



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de La Recherche Scientifique
Université deGhardaïa



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des
Sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : biologie

Spécialité: biochimie appliqué

Par:KOUADER Oumelkheir

AIMENE Imen

Thème

**L'activité biologique (antioxydante et anti bactérienne)
des contenus phénoliques des extraits des margines
issuesde différentsmodes de trituration de quelque
variétés d'olive dans la région du Ghardaïa**

Soutenu publiquement le: 24/06/2019

Devant le jury:

M.IDERSoufiane

Maître Assistant B

Univ. Ghardaïa

Président

M. AOUADI Abdelhafid

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Encadreur

Mme. BENSANIA Wafa

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Examinatrice

Année universitaire 2018/2019

Dédicace

*A ma chère mère DALILA et mon père KOUAIDER pour
l'éducation et le
grand amour dont ils m'ont entouré depuis ma naissance. Et
pour
leurs patiences et leurs sacrifices.*

*A mes grands-parents HAMIDA, AHMED que dieu
leurs garde*

A ma Chère sœur ABLA mes cher frère MASSAUDE, moh

*A mes chers amies
A tous ceux q j'aime
Je dédie ce travail*

Oum elkhier

Dédicace

*A mes chères mères DJEMAA et NAANA et mes pères LAID
et TOUMI pour l'éducation et le
grand amour dont ils m'ont entouré depuis ma naissance. Et
pour
leurs patiences et leurs sacrifices.*

*A mes Chères sœurs RAZIKA, SAOUSSEN, SARAH ET
ABIR et mes chers frères WASSIM, ABDELWAHAB,
NASRO et KRIMO.*

A toute ma famille des deux cotés

*A mes chers amies
A tous ceux q j'aime
Je dédie ce travail*

Aimene imen

Remerciement

Avant tout, nous remercions notre dieu le tout puissant de nous avoir donné courage et patience pour accomplir ce travail.

Au terme de ce travail, nous saisissons cette occasion pour exprimer nos vifs remerciements à toute personne ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, particulièrement :

Détracteur d'huileriede Guerarra. Et BENI-ISGUEN.

Direction des Services Agricoles (DSA) De La Wilaya De Ghardaïa

Je tiens à remercier :

Mon promoteur AOUDI abdelhafidechercheur permanent université de GHARDAIA , qui m'a encadré avec patience durant la réalisation de ce projet de fin d'études. Ses conseils m'ont été bien utiles, pour la réalisation du ce travail, les analyses effectuées ainsi que la rédaction de ce mémoire.

Je remercie tous les ingénieurs des laboratoires de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre université de Ghardaïa pour leur vif accueille et leurs aides.

Enfin Je tiens à remercier l'ensemble du corps enseignant de département des BIOCHMIE appliqué de l'université de Ghardaïa.

Résumé :

L'extraction d'huile d'olive par deux systèmes d'extractions (discontinu à presse ou par extraction continu de centrifugation à 3phases), génère deux sous-produit, le premier sous forme solide (grignons) et l'autre à l'état liquide (marges). L'objectif de notre étude est de quantifier les composés phénoliques contenant dans les marges ainsi d'évaluer leurs activités biologiques. La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de (25.77 g/l, 19.42 g/l, 16.97 g/l et 13.05 g/l) pour **(E.P.B.M.V.Si.S.E.P, E.P.B.M.V.C.S.E.P, E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph et E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** respectivement). Les tanins totaux ont été quantifiés en utilisant la méthode de PVPP. Leur teneur est de (18.74 g/l, 14.05 g/l, 10.59 g/l et 8.21g/l) dans les extraits **(E.P.B.M.V.Si.S.E.P, E.P.B.M.V.C.S.E.P, E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph et E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** respectivement). Les tanins condensés sont estimés par la méthode de HCL-Vanilline. Leur teneur est de (8.88 g/l, 8.20 g/l, 8.15 g/l et 5.55 g/l) pour **(E.P.B.M.V.Si.S.E.P, E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph, E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph et E.P.B.M.V.C.S.E.P** respectivement). Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode AlCl₃, leur teneur est de (0.12 g/l, 0.08 g/l, 0.06 g/l, 0.05 g/l) pour **(E.P.B.M.V.Si.S.E.P, E.P.B.M.V.C.S.E.P, E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph et E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** respectivement). L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH comparativement avec l'activité de témoin positif acide ascorbique. L'IC₅₀ a été estimé (0.103 mg/ml (dilution 1/250), 0.104 mg/ml (dilution 1/200), 0.169 mg/ml (dilution 1/100) et 0.163 mg/ml (dilution 1/80) pour les extraits phénoliques des marges **(E.P.M.V.Si.S.E.P, E.P.M.V.C.S.E.P, E.P.M.V.Si.S.E.3Ph et E.P.M.V.C.S.E.3Ph** respectivement). Alors que celle de l'acide ascorbique est de (0.27 mg/ml). L'activité antibactérienne a été testée sur deux souches bactériennes pathogènes *Escherichia Coli* et *Pseudomonas Aeruginosa* selon la méthode de diffusion de disque comparativement avec l'activité de témoin positif gentamicine. L'activité antibactérienne des extraits **(E.P.B.M.V.Si.S.E.P, E.P.B.M.V.C.S.E.P, E.P.B.M.V.Si.S.3Ph et E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph)** contre la souche *Escherichia Coli* exercent des diamètres des zones d'inhibition (19, 15, 10 et 12 mm respectivement). Le diamètre de zone d'inhibition de témoin gentamicine est de (24 mm) contre la même souche. Concernant les diamètres des zones d'inhibitions qui ont été enregistrées pour les extraits brutes des marges contre *Pseudomonas Aeruginosa* sont (20, 15, 9 et 12 mm) pour ces extraits brutes **(E.P.B.M.V.Si.S.E.P, E.P.B.M.V.C.S.E.P, E.P.B.M.V.Si.S.3Ph et E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** respectivement) ; l'**E.P.B.M.V.Si.S.E.P** est plus efficace contre le témoin gentamicine (19mm).

Mots clés :

Marge, Composé phénoliques, DPPH, activité antioxydante, activité antibactérienne

Abstract

Extraction of olive oil by two extraction systems (batch press or continuous centrifugation extraction at 3phases), generates two by-products, the first in solid form (pomace) and the other in the liquid state (vegetable waters). The objective of our study is to quantify the phenolic compounds containing in vegetable waters thus to evaluate their biological activities. The total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteureagent, it was (25.77 g / l, 19.42 g / l, 16.97 g / l and 13.05 g / l) for (**E.P.B.M.V.Si.S.E.P**,**E.P.B.M.V.C.S.E.P**,**E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph** and**E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** respectively). Total tanninscontents were quantified using PVPP method. There were (18.74 g / l, 14.05 g / l, 10.59 g / l and 8.21 g / l) in the extracts (**E.P.B.M.V.Si.S.E.P**, **E.P.B.M.V.C.S.E.P**, **E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph** and**E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** respectively). Condensed tannins were estimated by the HCL-Vanillin method. Their content is (8.88 g / l, 8.20 g / l, 8.15 g / l and 5.55 g / l) for (**E.P.B.M.V.Si.S.E.P**, **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph**, **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** and**E.P.B.M.V.C.S.E.P** respectively). The flavonoids were evaluated using the AlCl₃ method, their content is (0.12 g / l, 0.08 g / l, 0.06 g / l, 0.05 g / l) for (**E.P.B.M.V.Si.S.E.P**, **E.P.B.M.V.C.S.E.P**, **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** and**E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** respectively). Antioxidant activity was evaluated using free radical reduction scavenging effects of the free radical DPPH. The IC₅₀ estimated for extracts was (0.103 mg / ml (1/250), 0.104 mg / ml (1/200), 0.169 mg/ml(1/ 100) and 0.163 mg / ml (1/80) and for the phenolic extracts of margine (**E.P.M.V.Si.S.E.P**, **E.P.M.V.C.S.E.P**, **E.P.M.V.C.S.E.3Ph** and**E.P.M.V.Si.S.E.3Ph** respectively). This effect seems to be weak when compared to positive control ascorbic acid (0.27 mg / ml). The antibacterial activity was tested on two bacterial strains pathogenic *Escherichia Coli* and *Pseudomonas Aeruginosa* according to Disc diffusion method compared with gentamicin control activity. The antibacterial activity of the extracts (**E.P.B.M.V.Si.S.E.P**,**E.P.B.M.V.C.S.E.P**, **E.P.B.M.V.Si.S.3Ph** and**E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph**) against the *Escherichia Coli* exercees strain of the diameters of the inhibition zones (19, 15, 10 and 12 mm respectively). The inhibition zone diameter of gentamicin control is (24mm) to tell the same strain. Regarding the diameters of the zones of inhibition that were recorded for the gross extracts of the vegetable waters are (20, 15, 9 and 12 mm) for these crude extracts (**E.P.B.M.V.Si.S.E.P**,**E.P.B.M.V.C.S.E.P**,**E.P.B.M.V.Si.S.3Ph** and **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** respectively); **E.P.B.M.V.Si.S.E.P** is more effective against the gentamicin control (19mm).

Key

Phenolic compounds, vegetable waters, DPPH, Antioxidant activity, antibacterial activity

الملخص

إن استخراج زيت الزيتون بواسطة نظامين للاستخراج (ضغط أو الطرد المركزي المستمر في ثلاث مراحل)؛ ينتج نوعين من البقايا، الأولى صلبة (ثقل) والأخرى سائلة (المياه النباتية). الهدف من دراستنا هو تحديد كمية المركبات الفينولية التي تحتويها المياه النباتية و تقييم أنشطتها البيولوجية. تم تحديد المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستخدام كاشف Folincaltea؛ كانت النتائج كما يلي (g/l)؛ 25.77؛ 19.42؛ 16.97g/l و 13.05g/l على الترتيب). في مستخلصات **E.P.B.M.V.C.S.E.P**، **E.P.B.M.V.C.S.E.3ph** و **E.P.B.M.V.Si.S.E.P** تم قياس مجموع العفص الكلي باستخدام طريقة PVPP. و كان محتواها كالتالي (g/l)؛ 18.74؛ 10.59 و 10.59؛ 18.21g على الترتيب). في مستخلصات **E.P.B.M.V.Si.S.E.P**، **E.P.B.M.V.C.S.E.3ph** و **E.P.B.M.V.C.S.E.P.E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph**، و تقدر العفص المكثفة حسب طريقة HCL-Vanilline. و قد كان محتواها (g/l)؛ 8.88؛ 8.20؛ 8.15 و 5.55؛ 8.15g على الترتيب). في مستخلصات كل من **E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph**، **E.P.B.M.V.C.S.E.3ph** و **E.P.B.M.V.Si.S.E.P**، تم تقدير الفلوفونويدات باستخدام طريقة AIC13. كان تركيز هذه الأخيرة (g/l)؛ 0.12؛ 0.08؛ 0.06 و 0.05g على الترتيب). في مستخلصات **E.P.B.M.V.C.S.E.P**، **E.P.B.M.V.C.S.E.3ph** و **E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph**، قدرت النشاطية المضادة للأكسدة باستخدام طريقة تقنية إرجاع الجذر الحر DPPH مقارنة مع نشاط التحكم الإيجابي حمض الأسكوربيك. كانت IC50 للمستخلصات كما يلي (تخفيف 250/1) 0.103mg/ml؛ (تخفيف 200/1) 0.104mg/ml؛ (تخفيف 100/1) 0.163 mg/ml و (تخفيف 80mg/ml) على الترتيب). للمقتطفات الفينولية من المياه النباتية **E.P.B.M.V.C.S.E.P**، **E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph** و **E.P.B.M.V.C.S.E.3ph** تمت مقارنة نتائج النشاطية المضادة للأكسدة مع نشاطية حمض الأسكوربيك. حيث أن IC50 حمض الأسكوربيك (0.27 mg/ml) تم اختبار النشاطية المضادة للميكروبات على سلالتين مسببتين للأمراض *Escherichia coli* (بطريقة إنتشار الأقراص مقارنة مع نشاط التحكم الإيجابي الجنتاميسين؛ النشاط المضاد للبكتيريا في المستخلصات الخام من المياه النباتية **E.P.B.M.V.Si.S.E.P**، **E.P.B.M.V.C.S.E.3ph** و **E.P.B.M.V.C.S.E.P** ضد السلالة *Escherichia coli* حيث سجلت أقطار مناطق التثبيط (19؛ 15؛ 10 و 12mm على التوالي)؛ حيث قطر منطقة تثبيط التحكم الإيجابي الجنتاميسين (24 mm) ضد نفس السلالة. فيما يتعلق بأقطار مناطق التثبيط التي تم تسجيلها للمستخلصات الخام من المياه النباتية ضد *pseudomonasaeruginosa* هي (20؛ 15؛ 9 و 12 mm بالنسبة لهذه المستخلصات الخام **E.P.B.M.V.C.S.E.P**، **E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph** و **E.P.B.M.V.C.S.E.3ph** في حين أن قطر تثبيط الجنتاميسين ضد نفس السلالة هو 19 mm).

SOMMAIR

| | |
|----------------------|--|
| Résumé | |
| Sommair | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Liste d'abréviations | |

Introduction

Chapitre I : synthèse bibliographique

| | |
|---|----|
| I.1. Oléicultures | 5 |
| I.1.1. Patrimoine Oléicole Mondial | 5 |
| I.1.2. Oléiculture En Algérie | 5 |
| I.1.3. Oléiculture dans la wilaya de Ghardaïa | 6 |
| I.2. Production d'huile d'olive | 7 |
| I.2.1. Récolte des olives | 7 |
| I.2.2. Transport des olives | 7 |
| I.2.3. Stockage des olives et transformation | 8 |
| I.2.4. Extraction de l'huile d'olive | 8 |
| I.2.4.1. Système discontinu d'extraction à presse | 8 |
| I.2.4.2. Système d'extraction continu avec centrifugation à 3 phases | 9 |
| I.2.4.3. Système d'extraction continue avec centrifugation à 2 phases | 10 |
| I.3. Margine | 12 |
| I.3.1. Généralités sur les margines | 12 |
| I.3.2. Composition | 12 |
| I.3.2.1. Matière sèche des margines | 12 |
| I.3.2.2. Fraction minérale | 13 |
| I.3.2.3. Fraction organique | 13 |
| I.3.2.4. Composées phénoliques des margines | 13 |
| I.4. Caractéristiques biologique des margines | 16 |
| I.4. 1. Activité microbiologique des margines : | 16 |
| I.4.1.1. Activité antibactérienne des polyphénols des margines | 16 |
| I.4.2. activité antioxydante des margines | 16 |

Chapitre II : matériel et méthode

| | |
|---|----|
| II.1. Echantillonnage | 20 |
| II.2. Analyses Chimiques | 22 |
| II.2.1. Matière sèche | 22 |
| II.2.2. Détermination de la matière minérale MM | 22 |
| II.2.3. Détermination de la matière organique MO | 22 |
| II.3. Quantification des composées phénoliques des margines | 23 |
| II.3.1. Extraction des composés phénoliques | 23 |
| II.3.1.1. Délipidation des margines | 23 |
| II.3.1.2. Extraction à l'acétate d'éthyle | 23 |
| II.3.2. Dosage des polyphénols totaux | 23 |
| II.3.3. Les tanins totaux | 24 |

| | |
|--|----|
| II.3.4. Les flavonoïdes..... | 24 |
| II.3.5. Dosage des tannins condensés :..... | 24 |
| II.4. activité biologique (antioxydante et antibactérienne)..... | 25 |
| II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante | 25 |
| II.4.2. Activité antibactérienne..... | 26 |
| Chapitre III : résultats et discussion | |
| III.1. Analyses chimiques..... | 29 |
| III.1.1. pH..... | 29 |
| III.1.2. La matière sèche..... | 29 |
| III.1.3. La matière Organique..... | 30 |
| III.1.4. La matière minérale : | 31 |
| III.1.5. Le pourcentage d'humidité | 32 |
| III.2. Analyses phytochimique | 33 |
| III.2.1. Dosage des composées phénoliques : | 33 |
| III.2.2. Dosage des polyphénols totaux et tanins totaux | 34 |
| III.2.3. Dosage des tannins condensés | 35 |
| III.2.4. Les flavonoïdes | 36 |
| III.3. Activité biologique..... | 36 |
| III.3.1. L'activité antioxydante..... | 36 |
| III.3.2. activité antibactériennes | 38 |
| Conclusion | |
| Référence bibliographique | |
| Annexes | |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 01: Répartition des oliviers dans la région méditerranéenne . | 5 |
| Figure02: Système discontinu d'extraction à presse | 9 |
| Figure03: Systeme continu d'extraction avec centrifugation à 3phases. | 10 |
| Figure 04: Système d'extraction continue avec centrifugation à 2phases | 11 |
| Figure 05: Montre La structure de noyau phenol. | 13 |
| Figure 06: Structure de base des flavonoides | 15 |
| Figure 07 : Carte de localisation d'Elgarara (Wilaya Ghardaïa) | 20 |
| Figure 08 : Carte de localisation deBen ghannem(Wilaya Ghardaïa) | 21 |
| Figure09: Reaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes. | 24 |
| Figure 10 : Reaction de la vanilline avec la catechine | 25 |
| Figure 11 : Réaction de piégeage de DPPH. | 25 |
| Figure 12: Préparation des dilutions | 26 |
| Figure 13: La matière sèche des margines grouper par variété et catégorie par système d'extraction. | 30 |
| Figure 14 : La matière organique des margines grouper par variété et catégorie par système d'extraction. | 31 |
| Figure 15: La matière minérale des margines grouper par variété et catégorie par système d'extraction. | 32 |
| Figure 16: Le pourcentage d'humidité des margines grouper par variété et catégorie par système d'extraction. | 33 |
| Figure 17 : La teneur en polyphénols totaux et tanins totaux des margines grouper par variété et catégorie par système d'extraction. | 34 |
| Figure 18: La teneur en tannins condensées des margines grouper par variété et catégorie par système d'extraction. | 36 |
| Figure 19: La teneur en flavonoïdes des margines grouper par variété et catégorie par système d'extraction. | 36 |
| Figure 20: IC50 de différentes échantillons contre le radical DPPH• | 37 |
| Figure 21 : Les zones d'inhibition des extraits phenoliques vis-a-vis la souche pathogène (<i>Escherichia coli</i> ATCC25922). | 39 |
| Figure 22: Les zones d'inhibition gentamicine vis-a-vis souche pathogène (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922) | 39 |
| Figure 23: Les zones d'inhibition des extraits phenoliques vis-a-vis la souche pathogène (<i>Pseudomonasaeruginosa</i> ATCC27853) | 39 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 01: Principauxvariété cultivées dans le monde | 6 |
| Tableau02: Principauxvariétés d'oliviers cultivées en Ghardaïa | 7 |
| Tableau 03: Valeurs des minéraux des margines issues des deux systèmes d'extraction .. | 13 |
| Tableau 04 : Structure des monomères phénoliques rencontres dans lesmargines | 14 |
| Tableau 05: Les différents appareils utilisés dans les tests | 21 |
| Tableau 06 : Les diamètres des zones d'inhibition des extraits phénoliques des margines brutes contre (<i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)..... | 40 |

Liste des sigles et abréviations

α : alpha.

APR : Pouvoir Anti-Radicalaire

C.O.I : Conseil Oléicole International

C.P : Composé Phénoliques

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DO : Densité Optique

E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph : Extrait Phénolique Brute des MarginesVariété Sigoise
Système d'Extraction à 3phases.

E.P.B.M.V.C.S.E. 3 Ph : Extrait Phénolique Brute des MarginesVariété Chemlal
Système d'Extraction à 3phases

E.P.B.M.V.S.S.E.P : Extrait Phénolique Brute des MarginesVariété Sigoise
Système d'Extraction à Presse.

E.P.B.M.V.C.S.E.P : Extrait Phénolique Brute des MarginesVariété Chemlal
Système d'Extraction à Presse.

E.P.M.V.Si.S.E. 3P : Extrait Phénolique des MarginesVariété Chemlal
Système d'Extraction à 3phases.

E.P.M.V.C.S.E.3Ph : Extrait Phénolique des MarginesVariété Chemlal
Système d'Extraction à 3phases.

E.P.M.V.Si.S.E.P : Extrait Phénolique des MarginesVariété Sigoise
Système d'Extraction à Presse.

E.P.M.V.C.S.E.P : Extrait Phénolique des MarginesVariété Chemlal
Système d'Extraction à Presse.

FT : Flavonoïdes Totaux.

h : Heure.

HUM : Humidité.

I.T. A.F.V : Institut Technique de L'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.

IC50 : Concentration correspondante à 50% d'Inhibition.

M.M : Matière Minérale.

M.O : Matière Organique.

MS : Matière Sèche.

M.S.E.P : Margines Système d'Extraction à Presse.

M.S.E.3PH : Margines Système Extraction à 3phases.

M.V.Si.S.E.P : Margines Variété **Si**goise Système d'Extraction à **P**resse.

M.V.C.S.E.P : Margines Variété **C**hemlal Système d'Extraction à **P**resse.

M.V.Si.S.E.3Ph : Margines Variété **Si**goise Système d'Extraction à **3Ph**ases.

M.V.C.S.E.3Ph : Margines Variété **C**hemlal Système d'Extraction à **3Ph**ases.

NM: Nanomètre.

P : Probabilité.

P.H: Potentielle d'**H**ydrogène.

P.P.T: Poly**P**hénols **T**otaux.

PVPP: Poly-Vinyl-Poly-Pyrolidone.

RPM: Rotation **P**ar **M**inute.

SEM : Erreur Standard **M**oyenne.

T° : Température.

TC : Tanins **C**ondensés.

TT : Tanins **T**otaux.

UV: Ultra-Violet.

INTRODUCTION

L'olivier a une origine très ancienne. Son apparition et sa culture remonterait à la préhistoire (**Miner,1995**).L'huile d'olive est une des principales composantes du régime dit « méditerranéen », connu pour son action bénéfique sur la santé (**Jacotot, 1996**).Avec le développement du secteur oléicole, les systèmes d'extraction de l'huile d'olives traditionnels (le système discontinu à presse) sont remplacés par des équipements modernes (le système continu par centrifugation à 2phases ou 3phases). L'extraction de l'huile d'olive produit deux types de déchets solides (les grignons) et l'autre liquide (les margines).Seuls les systèmes à presse ou de centrifugation à 3phases génèrent des margines. Même si ces deux processus sont moins respectueux à l'environnement, ils sont encore largement utilisé, autour de la zone méditerranéenne où ils induisent la production de grands volumes de margines, estimés à 30 millions de m³/an (**Mekkiet al.,2007**)Pendant une très courte période de l'année allant de novembre à février. Les margines sont considérés comme l'un des effluents les plus nocifs produits par les industries agro-alimentaires (**Mekkiet al.,2010**).En raison de leur charge polluante et de leur toxicité pour l'ensemble de l'écosystème (plantes, microorganismes et organismes aquatiques et aériens) due à leur pH acide, et leur richesse en matière organique, en particulier en polyphénols.Il a été évalué qu'elles sont 200-400 fois plus toxiques que les eaux usées municipales (**Achaket al.,2011**). Ces considérations ont conduit plusieurs chercheurs à l'échelle nationale et internationale à trouver des applications pour le traitement et la valorisation des effluents d'huileries d'olive (**Hamdi et Ellouz, 1993 ; Chimiet al.,1997 ;Paredes et al., 2000**).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la quantité, la qualité et la composition physico-chimique des margines, y compris: le climat et les conditions du sol, des cultivars d'oliviers, la variété d'olive, la maturité des fruits, le lieu et l'âge de la croissance, la période de récolte, le temps et les conditions de stockage des olives et les procédés d'extraction d'huile (**KirilMertet al.,2010**). Donc,est ce que le mode d'extraction et les variétés des olives peuvent influencer sur la quantité des polyphénols des margines et leur activité biologique (antioxydante et antibactérienne) ?Dans ce contexte le but de notre étude est d'évaluerla quantité des composéphénolique,et de testzractivité antioxydante et testé l'activité l'antibactérienne.Ces composé phénoliques appartient aux margines des deux variétés d'Olive (Sigoise et Chemlal) ; chaque variété est issue par deux systèmes d'extraction: l'un par pression et l'autre par centrifugation à 3phases, ces variétés sont récoltés dans la région de Ghardaïa.

Les hypothèses de notre travail; sont basées sur l'effet de la variété d'olive et les systèmes d'extraction sur les composés phénoliques et leur activité biologique.

Hypothèse nulle (H_0) : il n'y a pas d'effet de la variété d'olive et des systèmes d'extraction sur la quantité des composés phénoliques et sur l'activité biologique

Hypothèse alternative (H_1) : Il n'existe pas d'effet de la variété d'olive et des systèmes d'extraction sur la quantité des composés phénoliques et leur activité biologique

C'est pour ça que notre travail est subdivisé en trois chapitres : **chapitre 1** : synthèse bibliographique est subdivisée en 3 titres. **Titre 1** inclut : la diffusion de l'oléiculture dans le monde, l'Algérie et Ghardaïa et les processus d'extraction, sous-produits de l'oléiculture et les principaux composants des margines. **Titre 2** inclut : les composés phénoliques des margines, et **Titre 3** inclut : l'activité biologique des margines. **Chapitre 2** : c'est la partie expérimentale présente le matériel et les méthodes utilisées pour effectuer les différents tests et **chapitre 3** : concerne les résultats obtenus et ainsi que leur interprétation. Et vers la fin une conclusion.

CHAPTER 1
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Oléicultures

I.1.1. Patrimoine Oléicole Mondial

Compte actuellement environ 750 millions de pieds d'olivier cultivés sur une superficie de 9,23 millions d'hectares. Les pays méditerranéens comptent 715 millions d'oliviers sur une superficie d'environ 8,16 millions d'hectares, soit 95 % du patrimoine oléicole mondial (**Benyahia et Zein, 2003**). La production de l'huile d'olive se concentre principalement dans les pays du pourtour méditerranéen Espagne, Grèce, Italie, Turquie, Syrie, Tunisie et Maroc avec 94 % de la production mondiale (**El Hajjouji, 2007**). (Figure 01 et tableau 01)

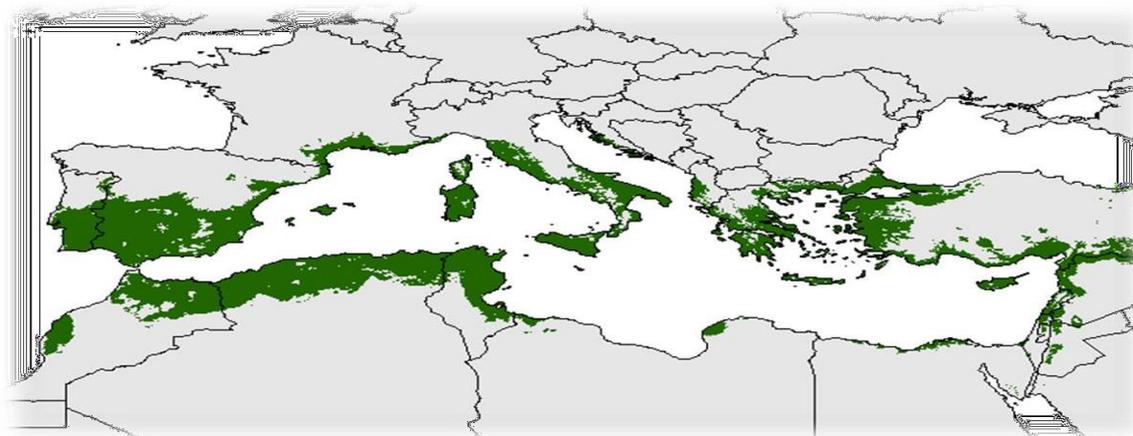


Figure 01: Répartition des oliviers dans la région méditerranéenne (**vergari, 1998**).

I.1.2. Oléiculture en Algérie

L'oléiculture est la première richesse arboricole de l'Algérie. Elle constitue une source de subsistance pour de nombreuses familles. L'olivieraie occupe 45% du verger arboricole total et compte 32 millions d'arbres dont 80% sont destinés à la production d'huile d'olive (**Vossen, 2013**) estimée à 55.000-70.000 tonnes/an (**Cheikh, 2016**). La superficie oléicole algérienne a connu une légère progression en 2014 passant de 348196 ha en 2013 à 383443 soit une évolution de 10%. La production d'huile d'olive, quant à elle, est passée de 429 980 hl en 2013 à 479700 hl en 2014, soit une évolution de 11.5%. L'Algérie se place ainsi au 8ème rang mondial (**Aggoun, 2016**).

Le potentiel oléicole est concentré dans les régions montagneuses et se répartit principalement dans trois régions : le Centre nord, principalement (Tizi-Ouzou, Bouira et Bejaia) avec 54,3 % de la surface totale, l'Est (Jijel, Guelma, Skikda et Mila) avec 28,3 % et l'Ouest qui occupe à peine 17% (Tlemcen, Sig et Mascara). La plupart des oliveraies (80 %) est donc cultivée sur des terrains accidentés et marginaux, peu fertiles et caractérisés

par une pluviométrie moyenne comprise entre 400 et 900 mm/an. Le reste (20 %) est situé dans les plaines occidentales où la pluviométrie moyenne annuelle est de 300-400 mm. A noter que les olives des régions centre sont destinées à la production de l'huile, alors que celles de l'Ouest sont pour la conserverie (Loussert Et Brousse, 1978).

Tableau01: Principales variétés cultivées dans le monde (Coi, 2013).

| Pays | Principales variétés |
|-----------|--|
| Algérie | Chemlal ; Sigoise ; Azeradj ; Limli ; Blanquette de Guelma. |
| Argentine | Arauco. |
| Egypte | AggeziShami ; Hamed ; Toffahi. |
| Espagne | Alfafara ; Aloreña ; Arbequina ; Bical ; Blanqueta ; Callosina ; Carasqueno de la Sierra ; Castellana ; Changlot Real ; Cornicabra ; Empilatre ; Farga ; Gordal de Granada ; Gordal Sevillana ; Hojiblanca ; Lechin de Granada ; Lechin de Sevilla ; Loaime ; Lucio ; Manzanilla cacereña ; Manzanilla Prieta ; Manzanilla de Sevilla ; Mollar de Ceiza ; Morisca;Morona;Morrut;Palomar;Picual;Picudo;Rapasayo; Royal de Gazorla ; Sevillena ; Verdial de Badajoz ; Verdial de Huevar; |
| France | Aglandau ; Bouteillan ; Grossane ; Lucques ; Picholine Languedoc ; Salonenque ; Tanche. |
| U.S.A | Mission |
| Grèce | Adramitini ; Amigadalolia ; Chalkidiki ; Kalamone ; Conservolia ; Koroneiki ; Mastoidis ; Megaritiki ; Valanlia. |
| Italie | AscolanaTenera ; Biancolilla ; Bosana ; Canino ; Carolea ; Casaliva ; Cassanese ; Cellina di Nardo ; Coratina ; Cucco ; Dolce Agogia ; Dritta ; |
| Jordanie | Rasi'i |
| Liban | Soury. |
| Maroc | Haouzia ; Menara ; Meslala ; Picholine Marocaine. |
| Palestine | NabaliBaladi |
| Portugal | Carrasquenha ; Cobrançosa ; Cordovil de Castelo Branco ; Cordovil de Serpa ; GalegaVulgar ; MaçanilhaAlgariva ; Redondal. |
| Slovénie | Bianchera. |
| Syrie | Abou-Satl ; Doebli ; Kaissy ; Sorani ; Zaity. |

I.1.3. Oléiculture dans la wilaya de Ghardaïa

La production d'olives dans la wilaya de Ghardaïa a atteint 2.150 tonnes au titre de l'actuelle saison agricole. La superficie consacrée à l'oléiculture a connu un net développement en passant de 118 hectares en 2000 à 1.250 hectares en 2014 dans la wilaya de Ghardaïa. Une quantité de 1.877 tonnes sera consommée comme olive de table, et 273

tonnes sera destinée pour l'extraction de près de 27.500 litres d'huile d'olive "vierge et bio" par le biais de deux huileries créées respectivement à Guerrara et à Beni Izguen.

Les pouvoirs publics œuvrent à l'extension de la superficie des oliveraies dans la wilaya de Ghardaïa qui offre plusieurs opportunités d'investissement, notamment la possibilité d'étendre la superficie cultivée d'oliviers, à travers la lutte contre l'érosion des sols, l'exploitation rationnelle des terres et l'augmentation de la productivité notamment dans la région du sud de la wilaya (DSA Ghardaïa, 2014).

Tableau02: Principales variétés d'olive cultivées à Ghardaïa (DSA Ghardaïa, 2014).

| Variétés | Destination | Caractéristiques |
|----------|---------------|--|
| Sigoise | Table + huile | Très estimée pour la conservation et l'huilerie, rendement élevé en huile et variété auto-fertile. |
| Chemlal | Huile | Huile très appréciée, résiste en culture sèche. Inconvénients : autostérile et floraison tardive. |

I.2. Production d'huile d'olive

Les étapes de la production :

I.2.1. Récolte des olives

La récolte est une opération importante de la culture de l'olivier et, par conséquent, elle doit être contrôlée de près étant donnée ses répercussions sur le coût de la production, la qualité du produit obtenu et la qualité de l'huile d'olive (Ahmidou et Hammadi, 2007).

I.2.2. Transport des olives

Dans le souci de conserver les caractéristiques de qualité que les olives possèdent au moment de la récolte sur l'arbre, il s'avère nécessaire de les acheminer immédiatement vers les moulins. Le moyen le plus approprié pour le transport des olives est représenté par les caisses matière plastique permettant la circulation de l'air et évitant des réchauffements préjudiciables causés par l'activité catabolique des fruits. Ces caisses limitent la couche d'olives et réduisent donc le danger d'écrasement, tout en représentant un moyen idéal pour le stockage en attendant la mouture. Par contre, le transport des olives dans des sacs en jute est peu rationnel, car cette modalité provoque inévitablement des lésions aux drupes,

surtout si elles sont très mûres. Elles sont à l'origine du déclenchement de processus biologiques d'altération de la qualité de l'huile (**Ahmidou et Hammadi,2007**).

I.2.3. Stockage des olives et transformation

Le caractère saisonnier de la production oléicole, les problèmes de transport et les autres contraintes liées aux structures de la filière oléicole, ne permettent généralement pas d'adapter le rythme de réception aux capacités des unités de trituration ; d'où le nécessaire recours au stockage.

Le stockage est donc un mal nécessaire et constitue dans la majorité des cas la principale cause de la détérioration de la qualité de l'huile extraite.

Au cours de ce stockage, les olives subissent des altérations plus au moins profondes selon la durée et les conditions de stockage. Ces altérations sont dues à l'activité enzymatique propre à la matière elle-même, (lipolyse), mais également au développement microbien durant la période de stockage. Pour atténuer ces altérations on peut opérer des stockages en silos ventilés ou greniers à olives, en bacs superposés en matière plastique, avec utilisation de fongicides, en saumures, en atmosphère contrôlée, sous froid (**Ahmidou et Hammadi,2007**).

I.2.4. Extraction de l'huile d'olive

L'acte final de l'oléiculture est l'extraction de l'huile d'olive. La technologie d'extraction a beaucoup évolué, la matière première en l'occurrence l'olive doit être préparée et conditionnée selon un certain nombre d'étapes mécaniques apparemment simples. De la mise en œuvre correcte de ces phases, dépend la qualité finale de l'huile d'olive à condition que la matière première soit elle aussi de bonne qualité.

Le traitement des olives en vue de l'extraction de l'huile peut se faire par des moyens mécaniques (par pression ou par centrifugation). Divers systèmes d'extraction sont employés pour extraire l'huile d'olive (**Ahmidou et Hammadi,2007**).

I.2.4.1. Système discontinu d'extraction à presse

Ce système utilise des presses métalliques ou, le cas échéant des presses hydrauliques. La pâte issue du broyage est empilée sur des scourtins, à raison de 5 à 10kg par scourtin. L'application de la pression sur la charge des scourtins doit être réalisée de manière progressive. L'opération de pressage dure au moins 45 minutes. Les scourtins doivent être lavés, selon la norme internationale en vigueur et à raison d'une fois par semaine pour éviter d'augmenter l'acidité de l'huile (**Ahmidou et Hammadi,2007**).

Le système discontinu d'extraction par presse est représenté par la figure suivante :

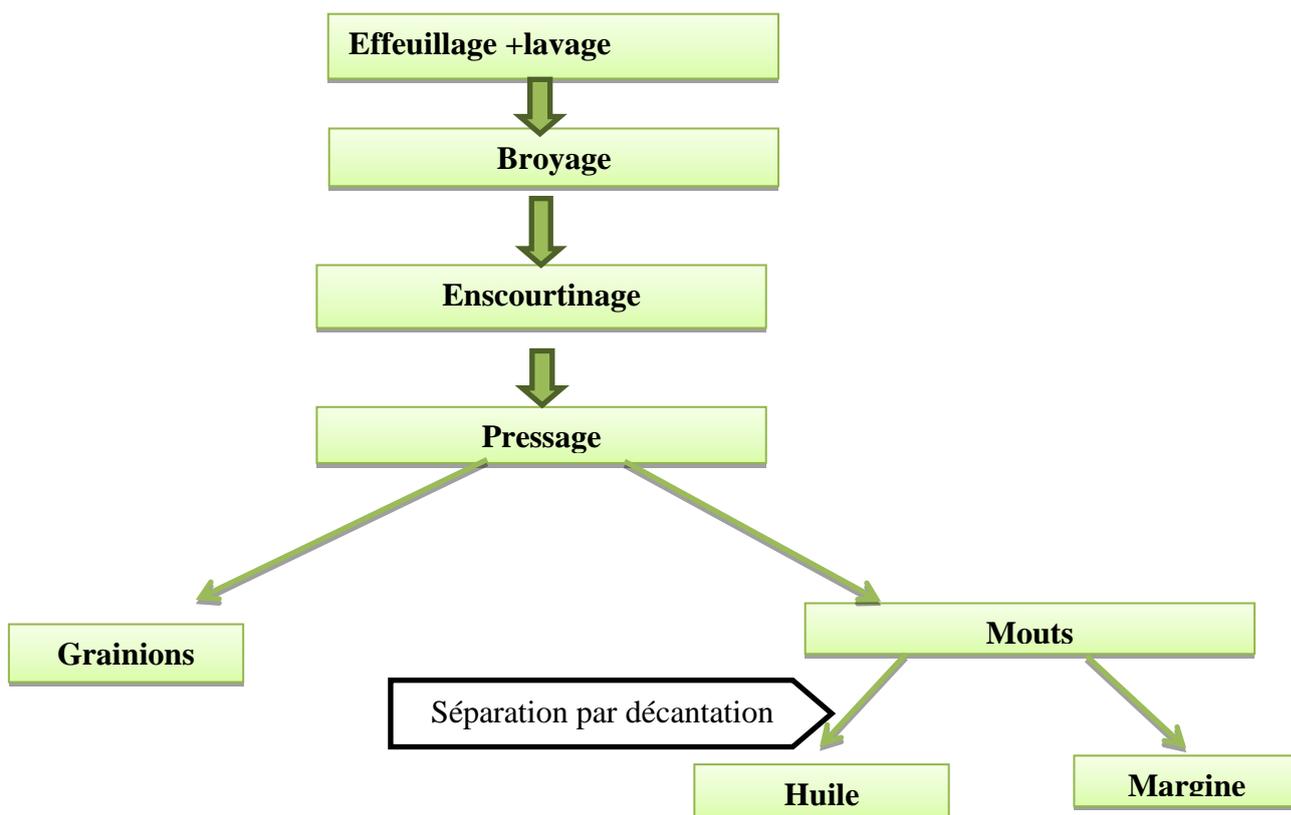


Figure02: Système d'extraction discontinu à presse (Morilloet *al.*, 2009).

Inconvénient de ce système : Les opérations du broyage et de pressage de la pâte des olives, conduites en pleine air, peuvent entraîner l'altération des huiles. En effet, l'auto oxydation de l'huile déclenchée par la présence de l'air, provoque la dégradation des acides gras insaturés et par conséquent la formation des hydro peroxydes qui peuvent se décomposer et donner lieu à des produits volatils conduisant à un état de rancissement de l'huile. Un autre inconvénient de ce système, est qu'il génère des quantités importantes de margines (60 à 70L par 100 Kg d'olive), Par contre ce système d'extraction à presse permet l'obtention d'une huile non piquante et riche en polyphénols (Morilloet *al.*, 2009).

I.2.4.2. Système d'extraction continu avec centrifugation à 3 phases

Les trois phases sont : l'huile, margines et grignons. L'introduction de ces installations (continues) a permis de réduire les coûts de transformation et la durée de stockage des olives avec comme conséquence une production oléicole de moindre acidité. Le système continu d'extraction avec centrifugation à trois phases est représenté par la figure suivante :

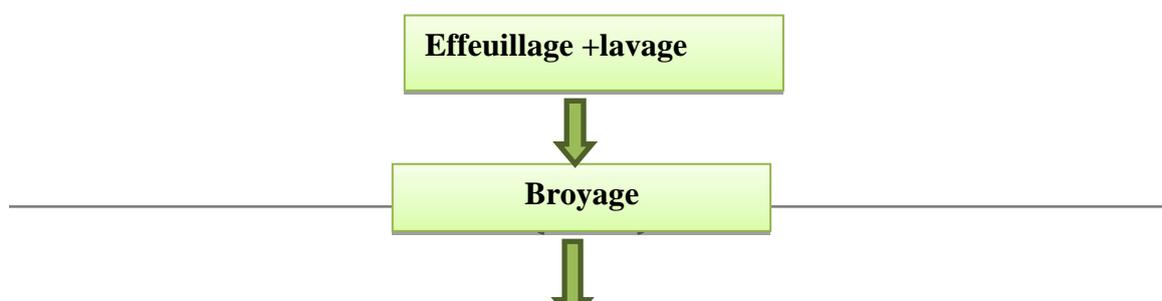


Figure03: Système d'extraction continu avec centrifugation à 3 phases
(Morillo *et al.*, 2009).

I.2.4.3 Système d'extraction continue avec centrifugation à 2 phases

Le procédé technologique d'extraction des huiles d'olive fonctionne avec un nouveau décanteur avec centrifugation à deux phases (huile et grignon) qui ne nécessite pas l'ajout d'eau pour la séparation des phases huileuses et solide contenant le grignon et les margines. Le système continu d'extraction avec centrifugation à deux phases est représenté par la Figure suivante :

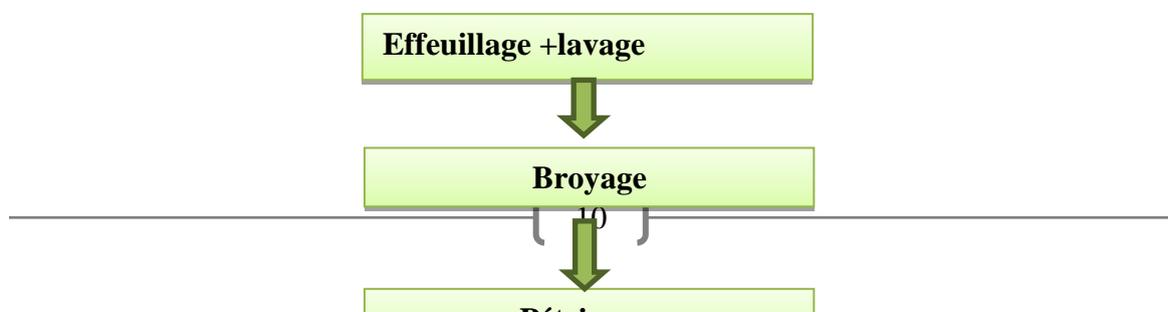


Figure 04: Système d'extraction continue avec centrifugation à 2 phases
(Morillo *et al.*, 2009).

Le rendement en huile génère par ce système est légèrement plus élevé que les autres. LE décanteur à 2 phases permet d'obtenir une huile riche en polyphénols totaux et en orthodiphénols, il est donc plus stable. Ce système est plus respectueux de l'environnement car il ne possède pas à l'augmentation du volume d'effluent liquide (margines) ce système est le plus performant du point de vue stabilité oxydative et organoleptique des huiles obtenues. Les travaux effectués dans ce domaine montrent que parmi les systèmes d'extraction d'huile d'olive employés, celui à deux phases est le plus fiable et le plus efficace (Morillo *et al.*, 2009).

I.3. Margine

I.3.1. Généralité sur les margines

Les margines sont obtenues lors de l'extraction de l'huile d'olive à partir de l'eau contenue dans le fruit, ajoutée au cours du broyage et des étapes de trituration. La qualité et la quantité des margines dépendent de l'opération d'extraction d'huile d'olive. Elles sont aussi influencées par la variété d'olives, la saison de récolte, le taux de maturation des fruits et les conditions climatiques. Les différentes techniques d'extraction d'huile d'olive aboutissent à la formation des margines en quantités variables, allant de 400 à 500 L/tonne d'olives pour les unités traditionnelles et une tonne de margines/tonne d'olives pour les unités modernes (Hamdi, 1991).

I.3.2. Composition

En général, les margines présentent une composition chimique très complexe et hétérogène:

- ✓ 83-88 % d'eau;
- ✓ 10,5-15% de matière organique;
- ✓ 1,5-2% de matières minérale;
- ✓ 1,25-2,4% de matières azotées totales;
- ✓ 0,03-6% de matières grasses;
- ✓ 1,0-1,5% de polyphénols.

Malgré le traitement des margines tout au long du processus, les margines finales contiennent toujours des résidus huileux qui n'ont pu être séparés lors des centrifugations verticales. Elles contiennent une variété de composés organiques et minéraux, de nature et de concentration très différentes. Cette variabilité dépend de la nature des olives, de leur degré de maturation, des pratiques culturales et du procédé utilisé pour l'extraction d'huile d'olive (Mulinaccietal., 2001).

I.3.2.1. Matière sèche des margines

L'extrait sec des margines est extrêmement élevé et variable. Il est situé entre 15,5 et 266,5 g/l pour les margines pour les margines de centrifugation à trois phases et entre 9,5 et 161,2 g/l pour les margines à presse (Digiovacchinoet al., 1988)

I.3.2.2. Fraction minérale

Les margines contiennent des quantités significatives de sels minéraux, leur teneur varie de 4 à 42 g/L pour celles issues de l'extraction par pression et 0,4 à 12,5 g/L pour celles de Centrifugation (Coi, 2008).

Tableau 03: Valeurs des minéraux des margines issues des deux systèmes d'extraction (Coi, 2008).

| Éléments (g/L) | Procédé d'extraction de l'huile | |
|-------------------|---------------------------------|----------------|
| | Pression | Centrifugation |
| Potassium | 1500-5000 | 630-2500 |
| Calcium | 58-408 | 47-200 |
| Sodium | 38-285 | 18-124 |
| Magnésium | 90-336 | 60-180 |
| Fer | 16,48-86,40 | 8,80-31,50 |
| Manganèse | 2,16-8,90 | 0,87-5,20 |

I.3.2.3. Fraction organique

Les margines comportent deux fractions organiques:

- **Une fraction insoluble** constituée essentiellement de pulpes d'olives qui représente la matière en suspension et colloïdale.
- **Une fraction soluble** dans la phase aqueuse qui contient les sucres, les composés azotés, les vitamines, les acides organiques, les lipides et les composés phénoliques (Fki et al., 2005).

I.3.2.4. Composées phénoliques des margines

Les polyphénols sont molécules bioactives présentes dans les plantes, aux structures très hétérogènes ayant pour point commun la présence d'au moins un noyau aromatique (groupement phénol) sur lequel sont présents plusieurs groupements hydroxyles (-OH) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

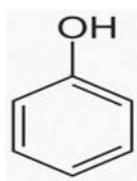


Figure 05: Montre la structure de noyau de phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les composés phénoliques des margines proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction. Ils sont très divers et leur structure est très variable, ils sont plus solubles dans les eaux de végétation, ce qui explique leur concentration élevée dans les margines. La couleur des margines est fonction de l'état de dégradation des composés phénoliques et des olives dont ils dérivent (Ranalli,1991).

a. Les monomères phénoliques

Différents monomères aromatiques ont été identifiés dans les margines tels que:

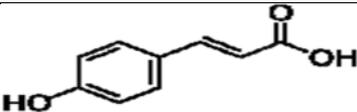
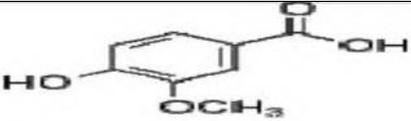
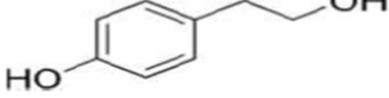
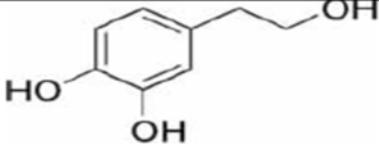
- **Acides phénoliques**

Ce sont les monomères les plus abondants dans les margines, ce qui explique leur acidité. Les principaux monomères sont: acide cinnamique (105 mg/L), acide p-coumarique (117 mg/L), acide caféique (140 mg/L), acide férulique (95 mg/L), acide vanillique (20 mg/l) (De marcoetal.,2007).

- **alcoolsphénoliques**

Les principaux molécules des margines sont le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) à une teneur de 210,6 mg/L et l'hydroxytyrosol (3,4- dihydroxyphenylethanol) à une teneur de 315,9 mg/L (Demarcoetal.,2007).

Tableau 04 :Structure des monomèresphénoliques rencontrés dans lesmargines (De marcoet al.,2007)

| Composés phénoliques | Structure |
|----------------------|--|
| Acide p-coumarique |  |
| Acide vanillique |  |
| Tyrosol |  |
| Hydroxytyrosol |  |

b. Les polymères phénoliques

Plusieurs polyphénols sont identifiés:

- **Les flavonoïdes**

Sont des substances généralement colorées, (*flavus* signifie: jaune en latin)(**Aruoma et al., 2003**). Ils ont tous la même structure chimique de base (**Figure 6**) :

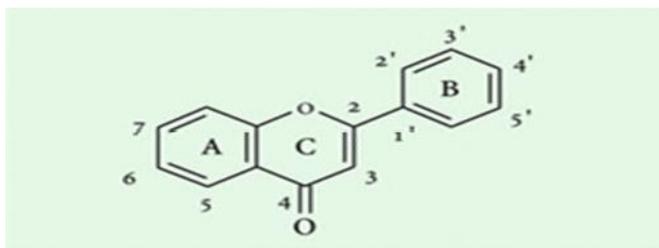


Figure 06: structure de base des flavonoïdes(**aruoma et al., 2003**)

Un carbone de propane diphénylique et deux noyaux aromatiques (benzéniques), liés entre eux par une chaîne linéaire de trois carbones. Il a été montré que les margines contiennent un ensemble de flavonoïdes tels que: lutéoline-7-glucoside, l'héspéridine, la catéchine, les glycosides de cyanidin(**Ghedira, 2005**)

- **Lestannins**

Leur structure est très complexe, résultant de la condensation de certaines formessimples (**Ghedira, 2005**). Ils sont classés conventionnellement en:

- **Tannins hydrolysables:** ils sont constitués par une molécule estérifiée par l'acide gallique ou un de ces dérivés. Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique
- **Tanins condensés:** appelés aussi flavotanins. Ils sont formés par la polymérisation de la catéchine à différents degrés. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3 000. Le catécholmélanique est le flavotanin le plus retrouvé en quantité élevée dans les margines. Caroténoïdes représentent un ensemble de pigments naturels très répandus dans la nature, ils dérivent chimiquement d'une structure de base formée par l'enchaînement linéaire de huit unités isopréniques(**Ghedira, 2005**).

I.4. Caractéristiques biologique des margines

Les margines sont caractérisé par différentes activité biologique qui sont :

I.4. 1. Activité microbiologique des margines :

Caractérisation microbiologique des margines les études microbiologiques effectuées sur plusieurs échantillons de margines ont confirmés l'absence totale de micro-organismes pathogènes. Donc, ces effluents ne posent aucun problème hygiénico-sanitaire (Aissamet al.,2002). Des analyses microbiologiques ont montrés que les levures et les champignons sont capables de s'y développer mieux que les bactéries (Ramos-Cormenzana,1986). Ces micro-organismes supportent la salinité élevée et le pH acide caractéristiques de ces effluents, et résistent plus que les bactéries aux substances phénoliques. la flore fongique en trouve les levures, (*Trichosporumcutaneium*, *Cryptococcusalbidius*) les champignons se compose essentiellement (*d'Aspergillus flavius*, *Aspergillus candidus*)(Colin, 2008).

I.4.1.1 Activité antibactérienne des polyphénols des margines

Les polyphénols des margines qui ont une activité antibactérienne sont :

a. Activité antibactérienne des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont parmi les plus communs des produits naturels qui présentent un large spectre d'activité antibactérienne (Duthieetal., 2003). Des études scientifiques menées au cours des dernières années ont générés un intérêt croissant dans leur rôle potentiellement important dans le maintien de la santé humaine. Un nombre considérable de plantes médicinales contiennent des flavonoïdes, qui ont été rapportés par de nombreux auteurs comme ayant des propriétés antibactériennes (Nijveldtet al.,2001).L'activité de la quercétine, par exemple, a été partiellement attribuée à l'inhibition de l'ADNgyrase d'E.coli(Duthieetal.,2003).

b. Activité antibactériennes des tanins

Les tanins ont été testés contre des bactéries Gram+ et Gram-, les résultats montrent que les Tanins ont présenté une activité antibactérienne contre les micro-organismes testés (S. aureus et E. coli) (Duthie etal., 2003).

I.4.2. activité antioxydante des margines

Si les margines sont proprement gérées, elles seront moins chères et une source pertinente des antioxydants naturels.À cause de leur teneur élevée en substances phénoliques, les

polyphénols sont des composés organiques solubles dans l'eau et ils sont abondants dans les margines (**Baudin,2006**). Plus de quarante molécules phénoliques ont été identifiées dans les eaux de végétation, avec l'hydroxytyrosol qui est la principale molécule phénolique vue à sa forte capacité antioxydante. En générale tous les composants phénoliques possèdent un effet antioxydant, leur action est l'élimination des radicaux libres dans les cellules, ce qui leur permet la protection contre l'oxydation à cause du stress appliqué sur les biomolécules comme les protéines, lipides et l'ADN. Il y a deux modes d'activité antioxydante (enzymatique et non enzymatique). Les études confirment que les margines ont une activité antioxydante non enzymatique. Ce système qui caractérise les margines fait appel à des molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydantes (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques (**Harborne,1989**).

- **Vitamine E:**

La vitamine E (α -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres, ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique (**Harborne,1989**).

- **Vitamine C :**

La vitamine C ou ascorbate agit principalement en piégeant directement les radicaux libres (majoritairement l' $O_2\cdot^-$ et l' $OH\cdot$) ou bien en régénérant l' α -tocophérol (**Harborne,1989**)

- **Caroténoïdes:**

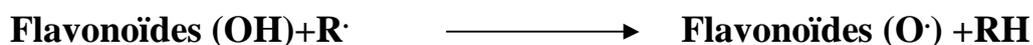
Les caroténoïdes font partie des micronutriments qui participent aux défenses de l'organisme contre les espèces oxygénées. Ce sont essentiellement des piègeurs de l'oxygène singulet ($O^{\cdot-}$) (**Harborne,1989**).

- **Composés phénoliques:**

L'efficacité antioxydante des polyphénols est essentiellement due à la facilité avec laquelle un atome d'hydrogène d'un groupe hydroxyle aromatique est cédé à un radical libre (**Harborne,1989**)

- **Flavonoïdes:**

Les flavonoïdes préviennent l'oxydation des lipides.



Ils agissent principalement comme piègeurs de radicaux libres tels que le DPPH°, le superoxyde et le peroxynitrite, ou encore comme chélateurs de métaux (Aissam, 2003).

***CHAPITRE II :
MATERIEL ET
METHODES***

Le but de notre étude est d'évaluer la quantité des composés phénoliques des margines, et testé leur activité antioxydante et activité antibactérienne appartient dans les margines des deux variétés d'Olive (Sigoise et Chemlal).

L'étude expérimentale de ce travail a été réalisée dans le laboratoire de recherche appliquée à l'université de Ghardaïa.

Dans ce chapitre, est décrit le matériel utilisé et les méthodes suivies lors des procédés Expérimentaux.

II.1.Echantillonnage

50 kg d'olives de type chemlal et 50 kg de type sigoise ont été récoltés dans la région d'Elnoumeraten face de l'Université de **Ghardaïa**. La moitié (25 kg) de chaque variété a été destinée vers deux types d'huileries (à presse qui se trouve dans la région d'**Elgarara** et à 3phase qui se trouve dans la région de **Benhannem**).

• Echantillon 1 :

Après l'extraction nous avons intéressons a récupérer les margines de la variété Sigoise et Chemlal auprès d'une huilerie d'olive à presse « nouralanour» de la région de EL GARARA, (120 km environ à l'est de wilaya de Ghardaïa), au mois de novembre 2018.



Figure 07 : Carte de localisation d'Elgarara (Wilaya Ghardaïa)

Echantillon 2 :

Obtention des margines des deux variétés (Sigoise et Chemlal) à partir d'une huilerie moderne à 3 phases de la région de **Benhannem**, Wilaya de Ghardaïa, au mois de novembre 2018.

Les échantillons ont été mis dans des bouteilles de 2 litres puis transportés rapidement au laboratoire. Les échantillons des margines sont conservés à -4°C

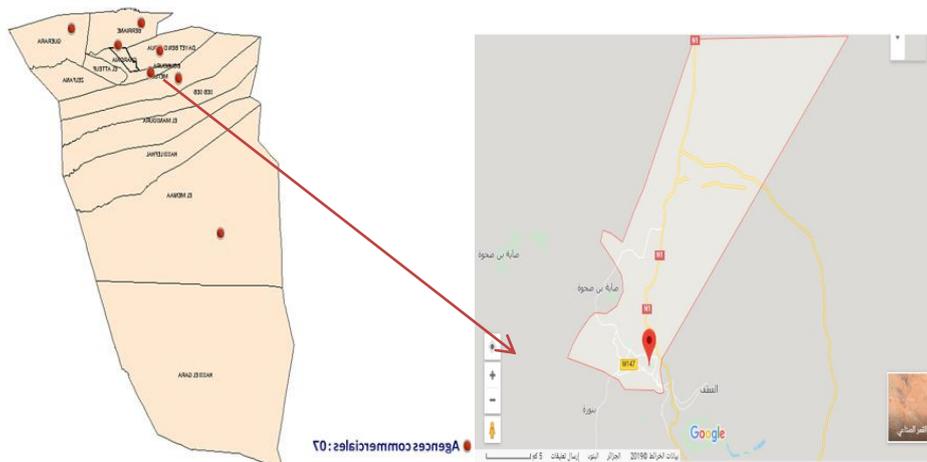


Figure 08 :Carte de localisation deBen ghannem(Wilaya Ghardaïa).

• **Appareillage :**

Les différents appareils utilisés sont donnés dans le tableau 05 :

Tableau 05:Les différents appareils utilisés dans les tests

| Appareil | Firme |
|-----------------------------|----------------------------------|
| Etuve | Memmert |
| Autoclave | Hirayama |
| SpectrophotomètreUV-Visible | CO.LTD. (UK). (spectroscan 40) |
| Four à moufle | ProthermFurnaces |
| Centrifugeuse | RotoFix 32A (Hettichzentrifugen) |
| Hotte | Biobase |

Réactifsetproduitschimiques:

Lesproduitschimiquesetlesréactifsutilisésont:

Solvantsorganiques:acétated'éthyle,Hexane,méthanol.

Acides:acideacétique,acidechlorhydrique(HCl).

Etalons(composésphénoliques):acidegallique,acidetannique,quebracho,quercétine.

Réactifs:1,1-diphenyl-2-picrylhydrazylradical(DPPH) et Folin-Cicalteu(1N).

Sels:carbonatedesodium(Na₂CO₃).

Souches :

Escherichia coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

II.2. Analyses Chimiques

Toutes les analyses ont été effectuées quater fois

II.2.1. PH

Le ph donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé a partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres (h) contenue dans l'huile d'olive (Afnor,1983). Avant d'effectuer une mesure, on règle la température du ph mètre, rincer la sonde à l'aide d'eau distillée, puis l'essuyer. on prend 100 ml des margines à analyser dans un erlenmeyer, on plonge la sonde dans la solution et on lit le ph.

II.2.2. Matière sèche

Est le résidu sec. Elle est exprimée en masse par volume.Elle a été déterminée par dessiccation dans une étuve ventilée jusqu'à poids constant. 10 ml de margines ont été introduit dans un creuset préalablement taré. Ce dernier a été placé dans une étuve à 105°C pendant 48 heures (jusqu'à poids constant). La différence de poids correspond à la perte d'humidité et le résidu reste caractérise la teneur en matière sèche de l'échantillon (Aoac, 1990).

II.2.3. Détermination de la masse de matière minérale MM

Les margines préalablement séchées ont été incinérées dans un four à moufle à 550° pendant 5 heures. La perte de poids observée au cours de la calcination correspond à la matière organique et le résidu aux cendres (matière minérale)(De marcoetal.,2007).

II.2.4.Détermination de la masse de matière organiqueMO

La différence entre la matière sèche et la masse de cendres (matières minérales) correspond à la masse de matière organique. Le taux de matière organique dans un échantillon peut donc être donné par la différence: $MO = MS - MM$ (De marcoet al.,2007).

II.3. Quantification des composés phénoliques des margines

II.3.1. Extraction des composés phénoliques

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenues dans les margines.

Avant le procédé de délipidation, il est souhaitable de faire une acidification, puis une délipidation des margines.

II.3.1.1. Délipidation des margines

20 ml de margines ont été centrifugées pendant 10 min à 3200g. Deux phases ont été obtenues. Une phase aqueuse et un culot précipité. 10 ml de la partie aqueuse ont été ajoutés à 10 ml hexane (v/v). La solution a été mélangée à l'aide d'un mixeur électrique pendant 15 min à une vitesse de 2500 tr/min. Après 15 min, les margines ont été recueillies après séparation complète en deux phases : hexane + lipides (surnageant) et les margines délipidées (culot) prêtes à une extraction liquide-liquide (De marcoet *al.*, 2007). (Avec quelques modifications).

II.3.1.2. Extraction à l'acétate d'éthyle

1,5 ml d'acétate d'éthyle a été additionné à 1.5 ml de margines délipidées, l'ensemble a été homogénéisé à l'aide d'un mixeur électrique (Vortex mixer ZX3-RX3) pendant 15 min à une vitesse de 2500 tr/min. Après 15 min, le mélange a été complètement séparé en deux phases : l'acétate d'éthyle riche en polyphénols (surnageant) et les margines (culot). Le surnageant (l'acétate d'éthyle riche en polyphénols) a été évaporé presque à sec sous pression réduite par l'évaporateur rotatif à 50 °C. Les polyphénols sont récupérés dans des flacons fumés et conservés à -4 °C jusqu'à le jour de dosage. (Quelques modifications) (De marcoet *al.*, 2007).

II.3.2. Dosage des polyphénols totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène.

Un aliquote de 50 µl de l'extrait phénolique a été mélangé à 0.5 ml d'eau distillée, 25 ml de solution de Folin-Ciocalteu (1N) et 1,25 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3 40%). Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 725 nm. Les résultats

été rapportés à un courbe d'étalonnage standard, ils sont exprimés en équivalent d'acide gallique(Makkar,1993).(Avec quelquesmodifications).

II.3.3. Les tanins totaux

Les tanins totaux sont estimés par la méthode de PVPP. 100 mg de polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) ont été mélangéavec 2ml d'eau distillé et 2 ml de l'extrait initial. L'ensemble été agité et maintenu à 40 °C pendant 15 min, ensuite il a été centrifugé à 3000g et à 4°C. Le surnageant est utilisé pour la détermination des tanins totaux qui correspondent à la différence entre les phénols totaux (mesuré par le procédé de Folin-Ciocalteu), avant et après traitement avec le PVPP. La concentration des tanins totaux est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage préparée à la base de l'acidetannique(Makkar,1993).

II.3.4. Les flavonoïdes

La méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure d'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présente dans l'extrait.

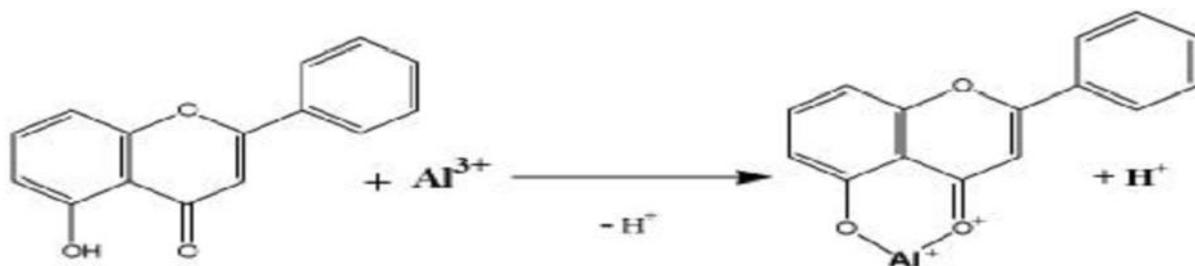


Figure09:Réactiondu chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Dans un tube à essai 1ml d'extrait est mélangé avec 1 ml de solution de chlorure d'aluminium 2%.après incubation pendant 20min à température ambiante, l'absorbance été lue dans le même spectrophotomètre a la longueur d'onde de 409nm contre un blancLes mêmes procédés ont étéfaits pour la quercétineà différent concentration en introduisant 1ml de ces dernières dans une série de tube et ajout de 1 ml d' $AlCl_3$ à 2%(Fievez *et al.*, 2005).

II.3.5. Dosage des tannins condensés

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide (Schofield *et al.*, 2001).

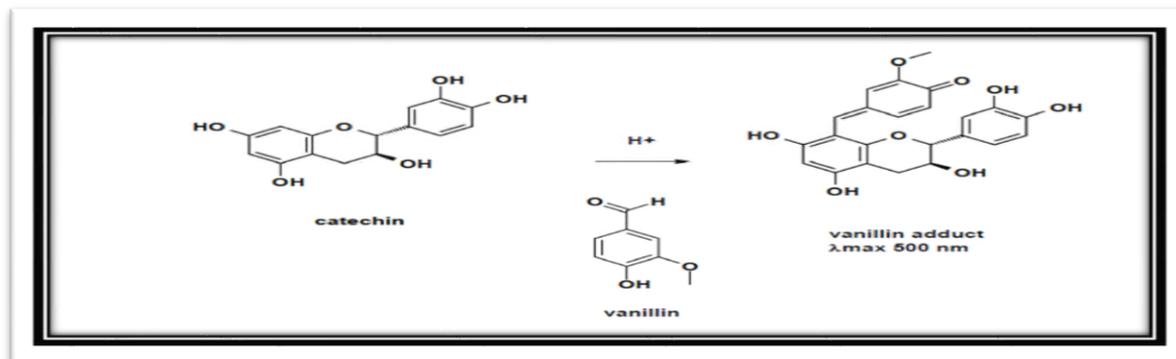


Figure 10 : Réaction de la vanilline avec la Catéchine (Schofield *et al.*, 2001).

La méthode décrite par (Sun *et al.*, 1998). 0.2 ml de l'extrait été mélangé à 1 ml de la solution fraîchement préparé de vanilline 1% (p/v) en acide acétique glacial et HCL (98, 2 v/v) est ajouté. Après incubation à 30°C pendant 20 min, l'absorbance été mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. Les résultats sont exprimés en se référant à un courbe étalon de quebracho tanins.

II.4. Activité biologique (antioxydante et antibactérienne)

II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

La méthode du DPPH• est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• (violet) en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire le DPPH-H (jaune) (Figure 11). La réduction du DPPH• en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie de 515-518 nm.

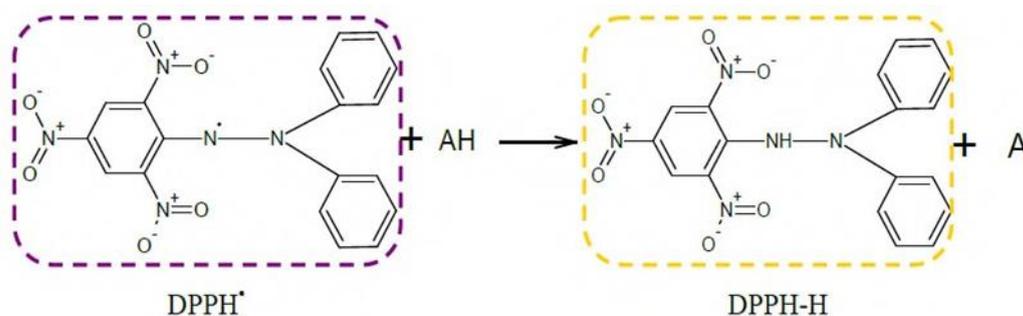


Figure 11 : Réaction de piégeage de DPPH.

Le protocole expérimental utilisé est celui de **Brand-Williams *et al.*,(1995)**. La solution du DPPH été préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100ml de méthanol. 50µl des solutions d'extraits phénoliques ou standards ont été ajoutés à 2ml de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 1heure et la décoloration par rapport au contrôle négatif qui contient uniquement la solution de DPPH qu'on mesure à 517nm. Dans notre test le contrôle positif est représenté par une solution d'acide ascorbique (1mg/ml) comme un antioxydant standard (Le pourcentage d'inhibition% = (A témoin-A échantillon /Atémoin) *100.

II.4.2. Activité antibactérienne.

- **Souches testés**

Escherichia coli ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 278053

- **Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit (Nccls,2004).

28.5 g de la gélose Muller-Hinton (Annexe1) a été dissout dans un 750 ml d'eau distillée. Le mélange est agité jusqu'à la dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri sur une zone stérile.

- **Stérilisation du matériel**

L'eau distillée, le milieu de culture, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium et eppendorfsont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- **Préparation des dilutions d'extraits phénolique des margines**

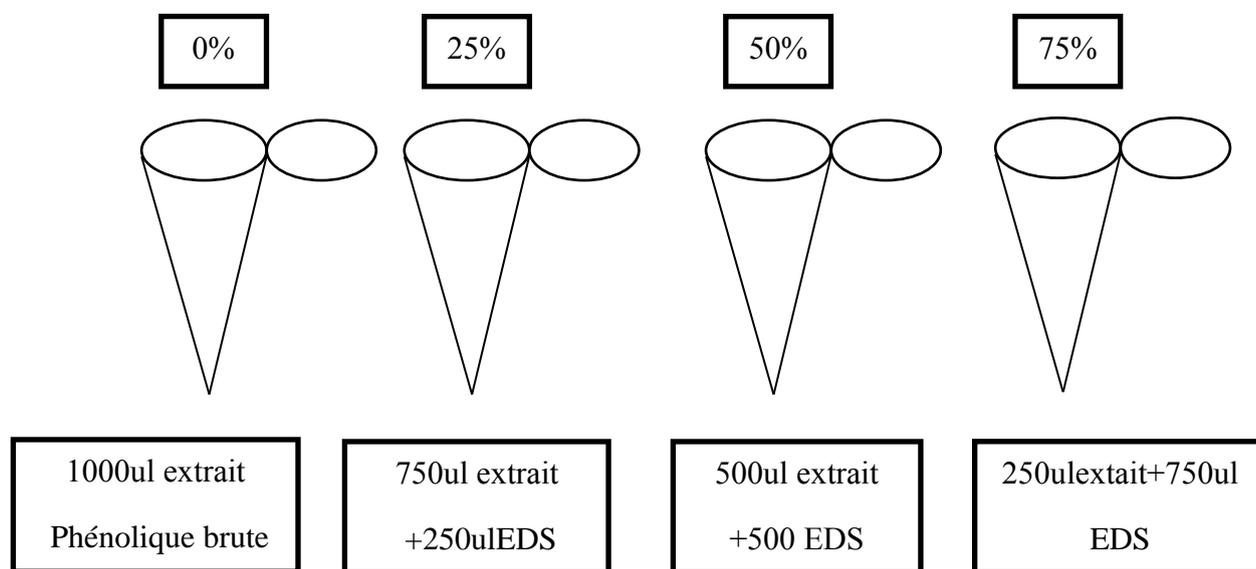


Figure 12: Préparation des dilutions préparation des dilutions.

- **Préparation de l'inoculum**

Les souches bactériennes ont été ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On a raclé à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne été bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Ferlandou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

- **Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement été réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon été trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon été Frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération été répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement été fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon été rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Les disques imprégnés d'extraits ont été déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

- **Lecture des antibiogrammes**

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques : non sensible ou résistante <8mm ; sensible entre 9 à 14mm ; très sensible diamètre entre 15 à 19mm extrêmement sensible >20 mm (Nccls,2004).

- **Etudes statistique**

Les données ont été traitées par le logiciel statistique STATISTICA version10. Elles ont été soumises à une analyse de la variance ANOVA à deux facteurs (la variété d'olive et le système d'extraction). Les différences sont considérées significatives au seuil 5%. Les moyennes ont été classées selon la classification de Test de Newman-Keuls($\alpha = 5\%$).

**CHAPITRE III :
RESULTATS ET
DISCUSSIONS**

III.1. Analyses chimiques

Les résultats d'analyses des caractéristiques chimiques (**MS, MO, MM et HUM**) des différents échantillons des margines sont résumés dans les figures de 13 à 16.

III.1.1. pH

Le tableau (1) (annexe 3) montre que tous les échantillons des margines étudiés sont acides, la valeur moyenne de pH de $5,11 \pm 0,002$, indépendamment du système d'extraction ou de la variété. Les résultats Les valeurs moyennes du pH des margines des deux variétés issues des deux systèmes d'extraction (de presse et de centrifugation à 3phases, sont statistiquement similaires ($P > 0.05$). la valeur élevée a été enregistré pour **M.V.C.S.E.P** (5.12 ± 0.005), suivie par (**M.V.C.S.E.3ph**, **M.V.Si.S.E.P** et **M.V.Si.S.E.3ph**) avec des valeurs (5.11 ± 0.008 , 5.10 ± 0.008 et 5.01 ± 0.006 respectivement). Nos résultats concordent avec ceux trouvés par plusieurs auteurs (**Ben Sassi et al., 2006 ; Eroglu et al., 2009 et El Abbassi et al., 2012**). Selon la littérature, l'acidité des margines est une caractéristique commune de cet effluent liquide.

III.1.2. La matière sèche

La figure (13) montre que les échantillons des **M.S.E.P** et **M.S.E.3Ph** renferme des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$) et même l'effet de variété est significativement différent ($P < 0.05$) de matière sèche. La teneur la plus élevée est enregistré pour **M.V.Si.S.E.3Ph** (105.33 ± 0.016 g/l), et la plus faible matière sèche est observés pour **M.V.C.S.E.P** (51.98 ± 0.024 g/l), L'ordre décroissant de la teneur en matière sèche des **M.V.Si.S.E.3ph** (105.33 ± 0.016 g/l) > **M.V.C.S.E.3ph** (64.55 ± 0.018 g/l) > **M.V.Si.S.E. 3Ph** (60.65 ± 0.012 g/l) > **M.V.C.S.E. P** (51.98 ± 0.024 g/l). Ces résultats sont accord avec (**Achak et al., 2008** et **Yaakoub et al., 2009**). Qui sont notés des valeurs de 37.4g/l et 74.95g/l respectivement pour **M.S.E.P** et **M.S.E.3ph**. Et sont similaire avec la littérature qui sont été trouvées (15.5 et 266.5 g/l) pour **M.V.S.E.3Ph** et entre 9.5 et 161.2 g/l pour **M.S.E.P** des margines brutes. (**di Giovanni et al., 1998**). Les résultats montrent une différence entre les variétés et même entre les procédés : cette variation (procédé d'extraction) peut être due à l'ajout d'eau chaude dans les deux systèmes d'extraction et surtout dans le système de centrifugation à 3phase. La variation (variété) due à la grande taille de la graine chez sigoise et riche en pulpe par contre à chemlal petitetaille.

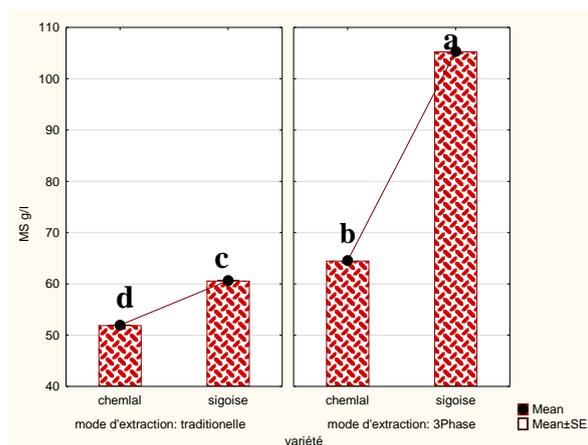


Figure 13: La matière sèche des margines grouperpar variété et catégorie par système d'extraction.

III.1.3. La matière Organique

La figure (14) représente la teneur en MO des **M.V.Si.S.E.P** et **M.V.C.S.E.P** et **M.V.C.S.E.3Ph** et **M.V.Si.S.E..3Ph** La valeur la plus élevée chez **M.V.Si.S.E.3Ph** ($80.18 \pm 0.020\text{g/l}$) et la valeur la plus faible chez **M.V.C.S.E.P** ($30.30 \pm 0.182\text{g/l}$) et **M.V.Si.S.E.P** et **M.V.C.S.E.3Ph** ont des valeurs intermédiaires ($36.59 \pm 0.013\text{g/l}$) et ($40.20 \pm 0.012\text{g/l}$) respectivement. L'analyse statistique des résultats montre un effet significatif de chacun des facteurs testés ($P < 0.05$). ces résultats sont accord avec (Achak, 2001) 49.5 g/l pour presse et 56g/l pour 3phases et opposées avec (El-Hajjouji et al., 2007) qui trouvé 64g/l de MO des margine a presse et 48.45g/l des margines à 3phases. Cette variation peut être due à l'effet de la dilution dû à l'ajout d'eau au moment de l'extraction de l'huile d'olive.

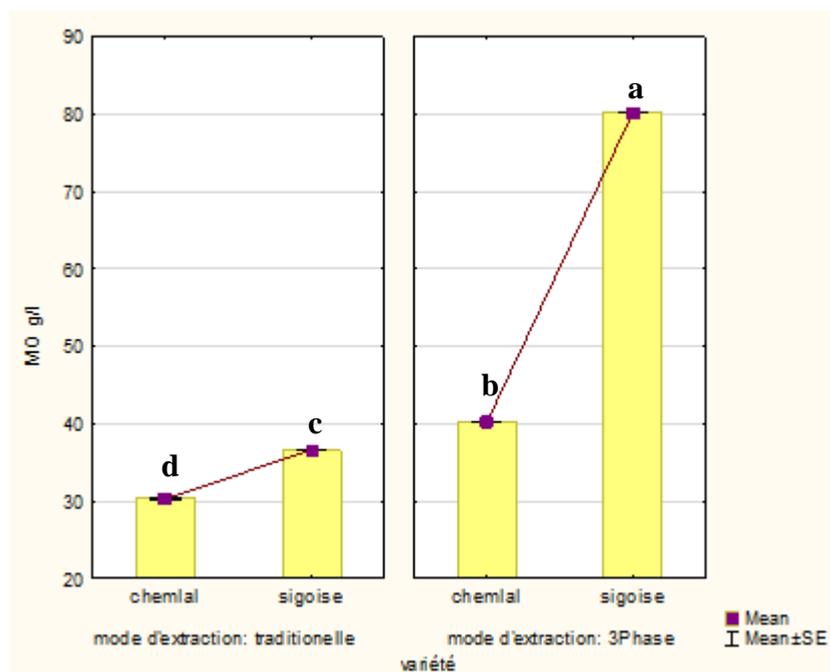


Figure 14 :La matière organique des margines grouperpar variété et Catégorie par système d'extraction.

III.1.3. La matière minérale :

La figure(15) illustre les résultats de la teneur en MM des M.V.Si.S.E.P et M.V.C.S.E.P et M.V.C.S.E.3.Ph et M.Si.S.E.3Ph. On trouve que la teneur MM la plus élevée auprès des M.V.Si.S.E.3Ph avec une valeur de $25.15 \pm 0.011 \text{ g/l}$ et la teneur la plus faible M.V.C.S.E.P avec une valeur de $21.68 \pm 0.170 \text{ g/l}$ et les valeurs intermédiaire étaient marquées chez M.V.C.S.E.3Ph ($24.35 \pm 0.017 \text{ g/l}$) et M.V.Si.S.E.P ($24.07 \pm 0.015 \text{ g/l}$). La teneur en MM des margines brutes était statistiquement différente selon le procédé d'extraction ($P < 0,05$), et la variété d'olive ($P < 0,05$). Les résultats de ce paramètre sont accord avec (Loussert *et al.*, 1998), (Achak, 2001). Ces derniers trouvent que la teneur en MM varie de 4 à 42 g/l pour celles M.S.E.P et 20 à 55.3 g/l M.S.E.3Ph. Cette variation peut être due directement aux différences intrinsèques entre variétés car l'olive contient des quantités de sel et peut être due à l'eau d'arrosage de l'olivier. Et pour l'effet d'extraction la MM est élevée dans ce dernier peut être due à l'eau ajoutée ou au moment d'extraction qui est riche en sels minéraux.

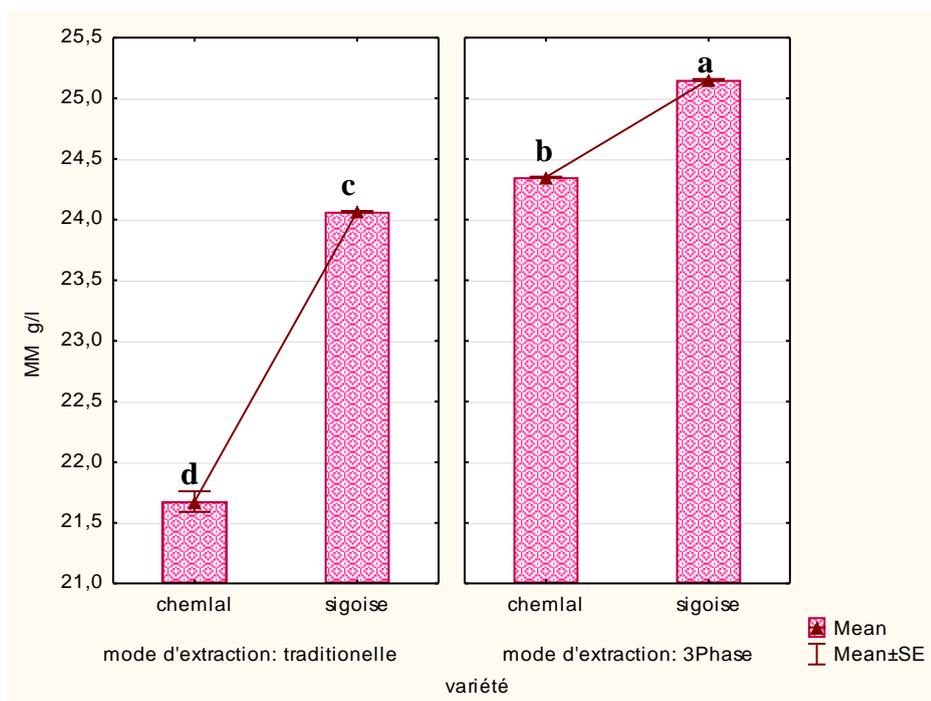


Figure 15: La matière minérale des margines grouperpar variété et catégorie par système d'extraction.

III.1.1. Le pourcentage d'humidité

Pour l'ensemble des échantillons, le pourcentage d'humidité des margines variait entre 90 et 95% avec une moyenne de $93,88\% \pm 2.07$ ($n=4$). Tableau 1 (Annexe 3). Où on note que le grand pourcentage a été enregistré à **M.V.C.S.E.P** ($95.51 \pm 0.0014\%$) et le moindre de pourcentage a été montré chez **M.V.Si.S.E.3Ph** ($90.85 \pm 0.0008\%$) et les valeurs intermédiaires étaient observées entre **M.V.Si.S.E.Pet** ($94.39 \pm 0.0009\%$) et **M.V.C.S.E.3Ph** ($94.78 \pm 0.0007\%$), respectivement. Les variétés qui ont une teneur en matière sèche élevée ont un pourcentage d'humidité faible. La différence de variété et le système d'extraction est significative ($p < 0.05$). La variation des variétés due à la teneur en eau interne d'olive elle-même et le climat aride la variation dans le mode d'extraction due à l'ajout dans l'extraction à presse de façon non mesuré.

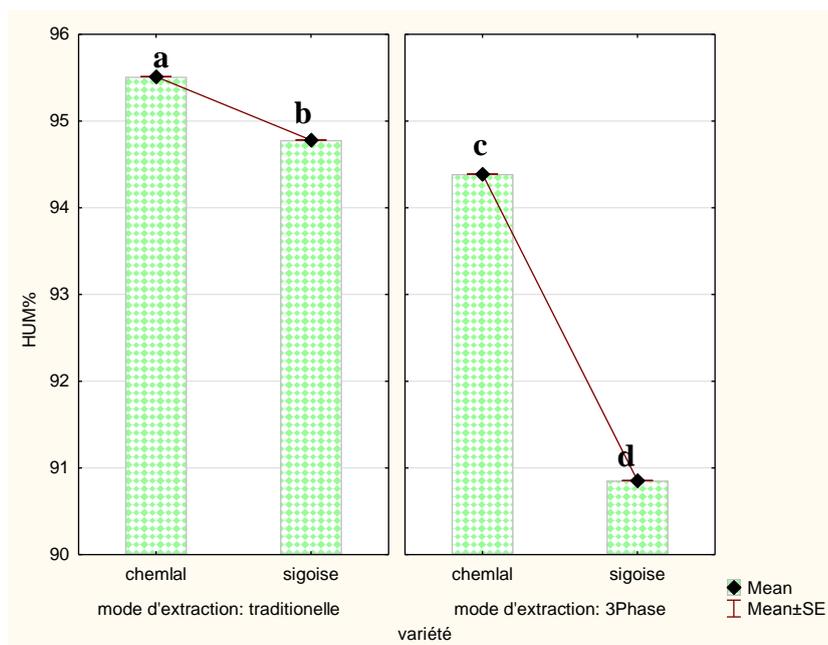


Figure 16: Le pourcentage d'humidité des margines grouperpar variété et catégorie par système d'extraction.

III.2. Analyses phyto-chimiques

III.2.1. Dosage des composées phénoliques :

Les résultats du dosage des composées phénoliques des différents extraits des margines sont résumés dans le tableau (2) (annexe 3).

Nos données analytiques ont montré la présence de diverses classes de composés phénoliques (polyphénolstotaux, tanins totaux, tanins condensés et flavonoïdes...)

dans **E.P.B.M.V.Si.S.E.P**, **E.P.B.M.V.C.S.E.P**, **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** et **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph**)

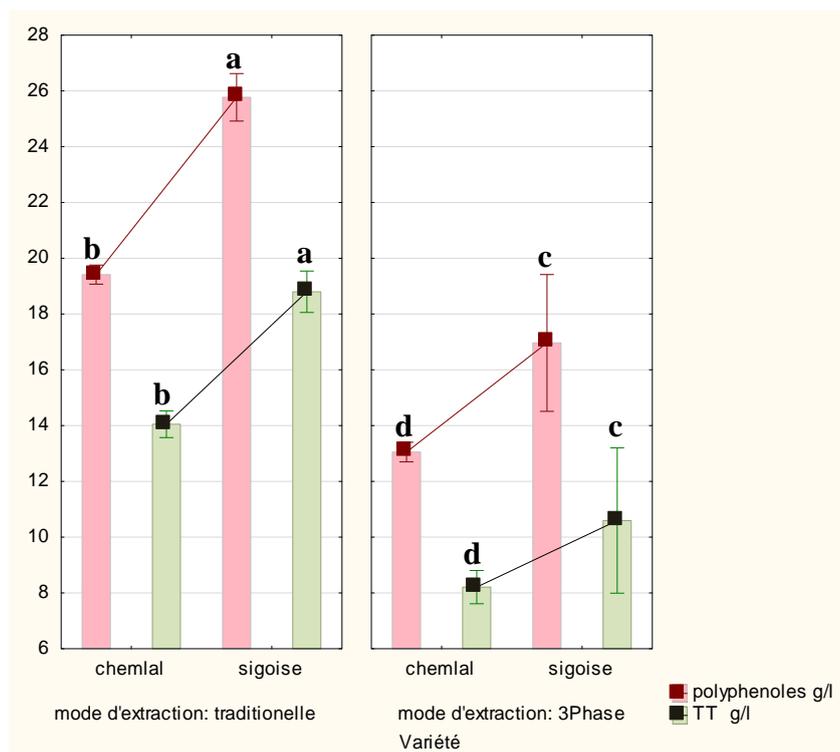


Figure 17 : La teneur en polyphénols totaux et tanins totaux des margines grouperpar variété et catégorie par système d'extraction.

III.2.2. Dosage des polyphénols totaux et tanins totaux

Les résultats montrent **E.P.B.M.V.Si.S.E.P** présente le contenu en PP le plus élevé (25.77 ± 0.54 g/l) suivie de **E.P.B.M.V.C.S.E.P**, **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** et **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** (19.42 ± 0.22 g/l, 16.97 ± 1.54 g/l et 13.05 ± 0.22 g/l respectivement). Les mêmes tendances ont été enregistrées pour les **TT** la concentration la plus élevée était enregistrée pour la variété **E.P.B.M.V.Si.S.P** (18.74 ± 0.47 g/l) et la plus faible pour **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** (8.21 ± 0.37 g/l), et **E.P.B.M.V.C.S.E.P** et **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** ont des valeurs intermédiaires (14.05 ± 0.30 g/l, 10.59 ± 1.64 g/l respectivement). Les concentrations des polyphénols totaux et tanins totaux des margines brutes était statistiquement différente selon la variété d'olive et le système d'extraction ($P < 0.05$). les résultats enregistrés dans notre étude, est comparable à celle notée dans d'autres travaux qui donnent des teneurs : 3 g/l (**Aktaset al., 2001**). 7.8g/l (**Saviozziet al., 1991**).et 9.7 g/l (**Aissam,2003**) ,10.7g/l (**Vlyssideset al., 2004**).13.45 (**Laila,2009**) Pour les polyphénols des margines extrait à 3Phases. Et 18.5g/l (**Hamdi et Garcia,1993**) Pour les polyphénols des margines extrait à presse. Pour les résultats des tanins totaux sont convenable à celle de (**Hamdi et Garcia,1993**) 9.2 g/l pour les tanins totaux des margines extrait à 3Phases. La teneur élevée en polyphénols totaux des margines

largement dépendante dus à le solvant d'extraction utilisé lors de l'extraction des polyphénols qui est l'acétate d'éthyle et selon (Allouche *et al.*, 2004). et aussi car les margines "liquides" contiennent 53% des composés phénoliques initialement présents dans les olives (2% seulement dans l'huile et environ 45% dans les grignons secs (Rodis *et al.*, 2002). La variation des composés phénolique entre les variétés due à degré de maturation (Boudhrioua *et al.*, 2008), des conditions climatiques et géographiques (Mylonaki *et al.*, 2008), de l'état physiologique (De Leonardis *et al.*, 2008). Et peut être due à la taille de la graine d'olive comme la variété sigoise qui est riche en pulpe à une utilisation table et huile (Loussert et Brousse, 1978). En outre la variation entre les procédés d'extraction est relative à l'eau les conditions des climatiques aride de notre région (Ghardaïa) exigent l'équipe de huilerie à presse d'ajouter une quantité d'eau hors de les normes, ça explique la grande concentration des polyphénols totaux dans le procédé d'extraction à presse, car les polyphénols sont solubles dans l'eau (Fkiet *et al.*, 2005).

III.2.3. Dosage des tannins condensés

Les concentrations en tanins condensés restent faibles par rapport à la teneur en TT. Les données illustrées par la figure (18) montrent que **E.P.B.M.V.Si.S.E.Pest** la plus riche en tanins condensés (8.88 ± 0.47 g/l) comparativement avec **E.P.B.M.V.C.S.E.Pest** la plus faible (5.55 ± 0.07 g/l). Et **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** et **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** ont des valeurs proches (8.20 ± 0.06 g/l, 8.15 ± 0.64 g/l respectivement). L'analyse statistique des résultats montre un effet significatif de procédé d'extraction et la variété ($P < 0.05$). Notre résultat est proche avec d'autres littérateurs (Arhab *et al.*, 2007), ($2.91-5.79$ g/l), (Abdelhafid, 2012) ($0.33-1.06$ g/l) et (Hamdi *et Garcia*, 1993) ($2.2-7$ g/l).

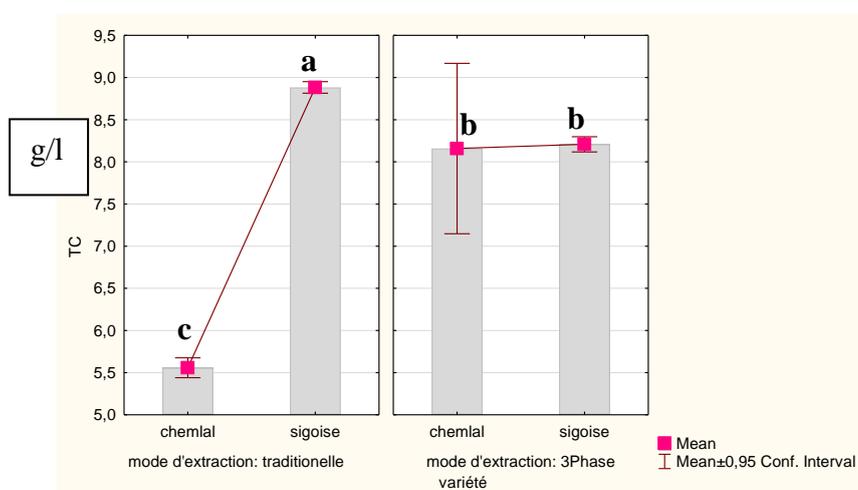


Figure 18: La teneur en tannins condensés des margines grouperpar variété et catégorie par Système d'extraction.

III.2.4. Les flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en g/l. Les flavonoïdes sont faibles par rapport les autres composés phénoliques testés des margines. Les mêmes tendances de TC ont été enregistrées. La concentration la plus élevée était enregistrée pour **E.P.B.M.V.Si.S.E.P** (0.12 ± 0.0033 g/l), suivie par **E.P.B.M.V.C.S.E.P**, **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** et **E.P.B.M.V.S.S.C.3Ph** (0.08 ± 0.0035 g/l, 0.06 ± 0.005 g/l et 0.05 ± 0.0029 g/l respectivement). L'analyse statistique des résultats montrent une différence significative de entre les systèmes d'extraction ($P < 0.05$).

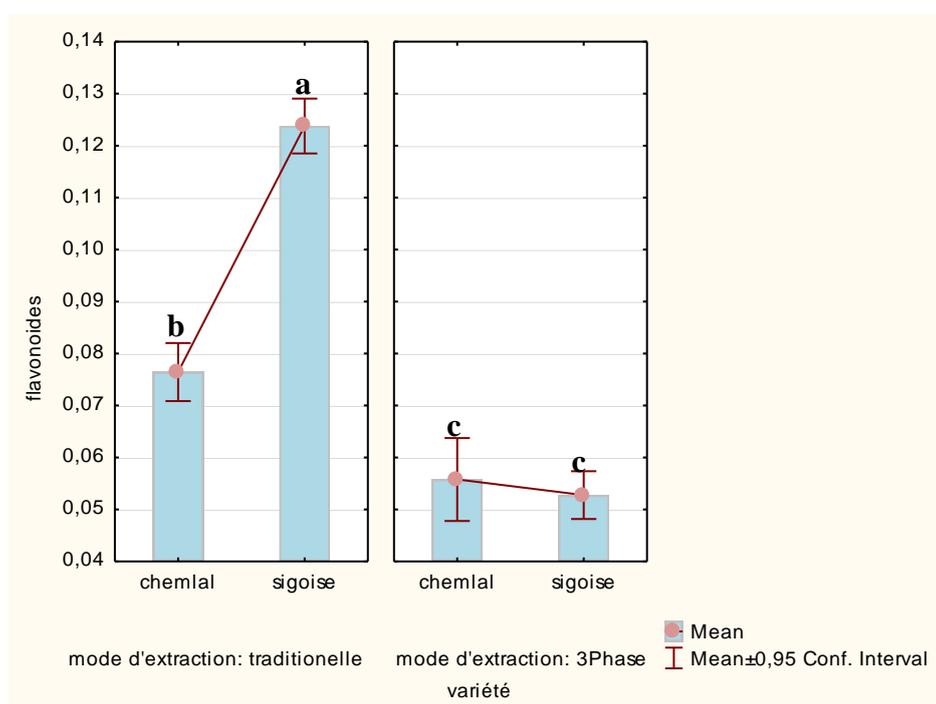


Figure 19: La teneur en flavonoïdes des margines grouperpar variété et catégorie par système d'extraction.

NB : Les valeurs suivies différent lettre sont significativement différentes ($P < 0,05$). (Test de Newman-Keuls). Pour toutes les paramètres.

III.3. Activité biologique

III.3.1. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante des différents extraits phénoliques des margines des deux variétés (Sigoise et Chemlal) issues des deux systèmes d'extractions (système d'extraction à presse et système d'extraction de centrifugation à 3phases) est évaluée en suivant la réduction du radical DPPH qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm.

Les figures 02, 03, 04 et 05 (annexe 4) illustrent les différents comportements des extraits testés sur le radical DPPH en fonction des concentrations utilisées. En présence d'extraits aqueux, l'augmentation de la concentration s'accompagne d'une élévation progressive de la capacité d'inhibition du DPPH par chacun des quatre extraits.

L'inhibition totale a été enregistrée par l'extrait brute des composées phénoliques des margines étudiées (0% dilution).

La diminution de l'absorbance est évaluée par le paramètre IC50 (quantité équivalente en extrait phénolique qui neutralise 50% du DPPH.). Une IC50 faible correspond à une activité antioxydante ou anti-radicalaire élevée de l'extrait. Ce paramètre a été introduit par (Brand-williams et ses collaborateurs (1995) et a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. (Brand-williams *et al.*, 1995 ; Boskouet *al.*, 2006 ; Ložienet *al.*, 2007; Chewet *al.*, 2009).

Le pouvoir anti-radicalaire est inversement proportionnel à l'IC50 (Chewet *al.*, 2009).

Les résultats de l'IC50 pour le pouvoir réducteur des différents extraits sont illustrés par la (figure 20)

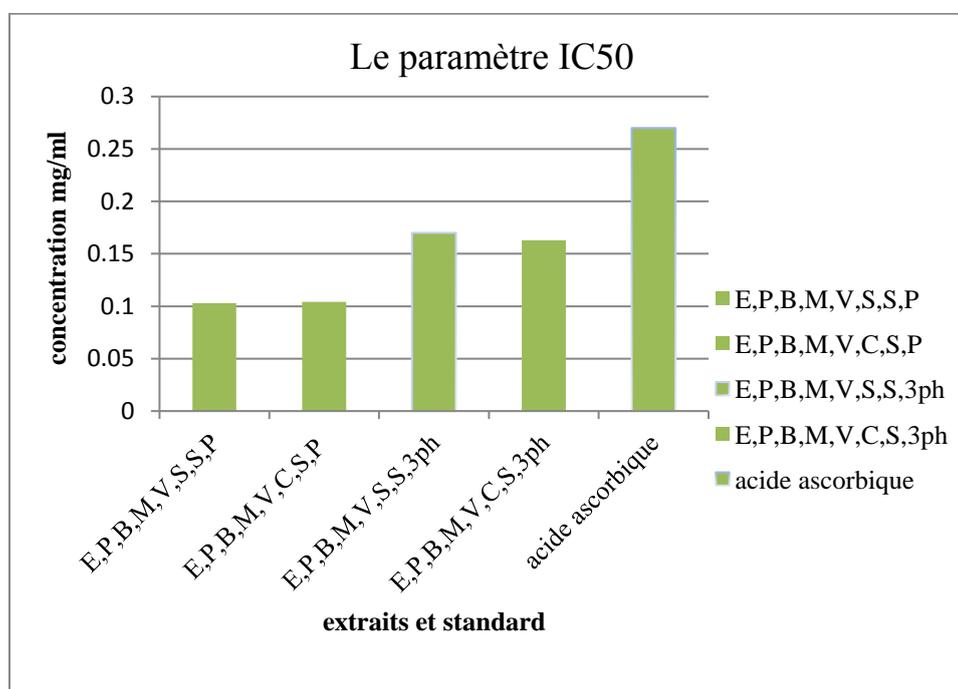


Figure 20: IC50 de différents échantillons contre le radical DPPH.

Nos résultats montrent que tous les extraits phénoliques des margines testés ont des activités antioxydantes fortes comparativement avec l'acide ascorbique (l'antioxydant de

référence). Cependant, nous notons que la plus grande efficacité des extraits phénoliques a été enregistré pour l'**E.P.B.M.V.Si.S.E.P** qui inhibe 50% de DPPH par une faible concentration (0.103mg/ml (dilution 1/250) par rapport à l'acide ascorbique qui inhibe 50% de DPPH par une concentration (0.27 mg/ml). Les autres extraits phénoliques ont des capacités d'inhibition de 50% de DPPH avec des concentrations (0.104 mg/ml(dilution 1/200), 0.169 mg/ml (dilution 1/100) et 0.163 (dilution 1/80) mg/ml) pour (**E.P.B.M.V.C.S.E.P** et **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** et **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** respectivement) supérieures à celle de l'acide ascorbique. Ces résultats impliquent la forte activité de l'**E.P.B.M.V.Si.S.E.P** comparativement avec **E.P.B.M.V.C.S.E.P**, **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** et **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph**.

Les résultats obtenus avec ces extraits montrent que la quantité des polyphénols est corrélée avec la capacité antioxydante ($r = 0,82$). (**Miniotti et Georgiou, 2010**) ont rapporté que la concentration en polyphénols totaux est corrélée significativement avec la capacité antioxydante évaluée par le test de DPPH ($r = 0,89$). De plus plusieurs auteurs ont montré la corrélation entre ces deux facteurs (**Moyeret al., 2002**). (**Wanget al., 2009**), et **Rajeshwari et al., (2005)** ont rapporté que les composés phénoliques peuvent contribuer directement à l'activité antioxydante. L'activité antioxydante apparaisse fortement lorsqu'il la fonction hydroxyle est libre non bloquer par un sucre (c'est la forme aglycone) (**Demarco et al., 2007**). Selon **Harborne, (1989)** l'hydroxytyrosol est la principale molécule phénolique vue à sa forte capacité antioxydante.

III.3.2. activité antibactériennes

La méthode de diffusion sur disques nous a permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne des différentes concentrations. De 10ul des **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph**, **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph**, **E.P.B.M.V.Si.S.E.P** et **E.P.B.M.V.C.S.E.P** et la gentamicine 10ul/disque (est un antibiotique de la famille des aminosides) sur les bactéries Pathogènes (*Escherichia Coli* et *Pseudomonasaeruginosa*). Venues Institut Pasteur d'Alger.

Les résultats de cette activité se manifestent différemment sur les deux bactéries testées montrant ainsi différents diamètres des zones d'inhibitions à différentes concentrations sont montrés dans les figures 21, 23 ci-dessous. On a négligé les diamètres d'inhibition pour les concentrations (25%, 50% et 75%) car les souches sont non sensibles ou résistantes (le diamètre

de zone <8mm) donc les résultats qui nous avons pris en compte celui de l'extrait brute des composées phénoliques des margines étudier (0% dilution).



Figure 21 : Les zones d'inhibition des extraits phénoliques vis-à-vis la souche pathogène (*Escherichia Coli* ATCC25922).

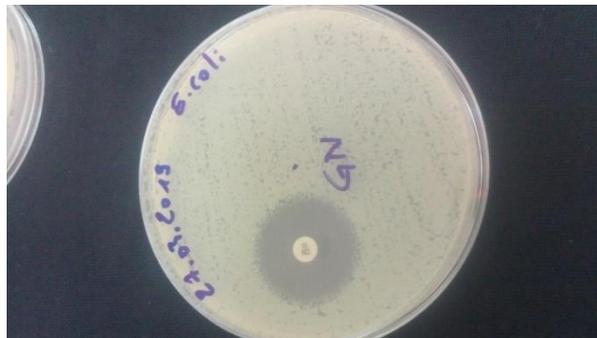


Figure 22: Les zones d'inhibition de gentamicine vis-à-vis la souche pathogène (*Escherichia Coli* ATCC 25922).

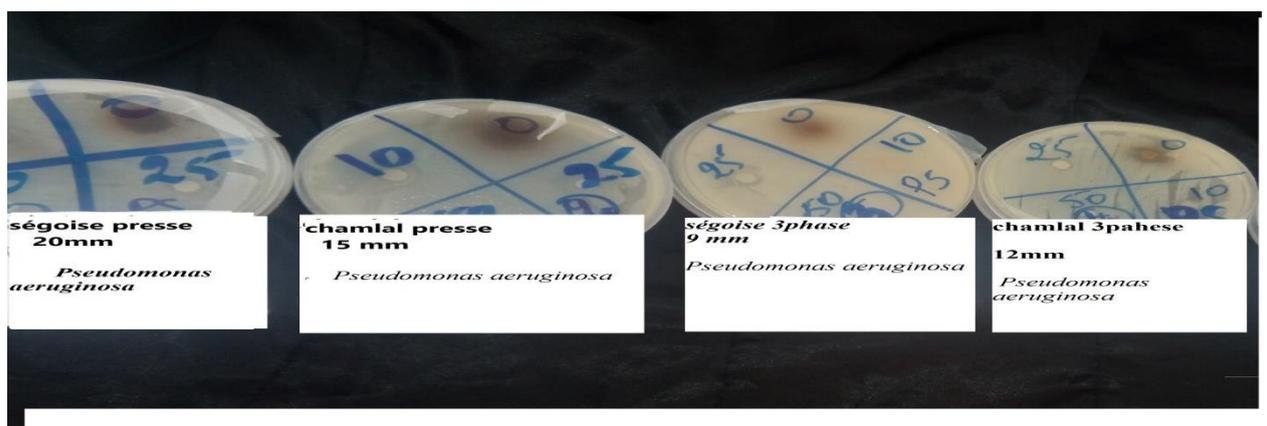


Figure 23: Les zones d'inhibition des extraits phénoliques vis-à-vis la souche pathogène (*Pseudomonas Aeruginosa* ATCC27853)

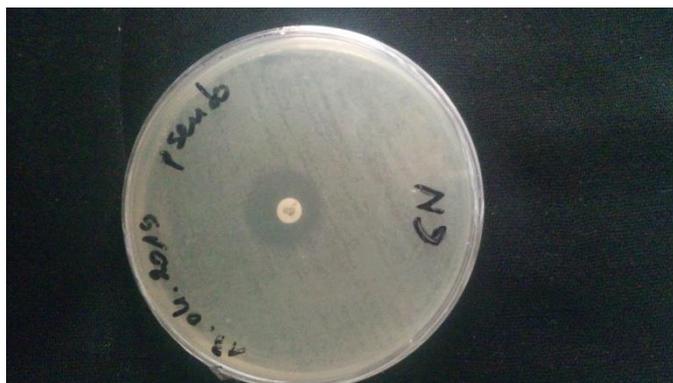


Figure 24: La zone d'inhibition de gentamicine vis-à-vis la souche pathogène (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853)

Tableau 06 : Les diamètres des zones d'inhibition des extraits phénoliques des margines brutes contre (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

| Variété Zone d'inhibition (mm) | Extraction discontinu à presse | | Extraction continu à 3 phases | | Antibiotique |
|--------------------------------------|--------------------------------|---------|-------------------------------|---------|----------------|
| | Sigoise | Chemlal | Sigoise | Chemlal | La gentamicine |
| <i>Escherichia coli</i> | 19 | 15 | 10 | 12 | 24 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 20 | 15 | 9 | 12 | 19 |

D'après les résultats présentés dans le tableau 06 ci-dessus nous avons constaté qu'**E.P.B.M.V.Si.S.E.P** et **E.P.B.M.V.C.S.E.P** sont très efficaces contre la bactérie *Escherichia coli*. (**Elle est très sensible**) ; **E.P.B.M.V.Si.S.E.P** et **E.P.B.M.V.C.S.E.P** exercent des diamètres des zones d'inhibition (19 mm et 15 mm respectivement). Pour **E.P.B.M.V.Si.S.3Ph** et **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** sont moins efficace par rapport au **E.P.B.M.V.Si.S.E.P** et **E.P.B.M.V.C.S.E.P** et l'antibiotique gentamicine contre *Escherichia coli* (**elle est sensible**). **E.P.B.M.V.S.S.3Ph** et **E.P.B.M.V.C.3Ph** exercent des diamètres des zones d'inhibition (10 mm et 12 mm) respectivement. On constate qu'*Escherichia coli* est (**extrêmement sensible**) contre l'antibiotique gentamicine exerce un diamètre des zones d'inhibition (24 mm).

Concernant les résultats de la souche *Pseudomonas aeruginosa* nous avons constaté qu'**E.P.B.M.V.Si.S.E.P** est très efficace contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* (**extrêmement sensible**) exerce un diamètre de zone d'inhibition (20 mm) mieux que l'antibiotique qui exerce un diamètre des zones d'inhibition (19 mm) et **E.P.B.M.V.C.S.E.P** donne un effet contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* (**est très**

sensible) il exerce un diamètre des zones d'inhibition (15 mm) et pour **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** et **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** sont peu efficaces par rapport les autres variétés étudiées et l'antibiotique gentamicine contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* (**sensible**). **E.P.B.M.V.Si.S.E.3Ph** et **E.P.B.M.V.C.S.E.3Ph** exercent des diamètres des zones d'inhibition (9 mm et 12 mm) respectivement.

Selon les résultats et les analyses statistiques de tableau, les quatre extraits phénoliques des margines ont une activité antibactérienne. L'effet d'inhibition est différent par rapport au le facteur (système d'extraction) ($P < 0.05$). Et le facteur (variété) ($P < 0.05$). Alors que l'activité est proportionnelle avec la concentration des polyphénols (**Esmail et al., 2014**).

Les composés phénoliques confèrent aux margines une activité antibactérienne car d'une part ces composés sont caractérisés par une très forte réticulation et aussi une dénaturation des protéines, d'une autre part en raison de leur chaîne latérale acide. Aussi les acides phénoliques sont beaucoup moins polaires. Cette propriété peut faciliter le transport de ces molécules à travers la membrane cellulaire. Ils sont capables de se complexer avec les protéines extracellulaires solubles et aussi avec les parois bactériennes. Les flavonoïdes (plus lipophiles) peuvent également perturber les membranes microbiennes. (**Firaset Hassan, 2008**). Cette activité antibactérienne de polyphénols totaux peut être expliquée par le mécanisme de la toxicité des flavonoïdes contre les micro-organismes par exemple, les interactions non spécifiques telles que l'établissement d'une liaison hydrogène avec des protéines ou des enzymes de la paroi cellulaire et l'inhibition du métabolisme bactérien nécessaires à la croissance des bactéries (**Esmail et al., 2015**).

CONCLUSION

L'objectif de cette étude était de étudier et évaluer la quantité des composés phénoliques et leur activité biologiques des margines d'huile d'olive de deux variétés sigoise et chemlal issues de deux modes d'extraction à presse et de centrifugation à 3phases. Dans ce contexte, les résultats de la caractérisation chimique des margines ont montré que, contrairement au pH, la matière sèche, la matière organique et les teneurs en matières minérales étaient significativement différentes selon le système d'extraction ($P < 0,05$) et la variété d'olive ($P < 0,05$) En effet, les margines de la variété Sigoiseet la variété Chemlalissues du système à presse ont montré des teneurs en matière sèche les plus élevé par rapport les margines issues de système de centrifugation à 3phaeses. Concernant la matière organique on trouve que les margines issues de système de centrifugation à 3phases ont des teneurs plus haut que les margines issues de système à presse. La matière minérale et le pourcentage d'humidité sont presque similaires pour les deux variétés issues des deux systèmes d'extraction.

En ce qui concerne les analyses phyto-chimiques, les margines sont très riche en divers composés phénoliques. Nos données analytiques sont confirmé ça. Selon le dosage des polyphénols et les tannins totaux, les résultats sont remarquablement élevé pour la variété Sigoise et Chemlal issues de système à presse par rapport les margines des mêmes variétés issues de système de centrifugation à 3phases.Les résultats du dosage des composées phénoliques des différents extraits des margines, révèlent leurs richesse en tannins condensées, En revanche, ils caractérisent par leur teneur faible en flavonoïdes.La variabilité dans les concentrations des différents composées phénoliques dans les margines dépend de plusieurs facteurs, essentiellement du processus d'extraction.

Pour l'activité antioxydante, les extraits des margines ont affiché une activité antioxydante notable et remarquable. Dans le présent travail, les composés phénoliques des margines sont fortement impliqués dans le pouvoir réducteur des extraits utilisés. Donc l'activité antioxydante est proportionnelle avec la teneur en polyphénols. L'activité la plus efficace a été enregistrée chez Sigoise et Chemlal à presse comparativement avec Sigoise et Chemlal à 3phases. On déduire que l'augmentation de la concentration en polyphénols rencontre une augmentation de pourcentage d'inhibition (forte piégeage) de ce radical libre (DPPH). Les extraits phénoliques ont montré un effet inhibiteur sur la croissance des deux souches testées (*E. coli* et *P. aeruginosa*). Le système d'extraction et la variation des variétés d'olive influencent sur l'activité antibactérienne. L'*Escherichia coli* est très

sensible contre les extraits phénoliques des margines des variétés de Sigoise et Chemlal issues par le système d'extraction à presse et sensible pour les extraits phénoliques des margines des variétés de Sigoise et Chemlal issues par le système d'extraction de centrifugation à 3 phases. La *Pseudomonas aeruginosa* est **extrêmement sensible** contre l'extrait phénolique de margines de la variété de Sigoise issue par le système d'extraction à presse et **très sensible** contre l'extrait phénolique de margines de la variété de Chemlal issue de système d'extraction à presse et **sensible** contre les extraits phénoliques des margines des variétés de Sigoise et Chemlal issues de le système d'extraction de centrifugation à 3 phases.

En fin on a acceptés l'hypothèse nulle (H0) : il y a l'effet de variété d'olive et le système d'extraction et sur la quantité des polyphénols et sur l'activité biologique des margines.

En perspectives, il serait intéressant d'explorer les voies de recherches suivantes : Les analyses physico-chimique et phyto-chimique issues des margines s'impose dans le but de valoriser les composés phénoliques des margines, considérées comme source importante d'antioxydants naturels et peut contribuer de cette manière à diminuer leur effet polluant sur l'environnement, il est souhaitable d'approfondir ce travail en s'intéressant particulièrement aux aspects suivants :

1. Proposé des méthodes d'extraction et de préservation des extraits phénoliques.
3. Au vue de l'activité antioxydante importante de certaines formes des CP (aglycones), il serait intéressant d'envisager de les incorporer dans des produits aussi bien à visée alimentaire, pharmaceutique qu'en cosmétologie permettant ainsi d'augmenter leur conservation.
4. Dans le cas d'un usage à des fins alimentaires, des études toxicologiques poussées devraient être entreprises dans la mesure où le label « produit naturel » n'est pas suffisant pour garantir la totale innocuité de ces composés car ces extraits sont obtenus par des solvants dont les résidus peuvent être toxiques comme le méthanol.
5. Valoriser les composés phénoliques des margines, considérées comme source importante d'antioxydants naturels, et diminuer un peu soit peu de leur effet polluant sur l'environnement
6. utilisation les margines comme des antibiotiques.

***REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE***

- Abdelhafid A. (2012).** Valorisation du contenu phénolique des margines dans la réduction in vitro de la méthanogénèse ruminale, magistère dissertation, Université de Tébessa-Larbi Tébessi), p107
- Achak A., Ouazzani N., Yaacoubi A., Et Mandi L. (2008).** Caractérisation des margines issues d'une huilerie moderne et essai de leur traitement par coagulation-floculation par la chaux et le sulfate d'aluminium. Rev. des Scien. de l'Eau, 21 : 53-57.
- Achak, M., Ouazzani, N., & Mandi, L. (2011).** Élimination des polluants organiques des effluents de l'industrie oléicole par combinaison d'un filtre à sable et un lit planté. Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science, 24(1), 35-51).
- AFNOR (1983).** Recueil de normes françaises : eau, méthodes d'essai, 2ème édition, Paris, France, 621.
- Aggoun-Arhab M. (2016).** Caractérisation de la composition en microconstituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière, thèse de doctorat, Sciences Alimentaires, Université Frères Mentouri-Constantine, Constantine, p 175.
- Ahmidou O., Hammadi C. (2007).** Projet de développement du petit entrepreneuriat agro-industriel dans les zones périurbaines et rurales des régions prioritaires avec un accent sur les femmes au Maroc. Guide du producteur de l'huile d'olive. pp 13-18.
- Aissam H., Errachidi F., Merzouki M., Benlemlih M. (2002).** Identification des levures isolées des margines et étude de leur activité catalase. Cahiers de l'Association Scientifique Européenne pour l'Eau et la Santé, 7, 23-30.
- Aissam H. (2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat national. Université sidi Mohamed ben Abdellah. Fès, p 156.
- Aktas, E.S., Imre, S., Ersoym, L., (2001).** Characterization and lime treatment of olive mill wastewater, Water Research, 35 (9):2336–2340.
- Allouche N., Feki I. & Sayadi S. (2004).** Toward a high yield recovery of antioxidants and purified hydroxytyrosol from olive mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 267-273.
- AOAC, (1990).** In: S. William (Ed.), Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemist International, 15th AOAC International, Arlington, Virginia, (USA).

Aruoma O. I. Bahorun T. et Jen L .S. (2003).Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. *Mutation Research*, 544: 203-215.

B

Baudin, B. (2006). "Oxidative stress and cardiovascular pathology." *MT Cardio*, 2(1), 43-52.

Benyahia N etZein K. (2003).Pollution and development issues in the Mediterranean basin, 2nd conference international Swiss environmental Solution for emerging Countries(SESECII), Lausanne, Swiss, 28-29.

Brand-Williams W., Cuvelier M. E. And Berset C. (1995).Use of free radical method to evaluate antioxidant activity.*Lebensm. Wiss. Technol*, 28: 25–30.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.

BoskouG, Salta N., Chrysostomou S., Mylona A., Chiou A. And Andrikopoulos N.K. (2006).Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market.*Food Chem.*, 94: 558–564.

Boudhrioua N., Bahloul N., Ben Slimen I. &Kechaou N. (2008).Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves.*IndustrialCropsand products*, 28: 25–30.

C

Cheikh M. (2016).Caractérisation des Acides Gras de l'Huile d'Olive de Sabra en corrélation avec l'évaluation Sensorielle et l'Analyse Physico-chimique, Diplôme de Master En Sciences des Aliments, université de Tlemcen, Tlemcen, p 67

Chew Y-L., Goh J-K. And Lim Y-Y. (2009). Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia.*Food Chem*, 116 : 13–18.

Chimi H., Cillard J., Cillard P. And Rahmani M. (1991).Comparative Study on Phenolic Content and Antioxidant Activity during Maturation of the Olive Cultivar ChemlalifromTunisia. *J. Agric. Food Chem*, 52: 5476-5481.

Coi.(2008). International course on water management and irrigation of olive orchards.Limassol-Cyprus.

Colin, J.-P. (2008). "Sénescence et stratégie d'allocation des caroténoïdes chez le diamant mandarin, *Taeniopygiauttata*."

D

De Marco, E., Savarese, M., Paduano, A., & Sacchi, R. (2007). Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chemistry* .104(2) 858-867.

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

Di Giovacchino L., A. Mascolo, L. Segueti (1988). Sulle caratteristiche delle acque di vegetazione delle olive. RIV. ITAL. SOSTANZE GRASSE, 71-587.

DSA. Atlas agriculture, Ghardaïa, 2014.

Duthie, G. G., Gardner, P. T., and Kyle, J. A. (2003). "Plant polyphenols: are they the new magic bullet?" *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(03), 599-603.

ε

El Hajjouji, H. (2007). Évolution des caractéristiques physico-chimiques, spectroscopiques et éco-toxicologiques des effluents d'huileries d'olive au cours de traitements biologique et chimique (Doctoral dissertation), p215.

El-Hajjouji H., Fakharedine N., AitBaddi G., Winterton P., Bailly J.R., Revel J.C. & Hafidi, M., 2007. Treatment of olive mill waste-water by aerobic biodegradation: analytical study using gel permeation chromatography, ultraviolet-visible and Fourier transform infrared spectroscopy. *Bioresour. Technol.* 98, 3513-3520.

Esmail A., Abed H., Firdaus M., Chahboun N., Mennane Z., Berny E., et Ouhssine M., J(2014). *Mater. Environ. Sci.* 5-121.

Esmail, A., Chahboun, N., Mennane, Z., Amiyare, R., Abed, H., Barrahi, M., Berny, E. H. (2015). Étude de l'activité antimicrobienne des margines issues de Fès Boulman vis-à-vis de souches pathogènes [Study of antimicrobial activity of olive mill wastewater (OMWW) from Fez Boulman against some pathogenic strains] 99, 4513-3578.

7

Fievez V., Babayemi O.J., Demeyer D. (2005). Estimation of direct and indirect gas production that requires minimal laboratory facilities. *Anim. Feed. Sci. Tech*

Fideli et CamuratiParedes, (1999). le acque di vegetazione della lavorazione delle olive: tecnologia ed economia di recupero di sottoprodotti. *Sostanze Grasse*, 61, 283-292

Firas A., Hassan F., J. (2008). *Zhejiang Univ. Sci.* 9(2), 154.

Fki I. Allouche N. et Sayadi S. (2005). The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93: 197-204.

9

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structures, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3 (04): 162-169.

6

Hamdi, M. (1991). Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de l'extraction de l'huile d'olive. *A new conception of biological process for olive mill wastewater treatment*. *Biologie cellulaire et Microbiologie, These doctorat Université de Provence, France.*

Hamdi M. And Ellouz P. (1993) Treatment of detoxified olive mill wastewater's by anaerobic filter and aerobic fluidized bed processes. *Environ. Technol.*, 14: 183-188.

Harborne JP (1989) .General procedures and measurement of total phenolics. In : Harborne JP. *Plant phenolics* .Academic Press, Londres, 1-28.

7

Institut Technique De L'arboriculture Fruitiere Et De La Vigne.(2012). La culture de l'olivier. Tessala El Merdja-Birtouta- Alger. pp 27.

9

Jacotot B. Huile d'olive et prévention. Nutr Clin Métabol (1996); 10 : 7S-9S. Ollivier D. Recherche d'adultération dans les huiles végétales : application à la qualité des huiles vierges et notamment de l'huile d'olive. *OCL* 2003 ; 10 : 315-20.

℔

KirilMert B. Yonar T. YaliliKilie M. et Kestioglu K.(2010).Pre-treatment studies on olive oil mill effluent using physicochemical, Fenton and Fenton-like oxidations processes.*Journal of hazardous materials*, 174:122–128.

ℓ

Loussert, R., & Brousse, G. (1978). L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne. Paris: Maisonneuve et Larousse, 128p.

Loussert R., BROUSSE G. (1998). L'olivier. Ed. G.P. Maisonneuve et Larousse, Paris, France, p 462.

Ložiene K., Venskutonis P., Ausra S., And Juozas L A.R. (2007). scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chem.*, 103: 546–559.

ℓ

Makkar H.P.S., Blümmel M., Borowy N.K. and Becker K. (1993).Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods.*Journal Science Food Agricultur.* 61 :161–165.

Mekki A. Dhouib A. Aloui F. et Sayadi S. (2007). Polyphenols and phytotoxicity in soil amended by olive mill wastewaters.*Journal of Environmental Management*, 84(2): 134-140.

Miner J.M.M.(1995). L'huile d'olive, un luxe quasi éternel. *Revue Olivae* N°59 décembre 1995. PP36-37.

Morillo J. A., Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sánchez M., RamosCormenzana A., Russell N. J. (2009).Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied MicrobiologyBiotechnology.* 82 : 25–39.

Mourida, A. (2014). CONTRIBUTION A L'ETUDE DES MALADIES CRYPTOGAMIQUES D'OLIVIER DANS LA REGION HENNAYA–TLEMCCEN (Doctoral dissertation).p209

Mulinacci N. Romani A. Galardi C. Pinelli P. Giaccnerini C. Vincieri F. et Agric J. (2001). Polyphenolic Content in Olive Oil Waste Waters and Related Olive Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (8):3509–351

Minioti K.S. & Georgiou C.A. (2010). Comparison of different tests used in mapping the Greek virgin olive oil production for the determination of its total antioxidant capacity. *GrassasyAceites*, 61(1), 45-51.

Moyer R.A., Hummer K.E., Finn C.F., Frei B. & Wrolstad R.E. (2002). Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits :Vaccinium, Rubus and Ribes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 519-525

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

N

NCCLS. (2004). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 14th informational supplement. M100-S14. NCCLS, Wayne, P80.

Leeuwen, P. A. (2001). "Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications." *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425.

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 : 19p.

Nijveldt R. J., Nood E., Hoorn D. E., Boelens P.G., Norren K. And Leeuwen, P. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am.J. ClinNutr*, 74: 418–425.

O

Obied H.K., Allen M.S., Bedgood D.R., Prenzler P.D., Robards K., Stockmann R. (2005). Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *J. Agric. Food Chem*, 53, 823-837.

P

Paredes M.J., Monteoliva-Sanchez M., Perez J., Ramoscormenzana A., Martinez J. (1986). Effect of waste waters from olive oil extraction plants on the bacterial population of soil. *Chemosph.*, 16: 1557-1564.

R

Ramos-Cormenzana A. (1986). Physical, chemical, microbiological and biochemical characteristics of vegetation water. In: Inter. Symp.: On olive by-products valorization. Sevilla-Spain. 41-60.

Ranalli A. (1991). L'effluent des huiles d'olives : propositions en vue de son utilisation et son épuration. Références aux normes italiennes en la matière. *Olivae*, 39: 18-34.

R.B. Broadhurst and W.T. Jones (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 29, 788-797.

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

Ribereau G P, (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.

Rajeshwar Y., Kumar G.P.S., Gupta M. & Mazumber U.K. (2005). Studies on in vitro antioxidant activities of methanol extract of *Mucunapruriens* (FABACEAE) seeds. *European Bulletin of Drug Research*, 13(1), 31-39.

S

Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Editions Tec et Doc Lavoisier, 02-11.

Schofield, P., Mbugua, D. M. and Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 21-40.

Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., Spranger, I., 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 46(10). PP. 4267-4274.

T

vergari. (1998). L'utilisation de la technique des marqueurs rapid pour la discrimination des variétés d'olivier appartenant à la population variétale de «frantoio». *olivae n°73*. : 31-36.

W

Wang Q., Rekika D., Charles M.T., Wang X., Tsao R., Yang R., Hao Y.J., Gauthier G., Gosselin A. & Khanizadeh S. (2009). Phenolic compositions and antioxidant activities of new developed day-neutral strawberry lines. *Agriculture and Agri-Food Canada*.

Annexe

Annexe 1 :**Composition du milieu Mueller-Hinton :**

Extrait de viande de bœuf : 2.0g.

Peptone de caséine : 17.5g.

Amidon de maïs : 1.5g.

Agar : 17.0g.

PH : 7.4.

Composition du milieu Sabouraud :

Peptone : 10,0 g.

Glucose massé : 20,0 g.

Agar : 15,0 g.pH = 6,0.

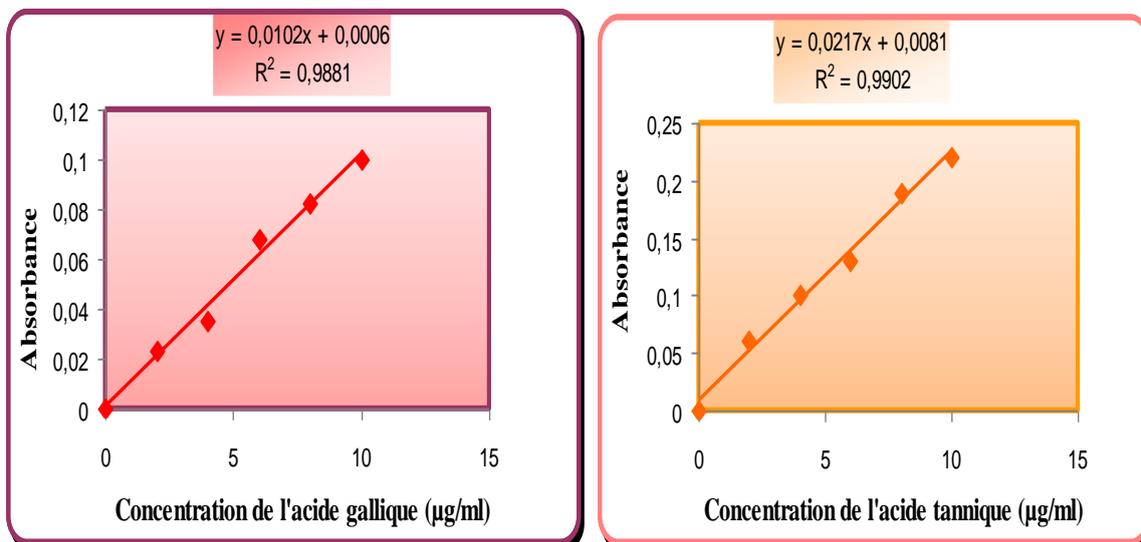
Annexe 2

Figure 01 : gamme d'étalonnage à l'acide gallique. Figure 02 : gamme d'étalonnage à l'acide tannique.

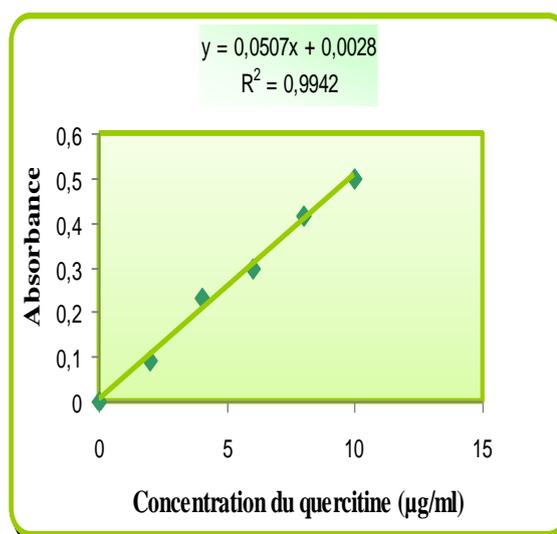
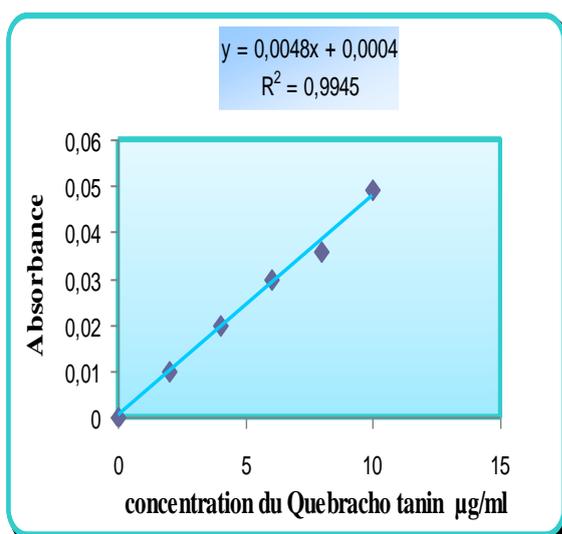


Figure 03: gamme d'étalonnage à Quebracho ug/ml. Figure 04: gamme d'étalonnage à quercitineug/ml.

Annexe 3 :

Tableaux (1) : Caractéristiques chimiques des échantillons de margines.

| Variété | Système d'extraction de l'huile d'olive | | | | P | SEM |
|----------|---|-----------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|--------|---------|
| | Système à presse | | Système de centrifugation à 3 phases | | | |
| | Sigoise | Chemlal | Sigoise | Chemlal | | |
| PH | 5.10 ± 0.05 | 5.12 ± 0.08 | 4.9 ± 0.06 | 5.11 ± 0.05 | | |
| MS (g/l) | 105.33 ^a ± 0.016 | 64.55 ^b ± 0.018 | 60.65 ^c ± 0.012 | 51.98 ^d ± 0.024 | 0.0000 | 0.00013 |
| MO (g/l) | 36.59 ^c ± 0.013 | 30.30 ^d ± 0.182 | 80.18 ^a ± 0.020 | 40.20 ^b ± 0.012 | 0.0000 | 0.00283 |
| MM (g/l) | 24.07 ^c ± 0.015 | 21.68 ^d ± 0.170 | 25.15 ^a ± 0.011 | 24.35 ^b ± 0.017 | 0.0000 | 0.00741 |
| HUM (%) | 94.78 ^b ± 0.0007 | 95.51 ^a ± 0.0014 | 90.85 ^d ± 0.0008 | 94.39 ^c ± 0.0009 | 0.0000 | 0.00000 |

✓ SEM : Erreur Standard Moyenne.

✓ P : la probabilité.

✓ Les valeurs suivies différent lettre sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau 02 : Caractéristiques phyto-chimiques des échantillons de margines.

| Procédé d'extraction de l'huile d'olive | | | | | | |
|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|--------|--------|
| Système de presseSystème de centrifugation à 3phases | | | | | | |
| Variété | Sigoise | Chemlal | Sigoise | Chemlal | SEM | P |
| PPT g/l | 25.77 ^a ± 0.54 | 19.42 ^b ± 0.22 | 16.97 ^c ± 1.54 | 13.05 ^d ± 0.22 | 0.689 | 0.0000 |
| TT g/l | 18.74 ^a ± 0.47 | 14.05 ^b ± 0.30 | 10.59 ^c ± 1.64 | 8.21 ^d ± 0.37 | 0.782 | 0.0203 |
| TC g/l | 8.88 ^a ± 0.04 | 5.55 ^c ± 0.07 | 8.20 ^b ± 0.06 | 8.15 ^b ± 0.64 | 0.103 | 0.0000 |
| Flavonoïdes g/l | 0.12 ^a ± 0.0033 | 0.08 ^b ± 0.0035 | 0.05 ^c ± 0.0029 | 0.06 ^c ± 0.005 | 0.0001 | 0.0000 |

Annexe 4: Les résultats des analyses chimiques et phyto-chimiques sur le logiciel STATISTICA version.10 (ANOVA à 2 facteurs).

| Newman-Keuls test; variable PH (PH) | | | | |
|---|---------|-------------------|----------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | |
| Error: Between MS = ,00528, df = 12,000 | | | | |
| Cell No. | variété | mode d'extraction | PH Mean | |
| 2 | sigoise | 3phases | 5,015000 | **** |
| 1 | sigoise | traditionelle | 5,100000 | **** |
| 4 | chemlal | 3phases | 5,110000 | **** |
| 3 | chemlal | traditionelle | 5,117500 | **** |

Figure (5) : le test d'homogénéité pour le PH.

| Newman-Keuls test; variable MS g/l (Résultats analys) | | | | | | | |
|---|---------|-------------------|-------------|------|------|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | | |
| Error: Between MS = ,00013, df = 12,000 | | | | | | | |
| Cell No. | variété | mode d'extraction | MS g/l Mean | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | chemlal | traditionelle | 51,9775 | **** | | | |
| 3 | sigoise | traditionelle | 60,6500 | | **** | | |
| 2 | chemlal | 3Phase | 64,5525 | | | **** | |
| 4 | sigoise | 3Phase | 105,3300 | | | | **** |

Figure (6) : le test d'homogénéité pour la MS.

| Newman-Keuls test; variable MO g/l (Résultats analy Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00823, df = 12,000 | | | | | | | |
|--|---------|-------------------|-------------|------|------|------|------|
| Cell No. | variété | mode d'extraction | MO g/l Mean | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | chemlal | traditionelle | 30,30250 | **** | | | |
| 3 | sigoise | traditionelle | 36,58500 | | **** | | |
| 2 | chemlal | 3Phase | 40,20250 | | | **** | |
| 4 | sigoise | 3Phase | 80,17750 | | | | **** |

Figure (07) : le test d'homogénéité pour la MO.

| Newman-Keuls test; variable MM g/l (Résultats analy Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00741, df = 12,000 | | | | | | | |
|--|---------|-------------------|-------------|------|------|------|------|
| Cell No. | variété | mode d'extraction | MM g/l Mean | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | chemlal | traditionelle | 21,67500 | **** | | | |
| 3 | sigoise | traditionelle | 24,06500 | | **** | | |
| 2 | chemlal | 3Phase | 24,35000 | | | **** | |
| 4 | sigoise | 3Phase | 25,15250 | | | | **** |

Figure : le test d'homogénéité pour la MM.

| Newman-Keuls test; variable HUM% (Résultats analy Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00000, df = 12,000 | | | | | | | |
|--|---------|-------------------|-----------|------|------|------|------|
| Cell No. | Variété | mode d'extraction | HUM% Mean | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4 | sigoise | 3Phase | 90,85419 | **** | | | |
| 2 | chemlal | 3Phase | 94,38861 | | **** | | |
| 3 | sigoise | traditionelle | 94,78183 | | | **** | |
| 1 | chemlal | traditionelle | 95,51198 | | | | **** |

Figure (8) : le test d'homogénéité pour l'HUM.

| Newman-Keuls test; variable polyphenoles g/l (Résultats ar Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,68955, df = 12,000 | | | | | | | |
|---|---------|-------------------|-----------------------|------|------|------|------|
| Cell No. | Variété | mode d'extraction | polyphenoles g/l Mean | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2 | chemlal | 3Phase | 13,05288 | **** | | | |
| 4 | sigoise | 3Phase | 16,96809 | | **** | | |
| 1 | chemlal | traditionelle | 19,41601 | | | **** | |
| 3 | sigoise | traditionelle | 25,77177 | | | | **** |

Figure (9) : le test d'homogénéité pour les PPT.

| Newman-Keuls test; variable TT g/l (Résultats analyse) | | | | | | | |
|--|---------|-------------------|-------------|------|------|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | | |
| Error: Between MS = ,78175, df = 12,000 | | | | | | | |
| Cell No. | Variété | mode d'extraction | TT g/l Mean | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2 | chemlal | 3Phase | 8,21123 | **** | | | |
| 4 | sigoise | 3Phase | 10,59649 | | **** | | |
| 1 | chemlal | traditionelle | 14,05086 | | | **** | |
| 3 | sigoise | traditionelle | 18,79925 | | | | **** |

Figure (10) : le test d'homogénéité pour les TT.

| Newman-Keuls test; variable TC (Résultats analyse) | | | | | | |
|--|---------|-------------------|----------|------|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | |
| Error: Between MS = ,10345, df = 12,000 | | | | | | |
| Cell No. | Variété | mode d'extraction | TC Mean | 1 | 2 | 3 |
| 1 | chemlal | traditionelle | 5,558269 | | **** | |
| 2 | chemlal | 3Phase | 8,158269 | **** | | |
| 4 | sigoise | 3Phase | 8,208269 | **** | | |
| 3 | sigoise | traditionelle | 8,883269 | | | **** |

Figure (11) : le test d'homogénéité pour les TC.

| Newman-Keuls test; variable flavonoïdes (Résultats analyse) | | | | | | |
|---|---------|-------------------|------------------|------|------|------|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | | |
| Error: Between MS = ,00001, df = 12,000 | | | | | | |
| Cell No. | Variété | mode d'extraction | flavonoïdes Mean | 1 | 2 | 3 |
| 4 | sigoise | 3Phase | 0,052770 | **** | | |
| 2 | chemlal | 3Phase | 0,055769 | **** | | |
| 1 | chemlal | traditionelle | 0,076439 | | **** | |
| 3 | sigoise | traditionelle | 0,123776 | | | **** |

Figure (12) : le test d'homogénéité pour les flavonoïdes.

ANNEXE 5 :

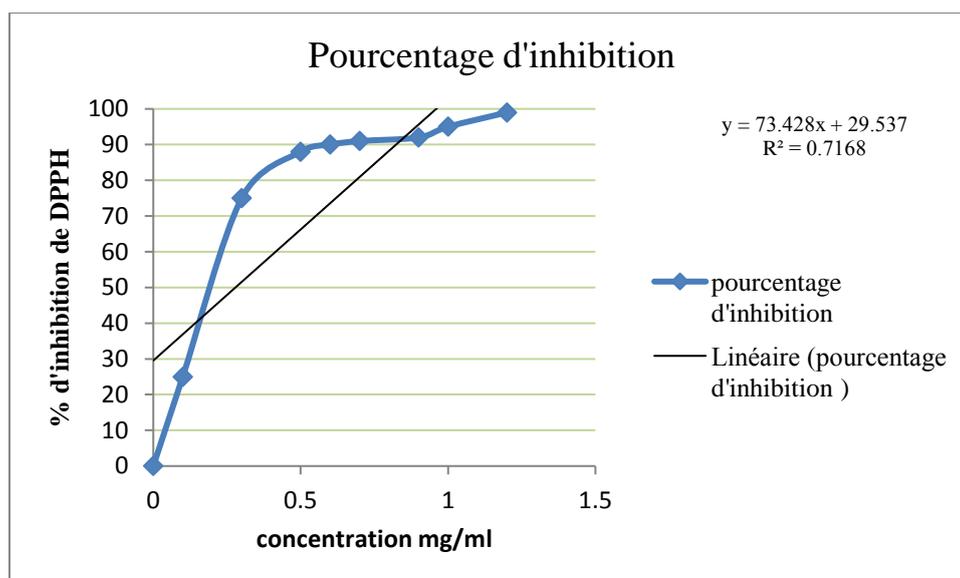


Figure (12) : courbe représentatif de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différente concentration d'acide ascorbique.

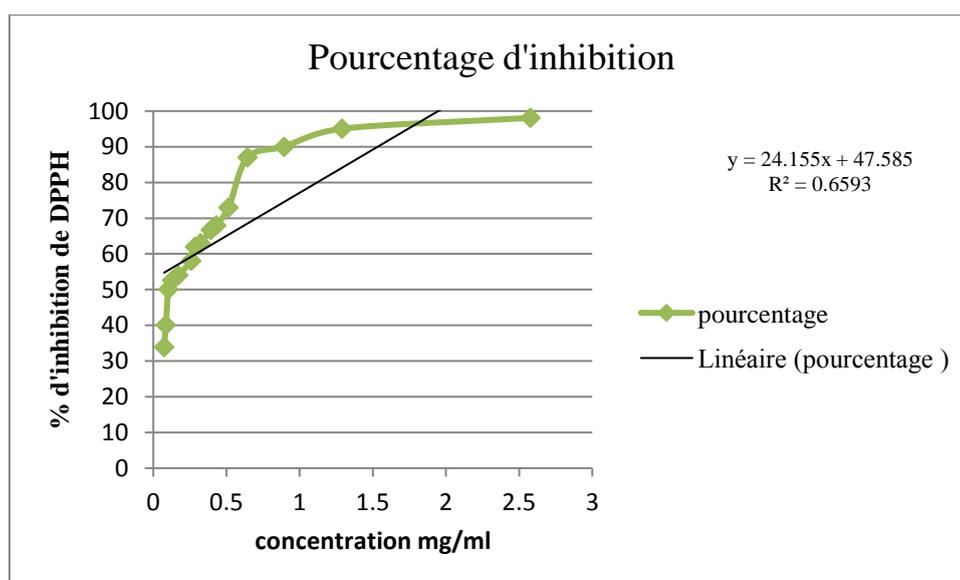


Figure (13) : courbe représentatif de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations d'E.P.B.M.V.Si.S.E.P.

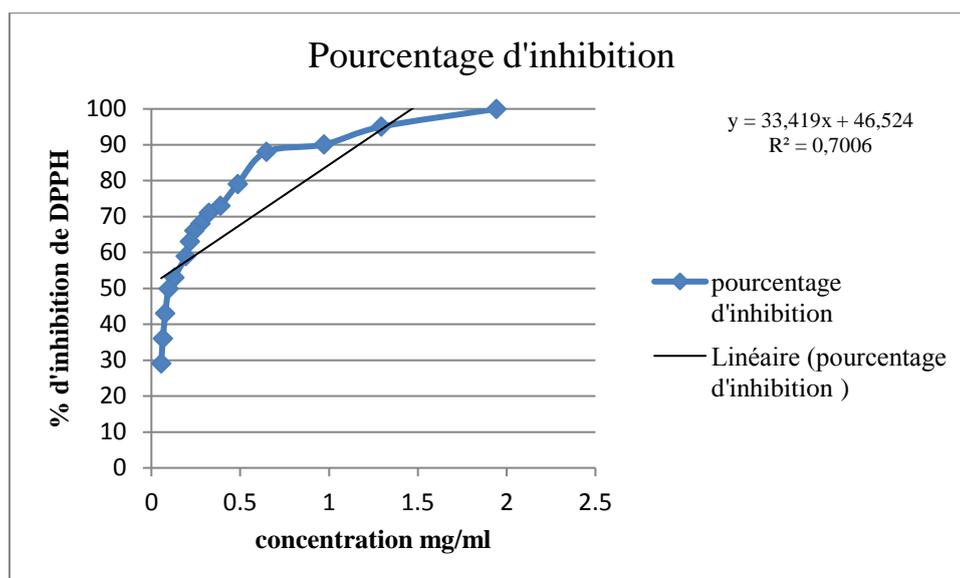


Figure (14): courbe représentatif de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations d'**E.P.B.M.V.C.S.E.P.**

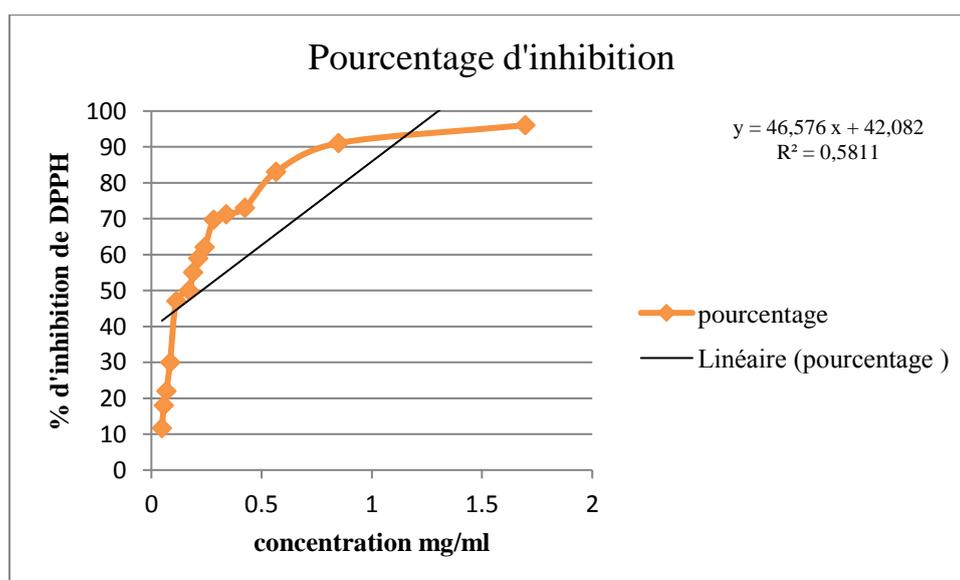


Figure (15): courbe représentatif de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations d'**E.P.B.M.V.Si.S.E.3ph.**

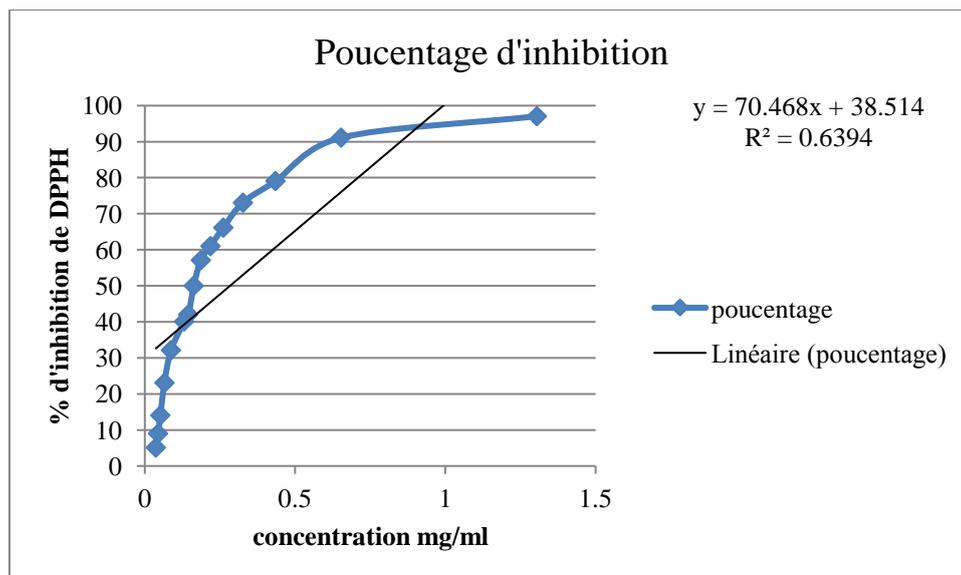


Figure (16): courbe représentatif de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations d'**E.P.B.M.V.C.S.E.3ph**.