

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

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

**Université A. Mira de BEJAIA**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la vie**

**Département des Sciences Alimentaires**

**Filière : Sciences Alimentaires**

**Spécialité : Contrôle de Qualité et Analyse des aliments**



**Réf : .....**

**MEMOIRE DE FIN DE CYCLE**

**En vue de l'obtention du Diplôme**

**MASTER**

**Valorisation des feuilles d'olivier par enrichissement du  
fromage frais**

**Présenté par :**

**HADDAD TINHINANE & LAMRI HADJER**

**Soutenu le : 04/07/2024**

**Devant le jury composé de :**

**M<sup>me</sup>. OUKIL Dahbia**

**Pr. Présidente**

**M<sup>me</sup>. BRAHMI Fatiha**

**Pr. Encadreur**

**M. BOUDRIES Hafid**

**Pr. Examineur**

**Année universitaire 2023-2024**

## **Remerciements**

*Un remerciement chaleureux adressé à Madame Brahmi notre promotrice, d'avoir dirigé ce travail, ses remarques et ses conseils avertis nous ont permis de réaliser notre travail.*

*On tient à remercier l'ensemble du personnel de Laboratoire Analyse instrumentale et Laboratoire Chimie de la faculté SNV pour leur aide et accueil chaleureux.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous tenons à remercier tous nos enseignants et tous ceux qui nous ont aidé durant tout notre cursus universitaire.*

*Nous tenons à remercier de fond du cœur toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

## ***Dédicaces***

Je dédie ce modeste travail à mes parents, dont le soutien inconditionnel m'a donnée l'opportunité pour réaliser ce mémoire. Les encouragements, la patience et les sacrifices qu'ils ont faits m'ont toujours encouragé à donner le meilleur de moi-même.

A ma chère sœur : Yousra.

A mes chers frères : Akram et Achraf.

Et Toute la famille.

A ma binôme et chère amie Tinhinane et à mes chères amies Carina, Lyza, Thilleli, Kenza qui ont partagé avec moi des moments d'incertitudes et de succès, et dont la camaraderie a été une source de motivation inépuisable.

A mes camarades de laboratoire analyse instrumentale : Ferial, Lyna, Najat et Serine

Et à tous mes collègues de la promotion de master de :

Contrôle de qualité et analyse des aliments

Hadjer

## ***Dédicaces***

Tout en espérant d'être à la hauteur, je dédie ce travail :

A mes chers parents que Dieu les protège ;

A mon frère et sa femme et mes sœurs que dieu vous garde toujours près de  
moi ;

A toute la famille Haddad et Ider

A ma binôme et cher amie Hadjer ;

A mes amies : Carina, Kenza, Hijou, Lyza, Thilelli, et Tiziri ;

A mes camarades de laboratoire analyse instrumentale : Ferial, Lyna, Najat et  
Serine ;

A celle et celui dont la présence est discrète et le soutien ont illuminé mes  
journées.

A toute la promotion contrôle de qualité et Analyse des Aliments ;

*Tinhinane*

## Tables des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>10</b>
<b>Chapitre 1 : Les généralités sur l'olivier</b> .....	<b>3</b>
<b>1 Historique</b> .....	<b>3</b>
<b>2 Présentation de l'olivier</b> .....	<b>3</b>
<b>3 Etude des feuilles d'oliviers</b> .....	<b>4</b>
3.1 Description des feuilles d'olivier .....	4
3.2 Variétés de feuilles d'olivier .....	4
3.3 Composition chimique des feuilles d'olivier .....	5
3.4 Utilisation traditionnelle et activités biologiques des feuilles d'olivier .....	7
3.5 Applications des feuilles d'olivier .....	8
<b>Chapitre 2 : Les généralités sur le fromage</b> .....	<b>9</b>
<b>1 Définition du fromage</b> .....	<b>9</b>
1.1 Types de fromage.....	9
<b>2 Définition du fromage frais</b> .....	<b>9</b>
2.1 Types de fromages frais .....	10
2.2 Composition et valeur nutritive .....	10
<b>3 Technologie de fromage</b> .....	<b>11</b>
<b>4 Fortification alimentaire ou enrichissement des aliments</b> .....	<b>12</b>
<b>5 Enrichissement des fromages</b> .....	<b>12</b>
<b>Matériel et méthodes</b> .....	<b>15</b>
<b>1 Matériel</b> .....	<b>15</b>
1.1 Matériel végétal .....	15
1.2 Produits chimique .....	15
1.3 Appareillage.....	15
<b>2 Méthodes</b> .....	<b>15</b>
2.1 L'échantillonnage .....	15
2.2 Préparation du solvant eutectique d'extraction (2/1) .....	16
2.3 Extraction par solvant .....	16
2.4 Etude préliminaire.....	16
2.5 Optimisation .....	17
2.6 Préparation du fromage frais.....	17
<b>3 Etude phytochimique</b> .....	<b>18</b>
3.1 Dosage des polyphénols totaux .....	18
3.2 Dosage des flavonoïdes.....	18
3.3 Dosage des tannins condensés totaux.....	18
3.4 Evaluation de l'activité antioxydante .....	19
3.4.1 Pouvoir anti-radicalaire au DPPH.....	19
3.4.2 Test de décoloration du cation radicalaire ABTS <sup>+</sup> .....	19
3.4.3 Test de phosphomolybdate d'ammonium .....	20
<b>4 Analyses physico-chimiques du fromage frais</b> .....	<b>21</b>
4.1 pH .....	21
4.2 Acidité titrable .....	21
4.3 Brix.....	21
4.4 Détermination du taux de cendres.....	21
<b>5 Analyse statistique</b> .....	<b>22</b>
<b>Résultats et discussion</b> .....	<b>22</b>
<b>1 Extraction des polyphénols totaux</b> .....	<b>23</b>
1.1 Etude préliminaire.....	23

1.3	Validation de modèle .....	30
<b>2</b>	<b>Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits obtenus dans les conditions optimales d'extraction .....</b>	<b>37</b>
2.1	Teneur en polyphénols totaux .....	37
2.2	Teneur en flavonoïdes.....	37
2.3	Teneur en tannins condensés .....	38
2.4	Evaluation des activités anti-oxydantes des extraits obtenus dans les conditions optimales.....	39
<b>3</b>	<b>Enrichissement du fromage frais par les feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal .....</b>	<b>40</b>
<b>4</b>	<b>Analyse sensorielle .....</b>	<b>42</b>
4.1	Caractérisation du produit.....	43
4.1.1	Pouvoir discriminant par descripteurs .....	43
4.1.2	Profil sensoriel .....	44
4.1.3	Moyennes ajustées par produits .....	45
4.2	Cartographie de préférence PREFMAP.....	47
	<b>Conclusion.....</b>	<b>49</b>
	<b>Références .....</b>	<b>51</b>
	<b>Annexes .....</b>	<b>57</b>
	<b>Résumé .....</b>	<b>62</b>

## Liste des abréviations

**ITAFV:** Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.

**IOC:** International Olive Council.

**LDL:** Low density lipoprotein

**VLDL:** Very low density lipoprotein

**DES:** Deep Eutetic solvant

**FAO:** Organization of Food Agriculture

**HBA :** Accepteurs de liaisons hydrogène

**HBD:** Donneurs de liaisons hydrogène HBD

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé.

**PPT :** Polyphénols totaux

**EAG :** Equivalent d'acide gallique

## Liste des figures

Figure 01 : photographie de la feuille de la variété Azeradj .....	5
Figure 02 : photographie de la feuille de la variété Chemlal .....	5
Figure 03 : schéma de la technologie de fabrication d'un fromage frais traditionnel .....	12
Figure 04 : photographie des feuilles d'olivier .....	14
Figure 05 : photographie de la poudre de deux variétés Chemlal et Azeradj .....	15
Figure 06 : schéma de protocole de préparation de l'extrait .....	15
Figure 07 : schéma explicatif de la préparation d'un fromage frais traditionnellement.....	16
Figure 08 : effet de temps d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux des feuilles d'olivier de la variété Azeradj (A) et de la variété Chemlal (B) .....	22
Figure 09 : effet de la vitesse d'agitation sur la teneur en polyphénols totaux des feuilles d'oliviers de la variété Azeradj (A) et la variété Chemlal (B) .....	23
Figure 10 : effet de ratio sur la teneur en polyphénols totaux de la variété Azeradj (A) et de la variété (B).....	24
Figure 11: coefficient de corrélation des de variété, Azeradj (A) et Chemlal (B) .....	28
Figure 12 : teneur prévue en polyphénols totaux et niveau de désirabilité pour les différentes variables d'optimum extraction de polyphénols à partir d'extraits de feuilles d'Azeradj (A) et de feuilles de Chemlal (B).....	34
Figure 13 : teneurs en flavonoïdes des extraits optimisés des feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal.....	36
Figure 14 : teneurs en tannins des extraits optimisés des feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal.....	37
Figure 15 : graphique des pouvoirs discriminants par descripteurs des fromages enrichis par les feuilles d'olivier de la variété Azeradj (A) et la variété Chemlal (B).....	40
Figure 16 : graphique en radar présentant le profile sensoriel des quatre échantillons de fromagefrais enrichis avec la poudre de feuilles d'olivier de la variété Azeradj.....	41
Figure 17 : graphique en radar présentant le profile sensoriel des quatre échantillons de fromage frais enrichis avec la poudre de feuilles d'olivier de la variété Chemlal .....	42
Figure 18 : cartographie de préférence PREFMAP de deux variétés Azeradj (A) et Chemlal (B).....	45

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : composition chimique global des feuilles d'olivier.....	6
<b>Tableau II</b> : composition en acides aminés des feuilles d'olivier.....	6
<b>Tableau III</b> : composition en minéraux des feuilles d'olivier.....	7
<b>Tableau IV</b> : valeur nutritionnelle moyenne des fromages frais.....	10
<b>Tableau V</b> : travaux sur l'enrichissement des fromages par les sous-produits et les produits naturels .....	13
<b>Tableau VI</b> : niveaux des facteurs choisis pour les essais de l'extraction.....	26
<b>Tableau VII</b> : plan et résultats d'optimisation des condition d'extraction par plan central composite précis pour les extraits des échantillons du poudre des feuilles d'oliviers de la variété Azeradj et la variété Chemlal.....	27
<b>Tableau VIII</b> : défauts d'ajustement de deux variétés d'olivier .....	29
<b>Tableau IX</b> : analyse de variance (ANOVA) pour la teneur en polyphénols totaux des extraits de feuilles en fonction de temps d'extraction, la vitesse d'agitation, le ratio et leurs interactions .....	30
<b>Tableau X</b> : comparaison entre les valeurs expérimentales et prédites en polyphénols totaux (PPT) des extraits optimisés des feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal .....	35
<b>Tableau XI</b> : résultats des activités antioxydantes (IC50 en µg/mL) des extraits optimisés de feuilles d'olivier de variété Azeradj et Chemlal .....	37
<b>Tableau XII</b> : résultats des analyses physico-chimiques du fromage enrichi .....	39
<b>Tableau XIII</b> : moyennes ajoutées par produits (A) et (B) .....	43
<b>Tableau XIV</b> : pourcentage des préférences pour chaque échantillon.....	44

# **Introduction**

Les industries agroalimentaires produisent en permanence divers sous-produits. Quelle que soit leur nature, ils peuvent être exploités et valorisés en raison de leur richesse en antioxydants tels que les polyphénols et en sels minéraux (**Maria Grimaldi et al., 2020**). Valoriser les sous-produits issus de leurs processus de production représente un défi constant.

L'olivier (*Olea europaea* L.) est un arbre renommé pour ses fruits et son huile, qui sont largement reconnus pour leurs qualités nutritionnelles et thérapeutiques. Par ailleurs, les feuilles d'olivier représentent 10% de la masse globale des olives récoltées, elles sont considérées comme étant des sous-produits de l'industrie oléicole (**Aouidi, 2012**). Aujourd'hui, plusieurs études scientifiques démontrent que ces dernières représentent une source de composés phénoliques, ce qui les rendent intéressantes pour les industries agroalimentaires.

La valorisation des feuilles d'olivier par l'enrichissement du fromage représente un domaine de recherche novateur et prometteur. Plusieurs objectifs essentiels sont établis dans cette étude afin d'explorer le potentiel des feuilles d'olivier en tant que source de composés bioactifs propices (**Roila et al., 2019**).

Cette recherche revêt une importance significative dans le contexte actuel de développement durable et de recherche d'alternatives nutritionnelles dans l'industrie alimentaire. En valorisant les feuilles d'olivier par leur intégration dans un produit alimentaire populaire comme le fromage frais, cette étude contribue à la promotion de pratiques agricoles durables tout en offrant aux consommateurs un produit enrichi en composés bioactifs bénéfiques pour la santé. En outre, elle ouvre la voie à de nouvelles opportunités commerciales et à une valorisation accrue des ressources végétales souvent négligées.

Dans un premier temps, l'étude se focalisera sur l'amélioration des techniques d'extraction des polyphénols à partir des feuilles d'olivier. L'objectif est d'optimiser le rendement des extraits tout en préservant leur qualité en utilisant des solvants appropriés et en explorant des conditions de traitement optimales. Par la suite, les feuilles d'olivier seront efficacement incorporées dans le processus de production du fromage frais. En étudiant leur influence sur les caractéristiques physico-chimiques et sensorielles du fromage, nous pouvons évaluer leur efficacité dans l'amélioration du produit final.

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont :

- La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique, abordant des généralités sur les feuilles d'olivier et sur le fromage.

- La deuxième partie est destinée à l'optimisation d'extraction des polyphénols totaux des feuilles d'olivier provenant de deux variétés d'olivier : Azeradj et Chemlal, à l'évaluation de leur activité antioxydante et de les utiliser dans l'enrichissement du fromage frais

---

## **Chapitre 1 : Les généralités sur l'olivier**

---

## 1 Historique

L'olivier (*Olea europaea L.*) est un arbre cultivé depuis des millénaires pour ses fruits, ses olives et son huile. Il a été d'abord cultivé il y a plusieurs milliers d'années, dans la région méditerranéenne, où il est encore largement cultivé aujourd'hui. Les premières preuves de la domestication de l'olivier remontent à environ 6000 ans avant J-C, en Anatolie (Turquie actuellement) et Levant (**Langgut et al., 2019**).

L'olivier a joué un rôle important dans de nombreuses civilisations anciennes, notamment les Grecs, les Romains et les Égyptiens, tant sur le plan économique que symbolique. Par exemple, dans la Grèce antique, l'olivier est considéré comme sacré et associé à la déesse Athéna. Les athlètes des Jeux Olympiques antiques étaient couronnés de branches d'olivier appelé **Kotinos** en signe de victoire (**Swaddling, 1999**).

Au fil des siècles, l'olivier est devenu un symbole de paix, de prospérité et de longévité, et son importance culturelle et économique perdure encore aujourd'hui. Au fil du temps, la culture de l'olivier s'est répandue dans tout le bassin méditerranéen, ainsi que dans d'autres régions du monde dotées de climats favorables (**Langgut et al., 2019**).

## 2 Présentation de l'olivier

Aujourd'hui, des oliviers sont cultivés dans de nombreux pays, notamment en Espagne, en Italie, en Grèce, en Tunisie, au Maroc et dans d'autres pays méditerranéens, ainsi que dans des régions d'Amérique du Nord et du Sud, d'Afrique du Sud, d'Australie et de Nouvelle-Zélande (**International Olive Council, 2021**).

L'Olivier est un arbre vivace aux feuilles persistantes, dur, gris-vert et avec une forme allongée (**Bonnier, 1990**). *Olea europaea L* est ordinairement un arbre de 3 à 5 mètres de hauteur, parfois un arbrisseau de 1,5 à 2 mètres de hauteur, plus rarement un arbre pouvant atteindre 10 à 15 mètres (**Bonnier, 1990**). En allant du bas vers le haut, l'olivier comprend les parties suivantes : système racinaire, tronc, feuille, fleurs et fruit.

L'olivier est apprécié pour ses fruits, qui peuvent être consommés à l'état sèche, salé, marinés ou pressés pour produire de l'huile d'olive, largement utilisée dans la cuisine méditerranéenne et au-delà. En plus de ses utilisations culinaires, l'olivier est également précieux car son bois est utilisé pour la fabrication des meubles et des objets artisanaux (**Laporte et al., 2021**). Toutefois, sa transformation génère des déchets qui peuvent être exploités telles les feuilles.

### 3 Etude des feuilles d'oliviers

L'industrie oléicole engendre, en plus de l'huile d'olive et les olives de table comme produits principales, des sous-produits liquides (margines) et solides (grignons, feuilles et brindilles). Les feuilles d'olivier sont engendrées en grande quantité par l'industrie oléicole. Durant la récolte, les feuilles sont cueillies avec les olives. Ces sous-produits sont écartés des olives dans les oliveraies mais aussi dans les huileries. Ils sont estimés à 10% de la masse globale des olives récoltées (**Aouidi, 2012**).

#### 3.1 Description des feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier sont larges, de forme ovale et de couleur vert argentée. Elles sont caractérisées par leur texture coriace, leurs bords lisses et leur face inférieure recouverte de petites écailles blanchâtres (**Amouretti et Comet, 1985**). La feuille est allongée et coriace avec des tailles variables selon la variété. Généralement, leur longueur 3 à 5 centimètres et leur largeur 1 à 1,5 (**Polese, 2009 ; Rombi et al., 2015**). Sa face supérieure est brillante, d'une couleur vert foncé, alors que sa face inférieure est grisâtre morne. Elle est inodore, amère et se renouvelle chaque trois ans (**Loussert et Brousse, 1978**).

#### 3.2 Variétés de feuilles d'olivier

Il existe de nombreuses variétés d'oliviers cultivées à travers le monde, chacune ayant ses propres caractéristiques en termes de taille, forme, couleur des fruits et saveur de l'huile d'olive produite.

La variété d'olivier **Chemlal** (également appelée *Achemlal de Kabylie*) et la variété **Azeradj** (ou *Adjeraz*) présentent des différences morphologiques distinctes. La variété Chemlal est robuste et produit de petits fruits, tandis que l'Azeradj se distingue par sa floraison précoce et ses feuilles elliptiques lancéolées. La variété Chemlal est privilégiée pour l'huile d'olive, contrairement à la variété Azeradj est plus adaptée à la consommation directe comme olive de table. Chaque variété a son propre profil aromatique et ses avantages spécifiques (**Mendil et Sebai, 2006**).



Figure 1: photographie de la feuille de la variété Azeradj.



Figure 2: photographie de la feuille de la variété Chemlal.

Voici un aperçu d'autres caractéristiques (ITAFV, 2023) :

### 1. Variété Chemlal (Achemlal, Achemli)

La variété chemlal est très vigoureuse et présente un port dressé. Ses fruits, petits et ovoïdes, présentent environ 2,5 g chacun. Elle est principalement cultivée en Kabylie et destinée à la trituration pour produire de l'huile d'olive. Elle présente un rendement en huile qui se situe entre 18-22%. Elle se distingue par ses taux élevés en eau et en composés phénoliques. Toutes ces caractéristiques font de la variété chemlal un choix très attrayant pour la production de l'huile.

### 2. Variété Azeradj

Azeradj est une variété cultivée en Kabylie. Elle est l'une des variétés les plus précieuses en termes de floraison (fin de mois de Mai). Ses fruits, de grande taille, et ses feuilles à la forme elliptique lancéolée, font d'elle une olive de table très appréciée en raison de sa bonne qualité.

### 3.3 Composition chimique des feuilles d'olivier

La composition chimique des feuilles diffère selon la variété, les conditions climatiques et l'âge des plantations (Nefzaoui, 1988). Elles renferment une grande quantité de carbohydrates. Elles sont riches en triterpènes, en flavonoïdes, en sécoiridoïdes dont l'oleuropéoside, en phénols et en polysaccharides y compris la cellulose et l'hémicellulose (Aouidi, 2012). Cette composition détaillée est donnée dans le tableau I.

**Tableau I** : Composition chimique global (Boudhrioua et al., 2009).

Les composants	La quantité (Boudhrioua et al, 2009)	Les composants	La quantité (Boudhrioua et al, 2009)
Eau	46,2-49,7 a	Cellulose	11,4 b
Protéines	5,0-7,6 a	Hémicellulose	13,3 b
Lipides	1,0-1,3 a	Lignine	14,2 b
Minéraux	2,8-4,4 a	Polyphénols totaux	1,3-2,3 b
Carbohydrates	37,1-42,5 a	Tannins solubles	0,3 b
Fibres brutes	18,0 b	Tannins condensés	1,0 b

a : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

b : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

MS : matière sèche.

**Tableau II** : composition en acides aminés des feuilles d'olivier exprimé en g par kg d'azote total (MARTIN-GARCIA et MOLINA-ALCOIDE, 2008).

Les acides aminés	La concentration	Les acides aminés	La concentration
Arginine	162,0	Tyrosine	32,3
Proline	84,2	Acide aspartique	27,5
Glycine	79,6	Histidine	25,4
Valine	74,8	Lysine	19,1
Alanine	73,8	Méthionine	5,36
Isoleucine	58,8	Cystéine	1,6
Phénylalanine	51,8	Leucine	1,04
Thréonine	46,8	Acides aminés essentiels	547
Serine	44,5	Acides aminés non essentiels	379
Acide glutamique	35,1		

**Tableau III** : composition en minéraux des feuilles d'olivier exprimé en g par kg de matière sèche (FEGEROS et al, 1995).

Les minéraux	La concentration
Fer (F)	273,0
Magnésium (Mg)	50,0
Zinc (Zn)	21,3
Calcium (Ca)	12,7
Cuivre (Cu)	10,7
Potassium (K)	6,3
Phosphore (P)	2,1
Manganèse (Mn)	1,9

### 3.4 Utilisation traditionnelle et activités biologiques des feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier sont réputées pour leurs propriétés médicinales et leur utilisation dans la médecine traditionnelle. Voici quelques utilisations traditionnelles des feuilles d'olivier : les feuilles d'olivier peuvent être préparés en infusion pour ses propriétés antioxydants et anti-inflammatoires (Peršurić et al., 2019) protégeant ainsi le consommateur des rhumes et des gripes (Benavente-García et al., 2000).

Ces feuilles sont réputées pour leur capacité à réduire la pression artérielle. Elles contiennent des composés tels que l'oléuropéine, qui peuvent aider à dilater les vaisseaux sanguins et à améliorer la circulation sanguine. Certaines études ont suggéré que la consommation régulière du thé à base de feuilles d'olivier peut contribuer à réduire la tension artérielle chez les personnes souffrant d'hypertension (Giao et al., 2007). L'un des hypotenseurs les plus fascinant, plusieurs études ont révélé que l'injection intraveineuse de l'infusion des feuilles d'Olivier séchées chez la souris restait inefficace contre une tension artérielle normale, mais avait un effet décroissant sur l'hypertension induite par la rénine et la noradrénaline (De la Ribeiro et al., 1986). Grace à leur richesse en acides gras mono insaturés, notamment l'acide oléique, elle induit une diminution des lipides du plasma dont LDL et VLDL (Huang et Shumpio, 2008).

Elles peuvent également être bénéfiques pour les personnes atteintes de diabète. Des études ont montré que les extraits de feuilles d'olivier peuvent aider à réguler les niveaux de sucre dans le

sang en améliorant la sensibilité à l'insuline et en réduisant la résistance à l'insuline (**Sedef et Karakaya, 2009**). Elles ont des propriétés antimicrobiennes et antifongiques. Elles ont été utilisées traditionnellement pour traiter les infections bactériennes, les infections fongiques et les problèmes de peau tels que l'acné. De plus, elles peuvent aider à soulager les problèmes digestifs tels que les brûlures d'estomac et les ballonnements (**Bennani et al., 2007**).

### 3.5 Applications des feuilles d'olivier

#### ○ Cosmétique

Les extraits de feuilles d'olivier sont souvent intégrés dans des produits de soins pour la peau et les cheveux dans des crèmes, des lotions, des savons et d'autres produits. Ils sont utilisés dans cette industrie pour leurs propriétés hydratantes, apaisantes et antioxydantes (**Erbay et Icier, 2010**).

#### ○ Agro-alimentaire

Les feuilles d'olivier sont utilisées dans l'assaisonnement ou incorporées dans des plats. Leurs extraits peuvent également être utilisés comme conservateurs naturels dans des produits alimentaires tels que les produits de la charcuterie, les produits marinés ou les sauces pour prolonger leur durée de conservation de manière naturelle (**Şahin et Bilgin, 2018**). En outre, l'extrait de feuilles d'olivier est utilisé dans des compléments alimentaires sous forme de capsules ou de comprimés, à consommer selon les recommandations du fabricant pour bénéficier des propriétés des feuilles (**Rajabiestrabadi et al., 2019**).

#### ○ Autres applications

Les feuilles d'olivier peuvent être séchées et utilisées comme litière pour animaux de compagnie (**Espeso et al., 2021**). Elles offrent une alternative naturelle aux litières synthétiques et peuvent avoir des propriétés antibactériennes et antifongiques.

---

## **Chapitre 2 : Les généralités sur le fromage**

---

## 1 Définition du fromage

Selon le codex alimentarius (1978), il est défini comme le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait, et qui est obtenu :

Par coagulation complète ou partielle des protéines du lait, du lait écrémé, du lait partiellement écrémé, de la crème, de la crème du lactosérum ou du babeurre, seuls ou en combinaison, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation

Par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation des protéines du lait et/ou des produits provenant du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques similaires à celles du produit défini à l'alinéa (a).

### 1.1 Types de fromage

Les fromages sont répartis en différentes catégories en fonction de divers critères tels que l'espèce animale, la teneur en eau et la technologie de fabrication. Selon la méthode de caillage (lactique ou présure), du mode d'égouttage et du type d'affinage il existe plusieurs types de fromages (**Mahaut et al., 2000**) :

- Frais ou à pâtes fraîches ;
- Pâtes molles à croûte fleurie et à croûte lavée ;
- Pâtes persillées ;
- Pâtes pressées non cuites et cuites ;
- Pâtes dures ;
- Pâtes filées ;
- Fondus.

## 2 Définition du fromage frais

Selon **Vignola (2002)**, le fromage frais se caractérise par une pâte molle non affinée, très humide, peu minéralisée, avec un goût crémeux ou acide peu marqué, facile à tartiner et à mélanger avec d'autres aliments. Il s'agit du résultat d'une coagulation lente à dominante acide, qui est obtenue par l'action des bactéries lactiques, combinée ou non à celle d'une faible quantité de présure. Ces fromages frais ont une durée de vie limitée de 24 jours (**Luquet et Corrieu, 2005**), en les maintenant à des températures allant de 0-2°C (**Dossou et al., 2006**).

## 2.1 Types de fromages frais

Différents types de fromages frais existent (**Luquet et Corrieu, 2005**) :

- Fromage blanc : c'est le type le plus connu, car il n'est pas affiné et ni soumis à d'autres fermentations à part la fermentation lactique. Il est confectionné à partir de lait écrémé ou partiellement écrémé et est disponible, soit nature, sucré, salé ou aromatisé. En général, sa texture est lisse et onctueuse.
- Petit suisse : qui est un dessert à base de lait entier qui se distingue par sa forme cylindrique et sa texture très crémeuse. Il est dégusté généralement cru ou avec un peu de sucre, mais il peut aussi être utilisé comme base pour la préparation de desserts.
- Demi-sel fréquemment parfumés avec l'ail, les fines herbes, le poivre ou autres.

## 2.2 Composition et valeur nutritive

D'après la **FAO (1995)**, le fromage frais présente une grande valeur biologique et nutritionnelle, car il offre une alimentation équilibrée riche en protéines, en calcium et en vitamines A et D. Il est bon pour les enfants, les adolescents, les femmes enceintes et les personnes âgées (**Luquet et Corrieu, 2005**) et présente une faible teneur en glucides pour les personnes atteintes de diabète. Le tableau IV présente la valeur nutritionnelle moyenne du fromage frais.

**Tableau IV** : valeur nutritionnelle moyenne du fromage frais (**Richonnet, 2015**).

Constituants	Teneur
Matière sèche %	40
Protéines (g/100 g)	10
Lipides (g/100 g)	17
Acides gras saturés (AGS) (mg/100 g)	12
Lactose (g/100 g)	3
Sodium (mg/100 g)	520
Calcium (mg/100 g)	85
Phosphore (mg/100g)	155

### 3 Technologie de fromage

Selon **Mahaut et al. (2000)** la fabrication des fromages se fait en quatre étapes :

- **Première étape (standardisation) :** la transformation du lait au fromage diffère d'un lait à un autre ce dernier présente des caractéristiques à savoir la
- richesse en caséine, les équilibres salins, la teneur en lactose, la qualité hygiénique et le confort thermique. Pour garantir à la fin de fabrication un fromage de qualité répondant aux exigences demandées par la législation. Les industriels standardisent le lait par plusieurs moyens.
- **Deuxième étape (coagulation) :**
  - Par voie acide : A l'aide de ferments lactiques qui transforment le lactose en acide lactique ou par acidification chimique en ajoutant le CO<sub>2</sub> avec du GDL (gluconodelta lactone) comme il est possible d'ajouter les protéines sériques à un pH acide ;
  - Par voie enzymatique : en introduisant dans le lait des enzymes protéolytiques d'origine animale;
  - Par voie mixte : en utilisant à la fois de la présure et de l'acidification. C'est une voie qui est utilisée essentiellement dans la fabrication des fromages à pâte molle et à pâte pressée non cuite.
- **Troisième étape (égouttage) :** dans cette étape le lactosérum présent dans les mailles du gel formé est éliminé progressivement. L'égouttage commence depuis les cuves de coagulation, puis dans les moules et enfin dans les hâloirs d'affinage.
- **Quatrième étape (affinage) :** selon le type du fromage, le caillé pourrait être affiné ou non. Cette phase d'affinage consiste à digérer les constituants du caillé à l'aide d'enzymes.

Le schéma suivant résume les différentes étapes :

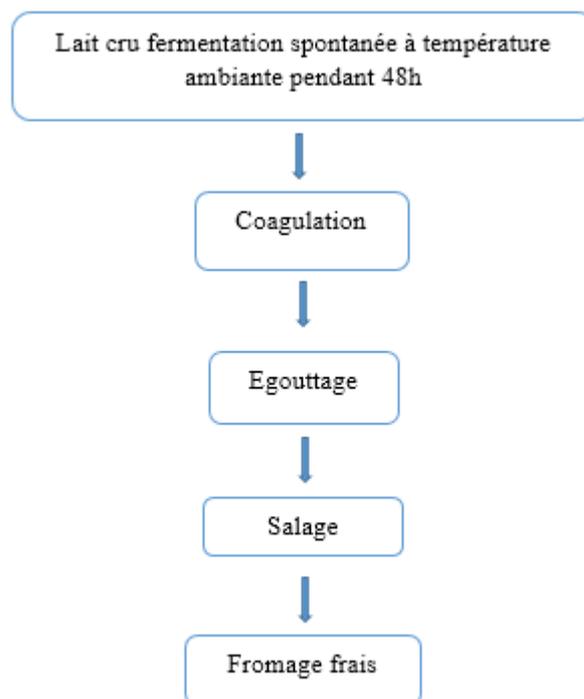


Figure 3: schéma de la technologie de fabrication d'un fromage frais traditionnel

#### 4 Fortification alimentaire ou enrichissement des aliments

Selon l'OMS et FAO la fortification des aliments est définie comme étant "l'action qui consiste à augmenter délibérément la teneur d'un aliment en un micronutriment essentiel (vitamines et minéraux, y compris oligo-éléments), de façon à améliorer la qualité nutritionnelle de l'alimentation et à apporter un bénéfice sur le plan de la santé publique avec un risque minimal pour la santé."

Dans ce présent travail, notre intérêt se porte sur l'enrichissement du fromage frais en utilisant les feuilles d'olivier connues par leur richesse en substances bioactives et dépourvues d'effets néfastes sur la santé. Pour cela, un recensement de travaux antérieurs relatifs à l'enrichissement des fromages par les produits naturels est fait au préalable, afin de diversifier la gamme de fromage déjà existante et de leur donner une valeur ajoutée.

#### 5 Enrichissement des fromages

Selon **Difonzo et al. (2023)** l'industrie alimentaire génère divers sous-produits, dont le potentiel est non négligeable. Certains d'entre eux peuvent être valorisés grâce à leur richesse en antioxydants y compris les polyphénols et en composés dotés de propriétés antimicrobiennes mais aussi à leur application dans la production de fromage a été testée avec des résultats positifs.

Les travaux réalisés récemment sur l'enrichissement des fromages par les produits naturels y compris les sous-produits sont énumérés dans le tableau suivant :

**Tableau V** : travaux sur l'enrichissement des fromages par les sous-produits et les produits naturels (Difonzo et al., 2023).

Type de fromage	Les sous-produits	Le but
<b>Fromage frais</b>	L'écorce de concombre	Prolonger la durée de conservation.
<b>Fromage doux</b>	Sous-produit d'olive	Améliore les propriétés anti oxydantes et sensorielles.
<b>Fromage doux</b>	feuilles de céleri	Améliore la qualité antimicrobienne, la texture et les propriétés sensorielles
<b>Fromage à tartiner</b>	peau de raisin blanc	Améliore la qualité antioxydante
<b>Mozzarella</b>	Peau de banane	Améliore les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.
<b>Fromage Ricotta</b>	Enrichissement en phytostérol	Réduire le niveau de cholestérol sanguin en diminuant son absorption intestinale
<b>Fromage frais</b>	Coque de châtaigne	enrichissement nutritionnel et l'allongement de la durée de vie
<b>Fromage de brebis</b>	Liposomes de lécithine d'huile essentielle de thym	Améliore l'activité antioxydante
<b>Fromage à tartiner</b>	Extraits de thé de montagne et d'écorce d'orange.	Améliore la qualité nutritionnelle
<b>Fromage de brebis</b>	Enrichissement avec Sulla coronarium L	améliore l'état oxydatif des animaux
<b>Fromage Kradi</b>	Safran	Améliore la qualité organoleptique et nutritionnelle
<b>Fromage/lait de fromage</b>	Feuilles d'olivier	Améliore les propriétés de fromage et la valeur nutritionnelle
<b>Fromage en saumure</b>	Micro-algues	Améliore les caractéristiques microbiologiques et métaboliques

<b>Fromage Ricotta</b>	Brocoli	Améliore les propriétés physicochimiques, antioxydants, rhéologiques et sensoriels
<b>Fromage blanc</b>	Framboise, Myrtille et Sureau	Améliore la qualité nutritionnelle et antimicrobienne

---

## **Matériel et méthodes**

---

## 1 Matériel

### 1.1 Matériel végétal

Les feuilles d'olivier (Figure 4) ont été récoltées au mois de février de l'année 2024 et sont issus de différentes régions, de la wilaya de Bouira, la première variété Azeradj vient de la région Ouatouf Ahl El ksar et la deuxième variété Chemlal Talamine Ahl El Ksar Bouira.



Figure 4 : photographie des feuilles d'olivier.

### 1.2 Produits chimique

Les produits utilisés pour la réalisation de ce travail : Acide citrique, Glucose, Monocarbonate de sodium ( $\text{NaCO}_3$ ), Folin Ciocalteu, chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), Ethanol, DPPH, Vanilline, HCl, Méthanol, Phosphomolybdate d'ammonium, ABTS, NaOH, et Phénolphtaléine.

### 1.3 Appareillage

Etuve ventilée, Balance, Plaque agitatrice, Bain- Marie, Spectrophotomètre UV-Visible, pH mètre, Four à moufle et Réfractomètre.

## 2 Méthodes

### 2.1 L'échantillonnage

Une fois récoltés, les feuilles d'olivier sont bien nettoyées à l'eau et sont essuyées par un papier absorbant. Elles sont par la suite mises dans une étuve ventilée à 40 °C pendant 48 h. Les feuilles ont été broyées l'aide d'un broyeur afin d'obtenir une poudre, cette dernière est tamisée (250 $\mu\text{m}$ ) (Figure 5).



Figure 5: photographie des poudres de deux variétés Chemlal (C) et Azeradj (A).

## 2.2 Préparation du solvant eutectique d'extraction (2/1)

Une classe de solvant très prometteuses sont les solvants eutectiques profonds (DES), qui comprennent des donneurs de liaisons hydrogène (HBD) et des accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) par interaction de liaisons hydrogène (**Mansur et al., 2019**). Le rapport approprié des composants est choisi pour former un mélange eutectique. Comparés aux solvants organiques, les DES sont faciles à préparer, présentent de faibles niveaux de toxicité et sont largement biodégradables.

Le solvant eutectique utilisé dans cette étude est préparé selon la méthode rapportée par (**A,R Mansur et al., 2019**). Le HBA (glucose) et le HBD (acide citrique) ont été combinés dans le rapport molaire (2 :1) et agités en continu à une vitesse de 600 rpm à 70°C à l'aide d'une plaque magnétique jusqu'à formation d'une solution uniformément transparente.

## 2.3 Extraction par solvant

Le schéma présenté dans la figure 6 résume les différentes étapes du protocole d'extraction par solvant. D'abord nous avons mélangé la poudre des feuilles d'olivier avec le solvant (acide citrique/ glucose). Par la suite, ce mélange est agité à une température de 60°C. L'agitation de cette étape permet d'améliorer l'extraction des composés d'intérêt présents dans les feuilles (PPT). Une fois que le mélange a été agité, il est filtré pour séparer l'extrait des résidus solides. Enfin, le produit final de cette méthode d'extraction par solvant est l'extrait obtenu après filtration.



Figure 6 : schéma de protocole de préparation de l'extrait.

## 2.4 Etude préliminaire

Dans le but d'optimiser les conditions d'extraction des polyphénols totaux contenus dans des feuilles d'olivier, trois facteurs majeurs ont été choisis :

- Le temps d'extraction : 30 min, 60 min, 90 min et 120 min.

- La vitesse d'agitation : 100 rpm, 300 rpm, 500 rpm, 700 rpm et 900 rpm.
- Le rapport solide/liquide : 1/30 g/mL, 1/40 g/mL, 1/50 g/mL, 1/60 g/mL, 1/70 g/mL, 1/80 g/mL et 1/90g/mL

Pour chaque essai, nous avons fait varier un paramètre et fixé tous les paramètres restants.

## 2.5 Optimisation

Un modèle composite central (CCD) pour l'extraction a été utilisé avec trois variables indépendantes, le temps (X1), la vitesse d'agitation (X2) et le rapport solide/liquide (X3) sur la réponse polyphénols totaux (PPT). Le plan expérimental contenait 20 essais, avec 8 points factoriels, 6 points axiaux et 6 points centraux.

## 2.6 Préparation du fromage frais

Le schéma ci-dessous explique les étapes à suivre pour préparer du fromage frais traditionnellement :

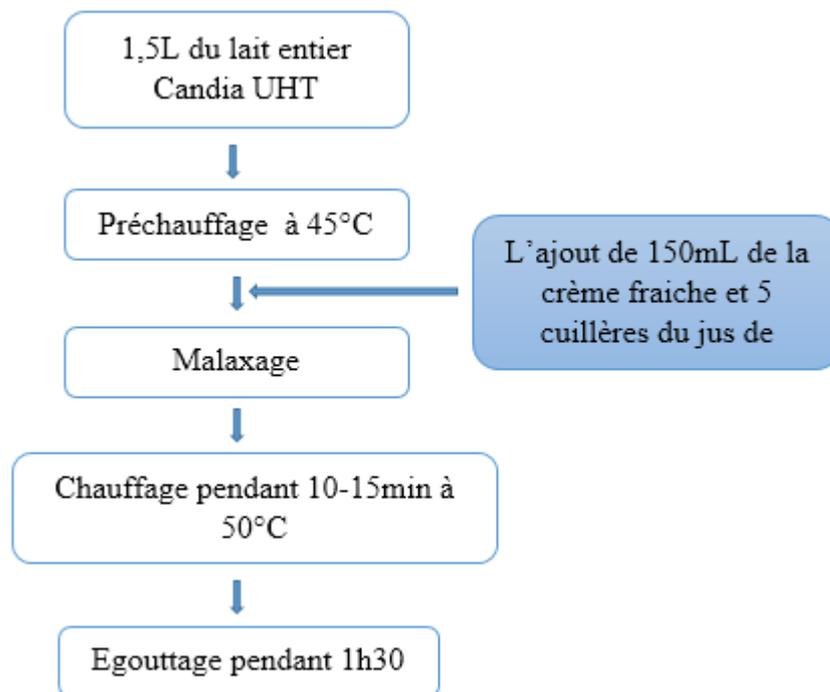


Figure 7: schéma explicatif de la préparation d'un fromage frais traditionnellement

### 3 Etude phytochimique

#### 3.1 Dosage des polyphénols totaux

**Principe :** le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Lors de l'oxydation des phénols, il est réduit, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

**Mode opératoire :** dans un tube à essai 500 $\mu$ L d'échantillon est mélangé avec 2500 $\mu$ L du Folin-Ciocalteu (dilué 1/10) et 1mL de Monocarbonate de sodium  $NaCO_3$  L'ensemble des tubes sont mis au bain-Marie à une température de 50 °C pendant 15 min. La lecture des absorbances se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à 760nm (**Brahmi et al., 2022**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 100 g de matière sèche.

#### 3.2 Dosage des flavonoïdes

**Principe :** une formation d'un complexe coloré est due à la présence du chlorure d'aluminium en raison que les flavonoïdes possèdent un groupement (OH) libre en position 5 et groupement CO. Des complexes jaunâtres sont formés par les flavonoïdes sous l'action de chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Benderradji, 2018**).

A la fin du dosage nous allons avoir de différentes absorbances qui vont servir pour le calcul des concentrations, en utilisant l'équation de courbes d'étalonnage réalisée avec la quercétine.

**Mode opératoire :** à partir de l'extrait dilué (1/3) on prend 1ml et on l'ajoute 1ml de chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (2%) (**Brahmi et al., 2015**). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 15min. L'absorbance est mesuré à 430nm.

#### 3.3 Dosage des tannins condensés totaux

**Principe :** les tannins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide, basée sur la capacité de celle-ci à réagir avec les unités des tannins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré qui absorbe à 550 nm. La réactivité de la vanilline avec les tannins n'implique que la première unité du polymère (**Julkunen- Titto, 1985**).

**Mode opératoire :** l'extrait des feuilles d'olivier (50  $\mu$ L) a été mélangé avec 150  $\mu$ L de la vanilline/méthanol à 4% dans des tubes à essai, ensuite le mélange est agité par le vortex. Après 24 h d'incubation à 4 °C, 750  $\mu$ L d'HCL est ajouté au mélange déjà préparé. L'ensemble est laissé agir pendant 20 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 550 nm, les

résultats sont rapportés en mg équivalent acide tannique par 100 g de matière sèche.

### 3.4 Evaluation de l'activité antioxydante

#### 3.4.1 Pouvoir anti-radicalaire au DPPH

**Principe :** le DPPH<sup>•</sup> (2,2-Diphényle-1-picryl-hydrazyl), est un radical libre stable violet en solution, et présente une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH<sup>•</sup> est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Talbi et al., 2015).

**Mode opératoire :** la solution de DPPH est préparée à 0,1 mM, puis 2 mL de chaque extrait dilué est mélangé avec 150 µL de la solution au DPPH. Le mélange est incubé pendant 1 h à l'obscurité et les l'absorbance est lue à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm (Brahmi et al., 2015). Le pourcentage de réduction des radicaux DPPH<sup>•</sup> est exprimé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [\text{Abs}_{\text{cont}} - \text{Abs}_{\text{écha}} / \text{Abs}_{\text{cont}}] \times 100$$

Sachant que :

I% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs<sub>cont</sub> : Absorbance du contrôle.

Abs<sub>écha</sub> : Absorbance de l'échantillon.

L'IC<sub>50</sub> qui est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH<sup>•</sup> est ensuite calculée graphiquement et les résultats sont exprimés en mg/mL (Selaimia et al., 2020).

#### 3.4.2 Test de décoloration du cation radicalaire ABTS<sup>•+</sup>

**Principe :** Cette méthode est basée sur l'électrooxydation chimique de l'ABTS par sa réaction avec le persulfate de potassium en donnant un radical ABTS<sup>•+</sup> de couleur bleu-vert (Schwarz et al., 2007). Ce radical (ABTS<sup>•+</sup>) est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote d'ABTS. En présence d'un antioxydant (donneur H), l'atome d'azote concerné piège un proton H conduisant à ABTS<sup>+</sup>, ce qui entraîne la décoloration de la solution. Cette décoloration est mesurée par spectrophotomètre à 734 nm (Kim et Lee, 2009).

**Mode opératoire :** 100 µL d'extrait sont ajoutés à 3 mL d'ABTS qui a été dilué avec l'éthanol jusqu'à obtention d'une absorbance de 0,7 ± 0,02nm. Le tout est incubé pendant 10 min ensuite l'absorbance est mesurée à 734 nm.

Le pourcentage d'inhibition ainsi que l'IC<sub>50</sub> ont été déterminés de la même manière tel que il a été décrit précédemment pour le DPPH.

### 3.4.3 Test de phosphomolybdate d'ammonium

**Principe :** la méthode utilisant le phosphomolybdate d'ammonium est un test antioxydant important basé sur la réduction de Mo<sup>+6</sup> en Mo<sup>+5</sup> par un composé antioxydant. Ceci conduit à la formation d'un complexe de phosphate/ Mo<sup>+5</sup>, de couleur verte, avec une absorption maximale à 695 nm (Nagavani et al., 2010).

**Mode opératoire :** dans des tubes à essai sont introduits 200 µL à différentes concentrations d'extraits, puis 2mL de réactif de phosphomolybdate d'ammonium composé de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,6 M), de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(28 mM) et du phosphomolybdate d'ammonium (4 mM) est ajouté et le mélange est incubé à 90 °C pendant 1 h et 30 min au bain Marie. Enfin, la lecture est faite au spectrophotomètre à 695 nm (Brahmi et al., 2014). Les résultats sont exprimés en IC<sub>50</sub> (mg/mL).

## 4 Analyses physico-chimiques du fromage frais

### 4.1 pH

Le pH des fromages élaborés a été mesuré par immersion directe de la sonde pH dans les échantillons à analyser.

### 4.2 Acidité titrable

**Principe :** l'acidité titrable a été réalisée selon le protocole décrit par **Shori et Baba (2013)**.

**Mode opératoire :** une quantité de chaque fromage (1g) a été additionnée à 10mL d'eau distillée, la solution obtenue a été homogénéisée. Pour déterminer l'acidité de chaque échantillon, quelques gouttes de phénolphtaléine ont été ajoutées à la solution préparée puis le titrage est effectué avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1N) jusqu'au virage de couleur.

L'acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où : 1°D représente 0,1g d'acide lactique dans un litre de lait. L'acide lactique est déterminé par la loi suivante :

$$C_m = 9 \times \frac{V_{eq}}{V_a}$$

$C_m$  : concentration massique (g/l).

$V_{eq}$  : volume de NaOH utilisé (ml).

$V_a$  : volume de lait (fromage) utilisé (ml)

L'acidité titrable est estimée comme suit :

$$AT (°D) = C_m \times 10$$

### 4.3 Brix

Le degré Brix est déterminé à l'aide d'un réfractomètre (Atago, Tokyo, Japon). Il représente la matière sèche soluble présente dans l'échantillon et est corrélé à la teneur en sucres (**Roussos et al., 2011**).

### 4.4 Détermination du taux de cendres

**Principe :** la détermination du taux de cendres d'un échantillon donné consiste à le faire calciner dans un four à moufle jusqu'à l'obtention d'une cendre blanche à grise (**NF V05113, 1972**).

**Mode opératoire :** Trois creusets en porcelaine contenant 1 g d'échantillon de chaque fromage ont été placés dans un four (**Nabertherm, Allemagne**) réglé à 900 °C pendant 1h30 min.

La teneur en cendre est déterminée selon la formule suivante :

$$CD\% = ((M1-M2) /P) \times 100$$

Sachant que :

**Cd%** : Teneur en cendre.

**M1** : Masse du creuset + cendre en (g)

**M2** : Masse du creuset vide (g)

**P** : Masse de la prise d'essai (g)

## 5 Analyse statistique

Tous les résultats sont exprimés en moyennes de trois valeurs  $\pm$  écart types. Les résultats des essais préliminaires sont analysés par STATISTICA version 10, basé sur l'analyse de la variance (ANOVA- MANOVA). Les résultats expérimentaux du plan d'expérience de CCD sont analysés par le logiciel JMP.

---

## **Résultats et discussion**

---

## 1 Extraction des polyphénols totaux

### 1.1 Etude préliminaire

#### a) Effet du temps

Les performances de l'extraction des composés phénoliques sont influencées par divers facteurs, tels que le temps (**Che Sulaiman et al., 2017**). L'évaluation de l'impact du temps d'extraction des composés phénoliques des feuilles d'olivier des deux variétés prédominantes locales (Azeradj et Chemlal) est illustrée dans la figure suivante :

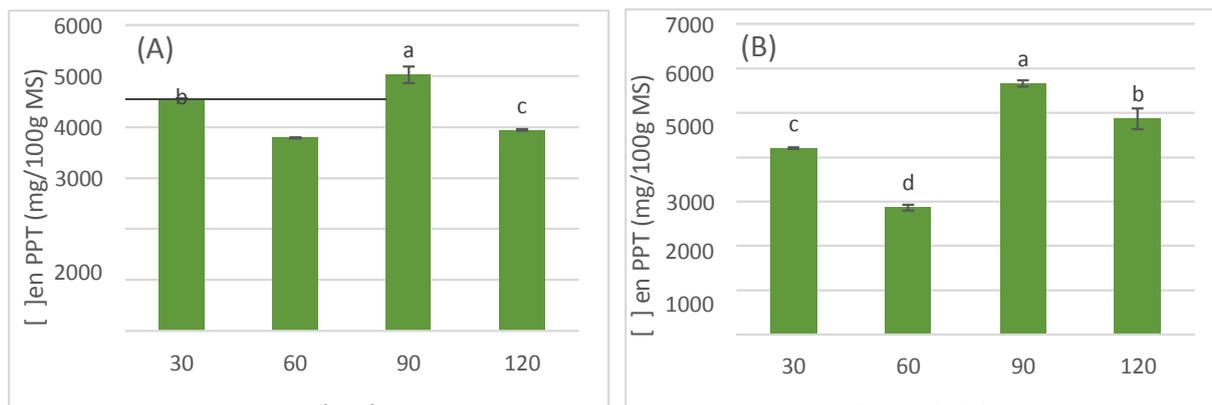


Figure 8: effet de temps d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux des feuilles d'olivier de la variété Azeradj (A) et de la variété Chemlal (B).

Les moyennes en concentrations en polyphénols totaux affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

Les données relatives à l'effet du temps sur l'extraction des polyphénols totaux (PPT) de la variété Azeradj indiquent une relation différentielle. À l'origine, le taux de PPT est de 4546,3 mg EAG/100 g MS à 30 minutes, mais cette valeur diminue à 3787,04 mg EAG/100 g MS après 60 minutes. Le rendement atteint un maximum de 5023,14 mg EAG/100 g MS à 90 minutes, puis descend à 3939,81 mg EAG/100 g MS à 120 minutes. Cette variabilité laisse entendre qu'il y a une durée idéale pour extraire les polyphénols, qui semble être d'environ 90 minutes. Une fois cette période écoulée, il est probable que le rendement diminue en raison de la dégradation des polyphénols ou de l'épuisement des composés extraits. Par conséquent, afin d'optimiser l'extraction, il est conseillé de viser une durée d'environ 90 minutes.

L'extraction des PPT des feuilles d'olivier de la variété Chemlal varie de manière significative avec le temps. Le rendement est de 4203,7 mg EAG/100 g MS à 30 minutes, puis de 2861,10 mg EAG/100 g MS à 60 minutes. Un sommet est atteint à 90 minutes avec une

teneur de 5662,03 mg EAG/100 g MS pour diminuer après à 120 minutes (4861,10 mg EAG/100 g MS). Selon cette tendance, la durée d'extraction idéale est de 90 minutes. Une extraction prolongée peut conduire à une détérioration des composés, ce qui réduit leur efficacité.

Le temps d'extraction dépend de plusieurs facteurs y compris la méthode, le taux d'extraction des PPT des feuilles d'olivier est relativement important au cours des 30 premières minutes, puis diminuait progressivement en utilisant l'extraction aux ultrasons (Irakli et al., 2018). En revanche, les méthodes conventionnelles telles que l'extraction à l'éthanol et à l'eau bouillante peuvent nécessiter jusqu'à 2 heures pour atteindre des efficacités maximales, augmentant ainsi l'efficacité de l'extraction (Altemimi et al., 2016).

**b) Effet de la vitesse d'agitation**

La vitesse d'agitation est parmi aussi les paramètres qui peuvent influencer l'extraction des composés phénoliques. Dans cette étude, l'impact de différentes vitesses d'agitation allant de 100 à 900 rpm sur l'extraction des PPT des feuilles de deux variétés d'olivier est donné dans les histogrammes suivant :

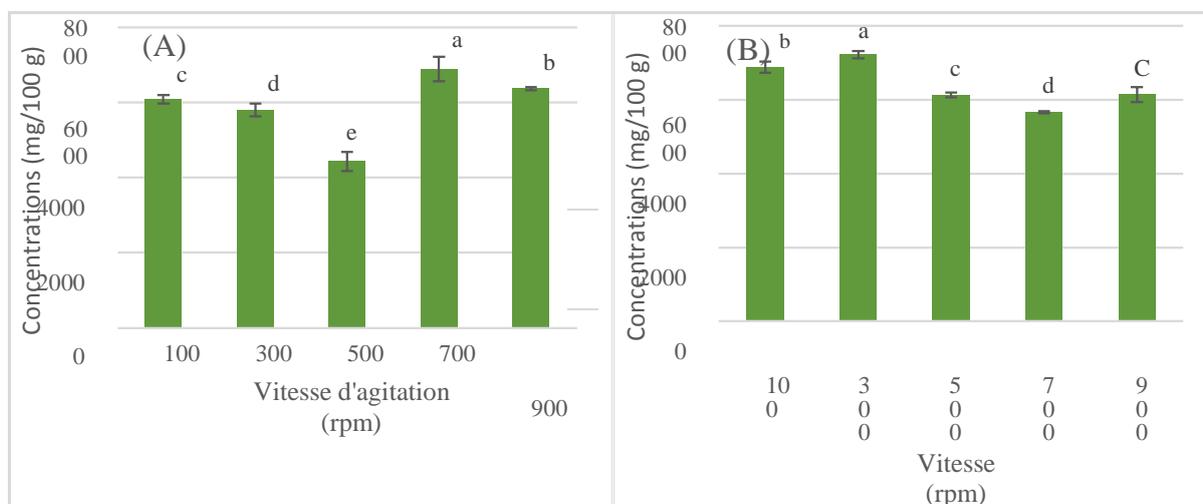


Figure 9: effet de la vitesse d'agitation sur la teneur en polyphénols totaux des feuilles d'oliviers de la variété Azeradj (A) et la variété Chemlal (B).

Les moyennes en concentrations en polyphénols totaux affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives (P < 0,05), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

Selon l'analyse des effets de la vitesse d'agitation, nous constatons que la vitesse optimale pour extraire les polyphénols totaux de la variété Azeradj est de 700 tr/min, avec un rendement de 6888,89 mg EAG/100 g MS. À des vitesses inférieures (100 tr/min et 300 tr/min), les performances sont de 6083,33 et 5796,3, respectivement. Tandis que, une baisse importante est notée à 500 tr/min (4421,29 mg EAG/100 g MS). Le rendement à 900 tr/min (6365,74 mg EAG/100 g MS) est inférieur à celui donné par 700 tr/min. Cela laisse entendre qu'une agitation modérée favorise un contact plus efficace entre le solvant et le matériau végétal, ce qui permet une extraction plus efficace.

En outre, il a été démontré que la vitesse d'agitation de 300 tr/min est la plus performante pour extraire les polyphénols des feuilles de la variété Chemlal, avec un rendement de 7226,85 mg EAG/100 g MS. Les rendements sont plus faibles à des vitesses plus basses (100 tr/min) et plus élevées (900 tr/min), de 6884,26 et 6143,52, respectivement. À 500 tr/min, nous constatons une baisse significative avec un taux de 6138,89 mg EAG/100 g MS. Selon cela, il est recommandé d'utiliser une agitation modérée à 300 tr/min afin de maximiser l'extraction en garantissant un contact optimal entre le solvant et le matériau végétal.

**c) Effet du Ratio**

Le troisième facteur étudié qui peut affecter l'extraction des PPT étant le ratio solide/liquide. De nombreuses études indiquent que le rapport solvant/solide est normalement exprimé comme le rapport entre le volume de solvant (mm<sup>3</sup>) et le poids de l'échantillon d'extraction (gramme) et est considéré comme un facteur important dans l'extraction des composés phénoliques des feuilles d'olivier.

Les résultats obtenus concernant son effet sur le rendement des PPT de feuilles d'olivier sont enregistrés dans les figures suivantes :

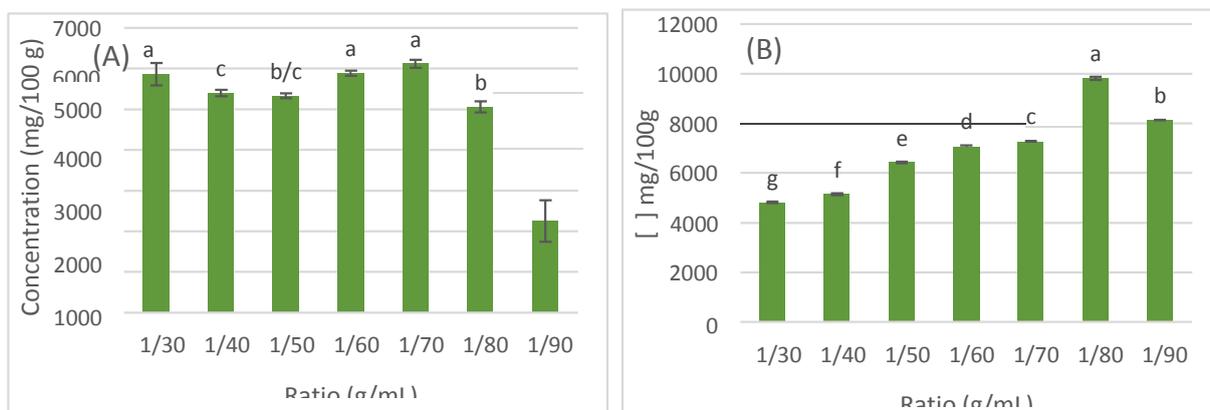


Figure 10: effet de ratio sur la teneur en polyphénols totaux de la variété Azeradj (A) et de la variété (B).

Les moyennes en concentrations en polyphénols totaux affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

Selon l'étude de l'impact du rapport solvant/échantillon sur la poudre des feuilles d'olivier de la variété Azeradj, il est démontré que le ratio idéal pour extraire les polyphénols est de 1/70 (g/mL), avec un rendement maximal de 6117,72 mg EAG/100 g MS. Les ratios élevés ou bas entraînent des rendements plus faibles. Par exemple, avec un ratio de 1/30 (g/mL), le rendement atteint 5855,37 mg EAG/100 g MS, tandis qu'avec un ratio de 1/90, il diminue considérablement à 2247,47 mg EAG/100 g MS. Il est évident que l'utilisation d'un ratio intermédiaire permet d'obtenir un volume de solvant adéquat pour extraire les polyphénols de manière efficace sans diluer excessivement le mélange, ce qui est essentiel pour une extraction optimale.

Le rapport entre le solvant et l'échantillon est essentiel pour améliorer l'efficacité de l'extraction des polyphénols. Le rapport idéal pour la variété Chemlal est de 1/80 (g/mL), ce qui entraîne un rendement de 9822,53 mg EAG/100 g MS. Les rendements sont moins élevés pour les ratios inférieurs (1/30 g/mL) ou légèrement supérieurs (1/90 g/mL), avec des teneurs de 4811,72 mg EAG/100 g MS et 8139,73 mg EAG/100 g MS, respectivement. Ces résultats mettent en évidence le fait qu'un ratio de 1/80 (g/mL) permet d'obtenir un volume de solvant adéquat pour une extraction optimale.

Le rapport solvant/solide utilisé par les chercheurs pour l'extraction des feuilles d'olivier variait énormément entre 4 et 100, mais un rapport entre 10 et 50 était principalement rapporté dans la littérature.

Dans cette étude, trois rapports solvant-solide différents (20 %, 25 % et 30 %) ont été étudiés. L'analyse des résultats pour les composés phénoliques totaux indique que les composés phénoliques totaux sont significativement affectés par le rapport solvant-solide.

Selon **Elboughdiri et al. (2018)**. Plus le rapport solvant/solide est élevé (30 %), plus la teneur en PPT obtenu à partir des feuilles d'olivier est élevée (24,5 mg d'acide caféique/g MS), ce qui suggère que le rapport solvant/solide a un effet positif sur le rendement d'extraction. Ceci est conforme aux principes de transfert de masse. La force motrice lors du transfert de masse est le gradient de concentration entre le solide et la majeure partie du liquide, qui est plus grand lorsqu'un rapport solvant/solide plus élevé est utilisé.

Cette étude préliminaire a permis d'identifier les limites inférieures et supérieures d'extraction des polyphénols totaux pour les deux variétés d'olivier étudiées et les variables

utilisées, pour une optimisation plus poussée du processus d'extraction des polyphénols en utilisant le plan de surface réponse est réalisé (Tableau VI).

**Tableau VI** : niveaux des facteurs choisis pour les essais de l'extraction.

Variable s	Variété Azeradj			Variété Chemlal		
	Niveaux coudés					
	-1	0	+1	-1	0	+1
<b>Temps (min)</b>	60	90	120	60	90	120
<b>Vitesse (rpm)</b>	500	700	900	100	300	500
<b>Ratio (g/mL)</b>	1/60	1/70	1/80	1/70	1/80	1/90

## 1.2 Optimisation par la méthodologie de surface réponse

La méthode d'extraction, la nature et la concentration du solvant, la température d'extraction, le pH et le temps d'extraction peuvent tous avoir un impact sur l'efficacité de l'extraction des polyphénols (**Banik et Pandey, 2007**). L'extraction des polyphénols totaux à partir des feuilles d'oliviers a été optimisée en utilisant trois facteurs : le temps ( $X_1$ ), la vitesse d'agitation ( $X_2$ ) et le ratio ( $X_3$ ). L'impact combiné de ces facteurs peut être analysé en utilisant la méthodologie de surface de réponse (MSR), un outil mathématique et statistique qui est couramment employé pour améliorer les conditions expérimentales d'un processus. Le plan central composite a été choisi pour cette optimisation.

Le tableau ci-dessous représente les résultats des expériences de ce plan.

**Tableau VII :** plan et résultats d'optimisation des condition d'extraction par plan central composite précis pour les extraits des échantillons du poudre des feuilles d'oliviers de la variété Azeradj et la variété Chemlal.

**Azeradj**

**Chemlal**

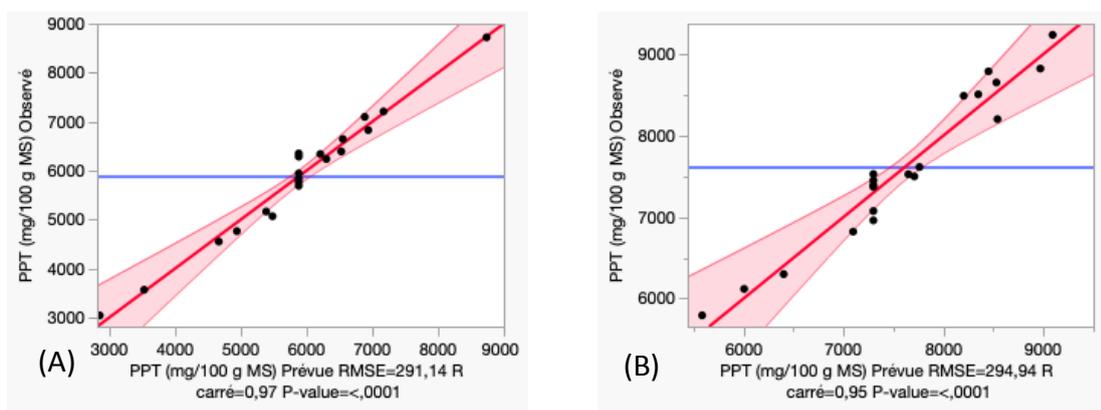
Configuration	Temps (min)	Vitesse d'agitation (rpm)	Ratio (1g/mL)	PPT expérimentales (mg/100 g MS)	PPT prédites (mg/100 g MS)	Configuration	Temps (min)	Vitesse d'agitation (rpm)	Ratio (1g/mL)	PPT expérimentales (mg/100 g MS)	PPT prédites (mg/100 g MS)
000	90	700	70	6349,21	5880,79	00a	90	300	70	8505,29	8348,27
+ +	60	900	80	8719,14	8738,43	++	12	500	90	10235,69	9091,86
+ 0						+	0				
000	90	700	70	5833,33	5880,79	000	90	300	80	9074,04	7298,84
0a0	90	500	70	4761,90	4938,49	0a0	90	100	80	6820,99	7096,38
++ 0	12	900	60	4548,61	4664,10	000	90	300	80	7391,98	7298,84
- a00	60	700	70	5066,14	5481,64	++ -	12	500	70	8201,06	8540,78
- -	60	500	60	3564,81	3528,68	+-	60	500	90	6498,32	7708,44
- +	60	500	80	3040,12	2852,42	000	90	300	80	6450,62	7298,84
+ A0	12	700	70	6335,98	6209,32	+-	12	100	90	7525,25	7648,76
0 0	0					+	0				
000	90	700	70	6283,07	5880,79	+-	12	100	70	5793,65	5585,90
- +	60	900	60	7094,91	6883,95	00	90	300	90	8821,55	8969,10
- 00a	90	700	60	5162,04	5385,14	+-	60	500	70	8650,79	8529,65
000	90	700	70	5687,83	5880,79	000	90	300	80	6759,30	7298,840
++ 0	12	500	80	6388,89	6527,63	--	60	100	90	8787,88	8450,53
+ 0	0					+					
000	90	700	70	5767,20	5880,79	000	90	300	80	5370,37	7298,84
+- 0	12	500	60	6643,25	6551,75	0A	90	500	80	8487,65	8202,78
- 00	90	700	80	6234,57	6300,31	a00	60	300	80	7299,38	6401,56
A ++	12	900	80	7206,79	7170,71	000	90	300	80	6527,78	7298,84
+ 0	0										
000	90	700	70	5941,80	5880,79	--	60	100	70	6613,76	7759,96
0A 0	90	900	70	6825,40	6937,66	A0	12	300	80	5817,90	6006,24
0 0	0					0	0				

Les conclusions expérimentales révèlent une grande variation des PPT en fonction des conditions, avec des valeurs variant de 2852,42 à 8738,43 mgEAG/100 g MS pour la variété Azeradj et de 5370,37 à 10235,69 mg EAG/100 g MS pour la variété Chemlal.

De plus, les résultats de l'analyse montrent que les valeurs expérimentales de PPT sont souvent similaires aux valeurs prédites, ce qui témoigne d'une adéquation satisfaisante du modèle utilisé. Par exemple, concernant la variété Azeradj, dans le cas de la configuration (-++), les PPT expérimentales sont de 8719,14 mg EAG/100 g MS tandis que les PPT prédites sont de 8738,42 mg EAG/100 g MS, ce qui montre une différence minimale. En outre, des configurations comme (++++) avec une durée de 120 minutes, une vitesse de 900 rpm et un ratio de 1/80 g/mL ont entraîné des concentrations élevées de polyphénols (7206,79 mg EAG/100 g expérimentale et 7170,71 mg EAG/100 g prédite). Les mêmes constatations ont été notées concernant la variété Chemlal où par exemple la configuration (++-) a révélé des teneurs en PPT expérimentales et prédites sont très proches et de 4548,61 et 4664,10 mg EAG/100 g MS, respectivement.

### 1.3 Validation de modèle

#### □ Coefficient de corrélation



**Figure 11** : coefficient de corrélation des de variété, Azeradj (A) et Chemlal (B)

Les graphiques A et B illustrent la relation entre les valeurs prévues et observées des concentrations en PPT (mg/100 g MS) pour les variétés Azeradj et Chemlal, respectivement.

En ce qui concerne la variété Azeradj, le graphique A présente un coefficient de corrélation ( $R^2$ ) proche de 1 (0,97), ce qui suggère une corrélation positive significative. Cela

suggère que les valeurs prévues sont en parfaite adéquation avec les valeurs observées. La présence d'une relation linéaire positive visible, où les points se rapprochent d'une ligne droite, met en évidence la fiabilité et la prédictivité du modèle utilisé pour prédire les valeurs. Cela démontre que le modèle prédictif pour la variété Azeradj est très précis.

Et d'après l'étude du graphique B pour la variété Chemlal, nous constatons également une étroite corrélation entre les valeurs observées et les valeurs prévues, ce qui laisse entendre que le modèle prédictif utilisé est fiable et précis. Il est possible de reproduire avec une grande précision les conditions d'extraction optimisées, ce qui garantit des rendements constants de polyphénols, en raison de la forte corrélation ( $R^2 = 0,95$ ) entre les données observées et prévues. La validation du modèle par l'adoption de ce graphique renforce la confiance dans les conditions d'extraction identifiées, ce qui permet d'améliorer les méthodes d'extraction pour optimiser l'obtention de PPT des feuilles d'olivier des deux variétés.

□ *Défaut d'ajustement*

Les résultats obtenus concernant la non-adaptation pour les deux variétés suggèrent que les modèles utilisés pour représenter les données semble être appropriés (Tableau VIII). Effectivement, le test F du défaut d'ajustement a une valeur p de 0,4162 et 0,1781 pour les variétés Azeradj et Chemlal respectivement, ce qui est bien au-delà du seuil de signification de 0,05. En outre, les valeurs maximales du coefficient de détermination ( $R^2$  max) sont de 0,9879 et 0,9852 pour la variété Azeradj et Chemlal, respectivement, ce qui suggère que les modèles expliquent une grande partie de la variabilité observée dans les informations. Ces résultats sont extrêmement encourageants et laissent entendre que les modèles sélectionnés sont appropriés pour décrire le phénomène analysé. Les étapes suivantes pourraient impliquer l'utilisation de ces modèles afin de faire des prédictions.

**Tableau VIII** : défauts d'ajustement de deux variétés d'olivier.

<b>Azeradj</b>				
<b>Source</b>	<b>Degrés de liberté</b>	<b>Somme des carrés</b>	<b>Carré moyen</b>	<b>Rapport F</b>
Défaut d'ajustement	5	465864,06	93172,8	1,2204
Erreur pure	5	381734,53	76346,9	<b>Prob. &gt; F</b>
Erreur totale	10	847598,59		0,4162
				<b>R carré max.</b>
				0,9879
<b>Chemlal</b>				
<b>Source</b>	<b>Degrés de liberté</b>	<b>Somme des carrés</b>	<b>Carré moyen</b>	<b>Rapport F</b>
Défaut d'ajustement	5	614903,00	122981	2,4113
Erreur pure	5	255004,89	51001	<b>Prob. &gt; F</b>
Erreur totale	10	869907,89		0,1781
				<b>R carré max.</b>
				0,9852

□ *Tests des effets*

L'analyse de variance (ANOVA) pour la teneur en polyphénols totaux (Y) des extraits de feuilles d'Azeradj et de Chemlal en fonction de temps ( $X_1$ ), de vitesse d'agitation ( $X_2$ ), de ratio ( $X_3$ ) et leurs interactions est montré dans le tableau suivant :

**Tableau IX:** Analyse de variance (ANOVA) pour la teneur en polyphénols totaux (Y) des extraits de feuilles en fonction de temps d'extraction, la vitesse d'agitation, le ratio et leurs interactions.

**Azeradj**

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport F	Probe. > F
Temps (60,120)	1	1323795	15,6182	0,0027*
Vitesse d'agitation (500,900)	1	9991762	117,8832	<,0001*
Ratio (60,80)	1	2093877	24,7036	0,0006*
Temps*Vitesse d'agitation	1	13744157	162,1541	<,0001*
Temps*Ratio	1	212643	2,5088	0,1443
Vitesse d'agitation*Ratio	1	3202297	37,7808	0,0001*
Temps*Temps	1	3428	0,0404	0,8447
Vitesse d'agitation*Vitesse	1	9024	0,1065	0,7509
Ratio*Ratio	1	3984	0,0470	0,8327

**Chemlal**

Temps (60,120)	1	390686,8	4,4911	0,0601
Vitesse d'agitation (100,500)	1	3060280,3	35,1794	0,0001*
Ratio (70,90)	1	963568,5	11,0767	0,0076*
Temps*Vitesse d'agitation	1	2387527,7	27,4458	0,0004*
Temps*Ratio	1	941589,9	10,8240	0,0082*
Vitesse d'agitation*Ratio	1	1142739,4	13,1363	0,0047*
Temps*Temps	1	3296949,2	37,9000	0,0001*
Vitesse d'agitation*Vitesse	1	338303,6	3,8890	0,0769
Ratio*Ratio	1	5085213,5	58,4569	<,0001*

Les conclusions obtenues précédemment sont confirmées par l'analyse des tests des effets. Concernant la variété Azeradj, le temps, la vitesse d'agitation et le ratio ont tous des effets statistiquement significatifs, avec des valeurs de  $p$  inférieures au seuil de 5 %. Cela suggère que ces trois éléments ont effectivement une influence significative sur la variable d'intérêt. En outre, l'interaction entre "Temps\*Vitesse d'agitation" et "Vitesse d'agitation\*Ratio" est également extrêmement importante, mettant en évidence l'importance de considérer ces effets combinés lors de la modélisation. En revanche, les autres interactions et les effets quadratiques ne sont pas considérés comme importants. Ces résultats confirment que le modèle capture de manière satisfaisante les principaux effets linéaires et certaines interactions importantes, mais que les non-linéarités semblent avoir un rôle restreint dans ce contexte.

Quant à la variété Chemlal, d'après les résultats, il est évident que divers éléments ont un impact statistiquement significatif sur la variable observée. Les effets principaux sont importants pour le temps d'exposition ( $p=0,0601$ ), la vitesse d'agitation ( $p=0,0001$ ) et le ratio ( $p=0,0076$ ). En outre, il existe également des interactions importantes entre ces facteurs (temps\*vitesse d'agitation, temps\*ratio, vitesse d'agitation\*ratio), ce qui suggère que les effets de ces facteurs sont liés les uns aux autres.

La relation entre le temps et la variable dépendante semble non linéaire, comme le suggère l'effet du temps au carré ( $p=0,0001$ ). De la même manière, l'effet du ratio au carré ( $p<0,0001$ ) témoigne d'une relation non linéaire entre le ratio et la variable dépendante. D'autre part, l'interaction entre la vitesse d'agitation et elle-même n'est pas significative ( $p=0,0769$ ), ce qui laisse supposer une relation linéaire entre la vitesse d'agitation et la variable dépendante. Globalement, ces conclusions suggèrent que les trois éléments clés (temps, vitesse d'agitation, ratio) et leurs interactions ont une influence significative sur l'extraction des polyphénols. Il sera nécessaire de tenir compte de la nature non linéaire de certaines de ces relations lors de l'interprétation et de la modélisation des résultats.

#### □ *Modèles mathématiques*

La corrélation entre le contenu phénolique total ( $Y$ ) et les trois variables ( $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ ) est décrite par l'équation polynomiale du second ordre. L'équation suivante représente le modèle mathématique choisi après l'extraction pour la variété Azeradj :

$$Y = 5880,7902 + 363,84X_1 + 999,588X_2 + 457,589X_3 - 1310,732X_1X_2 + 163,6825X_1X_3 + 632,6825X_2X_3 - 35,30545X_1X_1 + 57,284545X_2X_2 - 38,06045X_3X_3$$

Ce modèle comprend 9 termes, parmi lesquels 3 sont linéaires et 6 sont non linéaires. L'importance et le sens de l'influence de chaque variable sur la variable de réponse Y (PPT) sont indiqués par les coefficients de ces différents termes. La variable  $X_1$  (le temps) présente un coefficient positif de 363,84, ce qui indique qu'elle a un impact positif sur Y. De la même manière, les coefficients positifs de 999,588 pour  $X_2$  (la vitesse d'agitation) et de 457,589 pour  $X_3$  (le ratio) suggèrent que ces variables ont également un impact positif sur Y. Toutefois, l'interaction  $X_1X_2$  montre une interaction négative entre le temps et la vitesse d'agitation, avec un coefficient négatif de -1310,732. D'un autre côté, les coefficients positifs de 163,6825 pour  $X_1X_3$  et de 632,6825 pour  $X_2X_3$  témoignent d'interactions positives entre le temps et le ratio, ainsi qu'entre la vitesse d'agitation et le ratio. Finalement, les expressions quadratiques avec des coefficients négatifs pour  $X_1X_1$  et  $X_3X_3$ , et positifs pour  $X_2X_2$ , indiquent que les variables ont des effets non linéaires sur la réponse Y.

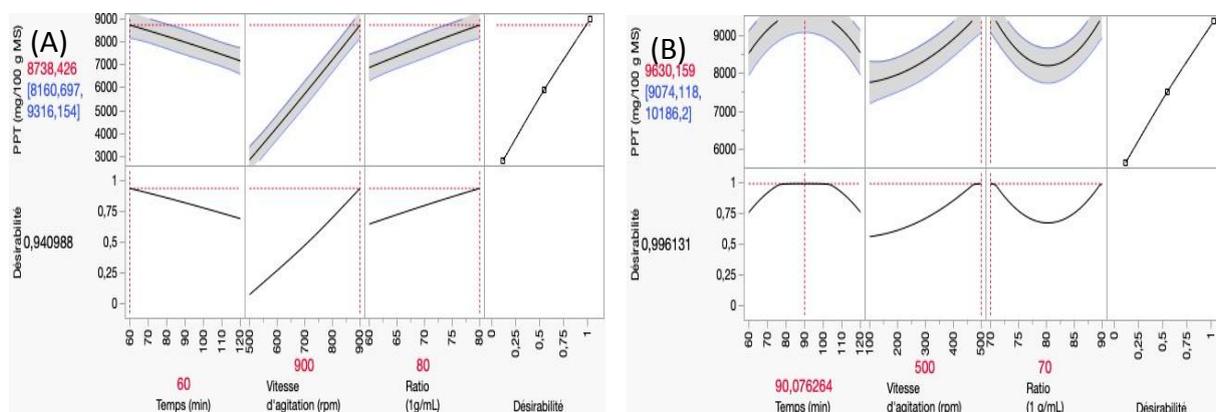
L'équation suivante représente le modèle mathématique choisi après l'extraction pour la variété Chemlal :

$$Y = 7298,84 - 197,66X_1 + 553,20 X_2 + 310,41X_3 + 546,30X_1X_2 + 343,07X_1X_3 + 377,95X_2X_3 - 1094,94X_1X_1 + 350,74X_2X_2 + 1359,84X_3X_3$$

Les 9 termes du modèle mathématique sélectionné pour la variété Chemlal sont également représentés par des coefficients qui représentent les effets des variables individuelles et de leurs interactions sur la variable de réponse Y (PPT). La variable  $X_1$  (le temps) présente un coefficient négatif de -197,66, ce qui indique qu'elle a un impact négatif sur Y. D'autre part, les coefficients positifs de 553,20 pour  $X_2$  (la vitesse d'agitation) et de 310,41 pour  $X_3$  (le ratio) suggèrent que ces variables ont un impact positif sur Y. Des coefficients positifs sont également observés pour les termes d'interaction, avec 546,30 pour  $X_1X_2$ , 343,07 pour  $X_1X_3$  et 377,95 pour  $X_2X_3$ , ce qui suggère des effets positifs des interactions entre ces variables. Finalement, les termes quadratiques présentent un coefficient négatif de -1094,94 pour  $X_1X_1$ , tandis que les coefficients positifs sont de 350,74 pour  $X_2^2$  et de 1359,84 pour  $X_3^2$ , ce qui suggère des effets non linéaires des variables sur la réponse Y.

□ *Conditions optimales*

Nous pouvons approfondir notre compréhension des relations entre les variables du modèle et leur influence sur la valeur prédite en analysant le profileur de prévision (Figure 11).



**Figure 12:** Teneur prévue en polyphénols totaux et niveau de désirabilité pour les différentes variables d'optimum extraction de polyphénols à partir d'extraits de feuilles d'Azeradj (A) et de feuilles de Chemlal (B).

Concernant la variété Azeradj, un contenu phénolique total maximum de 8738,426 mg EAG/100 g MS a été obtenu pour l'extrait des feuilles d'olivier variété Azerradj. La valeur maximale est calculée dans des conditions optimales, en particulier à un ratio de 1/80 (g/mL), un temps d'extraction de 60 minutes, une vitesse d'agitation 900 rpm et une température de 60 °C.

Des profils de désirabilité sont présentés pour les trois variables d'extraction afin d'atteindre une extraction optimale des polyphénols (Figure) ce qui suggère que la désirabilité maximale de 0,94 peut être obtenue avec les conditions idéales mentionnées précédemment. Pour la variété Chemlal, un maximum de PPT est obtenu et est de 96306,195 mg EAG/100 g de MS. Cette valeur maximale a été déterminée dans des conditions optimales, notamment un ratio de 1/70 (g/mL), une vitesse d'agitation de 500 rpm et une température de 60 °C. Des profils de désirabilité pour les trois variables d'extraction ont été présentés dans le but d'obtenir une extraction optimale des polyphénols (Figure 11). Cela laisse entendre que la désirabilité maximale de 0,996 peut être obtenue dans les conditions idéales précédentes.

## 2 Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits obtenus dans les conditions optimales d'extraction

### 2.1 Teneur en polyphénols totaux

Les résultats obtenus en adoptant les conditions optimales pour les extraits de feuilles d'oliviers de la variété Azeradj et Chemlal sont proches des valeurs prédites comme le montre le tableau ci-dessous.

**Tableau X:** comparaison entre les valeurs expérimentales et prédites en polyphénols totaux (PPT) des extraits optimisés des feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal.

Concentration en PPT (mg EAG /100g MS)	Azeradj	Chemlal
Valeur expérimentale	7777,78 ± 43,65 <sup>b</sup>	9100,53 ± 149,65 <sup>a</sup>
Valeur prédit	8738,42 ± 0,94	9630,159 ± 0,996

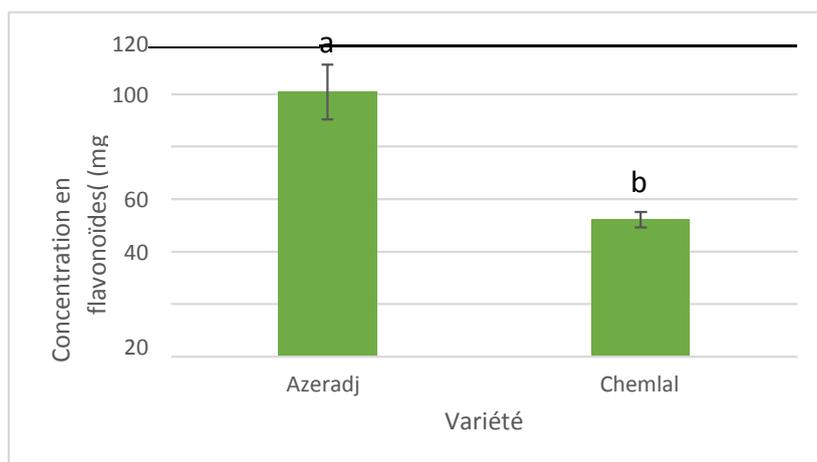
Les moyennes en concentrations en polyphénols totaux affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives ( $P \leq 0,05$ ), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

La quantité expérimentale de  $7777,78 \pm 43,65$  mg EAG/100g MS est observée pour la variété Azeradj, tandis que pour Chemlal, elle est de  $9100,53 \pm 149,65$  mg EAG/100g MS. Les résultats révèlent une présence importante de polyphénols, qui jouent un rôle essentiel dans leurs propriétés antioxydantes. Les valeurs expérimentales et prédites sont similaires, ce qui laisse entendre que les conditions d'extraction optimisées utilisées dans cette étude sont fiables.

Il est à noter que les feuilles de la variété Chemlal sont plus riches en PPT comparativement à la variété Azeradj. Néanmoins, nous avons constaté que nos résultats sont plus élevés que ceux de **Tamiz et Temur (2016)**, qui ont découvert une teneur de  $3201,7 \pm 120,8$  mg EAG/100 g MS, et plus faibles que ceux d' **Ünlü (2021)** qui ont décelé un taux de  $18731 \pm 1030$  mg EAG/100g MS. En utilisant des solvants différents, tels que le méthanol et le chlorure de choline–fructose–eau, respectivement, ainsi que des méthodes d'extraction différentes, cela rend la comparaison plus difficile. Néanmoins, nos résultats restent acceptables.

### 2.2 Teneur en flavonoïdes

Les quantités en flavonoïdes totaux déterminées dans les extraits de feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal obtenues dans les conditions optimales sont illustrées dans la figure suivante :



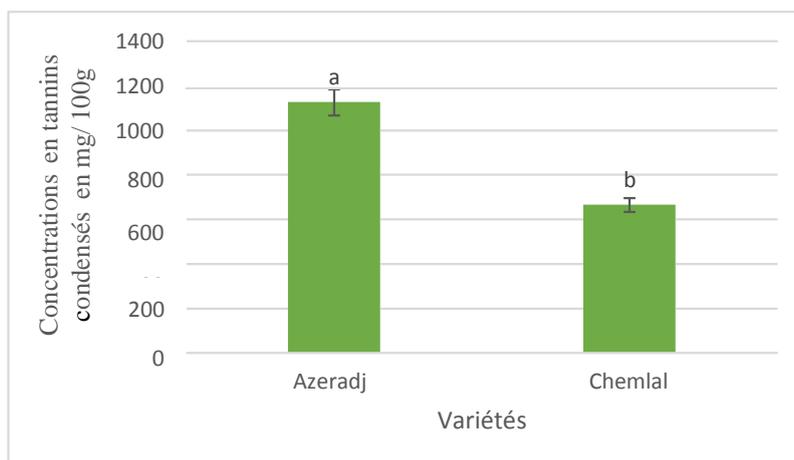
**Figure 13 :** teneurs en flavonoïdes des extraits optimisés des feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal.

Les moyennes en concentrations en flavonoïdes affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives ( $P \leq 0,05$ ), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

La quantité totale de flavonoïdes présente dans les extraits est également importante. Elle s'élève à  $100,88 \pm 10,43$  mg EQ/100g MS pour la variété Azeradj, tandis que pour la variété Chemlal, elle atteint une concentration plus faible avec une différence significative ( $P \leq 0,05$ ) qui est de  $52,18 \pm 2,88$  mg EQ/100g MS. Les propriétés médicinales des extraits de feuilles d'olivier sont influencées par les flavonoïdes, qui jouent un rôle essentiel dans la protection contre les stress oxydatifs (Mathesuis, 2018). Il est possible que la distinction significative entre les deux variétés soit causée par des variations génétiques ou environnementales qui affectent la biosynthèse des flavonoïdes.

### 2.3 Teneur en tannins condensés

Les niveaux de tannins condensés des deux variétés présentent des disparités significatives ( $P \leq 0,05$ ) (Figure 13). La teneur de la variété Azeradj est de  $1125 \pm 58,93$  mg/100g MS, tandis que celle de Chemlal est inférieure avec une valeur de  $664,29 \pm 30,30$  mg/100g MS. Les tannins condensés sont réputés pour leur astringence et leurs avantages pour la santé, en particulier en ce qui concerne la diminution du risque de maladies cardiovasculaires (Soares et al., 2020).



**Figure 14:** teneurs en tannins des extraits optimisés des feuilles d’olivier des variétés Azeradj et Chemlal.

Les moyennes en concentrations en tannins affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives (P < 0,05), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

En confrontant les deux variétés, Chemlal présente généralement des niveaux plus élevés de polyphénols, tandis qu’Azeradj présente une concentration plus élevée de flavonoïdes et de tannins condensés. Il est possible d’utiliser ces différences pour des applications particulières en fonction des besoins antioxydants ou thérapeutiques. Les résultats soulignent l’importance de choisir des conditions d’extraction idéales afin d’optimiser le rendement en composés bioactifs et montrent la diversité des composés phénoliques chez différentes variétés d’olivier.

**2.4 Evaluation des activités anti-oxydantes des extraits obtenus dans les conditions optimales**

Le tableau ci-dessous récapitule les résultats des divers tests utilisés pour évaluer les propriétés anti-oxydantes des extraits de feuilles d’olivier des variétés Azeradj et Chemlal.

**Tableau XI:** résultats des activités anti-oxydantes (IC<sub>50</sub> en µg/mL) des extraits optimisés de feuilles d’olivier des variétés Azeradj et Chemlal

Test (IC <sub>50</sub> en µg/mL)	Azeradj	Chemlal
DPPH	3330 ± 56,57 <sup>b</sup>	1357 ± 21,21 <sup>a</sup>
Phosphomolybdate	194,165 ± 1,18 <sup>b</sup>	159,01 ± 9,02 <sup>a</sup>
ABTS	9750 ± 21,21 <sup>b</sup>	7200 ± 14,14 <sup>a</sup>

Les moyennes en concentrations en tannins affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives (P < 0,05), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

Selon le tableau, les extraits de feuilles d'olivier provenant des deux variétés, Azeradj et Chemlal, ont montré des propriétés antioxydantes importantes.

En ce qui concerne le test DPPH, qui évalue la capacité à capturer les radicaux libres, l'extrait de la variété Chemlal a démontré une meilleure performance avec une différence significative ( $P \leq 0,05$ ) dont la valeur d' $IC_{50}$  est de  $1357 \pm 21,21 \mu\text{g/mL}$ , tandis que la variété Azeradj a affiché une  $IC_{50}$  de  $3330 \pm 56,57 \mu\text{g/mL}$ . Une valeur d' $IC_{50}$  plus basse témoigne d'une capacité antioxydante accrue.

L'activité a également été plus élevée avec une différence significative ( $P \leq 0,05$ ) pour l'extrait de la variété Chemlal lors du test au molybdate, avec une  $IC_{50}$  de  $159,01 \pm 9,02 \mu\text{g/mL}$ , tandis que celle de la variété Azeradj est de  $194,165 \pm 1,18 \mu\text{g/mL}$ .

Finalement, lors du test ABTS, qui évalue la capacité à neutraliser les radicaux cationiques, l'extrait de Chemlal a encore montré une meilleure performance avec une différence significative ( $P \leq 0,05$ ) et une  $IC_{50}$  de  $7200 \pm 14,14 \mu\text{g/mL}$ , tandis que celle de la variété Azeradj est de  $9750 \pm 21,21 \mu\text{g/mL}$ .

Globalement, ces trois tests suggèrent que l'extrait de feuilles d'olivier de la variété Chemlal possède une activité antioxydante supérieure à celle de la variété Azeradj, et ce, dans les trois expériences effectuées. Ces disparités de potentiel antioxydant peuvent être expliquées par des profils phytochimiques différents entre les deux variétés, en particulier en ce qui concerne la quantité et la composition en composés phénoliques.

En revanche, ces résultats sont difficiles à comparer avec ceux de la bibliographie, car l'emploi de solvants différents et de méthodes d'extraction différentes diminue la fiabilité d'une comparaison entre études.

### **3 Enrichissement du fromage frais par les feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal**

Le tableau ci-après représente les résultats des analyses physico-chimiques du fromage frais enrichi avec la poudre de feuilles d'olivier à différentes concentrations : 0,25%, 0,50% et 0,75%.

**Tableau XII** : résultats des analyses physico-chimiques du fromage enrichi.

	<b>Fromage frais</b>	<b>Variété Azeradj</b>			<b>Variété Chemlal</b>		
<b>%</b>		0,25	0,50	0,75	0,25	0,50	0,75
<b>Acidité titrable (°D)</b>	8,1	6,3	6,3	5,4	4,5	5,4	5,4
<b>pH</b>	5,518	6,045	6,105	6,072	6,127	6,112	6,103
<b>Brix (°B)</b>	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
<b>Taux de Cendre %</b>	0,91	0,77	0,73	0,53	0,41	0,71	0,75

Les résultats de pH des différents échantillons de fromage varient entre 5,518 et 6,127. Ces valeurs sont supérieures à celles rapportées par **El Galiou et al. (2015)**. Cette différence n'affecte pas la qualité du produit.

L'acidité titrable du fromage frais est supérieure à celle de la variété Azeradj et Chemlal. L'acidité titrable de la variété Azeradj est de 6,3°D pour les deux échantillons du fromage enrichis à 0,25% et 0,50% et elle est de 5,4°D pour l'échantillon enrichi à 0,75%. Pour la variété Chemlal, l'acidité de l'échantillon enrichi à 0,25% est inférieure aux deux autres échantillons enrichis à 0,5 et 0,75% avec une valeur de 5,4°D.

Les valeurs obtenues de taux de cendre sont inférieures à celles rapportées par **El-Sayed (2020)**. La valeur de taux de cendre est de 0,91% pour le fromage frais, elle varie entre 0,53% et 0,77% pour le fromage enrichi avec les feuilles d'Azeradj. Par contre, ce taux pour le fromage enrichi avec la deuxième variété varie entre 0,41% et 0,75%.

Le taux de sucre des fromages frais est stable à 1,33°B cette valeur montre que le fromage frais est faible en glucide.

---

## **4 Analyse sensorielle**

Les données des analyses sensorielles sont rassemblées à partir des questionnaires (Annexe II) distribués aux dégustateurs (experts). Les caractéristiques sensorielles de quatre échantillons de fromage frais, chacun contenant différentes quantités de poudre de feuilles d'olivier des deux variétés Azeradj et Chemlal respectivement, ont été étudiées. Le fromage frais non enrichi (échantillon A), représentant l'échantillon référence, tandis que les échantillons B, C et D contiennent respectivement 0,25 %, 0,5 % et 0,75 % de poudre de feuilles d'olivier. Les résultats obtenus sont analysés par le logiciel XL-STAT.

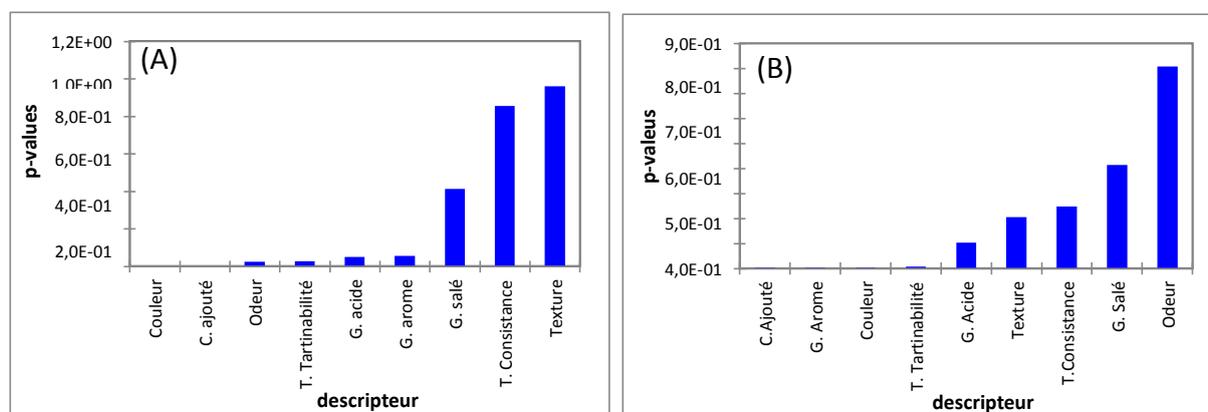
## 4.1 Caractérisation du produit

L'identification des descripteurs permet une meilleure discrimination des produits pour déterminer leurs caractéristiques importantes dans le cadre de l'analyse sensorielle (Husson et al., 2009).

### 4.1.1 Pouvoir discriminant par descripteurs

Ce test permet de présenter l'enchaînement des caractéristiques du produit sélectionné par les dégustateurs dans un ordre de discrimination décroissant. Les résultats de ce test sont présentés dans les figures suivantes :

L'histogramme de la figure (A) résume l'ensemble des descripteurs et met en évidence clairement que la couleur, le composé ajouté, l'odeur, la tartinabilité, gout acide sont les descripteurs les plus discriminant, pour les fromages préparés avec les feuilles d'olivier de la variété Azeradj, c'est-à-dire que les sujets experts ont constaté une différence entre les quatre échantillons de fromage A, B, C et D suivi de gout salé avec un pouvoir discriminant moins élevé ce qui suggère qu'une petite différence a été constatée dans ces paramètres. Alors que la consistance et la texture n'a pas été discriminés, cela prouve que les spécialistes n'ont pas observé des divergences de ce descripteur.



**Figure 15:** graphique des pouvoirs discriminants par descripteurs des fromages enrichis par les feuilles d'olivier de la variété Azeradj (A) et la variété Chemlal (B).

Selon les résultats obtenus, nous remarquons que le composé ajouté, l'arôme, la couleur et la tartinabilité sont des descripteurs qui ont le plus fort pouvoir discriminant sur les 4 échantillons enrichis avec la variété Chemlal. Par conséquent, les sujets experts ont observé des différences entre ces caractéristiques. Par contre le gout acide, la texture, la consistance et le

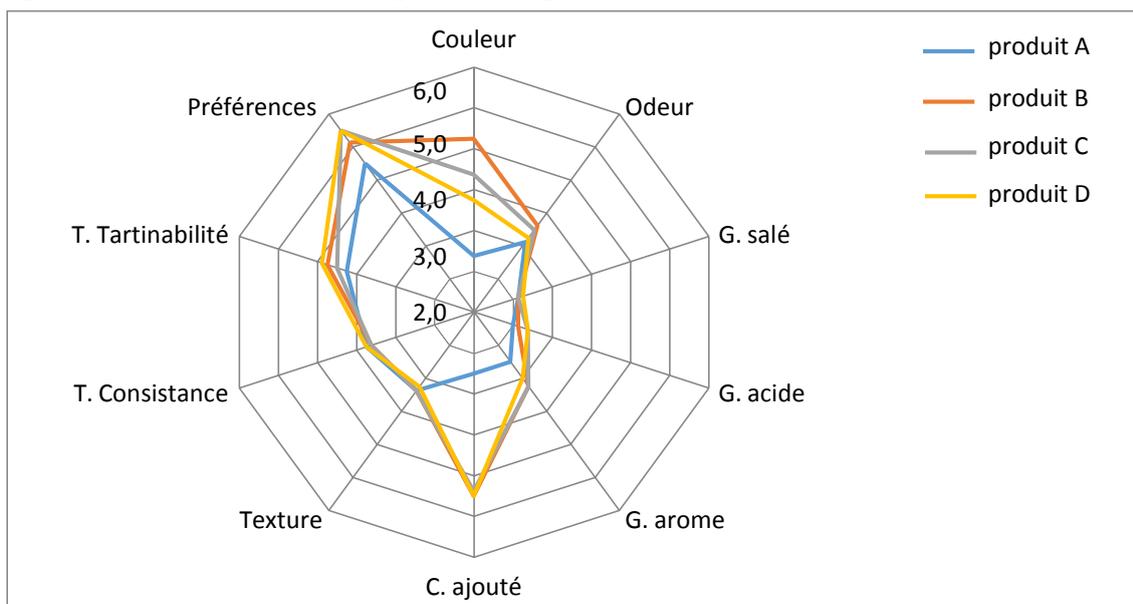
gout salé sont des descripteurs qui ont le moins pouvoir discriminant suivi d'odeur qui n'est pas discriminé.

#### 4.1.2 Profil sensoriel

Le graphique Radar également connus sous le nom de toile d'araignée permet de présenter le profil sensoriel des différents échantillons de produits en fonction des différents descripteurs sensoriels.

Selon l'analyse du graphique radar, il est clair que l'ajout de poudre d'olive de la variété Azeradj a un impact important sur le profil sensoriel des fromages frais. Sans aucun ajout, l'échantillon A présente un polygone plus petit et plus centré, ce qui suggère un profil sensoriel plus modéré et équilibré, mais avec des scores plus faibles sur toutes les caractéristiques mesurées.

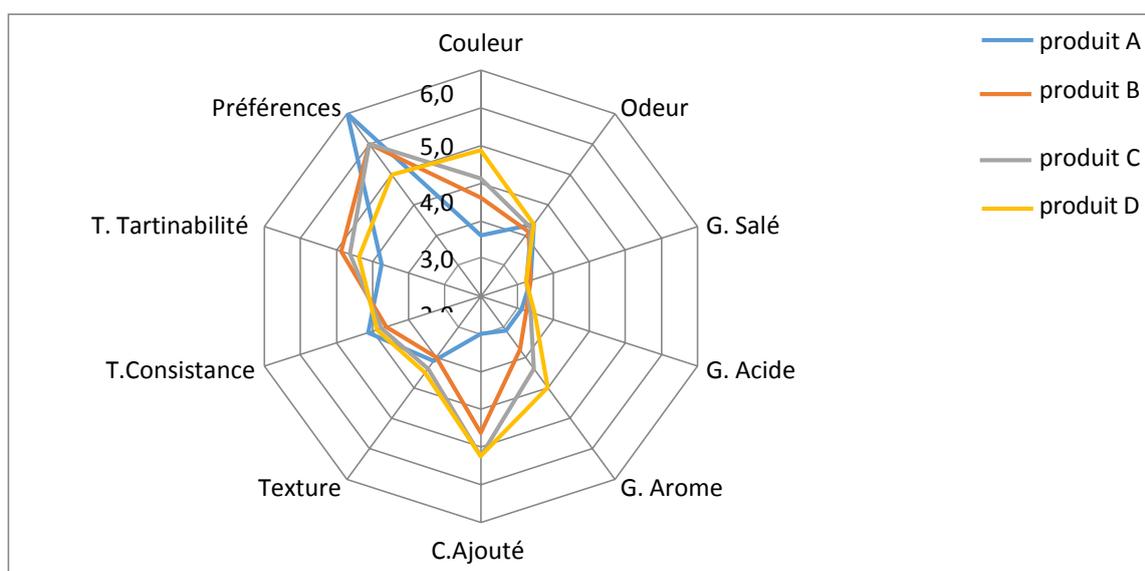
D'autre part, les échantillons enrichis progressivement en poudre (B à 0,25 %, C à 0,5 % et D à 0,75 %) présentent des polygones de plus en plus larges, ce qui laisse entendre une amélioration significative des performances sensorielles. L'incorporation de poudre semble avoir un effet positif sur la couleur, l'odeur et la texture des fromages, avec des scores qui varient d'un échantillon à l'autre. Cela suggère que les substances présentes dans la poudre de feuilles d'olivier, telles que les polyphénols, donnent probablement des arômes et des saveurs plus prononcés. En outre, la fermeté et la tartinabilité demeurent assez semblables entre les 4 échantillons, ce qui démontre que l'ajout de poudre ne modifie pas ces caractéristiques essentielles des fromages frais. Cela permet de considérer l'ajout de poudre d'olivier sans compromettre la durabilité et l'expansion du produit.



**Figure 16:** graphique en radar présentant le profil sensoriel des quatre échantillons de fromage frais enrichis avec la poudre de feuilles d'olivier de la variété Azeradj.

Les résultats de la variété Chemlal démontre que l'échantillon de référence (A) a le polygone le plus petit avec les scores les plus faibles pour la majorité des descripteurs à l'exception de la préférence dont la valeur est supérieure par rapport aux autres échantillons.

Ensuite, les échantillons fortifiés progressivement en poudre des feuilles d'ilivier de la variété Chemlal (B : 0,25%, C : 0,50% et D : 0,75%) présentent des polygones plus larges qui veut dire une amélioration notable des performances sensorielles. Cette différence est expliquée par l'ajout de cette poudre qui a un impact sur la couleur, l'arôme, le composé ajouté et la tartinabilité.



**Figure 17 :** graphique en radar présentant le profil sensoriel des quatre échantillons de fromage frais enrichis avec la poudre de feuilles d'olivier de la variété Chemlal.

Dans l'ensemble, ce graphique radar illustre de manière très claire l'effet significatif de l'incorporation de poudre d'olivier sur l'amélioration globale du profil sensoriel du fromage frais.

#### 4.1.3 Moyennes ajustées par produits

Ce tableau montre les valeurs moyennes ajustées pour chaque descripteur sensoriel et chaque échantillon de produit.

**Tableau XIII** : moyennes ajustées par produits (A) et (B)

Fromage frais enrichi avec la poudre de feuilles d'olivier Azeradj (A)									
	G. aromatique	C. ajouté	Couleur	Odeur	T. Tartinabilité	G. acide	G. salé	Texture	T. Consistance
Echan B	2,250	4,500	4,250	2,625	3,750	1,125	1,125	2,375	2,625
Echan C	2,250	4,375	3,375	2,500	3,500	1,375	1,125	2,375	2,625
Echan D	2,000	4,500	2,750	2,250	3,875	1,375	1,250	2,250	2,750
Echan A	1,500	1,500	1,375	2,125	3,250	1,000	1,125	2,375	2,750
Fromage frais enrichi avec la poudre de feuilles d'olivier Chemlal (B)									
	Couleur	G. Acide	G. Arôme	C. Ajouté	Texture	T. Tartinabilité	Odeur	T. Consistance	G. Salé
Echan D	3,875	1,500	3,000	4,250	2,500	3,375	2,375	2,875	1,250
Echan C	3,125	1,375	2,375	4,250	2,375	3,625	2,250	2,750	1,250
Echan B	2,625	1,250	1,750	3,625	2,000	3,875	2,125	2,625	1,375
Echan A	1,625	1,125	1,125	1,000	2,125	2,750	2,375	3,125	1,375

Nous avons pu évaluer l'effet de l'incorporation graduelle de poudre de feuilles d'olivier Azeradj, dans un fromage frais grâce à l'analyse sensorielle. Les scores des descripteurs sensoriels tels que le goût aromatique, la couleur et la tartinabilité sont les plus bas pour l'échantillon A, qui est sans aucun ajout. Avec l'ajout de 0,25% de poudre des feuilles d'olivier (échantillon B), ces caractéristiques sont déjà nettement améliorées par rapport à la référence (échantillon A). Les scores pour le goût aromatique, la couleur et la tartinabilité continuent d'augmenter de manière significative avec 0,5% de poudre (échantillon C). Finalement, l'échantillon D contenant 0,75% de poudre d'olivier donne les meilleures performances pour ces mêmes critères.

L'échantillon A préparé avec la variété Chemlal a un score faible en ce qui concerne la couleur, l'arôme le composé ajouté et la tartinabilité. Cela est justifié du fait que l'échantillon A est le fromage témoin (sans ajout). Les échantillons B et C ont chacun un descripteur avec un score élevé correspondant à la tartinabilité et au composé ajouté, respectivement. L'échantillon enrichi par 0,75% (D) a montré les meilleurs scores dont la couleur, l'arôme et le composé ajouté. Cette différence est due à l'ajout de la poudre des feuilles d'olivier.

Il est évident que l'incorporation graduelle de poudre de feuilles d'olivier permet d'améliorer considérablement le profil sensoriel du fromage frais, en mettant en valeur les arômes, la couleur et la facilité d'étalement en bouche. Ceci offre des opportunités captivantes pour améliorer la formulation du produit et le distinguer sur le marché en fonction des attentes des consommateurs.

## 4.2 Cartographie de préférence PREFMAP

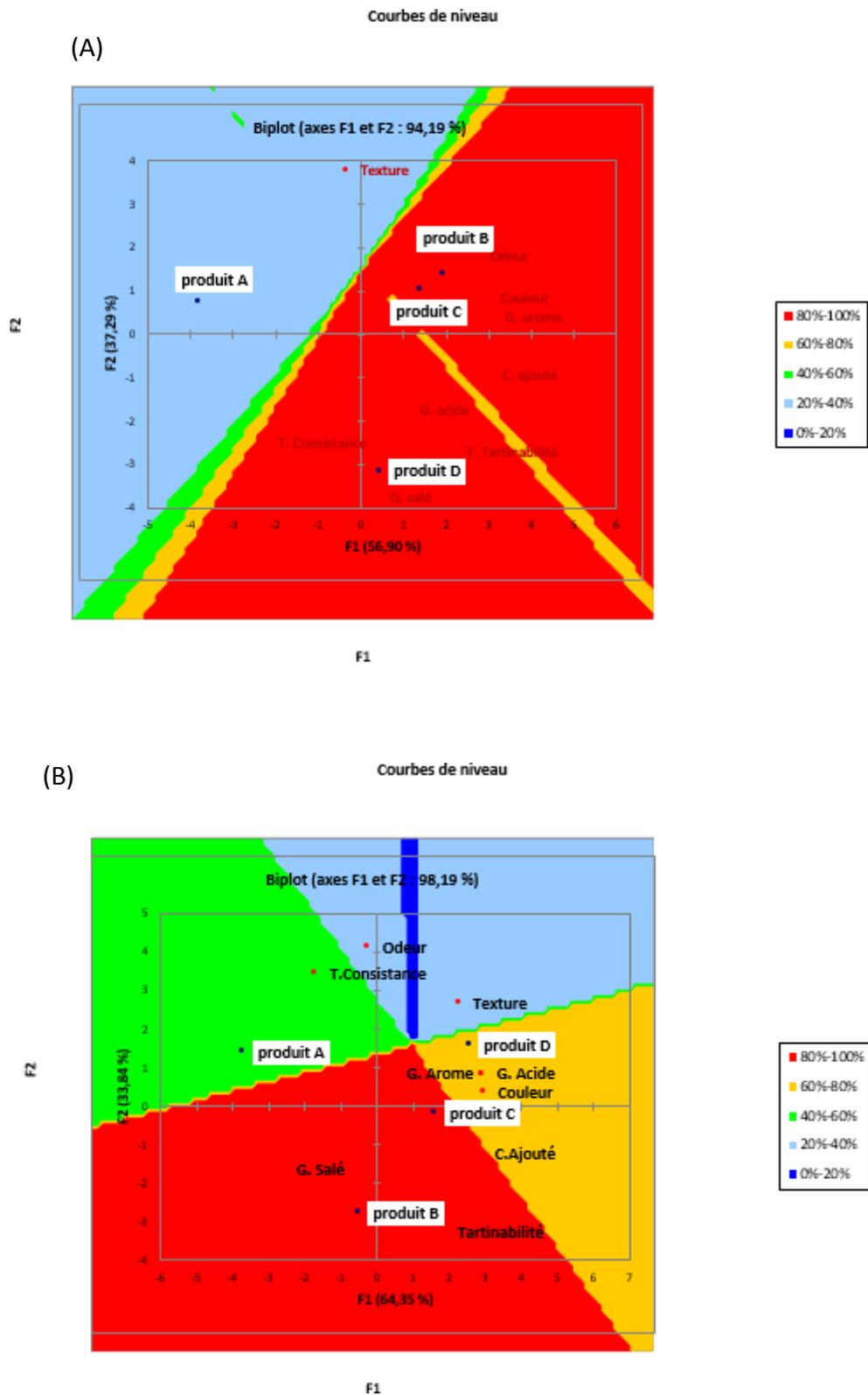
Cette méthode permet de relier les préférences exprimées par les consommateurs aux caractéristiques sensorielles des produits. Le pourcentage de satisfaction des juges pour chaque objet est résumé dans la figure 18 et le tableau suivant :

**Tableau XIV** : Pourcentage des préférences pour chaque échantillon

<b>Variété Azeradj (A)</b>		<b>Variété Chemlal (B)</b>	
<b>Objet</b>	<b>%</b>	<b>Objet</b>	<b>%</b>
produit A	20	produit A	40
produit B	80	produit B	80
produit C	80	produit C	60
produit D	80	produit D	20

Pour la première variété (A), les produits B, C et D à base de poudre de feuilles à différents concentrations (0,25, 0,5 et 0,75%) sont plus appréciés (80%) suivi de produit A (20%).

La deuxième variété (B) présente des pourcentages différents dont le pourcentage de satisfaction est le plus élevé (80%) pour produit B suivi de produit C (60%). Les produits les moins appréciés sont A (40 %) et D (20%).



**Figure 18** : Cartographie de préférence PREFMAP de deux variétés Azeradj (A) et Chemlal (B)

## **Conclusion**

Grâce à cette étude, les conditions d'extraction par solvant eutectique (acide citrique/glucose) des polyphénols totaux ont été optimisées, et les paramètres phytochimiques (dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes, tannins et activités antioxydantes) des extraits de feuilles d'olivier de la variété Chemlal et Azeradj ont été évalués. Une étude physicochimique et sensorielle de quatre fromages frais différents en fonction de l'ingrédient ajouté (poudre de feuilles de la variété Azeradj, poudre de feuilles de la variété Chemlal) est également effectuée.

La valeur maximale en PPT de 777,78 mg EAG/100g MS des feuilles d'olivier Azeradj est atteinte avec un ratio 1/80 (g/mL), un temps d'extraction de 60 min et une vitesse d'agitation de 900 rpm. Tandis que, le contenu en PPT maximal de 9100,53 mg EAG/100 g MS des feuilles d'olivier Chemlal est obtenu en utilisant un ratio 1/70 (g/mL), un temps de 90 min et une vitesse de 500 rpm. Les teneurs en flavonoïdes des extraits optimisés des feuilles d'olivier des variétés Azeradj et Chemlal sont de 100,88 et 52,18 EQ/g MS et les teneurs en tannins sont de 1125 et 664,28 mg/100g MS, respectivement.

Les propriétés antioxydantes des extraits optimisés des feuilles d'olivier de la variété Azeradj et Chemlal ont été évaluées en utilisant le pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium, le test antiradicalaire du DPPH et d'ABTS. Il a été constaté que l'extrait des feuilles Chemlal présente une activité antioxydante plus élevée que l'extrait des feuilles Azeradj. L'extrait des feuilles de la variété Chemlal présente des  $IC_{50}$  de  $159,01 \pm 9,02 \mu\text{g/mL}$  pour le phosphomolybdate,  $1357 \pm 21,21 \mu\text{g/mL}$  pour le DPPH et  $7200 \pm 14,14$  pour l'ABTS. Tandis que, les résultats des  $IC_{50}$  pour les feuilles Azeradj sont  $194,165 \pm 1,18 \mu\text{g/mL}$  pour le phosphomolybdate,  $3330 \pm 56,57 \mu\text{g/mL}$  pour le DPPH et  $9750 \pm 14,14 \text{ 02 } \mu\text{g/mL}$  pour l'ABTS.

Les analyses physicochimiques des fromages frais enrichis aux feuilles d'olivier étudiées ont révélé que les quatre fromages frais présentent une qualité satisfaisante et respectent les normes en vigueur, tout en étant adaptés à la consommation.

Selon l'analyse sensorielle effectuée, les fromages enrichis en poudre de feuilles d'olivier sont les plus appréciés par tous les jurys experts comparativement au fromage non enrichi.

Les conclusions de cette étude demeurent préliminaires. Il serait donc judicieux de poursuivre cette étude en réalisant :

- o La description des produits alimentaires à base d'extraits de plantes (feuilles d'olivier).
- o Analysant la composition du fromage frais en utilisant un plan d'expériences afin de déterminer la formule la plus optimale.
- o Des recherches sur les divers impacts (conservation, nutritionnel et rhéologique...) de feuilles des deux variétés sur le fromage frais.
- o Des expériences dans la production d'autres variétés de fromage enrichi.

---

## Références

---

## A

**Amouritti, M., & Comet, G.** (1985). *Le livre de l'olivier*. Edisud.

**Aouidi, F.** (2012). *Étude et valorisation des feuilles d'olivier Olea europaea dans l'industrie agro-alimentaire* (Doctoral dissertation, Institut national des sciences appliquées et de technologie, Carthage). 213p.

**Awda, J.M., Awad, H.A., Alssirag, M.A., & Alfalahi, D.A.** (2019). Extend the shelf life and improving sensory properties of white soft cheese by adding celery leaves. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 50(6), 1661–1667.

**Azarashkan, Z., Motamedzadegan, A., Ghorbani- HasanSaraei, A., Biparva, P., & Rahaiee, S.** (2022). Investigation of the physicochemical, antioxidant, rheological, and sensory properties of ricotta cheese enriched with free and nano- encapsulated broccoli sprout extract. *Food Science & Nutrition*, 10(11), 4059-4072.

## B

**Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., & Del Río, J. A.** (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00221-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00221-6)

**Bennani, H., Drissi, A., Giton, F., Kheuang, L., Fiet, J., & Adlouni, A.** (2007). Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detection and Prevention*, 31(1), 64-69.

<https://doi.org/10.1016/j.cdp.2006.09.007>

**Bhat, N. A., Gani, A., Muzaffar, K., & Dar, M. M.** (2021). Enhancing the nutraceutical potential of Himalayan cheese (kradi) through saffron fortification. *Food Bioscience*, 44, 101409.

**Bonnier, G.** (1990). *La Grande Flore en couleurs de Gaston Bonnier*. Belin.

**Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, I., & Kechaou, N.** (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products*, 29, 412–419.

## C

**Che Sulaiman, I. S., Basri, M., Fard Masoumi, H. R., Chee, W. J., Ashari, S. E., & Ismail, M.** (2017). Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0285-1>

**Codex Standard 283-1978.** *Norme générale Codex pour le fromage*.

## D

**De la Ribeiro, R., De Melo, F., De Barros, F., Gomes, C., & Trolin, G.** (1986). Acute antihypertensive effect in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of Sao Paulo. *Journal of Ethnopharmacology*, 15(3), 261-269.

**Difonzo, G., Antonino, C., Squeo, G., Caponio, F., & Faccia, M.** (2023). Application of Agri-Food By-Products in Cheesemaking, Review.

## E

**Elboughdiri, N.** (2018). Effect of time, solvent-solid ratio, ethanol concentration and temperature on extraction yield of phenolic compounds from olive leaves. *Eng. Technol. Appl. Sci. Res*, 8(2), 2805-2808.

**El, S. N., & Karakaya, S.** (2009). Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*, 67(11), 632–638. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00248.x>

**El-Sayed, S. M.** (2020). Use of spinach powder as functional ingredient in the manufacture of UF-Soft cheese. *Heliyon*, 6(1), e03278.

**Erbay, Zafer and Icier, Filiz.** (2010) 'The Importance and Potential Uses of Olive Leaves', *Food Reviews International*, 26: 4, 319 — 334, doi: 10.1080/87559129.2010.496021, First posted on: 03 August 2010 (iFirst).

**Esparvarini, Z.; Bazargani-Gilani, B.; Pajohi-Alamoti, M.; Nourian, A.** Gelatin-starch composite coating containing cucumber peel extract and cumin essential oil: Shelf life improvement of a cheese model. *Food Sci. Nutr.* 2022, 10, 964–978.

**Espeso, J., Isaza, A., Lee, J. Y., Sørensen, P. M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R. de J., Olaizola, M., & Arboleya, J. C.** (2021). Olive Leaf Waste Management. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 660582. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.660582>.

## F

**Farrag, A. F., Zahran, H., Al-Okaby, M. F., El-Sheikh, M. M., & Soliman, T. N.** (2020). Physicochemical properties of white soft cheese supplemented with encapsulated olive phenolic compounds. *Egyptian Journal of Chemistry*, 63(9), 2921–2931. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2020.2921.2931>

**Fegeros, K., Zervas, G., Apsokardos, F., Vastardis, J., & Apostolaki, E.** (1995). Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*, 17, 9-15.

**Ferreira, S. M., Matos, L. C., & Santos, L.** (2024). Harnessing the potential of chestnut shell extract to enhance fresh cheese: A sustainable approach for nutritional enrichment and shelf-life extension. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(2), 1559-1573.

**Frühbauerová, M., Cervenka, L., Hájek, T., Salek, R., Velichová, H., & Buňka, F.** (2020). Antioxidant properties of processed cheese spread after freeze-dried and oven-dried grape skin powder addition. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14, 230–238.

## G

**Gião, M. S., González-Sanjósé, M. L., Rivero-Pérez, M. D., Pereira, C. I., Pintado, M. E., & Malcata, F. X.** (2007). Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final sand Agriculture, 87(14), 2638-2647. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3023>

**Gil, K. A., Jerković, I., Marijanović, Z., Manca, M. L., Caddeo, C., & Tuberoso, C. I. G.** (2022). Evaluation of an innovative sheep cheese with antioxidant activity enriched with different thyme essential oil lecithin liposomes. *LWT*, 154, 112808.

**Grimaldi, M., Pitirollo, O., Ornaghi, P., Corradini, C., & Cavazza, A.** (2022). Valorization of agro-industrial byproducts: Extraction and analytical characterization of valuable compounds for potential edible active packaging formulation. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100900.

## H

**Huang, C. L., & Sumpio, B. E.** (2008). Olive oil, the Mediterranean diet, and cardiovascular health. *Journal of the American College of Surgeons*, 207, 407-416.

## L

**Laporte, J.-P., Oulebsir, R., Hamadache, T., Chaker, S., & Brun, J.-P.** (2013). Olivier (La culture de l'olivier, de l'Antiquité à la Kabylie contemporaine). *Encyclopédie berbère*, 35. Document O15. Mis en ligne le 12 mars 2021, consulté le 17 février 2022. URL : <http://journals.openedition.org/encyclopedieberbere/2812> ; DOI : <https://doi.org/10.4000/encyclopedieberbere.2812>.

**Langgut, D., Cheddadi, R., Sebastian Carrion, J., Cavanagh, M., Colombaroli, D., Eastwood, W. J., Greenberg, R., Litt, T., Mercuri, A. M., Miebach, A., Roberts, C. N., Woldring, H., & Woodbridge, J.** (2019). The origin and spread of olive cultivation in the Mediterranean Basin: The fossil pollen evidence. *Holocene*, 29(5), 902-922. <https://doi.org/10.1177/095968361982665>

**Loussert, R., & Brousse, G.** (1978). *L'olivier, Coll. des techniques agricoles et Production méditerranéennes*. G.P. Maisonneuve et Larose.

**Luquet, F., & Corrieu, G.** (2005). *Bactéries lactiques et probiotiques*. Tec et Doc, Lavoisier.

## M

**Mahaut, M., Jeantet, R., Schuck, P., & Brule, G.** (2000). *Les produits industriels laitiers*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

**Martin-Garcia, A. I., & Molina-Alcaide, E.** (2008). Effect of different drying procedures on the nutritive value of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaves for ruminants. *May 2008*, 142, 317-329.

**Mathesius, U.** (2018). Flavonoid Functions in Plants and Their Interactions with Other Organisms. *Plants*, 7(2), 30. <https://doi.org/10.3390/plants7020030>

**Mendil, M., & Sebai, A.** (2006). Aperçu sur le patrimoine génétique autochtone, *Catalogue des variétés Algériennes de l'olivier, ITAFV*. 104p.

**Metzidakis, I., Koubouris, G., & Voyiatzis, D.** (1999). Olive (*Olea europaea* L.) - A perennial, evergreen, grey-green, elongated-leaf tree. In E. Geissler & C. Stanhill (Eds.), *The Scientific Basis for Sustainable Management of Agro-ecosystems in Mediterranean Climate Regions* (pp. 337-360). International Scientific Publications.

**Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural - Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAF).** (2023). *Catalogue des variétés algériennes de l'olivier*. Algérie.

## N

**Nefzaoui, A.** (1988). Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. In M. Allaya (Ed.), *L'économie de l'olivier* (pp. 153-173). CIHEAM. Options Méditerranéennes : Série Etudes; n. 1988-V. Economie de l'Olivier, 1987/01/20-22, Tunis, TUN. Retrieved from <http://om.ciheam.org/om/pdf/s18/CI010905.pdf>

**NF V05-113** (1972). *Fruits, légumes et produits dérivés - Minéralisation des matières organiques - Méthode par incinération*.

**Nzekoue, F. K., Alesi, A., Vittori, S., Sagratini, G., & Caprioli, G.** (2021). Development of a functional whey cheese (ricotta) enriched in phytosterols: Evaluation of the suitability of whey cheese matrix and processing for phytosterols supplementation. *LWT*, 139, 110479.

## P

**Papagianni, O., Argyri, K., Loukas, T., Magkoutis, A., Biagki, T., Skalkos, D., ... & Koutelidakis, A. E.** (2021). Postprandial bioactivity of a spread cheese enriched with mountain tea and orange peel extract in plasma oxidative stress status, serum lipids and glucose levels: An interventional study in healthy adults. *Biomolecules*, *11*(8), 1241. <https://doi.org/10.3390/biom11081241>

**Peršurić, Ž., Saftić, L., Klisović, D., & Kraljević Pavelić, S.** (2019). Polyphenol-Based Design of Functional Olive Leaf Infusions. *Food Technology and Biotechnology*, *57*(2), 171-182. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.5921>

**Polese, J. M.** (2009). *Flore Méditerranéenne*. Delachaux et Niestlé.

**Ponte, M., Maniaci, G., Di Grigoli, A., Gannuscio, R., Ashkezary, M. R., Addis, M., ... & Bonanno, A.** (2022). Feeding dairy ewes with fresh or dehydrated Sulla (*Sulla coronarium* L.) forage. 2. Effects on cheese enrichment in bioactive molecules. *Animals*, *12*(18), 2462.

## R

**Rajabiesterabadi, H., Ghelichi, A., Akrami, R., Jorjani, S., & Hoseini, S. M.** (2020). Dietary olive (*Olea europaea*) leaf extract suppresses oxidative stress and modulates intestinal expression of antioxidant- and tight junction-related genes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, *520*, 734676. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734676>

**Richonnet, C.** (2015). Caractéristiques nutritionnelles des fromages fondus : 2015 société française de nutrition ; publié par Elsevier Masson SAS, Cahier de nutrition et de diététique (2016): Science Directe, 5p.

**Rombi, C., Tondini, E., Guerriero, R., & Bergamini, R.** (2015). L'olivier : culture, usages et patrimoine. Éditions Ouest-France.

**Roila, R., Valiani, A., Ranucci, D., Ortenzi, R., Servili, M., Veneziani, G., & Branciari, R.** (2019). Antimicrobial efficacy of a polyphenolic extract from olive oil by-product against “Fior di latte” cheese spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, *295*, 49-53.

**Roussos, P. A., Sefferou, V., Denaxa, N. K., Tsantili, E., & Stathis, V.** (2011). Apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruit quality attributes and phytochemicals under different cropload. *Scientia Horticulturae*, *129*(3), 472-478.

## S

**Şahin, S., & Bilgin, M.** (2018). Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8619>

**Shori, A. B., & Baba, A. S.** (2013). Antioxidant activity and inhibition of key enzymes linked to type-2 diabetes and hypertension by *Azadirachta indica*-yogurt. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(3), 295-301.

**Soares, S., Brandão, E., Guerreiro, C., Soares, S., Mateus, N., & de Freitas, V.** (2020). Tannins in Food: Insights into the Molecular Perception of Astringency and Bitter Taste. *Molecules*, 25(11), 2590. <https://doi.org/10.3390/molecules25112590>.

**Starkute, V., Lukseviciute, J., Klupsaite, D., Mockus, E., Klementaviciute, J., Rocha, J. M., ... & Bartkiene, E.** (2023). Characteristics of Unripened Cow Milk Curd Cheese Enriched with Raspberry (*Rubus idaeus*), Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) and Elderberry (*Sambucus nigra*) Industry By-Products. *Foods*, 12(15), 2860.

**Swaddling, J.** (1999). *The Ancient Olympic Games*. University of Texas Press.

## T

**Tripathi, S., & Mishra, S.** (2021). Antioxidant, antibacterial analysis of pectin isolated from banana peel and its application in edible coating of freshly made mozzarella cheese. *Asian Food Science Journal*, 20, 82–92.

## V

**Vignola, C.** (2002). *Science et Technologie du Lait Transformation du Lait*. Presses Internationales Polytechnique.

## Y

**Yilmaz-Ersan, L., & Suna, G.** (2024). Comparison of the probiotic cheese enriched with microalgae with the targeted metabolomics and nutritional quality indices through the chemometric tools. *Talanta*. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125801>

## Z

**Zandona, E., Vranković, L., Pedisić, S., Vukušić Pavičić, T., Dobrinčić, A., Marušić Radovčić, N., ... & Barukčić Jurina, I.** (2024). Production of Acid and Rennet-Coagulated Cheese Enriched by Olive (*Olea europaea* L.) Leaf Extract—Determining the Optimal Point of Supplementation and Its Effects on Curd Characteristics. *Foods*, 13(4), 616.

# **Annexes**

**Annexe I : résultats des activités anti-oxydantes.**

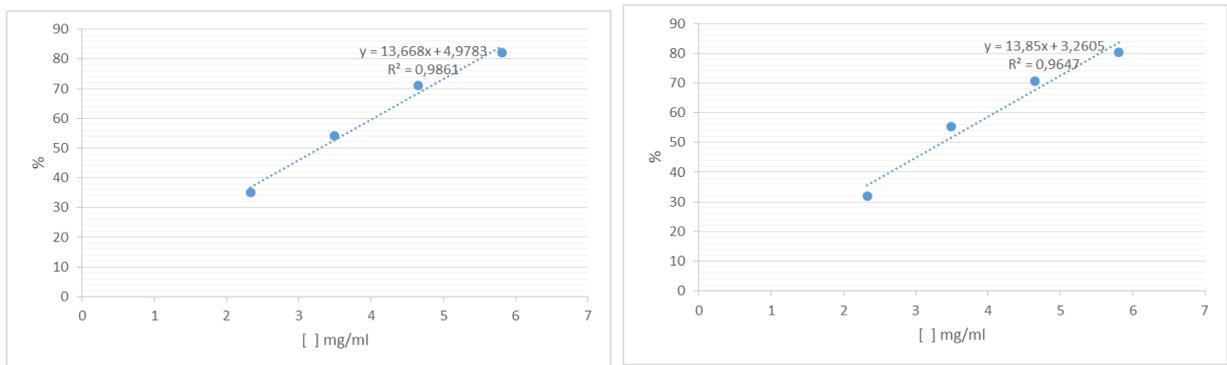


Figure 1: résultats de DPPH pour la variété Azeradj

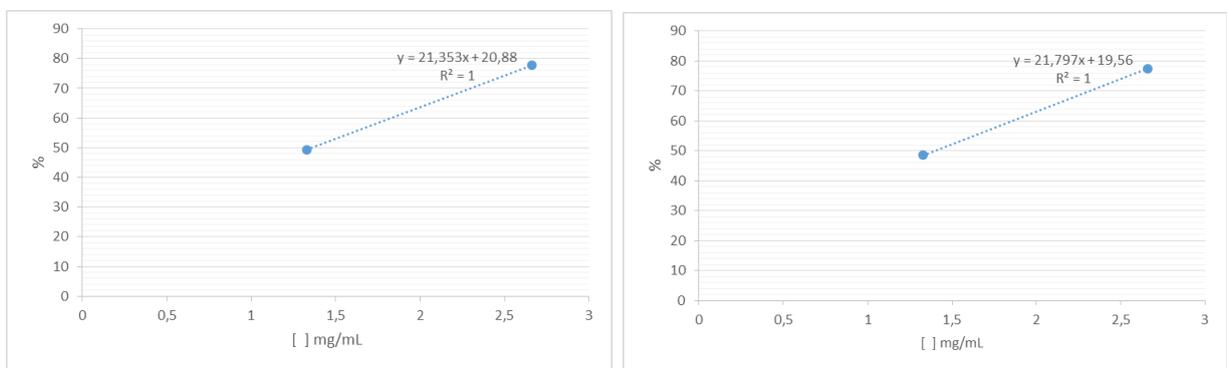


Figure 2: résultats de DPPH pour la variété Azeradj

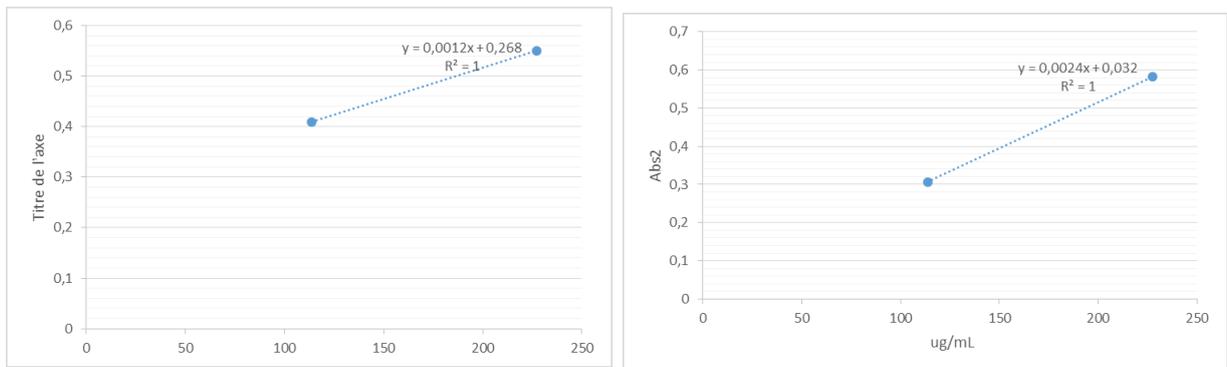


Figure 3: résultats de molybdate de la variété Azeradj.

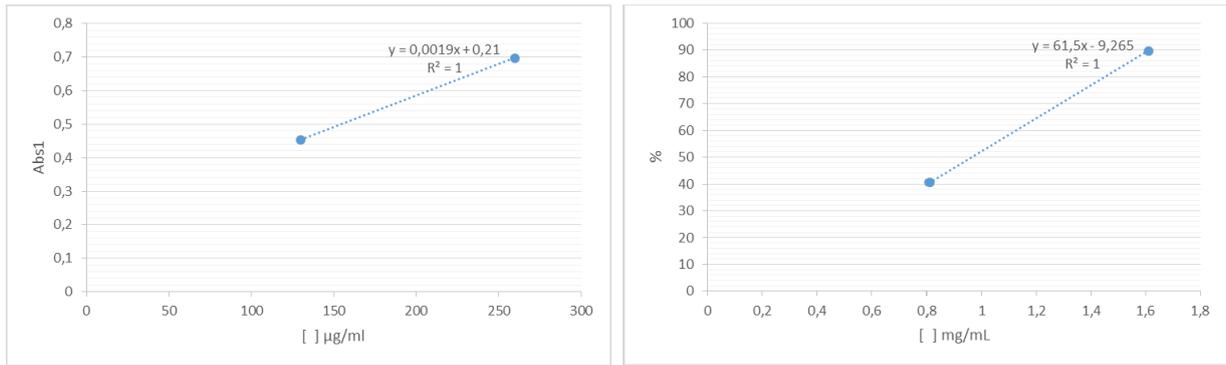


Figure 4: résultats de molybdate pour la variété Chemlal

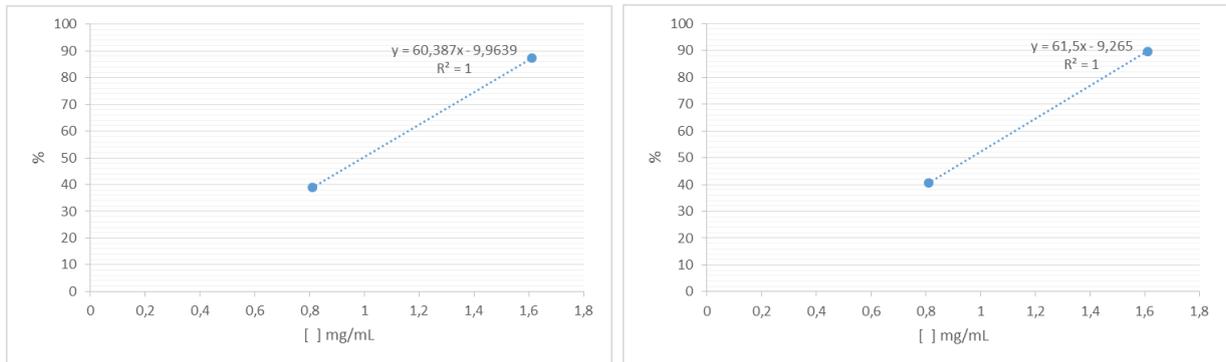


Figure 5: résultats d'ABTS pour la variété Azeradj

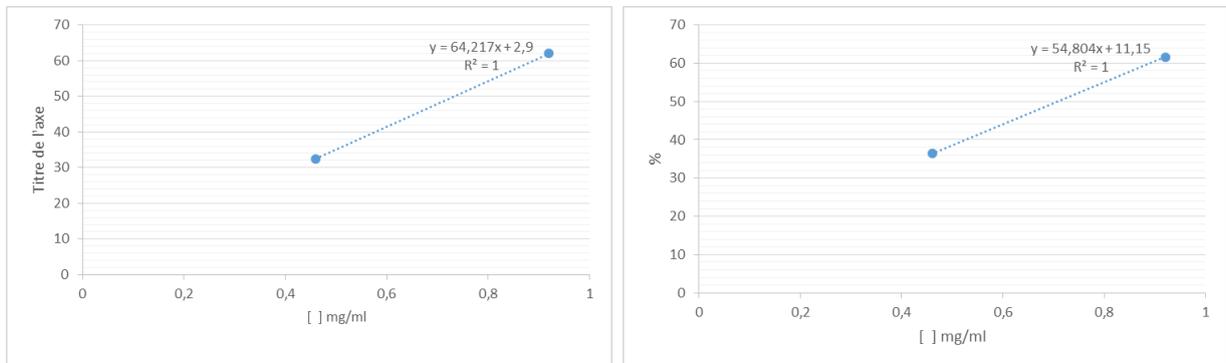


Figure 6: résultats d'ABTS pour la variété Chemlal

## Annexe II : résultats des dosages et des activités anti-oxydantes.

### Questionnaire d'évaluation sensorielle

Date :.....

Nom et prénom :..... Age :..... Sexe :.....

Quatre échantillons de fromage frais codés de 1 jusqu' a 4 vous sont présentés. Il vous est demandé d'évaluer les différentes caractéristiques organoleptiques en attribuant une note entre 1 et 5 selon l'échelle présentée.

**NB :** Veuillez rincer la bouche après chaque dégustation d'un échantillon (Echan).

#### I. Couleur :

1. Blanche
2. Blanc cassé
3. Beige
4. Vert claire
5. Vert foncé

Echan A	Echan B	Echan C	Echan D

#### II. Odeur :

1. Absente
2. Faible
3. Moyenne
4. Forte
5. Très forte

Echan A	Echan B	Echan C	Echan D

#### III. Sensation en bouche :

##### ❖ Gout salé :

1. Absent
2. Faible
3. Moyen
4. Fort
5. Très Fort

Echan A	Echan B	Echan C	Echan D

##### ❖ Gout acide :

1. Absent
2. Faible
3. Moyen
4. Fort
5. Très fort

Echan A	Echan B	Echan C	Echan D

##### ❖ L'arôme :

1. Absent
2. Faible
3. Moyen
4. Fort
5. Très Fort

Echan A	Echan B	Echan C	Echan D

**IV. Composé ajouté identifié :**

1. Absent
2. Echalotes
3. Ail
4. Feuilles d'Olivier
5. Non identifier

<b>Echan A</b>	<b>Echan B</b>	<b>Echan C</b>	<b>Echan D</b>

**V. Texture :**

❖ **Texture :**

1. Très faiblement granuleux
2. Faiblement granuleux
3. Moyen (ni granuleux ni lisse)
4. Lisse
5. Très lisse

<b>Echan A</b>	<b>Echan B</b>	<b>Echan C</b>	<b>Echan D</b>

❖ **Consistance :**

1. Très mole
2. Mole
3. Moyenne
4. Ferme
5. Très ferme

<b>Echan A</b>	<b>Echan B</b>	<b>Echan C</b>	<b>Echan D</b>

❖ **Tartinabilité :**

1. Très difficile
2. Difficile
3. Moyenne
4. Facile
5. Très facile

<b>Echan A</b>	<b>Echan B</b>	<b>Echan C</b>	<b>Echan D</b>

**VI. Préférence :**

- ❖ Attribuer une note entre 1 et 9 pour chaque échantillon selon votre préférence comme présenté dans l'échelle ci-dessous :

1. Extrêmement désagréable.
2. Très désagréable.
3. Désagréable.
4. Assez désagréable.
5. Ni agréable, Ni désagréable.
6. Assez agréable.
7. Agréable
8. Très agréable.
9. Extrêmement agréable.

<b>Echantillon A</b>	<b>Echantillon B</b>	<b>Echantillon C</b>	<b>Echantillon D</b>

# Résumé

L'objectif de cette étude est d'ajouter des sous-produits alimentaires à un fromage frais, tels que les feuilles d'olivier. Avant toute chose, nous avons effectué une amélioration des conditions d'extraction des polyphénols totaux (PPT) à l'aide d'un solvant eutectique. Par la suite, nous avons évalué les niveaux de PPT, de flavonoïdes, tannins et d'activité antioxydante des extraits obtenus en utilisant les paramètres optimaux. Par ailleurs, quelques analyses physicochimiques et sensorielles ont été réalisées sur le fromage élaboré. Les feuilles d'olivier Azeradj atteignent une valeur maximale en PPT de 7777,78 mg EAG/100 g MS avec un ratio 1/80 g/mL, un temps d'extraction de 60 minutes et une vitesse d'agitation de 900 rpm. Alors que, les feuilles Chemlal ont un contenu en PPT maximal de 96306,195mg EAG/g MS, nous avons utilisé un ratio de 1/70 g/mL, pendant 90 minutes et à une vitesse de 500 rpm. Les teneurs en flavonoïdes de 100,88 et 52,18 EQ/g MS et les teneurs en tannins sont 1125 et 664,28 mg/100 g dans les extraits des variété azeradj et Chemlal, respectivement. D'après les tests antioxydants, nous avons conclu que les feuilles Chemlal ont un pouvoir antioxydant plus élevé, avec des IC<sub>50</sub> de 1357 µg/mL pour le DPPH, 159,09 µg/mL pour le phosphomolybdate et 7200 µg/mL pour l'ABTS, contrairement aux résultats obtenus pour Azeradj qui sont de 3330 µg/mL (DPPH), 194,165 µg/mL (Phosphomolybdate) et 9750 µg/mL (ABTS). Les analyses physico-chimiques ont révélé que le fromage préparé est conforme. Selon les analyses sensorielles, les fromages frais enrichis en poudre de feuilles d'olivier ont été appréciés par les spécialistes.

**Mots clés :** feuilles d'olivier ; optimisation d'extraction ; composé phénolique ; activité antioxydante ; fromage frais.

## Abstract

The aim of this study was to add food by-products, such as olive leaves to fresh cheese. Initially, the extraction conditions of total polyphenols (TP) were optimized using a eutectic solvent. Subsequently, the levels of TP, flavonoids, tannins, and antioxidant activity of the extracts obtained using the optimal parameters were evaluated. Furthermore, some physicochemical and sensory analyses were performed on the prepared cheese. The Azeradj olive leaves reached a maximum TP value of 7777.78 mg GAE/100 g DM with a 1/80 g/mL ratio, an extraction time of 60 minutes, and a stirring speed of 900 rpm. In contrast, the Chemlal leaves had a maximum TP content of 96306.195 mg GAE/g DM, using a 1/70 g/mL ratio, for 90 minutes, at a speed of 500 rpm. The flavonoid contents were 100.88 and 52.18 QE/g DM, and the tannin contents were 1125 and 664.28 in the extracts of Azeradj and Chemlal varieties, respectively. According to antioxidant tests, we concluded that Chemlal leaves have a higher antioxidant power, with IC<sub>50</sub> values of 1357 µg/mL for DPPH, 159.09 µg/mL for phosphomolybdate, and 7200 µg/mL for ABTS, compared to the results obtained for Azeradj, which were 3330 µg/mL (DPPH), 194.165 µg/mL (phosphomolybdate), and 9750 µg/mL (ABTS). Physicochemical analyses revealed that the prepared cheese was compliant. According to sensory analyses, the fresh cheeses enriched with olive leaf powder were appreciated by the specialists.

**Keywords:** olive leaves; phenolic compounds; optimization of extraction; antioxidant activity; fresh cheese.