

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Sciences Alimentaires  
Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf :.....

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

**MASTER**

*Thème*

**Effet du solvant d'extraction sur la teneur en  
substances bioactives et activité  
antioxydante du grignon d'olive**

Présenté par :

**Belfou Youdas & Benkoulou Rabah**

Soutenu le : **07 juillet 2022**

Devant le jury composé de :

Mme Guemghar .H  
Mme. Soufi Ouahiba  
Mme. Boubchir .K

MCA  
MCA  
MAA

Président  
Encadrant  
Examineur

Année universitaire : 2021 / 2022

# Remerciements

*Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements au bon Dieu de nous avoir donné le courage et la force pour terminer notre travail et pour sa bien vaillance.*

*Nous tenons également à exprimer nos vifs remerciements et notre sincère gratitude à notre promotrice Mme SOUFI.O. Pour la qualité de son encadrement, sa constante disponibilité, son sérieux, ses encouragements et ses conseils très précieux nous sommes très reconnaissants de la confiance qu'elle nous a accordée.*

*Nous tenons d'autre part à remercier Mme Ghemghar.H. Et Mme Boubchir. Pour bien vouloir nous a accordé de leur temps précieux, pour commenter, discuter et juger notre travail.*

*Nous présentons nos sincères remerciements aux personnels de laboratoire biochimie alimentaire surtout: Mme Lila responsable de laboratoires. Pour leur encouragement, et leur accueil durant toute la durée de pratique afin de mener bien ce projet.*

*Nos vives gratitude s'adressent à tous ceux qui ont participé de loin ou de près, à la réalisation de notre mémoire de fin de cycle.*

## *Dédicace*

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail à :*

*A mes très chers parents (kamel et taklite), Sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières et vos efforts que vous avez déployé durant toute ma vie, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que Dieu vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur*

*A mes chères sœurs saida feriel et lamia*

*A mes chères frères massinissa et samir*

*A mon chères cousins farouk nassim et silva*

*A tous mes amis(e)*

*A ma chère chalou, pour son aide son amour et son soutient, et à laquelle je souhaite tout le bonheur du monde En fin, a ceux que j'aime et qui me sont chers. Je vous dis merci.*

*Youdas.*

## *Dédicace*

*Avec l'aide de Dieu le Tout puissant est enfin achevé ce travail ; le quel je dédie à toutes les personnes qui me sont chères*

*A mes chères parents, que je ne remercierais jamais assez : leurs aides,*

*Encouragement, Soutiens, Sacrifices et leur patience pendant toute ma vie.*

*Que Dieu les garde et protège. A mes chers frères et ma chère sœur.*

*A tous mes amis,*

*A mon binôme « Youdas » qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.*

*A ma chère Dida, pour son aide son amour et son soutien, et à laquelle je souhaite tout le bonheur du monde.*

*A tous mes enseignants et en particulier,*

*A toute la promo Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire 2022.*

*Rabah.*

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
<b>I</b>	production mondiale de l'huile d'olive.	<b>4</b>
<b>II</b>	composition en acide gras d'une huile d'olive	<b>Annexe I</b>
<b>III</b>	composition chimique des grignons d'olive	<b>9</b>
<b>IV</b>	structure de quelques acides phénoliques présent dans le grignon d'olive.	<b>11</b>
<b>V</b>	composés phénoliques des grignons d'olive et l'activités biologiques.	<b>13</b>
<b>VI</b>	Les souches microbiennes testées.	<b>22</b>
<b>VII</b>	résultats de l'activité antimicrobienne des échantillons des grignons d'olives étudiées.	<b>36</b>

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
<b>1</b>	Production algérienne d'huile d'olive de 2019-2022	<b>5</b>
<b>2</b>	Schéma des différents procédés d'extraction de l'huile d'olive.	<b>7</b>
<b>3</b>	Structures de tyrosol et du l'hydroxytyrosol.	<b>12</b>
<b>4</b>	Les structures chimiques des flavonoïdes des grignons d'olives.	<b>12</b>
<b>5</b>	Structure de l'oleuropéine et nuzhénide.	<b>12</b>
<b>6</b>	Structures de pinorésinol et l'acetoxypinorésinol.	<b>13</b>
<b>7</b>	Différentes filière de valorisation des grignons d'olive.	<b>15</b>
<b>8</b>	Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques totaux.	<b>23</b>
<b>9</b>	Effet du solvant d'extraction sur la teneur en Ortho-diphénols.	<b>24</b>
<b>10</b>	Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes.	<b>25</b>
<b>11</b>	Effet du solvant d'extraction sur le pouvoir réducteur des extraits des grignons d'olives.	<b>26</b>
<b>12</b>	Effet du solvant d'extraction sur l'activité anti radicalaires des extraits des grignons d'olives.	<b>27</b>
<b>13</b>	Effet du solvant d'extraction sur l'activité anti radicalaires des extraits des grignons d'olives.	<b>28</b>

<b>14</b>	Inhibition de peroxyde d'hydrogène des extraits des grignons d'olives.	<b>29</b>

<b>15</b>	Teneur en composés phénoliques totaux des grignons d'olives étudiées.	<b>30</b>
<b>16</b>	Teneur en <i>ortho</i> -diphénols des grignons d'olives étudiées.	<b>31</b>
<b>17</b>	Teneur en flavonoïdes des grignons d'olives étudiées.	<b>32</b>
<b>18</b>	Activité antiradicalaire des grignons d'olives étudiées.	<b>33</b>
<b>19</b>	Teneur en pouvoir réducteur des grignons d'olives étudiées.	<b>34</b>
<b>20</b>	Inhibition de peroxyde d'hydrogène des grignons d'olives étudiées.	<b>35</b>
<b>21</b>	Pouvoir chélateur du fer des grignons d'olives étudiées.	<b>35</b>

## **Liste des abréviations :**

**AFIDOL** : Association Française Interprofessionnelle De l'Olive.

**COI** : Conseil Oléicole International.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: peroxyde d'hydrogène.

**Abs**: Absorbance.

**ONAGRI** : Observatoire National de l'Agriculture.

**E** : Ethanol.

**E.Coli** : Escherichia coli.

**SARM** :Staphylococcus aureus résistant à la métiline.

**S.typhi** : Salmonella typhi.

## Sommaire

## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	<b>1</b>

### Synthèse bibliographique

I. Description botanique.....	3
I.1. L'olivier.....	3
I.2. Les olives.....	3
II. L'oléiculture.....	3
II.1. Répartition de l'oléiculture mondiale .....	4
II.2. L'oléiculture en Algérie.....	4
III. Système d'extraction de l'huile d'olive.....	5
III.1. Réception.....	5
III.2. Opération de pressage et extraction.....	5
III.2.1. Broyage.....	5
III.2.2. Malaxage .....	5
III.3. Séparation des phases .....	5
III.4. Procédé discontinu où système à presse.....	6
III.5. Procédé continu où système à centrifugation .....	6
IV. Produits et sous produits d'oléiculture.....	7
IV.1. Huile d'olive .....	7
IV.1.1. Définition .....	7
IV.1.2. Composition chimique de l'huile d'olive .....	8
IV.2. Sous-produits d'oléiculture .....	8
IV.2.1. Les margines.....	8
IV.2.1.a. caractéristique physico-chimique des margines .....	8
IV.2.1.b. Pouvoir polluant des margines.....	8
IV.2.2. Grignon d'olive ou déchets solide.....	9
IV.2.2.a. Caractéristique chimiques des grignons d'olive.....	9
V. Composé phénolique des grignons d'olives.....	10
V.1. Les acides phénoliques .....	10
V.2. Les alcools phénoliques.....	11
V.3. Les flavonoïdes.....	12
V.4. Les dérivés Sécoiridoïdes .....	12
V.5. Lignanes.....	12
VI. Les composés phénoliques des grignons d'olive et les propriétés biologiques.....	13

VII. voies de valorisation des grignons d'olive.....	13
VIII. Extraction des composés phénoliques.....	16
VIII.1. extraction solide-liquide.....	16
VIII.2. mécanisme d'extraction.....	16
VIII.3. facteur influençant l'extraction.....	17
VIII.3.1. taille des particules.....	17
VIII.3.2. la nature de solvant.....	17
VIII.3.3. pouvoir de solubilisation.....	17
VIII.3.4. température.....	18
VIII.3.5. temps d'extraction.....	18
VIII.3.6. degrés d'agitation.....	18

## **Matériel et méthodes**

I. Dosage des antioxydants .....	19
I.1. composé phénolique.....	19
I.1.1.Préparation des extraits .....	19
I.1.2. Détermination des composés phénoliques .....	19
I.1.2.1. Composés phénoliques totaux .....	19
I.1.2.2. Ortho-diphénols .....	19
I.1.2.3. Flavonoïde .....	19
II. Mesure de l'activité antioxydante.....	19
II.1. pouvoir réducteur.....	19
II.2. Inhibition de peroxyde d'hydrogène .....	20
II.3. Activité anti-radicalaire.....	20
II.4. Pouvoir chélateur du fer.....	20
III. Activité antimicrobienne .....	21
III.1. Les souches microbiennes .....	21
III.2. Préparation du milieu de culture.....	22
III.3. Préparation de l'inoculum .....	22
III.4. Diffusion en puits .....	22
IV. Taux d'humidité ou teneur en eau .....	22
V. Analyse statistique .....	22

## **Résultats et discussion**

I.Teneur en antioxydants .....	23
I.1. Composés phénoliques.....	23
I.1.1. Composés phénolique totaux .....	23
I.1.2.Ortho-diphénols .....	24
I.1.3. flavonoïdes .....	24

I.2. Activité antioxydante .....	25
II.2.1 Pouvoir réducteur .....	25
II.2.2. Activité anti-radicalaire.....	26
II.2.3. Inhibition de peroxyde d'hydrogène .....	27
II.2.4. Pouvoir chélateur du fer.....	28
II. Dosage en antioxydants .....	29
II.1.1. Composés phénolique totaux .....	29
II.1.2.Ortho-diphénols .....	30
II.1.3. flavonoïdes .....	31
II.2. Activité antioxydante .....	32
II.2.1. Pouvoir réducteur .....	33
II.2.2. Inhibition de peroxyde d'hydrogène .....	34
II.2.3. Activité anti-radicalaire.....	35
II.2.4. Pouvoir chélateur du fer.....	35
III. Activité antimicrobienne .....	36
Conclusion .....	37
Références bibliographique	
Annexes.	

---

## Introduction

L'industrie oléicole, en plus de sa production principale qui est l'huile d'olive vierge, génère deux sous-produits : un solide appelé les grignons, et l'autre liquide appelé les eaux de végétation ou les margines.

La production mondiale de grignons d'olive est estimée à 2,9 millions tonnes, en Algérie, soit de  $156.10^4$  quintaux /an. « **MADR., 2012** ». Ces quantités importantes des déchets peuvent affecter significativement l'équilibre économique de cette activité agro-industrielle en raison des coûts associés à leur traitement et/ou l'élimination. D'autre part, ces déchets peuvent générer des impacts négatifs sur l'environnement à cause de leur richesse en composés organiques.

Les grignons d'olives sont des sous-produits du processus d'extraction de l'huile d'olive, issus de la première pression ou centrifugation (**Nefzaoui, 1987**). C'est un effluent solide composé des peaux, des résidus de la pulpe et des fragments de noyaux. Ces grignons sont des matériaux lignocellulosiques constitués de cellulose, d'hémicellulose et de lignine. Il contient également des quantités restantes d'huile d'olive, des protéines, et divers autres composés tels que les composés phénoliques (**Vlyssides et al., 2004 ; Pütün et al., 2005 ; Roig et al., 2006**). Durant la production d'huile d'olive, les substances bioactives migrent à partir d'olives vers les sous-produits (grignons et margines) qui constituent une source considérable de ces composés (**Talhaoui et al., 2015**), toutefois, leur teneur dépend de plusieurs facteurs, notamment, le système d'extraction adopté (**Rosello-Soto et al., 2015**).

Plusieurs études confirment le rôle incontestable de la consommation des produits oléicoles dans la réduction du risque des cancers et des maladies chroniques, notamment les affections cardiovasculaires; cette relation est souvent attribuée aux composés bioactifs spécifiques (oleuropéine, hydroxytyrosol, sécoïridoïdes, lignanes, ..... ) qui préviennent l'oxydation des molécules biologiques et contribuent ainsi à leur stabilité. En plus de leur propriétés anti-oxydantes, ils possèdent d'intéressantes propriétés nutritionnelles et organoleptiques (**Quiles et al., 2006, Ghazghazi et al., 2015 Ouedrhiri et al., 2017**).

Par conséquent l'extraction de telles substances à partir de ces ressources naturelles est très importante afin de les valoriser, toutefois plusieurs facteurs influencent l'extraction de ces substances, parmi lesquels on cite : la nature du solvant et la polarité du solvant.

Pour cela l'extraction de ces composés bioactifs est une étape cruciale pour le choix du solvant d'extraction de telles substances à partir de ces matrices afin d'obtenir des extraits riches en ces composés et qui exercent des propriétés biologiques importantes, d'où s'inscrit l'objectif de la présente étude qui est d'optimiser le solvant d'extraction d'une part, et de comparer les teneurs en antioxydants ainsi que l'activité antioxydante de douze échantillons différents de grignons d'olives provenant à partir de l'extraction des huiles d'olive et d'oléastre.

Le présent travail est organisé en trois parties :

- La première partie est une synthèse des données bibliographiques sur les produits et sous-produits oléicoles.

- 
- La deuxième partie est une étude expérimentale comportant : le matériel et les méthodes pour effectuer les dosages des composés phénoliques et estimer l'activité antioxydante.
  - La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus et ainsi que leurs interprétations

---

## I. Description botanique

### I.1. L'olivier :

L'olivier cultivé est un arbre ayant des feuilles vertes tout le long de l'année. Ses dimensions et sa forme varient selon les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol et la variété. Il peut atteindre 15 à 20 m de hauteur avec un tronc de 1,5 à 2 m de diamètre (Wanger, 1999). L'olivier est d'une longue durée de vie, il peut même être considéré comme immortel car si le tronc disparaît, des rejets reconstituent spontanément l'arbre (Amoretti et al., 1985).

L'olivier est classé dans l'ordre botanique des *Oleales* ; et appartient au genre *Olea* et à la famille des *Oleaceae*. Son nom botanique est *Olea europaea* Linné, *Olea sativa* Hoffsmeg et Link (Guignard et al., 2004). L'olivier est un arbre fruitier qui produit des olives, avec un aspect général d'un arbre toujours vert au tronc droit souvent fissuré à écorce grise et aux petites feuilles opposées vertes argentées auquel le climat méditerranéen convient parfaitement (hiver doux, automne et printemps pluvieux, été chaude, sec et une grande luminosité), on distingue deux espèces, sous une forme sauvage oléastre (*Olea europaea*, variété *sylvestris*) et sous une forme cultivée, olivier (*Olea europaea*, variété *Sativa*) (Argenson et al., 1999).

### I.2. Les olives

L'olive est une drupe ayant une composition dépendante de la variété, du sol et du climat. Elle est de forme ovoïde ou ellipsoïde, qui peut être subdivisée en trois parties : l'épicarpe (la peau), mésocarpe (pulpe du fruit), regroupé sous la dénomination de péricarpe, et l'endocarpe (Bianchi, 2003).

- **Epicarpe** : la peau de l'olive représente 1 à 3% du poids du fruit, elle est recouverte d'une matière cireuse, la cuticule qui est imperméable à l'eau. A maturation, l'épicarpe passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur rose, rose violacé, violette, puis à la coloration noirâtre à pleine maturité (olive noire). Ces variations de couleur sont liées à la composition en pigment dans le fruit (Bianchi, 2003).
- **Mésocarpe** : la pulpe du fruit qui représente 71,5 à 80,5% du poids du fruit et renferme divers constituants : eau, lipides, protéines, etc (Garrido Fernández et al., 1997; Bianchi, 2003; Kailis et Harris, 2007).
- **Endocarpe** : il représente 18 à 22% du poids du fruit. Il est composé de deux systèmes l'un est constitué de la partie la plus externe, la seconde de la matrice protéique, contenant la composante lipidique et la composante hydrophile (Bianchi, 2003 ; Cortesi et al., 2000).

## II. L'oléiculture

### II.1. Répartition de l'oléiculture mondiale

La surface totale occupée par l'olivier est d'environ 11 millions d'hectares plantées de près de 1,5 milliards à travers le monde. L'Union européenne recouvre 50% de ce verger, l'Afrique du nord 25%, le Moyen-Orient 20%, et le reste se répartissant entre l'Amérique (Californie, Chili, Argentine...), l'Australie et la Chine (AFIDOL, 2013).

Le patrimoine génétique oléicole mondial est très riche en variétés d'olivier (*Olea europaea* L.), cultivées et spontanées. Il est constitué actuellement de plus de 2 600 variétés

différentes (**Muzzalupo et al., 2014**). La plus grande partie de ces cultivars proviennent des pays de l'Europe méridionale tels que l'Italie avec 610 cultivars, l'Espagne avec 280 cultivars, la France avec 100 cultivars et la Grèce 101 cultivars (**Corrado et al., 2010 ; Linos et al., 2014**).

L'Union européenne est le premier producteur, consommateur et exportateur d'huile d'olive. Elle produit environ 70% du total mondial (**Tableau I**).

**Tableau I : principaux producteurs d'huile d'olive (C.O.I, 2022).**

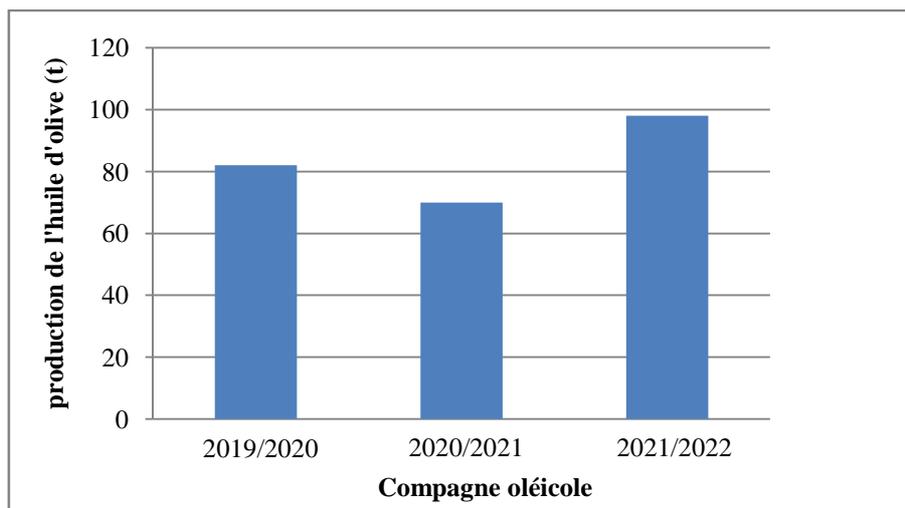
<b>Production</b>	<b>2019/2020 (en 1000 t)</b>	<b>2020/2021(en 1000 t)</b>	<b>2021/2022 (en 1000 t)</b>
<b>Espagne</b>	1230	1389	1300
<b>Grèce</b>	322	274	315
<b>Italie</b>	350	210	240
<b>Portugal</b>	300	275	225
<b>Total UE</b>	<b>2202</b>	<b>2148</b>	<b>2080</b>
<b>Tunisie</b>	225	210	228
<b>Turquie</b>	145	160	200
<b>Maroc</b>	120	100	620
<b>Algérie</b>	82	70	98
<b>Total</b>	<b>2772</b>	<b>2688</b>	<b>3226</b>

L'Italie et l'Espagne sont les plus gros consommateurs d'huile d'olive dans l'UE, avec une consommation annuelle d'environ 500 000 tonnes chacune, tandis que la Grèce affiche la plus grande consommation annuelle de l'UE par habitant, avec environ 12kg par an et par personne. Au total, L'UE représente environ 53% de la consommation mondiale. Sur le plan commercial, L'UE représente environ 65% des exportations mondiale d'huile d'olive (États-Unis, Brésil et Japon) (**ONAGRI, 2020**).

## **II.2. L'oléiculture en Algérie**

L'oléiculture algérienne recouvre 389000 hectares de plus de 25 millions d'arbres. L'oléiculture est concentrée exclusivement au niveau de 6 wilayas : trois wilayas de la région du centre, qui recouvre plus de 50% de la surface oléicole nationale (Bejaia., Tizi Ouzou, Bouira) et trois de la région Est (Bourdj Bourreridj, Setif et Jijel). Quant au reste du verger oléicole, plutôt consacré à la production d'olive de table, il se concentre essentiellement dans trois autres wilayas (Telemcen, Mascara et Relizane) (**Lamani et Ilbert, 2016**).

L'oléiculture orientée vers la production d'huile d'olive domine la quasi-totalité de la région de Bejaia, avec près de 70% de la surface arboricole totale. Elle s'étend sur une superficie de plus de 60 000 ha. (**boudi et al., 2013**). L'oléiculture algérienne est caractérisée par une large gamme de variétés locales (**Lamani et Ilbert, 2016**). La production algérienne en huiles d'olive varie d'une année à une autre (figure 1).



**Figure 1** : production algérienne d’huile d’olive de 2019-2022 (× 1000 tonnes) (C.O.I, 2022).

### III. Système d’extraction de l’huile d’olive

#### III.1. Réception

Ces opérations, qui consistent à préparer l’olive pour son pressage postérieur, sont communes à toutes les huileries ; l’unique variation observée a trait au degré de perfection et à l’automatisation avec laquelle elles sont réalisées (Ahmidou et Hammadi, 2007).

- Nettoyage et lavage
- Contrôle du poids et de la qualité : aspect, acidité.
- Stockage.

#### III.2. Opération de pressage et extraction

##### III.2.1. Broyage

L’étape du broyage des olives constitue la première étape de libération de l’huile à partir des tissus végétaux. Cette opération a pour but de déchiqeter les cellules de la pulpe et de faire sortir les gouttelettes d’huile des vacuoles de manière à ce qu’elles puissent se réunir et former des gouttes aux dimensions plus grandes qui soient en mesure de se séparer des autres phases, liquides et solides, de pâte. Cette étape est principalement réalisée à l’aide des broyeurs (Inarejos et al., 2011).

##### III.2.2. Malaxage

La pâte passe dans un malaxeur où s’effectue un chauffage avec injection d’eau dans certains cas. Cette opération a pour but d’homogénéiser la pâte et de détacher les cellules lipidiques. Elle a aussi pour le but d’augmenter le pourcentage d’huile« libre »tout en favorisant, d’une part, la réunion des gouttelettes d’huile en gouttes plus grosses pour former une phase continue et, d’autre part, la rupture de l’émulsion huile/eau. Cette étape est très importante pour l’amélioration du rendement (Ghanabari et al., 2012 ;Roger, 1974 ;Cuellar, 1990).

#### III.3. Séparation des phases

Les principales opérations sont décrites comme suit

- **Séparation des phases liquides-solides** : le broyage et le malaxage aboutissent à la formation d’une pâte qui contient, la matière solide et des fluides. La matière solide

---

appelée grignon, formée débris de noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires...etc., alors que la partie fluide est composée d'huile et d'eau de végétation appelée margines.

- **Séparation des phases liquide-liquide** : la séparation entre la phase aqueuse de la phase huileuse se fait essentiellement par simple décantation ou par centrifugation. Elle est basée sur la différence de densité entre l'huile d'olive et l'eau de végétation (**Anonyme, 2000**).

#### **III.4. Procédé discontinu où système à presse**

La méthode d'extraction par pression était l'unique procédé d'obtention d'huile d'olive, jusqu'à apparition des méthodes modernes d'extractions par centrifugation. Il s'agit d'un système classique par pression avec broyeurs. Le broyage des olives suivi du malaxage se font sous des meules. Une pâte est obtenue au bout d'une demi-heure environ. Elle est composée de grignon et d'un moût contenant l'huile et les margines. La séparation des deux phases solide-liquide se fait par simple pression, alors que l'huile est séparée des margines par décantation naturelle (**figure 2**) (**Ben Hassine et al., 2009**).

#### **III.5. Procédé continu ou système à centrifugation**

Le système continu est apparu dans les années 70, avec l'application des nouvelles technologies dans le domaine de l'extraction de l'huile d'olive (**figure2**). Cette conception moderne de l'extraction remplace le pressage traditionnel ; elle utilise des centrifugeuses horizontales appelées "Décanteur", ce qui améliore considérablement le rendement et la productivité des huileries (**Anonyme, 2000**).

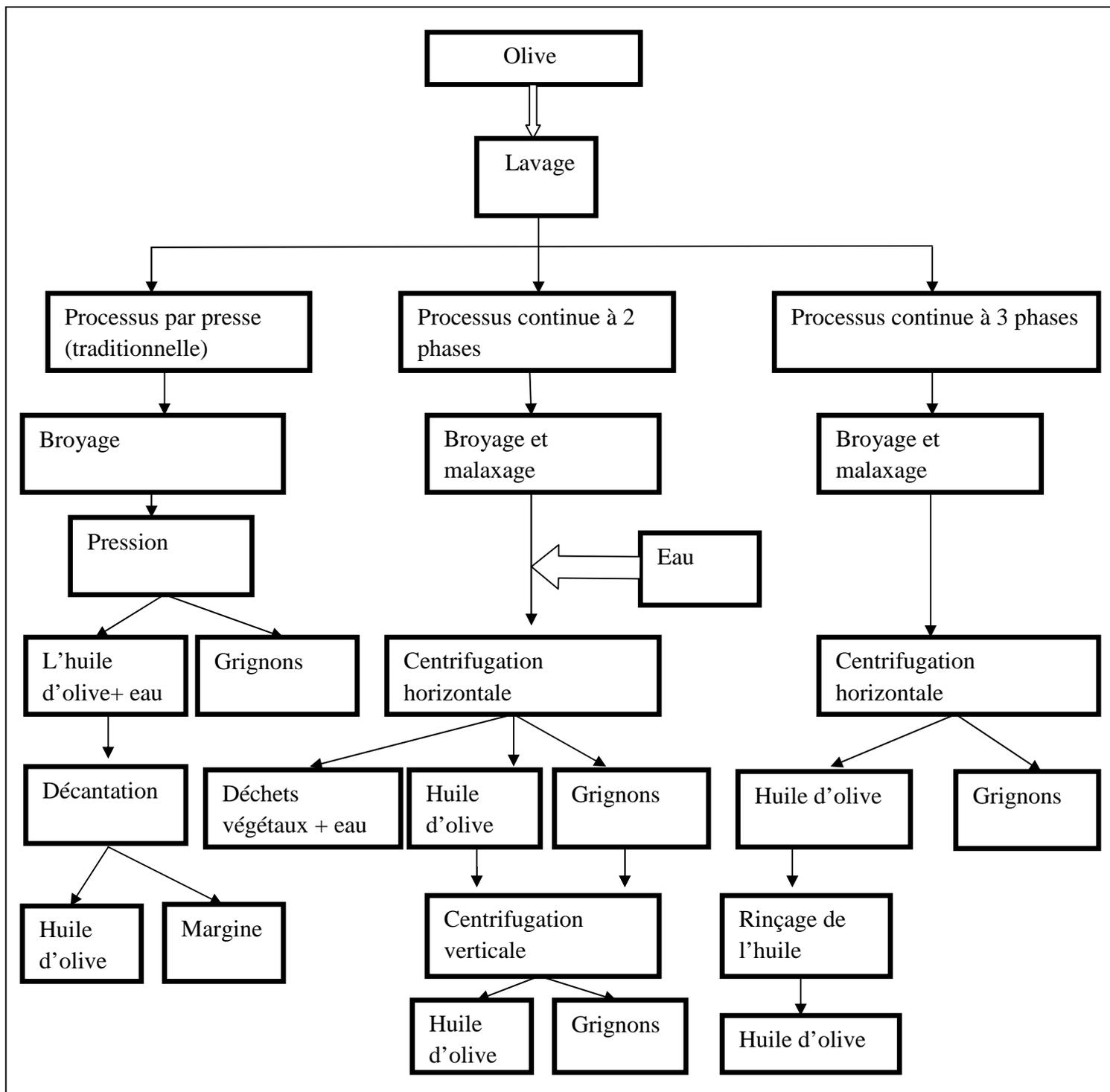
##### **a) Système d'extraction par centrifugation à deux phases**

Ce procédé continu d'extraction des huiles à deux phases est caractérisé par une capacité de traitement qui est élevée (jusqu'à 100 tonnes d'olives/jour). Cependant, ce présent procédé d'extraction d'huile d'olive fonctionne avec un système de centrifugation à deux phases (huile et grignon d'olive humides) qui ne nécessite pas l'adjonction d'eau pour la séparation des phases huileuses et solides contenant des grignons et les margines. Ce décanteur à deux phases permet l'obtention de rendement en huile relativement plus élevé que ceux obtenus par le décanteur conventionnel à trois phases et le système de presse. En outre, il ne procède pas à l'augmentation du volume des margines (**Hammadi, 2006**).

##### **b) Système d'extraction par centrifugation à trois phases**

L'extraction de l'huile d'olive se fait à travers des phases successives contrairement au procédé discontinu. La pâte issue du malaxage est diluée avec l'eau avant d'entrer dans le décanteur centrifuge afin que les différentes phases se séparent selon leur densité (**El hajjouji, 2007**) comme suit :

- Le grignon ( $\rho \sim 1,2 \text{ kg/dm}^3$ ) qui va dans la partie la plus éloignée de l'axe de tour,
- Les margines, ou eau de végétation ( $\rho \sim 1,015 \text{ à } 1,086 \text{ kg/dm}^3$ ) qui se trouve dans l'anneau intermédiaire,
- L'huile ( $\rho \sim 0,916 \text{ kg/dm}^3$ ) qui reste autour de l'axe (**Benyahia et al., 2003**).



**Figure 2:** procédés d'extraction de l'huile d'olive (Zbakh et El Abbassi, 2012).

#### IV. Produits et sous-produits d'oléiculture

##### IV.1. Huile d'olive

##### IV.1.1. Définition

---

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea L*) à l'exception des huiles obtenues par les solvants ou par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec d'autre nature (C.O.I, 2003). Selon conseil oléicole international (2015), l'huile d'olive est une huile constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierge, propre à la consommation. Les huiles d'olives appartiennent aux classes suivantes:

- **Huile d'olive vierge extra** : huile d'olive dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 0,8g pour 100g.
- **Huile d'olive vierge** : huile d'olive dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 2g pour 100g.
- **Huile d'olive vierge courante** : huile d'olive dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 2g pour 100g.
- **Huile d'olive vierge lampante** : huile d'olive dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est supérieure à 3,3 g pour 100g.

#### **IV.1.2. Composition chimique de l'huile d'olive**

La composition chimique de l'huile d'olive varie en fonction de système d'extraction appliqué afin d'obtenir de l'huile à partir des olives. L'huile d'olive est composée principalement de triacylglycérols (98-99%), dont l'acide gras prédominant est l'acide oléique mono insaturé (83%), suivi de l'acide palmitique, l'acide linoléique, l'acide stéarique et l'acide palmitoléique (Rmirez-Tortosa et al., 2006 ; Bouskou, 2009 ) (annexe I tableau II). Il existe aussi d'autres constituants dits mineurs tels que les phytostérols, le squalène, tocophérols, composés phénolique et les dérivés de l'acide terpénique.

Les composés phénoliques abondants dans l'huile d'olive sont : les acides ou les alcools phénoliques, dérivés d'oleuropéine, lignanes et flavonoïdes. Par ailleurs, la teneur en polyphénols dans l'huile d'olive dépend de facteurs agronomiques, la maturité des olives, le procédé d'extraction du stockage ou de conditionnement (Tuck et Hyball, 2002).

### **IV.2. Sous-produits d'oléiculture**

#### **IV.2.1. Les margines**

C'est le résidu liquide aqueux de couleur brune rougeâtre qui s'est séparé de l'huile par sédimentation après le pressage ou centrifugation. Ce liquide a une odeur agréable qui rappelle de celle de l'huile d'olive mais un goût amer. Cet effluent qui est riche en matières organiques constitue un facteur de pollution généré par l'industrie oléicole (Ranalli, 1991).

##### **IV.2.1.a. Caractéristique physico-chimique des margines**

La composition des margines est très variable et dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels : la variété d'olive et leur degré de maturité, du système d'extraction et de la quantité d'eau rajoutée lors de la phase d'extraction de l'huile. Ces effluents caractérisés par un pH acide sont généralement constitués de : 83 à 94% d'eau, 16% de substances organique et de 0,4 à 2,5 %% de substances minérales (Ranalli, 1991 ; Ramos-Cormenzana, 1996 ; Noubih et al., 2007).

##### **IV.2.1.b. Pouvoir polluant des margines**

---

Les margines sont considérées parmi les effluents les plus polluants des industries agroalimentaires, ce pouvoir polluant est lié à plusieurs facteurs, notamment :

- Le pH acide qui est la première cause directe de la mort des poissons, lorsque la margine est déversée dans les lits des fleuves (**Anonyme, 2000**).
- Le contenu organique qui contribue à la consommation de l'oxygène dissous et empêche les eaux de s'auto-épurer, et la pollution peut s'étendre sur très grandes surfaces (**Benyahia et al., 2003**).
- La présence des composés phénoliques inhibe le développement des microorganismes aussi bien en présence et en absence d'oxygène (**Nefzaoui, 1991**). Ces substances, ont un effet phytotoxique et une activité antimicrobienne (**khoufi et al., 2007**) et présentent un faible niveau biodégradabilité.

#### **IV.2.2.Grignon d'olive ou déchets solides**

Les grignons ou résidus solide, considérés comme principal déchet généré lors de l'élaboration de l'huile d'olive, cet effluent renferme une quantité donnée d'huile résiduelle qu'il n'est pas possible d'extraire par des moyens physiques et qui est extraite dans les installations d'extraction d'huile de grignons. Ils sont constitués de la pulpe, du noyau et du tégument de l'olive, leur niveau d'humidité est varié selon le procédé d'extraction employé (**Anonyme, 2000**).

Il existe différents types de grignons :

- ✓ **Grignon brut** : ce sont des résidus solides issus de la première extraction de l'huile d'olive (**Moussaoui, 2007**).
- ✓ **Grignon épuisé** : c'est le grignon brut à partir duquel, l'huile est extraite par solvant. Il est caractérisé par une faible teneur en matière grasse et en eau (**Moussaoui, 2007**).
- ✓ **Grignon tamisé** : il résulte de la séparation partielle entre les débris des noyaux concassés et la pulpe par tamisage. Il est dit gras si son huile n'est pas extraite par solvant, sinon délipidé et dégraissé (**Moussaoui, 2007**).

##### **IV.2.2.a. Caractéristiques chimiques des grignons d'olive**

La composition chimique des grignons d'olive varie considérablement. Elle dépend des facteurs intrinsèques du fruit (variété, stade de maturation), du procédé d'extraction de l'huile et de l'épuisement du solvant (**Ferhat et al., 2014**).

La cellulose, l'hémicellulose et la lignine sont les principaux composants ; cependant les graisses et les protéines sont également présentes en quantité importantes (**Dermeche et al., 2013**) ; les grignons d'olives sont des matériaux lingocellulosiques (**Ducom et al., 2019**).

L'analyse minérale montre que les principaux éléments des grignons d'olive sont le potassium, le calcium et le sodium (**Dermeche et al., 2013 ; Christoforou et Fkaidis, 2016**)

La concentration en métaux lourds dans les grignons d'olive est presque inexistante (concentration inférieure à 1mg/kg pour le plomb, le cadmium, le chrome et le mercure) (**Haroun et al., 2018**).

**Haroun et al. (2018)** ont comparés la composition chimique de grignon d'olive provenant d'une huilerie traditionnelle à un système presse, et d'une huilerie moderne à un système continu. Les résultats d'analyses rassemblés dans le **tableau III**.

**Tableau III** : Composition chimique des grignons d'olives (**Haroun et al., 2018**).

Paramètre	Système traditionnel	Système continue	
		System à 2 phases	System à 3 phases
Ph	5,29	6,6	5,1-5,32
Lignine(g/kg)	194,7	-	426,3
Hemicelluloses (g/kg)	168,4	-	350,8
Cellulose (g/kg)	114,9	-	193,6
Mercure (mg/kg)	-	<0,1	< 0,1
Cadmium (mg/kg)	-	<0,05	<0,05
Arsenic (mg/kg)	-	<0,05	<0,05
Zinc (mg/kg)	-	9,9-10	8-21
Sodium (mg/kg)	92,1	103,8	214,3-800
Calcium (mg/kg)	17148,4	3218,7	1693-4500
Magnesium (mg/kg)	1189,7	511,1	800-1700
Potassium (mg/kg)	11366,6	16020,2	28433,9

## V. Composés phénoliques des grignons d'olives

Pendant le processus d'extraction d'huile d'olive, les composés phénoliques (ou bio phénols) migrent à partir de la pâte d'olives au cours du broyage/malaxage à aux différents sous-produits. En effet, seulement 2% des composés phénoliques des olives sont transférés à l'huile, 45% aux grignons d'olives et 53% aux margines (**Rodis et al., 2002**).

Les grignons d'olives sont considérés comme une source riche en composés phénoliques qui exercent une multitude d'activités biologiques. Parmi les composés phénoliques abondants dans les grignons d'olive : le nüzhenide, l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'oleuropéine, l'acide caféique, l'acide benzoïque, et la rutine (**Fernández-Bolaños et al., 2002 ; Silva et al. 2006**),

Par ailleurs, **Lesage-Meessen et al. (2001)** et **Cioffi et al. (2010)** ont identifié l'acide *p*-coumarique, l'acide vanillique et l'acide protocatéchiqque dans ces sous-produits

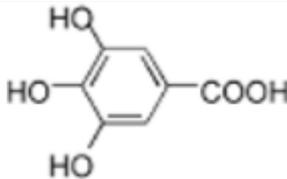
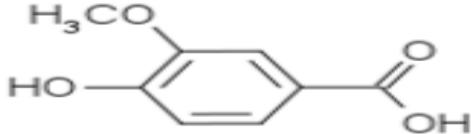
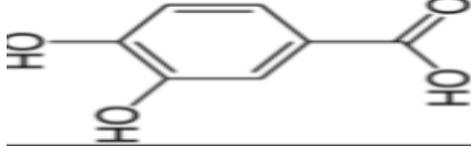
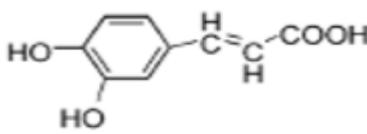
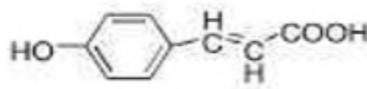
Selon **Aliakbarian et al. (2018)**, les polyphénols de grignons d'olive appartiennent à quatre classes : les phénols simples tels que le tyrosol et ses dérivés, les acides cinnamiques tels que l'acide *p*-coumarique et le verbacoside, les flavonoïdes comme la rutine et l'apigénine, et les secroïridoïdes comme l'oleuropéine et ses dérivés.

## V.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont divisés en trois classes : les acides phénoliques simples, les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.

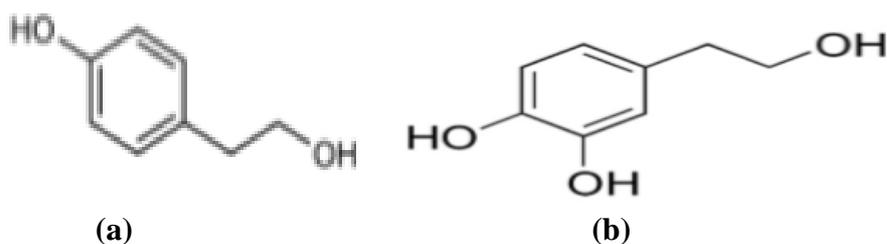
Les acides phénoliques simples sont rares à l'exception de l'hydroquinone présente dans les végétaux (Bruneton, 1993). Les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque comprend une large gamme d'acide phénoliques tels que les acides vanilliques, galliques, protocatéchiques et autres (Haslam et Lilley, 1988). Les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique sont caractérisé par des acides, caféique, férulique, *p*-coumarique et autres (Bruneton, 1993). Selon Cioffi *et al.* (2010) l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide caféique et l'acide protocatéchique sont les acides phénoliques les plus abondants dans le grignon d'olive (tableau IV).

**Tableau IV** : structure de quelques acides phénoliques présent dans le grignon d'olive (Abbattista *et al.*, 2021).

Acide gallique	$C_7H_6O_5$	
Acide vanillique	$C_8H_8O_4$	
Acide Proto-catéchique	$C_7H_6O_4$	
Acide caféique	$C_9H_8O_4$	
Acide <i>p</i> -coumarique	$C_9H_8O_3$	

## V.2. Les alcools phénoliques

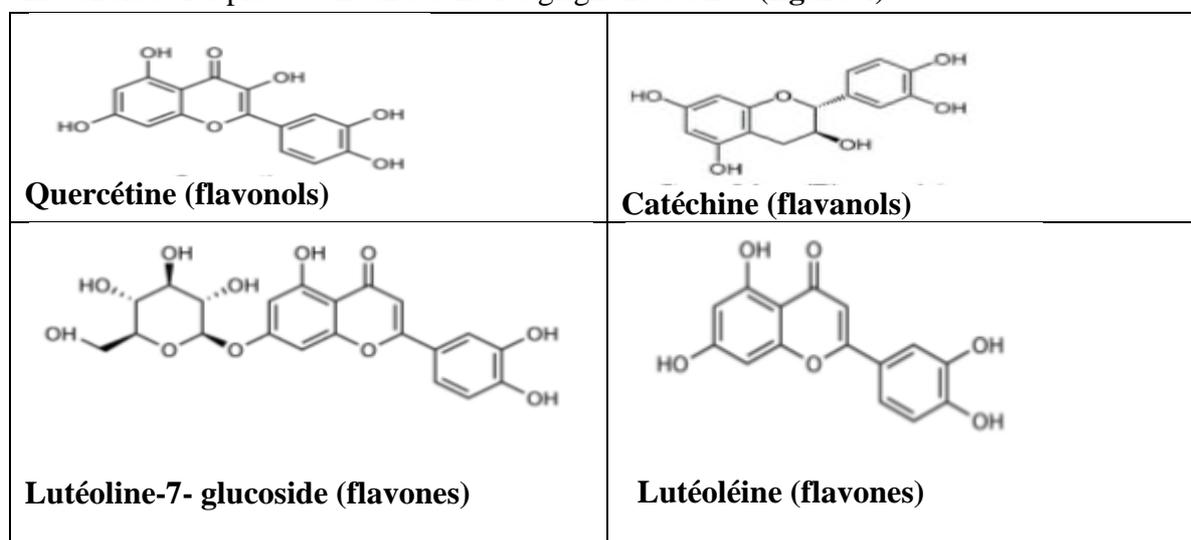
Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et l'hydroxytyrosol (3,4dihydroxyphenylethanol) qui représentent les alcools phénoliques les plus importants de cette classe de phénols sont très abondants dans le grignon d'olive (figure 3) (Ramirez-Tortosa *et al.*, 1999 ; Cioffiet *al.*, 2010).



**Figure 3** : structures du tyrosol (a) et de l'hydroxytyrosol (b) (Long et al., 2010).

### V.3. Les flavonoïdes

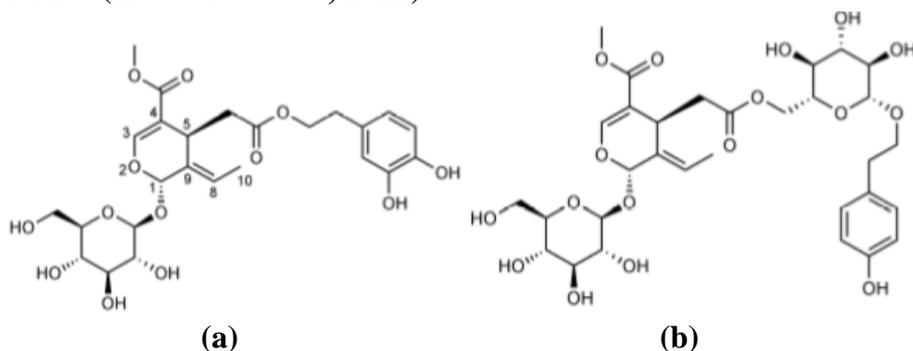
Ce groupe est représenté par plusieurs sous-classes telles que les flavones, flavanols, anthocyanes et flavanones (Edenharder et Grünhage, 2003 ; Yao et al., 2004). D'après Abbattista et al., (2021), la catéchine, la quercétine, lutéoline-7- glucoside sont les flavonoïdes les plus abondants dans les grignons d'olive (figure 4).



**Figure 4** : Structures chimiques des flavonoïdes des grignons d'olives (Abbattista et al., 2021).

### V.4. Les dérivés sécoiridoïdes

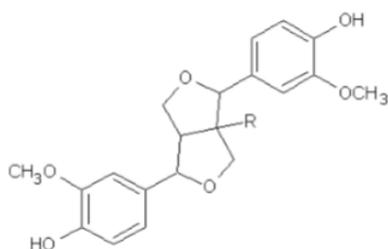
Ce sont des composés glycosylés issus de métabolisme secondaire des terpènes (Soler, 2000). L'oleuropéine et le nüzhenide (figure 5), sont les composés majoritaires dans les grignons d'olive (Abbattista et al., 2021).



**Figure 5 :** Structure de l'oleuropéine (a) et nüzhenide (b)(Abbattista et al., 2021).

### V.5. Lignanes

Les lignanes telles que le pinorésinol, l'acetoxy-pinorésinol sont détectées dans les grignons d'olive (figure6) (Abbattista et al., 2021).



R: H Pinoresinol

R: OCOCH<sub>3</sub>1-Acetoxy-pinorésinol

**Figure 6 :** structures de pinorésinol et l'acetoxy-pinorésinol (Brenes, 2000 ;Yang, 2007)

## VI. Composés phénoliques des grignons d'olives et propriétés biologiques

Le grand intérêt des polyphénols est lié à leur application à fort potentiel pour une utilisation thérapeutique bénéfique. La relation entre l'apport en polyphénols et la santé humaine a été prouvée ; en effet ces composés exercent une multitude d'activités biologiques liées à la prévention des maladies cardiovasculaire, de l'hypertension, du diabète, de l'obésité et du cancer (tableau V), l'utilisation des bases de données existantes sur les composés bioactifs, y compris les polyphénols, est décrite comme des outils clés pour la recherche en santé humaine (Durazzo et al., 2019).

**Tableau V :** composés phénoliques des grignons d'olive et activités biologiques (Gorzynik-Debicka et al., 2018).

Composé phénolique	Activité biologique
<b>Hydroxytyrosol</b>	Activité antioxydante Activité cardioprotective Activité antimicrobienne et antivirale Activité anti-inflammatoire Activité fongicide
<b>Tyrosol</b>	Activité antioxydante Activité anti-inflammatoire Activité cardioprotectrice Activité neuroproctrice
<b>Oleuropéine</b>	Activité antioxydante Activité anti-inflammatoire Activité antimicrobienne et antivirale Activité anti-hypertensive Modulation des enzymes
<b>Oleuropéine aglycone</b>	Antioxydante Anti-inflammatoire Neuroprotectrice

---

## VII. Voies de valorisation des grignons d'olive

La première étape de valorisation des grignons bruts, quand ils ne sont pas destinés à la fermentation, est l'extraction de l'huile résiduelle par solvant. Cette technique permet la récupération d'au moins 6% d'huile alimentaire appelée souvent « huile de grignons » (**Yacoub, 1997**).

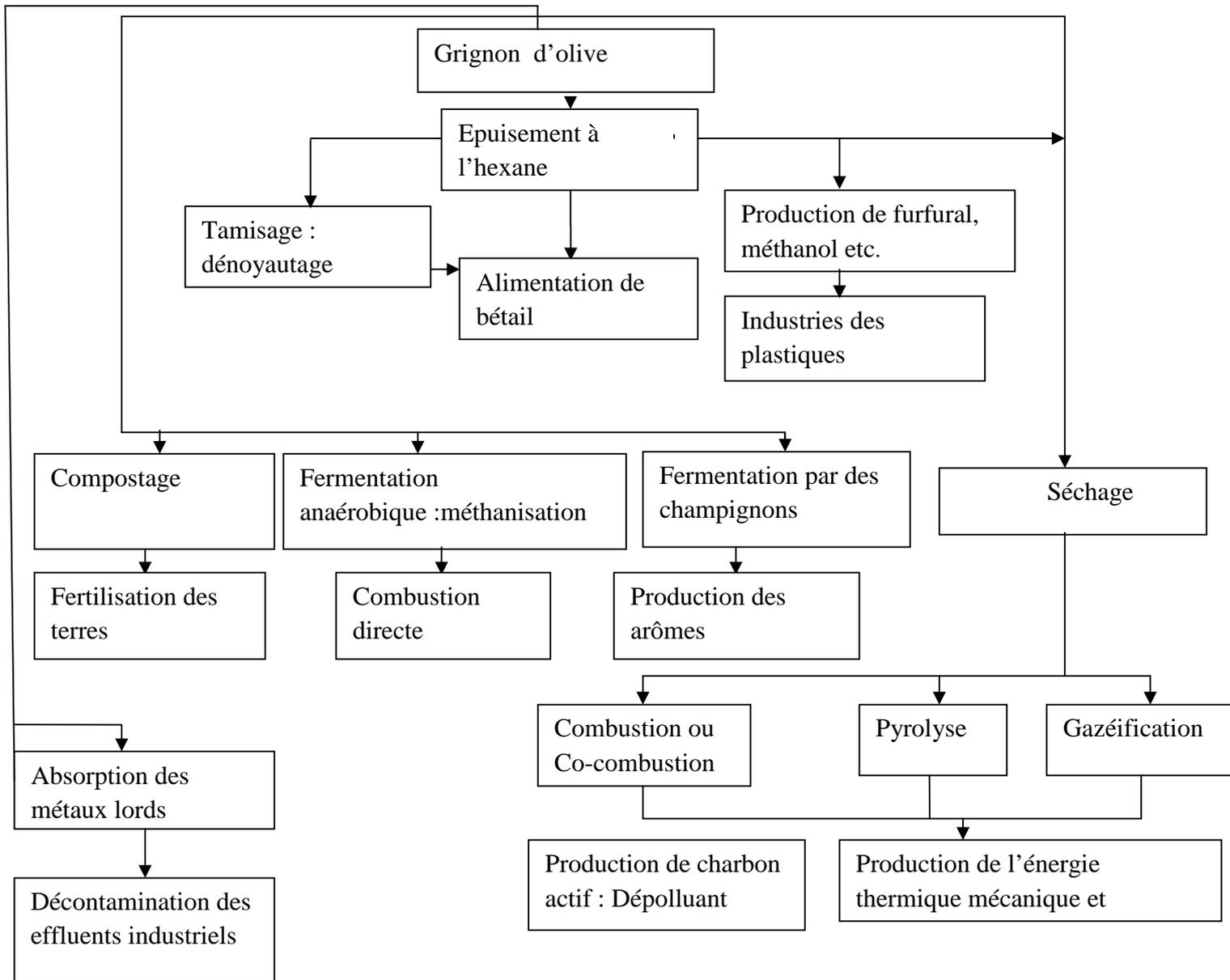
Les grignons contiennent des pentoses qui se transforment en furfural après une hydrolyse suivie d'une déshydratation. Le furfural est un composé hétérocyclique destiné plus particulièrement à la fabrication d'huile lubrifiantes lors de raffinage des distillats d'huile pétrolières (**Sebbanet *al.*, 2021**). La même réaction produit du méthanol et de l'acide acétique (**Yacoub, 1997**).

Dans le domaine agricole, les grignons d'olive peuvent être employés comme fertilisant, le grignon épuisé est la partie solide restante après extraction à l'hexane de l'huile contenue dans le grignon brut. Les études de croissance de tomates ont montré que seul le compost de la pulpe de grignon épuisé donne des résultats similaires à ceux d'un compost ayant une valeur agronomique. Le compost de grignon épuisé (mélange de pulpe et coque) limite la croissance des plantules de tomates (**Sebbanet *al.*, 2021**).

Ces sous-produits de l'industrie oléicole peuvent être utilisés en tant qu'aliment pour bétail. Les grignons épuiés tamisés (sans noyaux), présentent une meilleure facilité de conservation. Ils constituent des réserves alimentaires disponibles pendant les périodes de disette (**Nefzaoui, 1984**).

De plus, l'huile brute grignons d'olive obtenue à partir d'une extraction à l'hexane rentre dans la fabrication de savon et de la glycérine (**Sebban *et al.*, 2021**). La fermentation des grignons d'olives en milieu solide par des champignons thermophiles et filamenteux produit une panoplie de composés d'arômes d'intérêt dans les domaines agroalimentaire, cosmétique et même pharmaceutique (**Kademi *et al.*, 2003**).

De plus, **Pagnanelli *etal.* (2002)** ont montré que les grignons d'olives ont une capacité élevée de rétention de plusieurs métaux à savoir, le cadmium, le plomb, le zinc, etc. Suite à ces études sur la valorisation des grignons d'olives rejetés, il est possible d'envisager un schéma général de traitement ces déchets (**figure 7**).



**Figure 7 :** Différentes filière de valorisation des grignons d'olive (Sebban *et al.*, 2021).

---

## VIII. Extraction des composés phénoliques

La première étape requise à l'analyse et l'exploitation des constituants bioactifs des grignons d'olive est leurs extractions à partir de la matrice cellulaire. Une méthode d'extraction «idéale» devrait être quantitative, non destructive et rapide (**Dahmoune et al., 2013**). En plus des procédés classiques d'extraction par solvant couramment utilisé pour la récupération de composés phénoliques (**Proestos et al., 2006**), des méthodes non conventionnelles, plus rapides et automatisées ont récemment été utilisées, tels que l'extraction par fluide supercritique (SFE), extraction par liquide sous pression (PLE), l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) et extraction assistée par ultrasons (UAE) (**Aybaster et al., 2013**).

### VIII.1. Extraction solide-liquide

Dans les processus d'extraction et de séparation de molécules spécifiques (molécules actives) présentes dans un milieu solide, l'opération fait souvent appel, d'un point de vue technologique, à la diffusion au sein du solide d'un fluide (liquide) porteur, dit solvant d'extraction; l'extraction se présente ainsi comme une interaction solide – liquide. Cependant, le solvant, capable de « mettre en solution » un ou plusieurs composants solides, cristallisés ou liquides, dénommé soluté (**Mafart et Béliard, 1993**), génère une solution ou un extrait (solvant+soluté).

Le transfert de ces molécules actives recherchées, vers le milieu extérieur a lieu grâce à une diffusion ayant pour élément moteur le gradient de concentration en soluté entre la solution au voisinage intime de la phase solide (plus concentrée) et la phase liquide. A la fin de l'opération, le solide épuisé, appelé résidu, inerte ou insoluble, contient très peu ou pas de soluté. En règle générale, c'est la solution qui constitue la phase noble, mais il se peut que ça soit le résidu solide insoluble qui présente la vraie valeur économique (**Bimbenet, Duquenoy et al., 1993**).

Les solvants utilisés dans ces procédés de séparation des produits végétaux sont généralement l'eau, les alcools, les solvants organiques et/ou chlorés, etc. Les opérations d'extraction solide-liquide regroupent plusieurs méthodes différentes consistant toutes à faire interagir le solvant sur le matériau solide afin de dissoudre ses composants solubles :

La percolation, la décoction, l'infusion, la macération, la digestion, et l'élution.

### VIII.2. Mécanisme d'extraction

L'extraction solide/liquide est réalisée par contact entre le solide et le solvant. Au cours de l'extraction, la concentration du soluté dans le solide varie sans interruption, ce qui explique un état non stationnaire de transfert de matière. Une série de processus successifs a lieu traduisant l'interaction entre le solide contenant initialement le soluté, et le solvant effectuant la séparation; ces processus concernent :

- La diffusion du solvant au sein de la matrice solide,
- La dissolution du soluté dans le solvant,
- La diffusion du soluté dissous dans le solvant de la matrice solide vers la surface,

---

Le transfert par convection ou diffusion du soluté contenu dans la solution près du solide vers la masse restante du solvant (Leybros et Frémeaux, 1990; Binbenet, Duquenoy et al., 1993).

### **VIII.3. Facteurs influençant l'extraction**

#### **VIII.3.1. Taille des particules**

Plusieurs études ont montré l'effet de l'étape de broyage sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide) mais également la réduction de la distance de pénétration dans le matériel.

De plus grands rendements d'extraction de composés phénoliques et d'anthocyanes ont été observés avec la diminution de la taille des particules de tournesol (Gao et Mazza, 1996) ; (Pifferi et Vaccari, 1983) ou des résidus de pression de jus de cassis (Landbo et Meyer, 2001).

#### **VIII.3.2. La nature du solvant**

Un solvant est, par définition, une substance qui a le pouvoir de former avec d'autres substances une solution homogène (Gerin, 2002). Un solvant d'extraction est choisi en fonction de :

- Ses propriétés physiques : densité, viscosité, point d'ébullition, chaleur spécifique, etc. déterminant les conditions de l'épuisement, vitesse d'écoulement et de filtration, conditions de distillation et de concentration, pertes par volatilisation, ... (Vigneron, 1954),
- La nature des principes à dissoudre,
- Ses caractéristiques économiques et son prix de revient.

Le solvant doit être sélectif, posséder une grande capacité de dissolution, une température d'ébullition peu élevée, une faible viscosité et être, si possible, non toxique, ininflammable, et non explosif.

#### **VIII.3.3. Pouvoir de solubilisation**

Le pouvoir de solubilisation d'un solvant est rattaché à ses caractéristiques moléculaires, définissant notamment sa polarité et son hydrophile, utilisées en tant qu'indicateurs de l'affinité chimique. Les caractéristiques de polarité et d'hydrophilie sont notamment révélées par :

- La présence de groupes fonctionnels dissociant,
- Le potentiel de liaison hydrogène et la faculté de mise en commun d'électrons,

L'affinité eau/solvant conditionne la diffusion dans les tissus riches en eau interstitielle et dans les cellules où l'eau libre est abondante. En outre, la solubilisation peut atteindre le milieu interstitiel qui participe à l'intégrité des tissus. Cette action prime sur les facteurs intervenant sur le pouvoir extractant, notamment à travers la diffusion en relation avec les propriétés physiques du solvant. Par sa qualité destructurante, elle a pour incidence d'assurer la diffusion du solvant dans les tissus végétaux indicateur de l'affinité vis-à-vis de l'eau, une forte polarité se traduit soit par une action directe du solvant sur les constituants polaires du

---

contenu cellulaire, soit par une solubilisation de certains de ces constituants ou encore par une rupture des interactions (Cu, Perineau *et al.*, 1989).

#### **VIII.3.4. Température**

Dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction, en effet :

- La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation,
- La gamme des hautes températures usuelles, augmente la solubilité des matières à extraire, elle augmente les coefficients de diffusion,

Enfin, elle diminue la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite non seulement le passage du solvant à travers la masse de substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation.

Toutefois, la limite supérieure de la température est imposée par le point d'ébullition du solvant, par les risques de : dégradation thermique du soluté, risques d'extraire des composés nuisibles (Leybros et Frémeaux, 1990; Binbenet, Duquenoy *et al.*, 1993).

#### **VIII.3.5. Temps d'extraction**

Les quantités de substances extraites sont fonction du temps de séjour du matériel au sein du solvant (temps nécessaire à la pénétration du solvant à l'intérieur des vacuoles, dissolution du composé etc.) Généralement, une élévation de la température traduisant l'agitation moléculaire permet de diminuer les temps de contact et ce, sans diminution notable du rendement. A titre indicatif, une méthode comme la macération dure environ 8 à 10 jours, par contre des méthodes comme la décoction ne nécessitent que des temps de contact rapides de l'ordre d'une dizaine de minutes (Groubert, 1984).

#### **VIII.3.6. Degré d'agitation**

L'agitation mécanique des particules dans le solvant, qui permet leur maintien en suspension et l'homogénéisation du milieu, a un effet toujours favorable sur l'opération. Dans le cas de l'extraction aqueuse, l'agitation permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide liquide (couche limite) et d'augmenter le coefficient de transfert. Si l'agitation est maintenue durant une longue période, elle va favoriser les chocs entre les différentes particules et permet ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu (Dibert 1989; Leybros et Frémeaux, 1990).

---

## I. Dosage des composés phénoliques

### I.1. Préparation des extraits

Une masse de 0,2g de grignons d'olive sont homogénéisées avec 10 ml du solvant d'extraction (éthanol pure, éthanol 50% et éthanol 80%) ; après agitation à 15min, les mélanges sont centrifugés à 5000 rpm/20min. une deuxième extraction est effectuée en répétant la même opération. Les surnageant obtenus sont combinés et lavés avec l'hexane, puis conservés au réfrigérateur.

### I.2. Détermination des composés phénoliques

#### I.2.1. Composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux ont été déterminés en appliquant la méthode décrite par **Kahkonen et al. (1999)** avec quelque modification, utilisant le réactif Folin-Ciocalteu et l'acide gallique comme standard. Un volume de 200 µL d'extrait est mélangé avec 1ml du réactif de folin-ciocalteu. Le mélange est agité pendant 3 minutes puis additionné de 800 µL de carbonate de sodium (7,5%).Après 30 minutes d'incubation a l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La concentration en composés phénoliques totaux est estimée en mg équivalent d'acide gallique par kilogramme de grignon en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe II, figure 1).

#### I.2.2. Ortho-diphénols

La teneur en ortho-diphénols est estimée selon la méthode de **Tovar et al. (2002)**. Un volume de 500 µL d'extrait est additionné de 2 ml de molybdate de sodium (5%). Après agitation et incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée à 370nm. La concentration des ortho-diphénols est exprimée en de mg équivalent d'acide caféique par kilogramme de grignon par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe II, figure 2).

#### I.2.3.Flavonoïde

Un volume de 200 µL d'extrait est mélangé avec 800 µL d'eau distillée, 60 µL de nitrite de sodium et 40 µL de chlorure d'aluminium. Après incubation pendant 5 minutes, le mélange est additionné de 40 µL d'hydroxyde de sodium (1M) et de 50 µL 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 kilogramme de grignon en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe II, figure 3).

## II. Activité antioxydante

### II.1. Pouvoir réducteur

Ce test mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) en présence d'un antioxydant qui a le pouvoir de céder des électrons, Ceci se traduit par le virage de la couleur de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant (**Chou et al., 2003**).

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de **Gülçin et al. (2002)**: Un volume de 375 µL d'extrait est mélangé avec 375 µL de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 375 µL de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C/20 min, un volume de 375 µL d'acide trichloracétique (10%) est additionné au mélange. Après 5min d'incubation, 300 µL de chlorure ferrique (0,1%) sont ajoutés et l'absorbance est

---

mesurée à 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique/kg des grignons d'olive par référence à une courbe d'étalonnage.

### II.2. Inhibition de peroxyde d'hydrogène

La capacité des extraits de grignons d'olive à piéger le peroxyde d'hydrogène est mesurée selon la méthode rapportée par **Atmani et al. (2009)**. Un volume de 150 µL d'extrait est ajouté à 1 ml d'une solution de peroxyde d'hydrogène et 1,35 ml de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4). Un blanc a été préparé suivant les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction (éthanol). L'absorbance des échantillons est mesurée à 230 nm après une incubation pendant 20 min. Le pouvoir antioxydant est exprimé en % d'inhibition du peroxyde d'hydrogène selon la formule suivante :

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

Où ;

**At:** Absorbance du témoin ;

**Ae:** Absorbance de l'échantillon.

### II.3. Détermination de l'activité anti radicalaire

La méthode au DPPH• (1,1-di-phenyl-2-picrylhydrazyl radical) est utilisée pour déterminer la capacité des extraits à céder des protons et/ou des électrons afin de neutraliser les radicaux DPPH•. Sous la forme radicalaire, le radical DPPH• absorbe à 515nm (**Williams et al., 1995**).



L'activité anti-radicalaire des échantillons de grignons d'olives est évaluée selon la méthode de **Lesage-Meessen et al. (2001)**. Un volume de 100 µl d'extrait est additionné de 900 µl de la solution DPPH. Le mélange agité est incubé à l'obscurité pendant 30min et l'absorbance est mesurée à 517 nm. La réduction des radicaux DPPH• implique une baisse de l'absorbance. Le pouvoir antioxydant est exprimé en pourcentage de l'activité anti-radicalaire selon la formule suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = [(At - Ae) / At] \times 100$$

Où ;

**At:** Absorbance du témoin ;

**Ae:** Absorbance de l'échantillon.

### II.4. Pouvoir chélateur du fer

Le pouvoir chélateur des différents extraits a été évalué selon la méthode décrite par **Li et al. (2007)**. La ferrozine, composé stable, forme avec les ions Fe<sup>2+</sup> libres un complexe ferrozine-Fe<sup>2+</sup> de couleur violette intense. Une diminution de l'absorbance du complexe Fe<sup>2+</sup>-ferrozine indique la présence d'antioxydants chélateurs. Un volume de 250 µL d'extrait est additionné de 50 µL de FeCl<sub>2</sub> et 800 µL d'eau distillée. Après 5 min d'incubation, un volume de 50 µL de ferrozine (5 mM) est ajouté, puis le mélange

est agité et enfin incubé 10 min. La mesure de l'absorbance du complexe ferrozine-Fe<sup>2+</sup> est mesurée à 562 nm. L'effet séquestrant des extraits de grignons d'olives vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\text{Pouvoir chélateur (\%)} = \frac{\text{Abs témoin} - \text{Abs extrait}}{\text{Abs témoin}} \times 100$$

### III. Activité antimicrobienne

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

#### III.1. Les souches microbiennes

Quatre souches ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'homme afin de d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de grignons d'olive (tableau VI),

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

Souche	Type
SARM	GRAM+
B.SUBTILIS	GRAM+
E.COLI	GRAM-
S.TYPHI	GRAM-

#### III.2. Préparation du milieu de culture

**Muller-Hinton :** Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton, préparé comme suit : Dissoudre (54,5) g 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.

#### III.3. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C 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 tester (10<sup>+7</sup> UFC/ml). Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique.

#### III.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<sup>+7</sup> UFC/ml). L'ensemencement de l'inoculum est réalisé en surface du milieu Muller-Hinton préalablement coulé 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 puit. 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 noté dans le tableau des résultats (Tableau VII).

### IV. Analyse statistique :

---

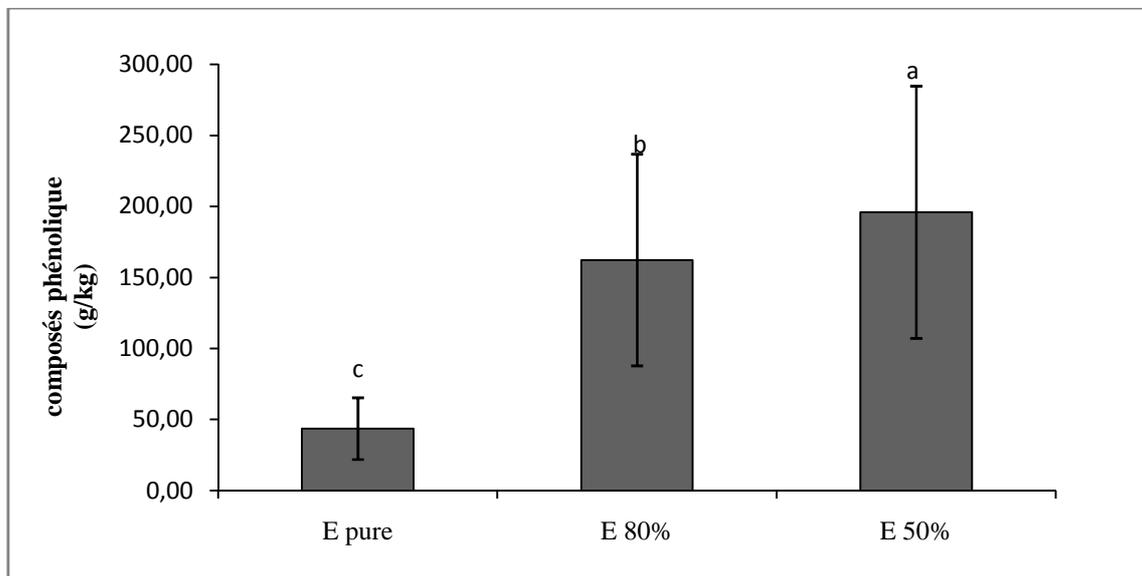
Tous les résultats expérimentaux de cette étude représentent la moyenne de trois essais. Ces résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$ écart-type (ET). Les moyennes des échantillons ont été comparées par analyse de variance ANOVA à l'aide d'un logiciel Statistica 7.1. Le seuil de signification des résultats est pris à la probabilité  $p < 0,05$ .

## I. Effets du solvant d'extraction sur le teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits de grignons d'olive

### I.1. Composés phénoliques

#### I.1.1. Composés phénoliques totaux (CPT)

L'étude statistique montre que la teneur en composés phénoliques totaux des extraits de grignons d'olives est significativement ( $p < 0,05$ ) affectée par le type et la concentration du solvant utilisé. La teneur la plus élevée (195 g/Kg) a été obtenue dans l'extrait éthanolique à 50% (figure 8), alors que les teneurs les plus faibles ont été enregistrées dans les extraits éthanoliques (21 g/Kg).



**Figure 8:** Effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques totaux.

Les différentes lettres (a-c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les solvants testés. E pure : éthanol pure, E50% : éthanol 50%, E80% : éthanol 80%.

L'efficacité des solvants utilisés pour l'extraction des composés phénoliques à partir des grignons d'olives présente l'ordre décroissant suivant: éthanol 50% > éthanol 80% > éthanol 100%. Cette observation confirme celle démontrée par **Gómez-Cruz et al. (2020)**, sur les grignons d'olives qui ont démontré que l'éthanol à 50% permet une meilleure extraction des polyphénols totaux.

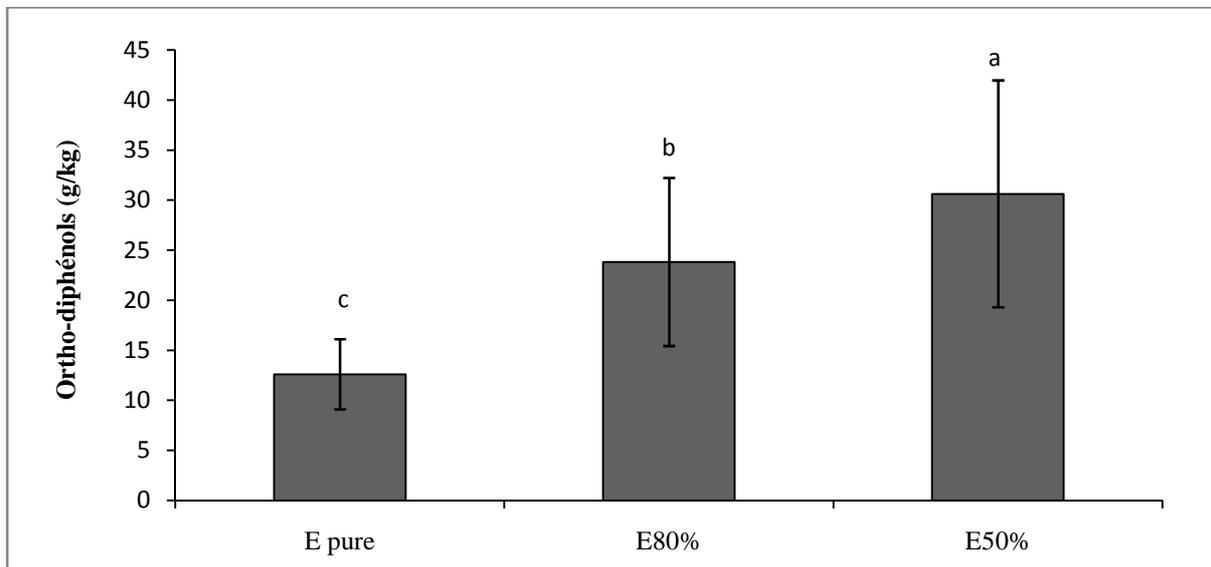
Les résultats obtenus montrent que plus les solvants sont dilués, plus les teneurs en composés phénoliques sont élevées, confirmant ainsi les résultats obtenus par **Vitali Čepo et al. (2017)**.

---

Selon **Mahmoudi et al. (2013)**. L'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui permet un meilleur rendement d'extraction des polyphénols.

### I.1.2. Teneur en ortho-diphénols

De même que les composés phénoliques, l'étude statistique montre que la teneur en composés phénoliques totaux des extraits de grignons d'olives est significativement ( $p < 0,05$ ) affectée par le type et la concentration du solvant utilisé. La teneur la plus élevée (30g/Kg) a été obtenue dans l'extrait éthanolique à 50% (figure 9), alors que les teneurs les plus faibles ont été enregistrées dans les extraits éthanoliques pure (12g/Kg).



**Figure 9:** Effet du solvant d'extraction sur la teneur en *Ortho*-diphénols.

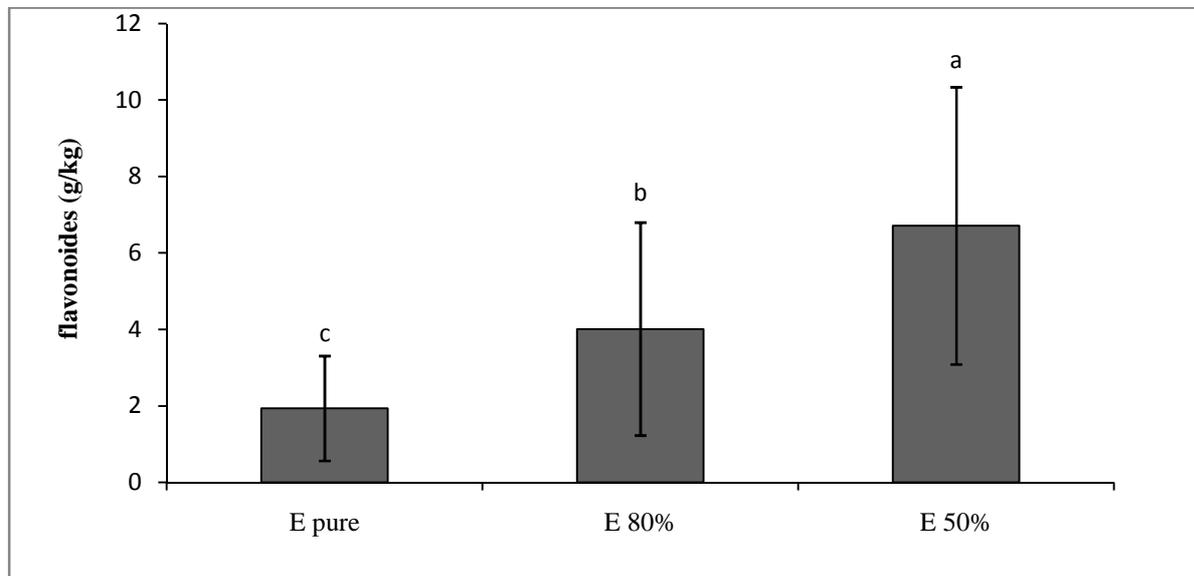
Les différentes lettres (a-c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les solvants testés. E pure : éthanol pure, E50% : éthanol 50%, E80% : éthanol 80%.

Les résultats obtenus confirment ceux de l'étude réalisée par **De Bruno et al. (2018)**, sur les grignons d'olives qui ont démontré que le mélange éthanol/eau augmente l'efficacité d'extraction par rapport à celle de l'éthanol pure.

### I.1.3. Teneur en Flavonoïdes

L'étude statistique montre que la teneur en flavonoïdes des extraits de grignons d'olives est significativement ( $p < 0,05$ ) affectée par le type et la concentration du solvant utilisé. La teneur en flavonoïdes des échantillons analysés suit le même que celui des composés phénoliques et *ortho*-diphénols.

La teneur la plus élevée (6g/Kg) a été obtenue dans l'extrait éthanolique à 50% (figure 10), alors que la teneur la plus faible a été enregistrée avec l'extrait éthanoliques pure (2mg/Kg).



**Figure 10:** Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes.

Les différentes lettres (a-c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les solvants testés. E pure : éthanol pure, E50% : éthanol 50%, E80% : éthanol 80%.

L'efficacité des solvants utilisés pour l'extraction des composés phénoliques à partir des grignons d'olives suit le même ordre décroissant que celui des polyphénols et *ortho*-diphénols suivant: éthanol 50% > éthanol 80% > éthanol pure.

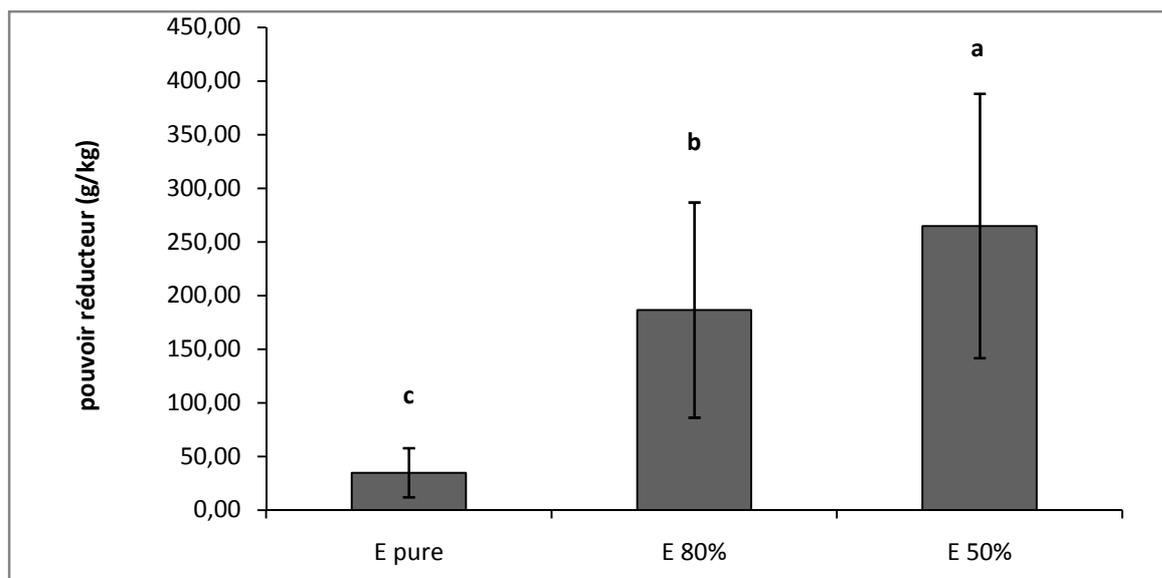
Les résultats obtenus sont similaires à ceux de l'étude réalisée par **Gómez-Cruz et al. (2020)**, sur les grignons d'olives qui ont démontré que l'éthanol à 50% permet une meilleure extraction des flavonoïdes.

Par ailleurs, **Mahmoudi et al. (2013)**, ont démontré que l'éthanol et l'acétone sont considérés comme les meilleurs solvants d'extraction des flavonoïdes. D'après **Jokić et al. (2010)**, l'extraction des composés bioactifs à partir des plantes au moyen de l'éthanol et l'eau est requise car ces solvants sont qualifiés de non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants comme le méthanol.

## I.2. Activité antioxydante

### I.2.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits des grignons d'olives testés présente des différences significatives ( $p < 0,05$ ) (figure 11).



**Figure 11:** Effet du solvant d'extraction sur le pouvoir réducteur des extraits des grignons d'olives.

Les différentes lettres (a-c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les solvants testés. E pures : éthanol pure, E50% : éthanol 50%, E80% : éthanol 80%.

Les extraits éthanoliques à 50% exercent le meilleur pouvoir réducteur (265g/Kg, contrairement aux extraits éthanoliques pure qui présentent le plus faible pouvoir réducteur 34g/Kg. D'autre part, les extraits éthanoliques à 80% exercent également un pouvoir réducteur considérable.

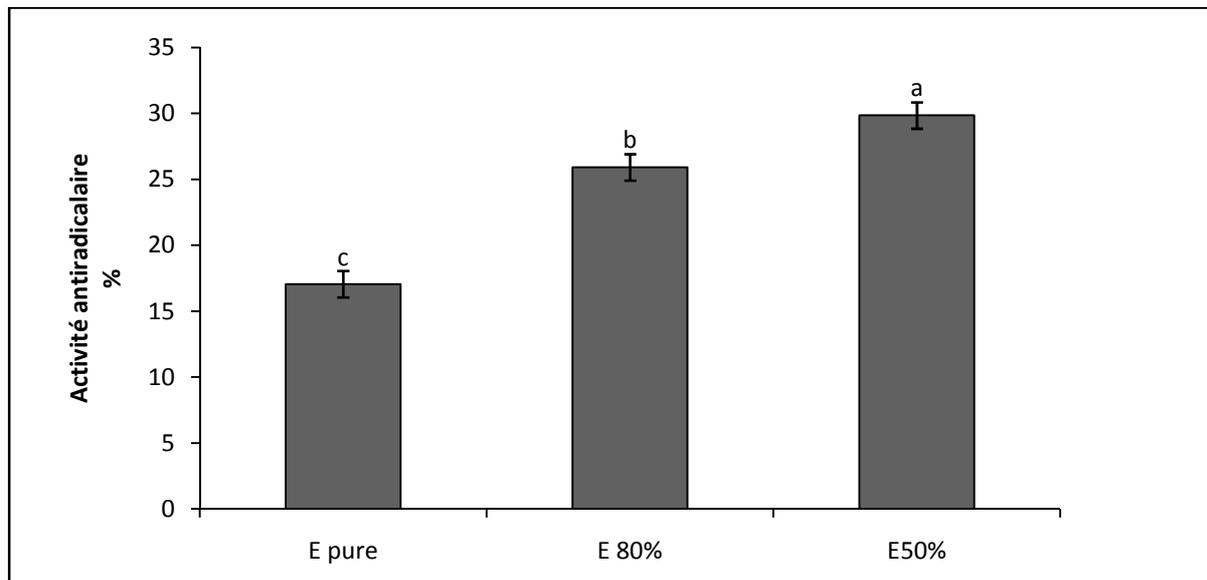
Dans une étude menée sur les grignons d'olives, **Gómez-Cruzet *al.* (2020)** ont démontré que le pouvoir réducteur des extraits éthanoliques à 50% était plus élevé que celui des extraits aqueux.

## I.2.2. Activité anti radicalaire

Les résultats de l'activité anti-radicalaire des extraits analysés sont illustrés dans la figure 12. L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne. Afin d'évaluer cette efficacité, la méthode au diphenyl-picryl hydrazyl est utilisée. Le degré de décoloration indique le potentiel piègeur des antioxydants présents dans les extraits (**Molyneux, 2004**).

Dans la présente étude, il apparaît que les extraits des grignons d'olives testés possèdent des capacités différentes à céder des atomes d'hydrogène pour agir comme antioxydants. L'analyse statistique montre que les solvants utilisés présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ). Ainsi, les extraits éthanoliques à 50% présentent la meilleure activité

antiradicalaire avec un taux de 29 %, contrairement aux extraits éthanoliques pure qui exercent l'activité la plus faible (17%).



**Figure 12:** Effet du solvant d'extraction sur l'activité anti radicalaires des extraits des grignons d'olives.

Les différentes lettres (a-c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les solvants testés .E pure : éthanol pure, E50% : éthanol 50%, E80% : éthanol 80%.

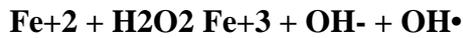
L'efficacité des solvants utilisés pour la détermination de l'activité antiradicalaire des extraits des grignons d'olives présente l'ordre décroissant suivant: éthanol 50% > éthanol 80% > éthanol pure. Les résultats obtenus sont similaires à ceux enregistrés par **Gómez-Cruzet al. (2020)** qui ont constaté que l'éthanol 50% est le solvant qui assure la meilleure efficacité d'extraction avec le meilleur rendement d'extraction.

Cette observation est similaire à celle de l'étude réalisée par **De Brunoet al. (2018)**, sur les grignons d'olives qui ont démontré que le mélange éthanol/eau augmente l'efficacité d'extraction comparée à celle de l'éthanol pure. Les différences constatées entre les solvants utilisés pourraient être expliquées par les polarités variables des antioxydants présents dans chaque extrait. En effet, la polarité du solvant peut affecter le transfert d'atomes d'hydrogène (**Jayaprakasha et Patil, 2007**).

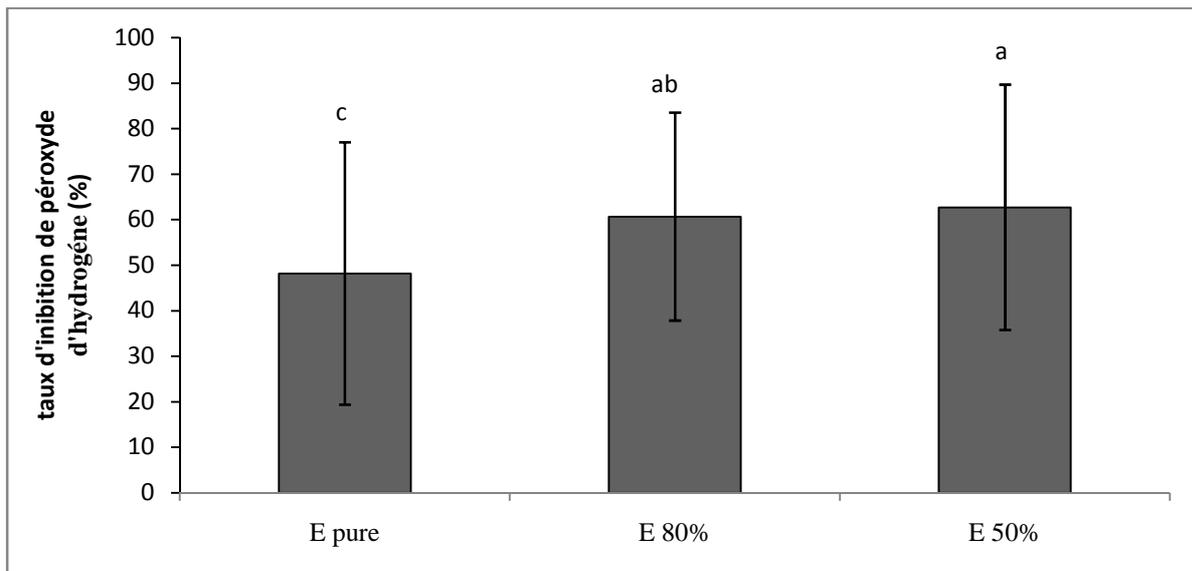
### I.2.3. Piégeage de peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est un produit non radicalaire, mais très réactif et susceptible de produire des radicaux hydroxyles très réactifs ( $\text{OH}\cdot$ ) en présence du fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ) par la

réaction Fenton. Par conséquent, l'activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène est une méthode importante pour la détermination des caractéristiques antioxydantes.



Les résultats du taux d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des extraits étudiés sont illustrés dans la figure 13. L'étude statistique a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les extraits analysés.



**Figure 13:** Effet du solvant d'extraction sur l'inhibition de peroxyde d'hydrogène des extraits analysés.

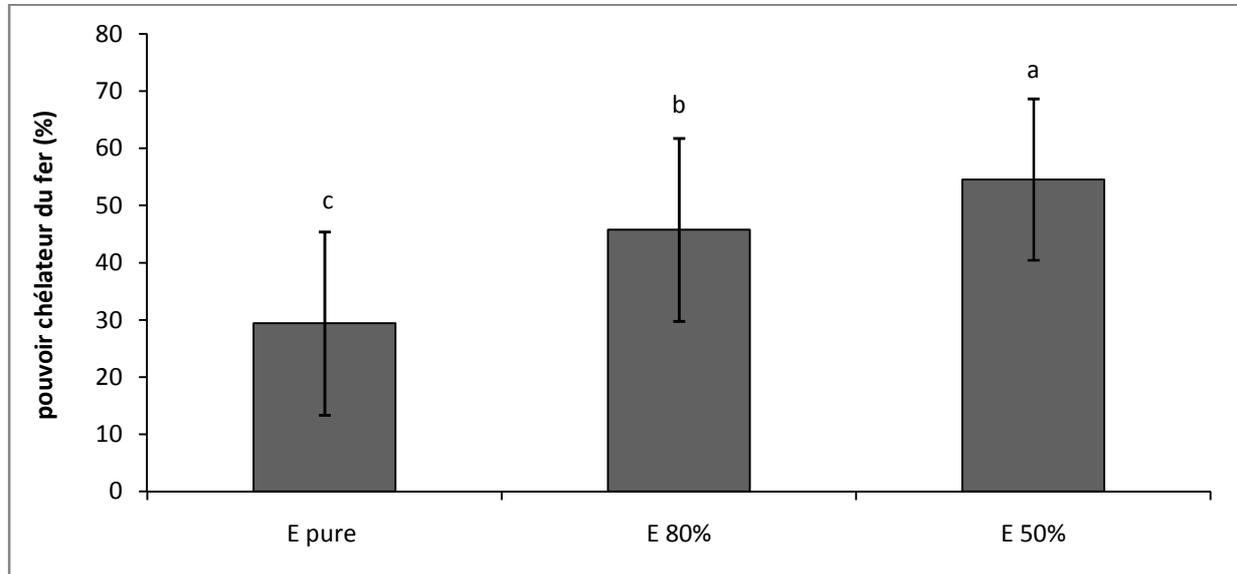
Les différentes lettres (a-c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les solvants testés. E pure : éthanol pure, E50% : éthanol 50%, E80% : éthanol 80%.

D'après les résultats obtenus, les extraits éthanoliques à 50% présentent le pourcentage d'inhibition le plus élevé (62 %), contrairement aux extraits éthanoliques pure qui exercent l'activité la plus faible (48%). De même, Les extraits éthanoliques à 80% exercent également un pourcentage d'inhibition considérable.

#### I.2.4. Activité chélatrice

La ferrozine peut former un complexe avec les ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est inhibée.

Dans la présente étude, il apparaît que les extraits des grignons d'olives testés possèdent des activités chélatrices différentes (figure 14). L'étude statistique a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les extraits analysés.



**Figure 14:** Activité chélatrice des extraits de grignon d'olive analysés.

*Les différentes lettres (a-c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les solvants testés. E pure : éthanol pure, E50% : éthanol 50%, E80% : éthanol 80%.*

Parmi les solvants testés, l'éthanol 50% est le plus efficace ; les extraits éthanoliques à 50% présentent la meilleure activité chélatrice avec un taux de 55%, contrairement aux extraits éthanoliques qui exercent l'activité la plus faible (29%).

## **II. Etude comparative des teneurs en antioxydants et activité antioxydante des extraits de grignons d'olive.**

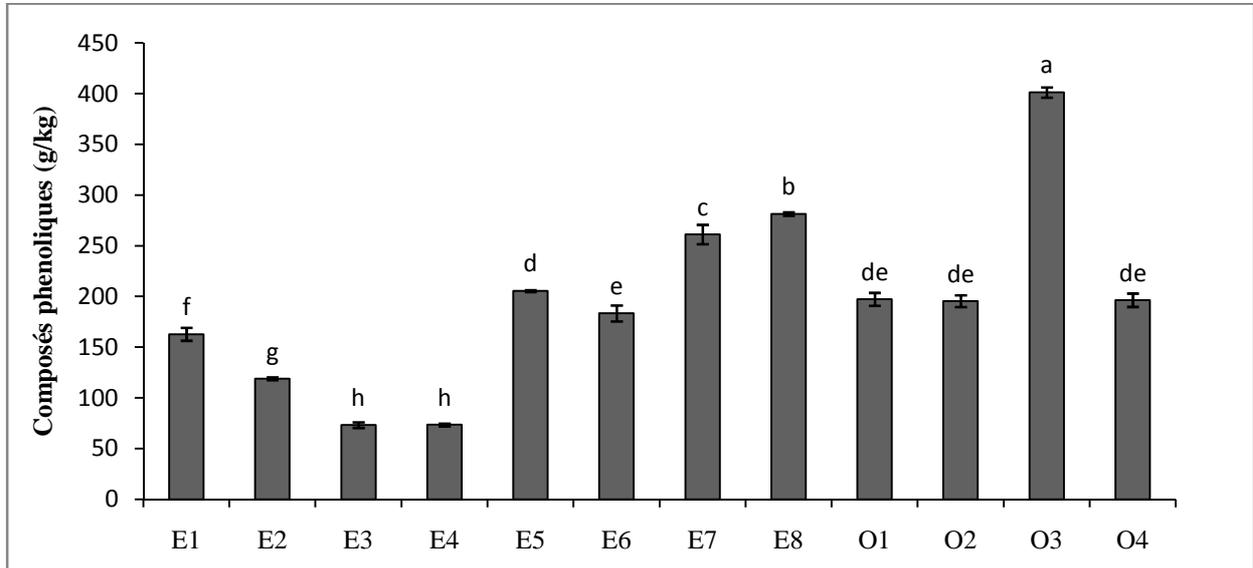
Les extraits du solvant éthanol 50% ont été choisis pour comparer les teneurs en divers antioxydants ainsi que l'activité antioxydante des échantillons étudiés.

### **II.1. Dosage des antioxydants**

#### **II.1.1. Teneur en composés phénoliques**

Les concentrations en composés phénoliques sont illustrées dans la figure 15. L'analyse statistique a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ) de la teneur en composés phénoliques des grignons d'olives analysés. L'échantillon O3 renferme la teneur la

plus élevée en polyphénols totaux (401 g/kg), alors que les concentrations les plus faibles sont enregistrées dans les échantillons E4 et E3 par une moyenne de 73g/kg.



**Figure 15 :** Teneur en composés phénoliques totaux des grignons d’olives étudiés.

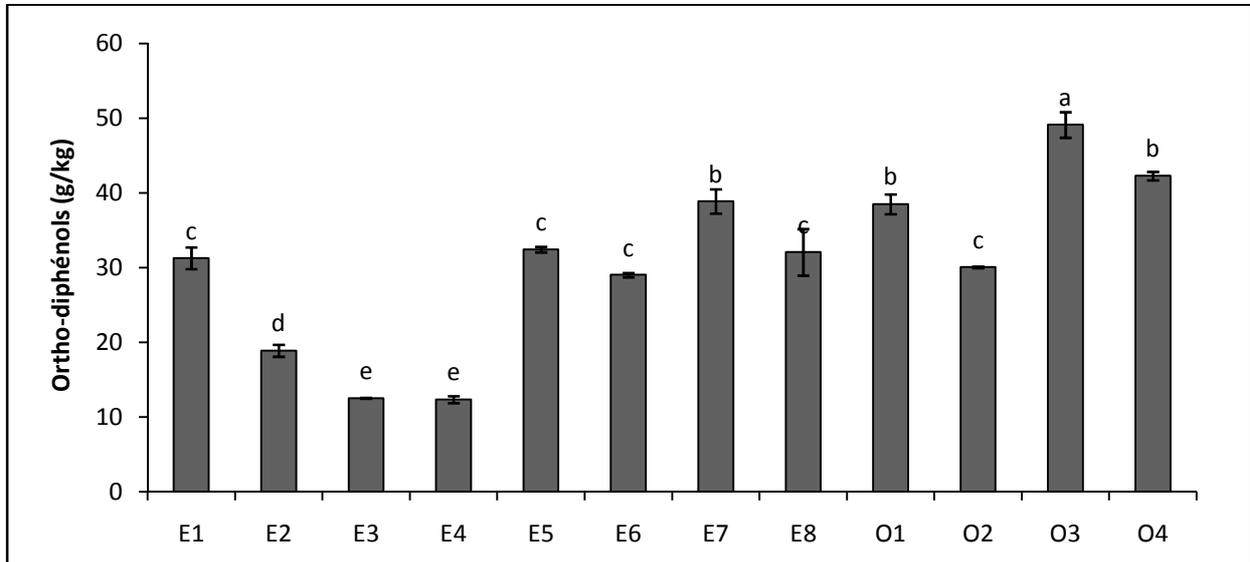
Les lettres minuscules (a>h) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0.05$ ) entre les extraits de grignons analysés. Les barres verticales représentent les écarts types.

Les teneurs en polyphénols enregistrées dans les échantillons des grignons d’olives analysés sont supérieures à celle enregistrée par **Mouzaoui et al. (2015)**, qui ont mené une étude sur les grignons d’olive issus d’une huilerie traditionnelle et d’une huilerie moderne dans la région kabyle. La variabilité de la teneur en composés phénoliques totaux enregistrés entre les différents échantillons est largement dépendante de plusieurs facteurs : cultivar, degré de maturation (**Boudhrioua et al., 2009**), des conditions climatiques, géographiques (**Mylonaki et al., 2008**), de l’état physiologique et l’âge de la plante (**De Leonardis et al., 2008**)

### II.1.2. Teneur en *Ortho*-diphénols

Les *ortho*-diphénols présentent une classe importante des polyphénols. Comme l’hydroxytyrosol, l’acide caféique et l’oleuropéine, qui sont considérés comme des antioxydants les plus puissants, qui protègent l’huile contre l’oxydation et lui confèrent une meilleure stabilité lors de stockage (**Haddam et al., 2014**)

L'analyse des teneurs en *ortho*-diphénols, exprimées en mg EC/kg des différents grignons d'olives étudiées. (figure16), présente des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les différents échantillons étudiés.



**Figure 16:** Teneur en *ortho*-diphénols des grignons d'olives étudiées.

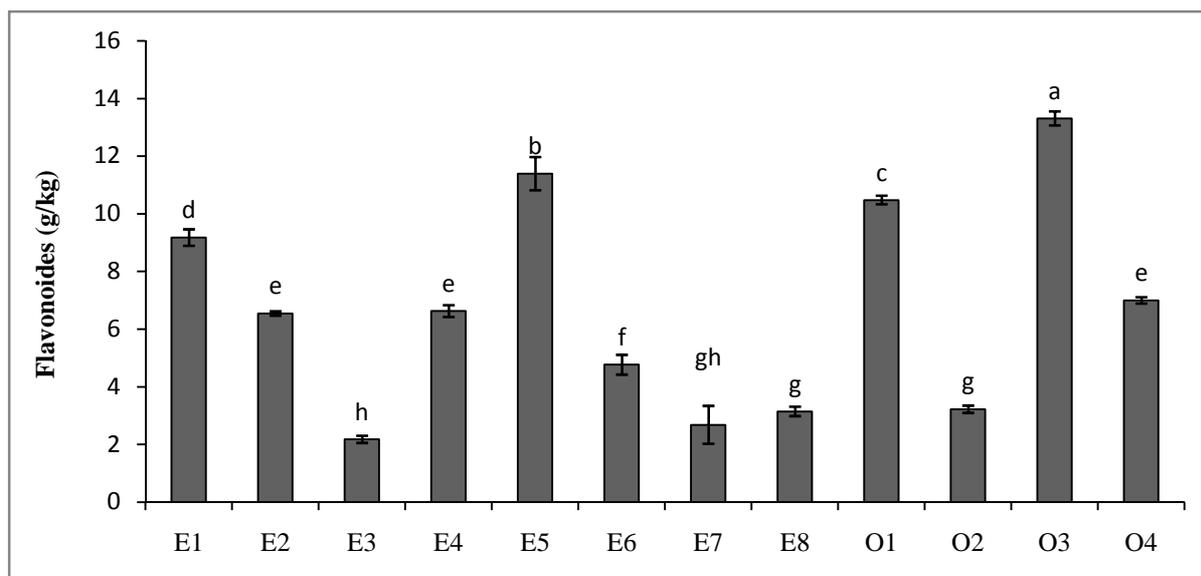
Les lettres minuscules (a>e) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0.05$ ) entre les extraits des grignons analysés. Les barres verticales représentent les écarts types.

De même que pour les teneurs en polyphénols totaux, l'analyse statistique a révélé que l'échantillon O3 présente la concentration la plus élevée en *ortho*-diphénols (49g/kg), contrairement aux échantillons E3 et E4 qui renferment les teneurs les plus faibles par une moyenne de (12g/kg). En effet, plusieurs facteurs peuvent affecter la concentration des *ortho*-diphénols: la variété, le stade de maturation des olives et les conditions de stockage et d'extraction (Haddam et al., 2014).

### II.1.3. Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe appartenant à la famille des composés phénoliques, la teneur de ces composés corrèle souvent avec celle de l'activité antioxydante, et par conséquence, la stabilisation et neutralisation des radicaux libres (Rama Prabha et Vasantha, 2011; Becerra-Herrera et al., 2018). Ces substances présentent également une activité chélatrice des métaux tels que le cuivre et le fer, qui sont considérés comme catalyseurs d'oxydation lipidique (Puppo, 1992).

L'analyse des teneurs en flavonoïdes, exprimé en g/kg des différents extraits analysés présente des différences significatives ( $p < 0,05$ ) (figure 17).



**Figure 17 :** Teneur en flavonoïdes des grignons d'olives étudiées.

Les lettres minuscules (a>h) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0.05$ ) entre les extraits des grignons analysés. Les barres verticales représentent les écarts types.

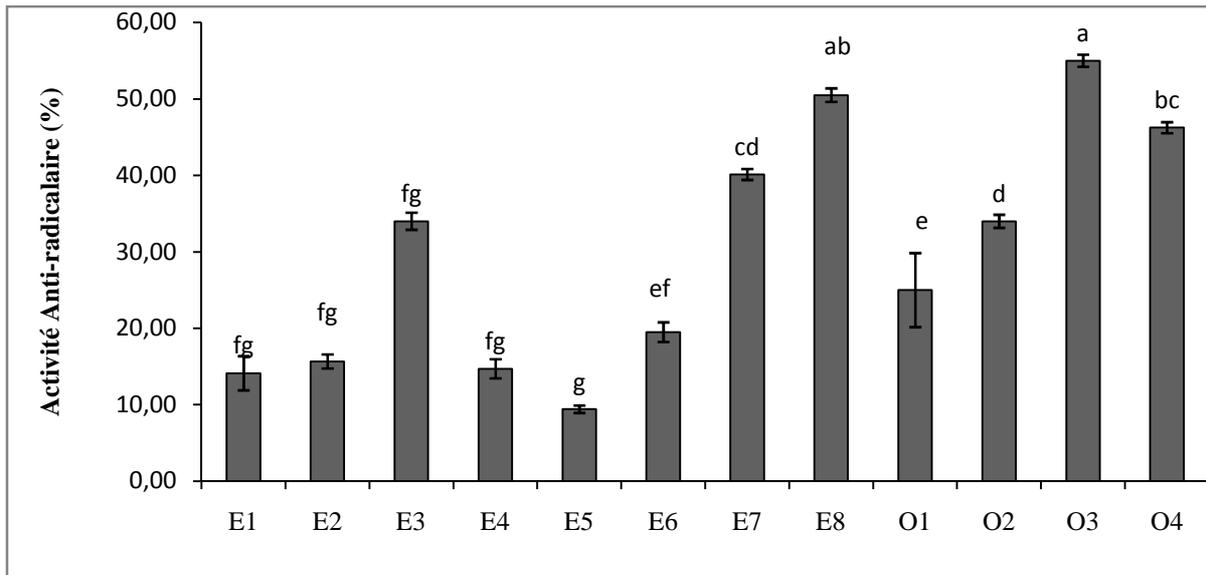
D'après les résultats obtenus, l'échantillon O3 présente la concentration la plus élevée en flavonoïdes (13g/kg), alors que les échantillons E3 et E7 montrent les teneurs les plus faibles avec une moyenne (2g/kg). Les teneurs en flavonoïdes enregistrées pour les échantillons sont inférieures de celle des grignons d'olives étudiés par **Gomez-Cruz et al. (2020)**.

## II.2. Activité antioxydante

### II.2.1. Activité scavenger du radical DPPH<sup>•</sup> (activité antiradicalaire)

La méthode utilisant le radical DPPH<sup>•</sup> est une méthode rapide simple pour l'évaluation de l'activité antioxydante (**Brozin et al., 2008**). Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> des extraits d'échantillons étudiés, sont illustrés dans la figure 18.

L'analyse statistique a montré des différences significatives ( $p < 0,05$ ) de l'activité anti-radicalaire entre les extraits des grignons d'olives étudiés. D'après les résultats obtenus, les échantillons O3 et E8 exercent une meilleure activité anti-radicalaire (52.5%), alors que les échantillons E5, E1, E2 et E4 présentent les taux les plus faibles avec un taux moyen de 13% ; ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Gomez-Cruz et al. (2020)** qui ont mené une étude sur les grignons d'olives provenant d'une variété espagnole.



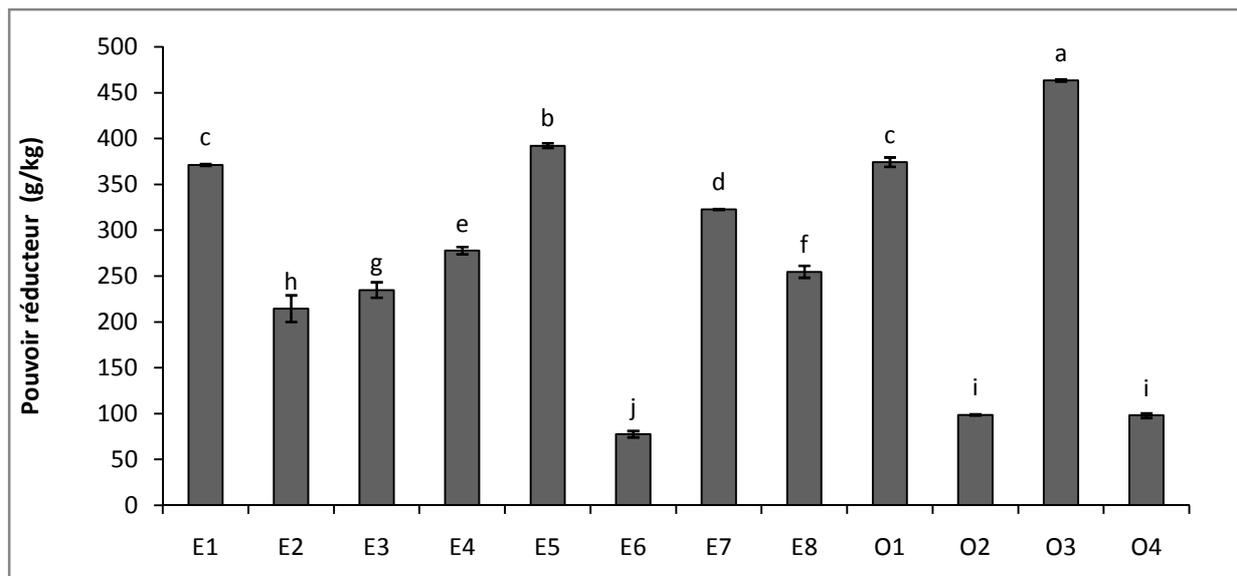
**Figure 18 :** Activité anti-radicalaire des grignons d'olives étudiées.

Les lettres minuscules (a>g) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0.05$ ) entre les extraits des grignons analysés. Les barres verticales représentent les écarts types.

L'activité anti-radicalaire enregistrée des échantillons analysés est inférieure à celle enregistrée par **De Bruno et al. (2018)** qui ont mené une étude sur les grignons d'olives provenant d'une variété italienne. Ces résultats confirment ceux de l'étude réalisée par **Sultana et al. (2007)**, qui ont démontré que l'activité anti-radicalaire élevée est liée à la concentration élevée en composés phénoliques et/ou leur degré d'hydroxylation.

## II.2.2. Pouvoir réducteur

Le potentiel antioxydant des extraits est estimé en utilisant la méthode de réduction au ferricyanure de potassium. La présence d'agents réducteurs dans les extraits induit la réduction des ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ) en ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ). L'analyse statistique a montré qu'il y a des différences significatives ( $p < 0,05$ ) de l'activité réductrice entre les échantillons analysés (figure 19). La figure montre que tous les échantillons étudiés présentent des capacités réductrices différentes dont, la capacité la plus importante est enregistrée dans l'extrait de l'échantillon O3 (463g/Kg), contrairement à l'échantillon E6 qui exerce la capacité la plus faible (77g /Kg).



**Figure 19** : pouvoir réducteur des grignons d'olives étudiées.

Les lettres minuscules (a>j) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0.05$ ) entre les extraits des grignons analysés. Les barres verticales représentent les écarts types.

D'après les résultats obtenus, les activités réductrices enregistrées sont supérieures à celles trouvées par **Gomez-Cruz et al. (2020)**.

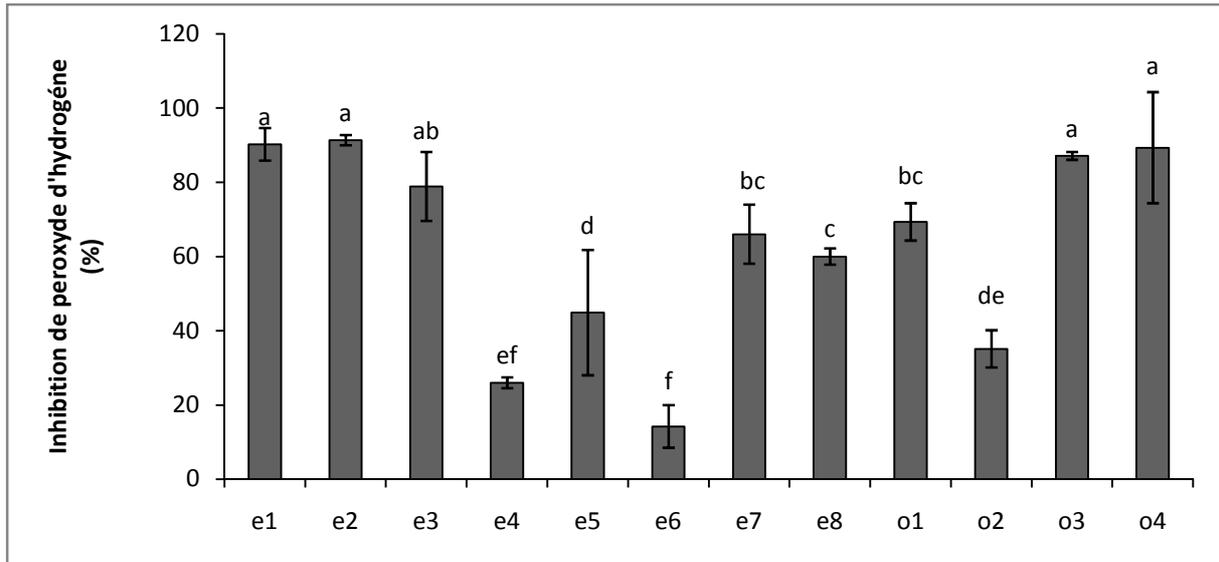
Selon **Ghedabha et al. (2015)**. Les polyphénols jouent un rôle très important dans la chélation des métaux de transition impliqués dans la réaction de Fenton (formation de radicaux hydroxyles résultant de la réaction du fer avec peroxyde d'hydrogène).

### II.2.3. Piégeage de peroxyde d'hydrogène

Les résultats du taux d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des extraits étudiés sont illustrés dans la figure 20. L'étude statistique a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ) de cette activité entre les extraits analysés.

D'après les résultats obtenus, chaque échantillon testé présente un taux d'inhibition spécifique dont la valeur la plus importante est enregistrée dans les extraits des échantillons O3, O4, E1, E2 et E3 avec un taux d'inhibition moyen de 89%, alors que les échantillons E6 et E4 présentent les pourcentages les plus faibles (20%).

L'étude menée par **Wang et al. (2007)**, affirme que l'effet inhibiteur de l'espèce  $H_2O_2$  est attribué aux composés phénoliques qui sont responsables du transfert d'électrons pour neutraliser l' $H_2O_2$ .

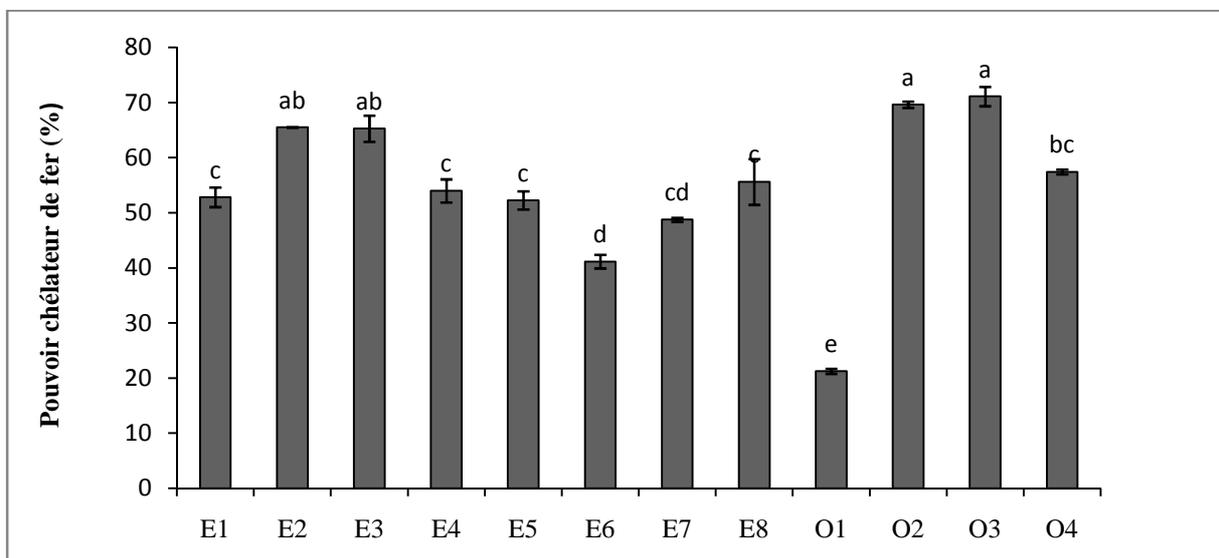


**Figure 20 :** Inhibition de peroxyde d'hydrogène des grignons d'olives étudiées.

Les lettres minuscules (a>f) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0.05$ ) entre les extraits des grignons analysés. Les barres verticales représentent les écarts types.

#### II.2.4. Activité chélatrice

L'analyse statistique des résultats a révélé des différences significatives de l'activité chélatrice des échantillons étudiés ( $p < 0,05$ )(figure 21).



**Figure 21 :** Pouvoir chélateur du fer des grignons d'olives étudiées.

Les lettres minuscules (a>e) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0.05$ ) entre les extraits des grignons analysés. Les barres verticales représentent les écarts types.

D'après les résultats, tous les échantillons présentent une activité chélatrice, dont la valeur la plus importante est enregistrée dans les échantillons O3, O2, E2 et E3 avec un taux d'activité moyen de 67%, en revanche l'échantillon O1 exerce l'activité chélatrice la plus faible avec un taux de 21%.

### III. Activité antimicrobienne

Les résultats de l'activité antimicrobienne des échantillons de grignons d'olives étudiés sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau VII :** activité antimicrobienne des grignons d'olives vis-à-vis des bactéries à Gram positif et négatif.

Germes cibles Echantillons	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
	<i>Escherichia coli</i>	SARM	<i>Salmonella Typhi</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Témoin	12	0	<b>27</b>	14
E1	--	--	<b>9</b>	7
E2	--	--	--	--
E3	8	<b>16</b>	7,5	6.5
E4	--	--	--	--
E5	6,5	7	7	8
E6	7,5	<b>15</b>	8,5	8
E7	--	--	6,5	<b>20</b>
E8	--	--	<b>14</b>	7,5
O1	--	--	<b>9</b>	7
O2	--	--	--	--
O3	8	<b>12</b>	6	7,5
O4	--	--	--	--

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

---

D'après les résultats obtenus, il est clairement remarqué que le potentiel antibactérien varie en fonction des germes cibles testés ainsi que des échantillons analysés.

En effet, les échantillons les plus actifs à l'encontre de l'ensemble des bactéries étudiées sont E3, E6, E7 et O3. L'échantillon E3 a présenté un effet antagoniste important à l'encontre *du Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) avec diamètre d'inhibition de 16 mm, suivi des échantillons E6 et O3 avec des valeurs de 15 mm et 12 mm, respectivement.

D'autre part, l'extrait E7 a présenté un antagoniste important vis-à-vis de la bactérie Gram positif *Bacillus subtilis* enregistrant un diamètre d'inhibition estimé à 20 mm de diamètre. Par ailleurs, la bactérie Gram négatif *Salmonella Typhi* a présenté une sensibilité remarquable pour l'échantillon E8 donnant un diamètre d'inhibition de 14 mm.

Toutefois, des effets antagonistes relativement moyens à faibles ont été obtenus pour les échantillons E1, E5 et O1 à l'encontre de toutes les bactéries testées, alors qu'aucun effet antibactérien n'a été enregistré pour les échantillons restants.

Des résultats similaires ont été rapportés par **Moudache et al. (2020)** sur les grignons d'olives et les margines qui ont montré que les grignons d'olives présentent une activité antimicrobienne à l'encontre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

## ***Conclusion***

La présente étude a été consacrée à l'évaluation de l'effet de la concentration du solvant (éthanol) sur l'efficacité d'extraction des composés phénoliques (composés phénolique totaux, flavonoïdes et ortho-diphénols), ainsi que l'activité antioxydante par différents tests (le pouvoir réducteur, l'inhibition de peroxyde d'hydrogène, l'activité antiradicalaire et l'activité chélatrice) de douze échantillons de grignons d'olive. Ce présent travail est complété par l'étude comparative des teneurs en substances bioactives analysées, l'activité antioxydante ainsi que la détermination de l'activité antimicrobienne des extraits de grignons d'olives.

Les teneurs des grignons d'olives en différents antioxydants analysés ainsi que l'activité antioxydante varient significativement en fonction de la concentration du solvant d'extraction.

Les résultats indiquent que les extraits éthanoliques à 50% exercent qui renferme les teneurs les plus élevées en divers composés bioactifs exercent l'activité antioxydante maximale. Par ailleurs les concentrations les plus faibles ont été enregistrées dans les extraits éthanoliques purs, d'autre part l'éthanol à 80% présente également une efficacité d'extraction considérable.

En ce qui concerne l'étude comparative, les résultats obtenus varient significativement entre les grignons analysés provenant des différents échantillons.

Parmi les grignons d'olive analysés, les échantillons O3 renferment la teneur la plus élevée en composés phénoliques, en flavonoïdes et en *ortho*-diphénols. De même que pour l'activité antioxydante, ces extraits exercent la meilleure activité. Ce qui confirme le rôle important de telles substances dans l'activité antioxydante.

Par ailleurs, les extraits de grignons d'olives présentent une activité antimicrobienne intéressante et très efficace vis-à-vis de toutes les bactéries testées.

Les grignons d'olive représentent une source considérable de substances bioactives et exercent de multitudes propriétés biologiques pour cela, leur valorisation et utilisation dans plusieurs domaines est plus que nécessaire d'autant plus que ces effluents constituent une menace environnementale.

Il serait souhaitable de compléter ce travail en exploitant cette ressource naturelle et en envisageant leurs utilisations et cela par l'application de la biotechnologie dans le but de produire des métabolites intéressants au domaine alimentaire, pharmaceutique et cosmétique, et/ou comme conservateur naturel.



## A

**Ahmidou Ouaouich (ONUUDI), Hammadi Chimi (IAV Hassan II), (2007).** Guide du producteur de l'huile d'olive Préparé dans le cadre du projet de développement du petit entrepreneuriat agro-industriel dans les zones périurbaines et rurales des régions prioritaires avec un accent sur les femmes au Maroc.

**Albahari, P., Jug, M.; Radi, K.; Jurmanovi, S.; Brn, M.; Rimac, S.; Vitali, D, (2018).** Characterization of olive pomace extract obtained by cyclodextrin-enhanced pulsed ultrasound assisted extraction. *LWT—Food Sci. Technol.* 92, 22–31.

**Alessandra De Bruno, Rosa Romeo, Francesca L. Fedele, Andrea Sicari, Amalia Piscopo & Marco Poiana, (2018).** Antioxidant activity shown by olive pomace extracts, *Journal of Environmental Science and Health.*

**Aliakbarian B, Sampaio FC, De Faria JT, Gpitangui C, Lovaglio F, CasazzaAA, Converti A, Perego P, (2018).** Optimization of Spray Drying Microencapsulation of Olive Pomace Polyphenols Using Response Surface Methodology and Artificial Neural Network. *LWT - Food Science and Technology.* 93: 220–228.

**Amoretti MC, Comet G, (1985).** Le livre de l'olivier. EDISUD.

**Anonyme : Centre d'Activité Régionale pour la Production Propre (2000).** Prévention de la pollution dans la production d'huile d'olive. Barcelona Espagne.

**Argenson C., Reigis S., Jourdin J.M., et Vaysse P, (1999).** L'olivier. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, 204, 07-09.

**Association Française Interprofessionnelle De l'OLive (AFIDOL), (2013).** Le marché mondial de l'huile d'olive. Mars 2013 - N° 20

**Atmani D., Chafer N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N., Atmani Dj, (2009).** Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. 112: 303-309.

**Augustin Scalbert, (2016).** Polyphénols ,162:1. Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon, France.

**Aybaster Ö., Isik E., Sahin, S, Demir C., (2013).** Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from blackberry leaves using response surface methodology. *Ind. Crops Prod.* 44, 558–565.

## B

**Becerra-Herrera M., Vélez-Martín A., Ramos-Merchante A., Richter P., Beltrán R. et Sayago A, (2018).** Characterization and evaluation of phenolic profiles and color as potential discriminating features among Spanish extra virgin olive oils with protected designation of origin. *Food Chemistry*, 241 : 328–337.

**Ben hassine K., Bouchoucha S. & Kamoun N, (2009).** Impact de la variété et du système d'extraction de l'huile d'olive sur les préférences consommateurs : 1-6.

**Benyahia N., Zein K, (2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. 2ème Conférence Internationale Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries. Lausanne (Suisse), 7p

**Bianchi G, (2003).** Lipides and phenols in table olive. *Journal Lipid Science Technology*, 105, 229-242.

**Binbenet, J. J., A. Duquenoy, et al, (1993).** Génie des procédés alimentaires des bases aux applications. Paris.

**Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath,G., Pluhar, Z ., Kilar, F., Felinger, A, (2010).** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217 : 7972–7980.

**Boudhrioua N., Bahloul N., Ben Slimane I. & Kechaou N, (2009).** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Corps and Products*, Vol.29, N°2, pp.412-419.

**Boudi M., Chehat F., Cheriet F, (2013).** Compétitivité de la filière huile d'olive en Algérie : cas de la wilaya de Bejaïa. *Cahiers du CREAD (Les)*, 01/07/2013, n. 105-106, p. 89-112.

**Bouarroudj, K., Tamendjari, A., and Lariat, R, (2016).** Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops and Products* 83, 484–491.

**Boskou, D. Other important minor constituents,(2009).** In *Olive Oil: Minor constituents and Health*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, pp. 45–54.

**Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A, Igc R, ( 2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chem* 111:925–9.

**Bruneton J, (1993).** Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales plants, Paris France Lavoisier ; 278-279

**Bruneton, J, (1993).** Composés phénoliques: Shikimate-acétates. In: « Pharmacognosie : phytochimie, Plantes médicinales ». Technique et Documentation-Lavoisier (Paris) ; Chap. 3 : 199–383

**Chou S.T., Chao W.W et Chung Y.C. (2003).** Antioxydative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*Phaseolus Radiatus* L. var. Aurea). *Journal of Food Science*, 68 :21-25.

**Cioffi G., Pesca S., De Caprariis P., Braca A., Severino L., De Tommasi N. (2010).** Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxidant activity. *Food Chemistry*; 1: 105-111.

**Corrado G., La Mura M., Ambrosino O., Pugliano G., Varricchio P., Rao R. (2009).** Relationships of companion olive cultivars: comparative analysis of molecular and phenotypic data. *Genome*, 52: 692–700

**Cortesi N., Rovellini P. et Fedeli, (2000).** *a Cultivars, technologie et qualité des huiles d'olive. Olivae, 81: 26-35.*

**Conseil Oléicole International, (2003).** Norme commerciale applicable aux huiles d'olives et aux grignons d'olives.

**Conseil Oléicole International, (2022).** Norme commerciale applicable aux huiles d'olives et aux grignons d'olives.

**Christoforou Elias, Fokaides Paris A, (2016).** A review of olive mill solid wastes to energy utilization techniques. *Waste Management*, 49, pp. 346-363. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.012>.

**Cuellar.L.R, (1990).** Amélioration de la qualité de l'huile d'olive, Collection : Manuel pratique (conseil oléicole international).

## **D**

**Dahmoune F., Boulekbache L., Kamal Moussi K., Omar Aoun O., Giorgia Spigno G., Khodir Madani K, (2013).** Valorization of Citrus limon residues for the recovery of antioxidants: Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. *Ind. Crops Prod.* 50, 77-87.

**De Leonardis A., Aretini A., Alfano G., Macciola V. & Ranalli G, (2008).** Isolation of hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea europea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food Research and Technology*, Vol.266, N°4, pp.653-659.

**Dermeche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F., Michaud P, (2013).** Olive mill wastes: Bio- chemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry* ; 48 : 1532-1552.

**Dibert, K , (1989).** Contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile et de l'acide chlorogénique du café vert. LYON, Claude Bernard LYON I.

**Dubravka Vitali Čepo et al, (2017).** Solvent Extraction and Chromatographic Determination of polyphenols in olive 6 (1) 7-14.

**Ducom G, Gautier M, Pietraccini M, Tagutchou JP, Lebouil D, Dumont N, Gourdon R, (2019).** Caractérisation de grignons d'olives en vue d'une valorisation thermo-chimique par gazéification. *Déchets Sciences et Techniques.* 82 :42- 54.

**Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Cicala C, Caiazza E, Izzo AA, Novellino E, Santini A, (2019).** Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research.* 1–23.

## E

**Edenharder, R., Grünhage, D, (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res.* 540: 1–18.

**El hajjouji,(2007).** Evolution des caractéristiques physico-chimiques, Spectroscopiques et écotoxicologiques des effluents d'huileries d'olive au cours de traitements biologique et chimique. Thèse de doctorat. université de Marrakech ; 148.

## F

**Ferhat R, Laroui S, Zitouni B, Lekbir A, Abdeddaim M, Smaili N, et al, (2014).** Experimental study of solid waste olive's mill: extraction modes optimization and physicochemical characterization. *J Nat Prod Plant Resour*;4:16–23.

**Fernández- Bolaños J., Rodriguez G., Rodriguez R., Heredia A., Guillen R. and Jimenez A, (2002).** Production in large quantities of highly purified hydroxytyrosol from liquid-solid waste of the two-phase olive oil processing or "alperujo". *J. Agri. Food Chem.*, 50, 6804– 11.

## G

**Gargouri A, (2012).** Optimisation of olive oil extraction and minor compounds content of Tunisian olive oil using enzymatic formulations during malaxation. *Biochem Eng J*;62:79–85.

**Garrido-Fernández A., Fernández-Díez M. J. et Adams M. R, (1997).** Table olives: Production and processing. In *Olives and table olives* (pp. 10–21). Chapman and Hall. London, UK.

**Gao, L. and G, Mazza (1996).** "Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflower hulls." *J. Food sci.* 61: 600-603.

**Gerin, M, (2002).** Solvants industriels : Santé, Sécurité, Substitution. . Paris, Ed. Masson.

**Ghanbari R., Anwar F., Alkharfy K. M., Gilani A. H. & Saari N, (2012).** Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea L.*)—a review. *International journal of molecular sciences.* 13, 3291-3340.

**Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi A., Aberkane M.C., Bousselfela H. et Oueld-Mokhtar S.M, (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13 : 118-129.

**Gorzynik-Debicka , Paulina Przychodzen , Francesco Cappello, Alicja Kuban-Jankowsk, Antonella Marino Gammazza, Narcyz Knap , Michal Wozniak, and Magdalena Gorska-Ponikowska,(2018).** *Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. P ;4-10.*

**Giuseppina Cioffi, Maria Sabina Pesca , Paolo de caprariis ,Alessandra Braca, LorellaSeverino , Nunziatina De Tommasi, (2010).** Phenolic compounds in olive oil and pomace from cileto (campania, Italy) and their antioxidant activity.121 :105-111.

**Groubert, A, (1984).** Techniques d'extraction végétale. Montpellier, pharmacie.

**Guignard J.L., Dupont, (2004).**, Botanique les familles des plantes, Editions Masson, Paris, France. P 336.

**Gülçin İ., Oktay M., Küfrevioğlu İ. et Aslan A, (2002).** Determination of antioxidant activity of lichens *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*,79, 325–329.

**Ghazghazi H., Chedia A., Hamrouni S. and Mnif W, (2015).** Antibacterial, Antifungal anAntioxydant activities of Tunisian *Oleaeuropaea Ssp.* Oleaster fruit pulp and its essentialsfatty acids. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(1) : 52-55.

## H

**Haddam M., Chimi H., El-Antari A., Zahouily M., Mouhibi R., Zaz A., Ibrahimi M. et Amine A, (2014).** Caractérisation physico-chimique et stabilité oxydative des huiles d'olive des variétés Picholine marocaine, Haouzia, Koroneiki et Arbéquine de la région oléicole centrale du Maroc (Chaouia-Ouardigha).*OLIVÆ*, 119 : 23-35.

**Hannachi, H., Nasri, N., Elfalleh, W., Tlili, N., Ferchichi, A., and Msallem, M, (2013).**Fatty Acids, Sterols, Polyphenols, and Chlorophylls of Olive Oils Obtained from Tunisian Wild Olive Trees ( *Olea europaea* L. Var. *Sylvestris* ). *International Journal of Food Properties* 16, 1271–1283.

**Hamadi C, (2006).** Technologie d'extraction des huiles d'olives et gestion de sa qualité. Ministère de l'Agriculture et du développement rural et des pêches maritimes, Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA (Maroc); 141: 1-4.

**Haslam, E., Lilley, T. H, (1988).** Natural astringency in foodstuffs: a molecular interpretation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 27(1): 1–40.

## I

**Iboukhoulef H, (2014).** Traitements des margines des huileries d'olive par les procédés d'oxydation avancée basés sur le système Fenton-Like (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Cu), Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, thèse de doctorat, 2014, 124p

**Irene Gómez-Cruz , Cristóbal Cara , Inmaculada Romero ,\* , Eulogio Castro and Beatriz Gullón, (2020).** *Antioxidants*, 9, 1010.

## J

**Jayaprakasha G.K. et Patil B.S, (2007).** In vitro evaluation of the antioxidant activities *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 114, 1380-1385.

## K

**Kademi A., Ismaili-Alaoui M., Houde A, (2003).** Des arômes synthétiques...au naturel. Centre de Recherche et de Développement sur les aliments Saint Hyacinthe, Québec.

**Kahkönen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J.P., Pihlaja K., Kujala T.S. et Heinonen M, (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.

**Kailis S. et Harris D, (2007).** Table olive processing: general aspects. CSIRO publishing, Landlinks Press Collingwood, p: 131-189.

**Khoufi S., Feki F. & Sami Sayadi Khoufi S, (2007).** Detoxification of olive mill wastewater by electrocoagulation and sedimentation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 142(1-2), 58-67.

**Kim D.O., Chun O.K., Kim Y.J., Moon H-Y. et Lee C.Y, (2003).** Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6509-6515.

## L

**Landbo, A.-K. R. and A. B. S. Meyer, (2001).** Enzymatic enhancement and oxidant activities of anthocyanins and other phenolic compounds in black currant juice. *Biologically-active phytochemicals in food*. Cambridge UK, Royal Society of Chemistry: 354-356.

**Lamani O., Ilbert H, (2016).** Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie) : Pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. In :Ater M. (ed.), Essalou h L.(ed.), Ilbert H. (ed.), Moukh li A. (ed.), Khadari B. (ed.). *L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques*. Montpellier : CIHEAM, 2016. p. 149-159 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n . 118.

**Lamia Medouni-Haroune, Farid Zaidi, Sonia Medouni-Adrar, Mouloud Kecha, (2018).** *Olive Pomace: From an olive mill waste to resource an overview ofthe new treatments*. P : 2-3.

**Lesage-Meessen L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J. C., Lorquin J., Delattre M.,et al, (2001).** Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*, 75, 501-507.

**Leybros, J. and P. Frémeaux, (1990).** "Extraction solide-liquide aspects théoriques." techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J1 077 06.

## S

**Simon J.L., Asther M. and Labat M, (2001).** Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chem.*, 75, 501–7.

#### **L**

**Li , H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., chen, F., Tian, Y, (2007).**Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae.

**Linos A., Nikoloudakis N., Katsiotis A., Hagedimitriou M, (2014).** Genetic structure of the Greek olive germoplasm revealed by RAPD ISSR and SSR markers. *Sci. Hortic*, 175 : 33–43.

**Long, L.H.; Hoi, A.; Halliwell, B, (2010).** Instability of, and generation of hydrogen peroxide by, phenolic compounds in cell culture media. *Arch. Biochem. Biophys.* 501, 162–169.

**Tuck, K.L.; Hayball, P.J,(2002).** Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects. *J. Nutr. Biochem.* 13, 636–644.

#### **M**

**Mafart, P. and E. Béliard (1993).** Génie Industriel Alimentaire techniques séparatives. Paris, Techniques et Documentation-Lavoisier. Markakis, P. (1982). Stability of anthocyanins in foods. Anthocyanins as food colors. A. Press. New york: 161-180.

**Messaad Moudache, Filomena Silva, Cristina Nerín, Farid Zaidi1, (2020).** Olive cake and leaf extracts as valuable sources of antioxidant and antimicrobial compounds: a comparative study.

**Ministère De L'Agriculture Et Du Développement Rural « MADR », (2012).** Le Renouveau Agricole et Rural en marche. Revue et Perspectives.

**Molyneux, P, (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH). for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26, 211-219.

**Morales-Soto A., García-Salas, P., Rodríguez-Pérez C., Jiménez-Sánchez C., Cádiz-Gurrea M. Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A, (2014).** Antioxidant capacity of 44 cultivars of fruits and vegetables grown in Andalusia (Spain). Food Research International, 58, 35-46.

**Moussaoui R., (2007).** Valorisation des sous produits de l'huilerie d'olive et margines. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie, 133 pp.

**Mouzaoui K., Yazzag L. et Moulti-Mati F, (2014).** Composés phénoliques des grignons d'olives provenant d'huileries traditionnelle et moderne : essai de purification de l'oleuropeine et de l'hydroxytyrosol. Sciences & Technologie, 40 : 9-15.

**Muzzalupo I., Vendramin G.G., Chiappetta A, (2014).** Genetic Biodiversity of Italian Olives (*Olea europaea*) Germplasm Analyzed by SSR Markers. The Scientific World Journal, 12 pages.

**Mylonaki S., Kiassos E., Makris D.P & Kefalas P, (2008).** Optimization of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. Anal Bioanal Chemistry, Vol.392, N°5, pp.977-985.

**Nefzaoui A, (1984).** Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier. In : Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie. Étude FAO production et santé animales 43, Rome.

**Nefzaoui A, (1991).** Valorisation des sous-produits de l'olivier. Fourrages et sous-produits méditerranéens (Zaragoza) CIHEAM ; 101-108.

**Nefzaoui, A, (1987).** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits. Séminaire sur l'économie de l'Olivier, Tunisie.

**Noubih A., Abderrabba M., Provost E, (2007).** Temperature and addition effects on the solubility behaviour of some phenolic compounds in water. J. Chem. Thermodynamics; 39: 297-303.

## O

**Observatoire National de l'Agriculture (ONAGRI) (2020).** Le marché de l'huile d'olive au niveau national et mondial et mécanismes de régulation. P 1.

**Ouedrhiri, M., Benismail, C., El Mohtadi, F., & Achkari-Begdouri, A, (2017).** Évaluation de la qualité de l'huile de pulpe d'olive vierge de la variété Picholine marocaine. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, 5(2).

## P

**Pagnanelli F., Toro L., Veglio F, (2002).** Olive mill solid residues as heavy metal sorben material : a preliminary study, *Waste Management* vol. 22, p 901-907.

**Paini, M.; Casazza, A.A.; Aliakbarian, B.; Perego, P.; Binello, A.; Cravotto, G, (2016).** Original article Influence of ethanol/water ratio in ultrasound and high-pressure/high-temperature phenolic compound extraction from agri-food waste. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 349–358.

**Pifferi, P. G. and A. Vaccari, (1983).** "The anthocyanins of sunflower. II. A study of the extraction process." *Journal of Food Technology* 18: 629-638.

**Pereira J.E, (2018).** International olive growing, Worldwide Analysis and Summary © 2018 The Edition: Fundación Caja Rural de Jaén.

**Proestos C., Sereli D., Komaitis M, (2006).** Determination of phenolic compounds inaromatic plants by RP-HPLC and GC–MS. *Food Chem.* 95, 44–52.

**Puppo A, (1992).** Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-Type Reactions; Influence of the Iron Chelator. *Phytochemistry*, 31:85-88.

**Pütün Ayse E., Uzun Başak Burcu, Apaydin Esin, Pütün Ersan, (2005).** Bio-oil from olive oil industry wastes: pyrolysis of olive residue under different con- ditions. *Fuel Processing Technology*, 87(1), pp. 25-32.

## Q

**Quiles, J.L., Ramirez-Tortosa, M.C., Yaqoob, P., (2006).** *Olive Oil and Health.* CABI.

## R

**Rama Prabha M. et Vasantha K, (2011).** Antioxidant, Cytotoxicity and Polyphenolic Content of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. Flowers. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 1 : 136-140.

**Ramirez-Tortosa, M. C., G. Urbano, M. López-Jurado, T. Nestares, M. C. Gomez, A. Mir, E. Ros, J. Mataix, et A. Gil, ( 1999).** « Extra-Virgin Olive Oil Increases the Resistance of LDL to Oxidation More than Refined Olive Oil in Free-Living Men with Peripheral Vascular Disease ». *The Journal of Nutrition* 1β9 (1β): β177- 8γ

**Ramos-Cormenzana A., Juirez-JimCnez B., Garcia-Pareja, (1996)** Antimicrobial Activity of Olive Mill Wastewaters (Alpechin) and Biotransformed Mill Wastewater Waste-Olive Oil. *International Biodeterioration & Biodegradation*; 283-290.

**Ranalli A, (1991).** The effluent from olive mills: Proposals for re-use and purification with reference to Italian legislation. *Olivae*; 37: 30-39.

**Rodis P.S., Karathanos V.T. & Mantzavinou A, (2002).** Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 50, 596-601.

**Rodríguez G., Lama A., Rodríguez R., Jiménez A., Guillén R., Fernández- Bolaños J, (2008).** Olive stone an attractive source of bioactive and valuable compounds. *Bioresource Technol.*, 13, 5261-5229.

*Roger François (1974), Les industries des corps gras, édition Technique et Documentation.*

**Rosello´-Soto, E., Koubaa, M., Moubarik, A., Lopes, R.P., Saraiva, J.A., Boussetta, N., et al., (2015).** Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: non-conventional methods for the recovery of high-added value compounds. *Trends Food Sci. Technol.* 45 (2), 296310. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2015.07.003>.

**S. Jokić, D. Velić, M. Bilić, A. Bucić-Kojić, M. Plan inić and S. Tomas, (2010).**Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. J. Food Sci. vol. 28. pp. 206- 212.

**Silva S., Gomes L., LEITÃO F., Coelho A.V. & Vilas Boas L, (2006).** Phenolic compounds and antioxidant activity of Olea Europaea L. fruits and leaves. Food Science Tect Int, 12(5), 385-396

**Soler-Rivas C., Espin J.C. et Wishers H.J, (2000).** Oleuropein and related compounds. Journal of the Science of Food and Agriculture, 114, 1380-1385.

**Sultana B, Anwar F et Przybylski R, (2007).** Antioxidant potential of corncob extrats for stabilization of corn oil subjected to microwave heating. Food chemistry, 104: 997-1005.

**T**

**Talhaoui, N., Taamalli, A., Gomez-Caravaca, A.M., Ferná'ndez-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A., ( 2015).** Phenolic compounds in olive leaves: analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Res. Int.* 77, 92108. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.011>.

**Tamendjari, A., SAIT, S., Lainer, F., Rovellini, P., and Venturini S, (2018).** Quality, antioxidant and antibacterial activity of olive oil from wild olives (Oleasters). *RivistaItalianaDelleSostanze Grasse* 95(3):195-203.

**Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Suhaniza, H. J., Lai, C. C., Norazalina, S. and Roselina, K, (2013).** Antioxidant properties and antiproliferative effect of brewers' rice extract (temukut) on selected cancer cell lines. *International Food Research Journal* 20: 2117–2124. *Technology*, 26, 211-219.

**Tovar M.J., Paz Romero M., Girona J et Motilva M.J, (2002).** L-phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developingolive (Oleaeuropaea\_LcvArbequina) fruit grown under different irrigation regimes.*Journal of Science of food and Agriculture*, 82: 892-898.

**Tripoli E, Giammanco M, Tabacchi G, Di Majo D, Giammanco S and La Guardia M, (2005).** The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutr Res Rev* 18:98–112

## V

**Veillet S, (2010).** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Thèse/ Académie d'Aix-Marseille Université d'Avignon et des pays de Vaucluse– sciences des procédés – sciences des aliments.

**Vignerón, M, (1954).** Fractionnements par solvants. Paris, VIGOT Frères.

**Vlyssides A.G., Loizides M., Karlis P.K, (2004).** Integrated strategic approach for reusing olive oil extraction by-products. *Journal of Cleaner Production*; 12: 603-611.

## W

**Wagner, W.L., Herbst, D., et Sohmer, S.H, (1999).** Manual of the flowering Plants of Hawai'i. 2 vols. Bishop Museum Special publication 83. University of Hawai'i and Bishop Museum Press,4 :1-9.

**Wang H., Dong Gao X., Zhou G., Cai L. et Yao W. B, (2007).** In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry*, 106: 888-895.

## Y

**Yacoub Y. (1997).** Valorisation des sous-produits. L'investisseur agricole. 19 : 17-18.

**Yang, Dongli, Susan G. Elnor, Zong-Mei Bian, Gerd O. Till, Howard R. Petty, et Victor M. Elnor, (2007).** « Pro-inflammatory Cytokines Increase Reactive Oxygen Species through Mitochondria and NADPH Oxidase in Cultured RPE Cells ». Experimental eye research 85 (4): 46β- 7β

**Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S, (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. Plant. Food Hum. Nutr, 59 : 113-122.

## **Z**

**Zbakh H., El Abbassi A, (2012).**Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. Journal of functional food; 4: 53-65.

# ANNEXES

HD

**Tableau II : composition en acide gras d'une huile d'olive (Veillet, 2010)**

<b>Acide gras</b>	<b>Formule brute</b>	<b>Concentration(%)</b>
<b>Acide myristique</b>	C14 :0	Tr
<b>Aide palmitique</b>	C16 :0	7,5-15.6
<b>Acide palmitoléique</b>	C16 :1n-8	0.3-1.9
<b>Acide margarique</b>	C17 :0	<0 ,3
<b>Acide margaroléique</b>	C17 :1n-8	< 0,5
<b>Acide stéarique</b>	C18 :0	1,4-3,4
<b>Acide oléique</b>	C18 :1n-9	60,9-83,1
<b>Acide vaccinique</b>	C18 :1n-7	0,7-3,6
<b>Acide linoléique</b>	C18 :2n-6	4,5-16,1
<b>Acide <math>\alpha</math>-linoléique</b>	C18 :3n-3	0,4-1,2
<b>Acide arachidonique</b>	C20 :0	0,3-0,5
<b>Acide gadoléique</b>	C20 :1n-9	0,2-0,5
<b>Acide béhénique</b>	C22 :0	< 0,2
<b>Acide lingocérique</b>	C24 :0	< 0,1

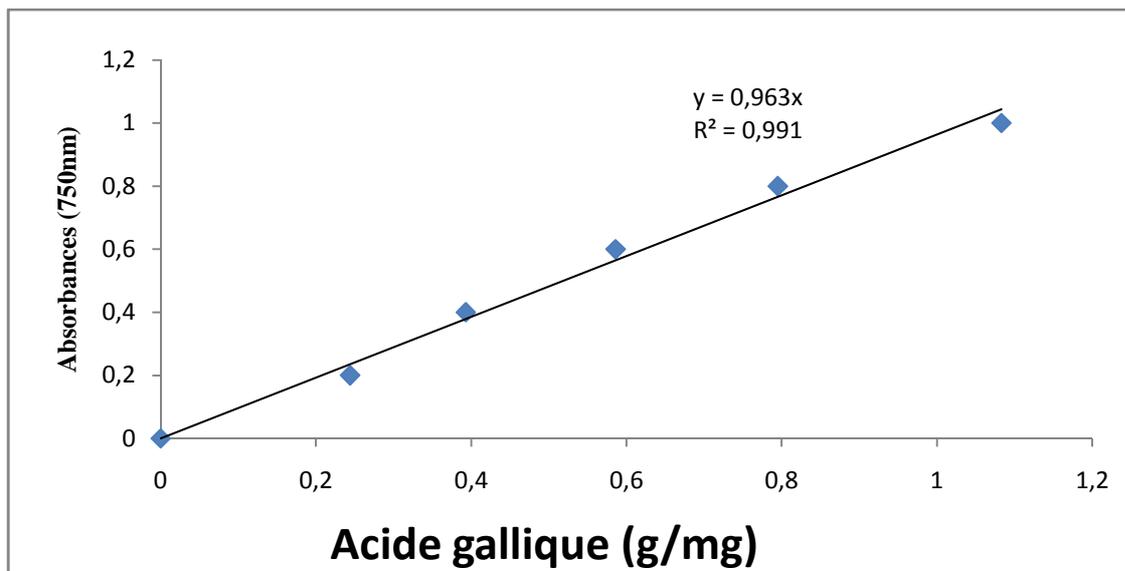


Figure 1 : courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux.

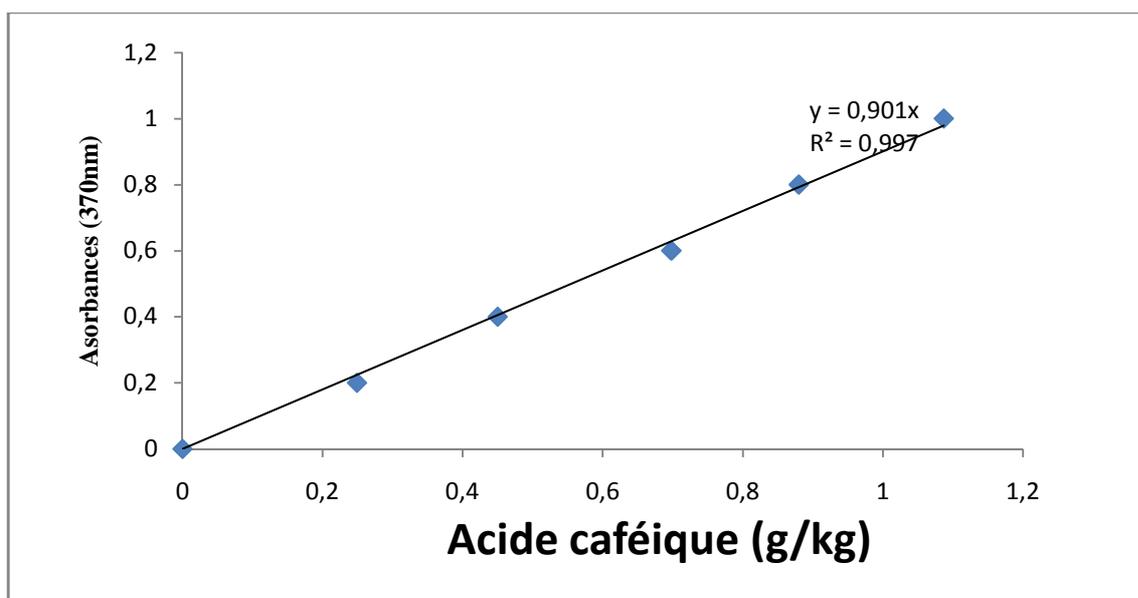
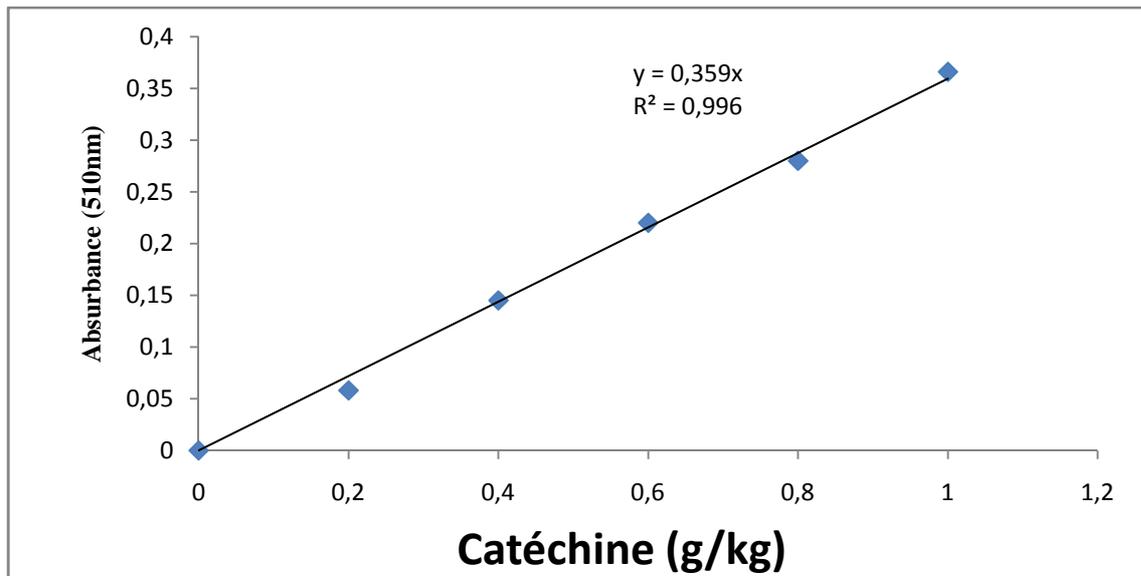
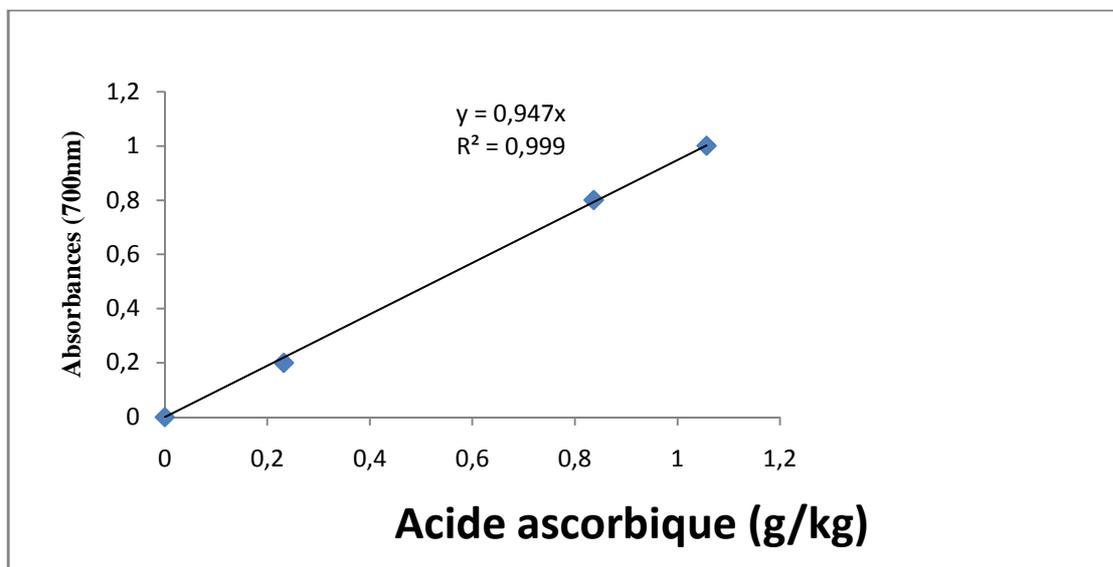


Figure 2 : courbe d'étalonnage des *ortho*-diphénols.



**Figure 3** : courbe d'étalonnage des flavonoïdes.



**Figure 4** : courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

## ***Résumé***

La présente étude est consacrée à l'évaluation de l'effet de la concentration du solvant sur l'extraction des composés phénoliques (composés phénoliques totaux, flavonoïdes et ortho-diphénols), ainsi que l'activité antioxydante en utilisant différents tests (pouvoir réducteur, inhibition de peroxyde d'hydrogène, l'activité antiradicalaire et l'activité chélatrice) de douze échantillons de grignons d'olives. L'activité antimicrobienne a été également évaluée pour chaque extrait. Les résultats obtenus montrent que les teneurs en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante varient significativement en fonction de la concentration du solvant ainsi que l'échantillon étudié. L'éthanol 50% a montré la meilleure efficacité d'extraction des antioxydants analysés ainsi que l'activité antioxydante. L'échantillon codé o3 renferme les teneurs les plus élevées en substances analysées, et exerce l'activité antioxydante maximale. Ce travail confirme la richesse des grignons d'olives en substances bioactives d'où l'intérêt de leur valorisation dans divers domaines.

**Mot clés :** grignon d'olive, solvant, antioxydant, extraction, activité antioxydante.

## **Abstract**

The aim of the present study is the evaluation of the effect of concentration solvent (ethanol) on the extraction of phenolic compounds (total phenolic compounds, flavonoids and ortho-diphenols), as well as the antioxidant activity by different tests (reducing power, hydrogen peroxide inhibition and antiradical activity) of twelve samples derived from different olive pomace varieties. This study is completed by the determination of the antimicrobial activity for each extract. The results obtained showed that the phenolic compounds contents as well as the antioxidant activity vary significantly according to the concentration solvent and thus the studied sample. The ethanol 50% present the better extraction of phenolics and thus in antioxidant activities. However, the sample o3 contains the highest concentration of phenolic compounds, flavonoids and ortho-diphenols, and antioxidant activity. This work confirms the interest of olive pomace as a richness in bioactive substances, for this reason their valorization in several fields, should be encouraged.

**Key words:** olive pomace, solvent, antioxidants, extraction, biological activity.