

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Mouloud MAMMARI de Tizi Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département d'agronomie



Memoire de fin d'etudes



En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : sciences agronomiques

Spécialité : Culture pérenne

Thème

**Effet de changement du solvant et de la méthode
d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et
chlorophylliens des extraits de pulpe d'olive variété
« Bouchouk »**

Présenté par :

M^{elle} Nadjem sandra et

M^{elle} Talbi ferriel

Soutenue devant le jury composé de :

M ^{me} Ait Mouloud.L	Maitre assistante	UMMTO	Président
M ^{me} Hadjal.M	Professeure	UMMTO	Promotrice
M ^f Faci.M	Professeur	UMMTO	Co-Promoteur
M ^{me} Louni.D	Maitre assistante	UMMTO	Examinatrice

Année : 2020/2021

Remerciement

*Nous remercions tout d'abord **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous voudrions commencer par remercier très chaleureusement notre promotrice de mémoire **Madame Hedjal** pour nous avoir encadré et dirigé dans ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines.*

*Un remerciement spécial et sincère à **Monsieur Faci** qui, sans sa collaboration et son aide, nous n'aurons pu surmonter bon nombre de difficultés dans notre travail. Permettez-nous de vous témoigner notre profonde reconnaissance et gratitude. Nous ne pouvons jamais vous remercier assez.*

*Nous exprimons également notre profonde reconnaissance et nos respects à **Madame Ait mouloud** et **Madame Louni** d'avoir accepté examiner et discuter ce travail.*

Nos sincères et vifs remerciements à tous nos enseignants de spécialité à qui revient le mérite de notre formation.

*A cette même occasion, nous tenons à remercier le personnel du laboratoire de Biochimie, très particulièrement **M^{lle} Tinkicht lynda** pour son aide, sa sympathie et sa permanente disponibilité.*



DEDICACES

Je dédie ce travail à :

*La mémoire de mon très **cher père** qui a toujours été mon porte bonheur, ma fierté et surtout pour son amour Allah Yarhmah*

*Ma très chère maman **Allache Fazia**, pour son soutien continu sans faille et inconditionnel, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.
Que Dieu te bénisse et donne la santé.*

*Mes très chères frères **Bilal et Yacine***

*Mes adorables petites sœurs **Yasmine et Amel***

*Ma **grande mère** à qui je souhaite une longue vie*

*A mon très chère binôme **Ferriel** et toute sa famille*

*Toutes mes amies, je cite en particulier **Walid, Saliha, Sarah, Ferriel et Thanina** et toutes les personnes qui me connaissent.*

Spéciale dédicace à la promotion M2.

Sandra N.





DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Au meilleur des pères,

*Tu me dirigeais toujours vers le bon chemin, merci pour les valeurs nobles,
l'éducation et le soutien permanent venue de toi que Dieu te protège*

*A ma très chère maman **Sadaoui Safia***

*Tu représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de
tendresse l'exemple du dévouement, tu n'as pas cessé de m'encourager et de
prier pour moi, Qu'Allah le tout puissant vous préserve, vous accorde santé
et bonheur*

*A mes très chers frères **Amine** et **Merouene** à qui je souhaite un avenir plein
de réussite*

*Ma chère binôme **Sandra***

*J'adresse aussi mes dédicaces à mes chers amis **Bilal**, **Nacira**, **Thanina** et à
toutes les personnes qui me sont chères*

*A ma chère **tante Zahia** pour son amour et son soutien permanent*

A toute la promotion de M2 Culture pérenne 2020 /2021

Ferriel T.



Liste des abréviations

PP	Poly-phenols
CP	Composés phenoliques
AG	Acide gallique
T	Tyrosol
Q	Quercétine
VIH	Virus immunodifcience humain
COI	Conseil oleicole international
PT	Phénols totaux
LDL	Lipoproteine de basse densité
HDL	Lipoproteine de haute densité
MS	Matiere sèche
ERO	Especes reactives de l'oxygène
RL	Radicauc libres
AO	Anti-oxydant
ATP	Adénosine triptophate
ADN	Acide désoxyribonucleique
SPE	Extraction phase solide
MAE	Extraction assistée par micro-onde
SFE	Extraction par fluide supercritique
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
EC	Electrophorese capillaire
LC-MC	Chromatographoie en phase liquid-Spectrometrie de masse
GC-MS	Chromatographie gazeuse -Spectroscopie de masse
RMN	Resonance magnitique nucléaire
PLE	Extraction liquid sous pression
MS	Matière sèche
UV	Ultra visible
V/V	Volume / volume
EAG	Equivalent Acide Gallique
ET	Equivalent tyrosol
EQ	Equivalent quercitine
ES	Extrait sec
Méth	Méthanol
Eth	Ethanol
Méth/Eau	Mélange Méthanol /Eau
Eth /Eau	Mélange Ethanol/Eau

Liste des figures

N°	Intitulés	Pages
01	Une oliveraie dans la région de M'chedallah (original, 2018).	03
02	Moulins à olives (meules et pressoirs), Ibaheissène (Petite Kabylie, route Akbou – El-Kseur) (Clichés M. Gast ., 1968).	04
03	Cycle végétatif annuel d'olivier (Rallo, 1998 ; Girona, 2001)..	06
04	Zone de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le monde (Pagnol, 1996).	06
05	Carte oléicole d'Algérie (Khoumeri, 2009).	07
06	Fruit d'olivier (Rossini, 1999).	09
07	Les feuilles et fruits d'olivier (Breton <i>et al.</i> .,2006).	12
08	La balance oxydative (http://images.slideplayer.fr/1/453280/slides/slide_15.jpg).	15
09	La source des espèces réactives oxygénées (Bloomer et al., 2008).	16
10	Réactions de rupture par l'antioxydant (AH : antioxydant ; ROO•, RO•, R• : radicaux libres).	18
11	Rupture de l'oxydation des lipides par l'antioxydant..	18
12	Structure chimique de la vitamine C	21
13	Structure chimiques des vitamines E	21
14	Structure chimique des β -carotènes	21
15	Mécanisme antioxydant des composés phénoliques (Sherwin, 1978).	24
16	Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (Japon-Lujan et al ., 2008).	25
17	Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques (Khan <i>et al.</i> , 2010)	25
18	Structure chimique de base des flavonoïdes	26
19	Structures des squelettes de base des six classes de flavonoïdes (Richard et al.,2014).	26
20	Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b) (Kone., 2009).	27
21	Structures de l'oleuropéine (Chemat <i>et al.</i> ., 2004).	28

22	Structure chimique des tanins galliques et des tanins éllagiques	29
23	Structure chimique des tanins condensés	29
24	Structure d'une lignine	30
25	Structure d'une stilbene	30
26	Schéma synthétisant les différentes étapes d'extraction des composés phénoliques à partir de la pulpe olive.	41
27	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux (mg/g).	42
28	Courbe d'étalonnage de tyrosol pour le dosage des ortho-diphénols (mg/g).	43
29	Courbe d'étalonnage de quercitine pour le dosage des flavonoïdes (mg/g).	44
30	Teneurs en phénols totaux des différents extraits de pulpe olive (mg EAG /g ES).	46
31	Teneurs en <i>ortho</i> -diphénols des différents extraits (mg ET/g ES).	48
32	Teneurs en flavonoïde des différents extraits (mg EQ /g ES).	49
33	Teneurs en chlorophylles (a) des différents extraits (mg/g).	50
34	Teneurs en chlorophylles (b) des différents extraits (mg/g).	51
35	Teneurs en totale chlorophylles des huit (8) extraits analysés (mg/g).	52

Liste des tableaux

N°	Intitulés	Pages
01	Composition de la pulpe d'olive de table en poids frais (Balatsouras.,1966)	10
02	Principales variétés d'olivier cultivées en Algérie (Mendil et Sebai, 2006).	11
03	Les espèce réactive de l'oxygène (ERO) (Gutiérrez <i>et al.</i> ,2014)	17
04	Les espèces réactives de l'azote (ERA) (Gutiérrez <i>et al.</i> ,2014)	17

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 01

Synthèse bibliographique

1- Généralité sur *Olea europea. L*

1.1. L'olivier.....	03
1. 1.1. Description générale de l'olivier	03
1. 1.2. Historique.....	04
1.1.3. Classification botanique	05
1. 1.4. Cycle végétal annuel	06
1. 1.5. Importance de l'olivier dans le monde et en Algérie	06
1. 1.5.1. Dans le monde.....	06
1.1.5.2. En Algérie	07
1. 1.6. Les contraintes de la filière	08
1.2. Fruit d'olivier	09
1.2.1. Composition chimique de l'olive	10
1.2.2. Les variétés d'olivier les plus cultivées en Algérie	10
1.3. Les feuilles	12
1.3.1. Description	12
1.3.2. Composition chimique des feuilles d'oliviers et propriétés	12
1.3.3. Intérêt des feuilles d'olivier pour la santé	13
1.3.4. Utilisation oléicole	13
1.3.4.1. Dans l'alimentation animale	13
1.3.4.2. Domaine cosmétologique.....	14
1.3.4.3. Industries Alimentaires.....	14

2- Caractéristiques biochimiques

2.1. Le stress oxydant et les radicaux libres	15
2.1.1. Description du stress-oxydant	15
2.1.2. Description des radicaux libres	15
2.1.3. Facteurs responsable de la formation des radicaux libres	16
2.1.4. Les différents types de radicaux libres	16
2.2. Les antioxydants	17
2.2.1. Définition	17
2.2.2. Mécanisme d'action des antioxydants.....	18
2.2.2.1. Les antioxydants primaires ou radicalaires	18
2.2.2 .2. Les antioxydants secondaires ou « préventifs	19
2.2.3. Les différents types et sources d'antioxydants.....	19
2.2.3.1. Antioxydants endogène	19
2.2.3.2. Antioxydants Exogènes	20

3- Les métabolites secondaires des fruits et feuilles d'olivier

3.1. Les poly phénols	23
3.1.1. Généralité.....	23
3.1.2. Modes d'action des composés phénoliques	24
3.1.3. Classification des composées phénoliques	24
3.3.1.1. Poly phénols simple	24
3.3.1.1. Acide phénolique	24
3.1.3.1.2. Les flavonoïdes	25
3.1.3.1.3. Alcools phénoliques	27
3.1.3.2. Poly phénols complexes	28
3.1.3.2 .1. Les tannins	28
3.1.3.2 .2. Les lignine	29
3.1.3.2.3. Stilbènes C6-C2-C6	30
3.1.4. Biosynthèse des poly phénols	30
3.1.4.1. La voie de l'acide shikimique	31
3.1.4.2. La voie de l'acide malonique.....	31
3.1.5. Localisation et rôles biologique des polyphénols.....	31
3.1.5.1. Localisation des polyphénols	31
3.1.5.2 Rôles des composés phénoliques	32
3.1.6. Les facteurs influençant la composition de composées phénolique	33

3.1.6 .1. Facteurs agronomiques	33
3.1.6.2. Facteurs environnementaux	33
3.1.7. Méthodes d'extraction et d'analyse des composés phénoliques	34
3.1.7.1. Méthodes d'extraction	34
3.1.7.2. Méthodes de quantification	35
3.1.8. Paramètres influençant l'extraction des composés phénoliques.....	37

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal.....	40
1. 2. Préparation des extraits	40
1.3. Extraction et dosages	42
1.3.1. Phénols totaux.....	42
1.3.2. Ortho-diphénols	43
1.3.3 Flavonoïdes	44
1.3.4 Pigments chlorophylliens	45
1. 4. Analyse statistique	45

2. Résultats et discussion

2. 1. Taux des Phénols totaux.....	46
2.2. Ortho- diphénols	48
2 .3. Flavonoïdes	49
2 .4. Pigments chlorophylliens	50
2.4 .1. Chlorophylle a.....	50
2.4.2. Chlorophylle b	51
2.4.3. Totales chlorophylles	52

Conclusion et perspectives	53
---	-----------

Références bibliographiques

Annexe

Introduction générale

Introduction

L'olivier (*Olea europaea L.*), est un arbre ancestral profondément ancré dans les civilisations méditerranéennes et arabo-musulmanes, a toujours constitué de par sa forte charge emblématique en termes de paix et de prospérité, un facteur d'atténuation des clivages culturels des peuples du Bassin méditerranéen. De nos jours, la place de l'oléiculture sur l'échiquier agricole méditerranéen ne cesse de se raffermir et le rayonnement de ses produits sur le marché mondial des denrées alimentaires ne fait que s'élargir (Mataix et Barbancho, 2006).

En Algérie, l'oléiculture a connu un développement exponentiel au cours de ces dernières années. Elle occupe aujourd'hui une superficie importante de 400 000 hectares, soit 40 % de la surface arboricole nationale. La production oléicole a enregistré de bonnes performances durant la dernière décennie, où la production d'olives de table a plus que quadruplé, passant de 346 730 quintaux (qx) en 2000 à plus de 1.4 million de qx en 2012 ; alors que celle destinée à l'extraction de l'huile d'olive a doublé atteignant un total de 50 000 tonnes en 2012 (Madr, 2013).

L'olivier est considéré comme une plante médicinale réservoir de composé naturels à haute valeur ajoutée, en effet certains composés identifiés dans les extraits des olives telles que les acides phénoliques, alcools phénoliques, flavonoïdes et des secoiridoïdes sont connus pour avoir diverses propriétés thérapeutiques : anti-inflammatoires, anti-cancérogènes, anti-oxydantes et biologiques (Silva *et al.*, 2006). L'extraction des composés bioactifs à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols est une étape très importante dans la séparation et l'identification des composés phénoliques. En conséquence, diverses techniques ont été développées et améliorées pour l'extraction de cette fraction, ainsi plusieurs auteurs ont mis en évidence l'influence des différentes conditions d'extraction sur les rendements et la teneur en composés phénoliques des extraits végétaux (Bonnaillie *et al.*, 2012 ; Jokić *et al.*, 2010).

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique, en étant très variées, avec des formes simples et d'autres plus complexes. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (Koffi *et al.*, 2010). Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant et de la quantité utilisée. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction adéquat à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (Jokić *et al.*, 2010 ; Garcia *et al.*, 2010).

Introduction générale

Dans ce contexte, cette étude a pour objectif identifier la meilleure méthode d'extraction de la fraction phénolique et chlorophyllienne de la pulpe d'olive de la variété algérienne « *Bouchouk* », en utilisant différentes techniques d'extraction (ultrason, agitation), et différentes types et concentrations de solvants d'extraction.

Synthèse bibliographique

1- Généralité sur *Olea* *europaea .L*

1.1. L'olivier

1.1.1. Description générale

L'olivier (*Olea europea* L.) est un arbre méditerranéen par excellence originaire d'un climat sub-tropical sec, de taille moyenne, à tronc tortueux, écorce grisâtre crevassée, bois dur et dense, il peut atteindre quinze à vingt mètres de hauteur et vivre très longtemps (Lavee, 1997). Il s'adapte aux conditions extrêmes de l'environnement telles que : la sécheresse, la salinité, la chaleur et à des basses températures, mais il craint le gel aussi bien que l'humidité et il s'accommode d'une intensité lumineuse importante et une pluviométrie d'environ 220 mm par an (Fontanazza et Preziosi., 1969 ; Maas et Hoffman., 1977). Il peut s'adapter à divers types de sols parfois très pauvres et secs mais bien aérés, son potentiel d'adaptation est dû à l'anatomie spéciale de ses feuilles, de son système racinaire et de son haut niveau de régénération morphologique (Lavee, 1992).

Le diamètre de son tronc est entre 1.50 à 2 m dans les régions relativement chaudes à forte pluviométrie ou abondamment irriguées en été tandis que dans les climats froids les arbres sont généralement plus petites (Loussert et Brousse, 1978). A l'état naturel, il se maintient en boule compacte et épineuse.

L'olivier exige une forte luminosité pour la différenciation des bourgeons à fleurs et le développement des pousses. Dans la plupart des cultures, les fruits se retrouvent à la surface de la frondaison et sa fructification est bisannuelle dans toutes les conditions de croissance. L'olivier est une plante diploïde ($2n=46$) à des degrés d'auto-fertilité différents (Lavee, 1997) (Figure 01).



Figure 01 : Une oliveraie dans la région de M'chedallah (original, 2018).

1.1.2. Historique

L'olivier est l'un des grands symboles du paysage méditerranéen, un signe d'identité culturelle, un élément enraciné dans nos usages, coutumes et expressions qui s'est consolidé progressivement jusqu'à devenir la souche essentielle de ce que l'on appelle la culture méditerranéenne. L'origine de cette culture se perd dans la nuit des temps, son extension coïncide et se confond avec celle des civilisations qui se sont succédé dans le Bassin méditerranéen (Loussert et Brousse ., 1978).

Les premières marques sauvages de l'olivier ont été retrouvées en Asie mineure. Des fouilles sur des sites préhistoriques ont permis de retrouver des feuilles fossilisées datant du paléolithique ou du néolithique ainsi que des traces de charbon et de pollens, en bordure du Sahara datant d'environ 12000 ans avant J-C. On ne connaît pas avec certitude le lieu où l'homme a commencé à cultiver l'olivier, mais on s'accorde à reconnaître que 3500 ans avant J-C, elle se serait faite en Syrie (Loumou, 2003).

Dans l'Afrique du nord, l'oléastre y existait probablement bien avant le XIIe millénaire et le terme « Azemmour » qui désigne l'olivier dans la langue berbère, ne peut se rattacher à aucune racine sémitique, suggérant par-là que la culture de l'olivier était antérieure à l'arrivée des Phéniciens (XI e siècle avant J.C). A l'arrivée des Romains en Afrique du Nord, les Berbères savaient greffer les oléastres, alors que dans le territoire occupé par les Carthaginois une véritable culture avait commencé à se répandre. Rome allait donc profiter de l'expérience punique pour étendre la culture de l'olivier à tout le territoire occupé par elle. De nos jours, l'olivier a largement diffusé au-delà de son air d'origine suite à sa dispersion par l'homme au Etats Unis, en Australie, à la Nouvelle Zélande et même dans les Iles du pacifique (Green., 2002) (Figure 02).

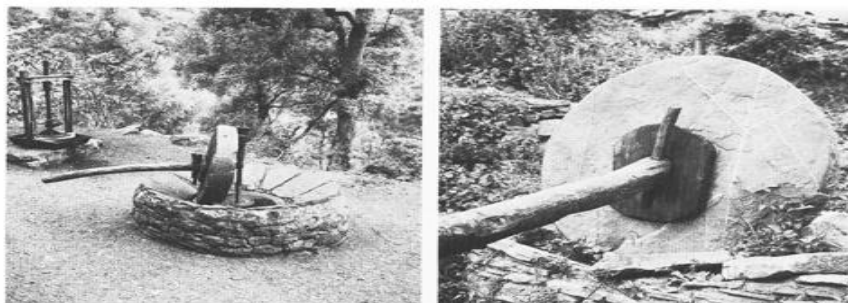


Figure 02 : Moulins à olives (meules et pressoirs), Ibaheissène (Petite Kabylie, route Akbou – El-Kseur) (Clichés, 1968).

1.1.3. Classification botanique

L'olivier (*Olea europea* L.) est une plante ligneuse à feuilles opposées et à fruits charnus riche en huile (Flahault, 1986). Le genre *Olea* regroupe 33 espèces différentes dont la plupart sont des arbustes ou des arbres originaires des régions chaudes où les conditions de croissance sont relativement difficiles (Zohary, 1995).

L'olivier cultivé et l'oléastre coexistent aujourd'hui dans le bassin méditerranéen dont :

- (*Olea europaea subsp. europaea var. sylvestris*) : L'oléastre est un arbre très rameux et épineux à feuilles très petites. Ses fruits sont petits et produisent peu d'huile (Beddiar *et al.*, 2007). Cette espèce est bien adaptée aux conditions de stress hydrique, par conséquent elle est utilisée comme porte greffe et dans le reboisement des zones arides et semi-arides (Caravaca *et al.*, 2002).

- (*Olea europaea subsp. Europaea var. sativa*) : Il est constitué par un grand nombre de variétés domestiqués estimé actuellement à plus de 2000 variétés d'oliviers recensées dans le monde et ayant une diversité phénotypique importante (Ouazzani *et al.*, 1995; Belaj *et al.*, 2001) .

La Classification classique de l'olivier selon Guignard et Dupont ., 2004 est représentée comme suite :

Règne : Plantea.

Sous règne : Tracheobionta ou plantes vasculaires.

Embranchement : Magniophyta, (Phanérogames).

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Mognoliopsida, dicotylédones (ou Thérébinthales)

Sous classe : Astéridae (ou Gamopétales)

Ordre : Scrophulariales

Famille : Oleaceae

Genre : *Olea*.

Especie : *Olea europea* L.

1.1.4. Cycle végétal annuel

L'olivier se développe dans le climat méditerranéen. Le déroulement annuel de son cycle végétatif est en étroite relation avec les conditions climatiques de son aire d'adaptation (Loussert *et* Brousse, 1978).

Le cycle évolutif annuel est caractérisé par les processus et les changements biologiques, biochimiques et morphologiques que subit l'arbre durant l'année (Figure 03).

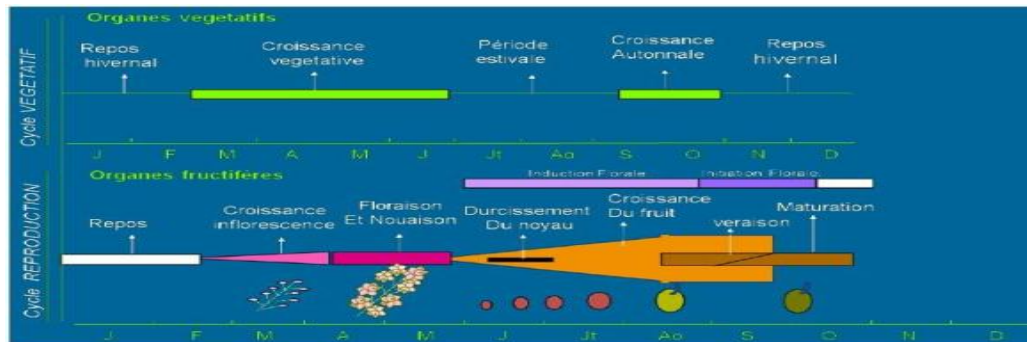


Figure 03 : Cycle végétatif annuel d'olivier (Rallo, 1998 ; Girona, 2001).

1.1.5. Importance de l'olivier dans le monde et en Algérie

1.1.5.1. Dans le monde

On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (Benhayoun et Lazzeri., 2007). Les principaux vergers d'oliviers se situent en Espagne, l'Italie, la Grèce, la Tunisie, la Turquie, la Syrie et le Portugal (75% de la production mondiale est produite par l'Europe dont Espagne, Italie, Grèce et Portugal) (C.O.I) (Figure 04).



Figure 04 : Zone de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le monde (Pagnol, 1996).

1.1.5.2. En Algérie

La culture de l’olivier remonte à la plus haute antiquité, elle constitue une source de revenu significative pour la population rurale, cette culture représente plus de 50% du verger arboricole national dont elle occupait en 2015 une superficie de 471 657 hectares (Onfaa, 2016)

L’olivier est principalement cultivé sur les zones côtières du pays à une distance de 8 à 100 km de la mer où il trouve les conditions favorables pour son développement aussi bien que dans les régions de montagne, les collines recouvrant une surface de 195 000 hectares et dans les plaines occidentales du pays (Mascara, Sig, Relizane) et les vallées comme la Soummam (Khoumeri, 2009).

Cette superficie a bien nettement augmenté par la mise en place d’un programme national pour le développement de l’oléiculture intensive dans les zones steppiques, présahariennes et sahariennes (Msila, Biskra, Ghardaïa...) en vue d’augmenter les productions et de minimiser les importations. La figure ci-après présente la nouvelle carte oléicole de l’Algérie qui marque l’expansion des superficies oléicoles vers les zones steppiques, présahariennes et même sahariennes (Figure 05).

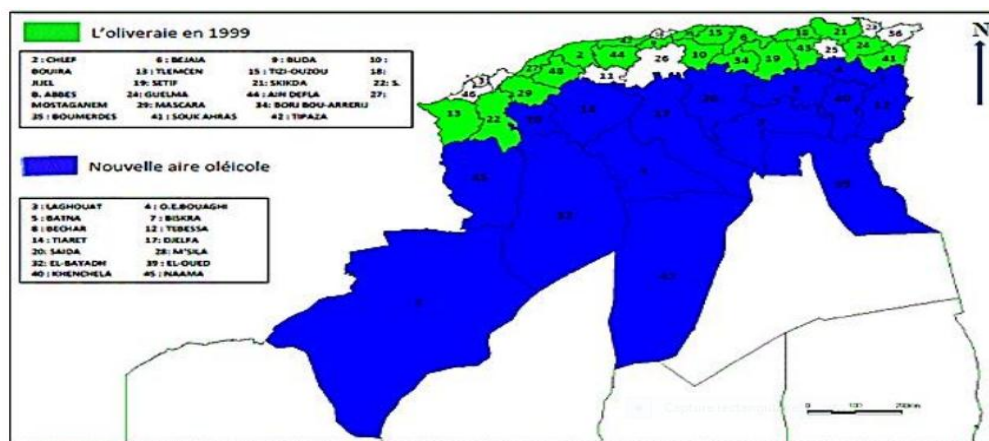


Figure 05 : Carte oléicole d’Algérie (Khoumeri, 2009).

1.1.6. Les contraintes de la filière en Algérie

En dépit des potentialités que recèle le secteur, le diagnostic de la situation oléicole en Algérie actuelle montre que les niveaux de production atteints sont encore très modestes et ne valorisent que partiellement les atouts dont dispose notre pays en la matière. Cette situation résulte de plusieurs effets négatifs :

- Les incertitudes climatiques telles le manque de pluviométrie enregistrées au niveau de certaines zones oléicoles conjuguée à l'irrégularité inter et intra-annuelle de ces précipitations. En effet, plus 75% du verger algérien sont situés sur des sols accidentés généralement pauvres et conduits en agriculture pluviale (Sahli, 2009)
- L'absence de régions spécialisées en oléiculture fait que l'olivier ne bénéficie pas des interventions appropriées. De plus la prédominance des plantations irrégulières et la présence des cultures intercalaires ne permettent pas la réalisation des travaux d'entretien dans de bonnes conditions (Sahli, 2009).
- Le vieillissement des vergers est l'une des principales causes de la faiblesse des rendements oléicoles qui sont parmi les plus faibles au monde, ne dépassant pas 10 qx/ha. (Abdelguerfi, 2003).
- L'exiguïté prononcée des exploitations (50% des exploitations ont une superficie inférieure à 5 ha), le morcellement des plantations (4 à 6 parcelles par exploitation) et la régression du savoir-faire (fertilisation, taille, irrigation, périodes de traitement, temps de récolte, stockage), trois paramètres qui limitent l'investissement dans les vergers et rendent difficile leur mise en valeur (Chaouia *et al.*, 2003 ; Sahli, 2009) .
- La dominance de deux variétés nationales : Chemlal et Sigoise, qui malgré leur pouvoir d'adaptation et leur double finalité (production d'huile et de conserves d'olive), présentent les inconvénients d'être sensibles à certaines maladies, avoir un fort indice d'alternance de la production et une faible teneur en huile d'olive (13.5 et 14 % contre 26 à 30% pour les variétés à huile) (Abdelguerfi, 2003 ; Bellahcene, 2004).
- Certaines oliveraies commencent à devenir de plus en plus infestées par des maladies d'origine fongique telle que la verticilliose qui demeurent causer des dégâts quantitatifs et qualitatifs importants surtout qu'aucun traitement phytosanitaire n'est utilisé (Bellahcene, 2004).

1.2. Fruit d'olivier

1.2.1. Description

Le fruit de l'olivier (olive) est une drupe charnue ayant une forme plus au moins ovale à peau lisse, noir violacé à maturité, riche en huile elle est constituée de l'extérieur vers l'intérieur de trois parties : l'épicarpe, mésocarpe et l'endocarpe (Fedeli, 1997) (Figure 06).

- **L'épicarpe**

L'épicarpe (peau) est composé de l'épiderme recouvert d'une matière cireuse imperméable à l'eau (la prune) elle représente 1 à 3 % du poids du fruit. Sa couleur varie du vert au début de maturation au vert jaunâtre, rose violacé, violet et noir à pleine maturité. Ces variations de couleur sont liées à la composition en pigments dans le fruit et leur oxydation effectuée par des phénoloxydases (Bianchi, 2003).

- **Le mésocarpe**

Le mésocarpe dénommé également la pulpe, représente 70 à 80 % du poids du fruit. Il est charnu et riche en matière grasse stockée durant la lipogenèse depuis la fin d'août jusqu'à la véraison sous forme libre dans des vacuoles et sous forme liée à l'intérieur du cytoplasme (Cortesi *et al.* 2000 ; Bianchi, 2003 ; El Antari *et al.* 2003).

- **L'endocarpe**

Très caractéristique de la variété, l'endocarpe (noyau) représente 18 à 22 % du poids du fruit. Il est de nature osseuse très dur formé d'une enveloppe qui se sclérifie l'été (fin juillet) et contient une amande avec deux ovaires dont l'un est généralement stérile (non fonctionnel) et l'autre fertile. Cette graine produit un embryon qui donnera un nouvel olivier quand les conditions sont favorables. (Cortesi *et al.*, 2000).

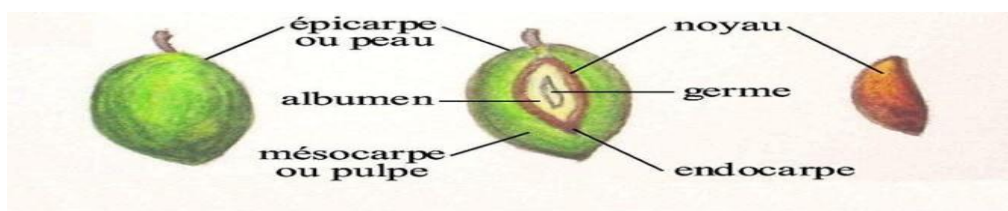


Figure 06 : Fruit d'olivier (Rossini, 1999).

1.2.2. Composition chimique de l'olive

Du point de vue morphologique et anatomique, l'olive n'est pas différente des autres drupes, elle se distingue par sa composition chimique et ses qualités organoleptiques, elle se caractérise par une faible concentration en sucre et une grande quantité de matières grasses et la présence de l'oléuropéine qui est responsable de l'amertume de l'olive. Les principaux constituants de cette dernière sont (l'eau, les polysaccharides et les triglycérides) en plus d'autres constituantes présents en petites quantités qui confèrent à l'huile d'une part, une partie de ses qualités gustatives et nutritionnelles et d'autre part sa stabilité oxydative, cette composition est influencée par le cultivar, les conditions agronomiques et le degré de maturité du fruit (Zarrouk *et al.*, 1996 ; Gomez *et al.*, 2008) (Tableau 01).

Tableau 01 : Composition de la pulpe d'olive de table en poids frais (Balatsouras.,1966)

Composants	Quantités
-Eau	- 70 à 75% du fruit.
-Substances grasses	- Triglycérides et complexes lipidiques: 17 à 30% de
-Sucres simples	- Glucose, fructose, saccharose et mannitol (alcool à 6°): 5 à 6.
Monosaccharides et oligosaccharides	
Polysaccharides	- Cellulose, hémicellulose, gommages et pentosanes: 3 à 6%.
-Les pectines	- 1,5% de la chair de l'olive, sont d'excellente qualité.
-Les protéines	- 1,5% sous forme d'acides aminés.
-Les polyphénols	- Polyphénols en particulier l'oléuropéine, teneur variable selon la variété: 1,96 -2% à 7%.
- Les tannins	- 1,5 à 2%
-Les vitamines	-Carotènes 0,15-0,23 mg/100 g de pulpe ; vitamine C 12,9-19,1 mg/100 g de pulpe, Thiamine 0,54-11,0 mg/100 g de pulpe ; vitamine E (tocophérol) 238,1-352 mg/100 g de pulpe.
-Substances minérales-	- Potassium, calcium, sodium, magnésium, Fe, chlore.
Substances colorantes	- Chlorophylle (a et b), caroténoïdes et anthocyanine.

1.2.3. Les variétés d'olivier les plus cultivées en Algérie

L'Algérie dispose d'un patrimoine constitué de 164 cultivars originaires. Les travaux de caractérisation entamés par (Mendil et Sebaï ., 2006) ont permis de répertorier 72 variétés autochtones dont 36 sont enregistrées, le reste est en cours de réalisation. Les variétés nationales les

mieux connues sont recommandées dans les régions d'origine dont les plus cultivées d'après (Mendil et Sebai, 2006) (Tableau 02).

Tableau 02: Principales variétés d'olivier cultivées en Algérie (Mendil et Sebai, 2006).

Variétés et synonymes	Origine et diffusion	Caractéristiques
Var. Azeradj	Petite kabylie (oued soummam), occupe 10% de la surface oléicole nationale	Arbre rustique et résistant à la sécheresse ; fruit de poids élevé et de forme allongée ; utilisé pour la production d'huile et olive de table, rendement en huile de 24 à 28%.
Blanquette de Guelma	Originaire de Guelma ; assez répandue dans le Nord-est constantinois, Skikda et Guelma	Sa rigueur est moyenne, résistant au froid et moyennement à la sécheresse ; le fruit de poids moyen et de forme ovoïde, destiné à la production d'huile, le rendement de 18 à 22% ; la multiplication par bouturage herbacé donne un bon résultat 43,3%.
Bouricha, olive d'El-Arrouch	El-Harrouch, Skikda	Arbre rustique, résistant au froid et à la sécheresse; poids faible du fruit et de forme allongée, production d'huile, rendement de 18 à 22%.
Chemlal, syn Achemlal	Occupe 40% du verger oléicole national, présent surtout en Kabylie, s'étend du mont Zekkar à l'Ouest aux Bibans à l'Est.	Variété rustique et tardive, le fruit est de poids faible et de forme allongée, destiné à la production d'huile, le rendement en huile de 18 à 22%.
Ferkani, Fefane	Ferfane (Tebessa), diffusée dans la région des Aurès	Variété de vigueur moyenne, résistante au froid et à la sécheresse, le poids du fruit est moyen et de forme allongée, production d'huile et rendement très élevés 28 à 32% ; le taux d'enracinement des boutures herbacées de 52,30%; variété en extension en régions steppiques et présahariennes.
Grosse de Hamma, Queld Ethour	Hamma (Constantine)	Variété précoce, rustique, résistante au froid et à la sécheresse; fruit de poids très élevé et de forme allongée, double aptitude : huile et olive de table, le rendement de 16 à 20%.
Hamra, syn Rougette ou Roussette	Origine de Jijel, diffusée au nordconstantinois	Variété précoce, résistante au froid et à la sécheresse, le fruit est de poids faible et ovoïde, utilisée pour la production d'huile, rendement de 18 à 22%.
Limli	Originaire de Sidi-Aïch (Bejaïa), occupe 8% du verger oléicole national, localisée sur les versants montagneux de la basse vallée de la Soummam jusqu'au littoral.	Variété précoce, peu tolérante au froid, résistante à la sécheresse; le fruit est de poids faible et de forme allongée, utilisée dans la production d'huile, le rendement de 20 à 24%.
Longue de Miliana	Originaire de Miliana, localisée actuellement dans la région d'El-khemis, Cherchell et le littoral de Tènes	Variété tardive, sensible au froid et à la sécheresse; le fruit est de poids moyen et de forme sphérique, utilisé pour la production d'huile et olives de table, rendement de 16 à 20%.

Rougette de Mitidja	Plaine Mitidja	Variété rustique; le fruit est moyen et allongé, utilisé pour la production d'huile, rendement de 18 à 20%; le taux d'enracinement des boutures herbacées donne un résultat moyen de 48,30%.
Souidi	Vallée d'Oued Arab Cherchar Khenchela	Variété tardive, résistante au froid et à la sécheresse; fruit moyen et allongé, utilisé dans la production d'huile, le rendement de 16 à 20% ; taux d'enracinement très faible.

1.3. Les feuilles

1.3.1. Description

Les feuilles d'olivier sont opposées, ovales, allongées, portées par un court pétiole et enroulées sur les bords, d'une couleur verte foncé luisant sur la face supérieure et vert clair argenté avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure. Le feuillage est persistant et toujours vert mais cela ne veut pas dire que ses dernières sont immortelles. Elles vivent en moyenne trois ans puis jaunissent et tombent principalement en été. En cas de sécheresse, les feuilles sont capables de perdre jusqu'à 60% de leur eau, de réduire fortement la photosynthèse et de fermer les stomates permettant les échanges gazeux pour réduire les pertes en eau par évapotranspiration, permettant ainsi la survie de l'arbre au détriment de la production fructi-florale (Ghedira ,2008) (Figure 07).



Figure 07 : Les feuilles et fruits d'olivier (Breton *et al* .,2006).

1.3.2. Composition chimique des feuilles d'oliviers et leurs propriétés

La composition chimique des feuilles et brindilles varie en fonction de nombreux facteurs (variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, proportion de bois, âge des plantations, etc.). Les différents composés chimiques sont regroupés ci-dessous :

- Généralement, la matière sèche (MS) des feuilles vertes se situe autour de 50 à 58%, celle des feuilles sèches autour de 90%.
- La teneur en matières azotées totales (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%. La solubilité de l'azote est faible, elle se situe entre 8 et 14%, selon la proportion de bois.
- La teneur en matières grasses (MG) est supérieure à celle des fourrages et oscille autour de 5 à 7%, mais celle des constituants pariétaux et en particulier de la lignine est constamment élevée (18 à 20%) (Civantos, 1983).
- La feuille d'olivier est riche en triterpènes, flavonoïdes, sécoiridoïdes dont l'oleuropéoside et en phénols.

1.3.3. Intérêt des feuilles d'olivier pour la santé

La feuille d'olivier est un des hypotenseurs végétaux les plus intéressants car elles peuvent être bénéfiques dans le traitement des affections causées ou associées à un virus, rétrovirus, bactérie ou protozoaire. Parmi ces pathologies traitables on a (la grippe, le rhume, les infections dues aux candidas, la méningite, l'encéphalite, le VIH / SIDA, la fatigue chronique, l'hépatite B, la pneumonie, la tuberculose, la malaria, la diarrhée sévère, les infections des voies urinaires et les soins dentaires. (Aydogan, 2008). Les extraits des feuilles d'olivier protègent aussi les vaisseaux sanguins, améliorent la circulation sanguine, efficace dans la protection du cœur lors d'une occlusion coronaire, elles possédant également des propriétés anti-cancérogènes et par ces propriétés elles diminuent le mauvais cholestérol (LDL) en augmentant le bon (HDL) (Cherif et Rahal., 1996).

1.3.4. Utilisation oléicole

1.3.4.1. Dans l'alimentation animale

Les feuilles d'olivier sont largement utilisées dans l'alimentation des animaux (chèvre, vœux...). La digestibilité de la matière organique (MO) est en moyenne de 50%, mais varie fortement selon la proportion de rameaux dans le mélange et le mode de conservation, ces deux facteurs agissent de façon déterminante sur la digestibilité et donc la valeur nutritive des résidus de la taille dont on sait que la digestibilité de ses derniers diminue fortement et comprise entre 30 à 50% après le séchage au soleil ou l'ensilage alors que pour les feuilles vertes elle est de 50 à 60% d'après les travaux de (Maymone et Sblendorio .,1950).

Distribués en vert, les feuilles et rameaux sont bien ingérés par les animaux sans problèmes d'adaptation ni de troubles. Toutefois certains auteurs rapportent des ingestions fortes variables de 24 à 80 g de MS par kg de poids métabolique (Gomes et Parellada ., 1982).

1.3.4.2. Domaine cosmétologique

Les feuilles sont utilisées dans la formulation des produits cosmétiques, tel que les savons, les crèmes, les soins dentaire, huiles essentielle (**Tadashi, 2006**).

1.3.4.3. Industries Alimentaires

Les feuilles peuvent être utilisées comme ingrédients dans la formulation d'aliments pour les hyperglycémiques (**Komaki, 2003**), stabilisant de l'huile d'olive et de tournesol (**Bouaziz et al.,2008**).

2- Caractéristiques biochimiques

2.1. Le stress oxydant et les radicaux libres

2.1.1. Description du stress oxydant

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense anti-oxydante de l'organisme (Beaudeau et Durand., 2011). La production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense, c'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives, vieillissement prématuré) ainsi que la mort cellulaire programmée ou apoptose (Belaich et Boujraf., 2016) (Figure 08).

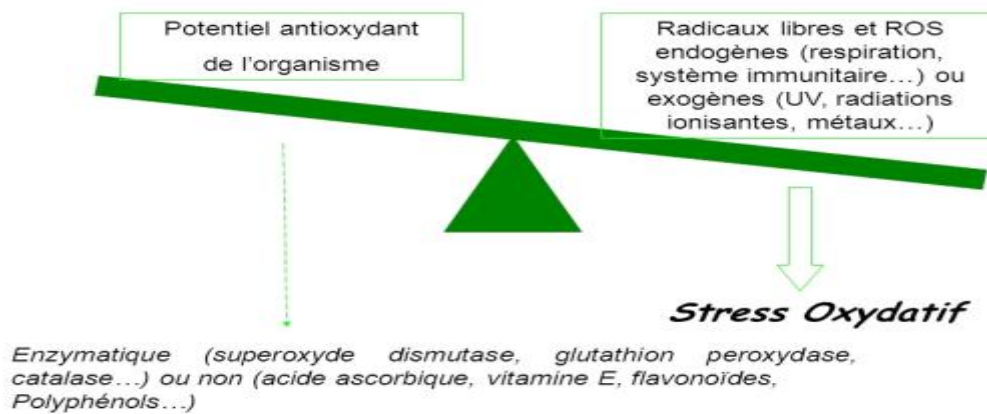


Figure 08 : la balance oxydative (http://images.slideplayer.fr/1/453280/slides/slide_15.jpg).

2.1.2 Description des radicaux libres

Un radical libre (RL) est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé, cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins. (Leverve, 2009 ; Rochette, 2008).

Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire, cet état est donc seulement transitoire de l'ordre de la microseconde (Gambini et Granier.,2013) , car le radical va soit accepter un autre électron soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rapparier son ou ses électrons célibataires et

obtenir ainsi un état plus stable par conséquent cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée par le radical devient à son tour radicalaire. (Fontaine *et al.*, 2002)

2.1.3. Facteurs responsable de la formation des radicaux libres

Les principales espèces réactives oxydantes sont dérivées de l'oxygène et de l'azote, et peuvent être produites par le métabolisme cellulaire normal tout comme pathologique ou par exposition environnementale (ex : tabagisme, ozone, température, corporelle...) (Robertson *et al.*, 2007) (Figure 09).



Figure 09 : La source des espèces réactives oxygénées (Bloomer *et al.*, 2008).

2.1.4. Les différents types de radicaux libres

Bien que la durée de vie biologique moyenne des radicaux libres soit de quelques microsecondes, cela leur laisse suffisamment de temps pour réagir à tout ce qui les entoure. Il existe différents types qui sont produits par le corps humain les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Tableau 03) et les espèces réactives de l'azote (ERA) (Tableau 04).

Tableau 03. Les espèce réactive de l'oxygène (ERO) (Gutiérrez *et al.*,2014)

Espèces oxygénées réactives radicalaires	Espèces oxygénées réactives non-radicalaires
$O_2^{\cdot -}$ Anion radical superoxyde	1O_2 Oxygène singulet
HO_2^{\cdot} Radical perhydroxyle	H_2O_2 Peroxyde d'hydrogène
HO^{\cdot} Radical hydroxyle	$HOCl$ Acide hypochlorique
RO_2^{\cdot} Radical peroxyde	
RO^{\cdot} : Radical secondaire alkoxyde	

Tableau 04. Les espèces réactives de l'azote (ERA) (Gutiérrez *et al.*,2014)

Espèces oxygénées réactives radicalaires	Espèces oxygénées réactives non-radicalaires
$O_2^{\cdot -}$ Anion radical superoxyde	1O_2 Oxygène singulet
HO_2^{\cdot} Radical perhydroxyle	H_2O_2 Peroxyde d'hydrogène
HO^{\cdot} Radical hydroxyle	$HOCl$ Acide hypochlorique
RO_2^{\cdot} Radical peroxyde	
RO^{\cdot} : Radical secondaire alkoxyde	

2.2. Les antioxydants

2.2.1 Définition

Les antioxydants (AO) sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination. (Wainsten,2009).

Quand on parle de denrées alimentaires, les antioxydants sont rassemblés comme additifs alimentaires qui augmentent la durée de vie de ces produits en les protégeant contre les altérations (Anonyme, 2006).

Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes qui sont principalement synthétisés par l'organisme comme les enzymes superoxyde dismutase, catalase, glutathion

peroxydase et la deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont apportés de l'extérieur par exemple l'alimentation (Benbrook, 2005).

Selon Marc *et al.* (2004), l'antioxydant alimentaire idéal est facilement incorporé et efficace à faible dose, non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques et il est stable dans le produit fini.

2.2.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en fonction de leur mécanisme d'action en antioxydants primaires ou antioxydants secondaires (Mc Clements et Decker., 2000).

2.2.2.1. Les antioxydants primaires ou radicalaires

Ils sont caractérisés par la possession d'atomes d'hydrogène facile à soustraire. Ces antioxydants jouent un rôle d'évacuateur « scavengers » des radicaux libres qui retardent, inhibent l'initiation ou interrompent l'auto oxydation. Ils peuvent réagir avec les lipides et les radicaux peroxyde et les transformer en radicaux stables ou des produits non radicalaires selon la réaction suivante :

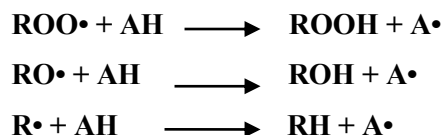


Figure 10 : Réactions de rupture par l'antioxydant (AH : antioxydant ; ROO•, RO•, R• : radicaux libres).

Les antioxydants primaires peuvent aussi arrêter l'oxydation des lipides en réagissant avec les radicaux peroxyde, radicaux alkoxyde et autres antioxydants, selon les réactions suivantes :

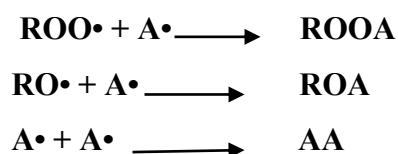


Figure 11 : Rupture de l'oxydation des lipides par l'antioxydant.

Parmi ces antioxydants, on retrouve : le butylhydroxyanisole ou BHA (E 320), le butylhydroxytoluène ou BHT (E 321), gallates, tocophérols, flavonoïdes, vanilline, carnisol et l'acide carnosique (romarin). Les phénols et les amines aromatiques secondaires constituent les deux classes chimiques les plus importantes (Mc Clements *et* Decker., 2000).

2.2.2.2 Les antioxydants secondaires ou « préventifs » :

Ils diminuent la vitesse de l'auto oxydation par différents mécanismes comme chelater les métaux et les désactiver, régénérer les antioxydants primaires, décomposer les radicaux peroxydes, désactiver l'oxygène singulier, absorber les radiations UV ou agir comme des « scavengers » de l'oxygène. Ces antioxydants sont des synergistes parce qu'ils renforcent l'activité des antioxydants primaires. (Helme *et al.* , 1990). L'acide citrique, acide ascorbique, le palmitate d'ascorbyle, les lécithines et l'acide tartrique sont des bons exemples de synergisme (Pokorny, 2003).

2.2.3. Les différents types et sources d'antioxydants

Il existe de très nombreuses sources d'antioxydants (tant ceux fabriqués par l'organisme que ceux qui sont fournis par les aliments). Il est difficile de départager, par rapport à la quantité totale d'antioxydants présents dans l'organisme, la proportion d'antioxydants attribuables à l'alimentation (antioxydants exogènes) et la proportion attribuable à la synthèse par l'organisme (antioxydants endogènes) mais on en sait beaucoup sur le rôle et l'importance relative des sources d'antioxydants endogènes et exogènes (Benbrook, 2005).

2.2.3.1 Antioxydants endogènes :

Les antioxydants endogènes sont des enzymes ou protéines antioxydantes, élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présents en permanence dans l'organisme mais la quantité diminue avec l'âge (Mika *et al.*, 2004).

➤ **Enzymes détruisant les radicaux libres**

• **Superoxyde dismutase (SOD)** : présente dans les « centrales d'énergie » ou mitochondries des cellules humaines, cette enzyme transforme les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogène beaucoup moins réactifs. (Sahnoun *et al.*, 1997) .

• **Catalase** : la catalase décompose les peroxydes d'hydrogène en molécules d'eau pour empêcher la formation de radicaux hydroxyles (Sahnoun *et al.*, 1997).

• **Glutathion peroxydase** : cette enzyme catalyse la capacité du glutathion réduit (GSH) à libérer de l'hydrogène en un radical hydroxyle ou en peroxyde d'hydrogène pour former de l'eau (Bonola *et al.* , 2014) .

• **Thiorédoxine** : la TRX joue un rôle protecteur contre le stress oxydatif grâce à ses propriétés permettant d'éliminer les radicaux libres (Schallreuter *et al.* , 1986) .

2.2.3.2. Antioxydants exogènes

➤ **Complément alimentaire synthétique**

Plusieurs antioxydants se sont avérés efficaces pour améliorer les réponses immunitaires humorales et cellulaires chez les personnes âgées. La consommation de complément antioxydant peut contribuer à améliorer la réponse de notre organisme face aux radicaux libres, à réduire le stress oxydatif et à prévenir l'affaiblissement du système immunitaire causé par l'âge (Devasagayam *et al.*,2004).

➤ **Les Vitamines**

Les antioxydants tels que le bêta-carotène, l'acide ascorbique et l'alpha-tocophérol sont capables de neutraliser l'oxydation causée par les radicaux libres, l'idéal donc serait d'obtenir ces antioxydants à partir de sources naturelles telles que les fruits et les légumes (Le Prell *et al.*,2007).

• **Acide ascorbique**

La vitamine C contient une forme énediol qui produit la forme dicétonique par transferts successifs de ses deux atomes d'H, elle joue également un rôle important dans la régénération de la vitamine E. On trouve la vitamine C dans les légumes (choux, le poivron, le persil...etc.), les agrumes et les kiwis (Boss, 2002) (Figure 12).

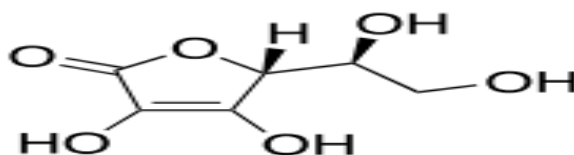


Figure 12 : Structure chimique de la vitamine C

- *La vitamine E*

Elle semble devoir fixer le radical hydroxyle avec formation d'une molécule d'ouverture de cycle. On la retrouve dans les huiles végétales (arachides, soja, chardon, tournesol, olive pressé à froid), les amandes, les graines, le lait, les œufs, les légumes à feuilles vertes (Boss, 2002) (Figure 13).

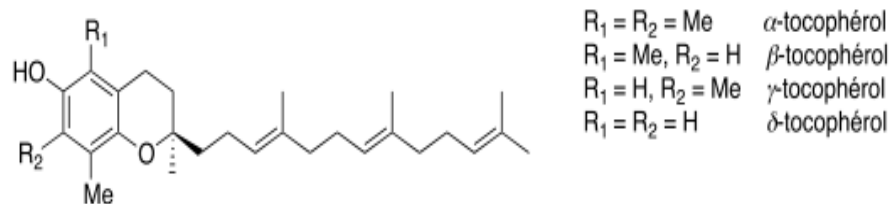


Figure 13 : Structure chimiques des vitamines E.

- *β -carotène*

Parmi les photo-protecteurs actifs, le β -carotène apparaît comme un piègeur efficace, sa constitution polyénique lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une oléfine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydroperoxydes (insertion d'oxygène dans toutes liaisons C-H conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour. On trouve la β -carotène dans les légumes verts, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye (Boss, 2002) (Figure 14).

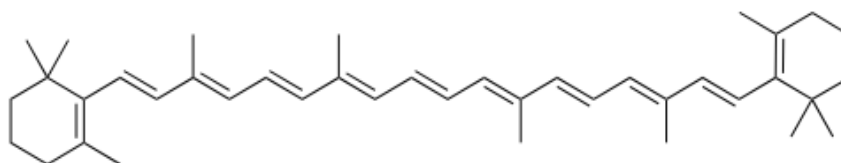


Figure 14 : Structure chimique des β - carotènes

➤ **Les composés phénoliques**

Une grande partie de ces molécules phytochimiques sont présente dans toutes les parties des plantes supérieures, les plus connu sont : flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acide phénolique, tanins, anthocyanines,...etc. Contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (Bounatirou *et al*, 2007).

➤ **Taurine, bilirubine et acide urique**

Ce sont trois molécules anti oxydantes naturelles que l'on trouve dans le lait maternel, dans le foie et dans les reins. Elles peuvent neutraliser la production de radicaux libres (De Teresa *et al.*, 2008).

➤ **Les oligoéléments**

Ce sont des cofacteurs en déficit souvent important chez les malades où on touche un excès de radicaux libres (cancer, polyarthrite, diabète, cirrhose). L'apport de ses derniers à des doses nutritionnelles ou supérieures renforcer les mécanismes de défenses endogènes enzymatiques parmi ses oligoéléments : le zinc, sélénium, glutathion, cuivre.

3- Les métabolites secondaires des fruits et feuilles d'olivier

3.1. Les poly-phénols

3.1.1. Généralité

Les poly-phénols (PP), dénommés aussi composés phénoliques constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal (plante vasculaire). On les trouve dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier., 2006).

Plus de 8000 structures ont été identifiées allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins. Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle libre OH ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Boubekri, 2014).

Les composés phénoliques (CP) des végétaux sont issus bio génétiquement de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (Achat, 2013).

Les (CP) participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés donc ces composés ont un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Zeghad, 2009).

3.1.2. Modes d'action des composés phénoliques :

Les PP peuvent inhiber l'oxydation par différents mécanismes : balayeurs ou « scavengers » de radicaux libres et par séquestration des métaux (Amarowicz *et al.*, 2004; Tawaha *et al.*, 2007 ; Petti et Scully., 2009). Un autre mécanisme peut être impliqué in vivo lorsque les CP peuvent protéger le α -tocophérol de l'oxydation (s'oxydent eux-mêmes) ou ils peuvent régénérer l' α -tocophérol (en donnant un atome d'hydrogène pour le radical de α -tocophérol) (Moure *et al.*, 2001 ; Tripoli *et al.*, 2005 ; Léger, 2006). Certains CP sont des inhibiteurs des enzymes d'oxydation en particulier de la lipoxygénase, de la cyclo-oxygénase (Berset, 2006 ; Teissedre, 2008), de la prostaglandine synthase (Karadenuz *et al.*, 2005), de la succinoxidase mitochondriale et de la NADH oxydase (Rocha *et al.*, 2007) (Figure 15) .

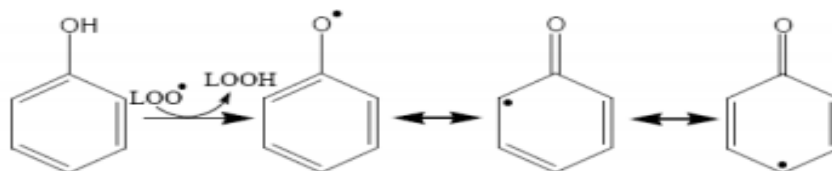


Figure 15 : Mécanisme antioxydant des composés phénoliques (Sherwin, 1978).

3.1.3. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones. Ces molécules sont généralement trouvées conjuguées aux sucres et les acides organiques (Benhammou, 2012).

On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Achat, 2013).

3.1.3.1. Poly phénols simple

3.1.3.1.1. Acide phénolique

Les acides phénoliques sont présents en abondance dans les aliments et divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques (Pandey et Rizvi.,2009).

- **Les acides hydroxybenzoïques:** Ils sont les dérivés de l'acide benzoïque et on une formule de base de type C6-C1 dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (Nkhili, 2009) (Figure 16).

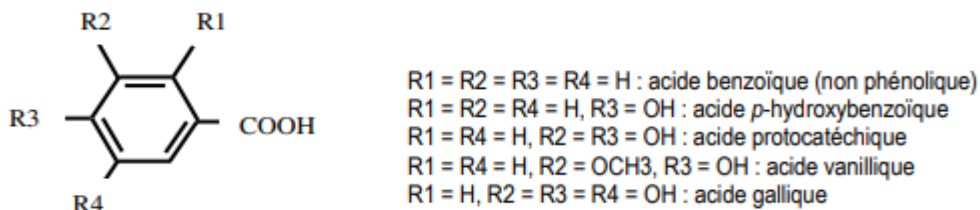


Figure 16 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (Japon-Lujan et al ., 2008).

- **Les acides hydroxycinnamiques:** Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérivée de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de cette série sont l'acide caféique, l'acide férulique, sinapique et l'acide *p*-coumarique (Nkhili, 2009) (Figure 17).



Figure 17 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques (Khan *et al.*, 2010).

3.1.3.1.2. Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde est issu du latin « Flavus » qui signifie jaune. Ce sont des composés polyphénoliques, presque toujours hydrosolubles et très répandus dans le règne végétal. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles dont les différentes couleurs dépendent de la structure mais également du pH du milieu. Le plus souvent, ils sont sous forme d'hétérosides ou de flavonosides (Bouhadjera, 2005).

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane liés entre eux par trois atomes de carbone, formant une structure C6-C3-C6 (Achat, 2013) (Figure 18).

Les flavonoïdes sont retrouvés dans les fruits et légumes sous forme glycosylée ce qui rend la molécule plus hydrosoluble. Les sucres couramment rattachés aux flavonoïdes sont le glucose, le galactose, le rhamnose, la xylose, l'arabinose et des dissaccharides comme la rutinose. (Kahkonen *et al.*, 1999).

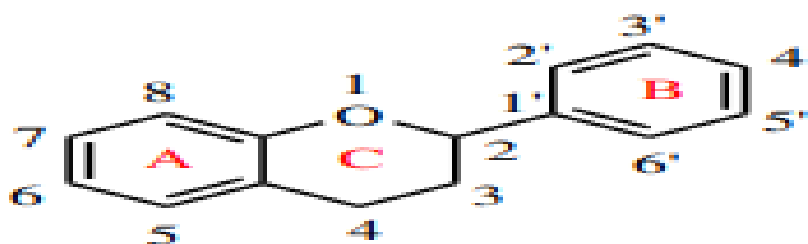


Figure 18 : Structure chimique de base des flavonoïdes

Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools, leur extraction est donc réalisée le plus souvent par le méthanol dilué ou non dans de l'eau. Selon le degré d'oxydation la famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et les anthocyanidines ou anthocyanols (Figure 19).

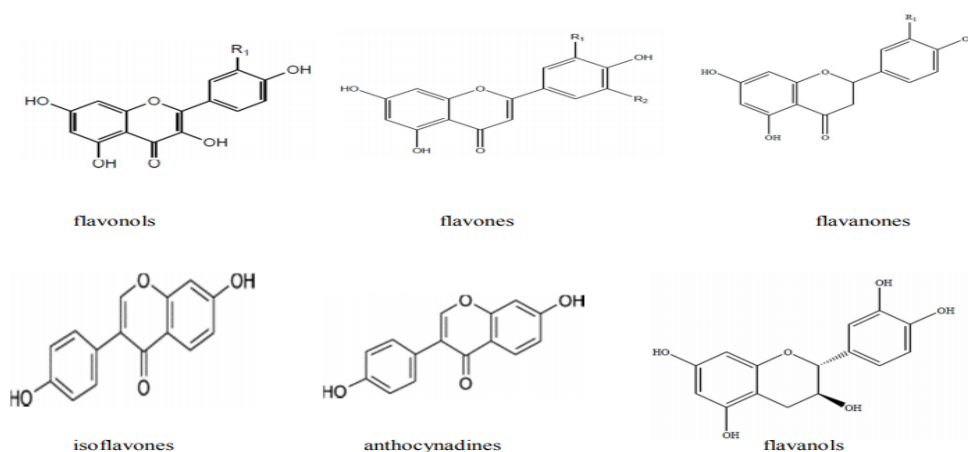


Figure 19 : Structures des squelettes de base des six classes de flavonoïdes (Richard *et al.*, 2014).

3.1.3.1.3. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique (Achat, 2013). Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et l'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenylethanol) sont les deux principaux alcools phénoliques. On les trouve principalement dans l'olivier (fruit, feuille, huile), vins rouge libres ou associés à l'acide élénolique (D'alessandro, 2013 ; Dalmes, 2011) (Figure 20).



Figure 20 : Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b) (Kone., 2009).

➤ L'oleuropéine

C'est un ester d'acide élénolique tyrosol hydroxylé et glycosylé qui possède de puissantes propriétés antioxydantes. Il est le principale alcool phénolique (composé secoiridoïdes) amer présent dans l'ensemble de l'olivier et ses produits dérivés (huile, margines et grignons) (Pereira *et al.*, 2007) et atteint des concentrations de plus de 140 mg/g sur base de matière sèche dans l'olive jeune et 60 à 90 mg/g dans les feuilles (Syed Haris, 2010) (Figure 21) .

Les secoiridoïdes sont présents exclusivement dans les plantes appartenant à la famille des Oleaceae dont *Olea Europea* L. (Servili et Montedero., 2002 ; Servili *et al.*, 2004 ; Silva *et al.*, 2006). Contrairement à beaucoup d'autres composés phénoliques qui se rencontrent dans beaucoup de fruits et végétaux appartenant à plusieurs familles botaniques.

Les olives sont rendues consommables par différents procédés de préparation qui diminuent voir même éliminent l'oleuropéine et son goût amer désagréable comme le traitement direct en saumure sans rinçage à la soude.

Parmi les principaux polyphénols abondant et le bioactif majeur dans feuilles d'olivier en plus de l'oleuropeine on trouve : ligstroside, dimethyloleuropein et l'oleoside (Pereira *et al.*, 2007; Chiou *et al.*, 2009).

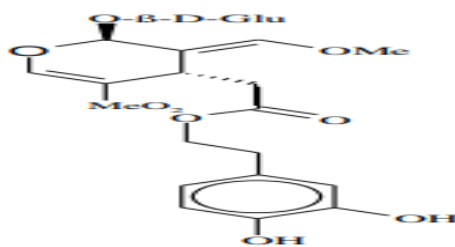


Figure 21 : Structures de l'Oleuropeine (Chemat *et al.* , 2004).

➤ Biodisponibilité de l'Oleuropeine

L'Oleuropeine est très abondante dans la phase de croissance du fruit. Dans les jeunes fruits, elle peut atteindre 14 % de poids sec. Son niveau reste très important à la récolte de cultivars verts. Cependant, durant la maturation et dans les cultivars noirs son niveau diminue très rapidement (Syed Haris, 2010).

3.1.3.2. Poly-phénols complexes

3.1.3.2.1. Les tannins

Ils sont d'origine végétale et non azotée qu'on trouve dans de nombreuses plantes telles que les écorces d'arbres, les fruits (raisin, datte, café, cacao...etc.) et les feuilles de thé. Ses composés poly-phénoliques sont solubles dans l'eau, de masse molaire entre 500-2000D, de structures variées ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines (Vermerris *et al.*, 2006). Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique : les tanins hydrolysables et les tannins condensés.

➤ *Tanins hydrolysables*

Ce sont des esters de glucose, divisés en deux sous-classes : les gallotannins et les ellagitannins). Leurs noms proviennent du fait que leur hydrolyse à haute température ou en présence de tannase produit respectivement une partie non phénolique (le plus souvent du glucose ou de l'acide ellagique) et une partie phénolique qui peut être de l'acide gallique. Les tanins sont constitués d'un noyau central -le glucose- et de chaînes latérales (en position 1,2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol. Des liaisons carbonées à carbone entre noyaux (liaisons biphenyle) conduisent à la formation des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques (Bessas *et al.*, 2007) (Figure 22).

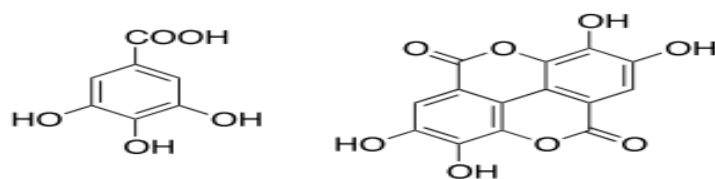


Figure 22 : Structure chimique des tanins galliques et des tanins éllagiques.

➤ *Tanins condensés*

Ce sont des polymères de flavan-3-ols et de flavan-3,4-diols ou un mélange des deux (Atefeibu, 2002 ; Peronny, 2005). Ses polyphénols ont une masse molaire moléculaire élevée (structure complexe), abondamment présents dans le règne végétal et en raison de leur complexation avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité (raisin, pêche, pomme, poire, etc...) et de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc...) et de l'amertume du chocolat (Peronny, 2005) (Figure 23).

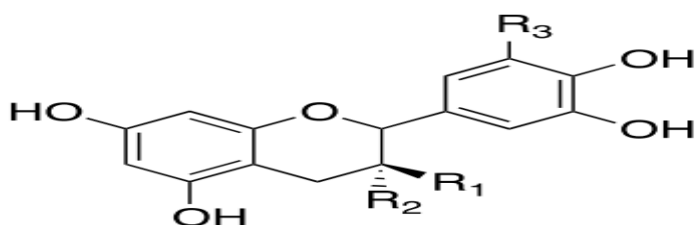


Figure 23 : Structure chimique des tanins condensés

3.1.3.2.2. Les lignines

La lignine est le polymère naturel le plus abondant dans le monde après la cellulose. Sa biosynthèse au sein de la matière végétale est assurée par un couplage de trois monomères alcools phénylpropane différents : les alcools coumarylique, coniferylique, et sinapylique (Dalmes, 2011) (Figure 24).

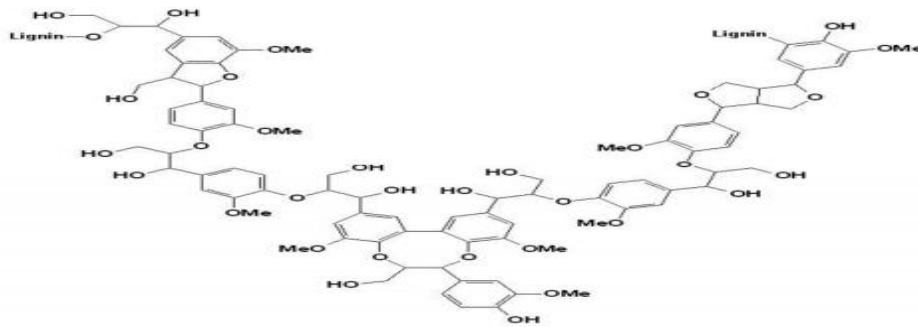


Figure 24 : structure d'une lignine

3.1.3.2.3 Stilbènes C6-C2-C6:

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison formant un système conjugué. Ils sont de type C6- C2- C6 (Figure). Ces molécules existent sous leur forme aglycone comme le resvératrol (isomères trans et cis), qui est le principal stilbène chez la vigne, ou encore sous leur forme glycosylée (picéides), ou méthylée (ptérostilbènes). Le resvératrol peut également former des oligomères, tels que les viniférines (Khater, 2011) (Figure 25).

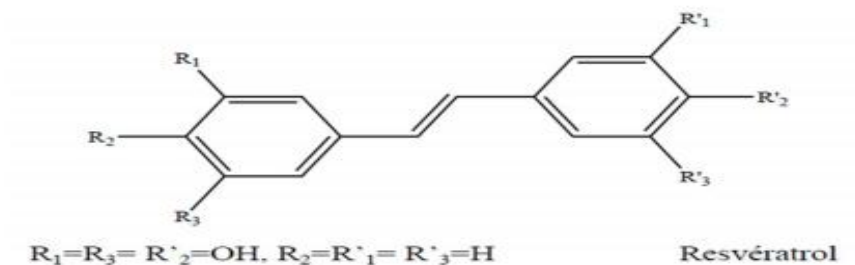


Figure 25 : structure d'une stilbene.

3.1.4. Biosynthèse des poly phénols :

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

3.1.4.1. La voie de l'acide shikimique :

Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement. Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés. Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. En effet, ces deux acides aminés sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique (Akroum, 2011).

3.1.4.2. La voie de l'acide malonique

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes poly-cétoniques obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Akroum, 2011).

3.1.5. Localisation et rôles biologique des poly-phénols:

3.1.5.1. Localisation des poly-phénols

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les poly-phénols sont conjugués avec des sucres ou des acides organiques ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales. Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique où elles sont organisées en métabolons. D'autres organites du cytoplasme, comme des vésicules golgiennes ou des chloroplastes, peuvent participer à la biosynthèse des composés phénoliques mais ce ne sont pas des lieux d'accumulation (Macheix *et al*, 2005).

Au sein des même feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme (Tomas et Espin., 2001; Cheynier et Sarni., 2006).

3.1.5.2. Rôles des composés phénoliques

Les (CP) peuvent en effet intervenir dans :

- Participer dans les activités antioxydantes, anti-carcérogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, antibactériennes, antivirales (Babar Ali et al., 2007), anti-allergiques, vasodilatateurs (Falleh et al., 2008).
- Les flavonoïdes permettent par exemple la mise en place de la symbiose entre les Fabacées et les bactéries, ce qui permet à ces plantes de fixer directement l'azote atmosphérique.
- Les flavonoïdes ont un rôle de filtre contre le rayonnement UV ce qui explique leur localisation dans les tissus externes (Gould et Lister., 2006).
- Les flavonoïdes comme les dérivées hydroxycinnamiques jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux stress environnementaux (Walton et Brown., 1999).
- Les phénols sont associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation, fertilité, pigmentation et la signalisation (Macheix *et al.*, 2005).
- Protection contre des agents biotiques et abiotiques car les cellules végétales répondent aux stimuli environnementaux en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression (Fleuriet et Macheix., 1990; Brouillard *et al.*, 1997).
- Lutte contre l'ostéoporose, une action bénéfique sur le diabète et l'hypertension (Franz et al., 2003 ; Saleh et saleh., 2011).
- Prévention des polyphénols contre la maladie d'Alzheimer et d'autres maladies neurodégénératives (Benlemlih, 2012).
- Le tyrosol et l'hydroxytyrosol peuvent augmenter la production des mitochondries dans la cellule, aussi induire plusieurs protéines reliées à la longévité (antivieillessement) des cellules cardiaques (Benlemlih, 2012).
- Les lignanes inhibent la croissance des cellules cancéreuses du sein, de la peau, du colon et de poumon (Kardono *et al.*, 1990 ; Von Holtz *et al.*, 1998).
- L'oleuropéine et l'hydroxytyrosol sont des agents utiles pour inhiber la fusion et l'intégration du VIH (SIDA) dans les cellules humaines (Benlemlih, 2012).

- Rôle dans les critères de qualité nutritionnelle (couleur, astringence, amertume) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation vers les organes végétaux et des produits qui en dérivent par transformation.
- Rôle dans la variation de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées ...etc) (Fleuriet et Macheix., 1990; Lattanzio *et al.* , 1994).

3.1.6. Les facteurs influençant la composition en substance phénolique

La composition en poly-phenol est déterminée par les facteurs génétiques et biologiques dont la quantité varie sur une large gamme de 50 à 1000 mg/kg mais les teneurs usuelles sont comprises entre 100 et 300 mg/kg (Dimitrios, 2006). Parmi les facteurs externes qui influencent également sur ses composés nous avons :

3.1.6.1. Facteurs agronomiques

Les conditions agricoles jouent un rôle important dans la détermination de ces concentrations à titre d'exemple : le site de culture, le type cultivar (Cheikhousma *et al.*, 2005), le degré de maturation (la quantité des PP diminue habituellement au stade avancé de maturation des olives) (Visioli *et al.*, 2002 ; Tripoli *et al.*, 2005), les pratiques agricoles appliquées (fertilisation, irrigation) (Gallina, 2005 ; Damak *et al.*, 2008) .

3.1.6.2. Facteurs environnementaux

Les composés phénoliques interviennent dans de nombreux phénomènes pour permettre à la plante de s'adapter à son milieu et les conditions climatiques agissent de manière très significative sur les concentrations phénoliques (Medina, 2007).

-Lumière : elle agit de façon quantitative et qualitative est corrélée à une augmentation des teneurs en composés phénoliques et plus particulièrement de flavonoïdes dans les tissus (Hireche, 2013).

-Température : elle peut modifier les teneurs en poly-phénols chez les fruits pendant la phase de croissance mais également après la récolte. Pour certaines plantes, un stress thermique semblerait apparaître à partir de 35°C, causant l'accumulation de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides hydroxycinnamiques (Hireche, 2013).

3.1.7. Méthodes d'extraction et d'analyse des composés phénoliques

3.1.7.1. Méthodes d'extraction

L'extraction des CP est une procédure assez difficile en raison de leur grande diversité structurale ainsi que leur sensibilité aux modifications chimiques sous l'effet de la température, l'air et la lumière, et aux modifications enzymatiques (Naczki et Shahidi., 2004).

En générale les différentes étapes d'extraction, de caractérisation et de dosage sont valable pour la majorité des CP mais parfois il devra être modifié pour être mieux adapté à leur nature chimique, solubilité et leur degré de liaison avec d'autres constituants végétaux (Macheix *et al*., 2005).

➤ L'extraction par solvant

L'extraction par solvant est une technique très utilisée pour la séparation d'un produit provenant d'un mélange obtenu en fin de réaction chimique ou pour isoler une espèce chimique à partir d'un mélange d'espèces naturelles. Mompon et ses collaborateurs. 1998, ont préconisé deux modes d'extraction, l'extraction liquide-liquide et l'extraction solide-liquide.

Au cours de l'extraction liquide-liquide, il s'agit principalement d'interaction moléculaire entre le solvant et le soluté par contre l'extraction solide-liquide met en jeu des mécanismes plus complexes et moins bien connus. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion. Le contact entre le solvant (liquide) et la matière végétale (solide) a pour but de libérer les poly-phénols à partir des structures vacuolaires et leur diffusion vers le milieu d'extraction après rupture du tissu végétal (Owen et Johns., 1999). L'extraction par solvant organique offre un bon rendement en CP, mais leur grande utilisation posera des problèmes de santé publique.

➤ L'extraction en phase solide

L'extraction en phase solide (SPE) est employée pour extraire et concentrer des analytes à partir d'une matrice liquide en divisant les composés entre une phase solide et liquide. C'est une technique simple, rapide et économique et réduit significativement le volume de solvant utilisé (Bendini *et al.*, 2003).

➤ L'extraction ultrasonique

Les méthodes d'extractions ultrasoniques ont été employées pour un grand nombre de matière végétale (Priego *et al.*, 2004 ; Usaquen *et al.*, 2006). Elles tirent ses avantages de la haute température qui (augmente la solubilité et la diffusion) et de pression (qui favorise le transport et la pénétration) appliquées à l'interface entre la solution de solvant qui est soumise à l'énergie ultrasonique et une matrice solide. Cette méthode a été décrite afin d'accélérer l'extraction des CP des feuilles d'olivier (Japon *et al.*, 2006).

➤ L'extraction assistée par micro-ondes

L'extraction par solvant assistée par micro-ondes (MAE) consiste à chauffer le solvant ayant une bonne polarité en contact avec l'échantillon au moyen de l'énergie des micro-ondes qui augmente la pénétration du solvant dans la matrice, permettant ainsi la dissolution des composés à extraire (Letellier et Budzinski., 1999 ; Hudaib *et al.*, 2003).

La MAE comparée à l'extraction par solvant seul, offre beaucoup d'avantages comme réduction du temps d'extraction, utilisation plus faible de solvant et une plus grande efficacité d'extraction (Tsao et Deng., 2004 ; Martha, 2008).

➤ L'extraction liquide sous pression

L'extraction liquide sous pression (PLE) fonctionne suivant le principe de l'extraction avec des liquides surchauffés et à de hautes pressions. Ceci augmente la solubilité et la diffusion de l'analyte dans le solvant et conduit à la rupture des interactions entre la matrice et le soluté à extraire, accélérant ainsi le processus d'extraction avec moins de risque de réaction de photo oxydation vue quelle se fait à labri de la lumière (Japon *et al.*, 2006).

3.1.7.2. Méthodes de quantification

Il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante l'ensemble des CP présents dans un extrait végétal non purifiée. Néanmoins, une estimation rapide de la teneur en phénols totaux peut être obtenue par différentes méthodes comme :

➤ La méthode colorimétrique

La méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est très sensible mais peu spécifique car beaucoup d'autres composés réducteurs peuvent interférer, en particulier l'acide ascorbique. Lorsqu'un CP est très fortement majoritaire dans un matériel végétal donné on peut avoir une estimation approximative rapide de la teneur du matériel à partir du spectre d'absorption (UV ou visible) car tous les CP végétaux absorbent à partir de ses derniers.

➤ Méthodes chromatographiques

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est de très loin, la technique la plus appliquée pour la séparation et la quantification des CP comme en témoignent les excellentes séparations sur couche mince ou sur colonne déjà obtenues depuis plus de 20 ans (Naczka *et al.*, 2004 ; Roginsky et Lissi., 2005).

La résonance magnétique nucléaire (RMN) permet d'accéder qualitativement aux structures des molécules et à leur environnement physico chimique sans dégrader l'échantillon étudié par la possibilité de faire résonner différents noyaux dans un champ magnétique (Alonso *et al.*, 2010).

➤ Electrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire (EC) est une méthode analytique sensible, rapide et de haute résolution qui demande de très faibles quantités d'échantillons mais aussi des volumes de solvants réduits (Bendini *et al.*, 2003 ; Carrasco *et al.*, 2006).

➤ Méthodes couplées

Le couplage de différentes techniques à divers détecteurs comme la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) est recommandé pour l'identification de certains CP car elle permet l'analyse complète de leurs structures,

déterminer leurs masses moléculaires et pour établir la distribution des substituant sur le (s) noyau(x) phénolique(s) (Proestos *et al.*, 2006). La chromatographie gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (GC, MS) donne aussi des résultats très satisfaisants (Liberatore *et al.*, 2001 ; Saitta *et al.*, 2002).

3.1.8. Paramètres influençant l'extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques dépend du type de solvant, la nature et la préparation de matériel d'extraction, la structure chimique des composés phénolique, la température, le temps d'extraction, le rapport solide-liquide et la méthode d'extraction utilisée.

➤ Effet de la température

Dans la plupart des cas, l'élévation de la température permet en générale l'accroissement de la solubilité, la diffusion du soluté et de diminuer la viscosité de la solution (Ben amor,2014). Et ceci pour les raisons suivantes :

-La chaleur facilite l'extraction en rendant les parois cellulaires perméables par dénaturation.

- Les hautes températures augmentent la solubilité des matières à extraire.

-Le solvant d'extraction devient moins visqueux ce qui facilite son passage à travers la masse de substrat solide ainsi que les opérations ultérieures de séparation. La limite maximale de la température est imposée par le point d'ébullition du solvant pour éviter le risque de dommage thermique du soluté et extraire les composés nuisibles (Ben amor, 2014).

➤ Effet du temps d'extraction

Les quantités de substances extraites sont en fonction du temps de séjour du matériel dans le solvant car cela permet à ce dernier de se pénétrer à l'intérieure des vacuoles et puis la dissolution des composé ...etc. En générale en augmentant la température avec agitation moléculaire cela permet de diminuer le temps de contact sans diminution notable du rendement (Hamsi, 2013).

➤ Effet de taille des particules

Il est généralement connu que la matière végétale présente une plus grande surface de contact avec le solvant quand elle est sous une forme broyée, lui permettant ainsi d'accélérer la

cinétique et d'améliorer le rendement (Bonnaillie *et al.*, 2012). La diffusion interne est plus rapide lorsqu'on utilise des particules fines. Cependant, les particules de taille très fine posent des difficultés technologiques comme : tassement du lit de solides provoquant une diminution de sa perméabilité au solvant ce qui aboutit à la formation des courants préférentiels et de zones où le solvant ne circule pas par conséquent difficulté de séparer les particules très fines de l'extrait liquide après la fin de l'extraction (D'alessandro,2013) .

➤ Effet de l'agitation

L'agitation a un effet certain sur la diffusion moléculaire puisqu'elle garde les particules en suspension et homogénéisant le milieu, elle réduit également la résistance de transfert des solutés (coefficient de transfert augmenté) (Rajha, 2015).

➤ Effet du soluté

La nature et l'état physique du soluté ont une grande importance car ils déterminent le mécanisme de transfert de matière. Le soluté contenu dans ces corps est soit un solide, soit un liquide, stable ou non à la chaleur ou à l'atmosphère. Si le soluté est dispersé régulièrement dans le solide, les parties superficielles sont dissoutes en laissant derrière elles un solide poreux. Le solvant doit d'abord pénétrer la couche extérieure avant d'atteindre le soluté situé en profondeur ce qui rend le chemin du solvant de plus en plus difficile qui se traduit par une diminution de la vitesse d'extraction (Bousbia, 2011).

Le soluté à extraire contenu dans le corps solide influence significativement la vitesse d'extraction selon : sa taille, sa localisation, sa répartition et ses liaisons dans la matière végétale avec d'autres composés. La vitesse de diffusion est inversement proportionnelle à la taille des particules du soluté (elle diminue quand la taille de ces dernières augmente et vis versa) (Poirot, 2007 ; Tinamri et Lagmi., 2014).

➤ Effet du solvant

Le solvant est un fluide capable de solubiliser d'autres substances conduisant à une solution homogène, il est choisi par apport :

- ses propriétés physiques (densité, viscosité, point d'ébullition, chaleur spécifique... etc.), déterminant les conditions de son (épauement, vitesse d'écoulement, filtration, pertes par volatilisation... etc.).
- la nature des principes à dissoudre (liquide ou solide) et il doit pouvoir extraire les composés polaires et apolaires ou bien être sélectif (Bousbia, 2011).
- ses caractéristiques économiques (peux couteux) et son prix de revient (Cuong, 2010).
- Il doit être stable (non réactif), non toxique, non inflammable, inoffensif pour l'environnement (Poirot, 2007).

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

1. 1. Matériel végétale

Les fruits d'olivier étudiés proviennent de la variété « Bouchouk », récoltés dans le verger de la collection variétale de l'institut technique d'arboriculture fruitière et de la vigne (I.T.A.F-V) de Sidi-Aich (Bejaia, Algérie), durant la journée du 8 septembre 2019.

Les olives à maturité vertes ont été cueillies à la main, afin d'éviter les blessures causées par le gaulage. Pour réaliser un échantillonnage homogène, la cueillette a été effectuée en se déplaçant d'une manière régulière autour de l'arbre. Les olives ont été nettoyées et débarrassées des feuilles, poussières et pédoncules ; puis séchées à l'aide d'un lyophilisateur dans le but d'éliminer l'humidité et pour limiter le temps de séchage et toutes altérations dues au contact avec l'air et la lumière. Afin d'accélérer la lyophilisation nous avons laissé les échantillons dans de très basse températures -80°C pendant 12 heures. La durée de temps de la lyophilisation a été de 24 heures. Le broyage des olives séchées a été réalisé avec un moulin électrique à lames aiguisées afin d'obtenir une fine poudre de calibre inférieur de 0,5mm de diamètre, qui va nous faciliter l'extraction de la fraction polaire. Enfin la poudre est conservée dans des tubes adaptés, bien fermés à l'abri de la lumière et de l'humidité pour éviter toute détérioration de l'échantillon.

1.2.Préparation des extraits

L'extraction solide liquide est une opération de transfert de matière entre une phase solide (qui contient la matière à extraire) et une phase liquide (solvants d'extraction) (Harzi, 2013). Cette étape consiste à extraire le maximum des molécules phénoliques contenues dans la pulpe d'olive en utilisant différents mélanges et concentrations de solvants (Eau, éthanol (Eth) et méthanol (Méth)) qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

Pour extraire les composés phénoliques nous avons préparé dans un erlenmeyer quatre solutions différentes par rapport au type et volume de solvants utilisés:

- Première solution : Mélange Méthanol/ Eau (70/30 ; v:v)
- Deuxième solution : Mélange Méthanol/ Eau (50/50 ; v:v)
- Troisième solution : Mélange Ethanol/ Eau (70/30 ; v:v)
- Quatrième solution : Mélange Ethanol/ Eau (50/50 ; v:v)

Matériel et méthodes

Nous avons pesé 0,5g d'échantillons de pulpe d'olive et puis ces derniers ont été mélangés avec 10 ml de chaque mélange de solvants préparés précédemment, afin d'obtenir quatre solutions différentes. L'extraction de la fraction phénolique et chlorophyllienne a été effectuée par deux procédés d'extraction différents. La méthode conventionnelle est basée sur le principe de l'agitation et l'autre plus moderne qui consiste à une extraction par l'Ultrason. Le temps d'extraction a été de 10 min pour chaque technique. Ensuite, tous les échantillons ont subi une centrifugation pendant 10 min avec une vitesse de 5000 tours/min. Les échantillons ont été laissés reposer 15 min dans le but de faciliter la séparation des phases (solide et liquide), puis la phase liquide a été prélevée et transférée dans des tubes à essai. Enfin, les extraits phénoliques ont été conservés à l'abri de la lumière et à température de 4°C, jusqu'à l'utilisation. La figure 26 comprend les étapes suivies pour la préparation des extraits :

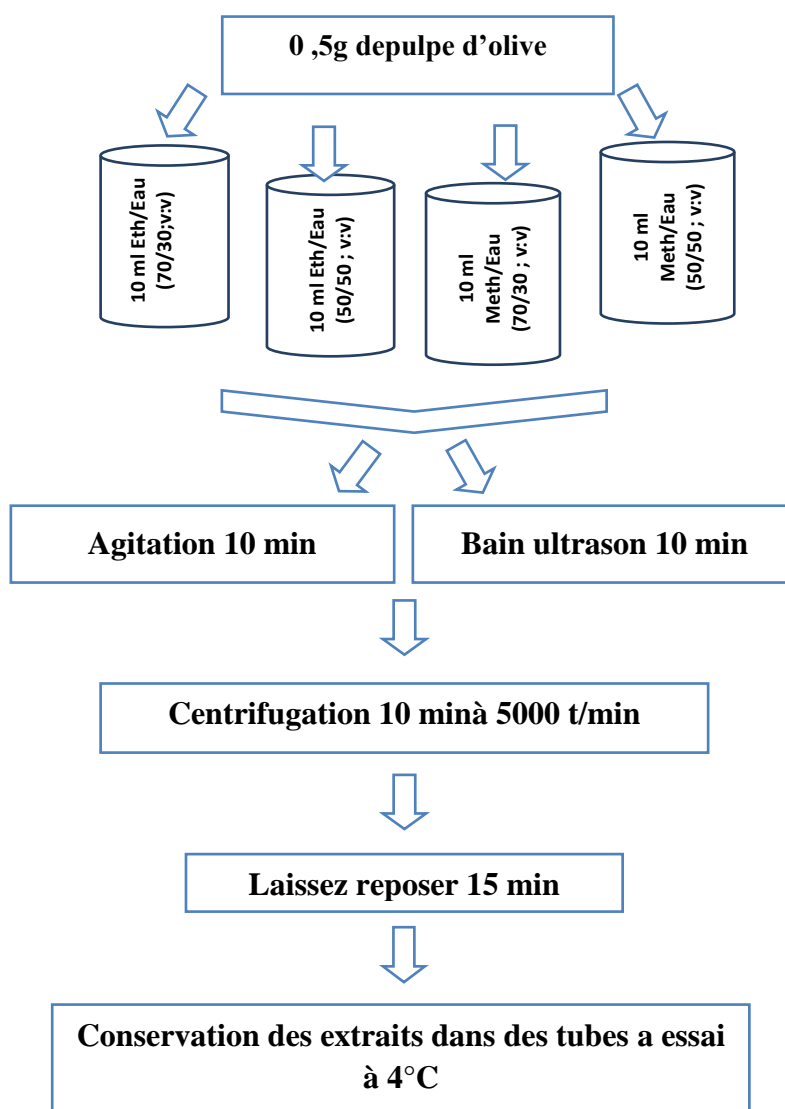


Figure 26: Schéma synthétisant les différentes étapes d'extraction des composés phénoliques à partir de la pulpe d'olive.

1.3. Extraction et dosage

1.3.1. Phénols totaux

La détermination de la teneur en phénols totaux est effectuée selon la méthode décrite par Singleton et Rossi. (1965). Brièvement, 0.5 ml d'extrait de pulpe est mélangé avec 2.5 ml de folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau distillée). Les mélanges ont été laissés 8 min à température ambiante et à l'abri de la lumière, puis 2ml de Na_2CO_3 (3.75g de Na_2CO_3 /50ml d'eau distillée) sont ajoutées. Les solutions ont été incubées dans un bain-marie à 50° C pendant 8 min. Après refroidissement, une lecture de densité optique à 760 nm est effectuée.

Une courbe d'étalonnage a été effectuée avec différentes concentrations d'acide gallique (0, 2, 4, 6, 8 et 10 mg/g), réalisée avec les mêmes étapes de la préparation des extraits. Les résultats de la teneur en phénols totaux sont exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mgEAG /g ES) (Figure 27).

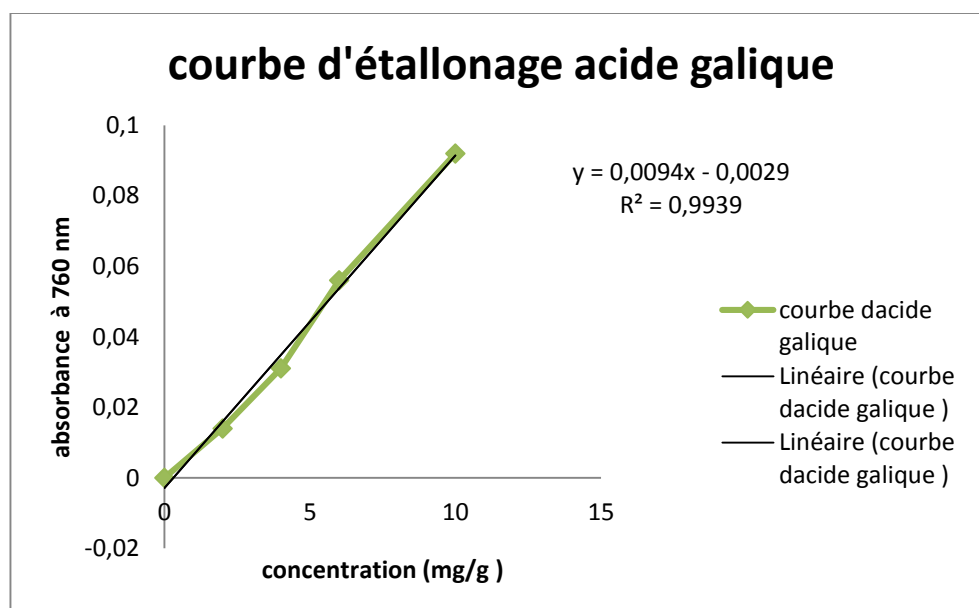


Figure 27: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux(mg/g).

1.3.2. Ortho-Diphénols

La teneur en ortho-diphénols a été évaluée en utilisant la méthode proposée par Bendiniet *al.* (2007). Brièvement, le protocole de dosage des Ortho-diphénols consiste à mélanger 0.3 ml d'extrait avec 20 ml du mélange méthanol /eau (70/30 ; v:v). Puis, on ajoute 4 ml de molybdate de sodium Na_2MoO_4 (5g de molybdate dans 150 Méth /Eau). On laisse la solution à l'obscurité pendant 8 min. Une lecture de densité optique a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible 9200 à une longueur d'onde de 370 nm.

Les concentrations en ortho-diphénols des échantillons ont été calculées à partir d'une courbe d'étalonnage de Tyrosol (0, 2, 4, 6, 8 et 10 mg /g). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de Tyrosol par gramme d'extrait sec (mg ET/g ES) (Figure 28).

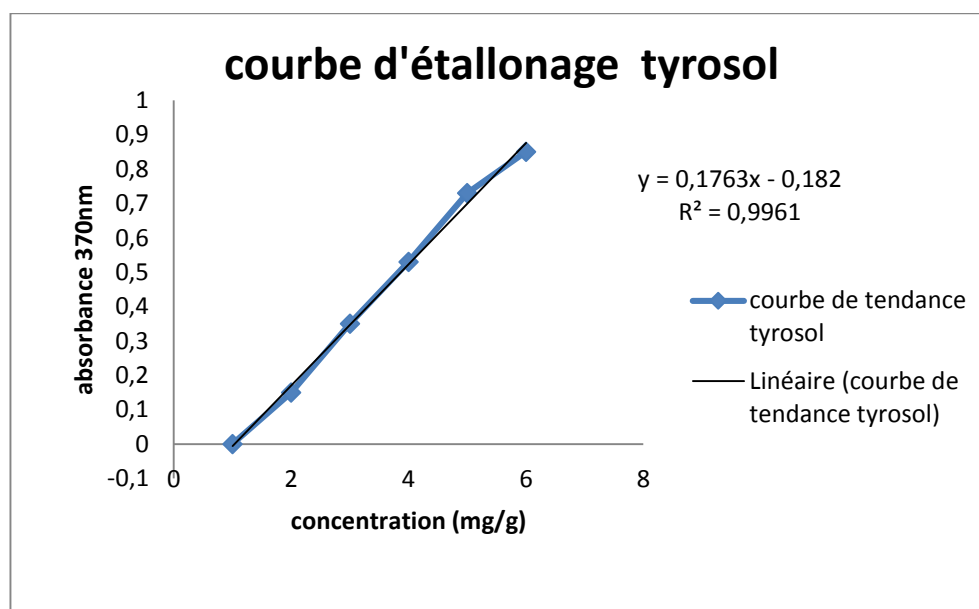


Figure 28 : Courbe d'étalonnage de Tyrosol pour le dosage des ortho-diphénols (mg/g).

1.3.3. Flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été réalisée par une méthode utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude, proposé par Zhishen *et al.* (1999).

Un volume de 0.125 ml d'extrait est mélangés avec 1.375ml d'eau distillée et 75 μl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2). On ajoute 150 μl de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10%, après 6 min d'incubation à température ambiante, on a rajouté 0.5 ml de sodium hydroxyde (NaOH) aux différents tubes. Le volume final a été complété avec 275 μl d'eau distillée. Les solutions ont été agitées vigoureusement afin d'homogénéiser le contenu, puis laissez reposer pendant 10 min. L'absorbance est mesurée à 510nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV 9200.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme contrôle positive à différentes concentration (0,2, 4, 6, 8 et 10 mg/g).

Les résultats de la teneur en flavonoïde sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mgEQ /g ES) (Figure 29).

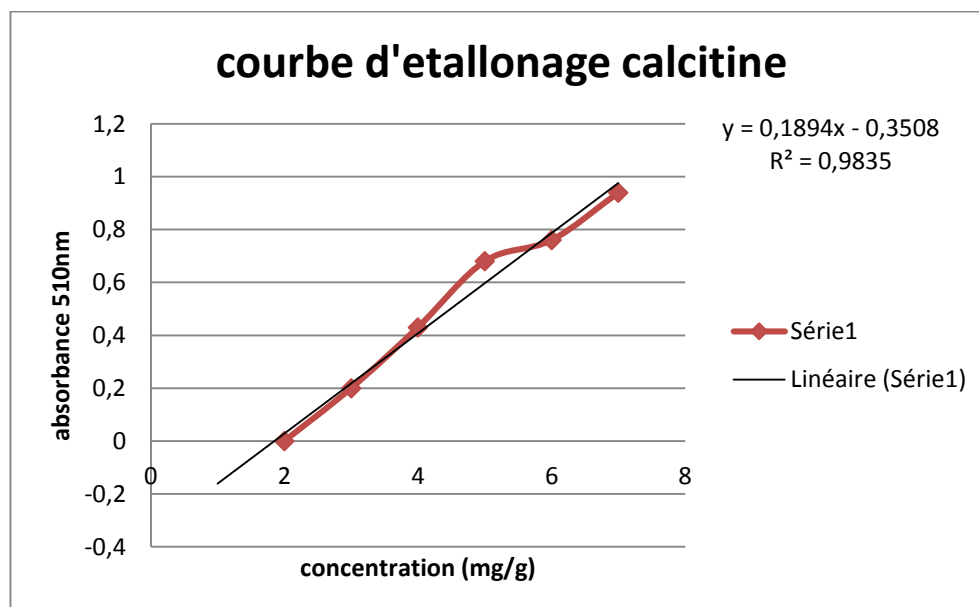


Figure 29 : Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes(mg/g).

1.3.4. Dosage des pigments chlorophylles

Le dosage des différents types de chlorophylles a été directement fait à partir des extraits en lisant leurs absorbances dans le spectrophotomètre à la longueur d'onde 642 nm pour la Chlorophylle (a) et 660 nm pour la chlorophylle (b), toutes les mesures sont refaites trois (03) fois. Puis nous avons fait le calcul à l'aide des formules ci-dessous décrites par Allaloutet *al.* (2009).

$$\text{Chlorophylle a} = 9,93 * A_{660 \text{ nm}} - 0,777 * A_{642,5 \text{ nm}}$$

$$\text{Chlorophylle b} = 17,6 * A_{642,5 \text{ nm}} - 2,81 * A_{660 \text{ nm}}$$

$$\text{Total chlorophylle} = 7,12 * A_{660 \text{ nm}} + 16,8 * A_{642,5 \text{ nm}}$$

Où :

A_{642,5} : l'absorbance de l'échantillon à 660 nm.

A₆₆₀ : l'absorbance de l'échantillon à 642,5 nm.

1. 4. Analyse statistique

Chaque analyse a été réalisée en triplicata. Les données obtenues ont été présentés sous forme de moyenne et écart types dans les différentes figures illustrés (partie résultats est discussion). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel statistique Minitab, version 19 (Minitab software, USA). Afin de comparer les résultats obtenus et mettre en évidence les différences significatives existantes entre les échantillons, et cela pour chaque paramètre, nous avons appliqué une analyse de la variance ANOVA, et le test de comparaison multiple « Tukey » afin de déterminer les différents groupes homogènes:

- P > 0,05 différences non significatives entre les échantillons.
- P < 0,05 différence significative entre les échantillons.
- P < 0,025 différences hautement significatives entre les échantillons.

2. Résultats et discussion

2. Résultats et discussion

2.1. Taux des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenu au niveau de l'extrait.

Les méthodes colorimétriques ont été utilisées pour évaluer la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale. La technique d'extraction et le choix du solvant utilisé sont les principaux critères à prendre en considération pour une extraction rentable (Turkmen *et al.*, 2007).

La concentration en PT est déterminée et les résultats obtenus sont représentés dans la (Figure 30).

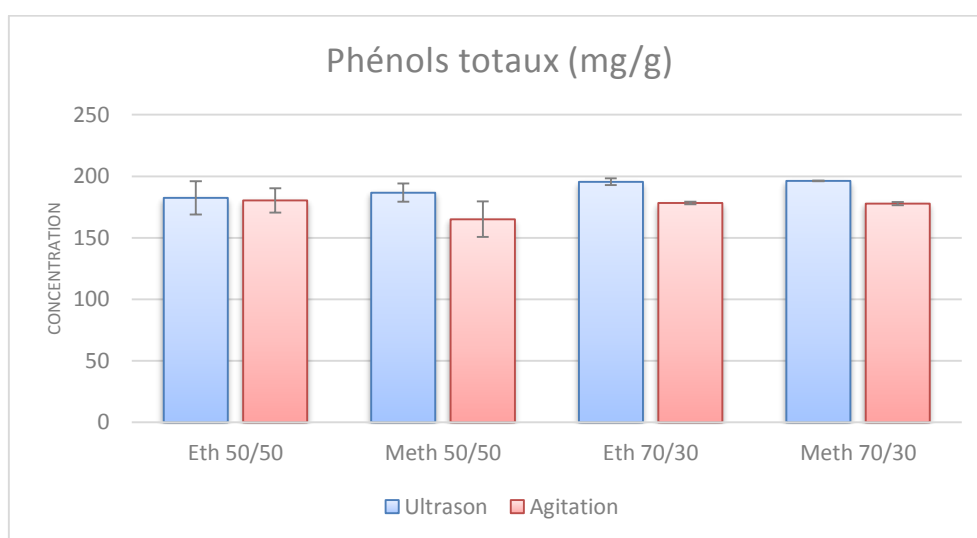


Figure 30 : Teneurs en phénols totaux des différents extraits de pulpe olive (mg EAG /g ES).

La différence entre les teneurs en PT en fonction de la technique d'extraction employé est hautement significative ($p < 0,025$). L'ultrason a donné des rendements plus élevée de 196,22 mg/g contre 180,39 mg/g pour l'agitation, cela peut être due : aux effets mécaniques des ultrasons, qui ont induit une plus grande pénétration du solvant dans les matériaux cellulaires et améliorent le transfert de masse. Les ultrasons dans l'extraction peuvent également perturber les parois cellulaires, facilitant la libération de leur contenu. Par conséquent, l'efficacité de rupture des cellules et du transfert de masse sont cités en tant que

Résultats et discussion

deux facteurs principaux menant aux bonnes performances de l'extraction avec la puissance ultrasonique (Mason *et al.*, 1996).

D'après les résultats nous avons remarqué que la teneur en PT est plus importante dans les extraits plus concentrés en solvants (70/30 ; v : v) par rapport aux extraits les moins concentrés en solvant (50/50 ; v : v). Par ailleurs, les extraits éthanoliques enregistrent les teneurs en phénols totaux les plus élevées de 196,22 mg/g MS. D'après (Rajha, 2015) l'extraction des composés phénoliques s'améliore avec l'augmentation du ratio liquide/ solide puisqu'il agit sur le gradient de concentration entre la matrice végétale et le solvant qui favorise le transfert de matière.

Les travaux conduits par Mulinacci *et al.* (2004) confirment nos résultats en indiquant que l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des phénols totaux. L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des phénols par modulation de la polarité du solvant organique (Mohammedi *et al.*, 2011).

Aussi cette augmentation est peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses comme elle peut être causé par l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des phénols dans de telles solutions (Katalinic *et al.*, 2010).

En ce qui concerne les PT des olives, les meilleures valeurs trouvées se situent entre 187-196 mg/g et ils sont très faibles par rapport à celle apportée par Silva *et al.* (2006) qui varie entre 13,9-30g/kg et de celle trouvée par Owen *et al.* (2004) (4,48g/kg).

La différence entre les valeurs trouvées et celles apportées par la bibliographie peut être expliquée par la nature du matériel de démarrage, la méthode d'extraction, volume et de la polarité du solvant adaptée qui détermine la quantité, la qualité des composés phénoliques extraits et de la classe des phénols dans le matériel végétal (Sineiro *et al.*, 2008).

En plus, la variation de la teneur en PT est abondamment dépendante de plusieurs facteurs : la variété, degré de maturation (Boudhrioua *et al.*, 2008), des conditions géographiques, climatiques (Mylonaki *et al.*, 2008), de l'état physiologique et l'âge de la plante (Deleonardis *et al.*, 2008).

Résultats et discussion

2.2. Taux des Ortho-diphénols

La concentration des extraits en Ortho-diphénols sont représentés dans la (Figure 31).

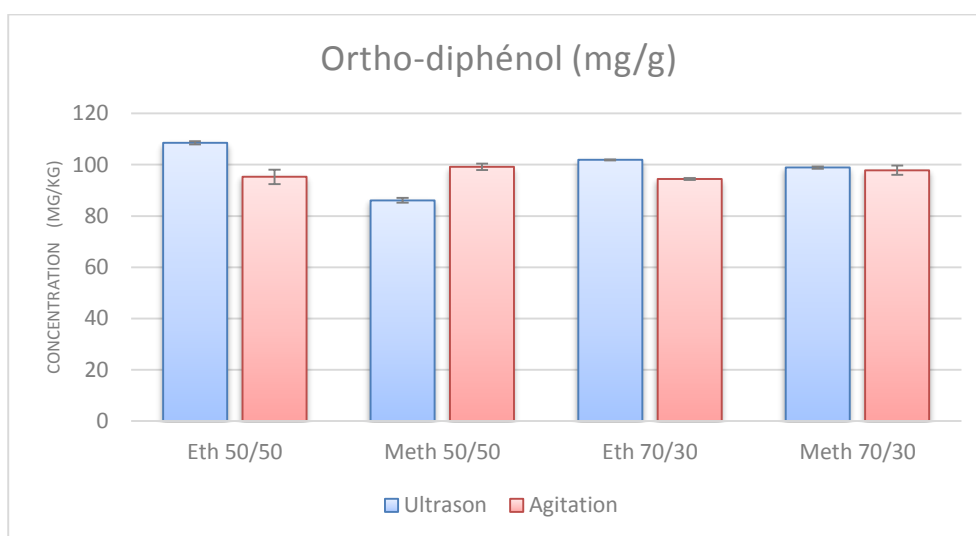


Figure 31 : Teneurs en *ortho*-diphénols des différents extraits (mg ET/g ES).

L'extraction par ultrason a enregistré des teneurs en ortho -diphénols les plus élevées de 108,6 mg /g comparant à celle marquée en appliquant l'extraction par agitation, donnant une teneur maximale de 99,17mg/g. D'après ses résultats nous avons constaté que la technique ultrasonique est préférable pour l'extraction de ses composés.

Par ailleurs, Les rendements d'extraction diffèrent significativement en fonction du type du solvant ($p < 0,025$). En comparant les résultats obtenus avec les deux solvants à différentes concentrations, il est évident que l'éthanol montre un pouvoir d'extraction plus favorable que celui du méthanol. Ceci peut être justifié par le fait que l'éthanol a une plus grande affinité pour l'eau.

L'action alcoolisée de l'éthanol, provoque certaines dégradations au sein des matières végétales portant notamment sur la rupture des ponts éther des molécules phénoliques (Schultz et Ambroscheit., 1989). De plus la solubilité de l'eau et sa polarité seront plus particulièrement déterminantes pour prévoir le pouvoir du solvant vis-à-vis des composés hydrophiles dans un milieu hydrophile. Le méthanol étant beaucoup plus nocif, il nous reste à constater que dans les limites de la gamme considérée des solvants, le choix à préférer est le mélange éthanol –eau en proportion volumique (50/50 ; v : v).

2.3. Taux de Flavonoïdes

La principale raison pour laquelle on a choisi cette classe de polyphénols réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe poly-phénolique la plus importante avec plus de 5000 composés déjà décrite (Gomez, 2006).

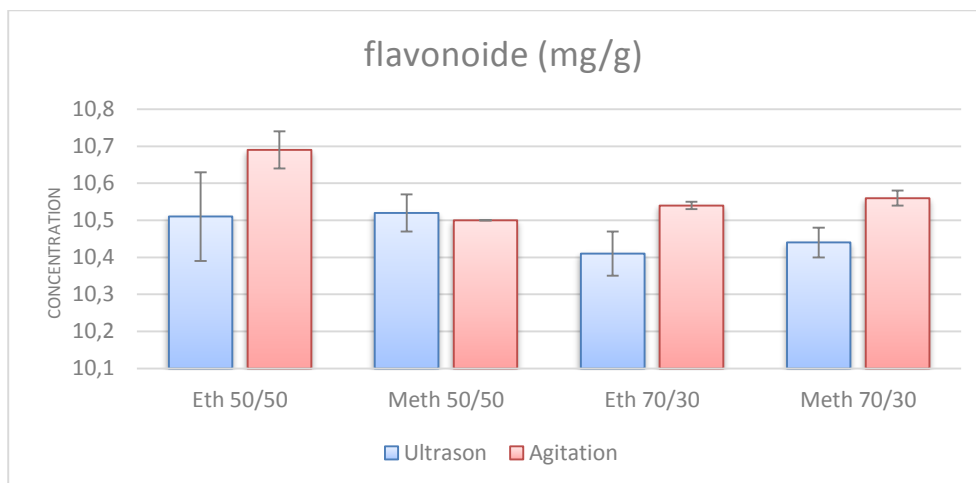


Figure 32 : Teneurs en flavonoïde des différents extraits (mg EQ /g ES).

D'après les résultats des extraits illustrés dans la (figure 32) nous avons déduit que l'agitation est beaucoup plus efficace pour extraire les flavonoïdes avec un rendement maximum de 10,69 mg/g contre un rendement maximum de 10,52 mg/g pour l'ultrason. On peut expliquer cette différence par le fait que l'agitation mécanique des particules dans le solvant permet leur maintien en suspension et de manière homogène ce qui présente un effet toujours favorable sur l'opération et dans le cas de l'extraction aqueuse, l'agitation permet aussi de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide liquide (couche limite) et d'augmenter le coefficient de transfert (Leybros et Frémeaux ., 1990).

En ce qui concerne le solvant d'extraction, quel que soit la méthode employée, l'éthanol mélangé avec de l'eau distillée à (50/50 ;v :v) a donné les meilleures teneurs .Selon (Jokic *et al.*,2010) l'éthanol reste le meilleur extracteur des flavonoïdes grâce à sa polarité de plus il a l'avantage d'être non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants comme le méthanol .

Comme il ressort de notre travail qu'en comparant les résultats obtenus pour les phénols totaux et ortho-diphénols qui sont très importants à ceux obtenus avec les flavonoïdes, que ces derniers sont difficilement hydrosolubles par conséquent la combinaison entre l'eau et le

Résultats et discussion

solvant organique utilisé nous a permis d'extraire une fraction un peu plus riche en ses composés.

2.4. Taux de Pigments chlorophylliens

Le fruit de l'olivier (olive) est riche en pigments chlorophylliens essentiellement : la chlorophylle a et b, lutéine, β -carotène, anthéroxanthine, violaxanthine et neoxantine et pendant le processus d'extraction de l'huile d'olive ses derniers se transforme en : phéophytine a et b, lutéoxanthine, auroxanthine et mutatoxanthine qui sont responsable de la couleur verdâtre de l'huile d'olive (Criado *et al.*, 2007).

Au cours de la maturation des olives, la teneur en chlorophylle diminue suite à leur dégradation par les lipooxygénases, les peroxydases ou les chlorophyllases (Gandul et Minguez., 1996). Selon Garcia *et al.* (1996), ces pigments sont remplacés par les anthocyanes.

2.4.1. Chlorophylle a

La chlorophylle (a) est la principale forme de chlorophylle présente chez les organismes qui mettent en œuvre la photosynthèse. Ce pigment présente en milieu aqueux deux maximums absorptions spectrales (440-660nm), les valeurs exactes varient en fonction de la composition du solvant (Jokic *et al.*,2010).

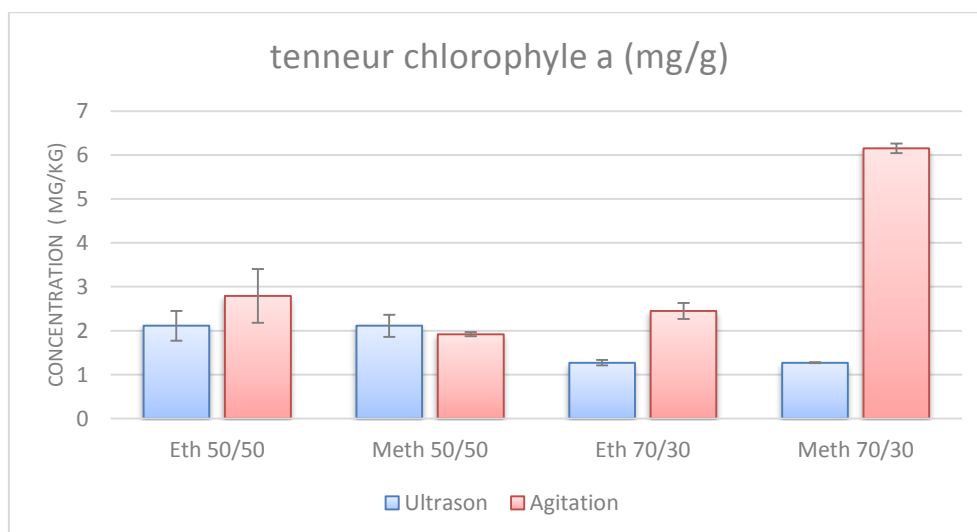


Figure 33 : Teneurs en chlorophylles (a) des différents extraits (mg/g).

Résultats et discussion

La teneur des extraits en chlorophylle (a) présenté dans l'histogramme (figure 33) nous montre une différence significative ($P < 0,025$) concernant les deux méthodes d'extraction. L'agitation a donné les plus grandes teneurs comprises entre 2,37 et 7,38 mg/g contre la méthode ultrasonique qui a donné des faibles teneurs comprises entre 1,53 et 2,44 mg/g.

En ce qui concerne le solvant d'extraction, on constate que quel que soit le mode d'extraction, le méthanol est le meilleur extracteur des chlorophylles (a). Les résultats obtenus par Abaza *et al.* (2011) ont confirmé que le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire la fraction chlorophylliennes.

2.4.2. Chlorophylle b

La chlorophylle (b) est une forme de pigment de couleur jaune qui absorbe essentiellement la couleur bleu et qui est d'avantage soluble en milieu aqueux de la chlorophylle (a) en raison de son groupe carbonyle (Jokic *et al.*,2010).

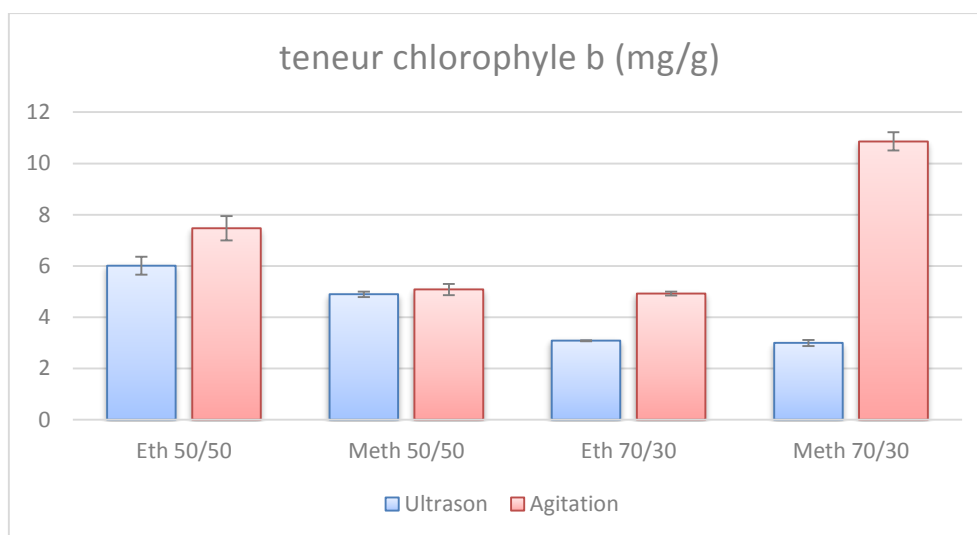


Figure 34 : Teneurs en chlorophylles (b) des différents extraits (mg/g).

L'analyse des résultats de la teneur en chlorophylle b consigné dans la (figure 34) révèle que l'agitation est plus efficace pour l'extraction de ses pigments d'un rendement maximum de (10,86 mg/kg) que celle d'ultrason (6,01 mg/kg).

Résultats et discussion

Quel que soit le mode d'extraction, les extraits méthanoïques mélangés avec de l'eau ont enregistré les teneurs les plus élevées en chlorophylle (b).

Concernant les mélanges solvant (méthanol /eau), on remarque que la solution la plus concentré en méthanol (70 /30 ; v : v) à donner un rendement en chlorophylle (b) plus élevé que celui de la concentration (50/50 ; v : v).

2.4.3. Totale chlorophylle

La figure 35 représente les teneurs en totale chlorophylle, exprimées en milligramme par gramme (mg/g), pour les huit (8) échantillons de pulpe d'olive variété « Bouchouk ».

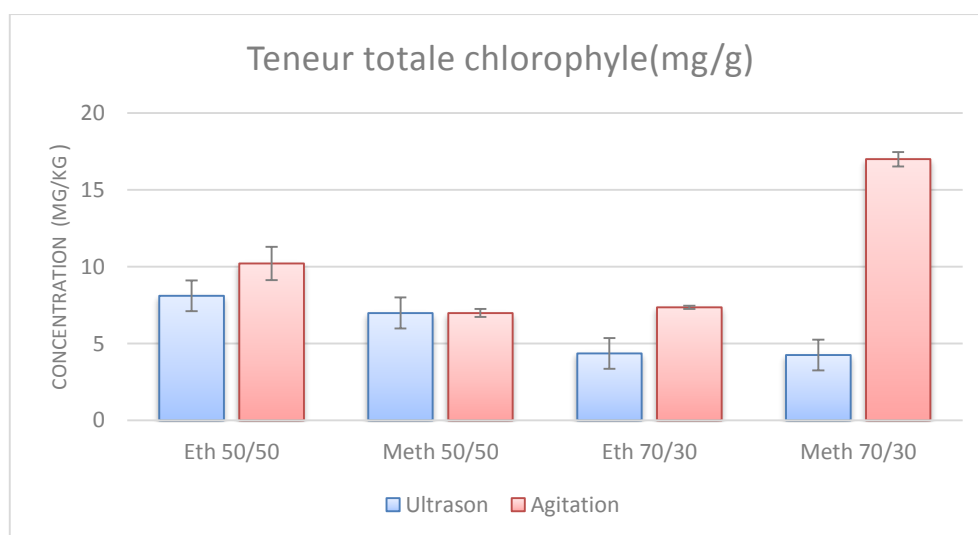


Figure 35 : Teneurs en totale chlorophylles des huit (8) extraits analysés (mg/g).

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction de la (figure 36) que l'agitation reste la meilleure technique pour extraire les totales chlorophylles avec des teneurs optimales comprises entre (10,21- 16,99 mg/g).

Les résultats de cette étude révèlent aussi que le méthanol reste toujours le meilleur extracteur des pigments chlorophylliens comme on l'a déjà démontré précédemment.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'objectif de notre étude est l'extraction des composés phénoliques qui est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode, de la concentration et de type de solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. De nos résultats, il ressort que l'ultrason par l'éthanol est la meilleure technique d'extraction des phénols totaux et les ortho-diphénols mais pour les flavonoïdes c'est l'agitation qui est plus adéquate. Cette dernière est aussi préférable pour l'extraction des pigments chlorophylliens mais en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction mélangé avec de l'eau distillé à (70/30 ; v : v).

On comparant les rendements d'extraction des extraits on a conclu que l'olive verte de la variété « *Bouchouk* » est très riche en phénols totaux et ortho-diphénols avec des teneurs maximales estimés respectivement entre 196 mg EAG/g MS et 109 mg ET/g MS par rapport aux teneurs maximales enregistré pour les flavonoïdes et les totales chlorophylles qui sont très basses comprises respectivement entre 10,69 mg EQ/g MS et 17 mg/ g MS.

Les résultats de cette étude révèlent aussi que l'olive renferme des quantités importantes de composés phénoliques qui ont des effets bénéfiques sur la santé en intervenant dans la lutte contre le stress oxydant impliqué dans l'apparition de diverses pathologies comme : les maladies cardiovasculaires, certains types de cancers, l'athérosclérose, les pathologies cérébrales, les dégénérescences liées au vieillissement accéléré.

A l'issue de la présente étude les perspectives suivantes peuvent être dégagées :

- ✓ Il serait intéressant de compléter ce travail par une étude comparative sur les différents modes d'extraction des poly-phénols comme la macération et la décantation.
- ✓ Dans un deuxième temps, il serait intéressant d'évaluer l'activité anti-oxydante des extraits de pulpe d'olive variété « *Bouchouk* ».
- ✓ Utiliser d'autres solvants d'extraction de forte polarité comme l'acétone pour un meilleur rendement en ses composés antioxydants.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abaza, L., Ben Youssef, N., Manai, H., Mahjoub Haddada, F., Methenni, K., Zarrouk, M., 2011. *Grasas Aceites*, 62 (1): 96-104.
- Abdelguerfi A. 2003. Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture. Rapport de synthèse. Projet ALG/97/G31 FEM/PNUD, Alger, (Algérie), 22-23/01/2003, 13 -20.
- ACHAT. S, 2013 .Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat. Université de Béjaia, Université d'Avignon et des pays Vaucluse.
- AKROUM.S, 2011. Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine.
- Allalout A., Krichène D., Methenni K., Taamalli A., Oueslati I., Daoud D et Zarrouk M.2009. Characterization of vergin olive oil from super Intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 120:77-83.
- ALONSO-SALCES R.M., HEBERGER K., HOLLAND M.V., MORENO-ROJAS J.M., MARIANI C., BELLAN G., RENIERO F., GUILLOU C. (2010). Multivariate analysis of NMR fingerprint of the unsaponifiable fraction of virgin olive oils for authentication purposes. *Food Chemistry*, 118, 956–965.
- AMAROWICZ R., PEGG R.B., RAHIMI-MOGHADDAM P., BARL B. & WEIL G. (2004). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84, 551-562.
- ANONYME 2 (2006): www.foodstandards.gov.au.
- Atefeibu E.S.I. Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar. 2002 pp 33.
- Babar Ali, M.,(2007) Hahn, E.J., Paek, K.Y. Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures.
- Balatsouras G.D., 1966. The chemical composition of the brine of stored Greek black olives. *Grasas y Aceites*, 17: 83-88.
- BEAUDEUX J-L, DURAND G. (2011). ‘‘Biochimie médicale - Marqueurs actuels et perspectives (2e ed.)’’ . ; MÉDECINE SCIENCES PUBLICATIONS / LAVOISIER, Année 9/2011.
- Beddiar A., Mekahlia M.N., 2007. Infectivité et efficacité de 4 morphotypes de spores

Références bibliographiques

- de champignons endomycorhiziens à arbuscules extraits de sols Algériens et inoculés à l'oléastre (*Olea oleaster* « HOOFG. Et LINK. »). Colloque international sur les BioTech World. 24-25 Novembre. Oran, Algérie, pp. 18.
- BELAÏCH, R. and BOUJRAF, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(1), pp.38-42.
 - Belaj A., Trujillo I., De la Rosa R., Rallo L., 2001. Polymorphism and Discrimination Capacity of Randomly Amplified Polymorphic Markers in an Olive Germplasm Bank. *Journal of the Amer. Soc. Hort. Sci.*, 126(1): 64-71.
 - Bellahcene M. 2004. La verticilliose de l'olivier : étude épidémiologique et diversité génétique de *Verticillium dahlia* kleb., Agent de la verticilliose. Thèse. Doct. D'Etat. Univ. Oran (Algerie). 144pp.
 - BEN AMOR.B, 2014. Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée. Thèse de Doctorat. Université de la Rochelle, France.
 - Benbrook M. (2005). Accroître la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed.Theorganic center.Pages 6-8.
 - BENDINI A., BONOLI M., CERRETANI L., BIGUZZI B., LERCKER G. and TOSCHI T.G. (2003). Liquid liquid and solid-phase extractions of phenols from virgin olive oil and their separation by chromatographic and electrophoretic methods. *J. Chromatogr. A*, 985, 425-433.
 - BENDINI A., CERRETANA L., CARRASCO-PANCORBO A., GOMEZ-CARAVACA A.M., SEGURA-CARRETERO A. & LECKER G. (2007). Phenolic molecules in virgin olive oil : a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. *Molecules*, 12,1679-1719.
 - BENHAMMOU. N, 2012. Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat .Université Aboubakr Belkaid de Tlemcen
 - Benhayoun G. et Lazzeri Y (2007) L'olivier en Méditerranée : du symbole à l'économie. Editions L'Harmattan. Paris, - p137. PP17.
 - Benlemlih, M., Ghanam, J., 2012. Polyphenols d'huile d'olive, trésors santé. *Medicatrix*, Belgique, 208 p.
 - BERSET C. (2006). Antioxydants phénoliques structures, propriétés, sources végétales ; In : « les polyphénols en agroalimentaire ». Technique & documentation. Lavoisier.
 - Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M. Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie. 2007

Références bibliographiques

- Bianchi G. (2003). Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipids and Science Technology*, 105: 229-242
- Bloomer RJ, Fisher-Wellman KH (2008). Blood oxidative Stress Biomarkers: influence of sex, Training Status, and dietary Intake. *Gender Medicine*.5(3): 218-228.
- Boizot, N ; Charpentier, J.P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 2006, pp 79-82
- BONNAILLIE .C, SALACS .M, VASSILIOVA. E, SAYKOVA. I, 2012. *Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (Arachis hypogaea L)*.Revue de génie industriel 2012, 7, 35-45.Polytech Lille, France. Université Paul Sabatier,Toulouse, France. Université de Technologie Chimique et de Métallurgie, Sofia, Bulgarie
- Bonola Gallardo, M. E. Irigoyen Camacho, L. I. Vera Robles, A. Campero Celis, A. Hamdan Partida. Oxidative stress: the glutathione enzyme system and oral health. Vol. 15. Núm. 1. páginas 2-8 (Enero - Junio 2014).
- Boss.I.P.L. (2002). Etudes des activités biologiques fagara xanthoxyloides LAM (Rutaceae).Thèse de Pharmacie, Bamako. 133.
- Bouaziz M., Fki I., Jemai H., Ayadi M. and Sayadi, S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. *Food Chemistry* 108, 253-262
- BOUBEKRI .CH, 2014. Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat.Université Mohamed khider de Biskra.
- BOUDHRIOUA N., BAHLOUL N., BEN SLIMEN I. & KECHAOU N. (2008). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrareddried olive leaves. *IndustrialCrops andproducts*, 1-8.
- BOUHADJERA. K, 2005. Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes oudneya africana r.br. Et aristida pungens l. Thèse De Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid.
- Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Ffleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barosso J.G., Pedro L.G. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff.et Link. *Food Chemistry*; 2007, Vol. 105; pp 146-155.
- BOUSBIA .N, 2011. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger.
- Breton, C., Médail, F., Pinatel, C., Bervillé, A., 2006. *Cahiers Agricultures*, 15 (4): 329-336.

Références bibliographiques

- Brouillard, R., Figvire, P., El habiri, M., and Dangles, O. (1997). Molecular interaction of phenolic compounds in relation to the color of fruit and vegetables. In : les polyphénols en agroalimentaire. Sarni-Manchado, P; Cheynier, V. 2006. Tec et Doc Lavoisier-Paris. 125-145.
- Caravaca F., Barea J.M., Figueroa D., Roldán A., 2002. Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reafforestation with *Olea europaea* subsp. *Sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. ELSEVIER, 20: 107-118.
- CARRASCO-PANCORBO A., ARRAEZ-ROMAN D., SEGURA-CARRETERO A. and FERNANDEZ-GUTIERREZ A. (2006). Capillary electrophoresis-electrospray ionization mass spectrometry method to determine the phenolic fraction of extra-virgin olive oil. Electrophoresis, 27, 2182-2196.
- Chaouia A. 2003. Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture. Cas des plantations arboricoles. Projet ALG/97/G31 PNUD, Alger, 22-23/01/2003, 60 p.
- CHEIKHOUSMAN R., ZUDE M., BOUVERSSE D.J.R., LEGER C.L., RUTLEDGE D.N. & BIRLOUEZ-ARAGON I. (2005). Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 382(6), 1438-1443.
- Chemat S., Lagha A., Aitamar H., Bartels P.V., Chemat F. (2004). Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. Flavour and Fragrance Journal. 19: 188–195.
- Cherif S., Rahal N, A clinical trial of a titrated *Olea* extract in the treatment of essential arterial hypertension, J Pharm Belg 1996, 69-71.
- Cheynier V.Sarni-Manchado P (2006). Structures phénoliques et goût. Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier: 398.
- Chiou, A., Kalogeropoulos, N., Salta, N., Efstathiou, P. et Andrikopoulos, K., (2009) ;Pan-frying of French fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract: Oxidative stability and fate of microconstituents. LWT - Food Science and Technology 42, 1090–1097.
- Civantos L. (1983). Valorisation des sous-produits de l'olivier, Réunion du comité technique (FAO), 143-145.
- Clichés M. Gast, 30 avril 1968
<http://journals.openedition.org/encyclopedieberbere/docannexe/image/2812/img-6.jpg>
- COOK N.C. & SAMMAN S. (1996). Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. Journal of Nutritional biochemistry, 7, 66-76.
- Cortesi N., Rovellini P., Fedeli E. (2000). Cultivars, technologie et qualité des huiles d'olive. *Olivae*, 81: 26-35.

Références bibliographiques

- Criado M.N., Motilva M.J., Goni M. et Romero M.P. 2007. Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars. *Food Chemistry*, 100: 748–755.
- CUONG NGUYEN.V, 2010.Maîtrise de l'aptitude technologique des oléagineux par modification structurelle ; applications aux opérations d'extraction et de transestérification in-situ. Thèse de Doctorat.Université de Rochelle
- D'ALESSANDRO .LG, 2013. Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydant à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits. Thèse de Doctorat .Université Lille 1.
- DALMES .G-H, 2011.Structure et application d'élaboration des résines époxy. Thèse de Doctorat .Université de Toulouse.
- DAMAK N., BOUAZIZ M., SAYADI M., SAYADI S. & DAMAK M. (2008). Effect of the maturation process on the phenolic fractions, fatty acids and antioxidant activity of the Chétoui olive fruit cultivar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1560-1566.
- 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.
- DE RIJKE E., ZAPPEY H., ARIESE F., GOOIJER C. & BRINKMAN U.A.T. (2003).
- De Teresa Galván et al. / *Rev Andal Med Deporte* 2008;1(2): 61-72.
- Devasagayam TP, Tilak JC, Bloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*. 2004 Oct;52:794-804. PMID: 15909857.
- DIMITRIOS B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505-512
- El Antari A., El Moudni H., Ajana H., Cert A. (2003). Etude de la composition lipidique de deux compartiments du fruit d'olive (pulpe et amande) de six variétés d'oliviers cultivées au Maroc. *Olivae*, 98 : 20-28.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. 2008, Vol. 331 ; pp 372-379.
- Fedeli E. (1997). Technologie de production et de conservation de l'huile. In : *Encyclopédie mondiale de l'olivier*. Ed. Plaza et Janes, pp. 253-273.
- Flahault R., 1986. L'olivier. *Ann. Ecole Nat. Agric. Montpellier, France*. T II. *In: Fertilidad de las variedades de olivo españolas*. Garcia A., Ferreira J., Frias L. et Fernandez A. (Eds), *Sem. Oleic. Int.*, 6-17 Octobre 1975, Cordoue, Espagne, pp. 25-28.

Références bibliographiques

- Fleuriet, Macheix (1990). le brunissement enzymatique et la qualité des fruits. In la maîtrise de la qualité des fruits frais; 9ème colloque sur les recherches fruitées. INRA, In: Les polyphénols en agroalimentaire. Sarni-Manchado, P; Cheynier, V. 2006. Tec et Doc. Lavoisier-Paris. 249-258.
- FONTAINE, E., BARNOUD, D., SCHWEBEL, C. AND LEVERVE, X. (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxydants in critically ill patients. *Réanimation*, 11(6), PP.411-420.
- Fontanazza, G., Preziosi, P., 1969. *Osservazioni su*, 37: 737-745.
- Franz, M.J., Bantle, J.P., Beebe, C.A., Brunzell, J.D., Chiasson, J.L., Garg, A., Holzmeister, L.A., Hoogwerf, B., Mayer-Davis, E.J., Mooradian, A.D., 2003. *Diabetes Care*, 26 (1): 51-61.
- Garcia J.M., Seller S. et Perez-Camino C. 1996. Influence of fruit ripening on olive oil quality. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44: 3516-3520.
- Garcia-Salas, A. Morales-Soto, A. Segura-Carretero and A. Fernández-Gutiérrez. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*. Vol. 15. (2010). pp. 8813-8826.
- GALLINA-TOSCHI T. (2005). Oxidative stability and phenolic content of virgin olive oil: An analytical approach by traditional and high resolution techniques. *Journal Sep. Science.*, 28, 859-870.
- GAMBINI, J., GRANIER, R. (2013). Effets indésirables des rayons X. EMC - RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE : Principes et techniques – Radioprotection : 1-20.
- Gandul-Rojas B. et Minguez-Mosquera I. 1996. Chlorophyllase activity in olive fruits and its relationship with the loss of chlorophyll pigments in the fruits and oils. *Journal of Science and Food Agriculture*, 72: 291-294.
- Garait B.(2006).Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin [Thèse de doctorat en biologie cellulaire] université Joseph Fourier. Page195.
- Ghedira K, L'olivier, *Phytothérapie* 2008, 6: 83–89.
- Girona J, Luna M, Arbone´s A, Mata M, Rufat J, Marsal J (2001)Respuesta de olivos jóvenes (*Olea europaea*, cv. „Arbequina“) adiferentes cantidades de agua de riego. Determinacio´n de lasfunciones de produccio´n. *Fruticultura Prof* 120:29–34
- Gomes Cabrera A., Parellada J., Garrido A. et Ocaña F, Utilisation des rameaux d'olives en alimentation animale. *Avance dans l'alimentation animale* 1982, 11 : 75-77.
- Gomez-Caravaca A.M., Cerretani L., Bendini A., Seguera-Carretero A., FernandezGutierry A., Del Carlo M., Compagnone D. et Cechelli A. 2008. Effect of fly attack (*Bactrocera oleae*)

Références bibliographiques

- on the phenolic profile and selected chemical parameters of olive oil. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56: 4577- 4583.
- GOMEZ-CARAVACA A.M., Gomez-Romero M., ARRAEZ-ROMAN D., SEGURA-CARRETERO A., FERNANDEZ-GUTIERREZ A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220-1234.
 - Gould K. S., Lister C. (2006). Flavonoid functions in plants. *Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications*. Andersen, O. M., Markham, K. R., CRC Press. 8: 397441.
 - Green P.S., 2002. A revision of *Olea L.* (Oleaceae). *Kew Bull.* 57: 91-140
 - Guignard J., Dupont F. (2004). *Systématique moléculaire. Botanique : la famille des plantes*. Editions Masson, Paris, France. 336.
 - Gutiérrez-Salinas J, Mondragón-Terán P, García-Ortíz L, et al. Breve descripción de los mecanismos moleculares de daño celular provocado por los radicales libres derivados de oxígeno y nitrógeno. *Rev Esp Med Quir.* 2014;19(4):446-454.
 - HAMSI N, 2013. Contribution à l'étude de l'optimisation de l'extraction solide-liquide des lipides par Soxhlet du caroubier (*Ceratonia siliqua*) de la région de Tlemcen. Thèse de Doctorat. Université Abou Bakkr Belkaid de Tlemcen.
 - HELME J.P., CHAZON J.B. & PERRIN J.L. (1990). Les antioxydants, In : « Actifs et additifs en cosmétologie ». *Technique & documentation*.
 - HIRECHE. M, 2013. *Dosage des polyphénols de la tomate « agora » et étude de leur pouvoir antioxydant*. Mémoire de master. Université Hassiba Ben Bouali de Chleff.
 - HUDAIB M., GOTTI R., POMPONIO R., and CAVRINI V. (2003). Recovery evaluation lipophilic markers from *Echinacea purpurea* roots applying microwave-assisted solvent of extraction versus conventional methods. *J. Sep. Sci*, 26, 97-104.
 - ITAFV, 2004. La culture de l'olivier. Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne . Ministre de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche, Algérie, 38 p.
 - JAPON-L UJAN R., LUQUE-RODRIGUEZ J.M., LUQUE DE CASTRO M.D. (2006b). Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*, 1108, 76–82.
 - Japon-Lujan R., Luque de Castro M.D. (2008). Liquid-liquid extraction for the enrichment of edible oils with biophenols from olive leaf extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 2505–2511.

Références bibliographiques

- S. Jokić, D. Velić, M. Bilić, A. Bucić-Kojić, M. Plan inić and S. Tomas. Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. J. Food Sci. vol. 28. (2010). pp. 206- 212.
- KÄHKÖNEN, M., HOPIA, A., VUORELA, H., RAUHA, J., PIHLAJA, K., KUJALA, T. AND HEINONEN, M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. J. Agric. Food Chem., 47(10), pp.3954-3962
- Kardono, L.B., Tsauri, S., Padmawinata, K., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D., 1990. J. Nat. Prod., 53 (6): 1447-1455
- KARADENÜZ F., BURDURLU H.S., KOCA N. & SOYERY. (2005). Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey. Turkey Journal of Agricultural, 29, 297-303
- V. Katalinic, S. Mozina, D. Skroza, I. Generalic, H. Abramovic, M. Milos, I. Ljubenkovic, S. Piskernik, I. Pezo, P. Terpinic and M. Boban. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). J. Food. Chem. Vol. 119. (2010). pp. 715-723.
- Khan M.K., Abert-Vian M., Fabiano-Tixier A.S., Dangles O., Chemat F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. Food Chemistry. 119: 851–858.
- KHATER. F, 2011. Identification et validation fonctionnelle de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la biosynthèse des composés phénoliques. Thèse de Doctorat. Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques Sup AGRO, Montpellier.
- Khoumeri L (2009) Influence de la photopériode, des milieux de culture et des hormones de croissance sur le développement in-vitro des embryons et des microboutures de l'olivier (*Olea europaea* L.) Var Chemlal. Thèse. Ing. 100p.
- E. Koffi, T. Sea, Y. Dodehe and S. Soro. Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. J. Animal & Plant Sci. Vol. 5. (2010). pp. 550-558.
- Komaki E., Yamaguchi S., Maru I., Kinoshita M., Kakehi K. Ohta Y. and Tsakada, Y.(2003). Identification of Anti-Amylase Components from Olive Leaf Extracts. Food Science. Technology. Research 1, 35-39.
- KONE. D, 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes -caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant. Thèse de Doctorat. Université de Bamako.

Références bibliographiques

- Lattanzio V, Cardinah A, Palmier S .1994. The role of phenolics in the post harvest physiology of fruits and vegetables: browniong reaction and fingal disease Ital. J Food sci, 6: 3-22.
- Lavee S., 1997. Biologie et physiologie de l'olivier. *In*: Encyclopédie Mondiale de L'Olivier. COI (Ed.), Madrid, Espagne, pp. 60-110.
- Le Prell CG, Hughes LF, Miller JM. Free radical scavengers vitamins A, C, and E plus magnesium reduce noise trauma. Free Radic Biol Med. 2007 May 1;42(9):1454-63. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.008. Epub 2007 Feb 20. PMID: 17395018; PMCID: PMC1950331.
- LÉGER C.L. (2006). Anti-oxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action antioxydante, interactions. OCL, 13 (1), 59-69.
- LETELLIER M. and BUDZINSKI H. (1999). Microwave assisted extraction of organic compounds. *Analusis*, 27, 259-271
- LEVERVE, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), pp.219-224.
- LEYBROS. J, FRÉMEAUX. P.Extraction Solide-Liquide Aspects Théoriques. *Technique d'Ingénieur J 2780*.(1990).
- LIBERATORE L., PROCIDA G., D'ALESSANDRO N. and CICHELLI A. (2001). Solid-phase extraction and gaz chromatographic analysis of phenolic compounds in vergin olive oil. *Food Chem*, 73, 119-124.Liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization mass spectrometry of flavonoids with triple-quadrupole and ion-trap instruments. *Journal of Chromatography (A)*, 984 (1), 45-58.
- Loumou A, Giourga C. (2003) Olive groves: "The life and the identity of the Mediterranean". *Agriculture and Human Values*; 20:87-95
- LoussertR . et Brousse G .1978 .L"olivier .Ed . Maisoneuvre et Larose , Paris .447 .
- MADR/DSASI/SDSA, 2013. Superficies et Productions Agricoles. Série (A) et (B) 2012. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural/Direction des Statistiques et des Systèmes d'Informations/ Sous-Direction des Statistiques Agricoles., 12 p.
- MACHEIX J.J., FLEURIET A. and JAY-ALLEMAND C.H. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausannep, 190. ISBN, 2- 88074-625-6.
- MARC F., DAVIN A., DEGLÈNE-BENBRAHIM L., FERRAND C., BACCAUNAUD M. & FRITSCH P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine Sciences*, 20 (4), 458-463.

Références bibliographiques

- MARTHA E. (2008). Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune: Etude de leur capacité antioxydante. Thèse de Doctorat, Université Laval. P,31-54.
- Maas E.V., Hoffman G.J.,1977. Crop salt tolerance-current assessment-ASCEJ. Irrig. Drain. Div., 103: 115-134.
- Mason, T. J., L. Paniwnyk, et al. (1996). "The uses of ultrasound in food technology." Ultrasonics Sonochemistry 3: 253-260
- Mataix J., Barbancho F.J., 2006. Olive oil in Mediterranean food. In: Olive oil and Health. Quiles J.L., Ramez-Tortosa M.C., Yaqoob P (Eds.), CAB International, 41 p.
- Maymone B., Sblendorio A., Ceci ginestrelli D, Recherche de la composition chimique, la digestibilité et la valeur nutritive des feuilles d'olives (*Olea europea*), Food Chemistry 1950, 4:1-19.
- MC CLEMENTS D.J. & DECKER E.A. (2000). Lipid oxidation in oil-in-emulsions : impact of molecular environment on chemical reactions in heterogenous food systems. Journal of Food Science, 65(8), 1270-1282.
- MEDINA L.S.A. (2007). Phenolic compounds: their role during olive oil extraction and in flaxseed-transfer and antioxidant function. 159-179.
- Mendil, M., Sebai, A., 2006. Catalogue des Variétés Algériennes de l'Olivier. ITAFV Alger, Ministère de l'agriculture et du développement rural, Algérie, 98 p.
- Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S.(2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of activeoxygen species. PhytochemistryReviews. 3 :173-193
- Mohammedi and F. Atik. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. Inter. J. Pharma. Bio. Sci. Vol. 2. (2011). pp. 609-615.
- MOMPON B., LEMAIRE B., MENGAL P. and SURBLED M. (1998). Extraction des Polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. In : Veracauteren, Joseph. Polyphénols 96.édition. INRA. Paris. 31-43. ISBN 2-7380-0796-1.
- MOURE A., CRUZ J.M., FRANCO D., DOMÓANGUEZ J.M., SINERO J., DOMÍNGUEZ H., NUÂNĂ M.J. & PARAJOÁ J.C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry, 72,145-171.
- Mulinacci, D. Prucher, M. Peruzzi, A. Romani, P. Pinelli, C. Giaccherini and F.F. Vincieri. Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of

Références bibliographiques

caffeyl esters and flavonoidic compound content. *J. Pharm. and Biomed. Anal.* Vol. 34. (2004). pp. 349-357.

- MYLONAKI S., KLIASSOS 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. *mistry*, 46, 976-988.
- NACZK M., SHAHIDI F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95–111.
- NKHILI .EZ, 2009. Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse De Doctorat. Université Cadi Ayyad – Marrakech, Université D'Avignon Et Des Pays De Vaucluse- Montpellier.
- ONFAA, 2016. Bilan de la campagne oléicole 2015/2016 « Segment huile d'olive ». Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires. INRAA, Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche: 13p.
- Ouazzani N., Lumaret R., Villemur P., 1995. Apport du polymorphisme allo-enzymatique à l'identification variétale de l'olivier (*Olea europaea* L.). *Agronomie*, 15: 31-37.
- OWEN P. et JOHENS T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64, 149-160.
- OWEN R.W., HAUBNER R., WÜRTELE G., HULL W.E., SPEIEGELHALDER & BARTSCH H. (2004). Olives and olive oil in cancer prevention. *European Journal of Cancer Prevention*, 13(4), 319-326.
- Pagnol, J., (1996). *L'Olivier*. Aubanel Ed, France.
- Pandey KB et Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2009, Vol. 2 (5) ; pp 270 – 278.
- PANSERA M.R., IOB G.A., ATTI-SANTOS A.C., ROSSATO M., ATTI-SERAFINI L. and CASSEL E. (2004). Extraction of Tannin by *Acacia mearnsii* with Supercritical Fluids. *Braz Arch BioL Techn*, 47 (6), 995-998.
- Pereira A-P., Ferreira I., Marcelino F., Valentão P., Andrade P-B., Seabra R., Estevinho L., Bento A. et Pereira J-A. (2007). Phenolic compound and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molécules* **12**, 1153-1162.
- Peronny S. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie. 2005, pp 151

Références bibliographiques

- PETTI S. & SCULLY C. (2009). Polyphenols, oral health and disease : A review. *Journal of Dentistry*, 37, 413-423.
- POIROT.R, 2007. Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale. Thèse de Doctorat .Institut National Polytechnique de Toulouse.
- POKORNÝ J. (2003). Problèmes de stabilité des produits alimentaires liés à la présence des lipides. In : *Lipides et corps gras alimentaires*, Ed. Tec & Doc
- PRASAIN J.K., WANG C.C., BARNES S. (2004). Mass spectrometric methods for the determination of flavonoids in biological samples. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(9),1324-1350.
- PRIEGO-CAPOTE F., RUIZ-JIMENEZ J. and LUQUE DE CASTRO M.D. (2004). Fast separation and determination of phenolic compounds by capillary electrophoresis diode array detection Application to the characterisation of alperujo after ultrasound-assisted extraction. *J. Chromatogr. A*, 1045, 239-246.
- PROESTOS, C., BOZIARIS I.S., NYCHAS G-J.E. et KOMAITIS M. (2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of Food Chemistry their antioxidant capacity and antimicrobial activity, 95, 664- 671.
- RAJHA.H-N, 2015. Optimisation des méthodes d'extraction des composés phénoliques des raisins libanais et de leurs coproduits. Thèse de Doctorat. Université Saint-Joseph.
- Rallo ,P.,G.Dorado,and,A,Martin.Development of simple sequence repeats(SSR)in olive tree(Olea,europaea.L)(1998).These.appl.Genet.(In press).
- RICHARD, T., TEMSAMANI, H., DELAUNAY, J., KRISA, S. AND MÉRILLON, J. (2014). Stilbènes: de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), pp.173-180.
- Robertson R, Zhou H, Zhang T, Harmon JS. (2007). Chronic oxidative stress as a mechanism for glucose toxicity of the beta cell in type 2 diabetes.*Cell Biochem Biophys*. 48(2-3):139-46.
- ROCHA-GUZMÁN N.J., HERZOG A., GONZÁLEZ6LAREDO R.F., IBARRA-PÉREZ F.J., ZAMBRANO-GALVÁN G. & GALLEGOS-INFANTE J.A. (2007). Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*). *Food Chemistry*, 103, 521-527.
- ROCHETTE, L. (2008). Stress oxydant et sepsis. *Réanimation*, 17(6), pp.1-4.

Références bibliographiques

- ROGINSKY V. and LISSI E.A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food. Chem*, 92, 235-254.
- Rossini G., 1999. *Mémoire de l'olivier*, ed Equinoxe.
- Sahli Z. 2009. Le Développement Local Durable des Pays Méditerranéens. Les produits de Terroir. Les Indications Géographiques et le Développement Local Durable des Pays Méditerranéens. *Options méditerranéennes*, A n°89. 306- 316.
- Sahnoun Z, Jamoussi K, Zeghal KM. Radicaux libres et antioxydants: physiologie, pathologie humaine et aspects thérapeutiques [Free radicals and antioxidants: human physiology, pathology and therapeutic aspects]. *Thérapie*. 1997 Jul-Aug;52(4):251-70. French. PMID: 9437876.
- SAITTA M., LO CURTO S., SALVO F., DI BELLA G. and DUGO G. (2002).
- Saleh, N.K., Saleh, H.A., 2011. *BMC Complement Altern Med.*, 11: 10.
- Schallreuter KU, Wood JM. The role of thioredoxin reductase in the reduction of free radicals at the surface of the epidermis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986 Apr 29;136(2):630-7. doi: 10.1016/0006-291x(86)90487-0. PMID: 2423087.
- SHERWIN E.R. (1978). Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55, 809-814.
- Schultz, H. and G. Ambroscheit (1989). "Characterization of oakmoss products used in perfumery by high-performance liquid chromatography." *J. Chromatog A*. 466: 301-306 .
- SERVILI M. & MONTEDERO G. (2002). Contribution of phenolic compounds in virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 602-613
- SERVILI M., SELVAGGINI R., ESPOSTO S., TATICCHI A., MONTEDERO G. & MOROZZI M. (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenolics : agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, 1054, 113-127
- SILVA S., GOMES L., LEITÃO F., COELHO A.V. & VILAS BOAS L. (2006). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea Europaea L.* fruits and leaves. *Food Science Tect Int*, **12(5)**, 385-396.
- SINEIRO J., FRANCO D., RUBILAR M., SANCHEZ M., JEREZ M., PINELO M., COSTOYA N. & NÚÑEZ M.J. (2008). Polyphenols from plant materials: extraction and antioxidant power. *Electronic Journal of environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7(8), 3210-3216.
- Singleton V.L Rossi J.A (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents , *American Journal of Enology and Viticulture*.
- Syed Haris O. Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. *Sci Pharm* 2010; 78(2): 133-154.

Références bibliographiques

- Tadashi U. (2006). Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese, 7.
- TAWAHA K., ALALI F.Q., GHARAIBEH M., MOHAMMAD M. & EL-ELIMAT T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104, 1372-1378.
- TEISSEGRE P.L. (2008). Les effets du vin sur la santé. *Biofuture*, 294, 45-48.
- TINAMRI. M, LAGMI. I, 2014. Optimisation des conditions d'extraction des polysaccharides issus d'*Astragalus gombo bunge* (Fabaceae) récolté au Sahara septentrional Est algérien. Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah d'Ouargla.
- Tomas-Barberan F. A. Espin J. C. (2001). "Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables." *Journal of the Science of Food and agriculture* 81: 853-876 .
- TRIPOLI E, GIAMMANCO M., TABACCHI G., DI MAJO D., GIAMMANCO S. & LA GUARDIA M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews*, 18, 98-112.
- TSAO R. and DENG Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J. Chromatogr. B*, 812, 85-99.
- Turkmen, N., Velioglu, Y.,S., Sari, F., Polat, G., 2007. *Molecules*, 12 (3) :484-496.
- USAQUEN-CASTRO X., MARTINEZ-RUBIO M., AYA-BAQUERO (2006)
- Vermerris, W. *Phenolic compound biochemistry*, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1- 4020-5163-8 (HB).2006
- VISIOLI F. and GALLI C. (2002). Biological properties of olive oil phytochemicals. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 42 (3), 209–221.
- Von Holtz, R.L., Fink, C.S., Awad, A.B., 1998. *Nutr. Cancer*, 32 (1): 8-12.
- WAINSTEN, J. (2009). *Le Larousse Médical*. Paris : Larousse
- Walton NJ, Brown DE (1999). *Chemicals from plants: Perspectives on plant secondary products*. London: Imperial College press.
- Zarrouk M., Marzouk B., Ben Miled Daoud D. et Chérif A. 1996. Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition. *Olivae*, 61 : 41-45.

Références bibliographiques

- ZEGHAD. N ,2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister. Université Mentouri de Constantine
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W ., 1999. Food Chem., 64 (4) : 555-559.
- Zohary D., 1995. Olive, Olea europea (Oleaceae). *In*: Smartt J. et Simmonds N.W., "Evolution of Crop Plans". Longman Scientific et Technical. United Kingdon, pp. 379-282.

Sites web :

- Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAFV) (Mars 2009)
(<http://www.itafv.dz/>)
- Conseil Oléicole International (COI)

(<http://www.internationaloliveoil.org/web/aafrances/crop/AreasActivitie/economics/AreasActivitie.html>)

Annexes

Annexe 01 : Matériels réactifs chimiques

Produits et réactifs	Appareillages
<ul style="list-style-type: none">• Eau distillée• Méthanol• Ethanol• Acide gallique $C_7H_6O_5$• Tyrosol• Quercitine• Solution du réactif Folin - Cicalteu• Molybdate• Solution d'hydroxyde de sodium (NaOH)• Bicarbonate de sodium Na_2CO_3• Trichloride d'aluminium $AlCl_3$• Acide chlorhydrique HCl	<ul style="list-style-type: none">• Balance analytique de précision• Spectrophotomètre UV-visible• Cuve de spectrophotomètre• Centrifugeuse à 5000 tours / minute• Dessiccateur• Bain marie• Agitateur• Réfrigérateur• Tubes à essai• Pipette et micro-pipettes• Bicher• Erlenmeyer• Papier aluminium• Papier adsorbant

Annexe 02 : Résultats des tests statistiques

- Analyse de la variance : méthode d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Méthode	1	884,9	884,91	11,07	0,005
Erreur	14	1118,9	79,92		
Total	15	2003,8			

- Analyse de la variance : solvant d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
solvant	3	3 32.6	110.9	0.8	0 .519
Erreur	12	1671.2	139.3		
Total	15	2003.8			

Figure 01 : Résultats de l'analyse de l'ANOVA à un facteur contrôlé pour la teneur en phénols totaux dans les extraits de pulpe d'olive étudiés.

- Test Tukey : méthode d'extraction**

Méthode	N	Mean	Grouping
ultrason	8	190,24	A
Agitation	8	175,36	B

- Test Tukey : solvant d'extraction**

solvant	N	Mean	Groupe
meth 70/30	4	186,94	A
eth 70/30	4	186,89	A
eth 50/50	4	181,44	A
meth 50/50	4	175,91	A

-Les moyens qui ne partagent pas une lettre sont significativement différents.

Figure 02 : Résultat du teste Tukey pour les phénols totaux.

DF : Degré de liberté. **Adj SS** : Somme des carrés des écarts. **Adj Ms** : Carré moyenne
F-value : F calculé. **P-value** : Probabilité.

- Analyse de la variance : méthode d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Méthode	1	119	119,01	2,37	0,146
Erreur	14	703,2	50,23		
Total	15	822,2			

- Analyse de la variance : solvant d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
solvant	3	573.5	191.17	9.22	0.002
Erreur	12	248.7	20.72		
Total	15	822.2			

Figure 03 : Résultats de l'analyse de l'ANOVA à un facteur contrôlé pour la teneur en Ortho-diphénols dans les extraits de pulpe d'olive étudiés.

- Test Tukey : méthode d'extraction**

Méthode	N	Mean	Grouping
ultrason	8	98,87	A
Agitation	8	93,42	A

- Test Tukey : solvant d'extraction**

solvant	N	Mean	Groupe
meth 70/30	4	101.93	A
eth 70/30	4	78.375	A
eth 50/50	4	98.18	A
meth 50/50	4	86.102	B

-Les moyens qui ne partagent pas une lettre sont significativement différents.

Figure 04 : Résultat du teste Tukey pour les Ortho-diphénols.

DF : Degré de liberté. **Adj SS** : Somme des carrés des écarts. **Adj Ms** : Carré moyenne
F-value : F calculé. **P-value** : Probabilité.

- **Analyse de la variance : méthode d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Méthode	1	0,04313	0,043128	7,58	0,016
Erreur	14	0,0797	0,005693		
Total	15	0,12283			

- **Analyse de la variance : solvant d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
solvant	3	0,03325	0,011083	1,48	0,268
Erreur	12	0,08958	0,007465		
Total	15	0,12283			

Figure 05 : Résultats de l'analyse de l'ANOVA à un facteur contrôlé pour la teneur en flavonoïdes dans les extraits de pulpe d'olive étudiés.

- **Test Tukey : méthode d'extraction**

Méthode	N	Mean	Grouping
Agitation	8	10,5741	A
ultrason	8	10,4702	B

- **Test Tukey : solvant d'extraction**

solvant	N	Mean	Groupe
meth 70/30	4	10,5979	A
eth 70/30	4	10,5106	A
eth 50/50	4	10,504	A
meth 50/50	4	10,4762	A

-Les moyens qui ne partagent pas une lettre sont significativement différents.

Figure 06 : Résultat du teste Tukey pour les flavonoïdes.

DF : Degré de liberté. **Adj SS :** Somme des carrées des écarts. **Adj Ms :** Carré moyenne
F-value : F calculé. **P-value :** Probabilité.

- **Analyse de la variance : méthode d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Méthode	1	10,66	10,663	6,2	0,026
Erreur	14	24,06	1,719		
Total	15	34,73			

- **Analyse de la variance : solvant d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
solvant	3	8,449	2,816	1,29	0,324
Erreur	12	26,276	2,19		
Total	15	34,725			

Figure 07 : Résultats de l'analyse de l'ANOVA à un facteur contrôlé pour la teneur en chlorophylle (a) dans les extraits de pulpe d'olive étudiés.

- **Test Tukey : méthode d'extraction**

Méthode	N	Mean	Grouping
Agitation	8	3,324	A
ultrason	8	1,692	B

- **Test Tukey : solvant d'extraction**

solvant	N	Mean	Groupe
meth 70/30	4	3,71	A
eth 70/30	4	2,449	A
eth 50/50	4	2,0158	A
meth 50/50	4	1,858	A

-Les moyens qui ne partagent pas une lettre sont significativement différents.

Figure 08 : Résultat du teste Tukey pour la chlorophylle (a).

DF : Degré de liberté. **Adj SS** : Somme des carrés des écarts. **Adj Ms** : Carré moyenne
F-value : F calculé. **P-value** : Probabilité.

- **Analyse de la variance : méthode d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Méthode	1	32,07	32,07	7,54	0,016
Erreur	14	59,56	4,254		
Total	15	91,63			

- **Analyse de la variance : solvant d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
solvant	3	23,75	7,918	1,4	0,291
Erreur	12	67,87	5,656		
Total	15	91,63			

Figure 09 : Résultats de l'analyse de l'ANOVA à un facteur contrôlé pour la teneur en chlorophylle (b) dans les extraits de pulpe d'olive étudiés.

- **Test Tukey : méthode d'extraction**

Méthode	N	Mean	Grouping
Agitation	8	7,074	A
ultrason	8	4,242	B

- **Test Tukey : solvant d'extraction**

solvant	N	Mean	Groupe
meth 70/30	4	6,93	A
eth 70/30	4	6,72	A
eth 50/50	4	4,9825	A
meth 50/50	4	4,002	A

-Les moyens qui ne partagent pas une lettre sont significativement différents.

Figure 10 : Résultat du teste Tukey pour la chlorophylle (b).

DF : Degré de liberté. **Adj SS** : Somme des carrés des écarts. **Adj Ms** : Carré moyenne
F-value : F calculé. **P-value** : Probabilité.

- Analyse de la variance : méthode d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Méthode	1	79,56	79,56	7,27	0,017
Erreur	14	153,18	10,94		
Total	15	232,74			

- Analyse de la variance : solvant d'extraction**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
solvant	3	55,07	18,36	1,24	0,338
Erreur	12	177,66	14,81		
Total	15	232,74			

Figure 11 : Résultats de l'analyse de l'ANOVA à un facteur contrôlé pour la teneur en totales chlorophylles dans les extraits de pulpe d'olive étudiés.

- Test Tukey : méthode d'extraction**

Méthode	N	Mean	Grouping
Agitation	8	10,39	A
ultrason	8	5,928	B

- Test Tukey : solvant d'extraction**

solvant	N	Mean	Groupe
meth 70/30	4	10,63	A
eth 70/30	4	9,159	A
eth 50/50	4	6,991	A
meth 50/50	4	5,854	A

-Les moyens qui ne partagent pas une lettre sont significativement différents.

Figure 12 : Résultat du teste Tukey pour les totales chlorophylles.

DF : Degré de liberté. **Adj SS** : Somme des carrées des écarts. **Adj Ms** : Carré moyenne
F-value : F calculé. **P-value** : Probabilité.

Résumé

L'olivier (*Olea europaea*) est un arbre méditerranéen largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés biologiques attribuées essentiellement aux poly-phénols qui se trouvent presque dans toutes ses parties et sous produits (olive, feuille et huile). Afin d'évaluer la meilleure technique d'extraction de poly-phénols totaux, ortho-diphénols, flavonoïdes et pigments chlorophylliens de l'olive de la variété «*Bouchouk*», nous avons utilisé deux méthodes d'extraction, à savoir l'ultrason et l'agitation et deux solvants à différentes concentrations (des mélanges d'eau soit avec du méthanol ou l'éthanol à différentes concentrations). Toutefois les extraits éthanoïques de pulpe d'olive ont donné un rendement d'extraction un peu plus important par rapport aux extraits méthanoïques de la pulpe d'olive, ce qui nous a permis de dire que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction des composés phénoliques. L'ultrason semble être la meilleure technique pour l'extraction des poly-phénols totaux et ortho-diphénols mais pour les flavonoïdes c'est l'agitation qui est plus efficace. L'emploi de la technique d'agitation en présence de méthanol /eau (70/30) est plus performante pour l'extraction des pigments chlorophylliens.

Mots-clés: Pulpe d'olive, technique d'extraction, solvant d'extraction, phénols totaux, ortho-diphénols, flavonoïdes, pigments chlorophylliens.

Abstract

The olive tree (*olea europaea*) is a Mediterranean tree widely used in traditional medicine for its biological properties attributed mainly to polyphenols which are found in almost all of its parts and by-products (olive, leaf and oil). In order to evaluate the best technique for extracting total polyphenols, orthodiphenols, flavonoids and chlorophyll pigments from the olive of the "Bouchouk" variety, we used two extraction methods, namely ultrasound and agitation and two solvents at different concentrations (mixtures of water with either methanol or ethanol at different concentrations). However, the ethanoic extracts of olive pulp gave a slightly higher extraction yield by porting the methanoic extracts of the olive pulp, which allowed us to say that ethanol is the best extraction solvent. Phenolic compound Ultrasound appears to be the best technique for extracting total polyphenols and orthodiphenols, but for flavonoids agitation is more efficient. The use of the stirring technique in the presence of methanol / water (70/30) is more efficient for the extraction of chlorophyll pigments.

Keywords: Olive pulp, extraction technique, extraction solvent, total phenols, ortho-diphenols, flavonoids, chlorophyll pigments.

