

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR



ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID TLEMCEN

Faculté des sciences de la nature et de la vie, de la terre et de l'univers

Département de biologie

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de master académique en Biologie

Option : *Toxicologie industrielle et environnementale*

Thème :

**Etude phytochimique et biotoxicologique sur l'extrait brut et l'extrait
délipidé de grignons d'olives**

présenté par : M^{lle}. **DEKHILI DOUNYA RABAB**

Devant le jury:

Présidente : M^{me} LOUKIDI

MC A Université de Tlemcen, Algérie

Examinatrice : M^{me} BENHAMMOU

MC A Université de Tlemcen, Algérie

Examinatrice : M^{me} HADDAM

MC A Université de Tlemcen, Algérie

Encadrante : M^{me} GUERMOUCH B

MC A Université de Tlemcen, Algérie

Année universitaire : 2018-2019

Remerciements

اللهم لك الحمد حتى ترضى، ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضا، ولك الحمد على كل حال وفي كل حين و لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك و عظيم سلطانك و لك الحمد حتى يبلغ الحمد منتهاه .
اللهم إن الحمد و الشكر كله لك وحدك لا شريك لك.

**Louanges à Allah, Qui m'a inspiré qui m'a guidé dans le bon chemin
et donné la force, le courage durant ces longues années d'étude.**

Je tiens à remercier notre encadreur **Dr. GUERMOUCHE** , qui a dirigé ce travail et l'a enrichi avec son savoir et ses conseils très précieux Nous vous remercions vivement de l'aide précieuse que vous nous avez apportée pour la conception de ce travail.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions. Veuillez trouver ici, le témoignage de notre haute considération, mes profondes reconnaissances et mes sincères respects.

Je remercie également le corps professoral et administratif de la faculté de biologie, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et des grands efforts déployés pour assurer à leurs étudiants une formation optimale.

Un remerciement spécial a **Mlle Badi Zoulikha**, vos conseils et remarques ont été d'une grande utilité à l'amélioration de ce travail.

À toute l'équipe du laboratoire de recherche de la faculté de biologie.

Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire de près ou de loin.

Dédicace

A mes très chers parents

Pour le soutien, l'encouragement, la patience et les prières que vous m'avez apportés Qu'ALLAH le puissant vous garde en bonne santé et vous procure une longue vie pleine de bonheur et de joie.

A mes grands-parents

*Exemple de la tendresse, l'amour et de sacrifice.
Aucun mot, aucune phrase ne peut exprimer mes sentiments
profonds d'amour, de respect et de reconnaissance.*

A toute ma famille " DEKHILI "

A tout mes proches.

*A toutes les personnes malades et nos frères Musulmans
qui souffrent*

Que Dieu vous garde et vous accorde des jours meilleurs.

Dekhili Dounya Rabab

Table de matière

Introduction

Etat Actuel De Sujet

1. L'OLIVIER :	4
2. L'OLEICULTURE :	4
3. L'OLIVE ET L'HUILE D'OLIVE	7
4. LES GRIGNONS D'OLIVES	9
5. COMPOSITION PHYSICOCHIMIQUES DES GRIGNONS D'OLIVES	10
6. TYPES DE GRIGNONS D'OLIVES	11
7. ECOTOXICITE	11
8. VALORISATION DES GRIGNONS	12
9. LES POLY PHENOLS	13
10. CLASSIFICATION DES POLY PHENOLS	13
11. SOURCES ALIMENTAIRES	16
12. COMPOSES PHENOLIQUES ET SANTE	17
13. POLY PHENOLS ET POUVOIR ANTI OXYDANTS	18
14. POLYPHENOLS ET PROPRIETE PRO-OXYDANTE	20
15. INTERET A L'ECHELLE INDUSTRIELLE	20

Matériels Et Méthodes

1. MATERIEL VEGETAL	22
2. PREPARATION DES EXTRAITS POLYPHENOLIQUES	22
3. ANALYSE BIOCHIMIQUE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE	23
3.1. SCREENING PHYTOCHIMIQUES	23
3.1.1. FLAVONOIDES	23
3.1.2. TANINS CONDENSES	23
3.1.3. SAPONINES (TEST DE MOUSSE)	23

3.1.4.	QUINONES.....	23
3.1.6.	TRITERPENES (TEST DE SLAKOWSKI)	24
3.1.7.	SUCRES REDUCTEURS	24
3.2.	DOSAGES DES COMPOSES PHENOLIQUES	24
3.2.1.	DOSAGE DES POLY PHENOLS TOTAUX.....	24
3.2.2.	DOSAGE DES FLAVONOÏDES.....	25
3.2.3.	DOSAGE DES TANINS CONDENSES.....	25
4.	EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI OXYDANTE	26
4.1.	TEST DPPH.....	26
4.2.	TEST DE FRAP	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
5.	ANALYSES STATISTIQUES.....	27

Résultats et interprétations

1.	ETUDE PHYTOCHIMIQUE QUALITATIVE.....	29
2.	ETUDE QUANTITATIVE	30
2.1.	RENDEMENT DE L'EXTRACTION	30
2.2.	COURBE D'ETALONNAGE POUR DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX	30
2.3.	COURBE D'ETALONNAGE POUR LE DOSAGE DES FLAVONOÏDES	30
2.4.	COURBE D'ETALONNAGE DE DOSAGE DES TANINS CONDENSES	30
2.5.	TENEURS EN COMPOSES PHENOLIQUES DANS L'EB	32
2.6.	TENEURS EN COMPOSES PHENOLIQUES DANS L' ED	32
2.7.	ETUDE COMPARATIVE DES TENEURS EN POLYPHENOLS , EN FLAVONOÏDES ET EN TANINS CONDENSES ENTRE L'EB ET L'ED	32
3.	EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	35
3.1.	POURCENTAGE D'INHIBITION DU RADICAL « DPPH ».....	35
3.2.	POUVOIR REDUCTEUR DE FER « FRAP »	36
	Discussion.....	39
	Conclusion....	46
	Références bibliographiques.....	47

Résumé

Liste des abréviations

CI50 : Concentration en antioxydant pouvant réduire 50% du radical DPPH

COI : Conseil Oléicole International

CP : Composés phénoliques

DPPH• : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EB : Extrait de grignons d'olive brut

ED : Extrait de grignons d'olive délipidé

ERO : Espèce réactive d'oxygène

FRAP : Ferric iron Reducing Antioxidant Parameter

MAT : Matière azotée totale

MCV : Maladie cardiovasculaire

MG : Matière grasse

MS : Matière Sèche

MAT : Matière Azoté Totale

MS : matière sèche

N : Azote

OMS : Organisation mondiale de la santé

pH : Potentiel hydrogène

TR/Min : Tour/Minute

Liste des tableaux

Tableau I : Classification selon TROPICOS

Tableau II : Composition physicochimique de grignons d'olive..... 10

Tableau III : Composition chimique de différents types des grignons 10

Tableau IV : Classification des composés phénoliques..... 15

Tableau V : Composés phénoliques et leurs sources alimentaires..... 16

Tableau VI : Représentation des résultats de tests phytochimiques	29
Tableau VII : Rendement de l'extrait brut et l'extrait délipidé des grignons d'olive	30
Tableau VIII : IC 50 et AAR des extrait : brut et délipidé des grignons d'olive	36

Liste des figures

Figure 1 : Diagramme des procédés d'extraction de l'huile d'olive.....	8
Figure 2 : Grignons d'olive.....	9
Figure 3 : Structure de base de poly phénol	15
Figure 4 : Structure de base de flavonoïde	15
Figure 5 : Schéma des propriétés des poly phénols.....	19
Figure 6 : Structure du radical DPPH	19
Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	31
Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	31
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés	31
Figure 10 : Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés dans l'extrait brut de grignons d'olive (EB) exprimés en (mg/g)	33
Figure 11 : D Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés sur l'extrait délipidé de grignons d'olive (ED) exprimés en (mg/g)	33
Figure 12 : Teneurs en phénols totaux sur l'extrait brut et l'extrait délipidé	Figure
13 : Teneurs en flavonoïdes sur l'extrait brut et l'extrait délipidé.....	34
Figure 14 : Teneurs en tanins de l'EB et l'ED.....	34
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	35
Figure 16 : Pourcentage d'inhibition % de DPPH en fonction des concentrations (mg/ml) de l'EB et l'ED de grignons d'olives	37
Figure 17 : Pouvoir réducteur de fer de l'EB et l'ED de grignons d'olives.....	37

INTRODUCTION

L'olivier est l'une des plantes sur laquelle le Coran a attiré l'attention; {Par le figuier et l'olivier! (1) Et par le Mont Sinin! (2)} (**Le Quoran**). Ce qui explique qu'il présente un symbolisme intéressant ; Chez les musulmans il a été toujours un symbole de BARAKA. A Athènes, il était un Symbole de victoire lors des jeux olympiques. Pour son bois très dur, il est réputé : Symbole de force, d'espérance, de fidélité, de sagesse, de paix.....etc.

Cet arbre est connu par son fruit appelé l'olive .Ces fameuses olives servent à l'extraction d'une huile noble qui fait partie du régime alimentaire des pays du bassin méditerranéen. (**Aludatt ,2017**).

La production de l'huile d'olive a un impact positif au niveau socioéconomique surtout dans les pays producteurs y compris l'Algérie (**Munir ,2016**).

L'industrie oléicole dans ces pays laisse chaque année deux sous produits : l'un est solide : les grignons et l'autre liquide : les margines. Ces résidus abondants et abandonnés peuvent constituer une ressource intéressante de nombreux produits naturels comme les antioxydants.

La production mondiale de grignons est estimée à 2,9 millions de tonnes. En Algérie, elle est de 156.104 quintaux /an (**Madr, 2012**).

la résistance de ces rejets des huileries à la biodégradation en raison de leur richesse en composés phénoliques et en chaînes d'acides gras constitue un problème majeur de pollution . (**Fiorentino et al, 2004**). En raison de cette nuisibilité sur l'environnement, il est nécessaire de valoriser ces sous produit (**Darvishi, 2012**).

Dans ce contexte, les composés phénoliques totaux (CP) contenus dans les grignons d'olives peuvent être récupérés pour des applications ultérieures particulièrement en pharmacologie, en phytothérapie, en hygiène alimentaire, en agroalimentaire ou en cosmétologie en raison des effets biologiques qu'ils présentent : activité anti-oxydante, antimicrobienne, anti-virale, anti-fongique... etc (**Senani N, 2012**).

Le présent travail a pour objectif de déterminer les propriétés physicochimiques et bios toxicologiques des poly phénols totaux extraits des grignons d'olive d'une huilerie de la région de Tlemcen (Ouzidane).

ETAT ACTUEL DE SUJET

1. L'olivier :

L'olivier (*Olea Europea*) est la plante la plus anciennement cultivée par l'homme et l'une des plus anciennes sur la Terre. Elle est connue pour ses fruits et son huile. Le genre *Olea* se compose de 33 espèces. Il arrive d'Asie en passant par la Grèce antique et le Moyen-Orient (Syrie, Palestine), aujourd'hui est massivement cultivé sur tout le pourtour méditerranéen ainsi qu'en Amérique du Nord (Californie).

L'olivier est un arbre de taille assez élevée. Il se distingue des autres arbres fruitiers par sa longue longévité et sa capacité à se développer sous des conditions de climat subaride et même des sols très pauvres (**Joseph, 1968**).

2. L'oléiculture :

L'industrie oléicole est une activité économique importante, la région méditerranéenne reste la principale zone de production représentant environ 98% de la production oléicole mondiale (**Rayan, 1998**). L'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Turquie suivies de la Tunisie, du Portugal, du Maroc et de l'Algérie sont les grands producteurs. Les olives sont aussi cultivées au Moyen-Orient, États-Unis, Argentine et Australie (**Paraskeva, 2006**).

L'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée représentée par des plantes aromatiques et médicinales tel que l'olivier (**Gaussen, 1951**). Elle compte 16 millions d'arbres repartis sur tout le territoire national du pays avec une surface de 67000 ha (**Boussenadji, 2005**).

Les trois zones oléicoles importantes dans notre pays sont :

La première zone de la région Ouest représentée par 5 wilayas : Tlemcen, AïnT'émouchent, Sidi Bel abbés, Mascara et Rélizan.

La deuxième zone de la région centrale : qui représente la majorité du verger oléicole national. : Aïn defla, Boumerdés, Tiziouzou, Bouira et Bejaia.

La troisième zone de la région de l'est repartis entre les wilayas de Jijel, Skikda, Mila et Guelma.

Dans notre wilaya de Tlemcen, l'olivier est une source économique intéressante chez les populations rurales soit pour la production des olives de tables ou d'huile d'olive.

L'oléiculture représente 36% de l'arboriculture total au niveau de la région, elle essentiellement concentrée à Maghnia, Remchi, Sabra, Beni-Snous, Chetouane, Bensekrane, Felaoucène, Mansourah, Ouled Mimoun, Hennaya, Bab Assa et AïnTellout (**Hachemi et Benazza, 2015**). Il est à noter que 90% du verger oléicole Algérien est assuré par les wilayas de la kabylie comme: Bejaia, Tizi Ouzou et Bouira, 40% par l'Aurès : Guelma, Jijel et Skikda, 89% par la région ouest : Mascara, Sidi Bel Abbes, Relizane et Tlemcen.

L'Algérie dispose plus d'une trentaine de variétés d'olives, selon les régions et les wilayas productrices de ce produit. Les plus connus sont :

CHEMLAL : qui occupe 40% de la production oléicole Algérienne et qui se trouve principalement en Kabylie et qui est consacrée pour production d'huile de bonne qualité.

La SIGOISE appelé aussi par olives de Tlemcen: occupe 25%, de la production oléicole Algérienne son origine est Mascara (Sig) réservée à la production d'excellentes olives de table.

On trouve aussi la variété Limli qui est une bonne variété à huile.

Tableau I : Classification selon TROPICOS (Joseph, 1968)

Règne	Plantae
Classe	<i>Equisetopsida</i>
Sous-classe	<i>Magnoliidae</i>
Super-ordre	<i>Asteranae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Oleaceae</i>
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Olea europea</i>

3. L'olive et l'huile d'olive

Le fruit appelé olive est une drupe ovoïde verte, violette puis noire à maturité à noyau dur fusiforme (**Bruneton, 1999**). La cueillette des olives se fait en moi de Novembre et Décembre soit avant maturité : vertes, soit à maturité : noires. Un fruit d'olive de type (*Olea europaea*) peut contenir 22% d'huile, 50% d'eau et 19% de glucides (pectine, cellulose et hémicelluloses), 1,6% de protéines, 1,5% de minéraux, et des composés volatils et de la lignine (**Conde.C, 2008**). Plus, des composés bioactifs tels que les phénols (1% 3%) et les pigments (chlorophylle et caroténoïdes) (**Guillaume, 2011 et Boskou, 2006**).

L'huile d'olive est principalement concentrée dans la pulpe du fruit (95%) (**Seçmeler et Guçlu Ustundag**). L'extraction se fait à moulin, on écrase les fruits et on met la pulpe en sacs : pour l'extraction .Par une pression modérée, on obtient l'huile vierge. Sur le résidu on fait intervenir l'eau bouillante, on presse d'avantage et on obtient ainsi l'huile de 2^{ème} extraction (**Markaoui, 2002**). Enfin les tourteaux sont traités dans des moulins spéciaux, en contacte toujours avec l'eau bouillante : cette opération donne l'huile lampante (**Ozge seçmeler**).

Elle est une huile comestible avec des fonctions médicinales potentielles (**Ribarova et al, 2003**). Pour des fins thérapeutiques, elle peut être utilisé comme émolliente, anti-déshydratante, cicatrisante, cholérétique et cholagogue (**Jaccolot B et al, 1997**) recommandé en cas de calculs biliaires (**Lucienne Alli Delile**), antioxydante, hypotensive probablement en raison des d'oxyde nitrique favorisés par les polyphénols (**Perona et al, 2004**), laxative, purgative, anti inflammatoire (**Gurib Fakim, 2008**), antitoxines par ces tocophérols (**Alarcon de lastra et al, 2004**), et anti tumorale (**Owen et al, 2000**). Par sa richesse en acides gras mono insaturés occupe un rôle très important dans la réduction du risque cardiovasculaire et le maintien d'une cholestérolémie et exerce également une action favorable sur le contrôle de la glycémie (**Morgane Saillard**). Elle est fortement recommandée chez les personnes qui souffrent d'une ostéoporose. Les vitamines A, D, E, et K présentes dans cette huile sont importantes au développement des os chez l'adulte et l'enfant, à travers la fixation des calciférols. En industrie on peut l'utiliser pour la fabrication des savons.

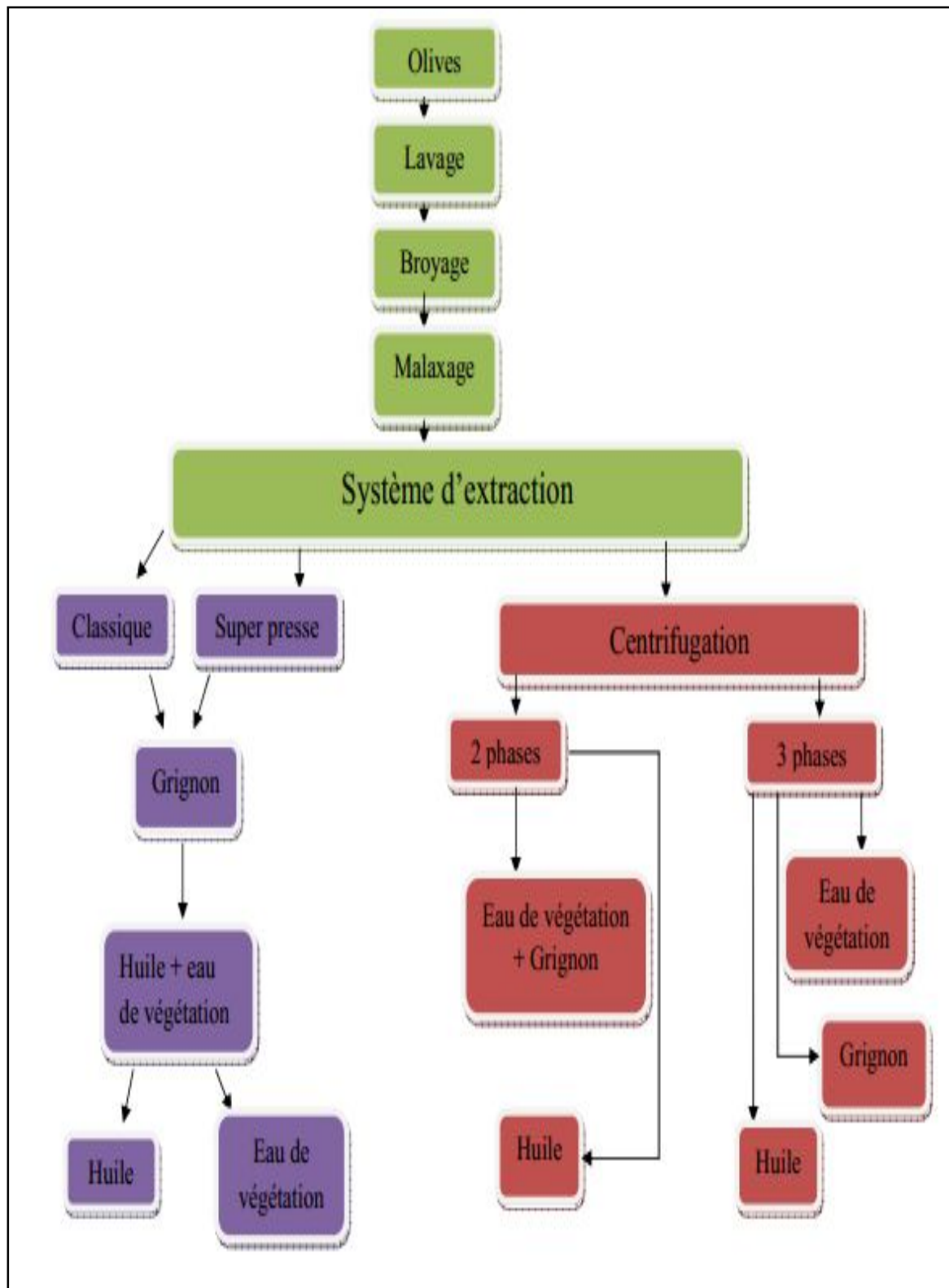


Figure 1 : Diagramme des procédés d'extraction de l'huile d'olive

(Kernou et al.,2015)

4. Les grignons d'olives

Les grignons sont les résidus solides issus de la première pression ou centrifugation lors de la production de l'huile d'olive. Ils contiennent encore de l'huile appelée huile secondaire et sont formés des peaux, de pulpe et de fragments des noyaux d'olives. Ce produit peut être transformé en un produit destiné à l'alimentation animale ou en huile dite huile de grignons d'olive après extraction chimique.

Les quantités produites estimées des margines et des grignons à partir de 15 litres d'huile d'olive sont respectivement 70 Kg et 40 Kg. Ces 110 Kg de déchets sont déversés anarchiquement dans la nature et donc constituent un agent de pollution horrible.



Figure 2 : Grignons d'olive

5. Composition physicochimiques des grignons d'olives

Tableau II : Composition physicochimique de grignons d'olive (valeur en poids sec) (Cucci et al, 2008)

Paramètres	Valeurs
Ph	5,15
Humidité (g/100g MS)	55,80
Carbone organique (g 100g MS)	51,77
Phénol (mg 100g MS)	12,37
Graisses (g 100g MS)	10,93
N Total (mg 100g MS)	1,18
P Total (mg 100g MS)	0,15
K Total (mg 100g MS)	1,03
Zn (mg 100g MS)	10,00
Mn (mg 100g MS)	20,00

Tableau III : Composition chimique de différents types des grignons (en %par rapport à la MS) (Nefzaoui et al, 1985)

Types de grignon	Brut	Epuisé non tamisé	Tamisé gras	Epuisé tamisé
Matière sèche	69.8-95.0	86.0-95.0	89.0-94.0	88.2-90.5
Cendres totales	3.4-14.7	5.8-9.3	10.3-25.3	11.0-22.3
Matière azotée	5.0-10.3	12.4-16.2	6.8-9.0	2.0-6.5
Matière grasse	3-12.6	1.1-7.4	6.9-15.0	2.0-6.5
Cellulose brute	32.0-47.5	32.6-53.3	12.0-33.5	14.5-23.3

Des recherches ont montrés que le grignon d'olive renferme divers composés phénoliques, des poly phénols attachés aux parois cellulaires et qui représente une fraction importante des phénols totaux du grignon, des flavonoïdes et des tanins (Zaidi et al, 2009).

6. Types de grignons d'olives

Il existe différents types de grignons (**Sansoucy et al., 1984**) :

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

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

c) le grignon partiellement dénoyauté : résulte de la séparation partielle du noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation.

d) le grignon humide : est soumis, dans les huileries à deux phases, afin d'extraire entre 40 et 60% de l'huile restante. Il est ensuite emmené dans des usines d'extraction d'huile de grignon, où, après un séchage permettra d'atteindre 8% d'humidité (**Nefzaoui et al, 1978**).

7. Ecotoxicité

Dans les pays oléicoles de la région méditerranéenne, la production est supérieure à 30 millions de m³ / an, entraînant des rejets et donc une pollution considérable (**Fiestas Ros et al**). Les grignons d'olives sont très hautement ligno-cellulosiques. Cette dernière liée à l'azote a une dégradation très lente (**Nefzaoui et al, 1978**), ce qui présente quelques inconvénients sur l'agriculture par difficulté d'intégration dans le sol. Sa richesse en polyphénols engendre une toxicité environnementale (**Lynch J.M et al, 1980**). Ces composés phénoliques peuvent agir en tant qu'agent phytotoxique en inhibant la croissance ainsi que la germination des plantes (**Morillo et al, 2009**). Ils sont aussi les principaux déterminants des actions antimicrobiennes des margines et grignon d'olive (**Bianco et al, 1999**) ; ce qui les rend capables de modifier la composition microbienne du sol et seuls quelques microorganismes qui arrivent à se développer essentiellement les levures et les moisissures (**Borya et al, 1995**). Une étude faite sur l'activité anti microbiale des composés phénoliques issus des grignons d'olives en cultivant trois champignons sélectionnés dans un milieu additionné de quantités appropriées de l'extrait phénolique. Les composés phénoliques en concentration de 0,1 et 0,2% ont inhibé la croissance des trois champignons. Le début de la croissance a été retardé de 72 heures et jusqu'à 140 et 160 h respectivement, le champignon s'est développé plus lentement (**EWinkelhausen et al, 2005**). Cet effet est très nocif pour le sol et sa composition normale.

8. Valorisation des grignons

De nombreuses études ont montrés que les sous produits de la production oléicole peuvent être valorisés. Les grignons d'olives peuvent se transformer en un produit destiné à l'alimentation animale ou en huile dite de grignons d'olive qui s'utilise soit pour la consommation soit en cosmétologie et qui sert aussi à la fabrication des savons.

Par voie thermochimique les grignons peuvent se transformer, en charbon actif. La bio-combustion représente l'application la plus courante car le grignon est un combustible de valeur calorique moyenne (2950 kcal/kg) (**Benyahia, 2003**). Après séparation de la pulpe du noyau, la pulpe est transformée en pellets et les noyaux peuvent être utilisés directement dans les chaudières comme combustible.

Le compost des grignons d'olive sert pour l'amélioration de la fertilité des sols et de la productivité des cultures sur les terres agricoles.. Cette technique permet d'une part de réduire les coûts de fertilisation et d'autre part de limiter la pollution des ces rejets.

Les composés phénoliques, ainsi que d'autres composés organiques contenus dans les grignons, tels que la pectine et la lignine (**Rosello et al, 2015**), peuvent être utilisés comme additifs alimentaires.

Les grignons d'olive vu leur nature hautement lignocellulosique servent comme aliment animale après addition d'autres composantes (son, cactus, mélasse, fourrage, minéraux...).

La fraction insoluble des fibres alimentaires d'olive a été réservée en tant que source de sucres fermentescibles pour renforcer les produits de boulangerie (**Felizo et al, 2000**), alors que la fraction soluble de fibres précisément la pectine qui est un polysaccharide contenu dans le grignon a été proposé comme gélifiant et épaississant dans l'industrie alimentaire pendant des années (**Glanakis, 2011**).

L'huile du grignon est obtenue par traitements chimiques des grignons d'olive. Elle est destinée au raffinage en vue de son utilisation dans l'alimentation humaine ou destinée à des usages techniques comme la cosmétologie et la fabrication des savons (**Hammadi, 2006**).

L'usage de grignon d'olive dans la fabrication de la brique a plusieurs avantages comme : la diminution de la masse volumique des briques, la création des pores caractéristiques recherchée dans le but d'économiser l'énergie car leur présence dans les matériaux contribue à diminuer la conductivité thermique et augmente ainsi son pouvoir d'isolation (**Djadouf et al, 2011**).

9. Les poly phénols

Les polyphénols sont des phytomicronutriments qui constituent une famille de molécules spécifiques. Ils sont largement répandus dans le règne végétal ; On les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires (**Bruneton , 2008**), ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes (**Belkhi, 2009**) au niveau des activités fondamentales dans l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (**Martin et al, 2002**).

Dans les aliments les composés phénoliques peuvent contribuer à l'amertume, l'astringence, la couleur, la saveur, l'odeur et la stabilité à l'oxydation (**Marian, 2004**).

Les phénols végétaux possèdent élément structural fondamental caractérisant (**Balasundram et al, 2006**) qui est le cycle aromatique portant un ou plusieurs substituant hydroxyles . (**Ryan, 1998**)

10. Classification des poly phénols

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (**Hynes, 2001 et Mochizuki, 2001**). Alors que les polyphénols sont une famille e plus de 8000 composés naturels qui se divise en plusieurs catégories : les acides phénoliques, les tanins, les anthocyanes, les coumarines, les lignanes, les flavonoïdes, les tannins, les quinones, les xanthones, les phloroglucinols, les coumarines et d'autres classes (**Dacosta, 2003**).

Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 (**Harbone , 1993**).

Les **monomères** sont représentés par les acides phénoliques et les alcools. Les acides phénoliques comportent :

Les hydroxybenzoïques qui ont en commun la structure en C6-C1 et Incluent plusieurs molécules comme l'acide syringique, l'acide gallique, l'acide vanillique et le p-hydroxybenzoïque (**Kanoun, 2011**). On note que l'acide p- hydroxybenzoïque est très toxique. Il se trouve dans les parois cellulaires (**Leon, 2015**).

Les hydroxycinnamiques possédant un cycle aromatique avec une chaîne latérale à 3 carbones en plus C6-C3: l'acide caféique, l'acide férulique, p-coumarique, et l'acide sinapique (**Bouayed, 2007**) et (**Touafek, 2010**).

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre et l'arrangement d'atomes de carbone dans le squelette de base (**Laraoui, 2007**) (**Crozier et al, 2006**).

Plus de 36 composés phénoliques ont été identifiés dans l'huile d'olive qui sont hydrophiles (acides phénoliques, alcools phénoliques, flavonoïdes et sécoiridoïdes) et lipophiles (crésols).

Dans les **polymères**, il existe plusieurs classes :

- **Flavonoïdes** (C6-C3-C6) : appelés auparavant la vitamine P ou la bioflavine, la classe majoritaire des polyphénols (**Edeas , 2007**) ; le nom flavonoïde provient du mot Flavius qui signifie « jaune » (**Malesev et al, 2007**) . Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (**Scalbert et al, 2005**). ils sont représentés par les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les proanthocyanidines, les anthocyanes (**Williamson et al, 2013**) .

Les flavonoïdes sont bien retrouvés dans les légumes à feuilles comme les salades, les choux, les épinards, etc. ainsi que dans les téguments externes des fruits comme les agrumes (**Yao et al, 2003**). Parmi les flavonoïdes les plus connus et les plus étudiés, on a la « Quercétine » qui est un colorant naturel jaune présent dans : le raisin, les oignons, les pommes, les coings,etc. Elle présente des effets positifs sur la santé humaine Antitumorale, antioxydante, antiallergique, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur, diurétique. (**Boots et al., 2008**).

- **Tanins** : constituent le deuxième groupe important de composés phénoliques. Ils se divisent en tanins hydrolysables et tanins condensés. ils sont solubles dans l'eau avec la capacité de précipiter les protéines (**Koivikko et al., 2008**). Parmi les propriétés sensorielles des tanins : on a l'amertume et l'astringence. Ils sont des produits astringents ressemblent plusieurs produits comme l'acide cachoutannique, l'acide catéchique. Ils ont aussi un rôle stomacal, stabilisant sur le collagène, antioxydant, antidiarrhéique, antiseptique, vasoconstricteur et certains d'eux peuvent être utilisés comme masticatoire.

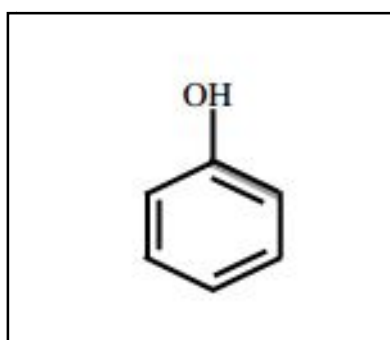


Figure 3 : Structure de base de poly phénol (Tsao R, 2010)

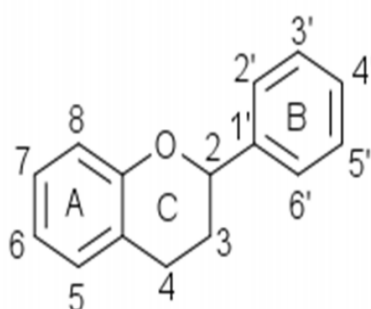


Figure 4 : Structure de base de flavonoïde (Dacosta et al, 2003)

Tableau IV : Classification des composés phénoliques

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiferine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

11. Sources alimentaires

Les poly phénols sont naturellement présents dans notre alimentation sous différentes formes telles que les vitamines A, C ou E, les carotènes et certains minéraux comme le sélénium et le zinc (Serra et al, 1994).

Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols, les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportant le reste (Middleton *et al.*, 2000). L'effet protecteur des fruits et légumes, est sûrement très lié à la présence de nombreux polyphénols présents dans ces aliments (Manach *et al.*, 2006).

Tableau V : Composés phénoliques et leurs sources alimentaires (Sharma et al, 2018)

Classes	Sous-classes	Exemples	Sources alimentaires
Acides phénoliques	Acides Hydroxy-benzoïques	acid gallique	Fraises , Murier
Acides phénoliques	Acid Hydroxy-cinnamique	Acide caffeiique	Kiwi , café,
Flavonoïdes	Flavonoles	Quercetine Myricetine	Broccoli, oignons, tomates , fèves
	Flavones	Apigénine	persil , thym
	Flavonones	Naringénine	Agrumes
	Isoflavones	Glycitéine	produits Soja
	Flavanols	Catéchine	Chocolat, thé

12. Composés phénoliques et santé

Les polyphénols et les flavonoïdes possèdent un large éventail d'activités biologiques et pharmacologiques expliquant leurs bienfaits sur la santé de l'homme. Ces activités sont liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques.

Ils ont un rôle vasculoprotecteurs. Ils étaient associés à une moindre survenue des du risques cardiovasculaires (MCV) (Solia ,2017) ; On peut les trouver sous formes de suppléments alimentaires indiqués comme des boosters d'énergie propre et durable (Manach et al, 2005).

Diverses recherches menées dans le monde ont suggéré que ces métabolites secondaires pouvaient inhiber la génération de tumeurs (Sderbel et al, 2007) ,et induire l'apoptose cellulaire (Sharma et al, 2018) . Ils sont fortement impliqués en prévention de plusieurs cancers comme le cancer de colon (Nashwa et al, 2014), de prostate (Gawlik et al, 2013),etc ; dont ils présentent une activité différentielle dans le ciblage les cellules cancéreuses (Batra et al, 2013) et ce qui explique leur propriété pro-oxydante (Khan et al, 2012).

Les polyphénols ont montré des effets protecteurs dans d'autres pathologies, telle que la sclérose en plaque (Gonzalez et al, 2010) , l'ostéoporose (Scalbert et al, 2005) , la maladie d'Alzheimer, la Parkinson (Spencer, 2010) . Les composés phénoliques peuvent aussi atténuer les infections d'origine virale ou bactérienne ou fongique (Ghedira, 2005).

Certaines études chez les animaux et chez l'homme montrent que les polyphénols et les flavonoïdes agiraient sur les facteurs du syndrome métabolique et présentaient une action antidiabétiques par stimulation de l'insulinosécrétion (Amiot et al, 2009) . Les feuilles d'olivier (*Olea europaea*) ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels pour ses propriétés hypoglycémiques. Dans un essai clinique randomisé, les sujets traités à l'extrait de feuille d'olivier présentaient des taux plasmatiques d'HbA1c et d'insuline plasmatique à jeun significativement plus bas (Julio et al, 2012).

13. Poly phénols et pouvoir anti oxydants

Les antioxydants se classent en 4 catégories : les caroténoïdes, les vitamines, les oligo-éléments et les polyphénols.

Les composés phénoliques issus de l'olive sont capables non seulement de piéger le radical anion superoxyde (O_2^-), mais aussi de diminuer leur production (**Lie et al, 2008**).Vue cette propriété, ils sont largement utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement d'un large spectre de maladies liées au stress oxydatif (**Dibong el al, 2011**).

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant sont nombreuses et peuvent être qualitatives par coloration ou décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants ou quantitatives (**Li et al, 1999**). Généralement effectuée par la méthode de réduction de fer (FRAP) et le piégeage du radical libre (DPPH).

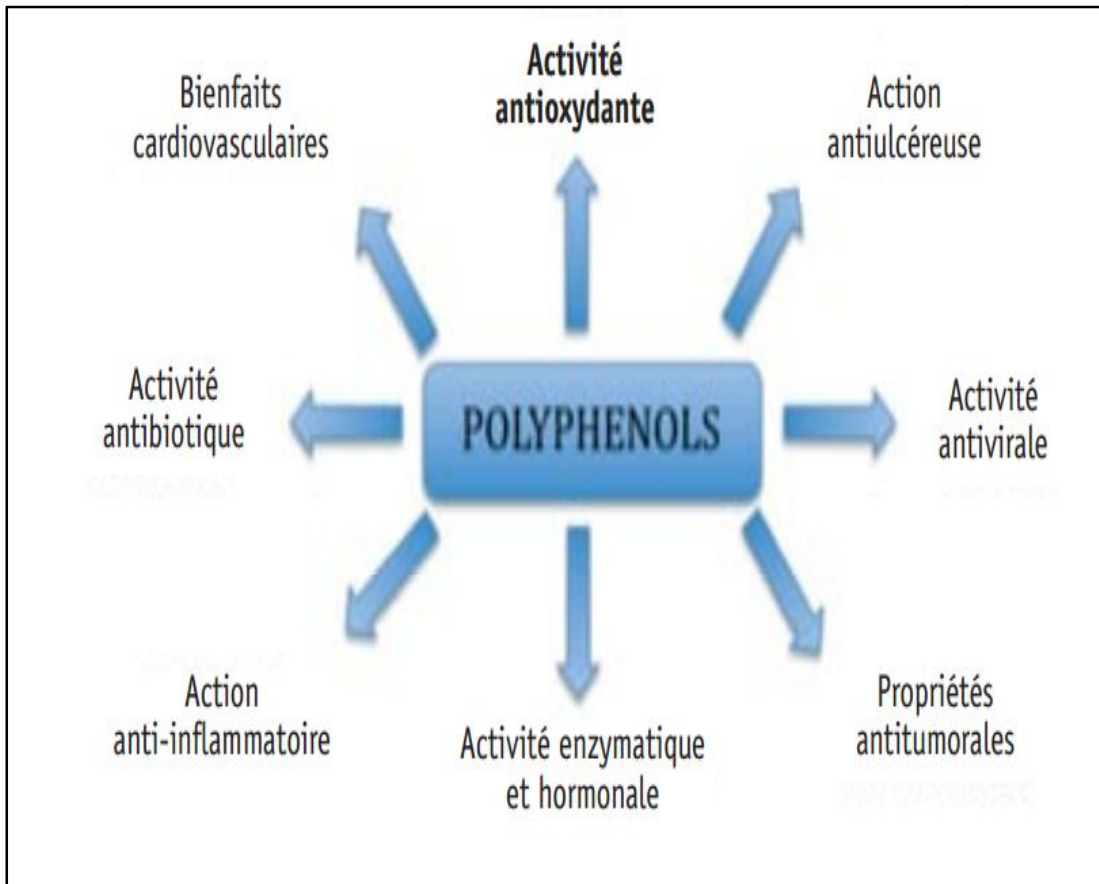


Figure 5 : Schéma des propriétés des poly phénols

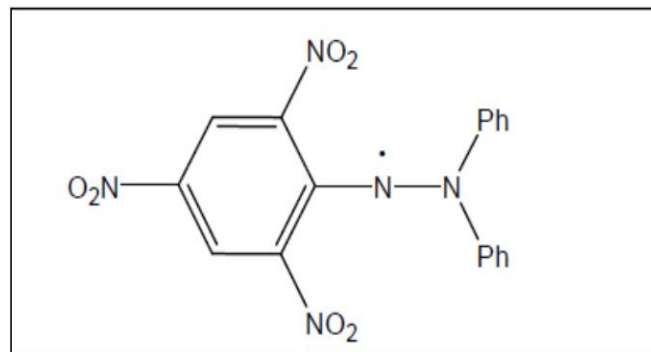


Figure 6 : Structure du radical DPPH

14. Polyphénols et propriété pro-oxydante

Bien que les polyphénols soient bien connus comme des puissants antioxydants, un effet pro-oxydant a été associé à leur effet pro-apoptotique dans divers types de cellules tumorales.

L'activité pro-oxydante des polyphénols pourrait également être médiée par la présence de certaines conditions, telles que des concentrations élevées, un pH élevé et une présence de métaux de transition, les composés phénoliques peuvent agir en tant que pro-oxydants (**Prokazkova et al, 2011**) en provoquant un stress oxydatif cellulaire. Le mécanisme est basé sur la formation d'un aroxil radical, ou un complexe redox labile avec un cation métallique (**Park et al, 2012**). L'hydroxytyrosol, un phénol simple présent dans l'huile d'olive, exerce une activité pro-apoptotique par production d'un dysfonctionnement mitochondrial en générant des espèces oxygène-radicalaires dans les cellules cancéreuses de la prostate et du côlon, mais pas dans les cellules normales (**Luo et al, 2013**) et (**Sun et al., 2014**).

Cette activité pro-oxydante explique leur intérêt en tant que chimio-sensibilisateur (**Lee et al, 2014**) et responsable de l'induction de l'apoptose et l'arrêt du cycle cellulaire (**Emhemmed , 2013**).

15. Intérêt à l'échelle industrielle

Les CP ont pu capter l'intérêt des chercheurs en raison de leurs bénéfices sur la santé. Ils sont révolutionnaires dans le monde médical et pharmaceutique. En ce moment , utilisés comme compléments alimentaires « extrait de fruits en poudre riche en PP ».

Les antioxydants phénoliques sont largement présents en agroalimentaire (**Visioli et al, 1999**) autant qu'antioxydants naturels alternatifs à l'utilisation des additifs alimentaires synthétiques tel que le buthylhydroxyanisole (BHA) , buthylhydroxytoluène (BHT), et le tert-butylhydroquinone (TBHQ) (**Bianco et al, 2000**) . Utilisés aussi pour l'enrichissement et la conservation des huiles autant qu'inhibiteurs naturels contre le rancissement et la détérioration oxydative. Ils sont ainsi devenus les molécules cibles des industriels et des laboratoires pharmaceutiques et cosmétiques. Ces substances miracles sont douées d'une capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines.

Matériels et méthodes

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

1. Matériel végétal

Les grignons d'olives utilisé dans notre expérimentation sont collectés au niveau d'une huilerie locale de la région d'OUZIDENE wilaya de Tlemcen.

Après séchage du grignon d'olive brut à l'air libre (dans un endroit sec, ventilé et ombragé), celui-ci a été broyé à l'aide d'un Moulinex pour obtenir une poudre (90 % de MS en moyenne).

2. Préparation des extraits polyphénoliques

Les extractions sont effectuées selon la technique rapportée par (**Ranalli A et al., 2006**).

Délipidation :

Pour avoir l'extrait de grignons d'olive délipidé (ED): nous avons versé 500 ml d'hexane dans un ballon surmonté d'un soxhlet contenant une cartouche de 10 g des grignons d'olive broyées. L'ensemble est porté à reflux (40°C) pendant 3 heures à l'aide d'un chauffe ballon.

Macération :

- ✚ Versement de 100 ml du mélange: méthanol / eau (80/20) sur 5 g de chaque matériel végétal.
- ✚ Agitation à l'aide d'un agitateur magnétique, à une température ambiante, et en obscurité, pendant 24h.
- ✚ Filtration et récupération des filtrats : extrait brut (**EB**) et extrait délipidé (**ED**).

Décoction :

- ✚ Mélange de 5g du matériel végétal avec 100 ml de solvant : « 5g → 100ml d'eau et 5g → 100ml de l'éthanol » dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et placé sur une plaque chauffante agitatrice
- ✚ Agitation et chauffage du mélange à une température d'ébullition stable, pendant 1 heure.
- ✚ Filtration et récupération du filtrat.

Calcul de rendement de l'extraction

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{M0}{M1} \times 100$$

M0 : Masse en gramme du résidu sec obtenu après évaporation du solvant d'extraction.

M1 : Masse en gramme de la matière végétale sèche initiale.

3. Analyse biochimique qualitative et quantitative

3.1. Screening phytochimiques

Screening phytochimique : les méthodes standards décrites par (**Bruneton, 2009; Karumi et al 2004 ; Oloyede 2005; Khan et al 2011**).

3.1.1. Flavonoides

Traiter 5ml de chaque extrait avec quelques gouttes de HCl concentré et 0,5g de tournures de magnésium (laisser agir). La présence des flavonoides est mise en évidence si une couleur rose , rouge ou jaune se développe après 3 min (**Karumi et al 2004**).

3.1.2. Tanins

2ml de la solution à tester ajouter 2 à3 gouttes de solution de FeCl₃ à 2%. Un test positif est revelé par l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (laisse reposer quelques minutes) (**Karumi el al 2004**).

3.1.3. Saponines (test de mousse)

5 ml de l' extrait à tester sont bien mélangés avec 10ml d'eau distillé pendant 2mn. après 15min l'apparition d'une mousse persistant indique une réaction positive. (**Karumi el al 2004**).

3.1.4. Quinones

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait (aqueux et éthanolique) à 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ diluée (1%). L'apparition après quelques minutes d'une coloration verte foncée ou bleue-verte indique la présence des tanins (**Karumi el al 2004**).

3.1.5. Anthraquinones

Dans un tube à essai introduire 1ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH₄OH (10%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

3.1.6. Terpenoides (test de Slakowski)

5 ml de la solution à tester sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique H₂SO₄ concentré. Une couleur rouge-marron de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (**Edeoga 2005**).

3.1.7. Sucres réducteurs

Leur dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1 ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge-brique indique leur présence (**Karumi et al 2004**).

3.2. Dosages des composés phénoliques

3.2.1. Dosage des poly phénols totaux

Les solutions nécessaires :

- ✓ Nitrite de sodium Na₂CO₃ (7.5%)
- ✓ Folin-Ciocalteu (1 /10)

La méthode adoptée dans notre étude est celle de **Singleton (1965)** basée sur l'oxydation des composés phénoliques par le Folin-Ciocalteu de couleur jaune, qui entraîne la formation d'un complexe molybdène-tungstène de couleur bleue. Un volume de 200 µl de chaque extrait est mélangé avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué et 0,8 ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5%. L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm. Une courbe d'étalonnage d'acide gallique a été établie. Les teneurs en phénols totaux sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme du poids de la matière sèche (mg EAG/g MS).

3.2.2. Dosage des flavonoïdes

Les solutions nécessaires :

- ✓ Eau distillée
- ✓ NaNO₂ (5%)
- ✓ AlCl₃ (10%)
- ✓ NaOH (4%)

Le dosage des flavonoïdes est déterminé en utilisant la technique de **Zhishen et al., (1999)**. Un volume de 500 µl de chaque extrait convenablement dilué est placé dans un tube à hémolyse en verre avec 1500 µl d'eau distillée. A temps zéro, 150 µl de nitrite de sodium NaNO₂ à 5% est ajouté au mélange. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium AlCl₃ à 10% (m/v) est rajouté. Après 6 min d'incubation à température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium NaOH à 1M est additionné, le mélange est homogénéisé et l'absorbance est immédiatement lue à 510 nm contre le blanc. Les teneurs en flavonoïdes des extraits bruts des sept parties étudiées sont exprimées en milligramme équivalents de catéchine par gramme du poids de la matière sèche (mg EC/g MS).

3.2.3. Dosage des tanins condensés

Les solutions nécessaires :

- ✓ Vanilline /méthanol (4%) :4g de vanilline dans 100 ml de méthanol.
- ✓ HCl

Les teneurs en tanins condensés sont estimées en utilisant la méthode de vanilline décrite par (**Julkunen-Titto1985**). Un volume de 50 µl de d'extrait brut est ajouté à 1500 µl d'une solution de vanilline/méthanol à 4% (m/v). Ensuite, 750 µl d'acide chlorhydrique concentré HCl est additionné, le mélange est homogénéisé et incubé à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Une courbe d'étalonnage de catéchine a été établie et les teneurs en tanins ont été estimées en milligramme équivalents de catéchine par gramme du poids de la matière sèche (mg EC/g MS).

4. Evaluation de l'activité anti oxydante

4.1. Test DPPH

Le pouvoir antiradicalaire de nos extraits sur le piégeage du radical DPPH est mesuré par la méthode décrite par (**Sanchez-Moreno et Larrauri 1998**). 50 µl d'extrait en solution dans le méthanol à différentes concentration croissantes, sont ajoutés à 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH à $6.34.10^{-5}$ M ; Un tube contrôle est préparé en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc pour chaque concentration qui contient 50 µl d'extrait et 1950 µl du méthanol.

Le pourcentage de piégeage ou de réduction du DPPH de chaque concentration d'extrait ou de standard est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de } \textit{éduct onlu D} = \frac{\text{AC} - \text{AT}}{\text{AC}} \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle

AT : Absorbance des échantillons

L'IC₅₀ est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de DPPH.

Elle est déterminée graphiquement selon l'équation de régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de chacun en calculant l'inverse des valeurs des IC₅₀. Ainsi, l'activité anti radicalaire (AAR) est déterminée en calculant l'inverse des valeurs selon la formule suivante :

$$R = \frac{1}{1 + 10^{\frac{A - A_{50}}{A_{50} - A_{0}}}}$$

4.2. Réduction de fer

L'activité anti oxydante des deux extraits a été évaluée en utilisant la méthode FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (**Li et al, 2008**).

Le pouvoir réducteur de l'échantillon a été déterminé selon la méthode **d'Oyaizu (1986)**. 1 ml de l'échantillon à différentes concentrations, on ajoute 2,5 ml d'une solution tampon phosphate (0,2M et pH 6,6) et 2,5ml de solution de ferricyanure de potassium à 1%.

Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min ; 2 ;5 ml de l'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction puis les tubes sont centrifugés à 3000 RPM/10min . 2,5 ml de surnageant sont ajoutés à 2,5ml d'eau distillée et 500 l de solution de trichlorure de fer FeCl₃ à 0,1% .

La présence des réductants dans les extraits provoque la réduction de fer Fe³⁺ complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, Fe²⁺ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert dans le milieu réactionnel à 700 nm. En d'autre terme, le système FeCl₃/K₃Fe(CN)₆ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi quantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction redox.. L'acide ascorbique est utilisé pour le contrôle positif dans cette expérience.

5. Analyses statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± ecart type. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes des différents groupes est réalisée par le test "t" de student. Cette analyse est réalisée grâce à un logiciel STATISTICA, version 4.1 (STATSOFT ,TULSA, OK). Les différences sont considérés significatives à *p<0.05 et hautement significatives à ** p< 0.01.

Résultats et interprétations

1. Etude phytochimique qualitative

Les résultats des analyses phytochimiques effectuées sur les deux extraits (aqueux et éthanolique) de grignons d'olives brut sont regroupés dans le Tableau suivant. On remarque que la présence des flavonoïdes et des quinones est identiques pour les deux extraits, par contre une absence totale des anthraquinones. Les tanins sont plus présents dans l'extrait aqueux, alors que la réaction des saponines est plus nette dans l'extrait éthanolique.

Tableau VI : Représentation des résultats de tests phytochimiques

TEST EXTRAIT	Extrait aqueux	Extrait éthanolique
Flavonoïdes	++	++
Tanins	+++	++
Saponines (test de mousse)	++	+++
Quinones	++	++
Anthraquinones	-	-
Triterpènes hétérosidiques	++	++
Composés réducteurs	+	+

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

2. Etude quantitative

2.1. Rendement d'extraction

Le rendement (%) représente le poids de l'extrait par rapport au poids du matériel végétal utilisé. Les valeurs de rendement de l'extrait brut et l'extrait délipidé des grignons d'olive sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Rendement de l'extrait brut et l'extrait délipidé des grignons d'olive

Extrait	Extrait brut	Extrait délipidé
Rendement		
Pourcentage de l'extrait %	19,46	17,6

Il apparait très clairement que le rendement de l'extrait brut (19,46%) est plus élevé que celui de l'extrait délipidé (17,6%).

2.2. Courbe d'étalonnage pour dosage des polyphénols totaux (Figure 7)

Cette courbe a été établie en utilisant, comme référence, l'acide gallique. La formule de régression linéaire de cette courbe est de $y = 2.916 x$, avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0.9978$) (Belyagoubi-Benhammou et al., 2014).

2.3. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes (Figure 8)

La catéchine a été utilisée comme référence pour tracer cette courbe d'étalonnage qu'on a utilisé pour le dosage des flavonoïdes. La formule de régression linéaire de cette courbe est de $y = 5.140 x$, avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0.9911$) (Belyagoubi-Benhammou et al., 2014).

2.4. Courbe d'étalonnage de dosage des tanins condensés (Figure 9)

Afin de tracer cette courbe d'étalonnage on a choisi la catéchine comme référence. La formule de régression linéaire de cette courbe est de $y = 0.1161 x$, avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0.9968$) (Belyagoubi-Benhammou et al., 2014).

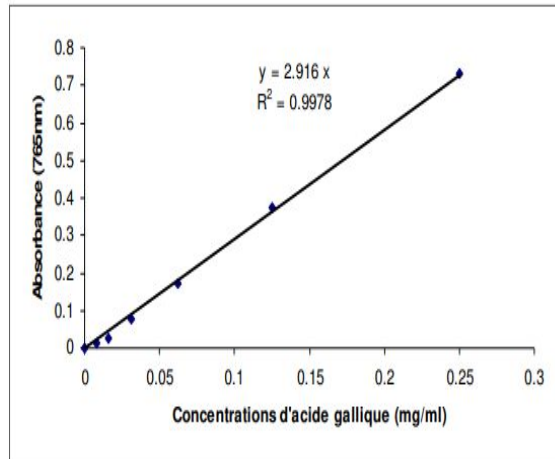


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

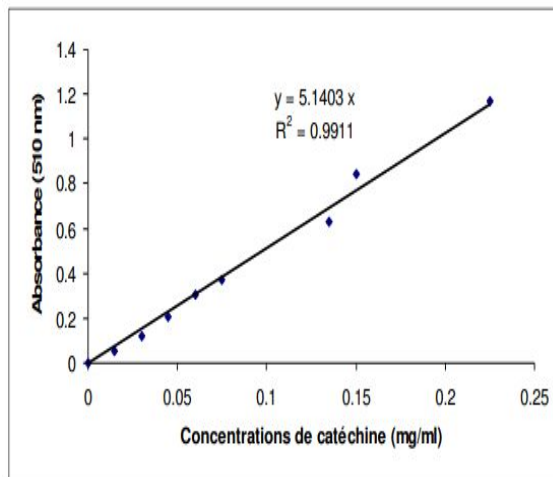


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

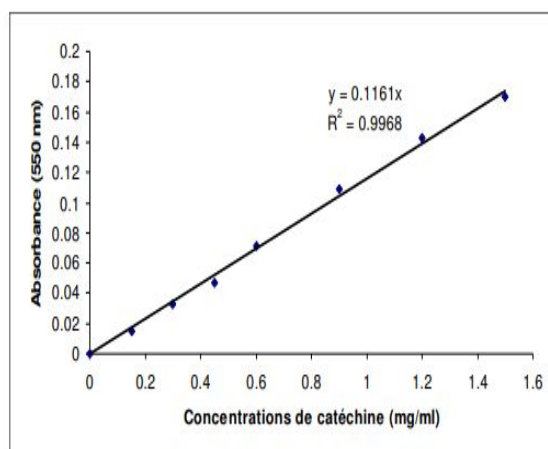


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

2.5. Teneurs en composés phénoliques dans l'extrait brut de grignon d'olive (EB) (Figure 10)

D'après nos résultats, la teneur la plus importante en CP de l'extrait brut de grignons d'olives est celle correspondant aux phénols totaux avec une teneur de (8,48 mg EAG/gE). Elle est presque 4 fois plus grande que celle des flavonoïdes (2,33 mg EQ/gE). Quant aux tanins, leur teneur en est la plus faible (0,61 mg EC/gE).

2.6. Teneurs en composés phénoliques dans l'extrait délipidé de grignon d'olive (ED) (Figure 11)

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans l'extrait brut délipidé de grignons d'olives sont égales à 10,26 mg EAG/g MS ; 3,17 mg EQ/g MS et 0,35 mg EC/g MS, respectivement.

2.7. Etude comparative des teneurs en polyphénols , en flavonoïdes et en tanins condensés entre l'EB et l'ED (Figure 12, 13, 14)

La comparaison des teneurs en CP dans l'extrait brut et l'extrait délipidé faite par le test 't' de Student a montré qu'il y a une différence hautement significative. En effet l'extrait délipidé est plus riche en poly phénols totaux et en flavonoïdes que l'extrait brut ; Alors qu'il est pauvre en tanins condensés.

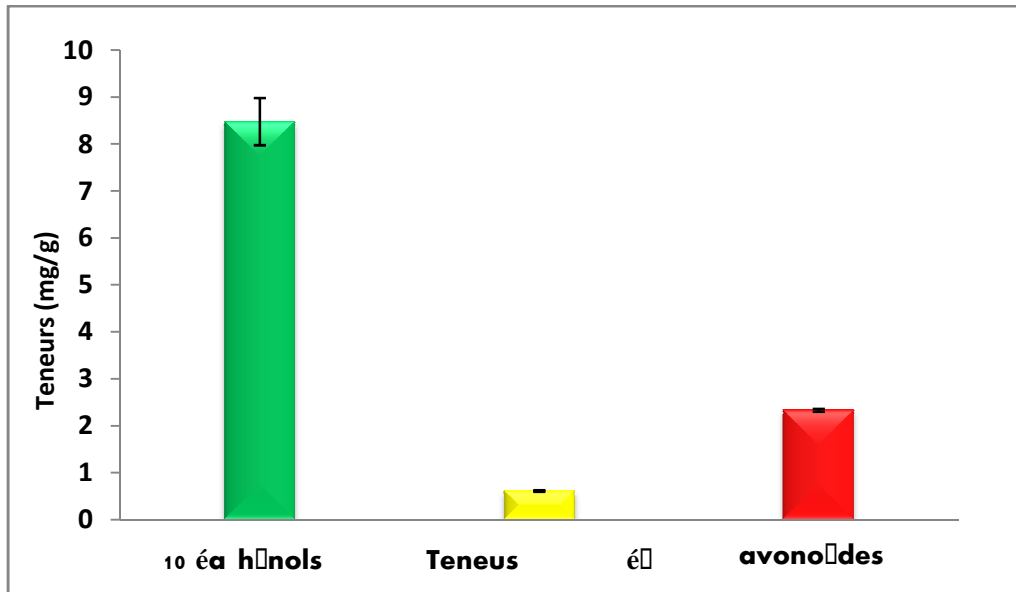


Figure 10 : Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés dans l'extrait brut de grignons d'olive (EB) exprimés en (mg/g)

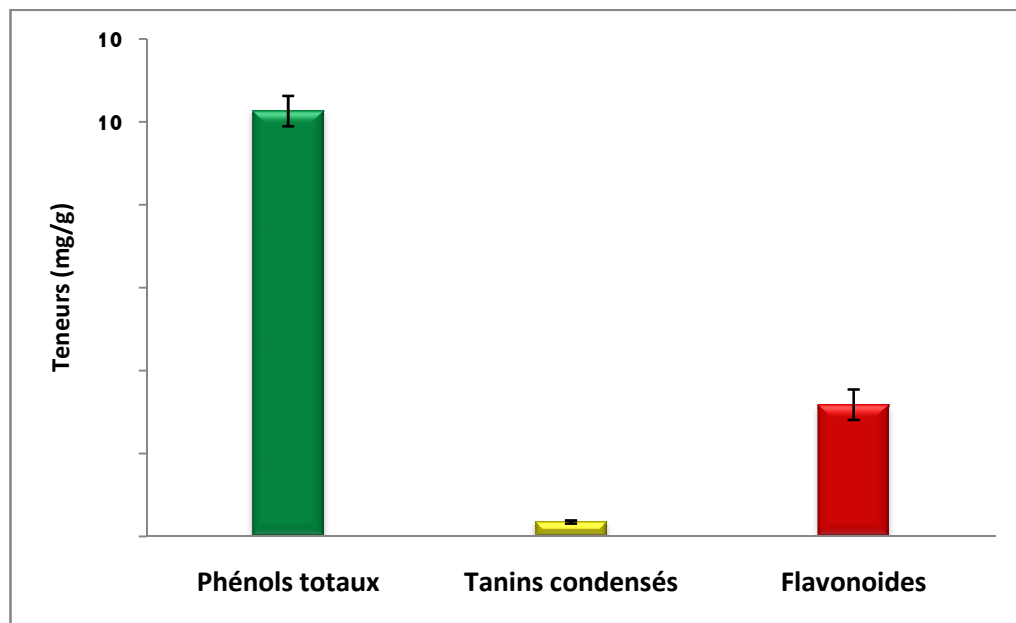


Figure 11 : D Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés sur l'extrait délipidé de grignons d'olive (ED) exprimés en (mg/g)

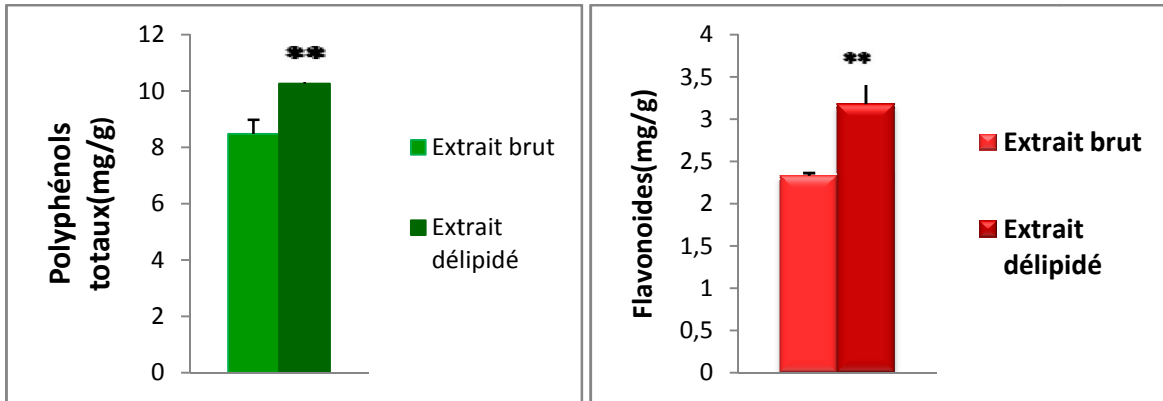


Figure 12 : Teneurs en phénols totaux EB et ED Figure 13 : Teneurs en flavonoïdes EB et ED

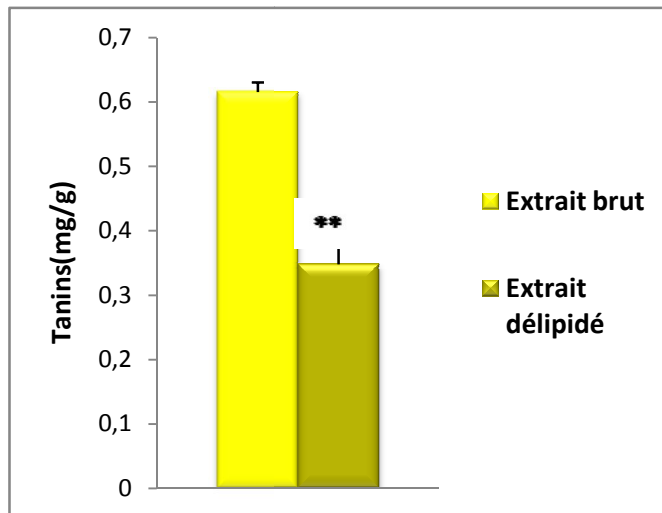


Figure 14 : Teneurs en tanins de l'EB et l'ED

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. La comparaison entre les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins dans l'extrait brut et l'extrait délipidé est faite par le test 't' de Student après analyse de variance. Les différences sont considérées significatives à $*p < 0,05$ et hautement significative à $**p < 0,01$.

3. Evaluation de l'activité antioxydante

3.1. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Figure 15)

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

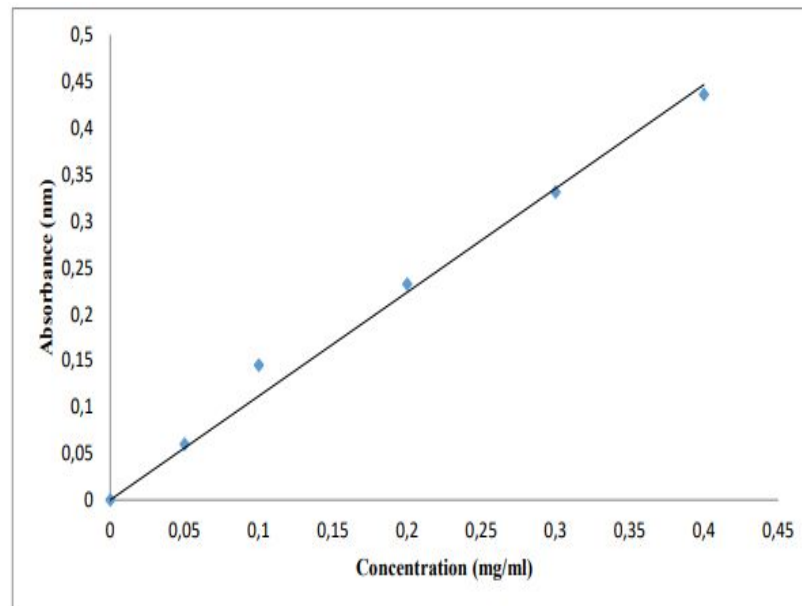


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

3.2. Pourcentage d'inhibition du radical « DPPH » (Figure 16) (Tableau VIII)

Les densités optiques enregistrées montrent une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations utilisées. Les résultats montrent que les allures de deux extraits EB et ED sont presque superposées. A la concentration 0,5 mg/ml, les pourcentages d'inhibition sont de l'ordre de 75% et 68% pour l'EB et l'ED, respectivement.

➤ Concentration IC₅₀ et activité antiradicalaire AAR

Nous avons pu graphiquement déterminer les IC₅₀ de chaque extrait puis calculer les AAR correspondantes qui sont inversement proportionnelles aux IC₅₀. Les résultats de **Tableau VIII** montrent que les IC₅₀ de l'extrait brut et l'extrait délipidé sont respectivement: 0.30 et 0.32. L'activité antiradicalaire de l'extrait brut (3,33) est plus élevée que celle de l'extrait délipidé (3,125).

Tableau VIII : IC 50 et AAR des extrait : brut et délipidé des grignons d'olive

	Extrait brut	Extrait délipidé	Acide ascorbique
IC 50	0,30	0,32	0,232
AAR	3,33	3,125	4,31

La IC 50 est la concentration nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH ,elle est inversement proportionnelle au pouvoir antiradicalaire (AAR) . Les résultats des extraits brut et délipidé présentés dans le **tableau VIII**, montrent des IC50% =0,30mg/ml et 0,32 respectivement, qui sont inférieures de celle enregistrée pour l'acide ascorbique qui est de : IC50% = 0,232 ± 0,2 mg/ml.

Les AAR de l'extrait brut et l'extrait délipidé calculés de l'ordre de : 3,33 et 3,125 respectivement ; sont inférieures à celle de la molécule référence : AAR (acide ascorbique)= 4,31.

3.3. Pouvoir réducteur de fer « FRAP » (Figure 17)

Dans notre travail, nous avons testé les deux extraits de grignons d'olives brut et délipidé à des concentrations allant entre 0.0 et 0.5 mg/ml. Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer des courbes à allures linéaires de la D.O à 700 nm en fonction des concentrations mg/ml. Les résultats obtenus montrent que les courbes sont ascendantes. La capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. A une concentration de 0,5 mg/ml l'absorbance de l'extrait brut est inférieure que celle de l'E délipidé soient respectivement : 1,39 et 1,68 ; Donc le pouvoir réducteur de l'extrait brut est moins que celui de l'extrait délipidé.

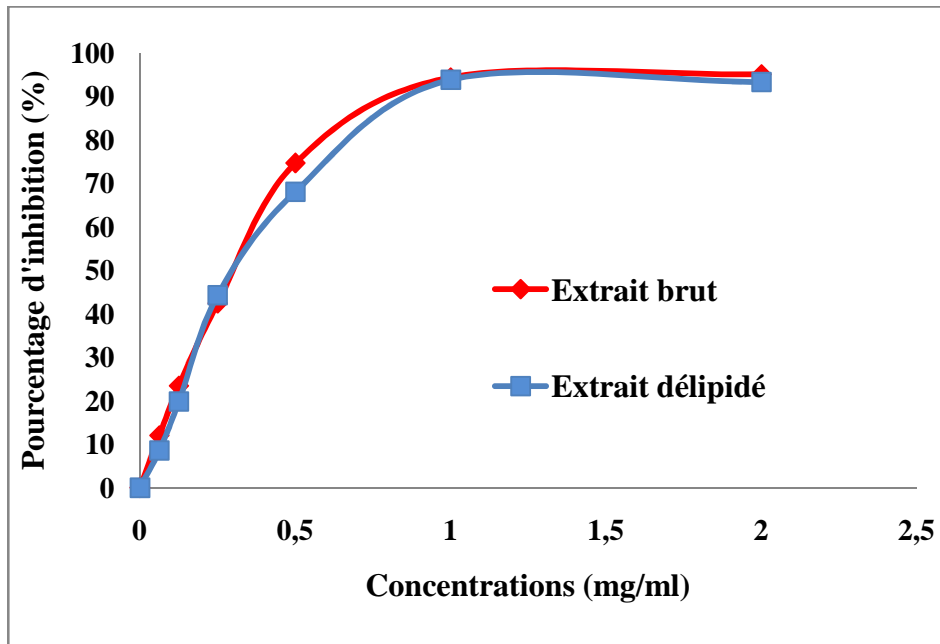


Figure 16 : Pourcentage d'inhibition % de DPPH en fonction des concentrations (mg/ml) de l'EB et l'ED de grignons d'olives

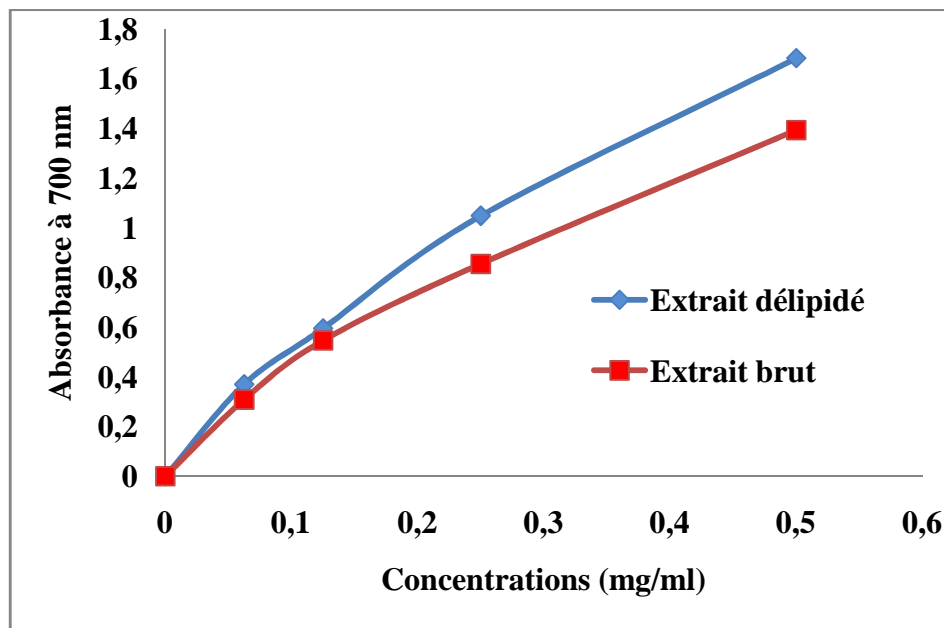


Figure 17 : Pouvoir réducteur de fer de l'EB et l'ED de grignons d'olives

DISCUSSION

Plusieurs végétaux contiennent des composés phénoliques (CP) mais, la répartition en qualité et en quantité de ces métabolites secondaires se diffère d'une espèce à une autre et d'un composé à un autre. Leurs propriétés reposent sur divers effets biologiques : activité antimicrobienne, antivirale, antifongique ...etc (**Senani et al., 2012**), d'où l'effet majoritaire est l'activité anti-oxydante. Les CP sont par excellence des inhibiteurs de l'oxydation par piégeage des radicaux libres.

Afin de faire un screening phytochimique, nous avons effectué une décoction par deux solvants : eau, eau/éthanol (20/80) (v/v) pour avoir deux extraits de grignons d'olive : un extrait aqueux et l'autre éthanolique. L'utilisation de différents solvants à polarité différente permet de séparer des composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. L'agitation continue et à courte durée, permet d'extraire le maximum des composants bioactifs et de prévenir leur dénaturation ou modification probable (**Hagerman., 2000**).

Cette étape de criblage phytochimique est basée sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Ces tests qualitatifs nous ont permis de connaître la composition préliminaire de l'espèce étudiée.

On a vu que la coloration jaune des flavonoïdes était présente dans les deux extraits aqueux et éthanolique. Cela est lié au degré de polarité : les flavonoïdes polaires et apolaires sont présents en quantités identiques dans notre grignon d'olives. Les tanins sont présents dans les deux extraits mais la réaction était plus nette dans l'extrait aqueux avec une coloration bleu noir et formation d'un précipité. Les saponosides sont moyennement présents dans chaque extrait mais la formation d'une mousse persistante de 1cm était dans l'extrait éthanolique. Les sucres réducteurs sont faiblement présents dans les deux extraits avec une faible intensité révélée par un précipité fin rouge-brique. Tandis que les anthraquinones étaient totalement absentes dans les deux extraits.

Nous avons réalisé des dosages quantitatifs de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés sur deux extraits de grignons différents : extrait brut (EB) et extrait délipidé (ED). La raison principale du choix de ces classes de CP, réside dans leur importance et leur présence déjà confirmée par criblage phytochimique.

La macération réalisée est une extraction solide-liquide qui permet l'accélération de l'extraction des CP en minimisant le temps de contact entre le grignon et le solvant sans influencer les effets bio-toxicologiques des composés tout en respectant certaines conditions

tels que l'étanchéité du récipient, l'obscurité et la température ambiante afin d'éviter toutes contaminations bactériennes ou déclenchement de fermentation. Le solvant utilisé était un mélange eau/méthanol ; il a été prouvé dans plusieurs études que le méthanol, l'éthanol, l'eau, l'acétone et l'acétate d'éthyle sont les solvants du choix ; le méthanol est facilement éliminable et moins toxique et l'ajout de l'eau est nécessaire pour faciliter le fractionnement de la solution. Ce mélange permet de moduler la polarité de solvant, la solubilité des CP dans le solvant et d'atteindre les conditions optimales pour l'obtention d'un meilleur rendement d'extraction et d'une meilleure activité antioxydante (**Simon-Both et al, 2014 et Alice et al, 2016**).

La délipidation ou l'extraction de Soxhlet est effectuée afin d'éliminer les lipides qui peuvent gêner l'extraction des CP en utilisant un solvant apolaire qui est l'hexane. Ce solvant capte les lipides dans la phase organique. C'est une technique classique qui permet d'avoir un bon rendement (**Luque de Castro et al., Aout 1998**). Cependant certains composés peuvent subir une thermodestruction car c'est une extraction solide-liquide à chaud dans un long temps (**Petco 2010**).

Les résultats de rendement d'extraction ont montrés que le meilleur rendement était celui de l'extrait brut. Puisque ces deux extraits sont issus du même matériel végétal donc il est très utile de comparé ses valeurs.de nombreux paramètres peuvent jugées cette différence comme :

- ✓ le solvant d'extraction (**Simon-Both et al, 2014**).
- ✓ la durée de l'opération : certains auteurs préconisent une durée courte (moins d'une heure) pour avoir un bon rendement et autrs montrent l'interet d'augmenter le temps d'extraction (1h à 24h) (**Yusuf et al, 2006**).
- ✓ la température : lorsqu'elle est excessive elle peut influencer la stabilité des composés phénoliques (**Larrauri et al., 1998**).
- ✓ Le ratio solide-liquide : plus il est élevé en augmentant le volume de solvant ou en diminuant la masse du solide, meilleure est l'extraction des polyphénols.

Nos résultats de l'analyse quantitative ont montrés que , les teneurs en poly phénols et en flavonoïdes dans l'extrait délipidé (10,26 mg EAG/g MS, 3,17 mg EQ/g MS) sont plus élevées que celles de l'extrait brut (8,98 mg EAG/g MS ; 2,34 mg EQ/g MS). Cela peut retourner à la technique de délipidation effectuée avant l'extraction des CP prouvée par **(Petco 2010)**. La teneur en tanins condensés dans l'extrait brut est de l'ordre de (0,6 mg EC/g MS) alors que dans l'extrait délipidé est moins importante : (0,34 mg EC/g MS).

D'après **(Rodis et al., 2002)**, après l'extraction de l'huile d'olive , une teneur de 2% de composés phénoliques de fruit se retrouvent dans cette huile et les 98% restants passent dans les sous produits tels que les grignons et les margines. De ce fait, ces résidus peuvent être considéré comme source naturelle importante de ces composés. Vu que notre grignons renferme une quantité intéressante en CP, il peut présenter une action toxique sur l'environnement s'il ne sera pas valoriser.

Les teneurs en polyphénols totaux obtenues à partir de notre extrait brut de grignons d'olives , sont beaucoup plus importantes que celles des grignons étudiées par **(Ünal et al., 1994)** soit 2,8 mg/kg et celles apportée par **(Zaidi et al.,2009)** de l'ordre de 11,8 mg/kg. Ces différences peuvent être jugées par le matériel végétal , la différence de polarité des solvants utilisés et même la non spécificité du réactif de Folin qui peut conduire à une surestimation des CP . Malgré la sensibilité et la simplicité, la disponibilité et la reproductibilité de cette méthode, ce réactif peut réagir avec des protéines, des sucres réducteurs, l'acide ascorbique, les amines aromatiques et des composés soufrés **(Singleton et al., 1999)**.

Les écarts des valeurs trouvées entre les différents résultats apportées par les autres références bibliographiques sont probablement expliqués par :

Des facteurs liés au matériel végétal utilisé **Boudhrioua et al.,(2009) :**

- ✓ la différence entre les types de grignons utilisés.
- ✓ le degré de maturation de la plante source,
- ✓ les conditions climatiques, géographiques,
- ✓ l'état physiologique et l'âge de la plante
- ✓ les conditions de conservation du matériel végétal,

Des facteurs liés à la méthode d'extraction adoptée **Escribano (2003):**

- ✓ Le type de solvant utilisé et la dimension des particules ; Plus Les particules sont fines plus le solvant diffuse facilement et permet aux composés phénoliques d'être mieux transférés **Virginie et al. (2015)**.
- ✓ Le volume d'un solvant
- ✓ Le nombre d'extraction
- ✓ La température

Aussi un séchage effectué pour les grignons d'olives permettent d'avoir un meilleur transfert de matière et d'augmenter la surface de contact entre le grignon et le solvant ce qui favorise une bonne extraction des CP.

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à freiner l'oxydation. Il est recommandé de la déterminer par au moins deux tests tel que « DPPH et FRAP » pour la confirmer (**Prior et al., 2005**). Parmi les antioxydants les plus connus on trouve les composés phénoliques, de ce fait nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antioxydante de l'extrait brut (EB) et l'extrait délipidé (ED) des grignons d'*Olea Europea*.

La réalisation des tests DPPH et FRAP sur l'extrait brut et l'extrait délipidé de grignons a montré une activité antioxydante modérée avec des IC50 % qui sont proches et inférieures à celle de l'acide ascorbique.. Cette activité antioxydante marquée peut être expliquée par la présence des groupements hydroxyles des composés phénoliques contenus dans l'extrait de grignon est cela est confirmé par (**Hayes et al., 2011**).

Les résultats de l'étude comparative de l'effet de piégeage du radical libre DPPH montrent que l'extrait brut a le plus fort effet avec un pourcentage d'inhibition de 74,63% à une concentration de 0,5 mg/ml, alors que l'extrait délipidé a atteint à cette concentration 68,02%. Dans les graphes figure 16 il apparaît clairement que les IC50 de l'extrait brut et l'extrait délipidé sont proches et plus élevées que celle de l'acide ascorbique. Donc l'activité antioxydante de l'extrait brut est un peu élevée que celle de l'extrait délipidé pourtant ce dernier était plus riche en phénols totaux et en flavonoïdes mais les deux restent inférieures à celle de l'acide ascorbique. Cette différence peut être expliquée par la contribution d'autres composés contenus dans l'extrait brut qui présentent un pouvoir anti radicalaire pour le DPPH. C'est-à-dire l'activité antioxydante de l'extrait brut a été largement étudiée. Aussi la réaction « Antioxydant-DPPH » dépend de la conformation structurale, certains composés

comme l'acide ascorbique réagissent rapidement avec le radical DPPH, réduisant un nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupements hydroxyles (**Bondet et al., 1997**).

les travaux de **SALTA et al., (2009)** ont observé que la capacité antioxydante est augmentée lors de l'enrichissement de l'huile de tournesol avec l'extrait phénolique de feuilles d'olive avec une concentration de 195mg/kg. Cet effet est lié aux CP des extraits rajoutés.

Ceci est en accord avec (**Arquas. , 2012**) l'extrait phénolique de la feuille d'olivier semble avoir un pouvoir antioxydant proche que celui de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 0,134$ mg/ml). Donc ses résultats obtenus montrent clairement que les CP extraits de la feuille d'olivier sont des vrais concurrents pour les puissants antioxydants soit naturels comme l'acide ascorbique soit synthétiques tel que l'hydroxytoluène butylé (BHT).

(**Bensallah et al., 2012**), ont étudié l'activité antioxydante d'une variété de l'olivier cultivé de la région Chemlali en Tunisie. Les auteurs ont obtenu une IC_{50} de 7.90 μ g/ml en utilisant l'eau/éthanol (30/70) (v/v) comme solvant d'extraction. Ce qui montre que l'olivier pourrait être une nouvelle source des antioxydants naturels.

Dans le test de FRAP l'activité antioxydante est proportionnelle à l'absorbance à 700 nm qui correspond à l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel de la réduction de Fe^{3+} . D'après l'étude comparative des résultats de cette technique : à une concentration de 0,5 mg/ml l'absorbance de l'extrait brut est inférieure que celle de l'extrait délipidé soient respectivement : 1,39 et 1,68 ; Donc le pouvoir réducteur de l'extrait brut est moins que celui de l'extrait délipidé. Cela peut être attribué aux teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes qui sont clairement inférieures dans l'extrait brut que dans l'extrait délipidé. En faite la variation de l'activité antioxydante des différents extraits peut être expliqué par la concentration des composés phénoliques (**Soobrattee et al., 2005**).

Les résultats obtenus de (**Benaid Ouissam, 2018**) suggèrent que les composés phénoliques peuvent être des stabilisants des membranes biologique, ils peuvent réduire aussi l'oxydation et l'agrégation des lipides c'est pour cela il est conseillé d'avoir une alimentation riche en sources de composés phénoliques tel que les fruits et les légumes.

Les résultats de test de biodégradabilité du grignon et des margines réalisés sur la croissance des différentes souches de rhizobiums par (**Amrane Sihem, 2017**) montrent une faible dégradation des grignons chez la plupart des souches testées. La phytotoxicité des

grignons est essentiellement liée aux CP (**Lynch, 1980**), qui sont difficilement biodégradable et qui agissent comme des inhibiteurs de croissance et de germination végétative (**Morillo et al., 2009**) et même d'activité microbienne du sol (**Marisot et Tournier, 1986**).

Toutes ces études ainsi que la notre prouve que les grignons d'olives et leurs CP sont doués de plusieurs activités biologiques et toxicologiques d'où la nécessité de les valoriser et de mettre en œuvre des méthodes d'extraction faciles et à haut rendement. Il est important de prendre en compte le choix des solvants d'extraction utilisés qui ne poserait pas un nouveau problème de pollution.

Conclusion

Les grignons d'olives étaient souvent abandonnés et considérés comme un polluant en raison de leur résistance à la biodégradation, ou utilisés uniquement comme aliments pour les animaux. Alors que la majorité des composés bioactifs contenus dans les olives tels que les CP restent dans ces déchets lors de la production d'huile d'olive.

Les CP prennent un intérêt considérable, notamment à cause de leur activité antioxydante bien élevée, ce qui donne une valeur pharmacologique et industrielle non négligeable. Ils présentent même des propriétés bénéfiques sur la santé humaine autant qu'anti inflammatoires, anti diabétiques, anti tumorales, protecteur vasculaires,...etc.

Selon le screening phytochimique que nous avons fait sur les extraits aqueux et éthanolique, les grignons d'olive de cette étude sont caractérisés par la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des tri terpènes hétérosidiques et des quinones en quantités variables, ainsi que des composés réducteurs en faible quantité et par une absence totales des anthraquinones.

D'après nos résultats obtenus de l'analyse quantitative effectuée sur l'extrait brut et l'extrait délipidé, on peut conclure que les grignons d'olives sont une source naturelle importante de CP, et qui sont caractérisés par une activité antioxydante déterminée et confirmée par deux méthodes : DPPH et FRAP.

Pour cette raison, il serait intéressant de chercher des moyens de valorisation des grignons d'olives et les transformer d'un produit polluant à une source de revenus complémentaires pour le secteur oléicole, en s'orientant vers la récupération de ses CP autant qu'antioxydants naturels.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Le Quoran : (Sourate ATTYN).

Alarcón De La Lastra, C., Baranco, M.D., Motilva, V., Herrerías, J.M., 2001. Mediterranean Diet And Health: Biological Importance Of Olive Oil. *Curr. Pharm. Des.* 7, 933-950.

Alburquerque J.A., Gonzalez J., Garcia D., Cegarra J. (2004). Agrochemical Characterization Of "Alpurejo" A Solid By-Product Of Two-Phase Centrifugation Method For Olive Oil Extraction. *Bioresource Technol.* 9: 195-200.

Alice M Et Al. Juil 2016. « Microwave, Ultrasound, Thermal Treatment And Bead Milling As Intensification Techniques For Extraction Of Lipides From Oleaginous *Yarrowia Lipolytica* Yeast For A Biojetfuel Application ». In : *Bioresources Technology* 211 P. 190-199.

Alu'Datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Gammoh, S., Ereifej, K., Al- 396 Mahasneh, M. A., & Kubow, S. 2017. Soft Chemistry And Food 397 Fermentation. In: A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.) , p. 265–298. 398 Elsevier.

Amarowicz R., Troszyńska A., Baryłko-Pikielna N., Shahidi F. 2004a: Extracts Of Polyphenolics From Legume Seeds – Correlation Between Their Total Antioxidant Activity, Total Phenolics Content, Tannins Content And Astringency. *Journal Of Food Lipids*, 11: 278–286.
Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., Weil J.A. 2004b: Free-Radical Scavenging Capacity And Antioxidant Activity Of Selected Plant Species From The Canadian Prairies. *Food Chemistry*, 84: 551–562.

Amrane Sihem , Amrane Faiza. « Effet Des Margines Et Des Grignons D'olive Sur La Croissance De *Rhizobium* » *Mém. Microbiologie, Université A.Mira-Bejaia* (2017).P 26.

Ardestani A., Yazdanparast R. (2007): Antioxidant And Free Radical Scavenging Potential Of *Achilleasantolina* Extracts. *Food Chemistry*, 104: 21–29.

Arquas. H , 2012. Extraction Des Composés Phénoliques De Feuilles D'olivier Et Etude De Leurs Activités Biologiques. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté Des Sciences Et Techniques USMBA-Fès Maroc.

Balasundram N., Sundram K. And Sammam S. 2006. Phenolic Compounds In Plants And Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, And Potential Uses. *Food Chemistry*. 99:191-203.

Batra P And Sharma AK: Anti-Cancer Potential Of Flavonoids: Recent Trends And Future Perspectives. 3 Biotech 3: 439-459, 2013.

Belyagoubi-Benhammou N, Belyagoubi L, Atik-Bekkara F, 2014. Phenolic contents and antioxidant activities in vitro of some selected Algerian plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(40): 1198-1207.

Benaid Ouissam, 2018 Interactions Entre Les Composés Phénoliques Et Les Lipides. *Mém. Université A. MIRA – Bejaia*.

Benosman R. Et Mamchaoui., 2005. Contribution Au Contrôle De Qualité Physicochimique D'échantillons D'huiles D'olives. *Mém. Ing. Bio. Université De Tlemcen*, P103.

Benyahia N. Et Zein K. (2003). Analyse Des Problèmes De L'industrie De L'huile D'olive Et Solutions Récemment Développées. 2ème Conférence Internationale Swissenvironmental Solutions For Emerging Countries (SESEC II) Du 28-29. Janvier à Lausanne, Suisse 8.

Bianco A. Etucella N. Biophenolic Components Of Olives. *Food Research International*, 33 (2000) 475-485.

Bianco A., Muzzalupo I., Piperno A., Romeo G., Uccella N. (1999). Bioactive Derivatives Of Oleuropein From Olive Fruits. *J Agric Food Chem*, 47:3531–3534.

Bondet V., Williams W.B., Berset C. ; 1997. Kinetic And Mechanism Of Antioxidant Activity Using The DPPH Free Radical Method. *Lebensmittel-Wissenschaft Un Technologie*, 30, 609-615.

BOOTS AW, HAENEN GM, BAST A (2008). Health Effects Of Quercetin: From Antioxidant To Nutraceutical. *Eur J Pharmacol*. 585: 325-337.

Borya R., Alba J., Garrido S.E., Martinez L.M., Garcia M.P., Monteoliva M., Ramos-Cormenzana A. (1995). Effect Of Aerobic Pretreatment With *Aspergillus terreus* On The Anaerobic Digestion Of Olive-Mill Wastewater. *Biotechnol Appl Biochem*, 22:233–246.

Boskou, D. (Ed.), *Chimie De L'huile D'olive, Propriétés, Health effects*, AOCS Press, Thessalonique, P. 41, 72.

Boskou, D., Blekas, G., Tsimidou, M., 2006. In: Boskou, D. (Ed.), *Olive Oil Chemistry, Properties, Health Effects*. AOCS Press, Thessaloniki, Pp. 4172.

Boussenadji, 2005. L'huile D'olive Et La Santé. *Santé Plus N° 39-40* , Janvier-Février.

Bruneton (1999) « Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes Médicinales » 3^{ème} édition Paris.

Bruneton J., 2009. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales, 4ème Edition De Médicales Internationales (Tec Et Doc), Paris: 1288.

Conde.C., Delrot.S., Geros, H., 2008. Physiological, Biochemical And Molecular Changes Occurring During Olive Development And Ripening. *J. Plant Physiol.* 165, 1545-1562.

Cowan, N.M. 1999. Plant Product As Antimicrobial Agent. *Clinical Microbiology Reviews.* 12(4):564-582.

Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006). *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.* EdtBlackwellPublishing Ltd.

CUCCI G., LACOLLAG., CARANFA L. (2008). Improvement of soil properties by application of olive oil waste. *Agronomy for Sustainable Development.*28, 521–526.

Dacosta E (2003). *Les phytonutriments bioactifs.* Yves Dacosta (Ed): 317.

D'Angelo S, Cimmino A, Raimo M, Salvatore A, Zappia v and Galletti P: Effect of reddening-ripening on the antioxidant activity of polyphenol extracts from cv. 'Annurca' apple fruits. *J Agric Food Chem* 55: 9977-9985, 2007.

DARVISHI RARSHAD 2012. Microbial biotechnology in olive oil industry. Ed Agricultural and biologicalsciences , pp 310-330.

DibongDibong SD, Mony R, Ladoh CF, Boussim IJ, Amougou A, 2011. Parasitism evolution of Loranthaceae in the Ndogbong chiefdom's orchard (Douala,Cameroon). *Int. J. Plt. An. Env. Sci.* 1 (3), 2231-4490.

Djadouf S., Tahakourt A., Chelouah N. et Merabet D. (2011). Utilisation du grignon d'olive et foin comme ajouts dans la fabrication des briques de terre cuite. Séminaire International, Innovation et Valorisation en Génie Civil et matériaux de Construction, Univ de Bejaïa N° 10-051.p1-5.

E.Winkelhausen, R Pospiech... - Bulletin Of The Chemists , 2005 - Research gate.Net Antifungal Activity Of Phenolic Compounds Extracted From Dried Olive Pomace.

Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5, 264–270. Erlund, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutrition Research*, 24, 851-74.

Edeoga 2005 Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants, *Afr. J. Biotechnol.* 4(7): 685-688.

Emhemmed F, Dandache I, Auger C, et al. 2013. The polyphenolic-rich *Aroniamelanocarpa* juice kills teratocarcinoma cancer stem-like cells, but not their differentiated counterparts. *Journal of Functional Foods*, 5:1244-52.

Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C., 2003. Polyphenol extraction from foods. *Methods in polyphenols analysis* 1-16.

Evans J. 2005. Mistletoe: Good for more than free kisses. *Journal of American Botanical Council*. 68, 50-59.) ;

F. Belkhiri (2009). Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *Tymus communis* L. et *Carthamus scaberrimus* L. Mémoire de Magister, Université de SETIF. P 26-27 47.

Farag R., El-Baroty G. and Basuny, A. (2003). *Internat. Journal of Food Science and Technology*, 38 81-87.

Felizo N, B., Fernandez-Bolan Os, J., Heredia, A., Guille N, R., 2000. Steam-Explosion Pretreatment Of Olive Cake. *J. Am. Oilchem*)

Fiestas J.A., BORJA R. (1992). Use And Treatment Of Olive Mill Wastewater : Current Situation And Prospects In Spain. *Grasas Y Aceites*. 43, 101-106.

Fiorentino A ; Gentili A;. 2004. Olive Oil Wastewater Treatment Using A Chemical And Biological Approach *J. Agric Food Chem* , 52 (16) 5151-5154.

Galanakis, C.M., 2011. Olive Fruit And Dietary Fibers: Components, Recovery And Applications. *Trends Food Sci. Technol.*

Gausson Henri - L'Olivier Et Le Climat Insubrien. - 1951: *Bulletin De La Société Botanique De France*, 8, Tome 98 - Fascicule Session. P. 130- 131 - Départ./Région.

Gawlik-Dziki, U.; Świeca, M.; Sułkowski, M.; Dziki, D.; Baraniak, B.; Czyż, J. 2013. Antioxidant And Anticancer Activities Of *Chenopodium Quinoa* Leaves Extracts - In Vitro Study. *Food Chem. Toxicol.*, 57, 154-160.

Gharby S., Harhar H., Guillaume D., Haddad A., Charrouf Z. *Nat. Prod. Com.* 7 (2012) 621-624.

Gharby S., Harhar H., Kartah B., Chafchaoui I, Sibawayh Z., Charrouf Z. J. Mater. Environ. Sci. 4 935.

Ghedira K. (2005). Les Flavonoïdes: Structures, Propriétés Biologiques, Rôles Prophylactiques Et Emplois En Thérapeutique. *Phytothérapie*. 04: 162-169.

Gonzalez-Gallego J., Garcia-Mediavilla M.V., Sanchez-Campos S., Tunon M.J. (2010). Fruit Polyphenols, Immunity And Inflammation. *British Journal Of Nutrition*. 104: S15-S27. ,

Gooch, E. Ten Plus One Things You May Not Know About Olive. *Epikouria Magazine*, Fall/Spring 2005. Available Online: [Http://Www.Epikouria.Com/Issue1/10+1-Things-Olives.Php](http://Www.Epikouria.Com/Issue1/10+1-Things-Olives.Php) (Accessed On 5 November 2011).

Guillaume, C., Ravettei, L., Ray, D.L., Johnson, J., 2011. Technological Factors Affecting Sterols In Australian Olive Oils. *J. Am. Oilchem. Soc.*

Gurib-Fakim. Toutes les plantes qui soignent, Plantes d'hier, médicaments d'aujourd'hui, Ed. Michel Lafon, 2008.

Hachemi I. Et Benazza H., 2015. Perspectives D'amélioration De La Production Et La Conservation Des Olives Et Les Produits Oléiques Dans La Région De Tlemcen, Agroalimentaire. Université De Tlemcen.

Hagerman A.E., Rice M.E. and Ritchard N.T. 1998. Mechanisms Of Protein Precipitation For Two Tannins, Pentagalloyl Glucose And Epicatechin16 (4f8) Catechin (Procyanidin). *Journal of Agriculture and Food chemistry*, 46: 2590-2595.

Hammadi C. (2006). Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. *Bulletin mensuel d'information et de liaison de PNTTA, Rabat*. N° 141.

Harbone, J.B. (1993). *Introduction to Ecological Biochemistry*, 4th Ed; Academic Press: London.

Hayes J.E., Allen P, Brunton N., O'Grady M.N., Kerry J.P. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry* 126, 2011; 948–955.

Huile d'olive, *Olea europaea* L. F. Gigon1, R. Le Jeune11 Dumenat de phytothérapie, Paris-XIII, 74, rue Marcel-Cachin, F-93017 Bobigny cedex, France Correspondance : phyto@mac.com

Hynes M.J., O'Coinceanainn M. (2001). The kinetics and mechanisms of the reactions of aluminium(III) with gallic acid, gallic acid methyl ester and adrenaline. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 84:1-12.

J. Bouayed (2007). Etude de la corrélation anxiété / statut oxydatif des granulocytes chez la souris et évaluation des effets antioxydants / neuroactifs des polyphénols extraits de *Prunus domestica*L. Thèse de doctorat, Université de Paul Verlaine-Metz. p 10 14- 69- 72- 74.

JACOLOT B., 1997. Intérêt nutritionnel de la consommation de l'huile d'olive. OCL, 1997, Vol 4, N° 5, p.373-4.; CHARBONIER.

Jean Grille et al. (2003). Lipides et corps gras alimentaire.

Joseph Gastard et A. Branche 1968. Manuel de pharmacie pratique 15^e édition.

Julio Wainstein, Tali Ganz,1 Mona Boaz, Yosefa Bar Dayan, EranDolev, Zohar Kerem, and Zecharia Madar. 2012. Olive Leaf Extract as a Hypoglycemic Agent in Both Human Diabetic Subjects and in Rats .JOURNAL OF MEDICINAL FOOD.

K. Kanoun (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtuscommunis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine) Mémoire de Magister Université de Tlemcen. p 26-29-48-49.

Karumi et al 2004. Karumi Y ; Onyeyili PA ; Ogugbuaja VO; 2004. Identification of active principales of *M. balsamina*(Balsam apple) leaf extract. J Med Scien 2004 ; 4: 179- 182. Kirsch

Kernou O. (2015). Bioamélioration du grignon d'olive par culture submergée d'une souche locale de streptomycetes. Mémoire de Magister de microbiologie. Université de Bejaïa 79 p.

Khan et al 2011. Khan et al. 2011 29 of a novel family of proteins characterized by cysteine repeats and a leucine zipper. Plant CellPhysiol 43: 467-78

Khan HY, Zubair H, Ullah MF, Ahmad A and Hadi SM 2012: A prooxidant mechanism for the anticancer and chemiopreventive properties of plant polyphenols. Curr Drug Targets 13: 1738-1749,.

KHOUFI S ; ALOUI F ;SAYADI S (2006) . Treatment of OMW by combined process electro-fenton reaction and anaerobic digestion. Water res. , p 40)

Koivikko R., Lopenon J., Eränen J.K. and Jormalainen V. (2008). Variation of phlorotannins among three populations of *Fucus vesiculosus* as revealed by HPLC and colorimetric quantification. Journal of Chemical Ecology, 34: 57-64.

Laraoui, .H.(2007). Docteur de l'université Louis pasteur "Etude Phytochimique L'Extrait Chloroformique de *Bupleurum Atlanticum*" .

- Larrauri José A. Conception Sanchez-Moreno et al., « Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels ».In : J.Agric food chem. 46.7 (1998), p. 2694-2697.
- Lee D-H, Kim D-W, Jung C-H, Lee YJ, Park D 2014. Gingerol sensitizes TRAIL-induced apoptotic cell death of glioblastoma cells. Toxicology and Applied Pharmacology.;279:253-65.
- Lee YS. 2005. Role of NADPH oxidase-mediated generation of reactive oxygen species in the mechanism of apoptosis induced by phenolic acids in HepG2 human hepatoma cells. ArchPharmRes.;28:1183-9.
- León-González, A. J., Auger, C ; Schini-Kerth, V. B. (2015). Pro-oxidant activity of polyphenols and its implication on cancer chemoprevention and chemotherapy. BiochemicalPharmacology, 98(3), 371–380. doi:10.1016/j.bcp.
- Li, J., Mookerjee, B. and Wagner, J. 2008. Purification of melanoma reactive T cell by using a monocyte based solid phase T cell selection system for adoptive therapy. J. Immunotherapy, 31:81–8.
- Li, P., Anu, H., Jari, S., Teijo, Y., Heikki, V. (1999). TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology ,Chemistry and Nutrition,(10) : 123- 187.).
- Lolos M., Oreopoulou, V. and Tzia, C (1999). Journal of the Science. Food and Agriculture, 79 1524-1528.
- Lucienne Ali Delille. Les plantes médicinales d'Algérie 3^e Edition.
- Luo C, Li Y, Wang H, Cui Y, Feng ZH, Li H, et al 2013. Hydroxytyrosol Promotes Superoxide Production and Defects in Autophagy Leading to Anti-proliferation and Apoptosis on Human Prostate Cancer Cells. Current Cancer Drug Targets.;13:625-39.
- Luque de Castro M. D et al., (Aout 1998) « Soxhlet Ectraxtion Of Solid Materials : An outdated technique with a promissing innovative future » In : Analytica Chimica Acta 369 p. 1-10.
- Lynch, 1980 . Effects of organic acids on the germination of seeds and growth of seedlings, Plant Cell Environ. 3, 255–259.
- M**anach C., Scalbert A., Remesy C., Morand C. (2006). Consommation et disponibilité des polyphénols. In: Les polyphénols en agroalimentaire. P. Sarni-Manchado and V. Cheynier (Ed).Paris, Lavoisier. 361–380.

Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 81: 230S-242S.

Manach, C.; Milenkovic, D.; Van de Wiele, T.; RodriguezMateos, A.; de Roos, B.; Garcia-Conesa, M.T.; Landberg, R.; Gibney, E.R.; Heinonen, M.; Tomás-Barberán, F.; Morand, C 2017. Addressing the inter-individual variation in response to consumption of plant food bioactives: Towards a better understanding of their role in healthy aging and cardiometabolic risk reduction. *Mol. Nutr. Food Res.*, 61(6).

Marian Naczek Et Fereidon Shahidi 2004« Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography*.

Markaoui Mostafa « Méthodes Générales D'études Des Composés Phénoliques » .

Martin S. et Andriantsitohaina R. 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51: 304-315.

Ministère De L'Agriculture Et Du Développement Rural « MADR ». Le Renouveau Agricole et Rural en marche. Revue et Perspectives. Mai 2012. www.minagri.dz.

M.-J. Amiot, C. Riollet, J.-F. Landrier . Polyphénols et syndrome métabolique UMR 1260 INRA, 476 INSERM, Université Aix-Marseille I & II, Nutriments lipidiques et prévention des maladies métaboliques, Marseille - Novembre 2009 - Vol. 3 - N°5.

Mochizuki M., Yamazaki S.I., Kano K., Ikeda T. (2001). Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins. *Biochim.Biophys. Acta -General Subjects*.1569: 35-44.

Morgane Saillard FNCG Fédération Nationale des Corps Gras – Affaires Scientifiques et Réglementaires, 66 rue La Boétie, 75 008 Paris, France Les effets « santé » de l'huile d'olive
Healtheffects of olive oil.

Morillo Ja ,Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sa´Nchez M., Ramoscormenzana A., Russell Nj. (2009). Bioremediation and biovalorisation of olivemill wastes. *ApplMicrobiolBiotechnol*, 82:25–39

Morillo Ja ,Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sa´Nchez M., Ramoscormenzana A., Russell Nj. (2009). Bioremediation And Biovalorisation Of Olivemill Wastes. *Applmicrobiolbiotechnol*, 82:25–39

Moussaoui.R 2007 valorisation des sous produits d'huile d'olive .thèse de Doctorat Université Mouloud MaamriTiziOuzzouAlgérie .

Muhammad Sajid Hamid Akash ; KanwalRehman ;ShuqingChen. 2014.Dietary Supplement For Treatment Of Type 2 Diabetesmellitus.

MunirJ ,Rusan M , Ammar R , Albalasmeh A ,Malkawi. 2016. Treated Olive mill wastewater effects on Soil properties and plant growth . water air soil pollut 227/135).

Napolitano A, Cascone A, Graziani G, Ferracane R, Scalfi L, Di Vaio C, Ritieni A and Fogliano V 2004: Influence of variety and storage on the polyphenol composition of apple flesh. J Agric Food Chem 52: 6526-6531,.

Nashwa, F.S.M.; Abdel-Aziz, M.E. Efficiency of olive (*Olea europaea* L 2014. Leaf Extract As Antioxidant And Anticancer Agents. J. Agroalimnt. Proc. Technol., , 20, 46-53.

Nefzaoui A. (1987). Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits, séminaire sur l'économie de l'olivier. Tunis, 20-22 Janvier. Science et Technique, Olivaen° : 19.

Neifar M., Jaouani A., Ayari A., Abid O., Ben Salem H., Boudabous A., Najar T., Ellouze Ghorbel R. (2013). Improving the nutritive value of Olive Cake by solid state cultivation of the medicinal mushroom *Fomes fomentarius*.. Chemosphere .91: 110–114.

Nickavar B, AzadehAlinaghi A, Kamalinejad M. Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha*Species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2008; 7(3): 203–209.

Nyegue MA, 2006. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et/ou médicinales du Cameroun : évaluation de leurs activités anti-radicalaires, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II et Yaoundé I, 194p.

Oloyede, F. A.; Makinde A. M. and Ajayi O. S. 2012. Proximate Analysis, Nutritional and Anti-nutritional Compositions of a Tropical fern, *Nephrolepisfurcans* in Nigeria. Acta BotanicaHungarica 54(3-4): 345-355.

Owen, R.W., Giacosa, A., Hull, W.E., Haubner, R., Wu ̄rtele, G., Spiegelhalder, B., et al., 2000. Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. Lancet Oncol. 1, 107112.

Ozge Seçmeler¹ and Charis M. Olive Fruit and Olive Oil .Galanakis Gastronomy Department, Altınba, s University, Istanbul, Turkey Research & Innovation Department, Galanakis Laboratories, Chania, Greece Food Waste Recovery Group, ISEKI Food Association, Vienna, Austria Chapitre 8 .

Oyaizu M, 1986. Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr*, 44: 307–15.

Paraskeva et Diamadopoulos, 2006. Paraskeva, P., Diamadopoulos, E. Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review *J.Chem. Technol. Biotechnol.* 81, 1475-1485.

Park EJ, Pezzuto JM. 2012. Flavonoids in cancer prevention. *Anticancer Agents Med Chem.*;12:836.

Petco Ivanov PENCHEV . 20 juil 2010 « Etudes De Procèdes D'extraction Et De Purification Des Produits Bioactifs A Partir Des Plantes Par Couplage De Techniques Séparatives A Basse Et Haute Pression ».

Perona J.S., Canizares J., Montero E., Sanchez- Dominuez J.M., Catala A., Ruiz-Gutierrez V., 2004. Virgin olive oil reduces blood pressure in hypertensive elderly subjects. *Clinical Nutrition*, 2, 191-200.

Pounis G, Di Castelnuovo A, Bonaccio M, Costanzo S, Persichillo M, Krogh V, Donati MB, de Gaetano G, Iacoviello L. Flavonoid and lignan intake in a Mediterranean population: proposal for a holistic.

Prior RL, Wu X, Schaich K, 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10) : 4290-4302.

Prochazkova D, Bousova I, Wilhelmova N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 2011;82:513-23.

Ranalli A., Contento S., Lucera L., Di Febo M., Archegiant D. D.R Fonzo V.: Factor affecting the content of iridoidoleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *J. Agri. Food Chem.*, 2006.

Rengarajan T and Yaacob NS: The flavonoid fisetin as an anticancer agent targeting the growth signaling pathways. *Eur J Pharmacol* 789: 8-16, 2016.

Ribarova, F.; Zanev, R.; Shishkov, S.; Rizov, N. α -Tocopherol, fatty acids and their correlations in Bulgarian foodstuffs. *J. Food Compos. Anal.* 2003, 16, 659–667.

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

Rosello -Soto, E., Barba, F.J., Parniakov, O., Galanakis, C.M., Grimi, N., Lebovka, N., et al., 2015a. High voltage electrical discharges, pulsed electric field and ultrasounds assisted extraction of protein and phenolic compounds from olive kernel. *Food Bioprocess Technol.*

Ryan, D.; Robards, K. Phenolic compounds in olives. *Analyst* 1998, 123, 31R–44R.

S. Derbel K. Ghedira Les phytonutriments et leur impact sur la santé February 2005, Volume 3, Issue 1, pp 28–34.

Salas-Salvado J., Fernandez-Ballart J., Ros E et al. (2008). Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Archives of Internal Medicine.* 168 (22): 2449-2458.

Sanchez-Moreno C, Larrauri JA (1998) Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci Technol Int* 4:391–399.

Sancoucy R. (1984). Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen. Étude FAO Production et santé animale Synthèse no. 43 FAO Pub Rome.

Scalbert A., Manach C., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 45: 287-306

Seçmeler and GuçluUstundag, Behavior of lipophilic bioactives during olive oil processing. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*

Senani N. & Moulti-Mati F. (2012). Etude du pouvoir antifongique des extraits phénoliques issus des margines de la variété chamlal (oleaeuropea) sur deux souches, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. *Tunisian Journal Medicinal Plants and Natural Products*, Vol.8, N°1, pp.44-48.

Serra Bonvehi J., Ventura Coll F., EscolaJorda E. (1994) The composition, active components and bacteriostatic activity in propolis in dietetics. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 71(5) : 529-532

Sharif T, Stambouli M, Burrus B, Soler-Rivas, C.; Epsin, J.C.; Wichers, H.J. Oleuropein and related compounds. *J. Sci. Food Agric.* 2000, 80, 1013–1023.

Sharma A¹, Kaur M¹, Katnoria JK¹, Nagpal AK¹. Polyphenols in Food: Cancer Prevention and Apoptosis Induction *Current Medicinal Chemistry*, 2018, Vol. 25, No. 36 474

Simon Both, Farid Chemat, Jochen Strube. Extraction of polyphenols from black tea. In: *Ultrasound sonochemistry* 21.3 (Mai 2014) p. 1030-1034.

Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.

Solia Adriouch Thèse de doctorat en Biologie Sous la direction de Serge Hercberg. Soutenue le 12-06-2017 à Sorbonne Paris Cité , dans le cadre de École doctorale Galilée (Villetaneuse, Seine-Saint-Denis) , en partenariat avec Unité de recherche en épidémiologie nutritionnelle (laboratoire).

Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon. R, A., Aruoma, O.I., Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanisms and actions. *Mutation Research*, 579: 200-213..

Spencer J.P. (2010). Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 69: 244–260 .

Sun LJ, Luo C, Liu JK. Hydroxytyrosol induces apoptosis in human colon cancer cells through ROS generation. *Food Funct*. 2014;5:1909-14.

Touafek .O (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algérien. Thèse de doctorat. Université de Constantine. P 9-12-76.

Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, Nilsa RD and Huang P:Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal* 10: 1343-1374, 2008.

Tsao, R. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231– 1246).

Uthurry C.A., Hevia D., Gomez-Cordoves C. (2011) Role of honey polyphenols in health. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 3(4) : 141-159.

Ünal K. Polyphénols, O-diphénols et acides phénoliques totaux dans les grignons d'olive et les margines. *OLIVAE*, N° 51, Avril (1994), pp.34-35.

Virginie, G., Espérance, M. S., Guévara, N., Reine, B. A. G., Pascal, A. D., & Dominique, S. C. (2015). Etude chimique et évaluation de l'Influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpus erinaceus* acclimaté au Bénin [Chemical study and evaluation of granulometry influence on the natural polyphenols kinetic extraction from *Pterocarpus erinaceus* acclimated in Benin]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12(2) : 325..

Visioli F., Romani A., Mulinacci N., Zarini S., Conte D., Vincieri F., Galli, C. J. *Agr. Food Chem.*, 47 (1999) 3397.

Williamson G., Clifford M-N. (2010). Colonic metabolites of berry polyphenols: the missing link to biological activity. *British Journal of Nutrition*. 104: S48-S66.

Williamson, G. (2013). Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(1), 48–57.

Yao L., Datta N., Tomas-Barberan F.A., Ferreres F., Martos I., Singanusong R. (2003) Flavonoid, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. *Food Chemistry* 81(2) : 159-168.

Yusuf Yilmaz et Romeo T. Toledano. « Oxygen radical absorbance capacities of grape seed polyphenols » In : *Journal of food composition and analysis* 19.1 (Fev 2006), p 41-48.

Zaidi F., Hassissene N., Allouache H., Kichou M., Ourdani S., Rezki K., Bellal M., Grongnet J.F. et Youyou A. (2009). Les composés phénoliques, facteur limitant du grignon d'olive chez les ruminants. *Rev. Med. Vet.* 160 (2) 67-73).

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4): 555-559.

Résumé

Les productions oléicoles posent un problème stressant de pollution et d'écotoxicité à cause de ses rejets abondants tels que les grignons d'olives. Leur richesse en CP mérite une attention particulière par leur valorisation en tant que source intéressante d'antioxydants naturels. C'est dans ce contexte que nous avons entrepris de faire une détermination des caractères physicochimiques et boitoxicologiques des polyphénols extraits des grignons d'olives.

Notre étude s'est orientée vers la réalisation d'une analyse qualitative de deux extraits de grignons : aqueux et éthanolique et d'une quantitative sur deux extraits : brut et délipidé et d'une évaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes : DPPH et FRAP.

Nos résultats montrent que l'extrait délipidé des grignons d'olive est riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes en comparant avec L'extrait brut ; tandis que la teneur en tanins est la plus faible dans les deux extraits et surtout l'extrait délipidé . Les L'activité antioxydante révélée par les méthodes de DPPH et de FRAP est modéré dans les deux extrait. Le pouvoir réducteur de fer est plus élevé dans l'extrait délipidé alors que le pourcentage d'inhibition de DPPH est plus important dans l'extrait brut.

En conclusion les grignons d'olives doivent se valoriser car ils représentent une source importante en CP qui sont des antioxydants naturels intéressent particulièrement le domaine de la phytothérapie, l'hygiène alimentaire, la pharmacologie et l'industrie.

Mot clés : Grignons d'olives – Polyphénols – Antioxydants

Abstract

Olive production poses a stressful problem of pollution and ecotoxicity because of its abundant discharges such as olive cake. Their CP richness deserves special attention as a valuable source of natural antioxidants. It is in this context that we have undertaken to realize a determination of the physico-chemical and bio-toxicological characteristics of polyphenols extracted from olive pomace.

Our study was directed towards the realization of a qualitative analysis of two extracts of pomace: aquatic and ethanolic and of a quantitative analysis of raw extract and delipidated extract and an evaluation of the antioxidant activity by two methods: DPPH and FRAP.

Our results show that the delipidated extract of olive pomace is rich in total polyphenols compared with flavonoids, while the tannin content is the lowest unlike the raw extract. The antioxidant activity revealed by the DPPH and FRAP methods is moderate in both extract. The Iron reducing power is higher in the delipidated extract while the percentage inhibition of DPPH is greater in the raw extract.

In conclusion, olive pomace must be valued because it represents an imporating source of CP which are natural antioxidants particularly interesting in the field of phytotherapy, food diet, pharmacology and industry.

Key words : Olive pomace – Polyphenols – Antioxydants

المخلص

يطرح إنتاج الزيتون مشكلة مؤرقة من التلوث والسمية البيئية بسبب إفرازاته الوفيرة مثل ثقل الزيتون. إن ثرائه من حيث المركبات البوليفينولية يستحق اهتمامًا خاصًا باعتباره مصدرًا مهمًا لمضادات الأكسدة الطبيعية. في هذا السياق ، تعهدنا بتحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية والسموم البيولوجية للبوليفينولات المستخرجة من ثقل الزيتون.

تم توجيه دراستنا نحو تحقيق تحليل نوعي لمستخلصين من الثقل: مائي وإيثانولي و تحليل كمي على مستخلصين: الخام و الخالي من الدهون وتقييم نشاط مضادات الأكسدة بطريقتين: DPPH و FRAP.

تظهر نتائجنا أن المستخلص الخالي من الدهون من ثقل الزيتون غني بالبوليفينول الكلي مقارنة بالفلافونويد ، في حين أن محتوى العفص هو الأقل كمية على عكس المستخلص الخام. نشاط مضادات الأكسدة التي كشفت عنها أساليب DPPH و FRAP معتدلة. حيث ان قدرة خفض الحديد أعلى في المستخلص الخالي من الدهون بينما نسبة تثبيط DPPH أكبر في المستخلص الخام.

في الختام ، يجب تقدير ثقل الزيتون لأنه يمثل مصدرًا مهما لمركبات البوليفينولية التي تعتبر من مضادات الأكسدة الطبيعية المهمة بشكل خاص في مجال العلاج بالأعشاب والصحة الغذائية والصيدلة وكذا الصناعة.

الكلمات المفتاحية : ثقل الزيتون – البوليفينولات - مضادات الأكسدة