui peut rendre ces margines d'une efficacité antioxydante importante.

Turkmen *et al.* (2007), ont déterminé que il y'a une forte corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en phénols totaux des différents extraits de thé. Les résultats obtenus indiquent également l'existence de corrélation linéaire et positive entre l'activité inhibitrice de peroxyde d'hydrogène et les teneurs en composés phénoliques ( $r = 0,47$ ), flavonols ( $r = 0,22$ ), flavonoïdes ( $r = 0,070$ ), ortho-diphénols ( $r = 0,32$ ), tannins ( $r = 0,99$ ).

Parmi les classes phénoliques analysées, il semble que les tannins jouent un rôle considérable vis-à-vis de l'inhibition du peroxyde d'hydrogène.

L'activité antiradicalaire des échantillons présente de bonne corrélation positive avec les teneurs en composés phénoliques ( $r = 0,85$ ), flavonoïdes ( $r = 0,82$ ), flavonols ( $r = 0,95$ ), ortho-diphénols ( $r = 0,95$ ), tannins ( $r = 0,99$ ). Ceci confirme la capacité importante de extraits de margines à piéger les radicaux libres DPPH•. (Annexe, Tableau 1).

Ces résultats concordent avec ceux de certains auteurs qui ont montré qu'il existe une corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante (Wong *et al.* 2006., Djeridane *et al.*, 2006).

### V. Activité antimicrobienne

D'après les résultats obtenus (tableau 5), les extraits analysés n'ont présenté aucune activité antimicrobienne et cela aussi bien à l'égard de la bactérie Gram positif *S. aureus*, qu'à l'égard de la bactérie Gram négatif *S. Typhi* ainsi que la levure pathogène *C. albicans*. Ce résultat peut être du à la faible concentration des extraits. Par ailleurs, il serait intéressant d'élargir la gamme des germes cibles testés.

**Tableau V** : Résultats de l'activité antimicrobienne des variétés d'huiles d'olives étudiées.

Echantillon	Essai	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
		S aureus	Salmonella typhi	Candida albicans
Azebouj1	1	--	--	--
	2	--	--	--
	3	--	--	--
Azebouj2	1	--	--	--
	2	--	--	--
	3	--	--	--
Aberkane 1	1	14	--	9,5
	2	9	--	8,5
	3	11	--	8,5
Aberkane 2	1	--	--	--
	2	--	--	--
	3	--	--	--
Chemlal 1	1	--	--	11
	2	--	--	12
	3	--	--	8,5
Chemlal 2	1	--	--	15,5
	2	--	--	12,5
	3	--	--	14
Azeradj 1	1	--	8	--
	2	--	7	--
	3	--	6	--
Azeradj 2	1	--	--	--
	2	--	--	--
	3	--	--	--

(--): pas de zones d'inhibitions observées.



# Conclusion



### Conclusion

Le présent travail a été consacré à l'étude comparative des teneurs en antioxydants (composés phénoliques totaux, *ortho*-diphénols, flavonoïdes, flavonols, et tannis) ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante (le pouvoir réducteur, l'activité antiradicalaire, l'inhibition de peroxyde d'hydrogène) ainsi que l'activité antimicrobienne des margines issues d'huile d'olive provenant de quatre variétés de la région de Bejaia (Aberkane, Azeradj, Chemlal, Azeboudj).

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en différents antioxydants ainsi que l'activité antioxydante varient significativement selon les variétés d'olives étudiées. En effet, les margines des variétés Chemlal et Azeboudj renferment les teneurs les plus élevées en composés phénoliques (4674mg/100g ; 4535mg/100g), en flavonoïdes (501mg/100g; 496mg/100g), en flavonols (24mg/100g ; 28mg/100g), en *ortho*-diphénols (1349mg/100g ; 1153mg/100g) et en tannins (15mg/100g). Cependant, la faible concentration de ces substances est enregistrée dans les margines issues de la variété Azeradj notamment en flavonols (13mg/100g).

Quant à l'activité antioxydante des margines, le meilleur pouvoir réducteur est exercé par le extraits de la variété Chemlal (389mg/100g), tandis que la meilleure capacité à piéger le radical DPPH• (36%) a été notée dans les extraits de la variété Chemlal. Les extraits de la variété Aberkane ont été caractérisés par le taux le plus élevé à inhiber le peroxyde d'hydrogène (54%). Pour l'activité antimicrobienne d'après les résultats obtenus les extraits analysés n'ont présenté aucune activité antimicrobienne vis-à-vis des souches testées.

Il semble que les extraits des margines analysées renferment des teneurs considérables en différents antioxydants et ils exercent ainsi une activité antioxydante importante ce qui suscite l'intérêt de les valoriser et les utiliser comme ingrédients dans divers domaines (agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique, etc.).

Toutefois dans l'intérêt d'apporter un apport complémentaire à cette étude, il serait intéressant :

- D'examiner de méthodes d'épuration et de traitement des margines afin de les valoriser;
- De procéder à une analyse qualitatives de la composition des margines.



*Références  
bibliographiques*

A

- **Achak M., Hafidi A., Ouazzani N., Sayadi S., Mandi L. (2009).** Low cost biosorbent“banana peel” for the removal of phenolic compounds from olive mill wastewater: Kinetic and equilibrium studies. *Journal of Hazardous Materials*, 166, 117–125.
- **Agar T., Hess-Pierce B., Sourour M. M. ET Kader A.M. (1998).** Quality of fruit and oil of black-Ripe olives is influenced by cultivar and storage period. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3415-3421.
- **Aggoun M. Durior B. Arhab A. Cornu A. Barkat Graulet B. (2013).** Olive mill wastewater composition for valorization by dairy cows. *Renc. Rech .Ruminants*, 20:111.
- **Ait Baddi G., Hafidi M., Cegarra J., Albuquerque J.A., Gonzalez J., Gilard V. ET Revel J.C. (2004).** Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FtirTIR and 13C-NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw. *Bioresource Technology*. 93: 285-290.
- **Ajana H., El Antari A., ET Hafidi A. (1999).** Evolution of biometric parameters and chemical composition of olive from Moroccan Picholine variety fruit ripeness. *Grasas y Aceites*, 50: 1-16.
- **Annaki, (1999).** L'influence de la durée de stockage des olives sur l'évolution de la composition des margines. 218 : 24-28.
- **Aruoma O. I. Bahorun T. et Jen L .S. (2003).** Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. *Mutation Research*, 544: 203-215.
- **Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H. Debbache N et Atmani D. (2009).** Antioxydants capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 123: 303-309.

**B**

- **Benitez J., Bertrans-Heredia J., Torregrosa J., Acero J.L., Cercas V. (1997).** Aerobic degradation of olive mill wastewaters. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 47, 185-188.
- **Benyahia N et Zein K. (2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solution récemment développé, 2eme conférence internationale Swiss Environnementale Solution, Lausanne Swiss.
- **Bendriss K. 2010.** Appellation d'origine protégée huile d'olive tyout-chiadma. Expérience Marocaine, présentation au séminaire inter-national consacré aux indications géographiques dans le secteur de l'huile d'olive et des olives de table, Reggio di Calabria, Italie.
- **Bianchi G 2003.** Lipids and phenols in table olive. *Journal Lipid Science Technology* 105:229-242.
- **Belaid C, Kallel M, et Elleuch B. (2002).** Identification de nouveaux composés phénoliques présents dans les rejets liquides d'huileries d'olive (margines). *Déchets Sciences et Technique*, 27 : 30-34.
- **Borja R., Martin M.A., Duran Barrantes M.M. (1992).** Kinetic study of biomethanization of olive mill wastewater previously subjected to aerobic treatment with *Geotrichum candidum*. *Grasas y Aceites*, 43, 82-86.
- **Bouhadjra K. (2011).** Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire de magistère, université Mouloud Mammeri, Tizou-Ouzou : 41-46.
- **Bouknana D. Hammoutia B. Salghid R. Jodehe S. Zarrouka A. Warade I. Aounitia A. ET Sbaab M. (2014).** Physicochemical characterization of olive oil mill wastewaters in the eastern region of morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5:1039-1058.

- **Brenes M., Garcia A., Garcia B., Rios J.J., Garrido A. (1999).** Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3535-3540.

**C**

- **Chamkha, M. (2001).** Etude de métabolisme de composés aromatiques par des bactéries anaérobies isolées de margines d'olives et de tourteaux de karité. Thèse de l'université Provence, Aix-Marseille I.
- **Casa R., D'Annibale A., Pieruccetti F., Stazi S.R., Giovannozzi Sermanni G. & Lo Cascio B. (2003).** Reduction of the phenolic components in olive-mill wastewater by an enzymatic treatment and its impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability. *Chemosphere*, 50, 959-966.
- **Cimato, A. 1990.** Effect of agronomic factors on virgin olive oil quality. *Olivae*, 31: 20-31.
- **Chiofalo B, Liotta L, Zembo A et Chiofalo v., 2004.** Administration of olive cake for ewe feeding: Effect on Mill yield and composition. *Small Ruminant Production*, 55: 169-176.
- **C.O. I. 2001.** Statistiques de la production d'huile olive.
- **COI (2017/2018) :** Les données du COI pour la campagne oléicole 2017/2018 montrent une augmentation interannuelle de la production d'huile d'olive.
- **Criado M.N. Morello J. ET Romero M.P. (2004).** Effect of growing area on pigment and phenolic fraction of virgin olive oil of the Arbequina variety in Spain. *JAACS*, 81: 633-640.
- **Cretu E, Karonen M., Salminen J.P., Mircea C., Trifan A., Charlambo C., Constantinou A.I. and Anca Miron A. (2013).** *In Vitro* Study on the Antioxidant Activity of a Polyphenol-Rich Extract from Pinus brutia Bark and Its Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16: 1-8.

*D*

- **Dacosta, 2003) Dacosta, Y. 2003** : Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.
- **Djeridane. A., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. ET Vidal N. 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97: 654-660.
- **DSA Bejaia. 2015.** Statistiques de la direction des services agricoles de la wilaya de Bejaïa.

*E*

- **El Antari A., El Moudni H., Ajana H., et Cert A. (2003).** Etude de la composition lipidique de deux compartiments du fruit d'olive (pulpe et amande) de six variétés d'oliviers. *Cultivées au Maroc Olivae*, 98 : 20-28.
- **El-Abbassi A., Khayet M. and Hafidi A 2011.** Micellar enhanced ultrafiltration process for the treatment of olive mill wastewater. *Wat. Res.* 45: 4522-4530.
- **El Abbassi A., Hafidi, A. 2012.** Phenolic profile and antioxidant activities of mill wastewater. *Food chemistry*, 132: 406-412.

*F*

- **Fedeli E. & Camurati F. (1981).** In : Séminaire International sur la Valorisation des Sous produits de l'olivier. *PNUDFAO. Monastir, Tunisie, Décembre 1981*, 111-113
- **Fenice M., Giovannozzi Sermanni G., Federia F et D'Annibelle A. 2003.** Submerged and solid state production of lactase and Mn-peroxidase by *Pannustigrinus* on olive mill waste water based media. *Journal. Biotechnology*, 101: 77-85
- **Fezzani B., Ben cheikh R., 2007.** Anaerobic codigestion of olive mill wastewater with olive mill solid waste in a tubular digester at mesophilic temperature. *Bioresource Technology*, 98,769-774.

- **Fiestas Ros de Ursinos J.A. (1958).** Caractéristiques et Elimination des eaux résiduelles des usines à huile. Ière Conférence Internationale des Techniciens oléicoles. 21-27, Mai, Tanger, Maroc. 5-12.
- **Fki I. Allouche N. et Sayadi S. (2005).** The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93: 197-204.

**G**

- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes: structures, propriétés biologiques, rôle prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3: 162-169
- **Gülçin İ., Oktay M. Kûfreviöglu İ et Aslan A. (2002).** Determination of antioxydants activity of lichens *Cetraria islandica* (L) Ach. *Jour Ethenopharma*. 79.

**H**

- **Hamdi M. (1991).** Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de l'extraction de l'huile d'olive, Thèse de l'université de Provence. Marseille, France.
- **Hamdi M. and Ellouz R. (1993).** Treatment of detoxified olive mill wastewaters by anaerobic filter and aerobic fluidized bed processes. *Environmental Technology*, 14: 183-188.
- **Halliwell B. (1994).** Free radicals and antioxydants: A personl view. *Nutrition Reviews*. 52:253-265.
- **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2003).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

**I**

- **Ilhami Gulcin A, B. Ercan Bursal C, M. Hilal S. Ehitoglu A. Mine Bilsel D, Ahmet C. Goren D. (2010).** Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey *Food and Chemical Toxicology* 48: 2227–2238.
- **ITAF 2002:** Catalogue algérien des variétés d'oliviers-ITAF Sidi-Aich(Béjaia).



**K**

- **Kahkonen M.P., Hopia A.I., Rauha J-P., Pihlaja K., Kujala T.S., et Heinonen M. (1999).** Antioxydants Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Jour Chem.* 47: 3954-3962.
- **Kapellafis L.E., Tsagarakis K.P., Crowther J.C. 2008.** Olive oil his troy, production and by –product mangement. *Review in Environemental Science Biotechnology*, 7, 1-26.
- **Khoufi S. Aloui F. et Sayadi S. 2006.** Treatment of olive oil mill wastewater by combined process electro-Fenton reaction and anaerobic digestion. *Water Research*, 40: 2007-2016.
- **Kim D-O., Chun O.K. Kim Y.J. Moon H-Y and Lee C.Y. 2003.** Quantification of Plyphenolics and Their Antioxydants Capacity in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 : 6509-6515.
- **Kumaran A et Karunakaran R.J. (2007).** In vitro antioxydant activities of methanol extracts of Phyllanthus species from India. *Lebens-Wiss Technol.* 40: 344-352.

**L**

- **Laguerre, M., Lopez-Giraldo, L., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2007).** Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. *Oxford College of London*, 14: 278-292.
- **Leouifoudi I. Harnafi H. et Zyad A. (2015).** Olive Mill Waste Extracts: Polyphenols Content Antioxidant and Antimicrobial Activities. Hindawi Publishing Corporation *Advances in Pharmacological Sciences*, 11.
- **Lutwin B., Fiesta Ros De Ursino, J.A. Geiscen, K., Kachouri, M., Klimm, E., De Lodore Monpezat, G., et Xanthoulis, D.D. 1996.** Les expériences méditerranéennes dans le traitement et l'élimination des eaux résiduelles des huilière d'olives, Editions (GTZ) GmbH, Eschorn.

**M**

- **Mazza G et Miniati E, 1993.** Anthocyanins in fruits; vegetables and grain. Boca Raton. *CRC press*, 362p.
- **Macheix J-J., Fleuriet A. et Jay –Allmend C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Collection biologie. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne.
- **Mahhou. 2011.** Performance et qualité de production des variétés d'olivier Arbéquine, Koroneiki et Picholine marocaine conduites en irrigué dans la région de Settat (Maroc). *Olivae*, 116,16pp.
- **Monties B., Catesson A., Barnoud F., Joselean J.P., Mercier C., Thibant J. F., Metche M., et Jamin G., 1980.** Les tannins des végétaux. *Offset pp* : 252-288
- **Moussaoui R. (2007).** Valorisation des sous produits de l'huile d'olive : grignons, margines. Thèse de Doctorat en Chimie, Département des Sciences, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.133pp.

**N**

- **Nefzaoui A. (1987).** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits. Séminaire sur l'économie de l'olivier. Tunis.
- **Niaounakis M., C.P. Halvadakis (2004).** Olive-millwaste management: literaturereview and patent survey Typothito-George Dardanos Publications, *Athens*, 960-402-123-0.

**O**

- **Oboh G. 2006.** Antioxidants properties of some commonly consumed and underutilized tropical legumes. *Eur Food Res Technol*, 224, 61-65.
- **Obied H.K., Bedgood JR. D.R., Prenzler P.D. and Robards K. (2007).** Bioscreening of australian olive mill waste extracts: Biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities. *Food Chem. Tox.*, 45: 1238-1248.

- **Oukili O., Chaouch M., Rafiq M., Hadji M., Hamdi M., Benlemlih M. (2001).** Bleaching of olive mill wastewater by clay in the presence of hydrogen peroxyde. *Ann. Chim. Sci. Mat.*, 26, 45-53.
- **Ouabou et J. Appl. Biosci. 2014.** Traitement de la margine brute d'huile d'olive par distillation suivi de neutralisation par chaux. *Journal of Applied Biosciences* 79:6867 – 6872.

**R**

- **Ramos-Cormenzana A. (1986).** Physical, chemical, microbiological and biochemical characteristics of vegetation water. In: Inter. Symp.: On olive by-products valorization. *Sevilla-Spain*. 41-60.
- **Ranalli, 1991.** The effluent from olive mill: proposals for re-use and purification withreference to Italian legislation. *olivae*, 37: 33-39.
- **Rodriguez G., Lama A., Rodriguez R., Jiménez A., Guillén R and FernandezBalanos (2008).** Olive stone an alternatives source of bioactif and valuable compound. *BioresourceTechnology*, 99: 5261-5269.
- **Rubio-Senent, F., Rodriguez-Gutierrez, G., Lama-Munoz, A., & Fernandez-Bolanos, J. (2012).** New phenolic compounds hydrothermally extracted from the olive oil by productal perujo and their antioxidative activities. *Journal of Agricultural Chemistry*, 6, 1175-1186.

**S**

- **Sansoucy R. (1984).** Utilisation des sous produits de l'olivier en alimentation animale dans le basinme diteraneen. Etude FAO production et santé animale : 43.
- **Sayadi S., Ellouz R. (1993).** Screening of white rot fungi for the treatment of olive mill waste-waters. *J. Chem.Bio.technol.* 57, 141-146.
- **Skerget M., Kotnik P., Hodolin B., Hras A-R., Simonic M. etKnez Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materiels and teirantioxydant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.

**T**

- **Tovar J., Romero P. Girona J and Motilva M.J. (2002).** L-phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive *Olea europaea* L. CV Arbequina fruit grown under different irrigation regimes. *Jour Sci.Food Agric.* 82: 892-898.
- **Turkmen N., Velioglu Y.S., Sari F., Polat G. 2007.** Effect of extraction conditions on measured total polyphenols contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12,484-496.
- **Turkmen N., Sari F., Velioglu Y.S. (2006).** Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99: 835-841.

**U**

- **Ucella N. 2001.** Olive Biophenol: Novel ethnic and technological approach. *Trends in Food Science and Technology*, 11:328-339.

**V**

- **Vinha A.F., Ferreres F., Silva B.M., Valentao P., Goncalves A., Pereira J.H., Oliveira M.B., Seabra R.M., et Andrade P.M. (2005).** Phenolic profiles of Portuguese olives fruits (*Olea europaea* L) influence of cultivar and geographical origin. *Food chemistry*, 89:561-568.

**W**

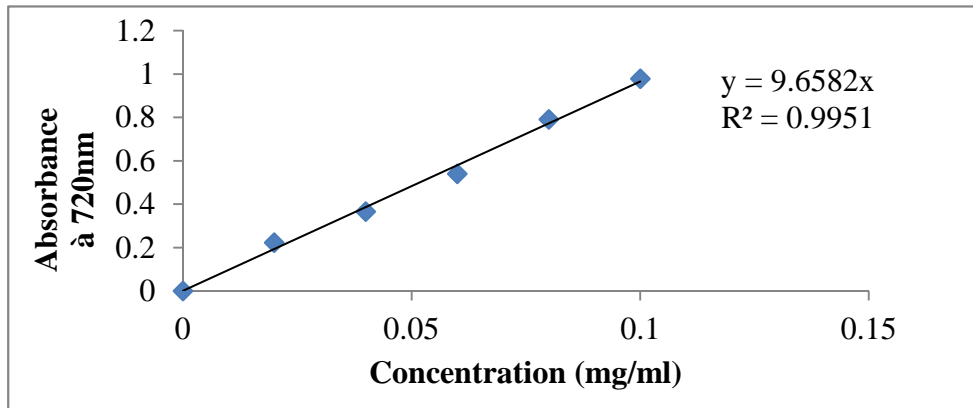
- **Wettasinghe M and Shahidi F. (2000).** Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. *Food Chemistry*, 70 : 17-26.
- **Williams W.B. Cuvelier M.E and Berst C. (1995).** Use of free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm-Wiss U-Technol.* 28 : 25-30.
- **Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W., Chen F. (2006).** A systematic Survey of antioxidant activity of 30 chinese medical plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food chemistry*, 97: 705-711.

**Z**

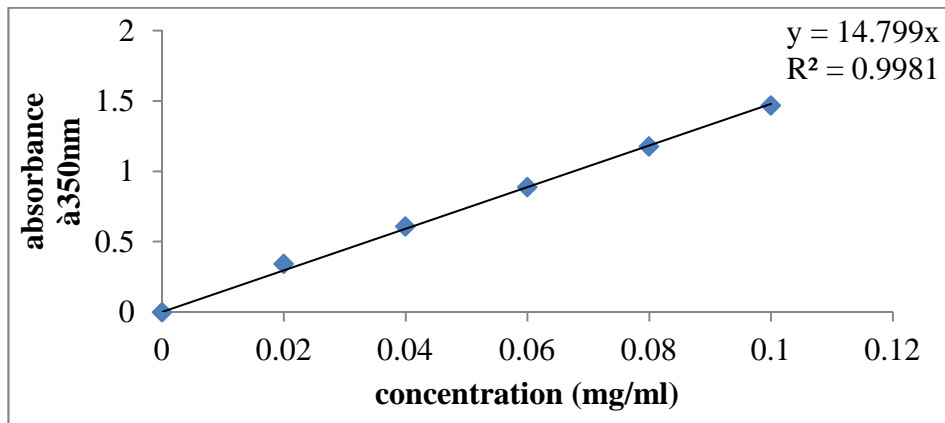
- **Zouari N., Ellouz R. (1996).** Microbial consortia for the aerobic degradation of aromatic compounds in olive oil mill effluent. *Ind. Microbiol*, 3, 155-162.

**Annexes**

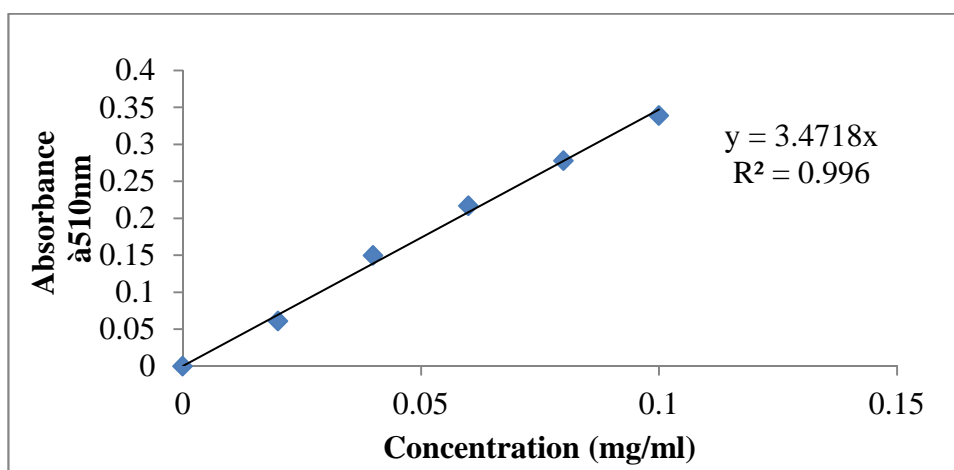
## Annexe1



**Figure 1 :** Courbe d'étalonnage des polyphénols avec l'acide gallique.



**Figure 2 :** Courbe d'étalonnage des ortho-diphénols avec l'acide gallique.



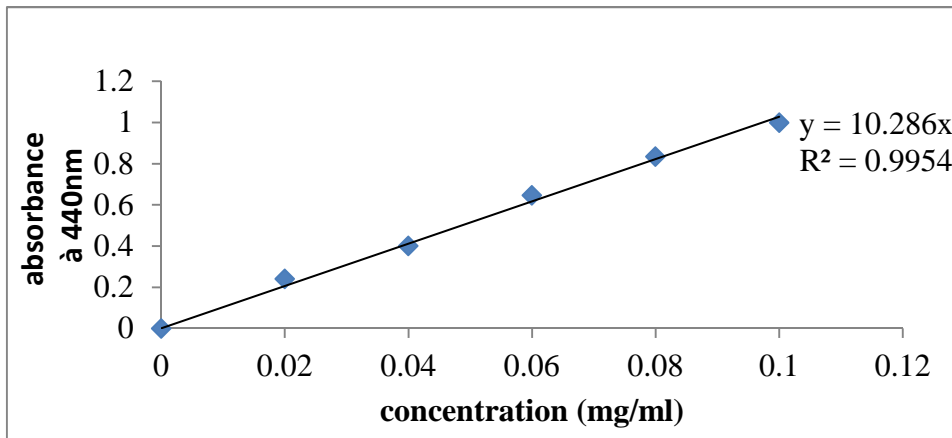
**Figure 3 :** Courbe d'étalonnage des flavonoïdes avec catéchine.

## Annexe1

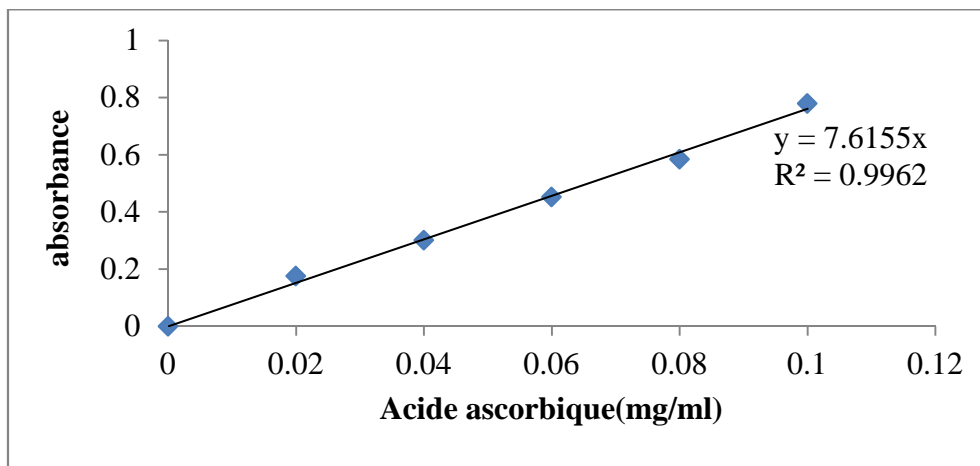
---



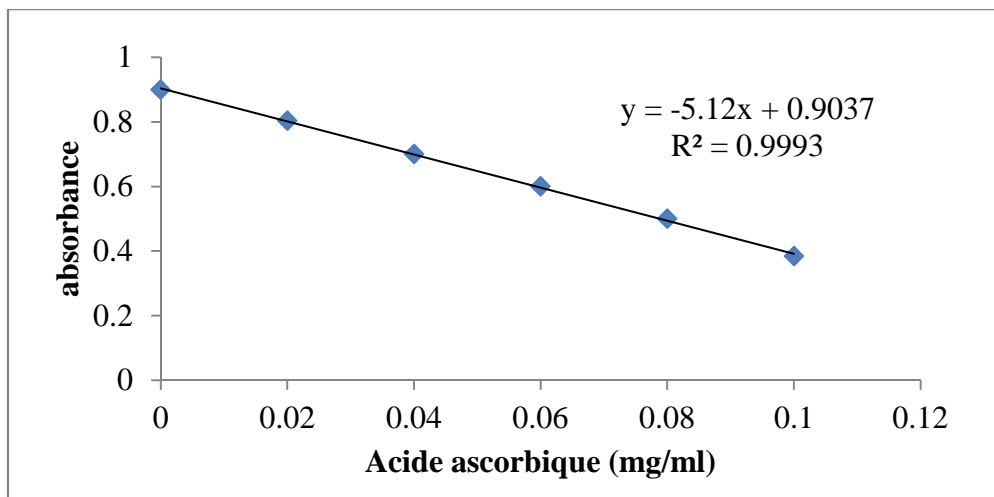
## Annexe 2



**Figure 4 :** Courbe d'étalonnage des flavonols avec quercétine



**Figure 5 :** Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur



**Figure 6 :** Courbe d'étalonnage de l'activité antiradicalaire.

## Annexe 3

**Tableau I:** Relation activité antioxydante et /teneurs en composés phénoliques.

<b>Corrélation</b>	<b>Coefficient de Corrélation (r)</b>
Pouvoir réducteur - compose phénolique	0,99
Pouvoir réducteur-flavonoïdes	0,99
Pouvoir réducteur - flavonols	0,94
Pouvoir réducteur - ortho-diphénols	0,98
Pouvoir réducteur - tannins	0,99
L'activité antiradicalaire - compose phénolique	0,85
L'activité antiradicalaire et-flavonoïdes	0,82
L'activité antiradicalaire -flavonols	0,95
L'activité antiradicalaire -ortho-diphénols	0,95
L'activité antiradicalaire- tannins	0,99
L'inhibition de peroxydes d'hydrogène -compose phénolique	0,46
L'inhibition de peroxydes d'hydrogène -flavonols	0,22
L'inhibition de peroxydes d'hydrogène -flavonoïdes	0,070
L'inhibition de peroxydes d'hydrogène -ortho-diphénols	0,32
L'inhibition de peroxydes d'hydrogène -tannins	0,47
L'inhibition de peroxydes d'hydrogène -L'activité antiradicalaire	0,37

## Résumé

La présente étude est consacrée à la détermination des antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols, ortho-diphénols, tannis) ainsi que l'activité biologique (activité antioxydante et antimicrobienne) dans les margines issues de la production d'huile d'olive provenant de quatre variétés (Aberkane, Azeradj, Chemlal et Azeboudj). Les résultats montrent que les paramètres analysés varient significativement entre les margines étudiées. Les margines de la variété Chemlal présente la concentration la plus élevée en composés phénoliques (4674mg/100g) ainsi qu'en flavonoïdes (501mg/100g). Cependant, la variété Azeboudj renferme les teneurs les plus élevés en flavonols (28mg/100g), en ortho-diphénols (1349mg/100g) et en tannis (4mg/100g). Les extraits de la variété Chemlal exercent le meilleur pouvoir réducteur (389mg/100g) et une capacité importante à réduire le radical DPPH• (36%). Par contre, les extraits des margines de la variété Aberkane sont les plus efficaces dans l'inhibition du peroxyde d'hydrogène (54%). Les extraits analysés n'ont présenté aucune activité antimicrobienne vis-à-vis des souches testées. Des corrélations significativement élevées ont été enregistrées entre les activités testées et les classes phénoliques.

**Mots clés :** Margines, Antioxydants, Activité Antioxydante, Activité Antimicrobienne.

## Abstract

The present study is devoted to the determination of antioxidants (phenol compounds, flavonoids, flavonols, ortho-diphenols, tannis) as well as the biological activity (antioxidant and antimicrobial activity) in the vegetable water from the production of olive oil from four varieties (Aberkane, Azeradj, Chemlal and Azeboudj). The results show that the analyzed parameters vary significantly between the studied vegetable waters. The margins of the Chemlal variety have the highest concentration of phenolic compounds (4674mg / 100g) and flavonoids (501mg / 100g). However, the Azeboudj variety contains the highest levels of flavonols (28mg / 100g), ortho-diphenols (1349mg / 100g) and tannis (4mg / 100g). Extracts of the Chemlal variety exert the best reducing power (389 mg / 100 g) and an important ability to reduce the radical DPPH • (36%). In contrast, extracts of vegetable waters of the Aberkane variety are the most effective in inhibiting hydrogen peroxide (54%). The extracts analyzed showed no antimicrobial activity vis-à-vis the strains tested. Significantly high correlations were recorded between the activities tested and the phenolic classes.

**Key words:** Margins, Antioxidants, Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity.



---

---

## Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

### Synthèse bibliographique

I. Généralité sur les olives.....	2
I.1. Oléiculture .....	2
I.1.1. production mondiale d'huile d'olive.....	2
I.1.2. Oléiculture algérienne.....	2
I.2. Olives .....	3
I.3. Sous produits de l'oléiculture.....	3
a. Grignons ou tourteaux.....	3
b. Margines.....	4
II. Margines.....	5
II.1. Caractéristiques physico-chimiques des margines.....	5
II.2. Caractéristiques microbiologiques des margines.....	5
II.3. Composition chimique des margines.....	6
II.3.1. Fraction minérale.....	6
II.3.2. Fraction organique.....	7
III. Antioxydants des margines.....	7
III.1. Composés phénoliques.....	7
III.1.1. Flavonoïdes.....	7
III.1.2. Flavonols.....	8
III.1.3. Tannins.....	8
IV. Activité antioxydante.....	10
V. Pouvoir antioxydant des polyphénols.....	10

VI. Impacte des margines sur l'environnement.....	11
VI.1. Pollution des eaux.....	11
VI.2. Pollution du sol.....	11

## Matériels et méthodes

I. Echantillonnage.....	12
I.1. Paramètres physico-chimiques.....	13
I.1.1. Poids moyen des olives.....	13
I.1.2. Indice de maturité du fruit.....	14
I.1.3. Taux d'humidité de la pâte et du fruit.....	14
I.2. Préparation des extraits.....	15
II. Composés phénoliques.....	15
II.1. Composés phénoliques totaux.....	15
II.2. Ortho-diphénols .....	15
II.3. Flavonoïdes.....	16
II.4. Flavonols .....	16
II.5. Tannins.....	16
III. Mesure de l'activité antioxydante.....	16
III.1. Pouvoir réducteur.....	16
III.2. Activité antiradicalaire.....	17
III.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène.....	17
IV. Activité antimicrobienne.....	18
IV.1. Les souches bactériennes.....	18
IV.2. Préparation des milieux de culture.....	18

V.3.Préparation de l'inoculum.....	19
V.4.Diffusion en puits .....	19
V. Analyse statistiques.....	19

## Résultats et discussion

I. Analyse physico-chimique .....	20
I.1.Taux d'humidité .....	20
I.2. Indice de maturité .....	21
I.3.Poids des olives .....	21
II. Composés phénoliques.....	22
II.1.Composés phénolique totaux.....	22
II.2. Flavonoïdes.....	23
II. 3. Flavonols.....	24
II.4. Ortho-diphénols.....	25
II.5. Tannins.....	26
III. Activité antioxydante.....	27
III.1.Pouvoir réducteur.....	27
III.2. Activité antiradicalaire.....	28
III.3. Activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène.....	29
IV. Relation activité antioxydante et teneur en composés phénoliques.....	30
V. Activité antimicrobienne.....	31

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes.