

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

**Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN**

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers**

**Département de Biologie**



## **MEMOIRE**

Présenté par

**Azzouni wassim**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER II en Biologie**

Option : **physiologie cellulaire et physiopathologie**

**Thème**

**Évaluation du pouvoir anti Hémolitique et anti inflammatoire et de grignon d'olive.**

Soutenu le 27 juin 2024, devant le jury composé de :

Présidente	Merzouk Hafida	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Ghermouche baya	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Merzouk Amel	MCA	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2023/2024**

## **Remerciements**

Ce travail est l'aboutissement d'un dur labeur et de beaucoup de sacrifices, Je remercie Dr Guermouche Bouayad Agha Baya Maître de conférences A Membre du laboratoire PPABIONUT Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition Faculté SNVTU, Université Abou Bekr Belkaid , pour son encadrement, son orientation, ses conseils et la disponibilité qu'elle nous a témoignée pour nous permettre de mener à bien ce travail.

Je remercie aussi Co-encadreur doctorante Melle Badi Zoulikha pour accepter de diriger et de Co-encadrer ce travail et pour ses compréhensions, ses conseils et ses aides, pour ses gentillesse et ses orientations efficaces.

Je remercie aussi Mme qui a accepté de présider et de juger ce travail de Master.

Aussi je remercie Mme de bien vouloir accepter d'examiner ce travail.

Enfin, je remercie tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à : mes parents pour le soutien et encouragement

A mon ami Naïm boukhezzar qui m'a aidé beaucoup pour finir ce travail

A ma chère Iman Sara Slimi Pour le soutien dans toute la période de ce travaille

A mes amis Walid Karim Imad Nazim Nassim Chakib Zidane et Amine

A tous les profs dans le Département

A TOUTE MA FAMILLE :

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Olive (Mushtaq et al, 2020).	2
<b>Figure 2</b> : Carte oléicole d'Algérie	4
<b>Figure 3</b> : grignons d'olives	6
<b>Figure 4</b> : Classification et structure chimique des principales classes de polyphénols Alimentaires	8
<b>Figure 5</b> : grignon d'olives en poudre fine.	11
<b>Figure 6</b> : la filtration de la macération de grignon d'olive.	12
<b>Figure 7</b> : Photographie du Rotavapor utilisé.	12
<b>Figure 8</b> : Extraits de grignon d'olive après séchage.	13
<b>Figure 9</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.	16
<b>Figure 10</b> : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	17
<b>Figure 11</b> : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés	17
<b>Figure 12</b> : Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins	18
<b>Figure 13</b> : Pourcentage d'hémolyse des globules rouges par l'acide gallique.	19
<b>Figure 14</b> : Comparaison des pourcentages d'hémolyse des globules rouges entre l'acide gallique et l'extrait aqueux du grignon d'olive.	20
<b>Figure 15</b> : Activité anti-hémolytique de l'acide gallique et du Diclofénac	21
<b>Figure 16</b> : Comparaison de l'activité anti hémolytique entre le Diclofénac, acide gallique et l'extrait aqueux du GO.	21
<b>Figure 17</b> : Inhibition de la dénaturation protéique par le Diclofénac.	22
<b>Figure 18</b> : Comparaison de l'inhibition de la dénaturation protéique par le Diclofénac et l'extrait aqueux du grignon d'olive.	23

## Listes des tableaux

<b>Tableau 2</b> : Les différents types de grignon	6
<b>Tableau 3</b> : les étiologies de l'inflammation..	9
<b>Tableau 4</b> : Rendement d'extraction	16
<b>Tableau 5</b> : Teneurs en polyphénols flavonoïdes et tanins.	18

## Liste d'abréviations

**GO** : grignon d'olive.

**CP** : les composés phénoliques.

**AINS** : anti-inflammatoire non stéroïdiens.

**GRH** : globule rouge.

# SOMMAIRE

## Table des matières

Introduction :	1
Synthèse Bibliographique	
I. Olivier	2
I.1. Historique :	2
I.2. Classification botanique de l'olivier :	3
I. L'oléiculture :	3
II.1. L'oléiculture en Algérie :	3
II.1. Les sous-produits de oléiculteurs :	4
II.2. Définition de margine :	5
III. Grignon d'olive :	5
III.1. Définition :	5
III.2. Type de grignon d'olives :	6
III.3. Caractéristiques chimiques de grignon d'olive :	6
IV. Polyphénols du Grignon d'olive :	7
IV.1. Définition de polyphénols:	7
IV.2. Les types de polyphénols :	7
V. L'inflammation :	8
V.1. L'inflammation et la dénaturation protéiques :	8
VI. L'hémolyse	9
Matériels et méthodes	
I. Préparation des extraits des grignons d'olive :	11
I.1. Préparation du matériel végétal :	11
I.2. Extractions hydro liquides :	11

II. Détermination, in vitro, de l'activité anti-hémolytique, anti-inflammatoire du grignon d'olive :	13
II.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRH) :	13
II.2. Test de cytotoxicité des extraits :	13
III. Expression des résultats :	14
III.1. Evaluation de l'activité anti-hémolytique :	14
Résultats et Interprétations	
I. Rendement d'extraction :	16
II. Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins :	16
II.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des phénols totaux :	16
II.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes :	17
II.3. Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés :	17
II.4. Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins dans l'extrait aqueux du GO :	18
III. Étude des activités biologique in vitro de l'extrait aqueux du GO :	18
III.1. Test de cytotoxicité :	18
III.2. Test anti-hémolytique (stabilisation membranaire des globules rouges) de l'extrait brut aqueux du grignon d'olive :	20
III.3. Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux du grignon d'olive :	22
Discussion	24
Conclusion	27
Résumé :	28
Les références	

# **Introduction**

### Introduction :

Dans la culture arabo-musulmane, l'olivier est un arbre sacré et particulier, il fait partie des arbres cités dans le Coran sourate El-Noor aya : 35. L'olivier Ole. A été cultivé depuis l'antiquité dans la région méditerranéenne pour produire des olives de table, huile d'olive Et des extraits de ces feuilles.

Les produits de l'olivier ont été utilisés pendant des siècles comme nourriture, conservateurs naturels et dans la médecine populaire. L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier. Elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Syrie, la Tunisie, le Maroc et l'Egypte qui sont les plus importants pays producteurs des olives et d'huile (**Ouferhat- Ait Hamlat, 2015**)

L'olivier est l'une des plus anciennes plantes cultivées. Plus de 8

Millions d'hectares d'oliviers sont cultivés dans le monde ; près de 98 % d'entre eux se trouvent dans le bassin méditerranéen (**Peralbo-molina de Castro et al., 2013**).

La filière oléicole s'inscrit comme filière agroalimentaire stratégique à grand intérêt économique. L'oléiculture comme ressource agricole fortement localisée dans le milieu rural, sa valorisation constitue un objet majeur pour créer une valeur ajoutée qui s'inscrit à long terme et en conséquence le développement de ses territoires en question.

Dans ce contexte, (**Hadjou et al., 2013**) rapportent que la filière oléicole algérienne montre, depuis

Des décennies, des signes de crise, avec une dualité entre un système traditionnel peu compétitif en raison des conditions géomorphologiques (dans les zones de montagne) et institutionnelles (faible Soutien) et un système moderne, destiné principalement à la production de l'olive de table. (**Lachibi, 2019**).

L'industrie oléicole, sa production principale est l'huile d'olive . L'huile d'olive est un aliment naturelle équilibré en sa composition chimique est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (**Boskou, 2006**).

L'industrie oléicole laisse deux résidus : l'un liquide (les margines) et l'autre solide (**les grignons**)

.(**Nefzaoui,1988**).

Dans ce contexte général, l'objectif de notre travail est de montrer l'Évaluation du pouvoir anti émolitique et anti inflammatoire du grignon d'olive

Synthèse Bibliographique

### I. Olivier

L'olivier en Grec c'est ( *olea europea L* ) il contient 30 genres et 600 espèces il appartient à la famille des oleaceae monophylétique ( **mushataq 2020** )

- L'olivier est toujours vert, ses dimensions et ses formes varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol et les variétés, mais si on le laisser végéter seul il prend couramment une forme pyramidale, peut atteindre 12 à 15 mètres de hauteur et son tronc

se maintient le plus souvent élané de bas en haut (**Brikci, 1993**).

- En Algérie olivier présent un peu partout sur le territoire national mais c'est la zone centre représenté par les régions de Bejaïa et Bouira et Tizi

- Ouzou qui abritent la plus grande verge ( **INRAA 2006** )

- En Algérie aussi la culture d'olivier remonte à plus haute antiquité. L'olivier et ses produits constitués donc une base essentielle des activités économiques de nos populations rurales. L'huile d'olive faisait l'objet d'un commerce intense entre l'Algérie et Rome durant l'époque romaine. Dans cette période l'histoire de l'olivier se confond avec l'histoire de l'Algérie et les différentes invasions ont eu un impact certain sur la répartition géographique de l'olivier dont



nous avons hérité à l'indépendance du pays ( **mendil et sebai 2010** )

**Figure 1 : Olive (Mushtaq et al, 2020).**

### I.1. Historique :

L'olivier, arbre de la famille des oléacées, cultivé surtout dans le bassin méditerranéen depuis au moins 3500 ans avant notre ère. Il était dans l'antiquité grecque et romaine, un emblème de fécondité et un symbole de paix et de gloire. Le nom scientifique de l'arbre "Olea" vient d'un mot qui signifiait "huile" chez les grecques de l'antiquité.

Selon Loussert, la culture de l'olivier prend son origine de la frontière Irano-Syrienne.

Récemment, par des travaux multiples, des botanistes de Montpellier concluent que « l'origine de l'olivier est beaucoup plus complexe que ce que l'on pensait ».

Dans la culture arabo-musulmane, l'olivier est un arbre particulier. Il fait partie des arbres cités dans le coran et à ce titre, il est l'objet d'un respect d'autant plus que ses vertus déjà signalées dans le coran sont approuvées par des études scientifiques.

### I.2. Classification botanique de l'olivier :

L'olivier est un arbre cultivé pour sans fruit l'olive qui donne huile d'olive ( **Kohler 2006** )

#### I.2.1. Systématique :

**Règne :** plantae

**Division :** magnoliophyta

**Classe :** magnoliopsida

**Ordre :** scrophulariales

**Famille :** oleaceae

**Genre :** olea

**Espèce :** oleaeuropea

Oleaeuropea est l'unique espèce représentative du genre quadrangulaire ses fruits sont petits et nombreux et peut abondant Certains classification distingue deux sous espèce :

- **L'olivier cultivé :** il est constitué par un grand nombre de variété multiplier par bouturage ( **cronquiste 2010** )
- **L'olivier sauvage :** se différencie de Olivier cultivé par ces caractères c'est un arbrisseau possède des rameaux épineux et quadrangulaire ( **cronquiste 2010** )

### I. L'oléiculture :

#### II.1. L'oléiculture en Algérie :

En Algérie, l'oléiculture joue un rôle économique, social et environnemental important. Le Verger oléicole national couvre une superficie de plus 450 mille hectares avec un nombre d'olivier atteignant les 6.200.000 arbres. La connaissance des coûts de production au niveau des exploitations oléicoles est utile de plusieurs points de vue car elle permet de rendre

## Synthèse bibliographique

Compte de la compétitivité de la filière et elle apporte des éléments d'appréciation sur la sensibilité des différentes agricultures aux changements de politique agricole notamment quand les coûts de production sont mis en relation avec les prix.

L'étude des coûts de production au niveau des exploitations oléicoles à travers les différents systèmes de production a révélé un avantage comparatif de l'huile d'olive algérienne.

L'analyse des marges brutes fait apparaître une filière performante sur le plan financier. (Amrouni et al, 2021 )

L'olivier est principalement cultivé sur les zones côtières du pays à une distance de 8 à 100 km de la mer où il trouve les conditions favorables pour son développement. Il occupait, une superficie de 310 000 hectares qui se répartie sur tout le territoire comme La majorité des surfaces oléicoles se localisent dans des régions de Montagne et les collines recouvrant une surface de 195 000 hectares, ainsi que dans les Plaines occidentales du pays et dans les vallées comme la Soummam (ITAF, 2008).

Selon les statistiques de l'ITAFV, l'oléiculture nationale a enregistré, entre 1999 et 2014, une croissance de 130% en termes de superficie passant de 165.000 hectares (ha) à 380.000 Ha, dont 215.000 ha vont rentrer en production d'ici l'horizon 2020 et la production est passée De 19.000 tonnes d'huile à 65.000 tonnes, avec des pics atteignant 74.000 tonnes. Il nous a Semblé intéressant de faire une rétrospective, sur l'historique de la filière oléicole de la période coloniale à 2008, pour mieux cerner l'état actuel de la filière. ( Ouferrhat- Ait Hamlat, 2015 )

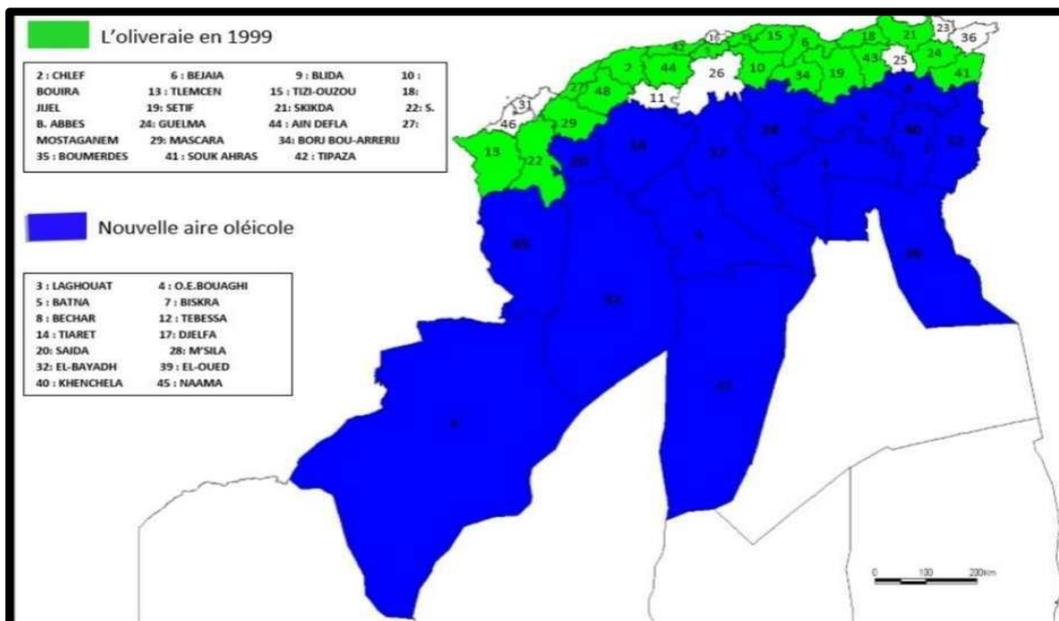


Figure 2 : Carte oléicole d'Algérie (ITAF, 2008).

### II.1. Les sous-produits de oléiculteurs :

- Déchet liquide sous forme margines
- Déchet solide sous forme grignon d'olives

### II.2. Définition de margine :

Appelé également les eaux de végétation sont des effluents obtenus après l'extraction de l'huile d'olive c'est un liquide résiduel et aqueux et visqueux de couleur brune et noir avec une forte odeur d'olive. les margine en une forte charge Saline et sont très riche en matière organique.

Les margine sont très chargés en polyphénol leur forte charge constitue un risque très important de pollution pour le sol et inhibe leur activité.

La margine, l'ensemble de déchets liquides, est constitué en fonction du système de séparation utilisé dans l'opération d'extraction, à savoir :

-Eaux de lavage du fruit :

La quantité utilisée varie entre 80 et 120 litres par tonne d'olives et qui dépend du type de Produit qui arrive de la campagne. Elles sont constituées de particules de poussière ou de terre, ainsi que des petites quantités de matière grasse issus du fruit plus ou moins abimés. Ces eaux sont facilement recyclables par simple opération de décantation ou de filtrage en raison de leur faible contenu organique (**centre d'Activités Régionales pour la Production Propre, 2000**).

-Eaux de rinçage de trémies de stockage.

-Eaux ajoutées au cours du malaxage.

-Eaux de nettoyage d'huile :

Ce sont les eaux issues de dernière centrifugation de l'huile ou on ajoute de Proportions d'eau chaude. Elles représentent l'ensemble des déchets aqueux contenus dans l'huile d'extraction et de l'eau chaude ajoutée. Ce déchet est incorporé traditionnellement au déchet liquide généré lors de l'extraction dans le premier pressoir ou Le premier décanteur et l'ensemble constituant la margine. Dans les huileries fonctionnant avec le système continu à deux phases, ces eaux constituent les seuls déchets liquides existants, étant donné qu'il n'y a pas production de margine au cours de l'extraction. eaux de végétation de l'olive elle-même, tel que 40 à 50% d'eau provient du fruit d'olive (**A.Nefzaoui., 1991**)

### III. Grignon d'olive :

#### III.1. Définition :

Le grignon d'olive est un résidu d'extraction d'huile des olives entière obtenu soit par pression soit par centrifugation il est constitué par agrégat de pulpe . de pellicule de fruits de pellicule de fruits de noyaux de fragments et de l'amidon il est riche en cellulose brut et pauvre en matière azotée

Le grignon d'olive a une teneur en huile de 8 à 12% p/p ( **TZIA 2018** )

#### III.2. Type de grignon d'olives :

Selon le procédé de l'extraction et équipements huiler

Il y'a plusieurs types de grignon d'olives :

- Le grignon brut : constitué de pulpe pressée et de noyaux il présente une teneur de 24% d'eau et 9% d'huile relativement élevée ce qui favorise son altération rapide à l'air libre
- Le grignon épuisé : c'est le résidu obtenu après déshuilage de grignon brut par un solvant généralement hexane ce type est caractérisé par une faible teneur de matière grasse et faible teneur d'eau
- Le grignon partiellement dénoyauté : il est dit dégraissé ou épuisé si les huiles extraites par un solvant ont été séparées partiellement de la pulpe par tamisage ou ventilation



**Figure 3** : grignons d'olives

### III.3. Caractéristiques chimiques de grignon d'olive :

La composition chimique de G.O varié dans très large limite Elle dépend de facteurs intrinsèques du fruit du procédé de l'extraction de l'huile et aussi de l'épuisement par solvant

**Tableau 1 : Les différents types de grignon (Olhde et Becker, 1982).**

		% de la matière sèche			
Types	Matière sèche	Matières minérales	Mat Azotées totales	Cellulose brute	Mat. grasses
Grignon brut	75-80	3-5	5-10	35-50	8-15
GO. Gras part. dénoyauté	80-95	6-7	9-12	20-30	15-30
Grignon épuisé	85-90	7-10	8-10	35-40	4-6
GO épuisé pat dénoyauté	85-90	6-8	9-14	15-35	4-6
Pulpe grasse	35-40	5-8	9-13	16-25	26-33

### IV. Polyphénols du Grignon d'olive :

#### IV.1. Définition de polyphénols:

- Les polyphénols sont de puissants antioxydants qui complète les fonctions des vitamines et des enzymes antioxydants ainsi et un moyen de défense contre le stress oxydatif ( **appel et Martin 2010** )
- Les polyphénols en un fort potentiel pour utilisation de thérapeutique bénéfique il y'a des composés bioactifs contient de polyphénols Sont décrits comme des outils clés pour la recherche de santé humaine et pour les maladies cardiovasculaires et hypertension et diabète et syndrome métabolique ( **Durazzo et Al 2019** )

#### IV.2. Les types de polyphénols :

Il y'a quatre classes :

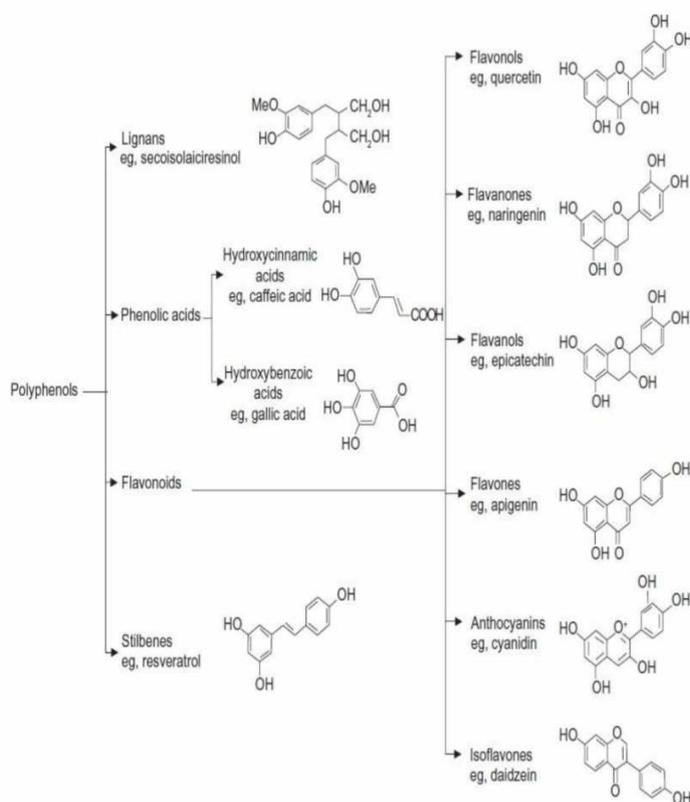
- De phénols de grignons d'olive : les phénols simples tels que le tyrosol et ses dérivés, les acides cinnamiques tels que l'acide p-coumarique et le verbascoside,
- Les flavonoïdes comme la rutine et l'apigénine, et les secoiridoïdes comme l'oleuropéine et ses Dérivés ( **Aliakbarian et al., 2018** ).

## Synthèse bibliographique

-Le grignon d'olive a été considéré comme une source intéressante de composés phénoliques  
98% des composés phénoliques retenus

-Dans le tourteau seulement 2 % sont transférés dans l'huile Une chromatographie effectuée par Cioffi et Al 2010 a montré la présence d'acide gallique de tyrosol d'acide caféique d'acide férulique et acide vanillique

-Plusieurs composés phénoliques ont été identifiés dans l'extrait de grignons d'olive comme l'acide organique . La loganine . La sécologanine . La taxifoline . L'acide cinnamique . L'acide shikimique ( **Hashmi et Al 2015** )



**Figure 4** : Classification et structure chimique des principales classes de polyphénols Alimentaires ( **Martin 2010** ).

### V. L'inflammation :

- L'inflammation C'est une réaction naturelle de défense de notre corps et un processus complexe qui se produit au niveau des vaisseaux sanguins et des tissus en réponse à des agents agressifs tels que les agents pathogènes ( **Barton 2008** )

## Synthèse bibliographique

- L'inflammation se caractérise par des symptômes désagréables tels que rougeur, douleur, chaleur . La réponse inflammatoire vise à réparer les tissus endommagés et à rétablir l'homéostasie ( **Sarkhel, 2015** )
- L'inflammation peut avoir des causes infectieuses ou non infectieuses. Lorsqu'une lésion tissulaire se produit, notre corps déclenche une cascade de signaux chimiques qui stimulent des réponses pour guérir les tissus affectés. Ces signaux attirent les globules blancs des vaisseaux sanguins vers les zones blésées. Les globules blancs activés produisent des cytokines qui déclenchent des réactions inflammatoires. C'est fascinant comment notre corps réagit pour se soigner ( **Jabbour ,2009** )

### V.1. L'inflammation et la dénaturation protéiques :

Les protéines subissent une dénaturation lorsqu'elles perdent leur structure tridimensionnelle et leur repliement caractéristique. Cela peut se produire en réponse à un choc thermique ou à d'autres facteurs qui entraînent la dégradation ou l'élimination des protéines dénaturées ( Nguyen 2010 )

Tout produit qui empêche la dénaturation des protéines peut être un agent anti-inflammatoire Hashmi et Al 2015 ont cité des travaux qui montre que l'huile d'olive extra vierge et les extraits olive en une activité anti inflammatoire remarquable

**Tableau 2** : les étiologies de l'inflammation. ( **Jabbour et al, 2009** ).

Factures non infectieuses	Factures infectieuses
Physique : brûlures, gelures, blessures physiques, corps étrangers, traumatismes, radiations ionisantes. -Chimique : glucose, acides gras, toxines, alcool, irritants chimiques (y compris fluorure, nickel et autres oligo-éléments). -Biologique : cellules endommagées. -Psychologique : l'excitation.	Bactérie , virus et autres micro-organismes

- Les protéines subissent une dénaturation lorsqu'elles perdent leur structure tridimensionnelle et leur repliement caractéristique. Cela peut se produire en réponse à un choc thermique ou à d'autres facteurs qui entraînent la dégradation ou l'élimination des protéines dénaturées ( Nguyen 2010 )

-Tout produit qui empêche la dénaturation des protéines peut être un agent anti-inflammatoire Hashmi et Al 2015 ont cité des travaux qui montrent que l'huile d'olive extra vierge et les extraits olive en une activité anti inflammatoire remarquable

### **VI. L'hémolyse**

L'hémolyse est un phénomène physiologique irréversible due à une libération des Composants intracellulaires des érythrocytes notamment l'hémoglobine, suite à une Perturbation de la membrane cellulaire après une durée de vie de 120 jours qui est un laps de Temps normal (Thomas, 2013).

L'hémolyse est définie par une couleur rose-rouge détectable lorsque les taux Plasmatiques d'hémoglobine dépassent la capacité de liaison à l'haptoglobine (0,3 g / L) et Provoque une augmentation de fer dans les urines, cette hémolyse est la cause de Pathophysiologies spécifiques telles que les maladies vasculaires aiguës et chroniques,

L'inflammation, la thrombose et l'insuffisance

Rénale. (Wiltink et al., 1972).

Elle joue un rôle important dans la translocation de l'hémoglobine dans l'espace Extravasculaire, les réactions oxydatives et la libération de l'hémine dans la signalisation Moléculaire (Dominik et al., 2013).

Matériels et méthodes

## Matériel et méthode

---

L'étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de recherche Faculté des Sciences de la Nature et de la vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen

### I. Préparation des extraits des grignons d'olive :

#### I.1. Préparation du matériel végétal :

Les GO utilisés dans notre expérimentation sont collectés au niveau d'une huilerie locale de la wilaya de Tlemcen.

Après séchage du GO brut pendant à l'air libre (dans un endroit sec, ventilé et ), celui-ci a été broyé à l'aide d'un Moulinex pour obtenir une poudre.

#### I.2. Extractions hydro liquides :

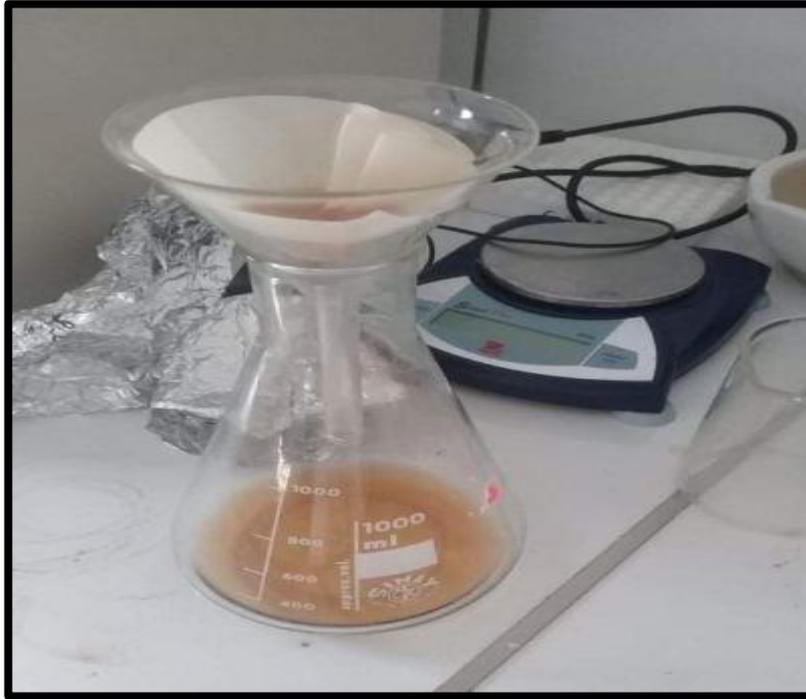
Les tests biologiques sont réalisés sur des extraits hydro-liquides :



**Figure 5** : grignon d'olives en poudre fine.

Dans un bécher en mai 5g de la poudre du GO avec 100 ML d'eau distillé.

- **macération** : laisser les mélanges macérer pendant 24 heures à l'obscurité, et à une température ambiante.
- **Filtration** : Filtrer sur papier filtre.



**Figure 6** : la filtration de la macération de grignon d'olive.

- **L'évaporation** : Le filtrat placé dans un rota vapeur à 43°C pour assurer l'évaporation du solvant.



**Figure 7** : Photographie du Rotavapor utilisé.

**Calculer le rendement en pourcentage de grignon d'olive en extrait sec par la formule :**

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

R(%) : rendement en pourcentage.

M : masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M<sub>0</sub> : masse en gramme du matériel végétal de



**Figure 8 :** Extraits de grignon d'olive après séchage.

### **II. Détermination, in vitro, de l'activité anti-hémolytique, anti-inflammatoire du grignon d'olive :**

#### **II.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRH) :**

Des échantillons de sang frais (environ 8 ml) ont été récupérés dans des tubes héparinisés, au niveau du laboratoire, où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires (20-45 ans).

Les différents échantillons de sang humain récupérés sont centrifugés à 3000 rpm, pendant 10 min, afin d'éliminer le plasma et les cellules polynucléaires. Ensuite, le culot de GRh est lavé trois fois, avec un volume équitable de solution iso-saline. Après cette étape, le volume a été mesuré et reconstitué sous forme de suspension de 10% (v/v) (GRH), avec une solution iso-saline et utilisé immédiatement.

#### **II.2. Test de cytotoxicité des extraits :**

Avant d'entreprendre le test de l'activité anti-hémolytique des extraits du GO, un test de toxicité est nécessaire, afin de cibler les concentrations à utiliser.

Le principe de ce test est de mettre en contact des hématies avec les extraits méthanoïque, éthanolique, à différentes concentrations, dans une solution isotonique et de suivre le taux d'Hb libérée par les cellules hémolysées, dans le but d'évaluer la cytotoxicité de ces extraits, vis-à-vis, des GRh.

Mode opératoire :

## **Matériel et méthode**

---

Le protocole suivi est celui de Bulmus et ses collaborateurs (2003), où un volume de 1.6 ml de l'extrait méthanoïque, éthanolique ou de l'acide gallique, molécule de référence de CP a été mélangé avec un volume de 0.4 ml de la suspension de GRH (10%)

Deux contrôles ont été réalisés dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait avec de l'eau physiologique (contrôle négatif) ou avec de l'eau distillée (contrôle positif correspondant à 100% d'hémolyse).

Le mélange réactionnel a été incubé à 37°C, pendant 30 min, ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min et l'absorbance de l'Hb libérée a été mesurée à 560 nm.

### **III. Expression des résultats :**

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\%d'hémolyse = (At/Ac) \times 100$$

Où : Ac = Absorbance du contrôle ; At = Absorbance du test.

#### **III.1. Evaluation de l'activité anti-hémolytique :**

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des extraits à empêcher l'hémolyse des GRh, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'Hb. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (Sadique et al, 1989 ; oyedapo et al, 2010).

#### **Mode opératoire :**

Le milieu réactionnel contenant 0,5 ml de l'extrait des GO, du Diclofénac sodique ou l'acide gallique à différentes concentrations, mélangé avec 1,5 mL du tampon phosphate (0,9% NaCl, pH=7,4) et 2ml d'une solution hypo-saline (0,36% NaCl), est incubé à 37°C pendant 20 min. Ensuite 0,5 ml de la suspension de GRh (10%) sont ajoutés à chaque concentration et une deuxième incubation est réalisée à 56°C pendant 1h. Au final, les tubes sont refroidis sous l'eau courante et suivis par une centrifugation à 2500rpm pendant 5min. Les absorbances du surnageant sont mesurées à 560 nm. En parallèle, un contrôle est réalisé en remplaçant l'extrait avec 0,5 ml du tampon phosphate.

#### **Expression des résultats :**

Le pourcentage de stabilité membranaire a été estimé à partir de l'expression suivante :

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = (Ac - At / Ac) \times 100$$

Où : Ac = Absorbance du contrôle.

At = Absorbance du test.

4 - Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire :

## Matériel et méthode

---

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (Williams et al, 2008). De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de la dénaturation des protéines (**Bouhlali et al, 2016**). L'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits de GO a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (**Chandra et al, 2012**). La méthode consiste à préparer quatre solutions.

La solution d'essai (0,5 ml) composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de SBA 5 % et 0,05 ml d'extrait avec une concentration de 250 pg/ml (test solution).

La solution control test (0,5 ml) composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml d'eau distillé (test control).

La solution contrôle produit (0,5 ml) composée de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml d'extraits avec une concentration de 250 pg/ml (control).

La solution standard test (0,5 ml) composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml de la solution de standard diclofénac sodium avec une concentration de 250 pg/ml (étalon).

Toutes les solutions au-dessus ont été ajustées à pH 6,3 par une solution d'HCl (1N).

Les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était augmentée pour garder les échantillons à 57° pendant 3 min.

Après refroidissement des tubes, 2,5ml de la solution phosphate buffer saline (Ph=6,3) a été ajouté aux solutions ci-dessus. L'absorbance a été lue par le spectrophotomètre UV –visible à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit:

$$\%d'inhibition = 100 - [(solution\ de\ test\ DO - contrôle\ DO / contrôle\ de\ test\ DO)] \times 100.$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées; et les résultats sont comparés avec le diclofénac sodium (250ug/ml).

Résultats et Interprétations

## Résultat et interprétation

### I. Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction de l'extrait aqueux du GO est de 20% (Tableau 3).

Tableau 3 : Rendement d'extraction

Extrait	Masse (g)	Couleur	Rendement (%)
Brut aqueux des GO	5	Marron foncé	20

### II. Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins :

Les analyses quantitatives en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins ont été faites par un spectrophotomètre UV-Visibles. Les phénols totaux ont été quantifiés suivant la méthode du Folin-Ciocalteu, les flavonoïdes par méthode de trichlorure d'aluminium, les tanins par méthode de la vanilline. Les densités optiques D.O. obtenues ont été projetées sur les courbes d'étalonnages appropriées.

#### II.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des phénols totaux :

Cette courbe a été établie en utilisant, comme référence, l'acide gallique. La formule de régression linéaire de cette courbe est de  $y = 2.916x$ , avec un coefficient de détermination ( $R^2 = 0.9978$ ) (figure 9).

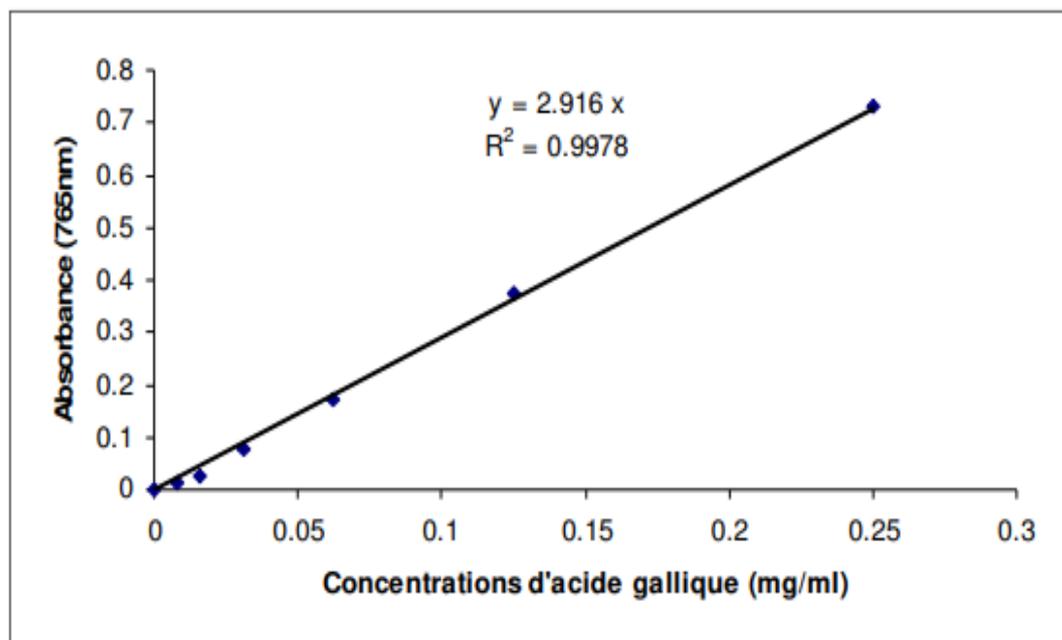


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

### II.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes :

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  $y = 0.1161x$ , avec un coefficient de détermination ( $R^2 = 0.9968$ ) (figure 10).

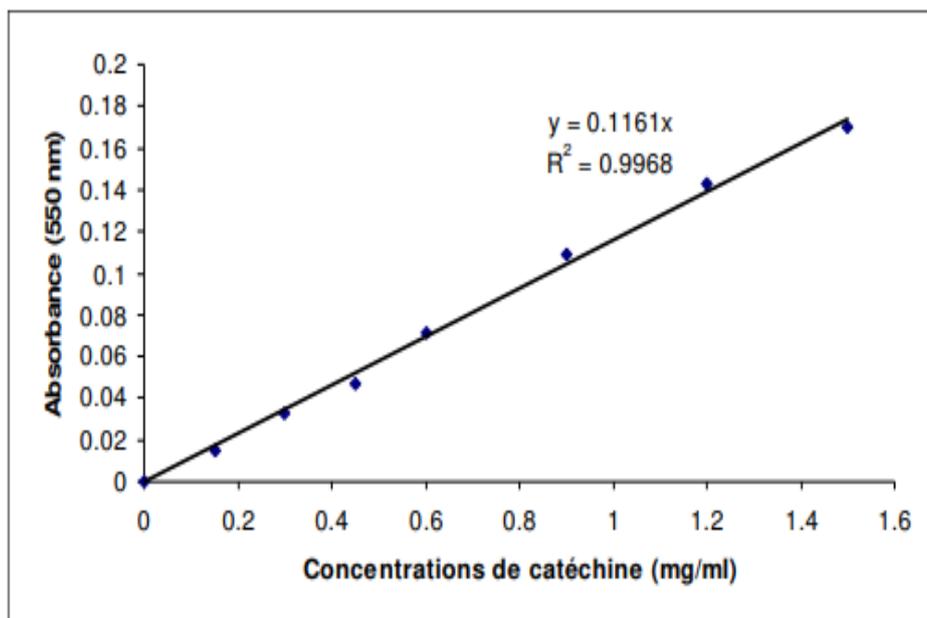
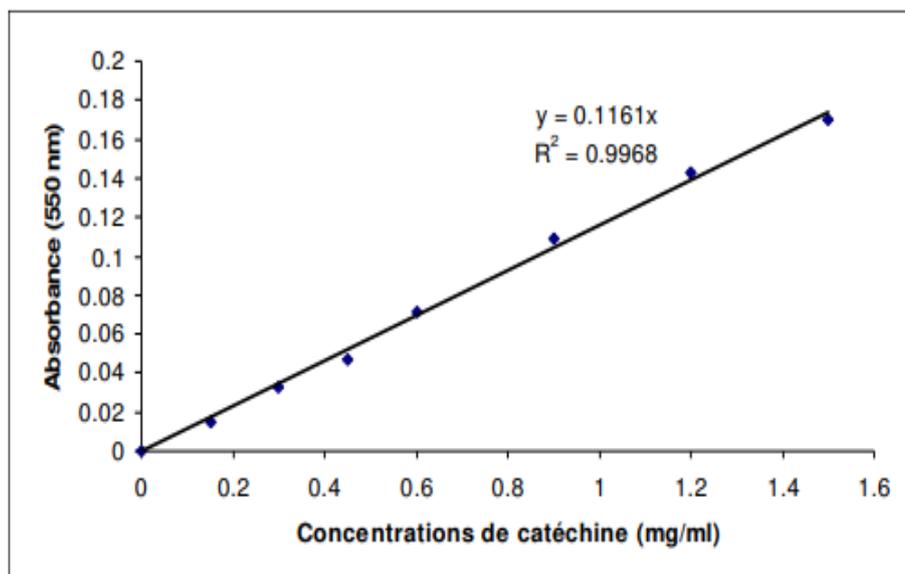


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

### II.3. Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés :

Afin de tracer cette courbe d'étalonnage, on a choisi la catéchine comme référence.

La formule de régression linéaire de cette courbe est de  $y = 0.1161x$ , avec un coefficient de détermination ( $R^2 = 0.9968$ ) (figure 11).



## Résultat et interprétation

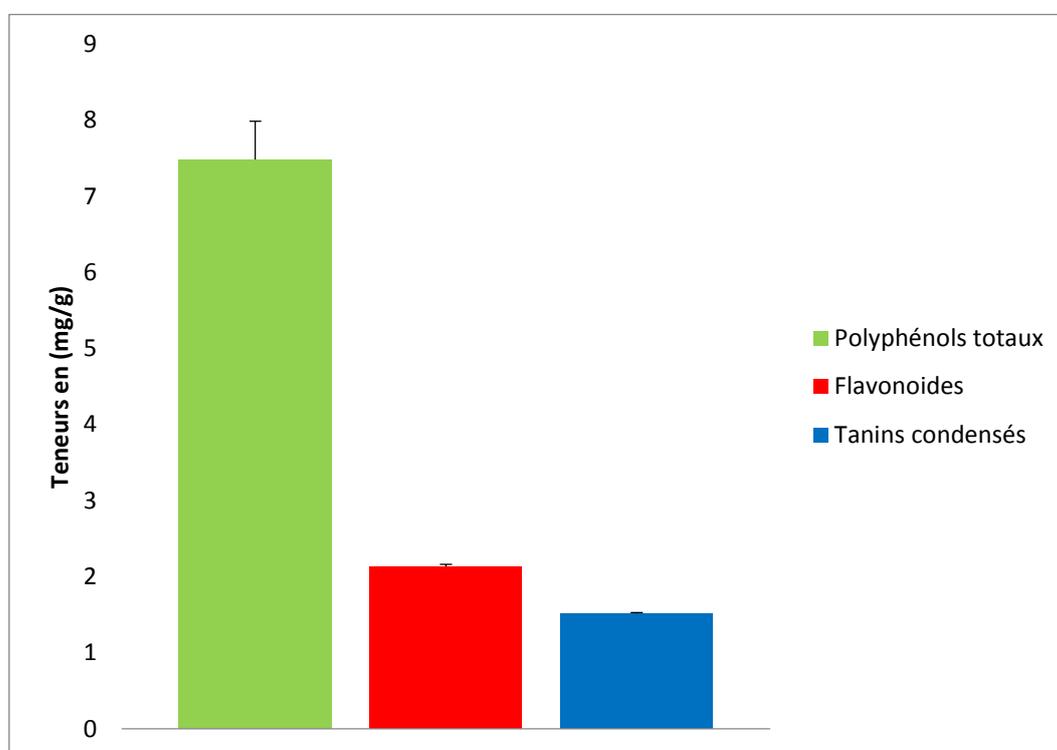
**Figure 11** : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

### II.4. Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins dans l'extrait aqueux du GO :

Selon les résultats obtenus dans le tableau 4 et la figure 12, les teneurs en polyphénols est de  $7.48 \pm 0.05$  mg/g, les flavonoïdes avec une valeur de  $2.13 \pm 0.03$  mg/g et concernant les tanins, les analyses quantitatives montrent une valeur de  $1.51 \pm 0.01$  mg/g.

**Tableau 4** : Teneurs en polyphénols flavonoïdes et tanins.

Teneurs (mg/g)	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	Tanins
Extrait aqueux	$7.48 \pm 0.05$	$2.13 \pm 0.03$	$1.51 \pm 0.01$



**Figure 12** : Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins

### III. Étude des activités biologique in vitro de l'extrait aqueux du GO :

#### III.1. Test de cytotoxicité :

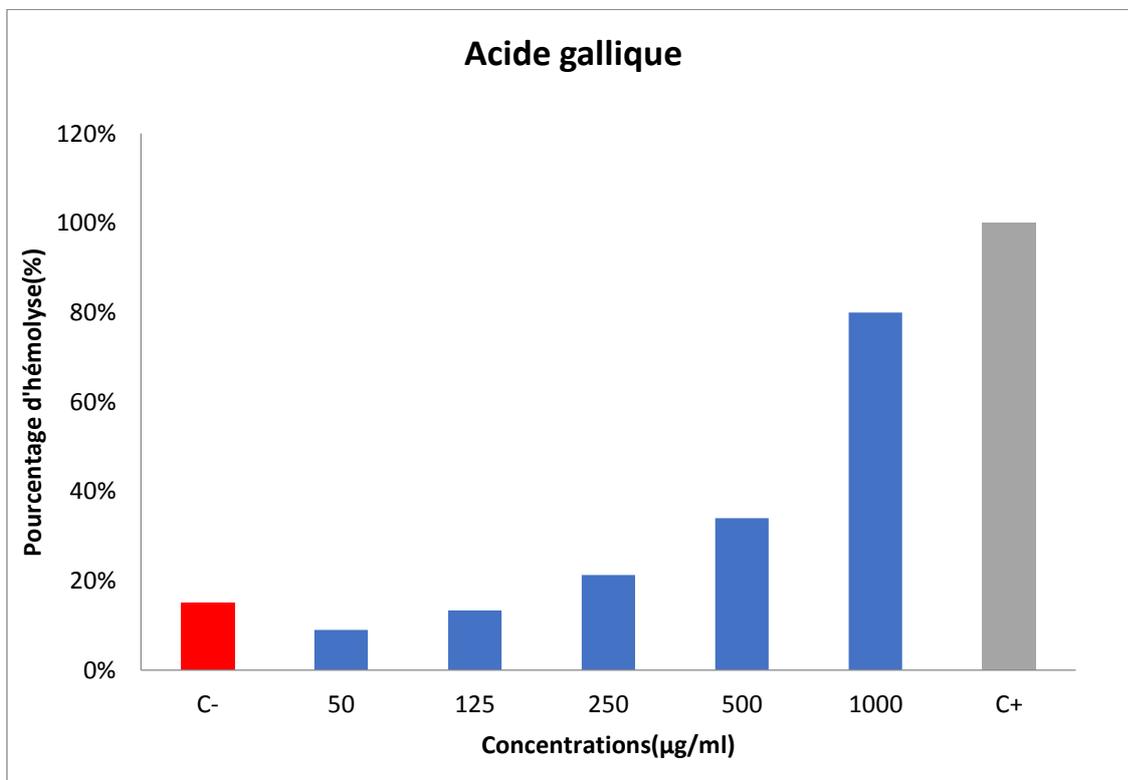
Le test in vitro de cytotoxicité représentée par le pourcentage d'hémolyse des globules rouges est effectué en utilisant des GRh d'un donneur sain en bonne santé.

Différentes concentrations de l'extrait brut aqueux du GO, ainsi qu'une molécule de référence, l'acide gallique, ont été testés. Le pourcentage de l'hémolyse est évalué référence, l'acide gallique, ont été testés. Le pourcentage de l'hémolyse est évalué pour notre extrait, en

## Résultat et interprétation

mesurant l'absorbance de l'Hb libérée des GRh par hémolyse, en comparaison au contrôle négatif (C-, solution de GRh dans de l'eau physiologique, ayant un taux d'hémolyse très faible, 15%) et au contrôle positif (C+, solution de GRh dans de l'eau distillée afin de provoquer une hémolyse totale, 100% d'hémolyse).

Nos résultats montrent que l'acide gallique représente un effet hémolytique faible (13.40 %) à la concentration de 125 µg/mL en comparaison avec le contrôle négatif (C- :15 %). Cet effet hémolytique augmente à un taux de 21.30%, à la concentration de 250 µg/mL et un taux de 34% à la concentration 500 µg/ml et atteint un maximum de 80 % à la concentration 1 mg/mL (Figure 13).

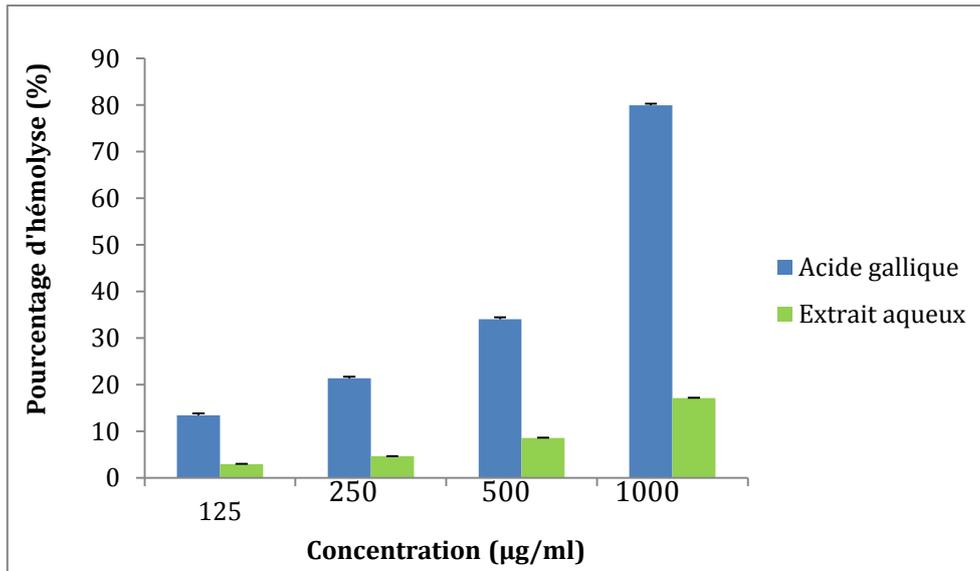


**Figure 13 :** Pourcentage d'hémolyse des globules rouges par l'acide gallique.

C<sup>-</sup> : 15% ; C<sup>+</sup> : 100%

L'extrait aqueux du GO montre un taux d'hémolyse des GRh faible à la concentration 125µg/ml et 250µg/ml (5% ,7%) comparé au contrôle négatif (15%). Ce taux augmente avec la concentration 500 µg/mL pour atteindre 9.5% d'hémolyse. A la concentration 1 mg/ml, le pouvoir de cytotoxicité contre les GRh montre un taux d'hémolyse plus important (20%). En outre, ces résultats montrent que notre extrait brut aqueux du GO exerce un effet cytotoxique très faible par rapport à l'acide gallique (molécule de référence) quel que soit la concentration utilisé (Figure 14).

## Résultat et interprétation



**Figure 14 :** Comparaison des pourcentages d'hémolyse des globules rouges entre l'acide gallique et l'extrait aqueux du grignon d'olive.

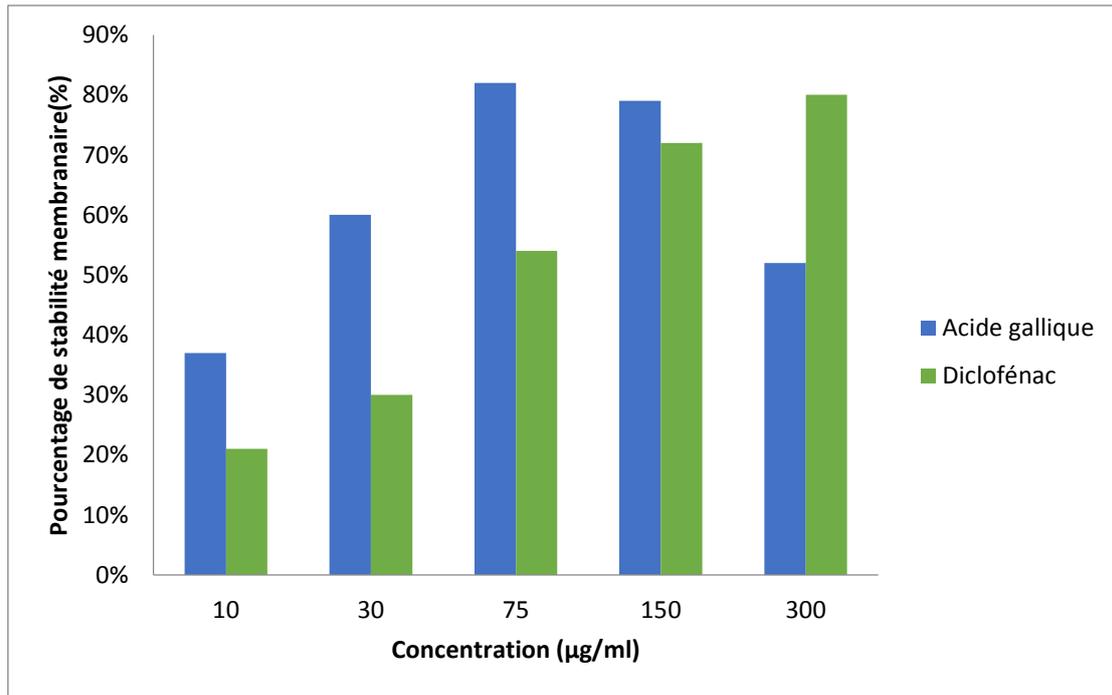
### III.2. Test anti-hémolytique (stabilisation membranaire des globules rouges) de l'extrait brut aqueux du grignon d'olive :

L'étude de l'activité in vitro anti-hémolytique de l'extrait aqueux du GO réalisée en utilisant la méthode de stabilisation de la membrane des GRh.

L'évaluation de la stabilisation membranaire est mesurée par le taux de libération de l'Hb à 560 nm pour chaque concentration de l'extrait utilisés et en les comparant à deux molécules de référence, le Diclofénac qui est un médicament anti-inflammatoire et anti-hémolytique et l'acide gallique étant un polyphénol à activité anti-hémolytique. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 10 et 11.

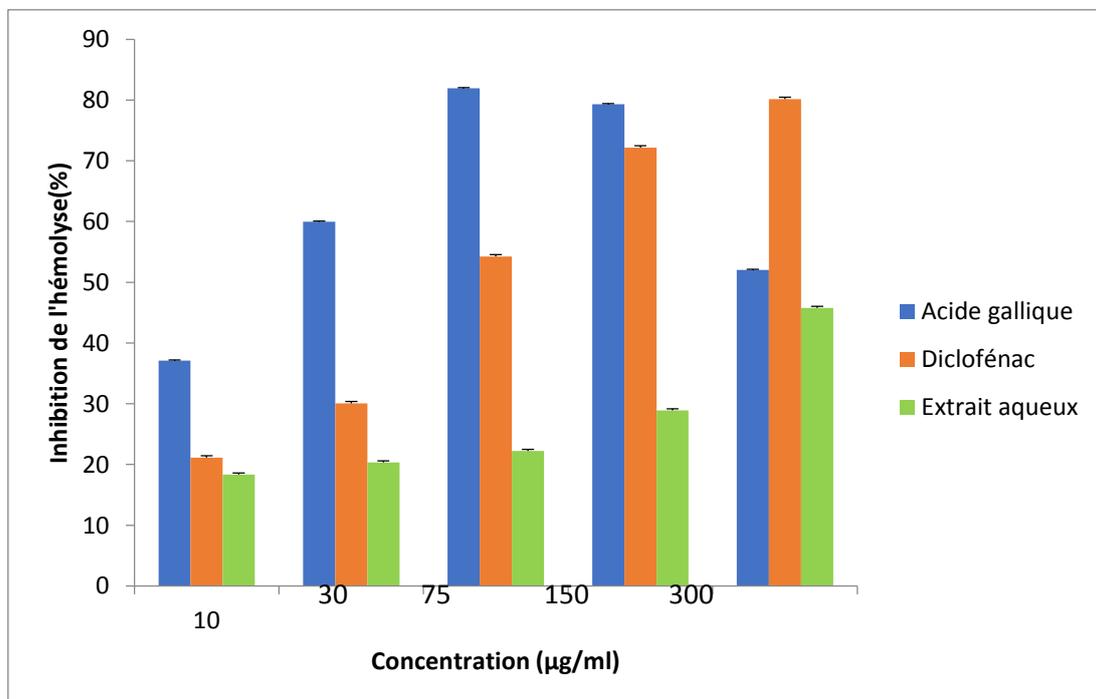
Nos résultats montrent que l'acide gallique à faible concentrations de 10 ,30et75 µg/mL présente un effet anti-hémolytique, protecteur et stabilisateur des membranes des GRh, important qui représente 82 % à la concentration 75µg/ml. À partir de la concentration 150µg/ml cet effet protecteur commence à diminuer en atteignant un taux de 52% à forte concentration (300µg/ml). Par ailleurs, le Diclofénac possède un effet anti-hémolytique faible aux concentrations 10et 30µg/ml. Cet effet protecteur augmente avec la concentration du Diclofénac et atteint 80 % de protection à la concentration de 300 µg/mL (Figure 15)

## Résultat et interprétation



**Figure 15 :** Activité anti-hémolytique de l'acide gallique et du Diclofénac

Concernant l'extrait aqueux du GO, on remarque que quel que soit la concentration utilisée, l'extrait aqueux du GO provoquent un taux d'hémolyse inférieur que celui provoqué par l'acide gallique et le Diclofénac (Figure11).

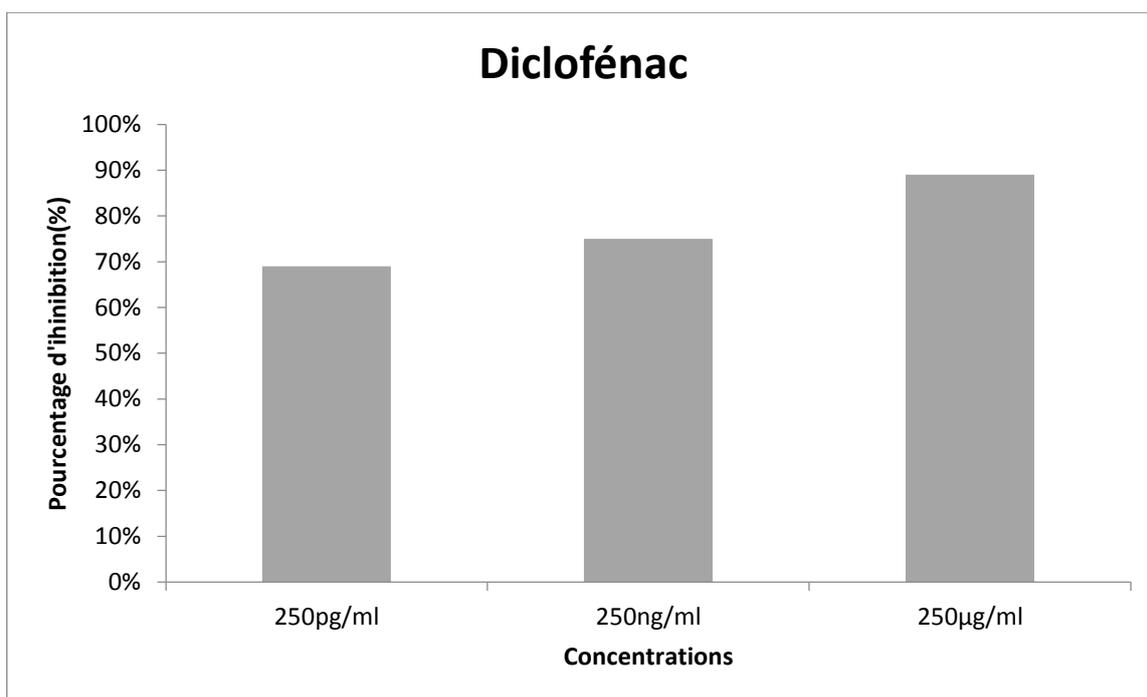


**Figure 16 :** Comparaison de l'activité anti hémolytique entre le Diclofénac, acide gallique et l'extrait aqueux du GO.

### III.3. Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux du grignon d'olive :

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire in vitro de nos extraits, on a utilisé la méthode de l'inhibition de la dénaturation protéique et les résultats ont été comparés à ceux de Diclofénac comme médicament standard.

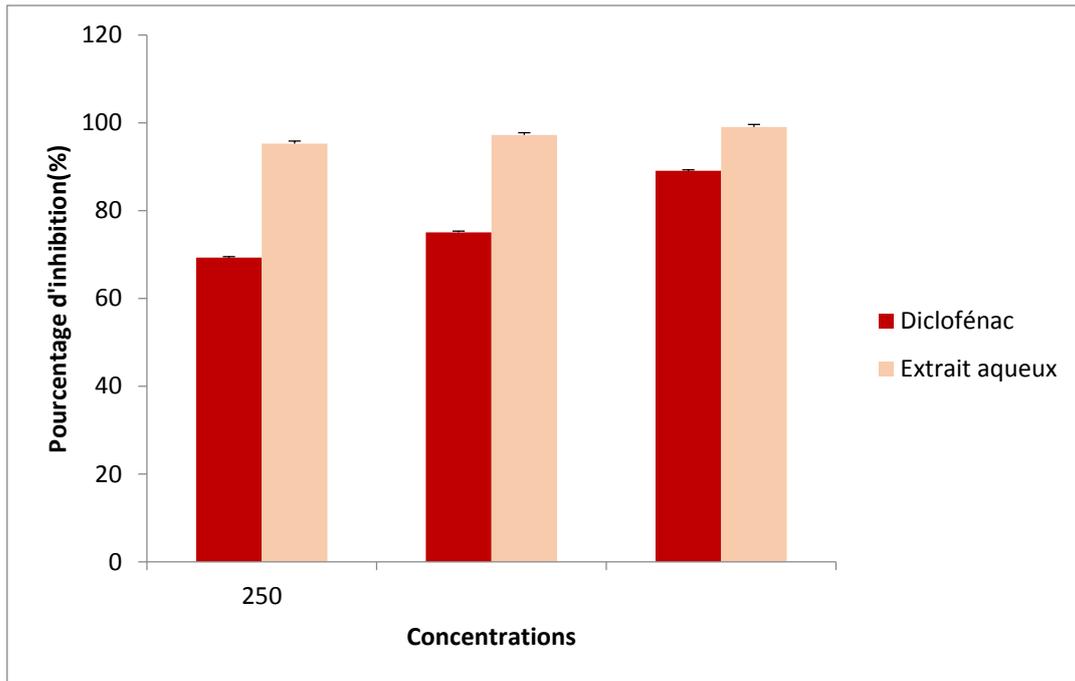
Les résultats montrent que le Diclofénac assure une bonne inhibition de la dénaturation Protéique, même à faible concentration 250pg/ml (69%) allant jusqu'à 89% à la concentration 250µg/ml marquant ainsi son effet anti-inflammatoire. (Figure17).



**Figure 17 :** Inhibition de la dénaturation protéique par le Diclofénac.

Les résultats montrent que l'extrait aqueux du GO exerce un effet protecteur contre la dénaturation protéique très important pour toutes les concentrations utilisées (250pg/ml, 250ng/ml et 250µg/ml). Cet effet est supérieur de celui du Diclofénac (molécule de référence) (Figure 18).

## Résultat et interprétation



**Figure 18 :** Comparaison de l'inhibition de la dénaturation protéique par le Diclofénac et l'extrait aqueux du grignon d'olive.

## **Discussion**

### Discussion

La valorisation des sous-produits issus de la production oléicole est devenue un secteur de valeur importante dans les pays productrice d'huile d'olive tel que l'Espagne, Italie, Grèce et la Tunisie. Ce secteur est toujours au stade embryonnaire et mal considéré en Algérie (**Mouzaoui K et al, 2015**). Le déchet principal de la production d'huile d'olive est le grignon d'olive qu'il est considéré comme un phyto-toxique qui cause des problèmes sérieux dans l'environnement (**Nunes et al., 2018**). Les voies de la valorisation du GO sont nombreuses, il est utilisé comme un aliment de bétails, combustible, fertilisant et autre fin... (**Sebban A et al, 2004**).

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer les teneurs phénoliques trouvés dans l'extrait aqueux du GO et étudier quelques activités biologiques de cet extrait tel que l'activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire afin de valoriser ce déchet précieux.

Les composés biologiquement actifs sont généralement présents à faibles concentrations dans les plantes. Une technique d'extraction est celle qui permet d'obtenir des extraits à rendement important avec des changements minimes des propriétés fonctionnelles. Cette opération a pour but de capter les produits élaborés par le végétal tout en veillant à éviter d'en altérer la qualité (**Mahmoudi S et al, 2013**). Le choix de la technique d'extraction des polyphénols est très important en basant sur l'influence de différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction de composés phénoliques de source végétale ; aussi la solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés (**Debib A et al, 2011**). Dans notre travail on a choisi l'eau distillée comme un solvant d'extraction par macération. Le rendement enregistré de notre extrait aqueux est de 20%, ce rendement est très important par rapport à d'autres études qui ont choisi un mélange eau/ méthanol avec un rendement de 9% et 8% pour l'extrait hydro-éthanolique (**Badi Z et al, 2022**). Ceci peut s'expliquer simplement par le fait que certains facteurs peuvent influencer la variation du rendement de l'extraction, notamment l'espèce végétale (variété), l'organe utilisé, les conditions de séchage de la plante, le contenu en métabolites et la nature du solvant utilisé (**Okombe et Nzuzi, 2019**).

Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques mais, comme c'est le cas pour la plupart des métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative diffère selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques. Ils se présentent sous différentes structures chimiques et sont un bon témoin de l'extraordinaire capacité de biosynthèse des plantes qui permet à l'être humain d'en faire usage dans des domaines aussi variés que

## Discussion

---

l'agroalimentaire et la pharmacologie (**Mouzaoui K et al, 2015**). La détermination des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins dans l'extrait aqueux du GO a été faite par des dosages spectrophotométriques. Nos résultats montrent une teneur importante des CP ( $7.48 \pm 0.05$  mg/g) et  $2.13 \pm 0.03$  mg/g des flavonoïdes plus  $1.51 \pm 0.01$  mg/g des tanins. Ces résultats sont proches de celles de (**Badi et al, 2022**). (**Bemeliani et al, 2023** trouvent des teneurs importantes avec  $9.13 \pm 1.15$  mg/g des CP,  $7.02 \pm 0.02$  mg/g des flavonoïdes et  $1.08 \pm 0.02$  mg/g des tanins. La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (**Mahmoudi S et al, 2013**).

Les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Okombe et Nzuzi, 2019**). Pour assurer l'effet bénéfique des CP trouvé dans notre extrait on a effectué une étude de cytotoxicité in vitro en utilisant les globules rouges humains comme un modèle cellulaire. L'utilisation des globules rouges facile à isoler du sang et sa membrane présente des similitudes avec d'autres membranes cellulaires (**Shobana et Vidhya, 2016**). Les résultats montrent que l'extrait aqueux du GO est moins toxique que l'acide gallique quel que soit la concentration utilisée. Cette toxicité est due à la présence des CP ceux qui est confirmé par l'étude quantitative. En outre d'après **Alhamed et al, 2012** ; 98 % phénols totaux présents dans les fruits de l'olivier restants sont conservés dans le grignon d'olive tandis que 2% seront transféré dans l'huile d'olives extraite.

L'hémolyse hypotonique est une condition extrême de fragilité osmotique érythrocytaire (**Zhang et al, 2019**). La stabilisation de la membrane des globules rouges a été étudiée pour établir le mécanisme d'action anti-hémolytique de l'extrait brut aqueux du GO. Nous avons utilisé deux molécules de référence. L'acide gallique et le Diclofénac induisent des effets anti-hémolytiques différents.

Dans ce test on a utilisé deux molécules de référence, le Diclofénac et l'acide gallique. Ces derniers sont des molécules qui induisent des effets anti-hémolytiques différents. Nos résultats montrent que l'acide gallique à faible concentration (10 et 30 et 75 ug/mL) présente un effet anti-hémolytique, protecteur et stabilisateur des membranes érythrocytaires important. Cependant, à partir de la forte concentration (150 et 300ug/mL) l'effet anti-hémolytique commence à diminuer.

## Discussion

---

Par ailleurs, aux faibles concentrations (10 et 30 µg/mL) le Diclofénac exerce un effet anti-hémolytique faible, cet effet augmente avec la concentration du Diclofénac et atteint 80% de protection à la concentration de 300 µg/mL. En outre notre extrait montre une activité anti-hémolytique importante et on constate plus la concentration d'extrait aqueux est élevée plus la stabilité membranaire continue d'augmenter mais reste toujours inférieur de celles de l'acide gallique et Diclofénac.

La dénaturation des protéines est un processus pathologique par laquelle les protéines perdent leur configuration et deviennent sans fonction. La dénaturation des protéines peut voir lieu même par un processus inflammatoire auto-immune dont le quelle la production d'auto-antigène augmentée, cette augmentation peut être l'une des principales causes des réactions inflammatoire quelle que soit la cause de l'inflammation (**Sridevi et al, 2015**).

Le Diclofénac est parmi les AINS bien établis qui présentent des propriétés anti-inflammatoires (**Moreno et al, 2009**). L'extrait aqueux du GO montre une activité anti-inflammatoire excellente et supérieure à l'activité anti-inflammatoire du Diclofénac (molécule de référence) .Cette activité est due à la richesse de notre extrait par des CP et des flavonoïdes qui sont capable d'inhiber la production des cytokine pro-inflammatoire (**Maguergue et al., 2022**).

## **Conclusion**

## Conclusion

---

### Conclusion

Le grignon d'olive, dont la composition chimique dépend de divers facteurs tels que la variété d'olive. Les déchets de L'industrie oléicole forment une véritable menace pour l'environnement écologique ainsi sont bénéfiques dans plusieurs domaines, tels que le domaine thérapeutique.

Dans ce travail de master, notre objectif est l'étude des activités biologiques d'extrait de GO brut aqueux avec une masse de 5 g qui a donné une couleur marron foncé .

L'extraction de GO a donné meilleur rendement de 20% .

Selon nos résultats, l'extrait du GO est cytotoxique à forte concentration (1mg/mL). Autrement, à faible concentration (125ug/mL) il est faiblement cytotoxique puisqu'ils exercent un faible taux d'hémolyse Ainsi, les résultats précédents ont montrent que l'extrait aqueux du GO exercent des effets anti-hémolytique très importants et assurent une stabilité à la membrane érythrocytaire par apport aux molécules de référence, ( l'acide gallique et Diclofénac ) Cependant, d'après les résultats de test anti-inflammatoire. Diclofénac assure une bonne inhibition de la dénaturation Protéique, même à faible concentration ( 69% ) jusqu'à ( 89% ) .

Notre travail de master permet de conclure qu'on peut utiliser le GO dans le domaine thérapeutique en raison de sa richesse en composé phénolique qui exercent des activités anti-hémolytiques et anti-inflammatoires.

## **Résumé :**

La production mondiale de grignons est estimée à 2,9 millions de tonnes, Ce qui conduit à des pollutions pour l'environnement écologique d'où l'importance de valoriser ce sous-produit doté de composés phénoliques. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est d'évaluer la toxicité et l'activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire du grignon d'olive par des tests in vitro, en utilisant comme solvants d'extraction des poly phénols, l'extrait aqueux a donné un bon rendement. Les résultats obtenus ont montré que l'effet anti-hémolytique des extraits est très important même à faible concentration , par ailleurs, l'effet anti-inflammatoire est important à forte concentration et il est faible à faible concentration. Ces extraits peuvent exercer un effet cytotoxique à forte concentration . Cette étude nous a permis de conclure que les grignons d'olive ne sont pas seulement des déchets nocifs, mais on peut les utiliser dans des différents domaines, en raison de leurs compositions intéressantes qu'ont des propriétés biologiques importantes.

Mots clés : Grignon d'olive, effet anti-hémolytique, effet anti-inflammatoire, les composés phénoliques, toxicité.

## **Abstract :**

The world production of pomace is estimated at 2.9 million tons, which leads to pollution harmful to the ecological environment, hence the importance of recovering this by-product with phenolic compounds. In this context, the objective of this work is to evaluate the toxicity and the anti-haemolytic and anti-inflammatory activity of olive pomace by in vitro tests, aqueous extract as extraction solvents for polyphenols. Both extracts gave good yields. The results obtained showed that the anti-haemolytic effect of the extracts is very important even at low concentration , on the other hand, the anti-inflammatory effect is important at high concentration and it is weak at low concentration. These extracts can exert a cytotoxic effect at high concentrations . This study has allowed us to conclude that olive pomace is not only a harmful waste, but it can be used in different fields, due to its interesting compositions that have important biological properties.

Keywords: Olive pomace, antihemolytic effect, anti-inflammatory effect, phenolic compounds, toxicity, anti-inflammatory effect.

الملخص:

يقدر الإنتاج العالمي من بقايا الزيتون بنحو 2.9 مليون طن ، مما يؤدي إلى تلوث ضار للمحيط البيئي ، وبالتالي أهمية استعادة هذا المنتج الثانوي الغني بمركبات الفينول. في هذا السياق ، الهدف من هذا العمل هو تقييم السمية والنشاط المضاد للانحلال والمضاد للالتهابات لثقل الزيتون عن طريق الاختبارات المعملية ، باستخدام مذيبيات استخلاص البوليفينول ،

محلول سائل، أعطت الخلاصتان غلة جيدة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن التأثير المضاد للإنحلال للمستخلصات مهم للغاية حتى عند التركيز المنخفض ، علاوة على ذلك ، فإن التأثير المضاد للالتهاب مهم عند التركيز العالي وهو ضعيف بتركيز منخفض. يمكن لهذه المستخلصات أن تمارس تأثيرًا سامًا للخلايا بتركيز عالٍ . أتاحت لنا هذه الدراسة أن نستنتج أن ثفل الزيتون ليس مجرد نفايات ضارة فحسب، بل يمكن استخدامه في مجالات مختلفة، بسبب تركيباتها المثيرة للاهتمام التي لها خصائص بيولوجية مهمة.

الكلمات المفتاحية: ثفل الزيتون، تأثير مضاد للإنحلال، تأثير مضاد للالتهابات، مركبات فنولية، سمية

Les références

## A

Amrouni Sais .H, R. Fethallah, M. Fahas, 2021. Les exploitations oléicoles en Algérie ;quelle performance économique ? Recherche Agronomique, 2021 Vol. 19, N° 1, p. 65-76

Aitadafouri. M. Mounnieri. C. Heyman. S.F. Binistic. C. Bon. C, Godhold. J. (1996).Alkoxybenzamides as new potent phospholipase A2 inhibitors, Biochem Pharm,; 5:737-742.

Alhamad. Mohammad. N. Taha M. Rababah . Muhammad Al-u'datt . Khalil Ereifej . Ranya Esah . Hao Feng . Wade Yang. (2012). The physicochemical properties, total phenolic, antioxidant activities, and phenolic profile of fermented olive cake. Arabian Journal of Chemistry (2017) 10, 136–140.

Amouretti M.C. et Brun J.P. (1993). Olivier et huile dans l'antiquité : découverte archéologique récente. Colloque Aix-Toulon, Sup. 26, BCH, Athène Paris.

## B

Bouhlali, E.D.T., Sellam, K., Bammou, M., Alem, C et Filali-zehzouti, Y. (2016). In vitro Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6 (05) : 156-162.

Bulmus, V., Woodward, M., Lin, L., Murthy, N., Stayton, P., et Hoffman, A. (2003). A new pH-responsive and glutathione-reactive, endosomal membrane disruptive polymeric carrier for intracellular delivery of biomolecular drugs. Journal of Controlled Release, 93(2), 105-120.

Bhavesh. C. Variya . Anita. K. Bakrania . Prem.Madan. Snehal.S.Patel. (2019). (Acute and 28-days Repeated Dose Sub-Acute Toxicity Study of Gallic Acid in Albino Mice. Regul Toxicol Pharmacol. Feb;101:71-78.

Brikci N., (1993). Efficacité d'un traitement insecticide optimise sur le ravageur de l'olive

Badi Z, Guermouche B, Haddam N, Belyagoubi N, Rouigueb K, Benzerjeb H, Dali-Sahi M, Kechkouche Y, Merzouk H (2022). Assessment of acute and sub- acute toxicity of olive

pomace in female Wistar rats. World Cancer Res J. 9:2359.

Benmeliani F, Guermouche B, Tahir FZ, Mezouk H . Potential bioactivity of Algerian olive pomace hydro-ethanolic extract: phytochemical investigation, antioxidant activity, and acute toxicity. Toxicology and Environmental Health Sciences. 2023

## C

Chanioti S, Tzia C (2018). Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural deep eutectic solvents and innovative extraction techniques. 48: 228-239.

Chippada. S.C. Volluri. S.S. Bammidi. S.R. and Vangalapati. M. (2011). In vitro anti inflammatory activity of methanolic extract of Centella Asiatica by HRBC membrane stabilisation . Vol.4, No.2, 457-460 ISSN: 0974-1496.

Cronquist A. 2010 : The Evolution and Classification of Flowering Plants, 2nd Edition Bronx, N.Y USA: The New York Botanical Garden, page 145.

## D

Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Cicala C, Caiazzo E, Izzo AA, Novellino

Debib A., Meddah B., Tir-Touil A. Antimicrobial activity in vitro of the virgin olive oils phenolic against resistant human pathogens. Laboratoire LR SBG, Université de Mascara. In : Congrès international de nutrition. Oran, Algérie, (2011), pp.152.

## H

Hashmi MA, Khan A, Hanif M, Farooq U, Perveen S (2015). Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of *Olea europaea* (Olive).

Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume 2015, Article ID 541591, 29 page

Hadjou L., Lamani O., Cheriet F. (2013). Labellisation des huiles d'olives algériennes: contraintes et opportunités du processus, Revue New Médit. Vol 12, N° 2, juin, 35-46.

## J

Jabbour HN, Sales KJ, Catalano RD, Norman JE. (2009). Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. *Reprod.*;138:903–919.

## K

Köhler.2006:Kohler'sMedicinal Plants (Kohler'sMedizinal-Pflanzen in naturgetreuenAbbildungen mit kurzerlauternde Texte: Atlas zurPharmacopoeagermanica), 2: p155.

## L

Lee. M. Feldman. M. (1997). The aging stomach: implications for NSAID gastropathy. *Gut.* 41(4): 425-426

## M

Mohanty. J. Nagababu.E. et Rifkind. J.M. (2014). Red blood cell oxidative stressimpairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Frontiers in physiology*, 5, 84.phagique

Moreno. Marcela. A.B. Patrick Garidel. C . Mario Suwalsky.B . Jörg Howe. D. Klaus Brandenburg. D. (2009).The membrane- activity of Ibuprofen, Diclofenac, and Naproxen: A physico- chemical study with lecithin phospholipids. *Biochimica et Biophysica Acta* 1788. 1296–1303.

Mendil M. and Sebai A. 2006. L'olivier en Algerie, aperçu sur le patrimoine génétique autochtone. *Institut Technique de L'arboriculture fruitière et de la vigne.* pp 99

Mendil. M et Sebai. A. (2006). Catalogue national des variétés de l'olivier.100p

Mushtaq A, Asif Hanif M, Adnan Ayub M, Bhatti IA, Romdhane M (2020). Olive.

Mouzaoui K, Yazzag L, Moulti-Mati F(2015). Composés phénoliques des grignons d'olive provenant d'huileries traditionnelle et moderne : Essai de purification de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol.*Sciences et Technologie.* 40 :9-15.

Mahmoudi S, Khali M, Mahmoudi N, Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie*. 2013 N

Nefzaoui. A. (1988). Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits. *Olivae*19 :17-21

Nefzaoui. A.(1991).Valorisation des sous-produits de l'olivier.In :Tisseran .Fourrages et sous-produits méditerranéens .Zaragoza : CIHEAM,. p.101-108 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n . 16).

Nguyen. V.T et al. (1989) in Lanneau, D. (2010). Rôle des protéines de choc thermique HSP90 et HSP70 dan

Novaes MR, Novaes LCG, Melo AL, Recôva VL (2007). Avaliação da toxicidade aguda do cogumelo *Agaricus sylvaticus*. *Comun Ciênc Saúde*. 18(3):1Nunes MA, Palmeira JD, Melo D,Machado S,Lobo JC, Costa ASG, Alves RC, Ferreira H, OliveiraMBPP (2018). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of a New Olive Pomace Functional Ingredient. *Pharmaceuticals*.14: 913.227-1236.

## O

Oyedapo, O. O., Akinpelu, B. A., Akinwunmi, K. F., Adeyinka, M. O., et Sipeolu, F. O. (2010). Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2(4), 46-51.

Okombe et Nzuzi., *J. Appl. Biosci*. 2019 Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (*Allium sativum* L.) *Journal of Applied Biosciences* 141: 14419 – 14425

## P

Peralbo-Molina Á., De Castro M. D. L., 2013. Potential of residues from the Mediterranean

## S

Sridevi. G. Sembulingam. K., Ibrahim. M, Srividya. S. Sembulingam. P. (2015) . Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of *Pergularia Daemia*.Vol 4, Issue 06. *World Journal of*

Pharmaceutical Research.f Centella Asiatica by HRBC membrane stabilisation .  
Vol.4, No.2, 457-460 ISSN: 0974-1496.

Sacan O., Khan M. R et Khan R. A. (2010). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of Carissa apaca fruits. Food Chemistry : 1-7.

Shobana. S et R. Vidhya. (2016). "Evaluation of In Vitro Hemolytic Activity Of Different Parts of Abutilon indicum (Linn.)." World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 5(5): 1182-1196.

Sadique, J., Al-Rqobah, W. A., Bughaith, M. F., et El-Gindy, A. R. (1989). The bio- activity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system. Fitoterapia, 60, 525-532.

Sebban A. Bahloul, M. Saadoune, A. Ait Kassi, M. Berrada, et al.. Schéma de valorisation des grignons d'olives produits par les maâsras marocaines. Environnement, Ingénierie & Développement, Episciences, 2004, N°34 - 2ème Trimestre 2004, pp.39-43.

## W

Williams, L.A.D., ConnarA. O., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J.A., Conrad,J., Vogler, B., Rosner, H et Kraus, W. (2008). The in vitro Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process. West Indian Med J, 57 (4): 327- 3

Wong, J. W., Hashimoto, K., & Shibamoto, T. (1995). Antioxidant activity of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43, 2707± 2712

## Z

Zhang L, Santos JS, Cruzc TM, Marques MB, do Carmo MAV, Azevedo L, Wang Y, Granato D (2019). Multivariate effects of Chinese keemun black tea grades (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) on the phenolic composition, antioxidant, antihemolytic and cytotoxic/cytoprotection activities. *Food Research International*. 125: 108516