

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Sciences Alimentaires
Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme MASTER

Thème

**Étude comparative des teneurs en composés phénoliques des grignons
d'olives (frais et sec)**

Soutenu le 26 juin

Présenté par :

M^{lle} SADOUDI Ines
M^{lle} ZIDANE Radia

Devant le jury :

Mme. Medouni Sonia	MCA	Présidente
Mme. Soufi Ouahiba	MCA	Encadreur
Mr. Bachir bey Mostapha	MCA	Examineur

Année universitaire : 2022 / 2023

Remerciements

Nous tenons à remercier particulièrement notre promotrice Dr Soufi Ouahiba, pour son encadrement efficace, ses précieuses remarques, sa confiance et ses encouragements. Nous tenons également à remercier Mme Djinni Ibtissem pour son aide, sa patience, sa disponibilité et ses précieux conseils. Qu'elles trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous remercions Mme. Medouni Sonia et Mr. Bachir bey Mostapha d'avoir accepté de nous honorer en tant que de jury.

Nous exprimons notre reconnaissance et nos remerciements à tout le personnel du laboratoire, pour son accompagnement et son soutien tout au long de la période pratique.

Nos sentiments de reconnaissances et de remerciements s'adressent également à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail.

Liste des abréviations

MADRE : Ministère de l'agriculture et développement rural.

AFIDOL : Association Française Interprofessionnelle de l'olive.

COI : Conseil Oléicole International.

SAU : la superficie agricole utile.

DSA : Direction des services agricoles.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

Abs : absorbance

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Principaux pays producteurs de l'huile d'olive	05
II	Composition chimiques des grignons d'olives	10
III	relation activité antioxydante et teneur en composés phénoliques	Annexe

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Structure de l'olive	05
2	Structure de quelques acides phénoliques et alcools phénoliques de grignons d'olive	12
3	Structures chimiques des principaux flavonoïdes des grignons d'olives	13
4	Structure de l'oleuropéine (a) et nüzhenide (b)	13
5	structures du pinorésinol et l'acetoxy-pinorésinol	13
6	Taux d'humidité des grignons d'olive frais et sec analysés	27
7	Taux de cendres des grignons d'olive frais et sec analysés	28
8	Teneur en matières grasses des grignons frais et sec Analysée	28
9	Teneurs en composés phénoliques totaux des grignons d'olive frais et sec analysée	29
10	Teneur en flavonoïde des grignons d'olive frais et sec Analysée	30
11	Teneur en flavonols des grignons d'olive frais et sec Analysée	31
12	Teneur en Ortho-diphénols de grignon d'olive frais et sec Analysée	31
13	Teneur en pouvoir réducteur des grignons des échantillons étudiés.	32
14	Activité anti-radicalaire (contre ABTS ^{o+}) de grignon d'olive frais et sec.	33
15	Activité anti radicalaire (DPPH ^o) des grignons d'olives frais et sec analysés.	33
16	Teneur en pouvoir chélateur du fer des grignons des échantillons étudiés	33
17	Taux d'inhibition du peroxyde hydrogène des grignons d'olives frais et sec.	34
18	Taux d'inhibition du β -carotène des grignons frais et sec analysés..	35
19	Mise en évidence de l'activité cellulosique de la souche S2.	38
20	Mise en évidence de l'activité liasique de la souche S2.	38
21	développement de la souche S2 en fermentation submergés	39

Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Généralités sur l'olivier et l'huile d'olive...	03
I.1. L'olivier.....	03
I.2. L'olive	03
I.2.1. Epicarpe.....	03
I.2.2. Le mésocarpe.....	03
I.2.3. L'endocarpe.....	04
II. L'oléiculture.....	04
II.1. Oléiculture dans le monde	04
II.2. Oléiculteur en Algérie.....	05
III. Système d'extraction de l'huile d'olive.....	05
III.1. Opérations préliminaires.....	05
III.1.1. Nettoyage et préparation des olives.....	05
III.1.2. Le broyage des olives	05
III.1.3. Le malaxage.....	06
III.1.4. La séparation des phases.....	06
III.2. Procédés d'extraction d'huile d'olive.....	06
IV. Grignon d'olive	07
IV.1. Types de grignons	07
IV.1.2. Le grignon épuisé.....	07
IV.1.3. Le grignon tamisé.....	07
IV.2. Caractéristiques chimiques des grignons d'olives.....	08
V. Composée phénoliques des grignons d'olives.....	09
V.1. Les acides et les alcools phénoliques.....	09
V.2. Les flavonoïdes.....	10
V.3. Les dérivés sécoiridoïdes.....	11
V.4. Lignanes.....	11
VI. Activité antioxydante	11

VII. Potentiel biotechnologique des grignons d'olives en vue de leur valorisation	12
---	----

MATERIELS ET METHODES

I. Échantillonnage	13
II. Détermination des paramètres physico-chimiques	13
II.1. Taux d'humidité.....	13
II.2. Taux de cendres	13
III. Extraction de la matière grasse par soxhlet	13
IV. Dosage des composés phénoliques.....	14
IV.1. Préparation des extraits	14
IV.2. Composés phénoliques totaux	14
IV.2.1. Composés phénoliques totaux	14
IV.2.2. Ortho-diphénols.....	14
IV.2.3. Flavonoïdes	14
IV.2.4. Flavonols	15
V. Activité antioxydante.....	15
V.1. Pouvoir réducteur.....	15
V.2. Activité anti-radicalaire	15
V.3. Pouvoir chélateur du fer.....	16
V.4. Activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène.....	16
V.5. Activité anti-radicalaire (contre le radical cationique ABTS ^{o+}).....	17
V.6. Test de blanchissement du β -Carotène	17
VI. Mesure du potentiel microbiologique.....	17
VI.1. Matériel analytique.....	18
VI.2. Matériel biologique	18
VI.3. Méthodes	18
VI.3.1. Repiquage de la souche	18
VI.3.2. Mise en évidence du potentiel enzymatique de la souche.....	18
VI.3. Condition de fermentation en milieu liquide.....	19
VI.3.1. Test de viabilité de la souche en présence du substrat	19
VI.3.2. Evaluation de l'activité enzymatique	19
VII. Analyse statistique	19

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Analyses physico-chimiques	20
I.1. Taux d'humidité	20

Table des matières

I.2. Cendres.....	20
I.3. Détermination de la teneur en matière grasse par soxhlet.....	21
II. Composés phénoliques.....	22
II.1. Composés phénoliques totaux.....	22
II.2. Flavonoïdes.....	22
II.3. Flavonols.....	23
II.4. <i>Ortho</i> -diphénols.....	24
III. Activité antioxydante.....	25
III.1. Pouvoir réducteur.....	25
III.2. Activité anti-radicalaire (contre le radical cationique ABTS ⁺).....	25
III.3. Activité anti-radicalaire (contre le radical DPPH°).....	26
III.4. Pouvoir chélateur du fer.....	27
III.5. Activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène.....	28
III.6. Blanchissement de la β -carotène.....	28
IV. Relation activité antioxydante/teneurs en composés phénoliques.....	29
V. Mesure du potentiel microbiologique.....	30
V.1. Mise en évidence de l'activité enzymatique de la souche.....	30
V.1.1. Recherche des cellulases.....	30
V.1.2. Recherche des lipases.....	31
V.2. Viabilité de la souche en présence du substrat.....	32
Conclusion.....	33
Références bibliographique	
Annexes	
Résumé	

INTRODUCTION

L'industrie oléicole, outre sa production principale d'huile d'olive vierge, génère deux sous-produits. Le premier est un solide appelé les grignons, le second est un liquide appelé les eaux de végétation ou les margines. Ces sous-produits, sont des éléments incontournables de l'industrie oléicole et peuvent présenter un potentiel intéressant pour diverses utilisations et valorisations, tant sur le plan économique que sur le plan environnemental (**Madr, 2012**).

La culture de l'olivier est une activité agricole importante en Algérie. Selon l'agence Nationale de développement de l'investissement (ANDI, Algérie, 2017), 87 500 tonnes de grignons d'olives sont produites chaque année.

Les grignons d'olives sont des effluents solides composés principalement de peaux, de résidus de pulpe et de fragments de noyaux. Ils sont riches en cellulose, hémicellulose et lignine, ce qui les classe comme des matières lignocellulosiques (**Vlyssides et al, 2004 ; Pütün et al, 2005 ; Roig et al, 2006**). Toutefois, cette composition diffère en fonction de leur état : frais ou sec, le grignon frais renferme environ 25% d'eau et une certaine quantité d'huile qui favorisent leur altération rapide, tandis que le grignon sec se caractérise par une plus faible teneur en eau et en huile (**sansoucy, 1985**).

En plus de leur composition fibreuse, les grignons peuvent également contenir des résidus d'huile d'olive, des protéines et divers autres composés bioactifs, parmi lesquels figurent les composés phénoliques à intérêt nutritionnel (**Pütün et al, 2005 ; Roig et al, 2006 ; Gautier et al, 2019**). En effet, de nombreuses études ont confirmé le rôle indéniable de la consommation des produits oléicoles dans la réduction du risque de cancers et de maladies chroniques, en particulier les affections cardiovasculaires. Cette relation bénéfique est souvent attribuée aux composés bioactifs spécifiques présents dans ces produits tels que l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol, les sécoïridoïdes, les lignanes, etc. Ces composés jouent un rôle clé dans la prévention de l'oxydation des molécules biologiques, contribuant ainsi à leur stabilité et à la protection des cellules contre les dommages oxydatifs (**Quiles et al, 2006, Ghazghazi et al, 2015 Ouedrhiri et al, 2017**).

Par ailleurs, en plus de leur richesse en substances bioactives, les grignons sont une bioressource naturelle dotées d'un potentiel microbiologique intéressant, particulièrement les microorganismes utilisant cette matière pour la dégrader et/ou produire des métabolites à intérêt constituant ainsi une des voies les plus importantes pour la valorisation de ces matières naturelles et participant ainsi à la lutte contre la pollution environnementale.

Par conséquent l'extraction de telles molécules à partir de ces matrices naturelles constitue une étape cruciale, notamment en vue de leur valorisation. D'où s'inscrit l'objet de la présente étude qui vise à déterminer les teneurs en diverses substances bioactives des

grignons frais et sec, évaluer l'activité antioxydante des extraits obtenus et d'explorer également leur potentiel biotechnologique quant à la production de certaines enzymes et l'utilisation de ces matrices par des microorganismes à intérêt.

Le présent document comprend deux parties principale :

- La première partie constitue une synthèse des données bibliographiques sur les produits et sous-produits oléicoles, principalement les grignons ;
- La deuxième partie expérimentale décrit les méthodes adoptées pour les différentes analyses, et les résultats ainsi que leur interprétation ;

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

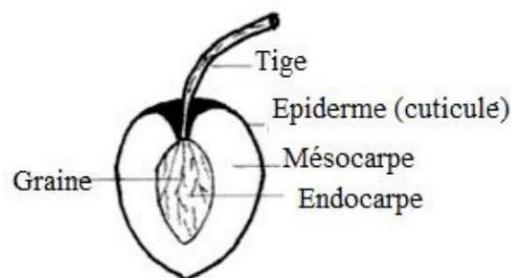
I. Généralités sur l'olivier et l'huile d'olive

I.1. L'olivier

L'olivier est l'un des arbres les plus caractéristiques de la région méditerranéenne ; il a une grande importance nutritionnelle, sociale, culturelle et économique sur les populations de cette région où il est largement distribué (**Claridge et Walton, 1992**). Le nom botanique de l'olivier est *Olea europaea* Linné, *Olea sativa* Hoffsmeg et Link, il est classé dans l'ordre botanique des *Oleales* (**Guignard et al, 2004**). L'olivier est un arbre fruitier qui produit des olives, ayant des feuilles vertes toute l'année. Ses dimensions et sa forme varient selon les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol et la variété (**Wanger, 1999**).

I.2. L'olive

L'olive est une drupe ayant une composition dépendante de la variété, du sol et du climat. Elle est de forme ovoïde ou ellipsoïde (**Sotiroudis et al, 2003**). L'olive comprend trois parties : l'épicarpe, mésocarpe, regroupé sous la dénomination de péricarpe, et l'endocarpe (figure1)



(**Bianchi, 2003**).

Figure1 : Structure de l'olive (**Garrido-Fernández et al, 1997**).

I.2.1. Epicarpe

Il s'agit de la couche externe de l'olive qui représente environ 1 à 3% du poids total du fruit. Cette partie est recouverte d'une couche de cire, qui représente entre 45 à 70% de sa composition. Au stade avancé de son développement, la peau de l'olive est de couleur verte en raison de l'accumulation de chlorophylle, puis elle évolue vers le jaune, le rose, le pourpre et enfin le noir à maturité complète (**Garrido-Fernández et al, 1997 ; Bianchi, 2003**).

I.2.2. Le mésocarpe

Il constitue la partie comestible en combinaison avec la peau. Il représente environ 70 à 80% du fruit. Les cellules du mésocarpe peuvent varier en taille et en forme. Les principaux

constituants sont l'eau (70 à 75%) et l'huile avec un taux de 15% dans les olives vertes et de 30% dans les olives noires mûres (**Bianchi, 2003 ; Kailis et Harris, 2007**).

I.2.3. L'endocarpe

Cette partie constitue 18 à 22% du poids total du fruit. Elle est composée de cellules plus petites que celles du mésocarpe. Les noyaux d'olives varient en forme et en taille, et leurs caractéristiques de surface peuvent être utilisées pour identifier les différentes variétés. La teneur en huile du noyau est d'environ 22 à 27%, et cette huile présente une composition chimique différente de celle de l'huile extraite de la pulpe de l'olive (**Bianchi, 2003 ; Kailis et Harris, 2007**).

II. L'oléiculture

II.1. Oléiculture dans le monde

La surface totale consacrée à la culture de l'olivier s'élève à environ 11 millions d'hectares, avec près de 1,5 milliard d'oliviers plantés à travers le monde. La répartition de ces plantations est la suivante : l'Union européenne recouvre 50% de cette superficie, l'Afrique du Nord 25%, le Moyen-Orient 20%, tandis que le reste est réparti entre l'Amérique (Californie, Chili, Argentine...), l'Australie et la Chine (**AFIDOL, 2013**). Au cours de la campagne 2022/2023, le bassin méditerranéen occidental fait face à des événements climatiques exceptionnels, où la canicule, la sécheresse mais aussi les inondations et les incendies ont eu de fortes incidences sur la production oléicole de la plupart des pays producteurs. Selon les estimations de l'UE, la production d'huile d'olive européenne a chuté à 1,7 Mt (2,3 Mt en 2021/2022) soit un retrait de 35 % par rapport à la campagne précédente.

Tableau I : principaux pays producteurs de l'huile d'olive (C.O.I, 2023).

	Productions	Estimations (t)	Estimation (t)
Méditerranée occidentale	Espagne	750 000	1300 000
	Italie	220 500	329 000
	Tunisie	200 000	240 000
	Maroc	156 000	200 000
	Portugal	100 000	120 000
	Algérie	30 000	980 000
Méditerranée orientale	Grèce	350 000	225 000
	Turquie	400 000	227 500
	Syrie	125 000	105 500
	Jordanie	30 000	22 000
	Liban	26 000	21 500

Ces incidences climatiques ont des conséquences moindres dans les pays situés à l'est de l'Europe, tels que la Grèce ou la Turquie qui annoncent des volumes conséquents, voire une récolte record. Au cœur du bassin occidental, l'Espagne et l'Italie estiment une baisse de production respective de plus de 70 % et 40 %, tandis que le Portugal évalue ses pertes à 20 %. (Tableau I) (C.O.I, 2023). Ils produisent chaque année une moyenne de 5.000 tonnes d'huile d'olive, ce qui génère 150.000 tonnes de déchets verts oléicoles.

II.2. Oléiculteur en Algérie

En Algérie, l'oléiculture joue un rôle économique, social et environnemental important. Le verger oléicole national couvre une superficie de plus 450 mille hectares avec un nombre d'olivier atteignant 6.200.000 arbres (Amrouni *et al*, 2020). La wilaya de Bejaia est une région oléicole par excellence, elle est la principale zone de production oléicole en Algérie. Son caractère montagneux et son climat méditerranéen ont fait d'elle une région pilote en termes de production oléicole (Zaidi *et al*, 2021). L'oléiculture occupe une place importante dans l'assiette foncière agricole de la région, elle représente environ 44,6% de SAU (la superficie agricole utile) et 83,98 % du potentiel arboricole (DSA, 2020).

En effet, la wilaya de Tizi Ouzou est également une région oléicole par excellence. Elle se classe en 2^{ème} position à l'échelle nationale et représente (Amrouni *et al*, 2020). Les autres wilayas sont situées dans la région Est, à savoir Bourdj Bou Arréridj, Sétif et Jijel. En ce qui concerne le reste des vergers oléicoles, ils sont principalement dédiés à la production d'olives de table et se concentrent principalement dans trois autres wilayas, à savoir Tlemcen, Mascara et Relizane (Lamani *et Ilbert*, 2016).

III. Système d'extraction de l'huile d'olive

III.1. Opérations préliminaires

III.1.1. Nettoyage et préparation des olives

Les premières étapes du processus consistent à séparer les feuilles des olives, suivi d'un lavage à l'eau froide. Une fois arrivées au moulin, les olives doivent être broyées dès que possible pour garantir une excellente qualité de l'huile extraite (Seddiki *et Tadjer*, 2013).

III.1.2. Le broyage des olives

Le broyage des olives est la première étape essentielle pour libérer l'huile des tissus végétaux. Son objectif est de déchiqeter les cellules de la pulpe, permettant ainsi aux gouttelettes d'huile emprisonnées dans les vacuoles de se regrouper et de former des gouttes

plus grandes. Cela facilite leur séparation des autres phases, liquides et solides, de la pulpe d'olive. Le broyage est principalement réalisé à l'aide de broyeurs spécifiques (**Inarejos *et al*, 2011**).

III.1.3. Le malaxage

Après broyage, la pâte d'olive passe dans un malaxeur où un processus de chauffage est parfois appliqué, avec injection d'eau. Cette opération vise à homogénéiser la pâte, en assurant un mélange uniforme des composants et détacher les cellules lipidiques, facilitant ainsi l'extraction de l'huile. Le chauffage et l'ajout d'eau dans certains cas visent également à augmenter le pourcentage d'huile "libre", c'est-à-dire l'huile qui peut être facilement extraite. Cela favorise, d'une part, la coalescence des gouttelettes d'huile, permettant leur fusion pour former une phase continue d'huile, et d'autre part, la rupture de l'émulsion entre l'huile et l'eau présentes dans la pâte. Cette étape de malaxage est très importante pour améliorer le rendement de l'extraction d'huile d'olive (**Ghanabari *et al*, 2012 ; Roger, 1974 ; Cuellar, 1990**).

III.1.4. La séparation des phases

Les principales méthodes sont les suivantes

- **Séparation des phases liquides-solides** : Le broyage et le malaxage des olives donnent naissance à une pâte qui contient à la fois la matière solide et des fluides. Les éléments solides, appelés grignons, comprennent des débris de noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires...etc. La partie fluide de la pâte est composée d'huile et d'eau de végétation, connue sous le nom de margines.
- **Séparation des phases liquide-liquide** : La séparation entre la phase aqueuse et la phase huileuse est généralement réalisée par décantation ou centrifugation. Cette opération repose sur la différence de densité entre l'huile d'olive et l'eau de végétation. La centrifugation permet de séparer plus efficacement les deux phases en utilisant la force centrifuge (**Anonyme, 2000**).

III.2. Procédés d'extraction d'huile d'olive

a. Procédé discontinu

La méthode d'extraction de l'huile d'olive se faisait exclusivement par pression, jusqu'à l'émergence des méthodes modernes d'extraction par centrifugation. Le procédé classique de pression utilisait des broyeurs pour le broyage des olives, suivi du malaxage sous des meules.

Environ une demi-heure de traitement permet d'obtenir une pâte composée de grignons et d'un moût contenant l'huile et les margines. La séparation entre les phases solide et liquide se fait par simple pression, tandis que la séparation de l'huile des margines s'effectue naturellement par décantation (**Ben Hassine et al, 2009**).

b. Procédé continu

Le système continu est une innovation qui a révolutionné le processus d'extraction de l'huile d'olive grâce à l'application de nouvelles technologies. Ce système moderne a remplacé le pressage traditionnel et utilise des centrifugeuses horizontales appelées "Décanteurs". Cette avancée technologique a entraîné une amélioration significative du rendement et de la productivité des huileries (**Anonyme, 2000**).

IV. Grignon d'olive

Dans l'industrie oléicole, en plus de la production principale d'huile, deux principaux résidus sont générés: les margines, un sous-produit liquide, et les grignons d'olive, un sous-produit solide. Chaque année, les pays producteurs d'huile d'olive génèrent une quantité importante de ces sous-produits. En moyenne, le traitement de 100 kg d'olives produit environ 20 kg d'huile, 30 à 40 kg de grignon d'olive (avec une teneur en eau de l'ordre 25%) mais cela peut varier en fonction des systèmes d'extraction utilisés.

IV.1. Types de grignons

IV.1.1. Grignon brut : ce sont des résidus solides qui sont produits lors de la première extraction de l'huile d'olive. Ces grignons contiennent une quantité significative d'huile (**Moussaoui, 2007**).

IV.1.2. Le grignon épuisé : il est obtenu à partir du grignon brut, une fois que l'huile résiduelle est extraite à l'aide de solvant. Le grignon épuisé se caractérise par une faible teneur en matière grasse et en eau (**Moussaoui, 2007**).

IV.1.3. Le grignon tamisé : il est obtenu par un processus de tamisage qui permet de séparer partiellement les débris des noyaux concassés de la pulpe. Le grignon tamisé est qualifié de "gras" s'il n'a pas subi d'extraction d'huile par solvant, tandis qu'il est "délipidé" et "dégraissé" s'il a été traité pour en retirer toute l'huile (**Moussaoui, 2007**).

IV.2. Caractéristiques chimiques des grignons d'olives

Les grignons d'olive présentent des caractéristiques chimiques variables, qui dépendent de plusieurs facteurs : la variété d'olive, le stade de maturité du fruit (**Ferhat et al, 2014**) et particulièrement le processus d'extraction de l'huile, où il a été rapporté par dans une étude réalisée par **Haroue et al. (2018)**, la composition chimique des grignons d'olive provenant d'une huilerie traditionnelle et moderne. Parmi les principaux composants des grignons d'olive : la cellulose, l'hémicellulose et la lignine et des quantités importantes en matières grasses et en protéines (tableau II) (**Dermeche et al, 2013**).

Tableau II : Composition chimique des grignons d'olives (**Haroune et al., 2018**)

Paramètres	Système traditionnel	Système continue	
		Système à 2 phase	Système à 3 phase
Ph	5,29	6,6	5 ,1-5,32
Lignine (g/Kg)	194,7	-	426,3
Hémicelluloses (g/Kg)	168,4	-	350,8
Cellulose (g/Kg)	114,9	-	193,6
Mercure (g/Kg)	-	<0,1	<0,1
Cadmium (mg/Kg)	-	<0,05	<0,05
Arsenic (mg/Kg)	-	<0,05	<0,05
Zinc (mg/Kg)	-	9,9-10	8-21
Sodium (mg/Kg)	92,1	103,8	214,3-800
Calcium (mg/Kg)	17148,4	3218,7	1693-4500
Magnesium (mg/Kg)	1189,7	511,1	800-1700
Potassium (mg/Kg)	11366,6	16020,2	28433,9

Les grignons d'olive sont donc des matériaux lignocellulosiques (**Ducom et al, 2019**). Sur le plan minéral, les principaux éléments présents dans les grignons d'olive sont le potassium, le calcium et le sodium (**Dermeche et al, 2013 ; Christoforou et Fkaidis, 2016**). En ce qui concerne les métaux lourds, les concentrations dans les grignons d'olive sont généralement très faibles, voir négligeables. Les quantités de plomb, de cadmium, de chrome et de mercure sont inférieures à 1 mg/kg, ce qui indique une faible présence de ces métaux lourds dans les grignons d'olive (**Haroune et al, 2018**).

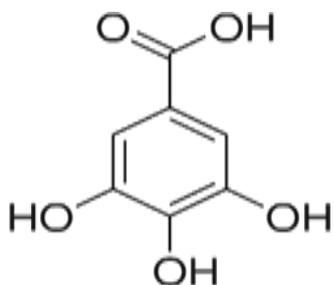
V. Composée phénoliques des grignons d'olives

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires présents dans les plantes. Ils se réfèrent à une vaste gamme de structures chimiques qui ont en commun un noyau benzénique lié à un ou plusieurs groupements hydroxyles qui peuvent être libres ou liés à d'autres fonctions chimiques (**Zigheb, 2015**). Les grignons d'olives sont une source riche en composés phénoliques, exerçant une multitude d'activités biologiques. Parmi les composés phénoliques abondants dans les grignons d'olive, on peut citer l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'oleuropéine, l'acide caféique, l'acide benzoïque et la rutine (**Fernández-Bolaños et al., 2002 ; Silva et al.2006**). D'après **Aliakbarian et al. (2018)**, les polyphénols présents dans les grignons d'olive peuvent être classés en quatre classes principales : les phénols simples, tels que le tyrosol et ses dérivés, les acides cinnamiques, tels que l'acide *p*-coumarique et le verbacoside, les flavonoïdes, tels que la rutine et l'apigénine, et les secoiridoïdes, tels que l'oleuropéine et ses dérivés.

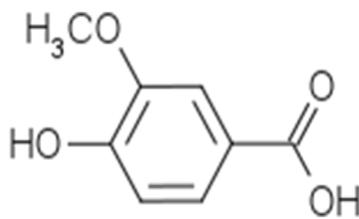
V.1. Les acides et les alcools phénoliques

La présence d'acides phénoliques simples est rare, à l'exception notable de l'hydroquinone, qui se trouve dans certains végétaux (**Bruneton, 1993**). Plusieurs acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque tels que les acides vanilliques, galliques, protocatéchiques (**Haslam et Lilley, 1988**). Parmi les acides phénoliques présents dans les grignons d'olive, l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide caféique et l'acide protocatéchique (**Cioffi et al. 2010**).

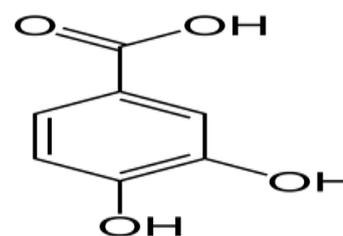
Parmi les alcools phénoliques les plus abondants dans les grignons d'olives, le tyrosol (4-hydroxyphényléthanol) et l'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphényléthanol) (**figure 2**) (**Cioffi et al.,2010**).



Acide gallique



Acide vanillique



Acide proto-catéchique

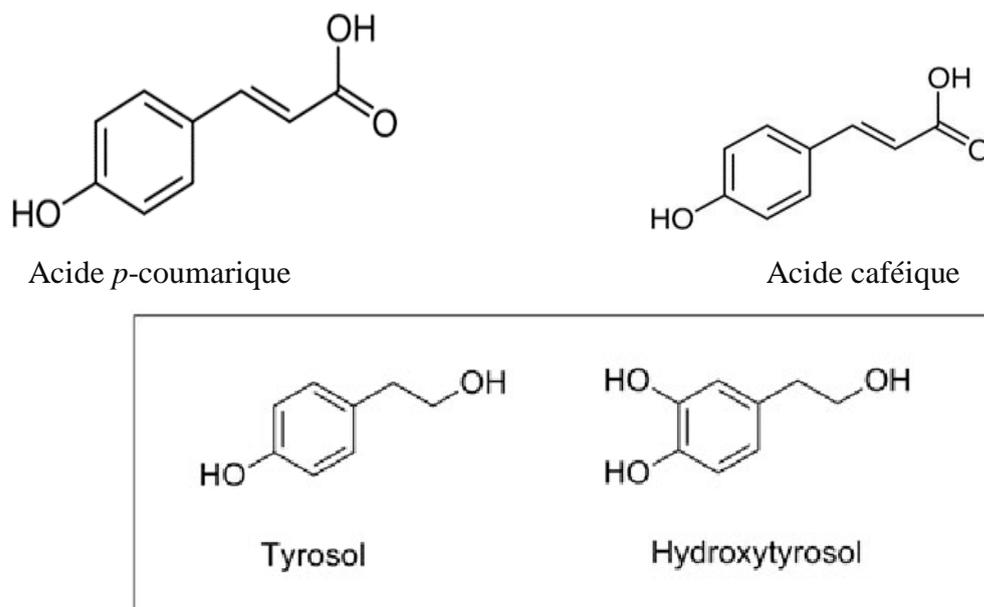


Figure 2 : structure de quelques acides et alcools phénoliques des grignons d'olive (Rodriguez *et al.* 2016 ; Abbattista *et al.*,2021).

V.2. Les flavonoïdes

Cette classe est représentée par plusieurs sous-classes telles que les flavones, flavonols, anthocyanes et flavanones (Edenharder et Grünhage, 2003 ; Yao *et al.*, 2004). Les flavonoïdes les plus abondants dans les grignons d'olive sont la catéchine, la quercétine, lutéoline-7- glucoside (figure 2) (Abbattista *et al.*, 2021).

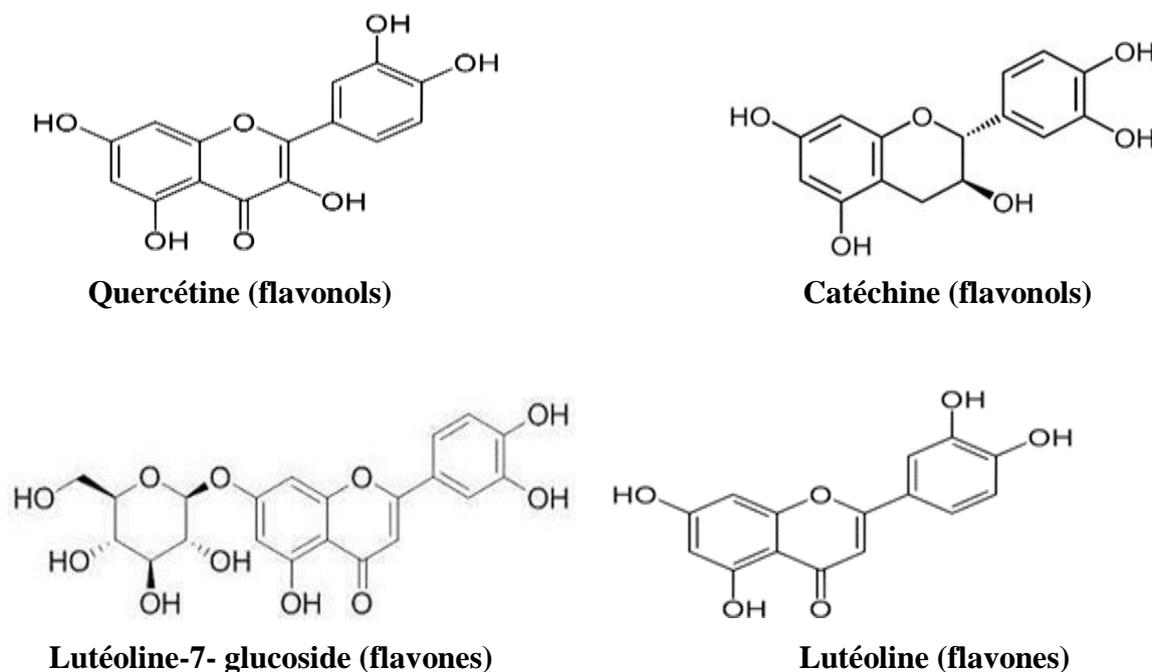


Figure 3 : Structures chimiques des principaux flavonoïdes des grignons d'olives (Abbattista *et al.*, 2021).

V.3. Les dérivés sécoiridoïdes

Ce sont des composés glycosylés issus de métabolisme secondaire des terpènes (**Soler, 2000**). Les composés majoritaires présents dans les grignons d'olive sont l'oleuropéine et le nüzhenide (figure 4) (**Abbattista et al., 2021**).

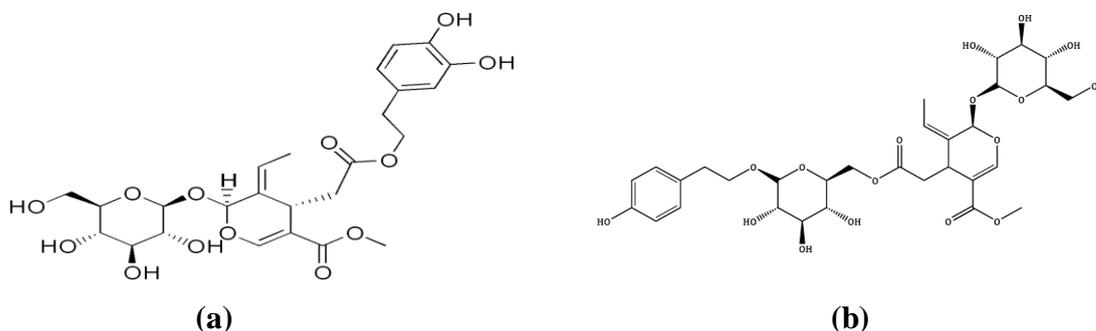
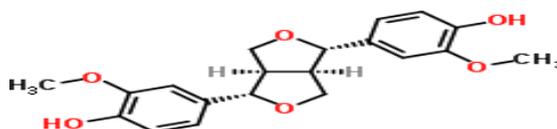


Figure 4 : Structure de l'oleuropéine (a) et nüzhenide (b) (**Abbattista et al., 2021**)

V.4. Lignanes

Les lignanes sont des composés phénoliques présents dans de nombreuses plantes, y compris les olives et leurs sous-produits. D'après **Abbattista et al. (2021)**; les lignanes, tels que le pinorésinol et l'acétoxypinorésinol, sont les composés détectés dans les grignons d'olive (figure 5).



R : H Pinoresinol

R : OCOCH₃-Acetoxypinorésinol

Figure 5 : structure du pinorésinol et de l'acétoxypinorésinol (**Anonyme, 2023**)

VI. Activité antioxydante

Les composés phénoliques présents dans les olives, notamment les sécoiridoïdes, ont la capacité de réagir avec la plupart des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Il a été démontré que l'oleuropéine et ses dérivés, tels que l'hydroxytyrosol et le tyrosol, exercent un pouvoir anti-radicalaire puissant (**Visioli et al., 2000**). De telles substances ont la capacité de piéger les espèces réactives de l'oxygène, telles que le peroxyde d'hydrogène, l'anion superoxyde, ainsi que les espèces réactives de l'azote, notamment le monoxyde d'azote (NO⁻) et le peroxy-nitrite (ONOO⁻) (**Salami et al., 1995 ; Visioli et al., 1998 ; Moreno, 2003**).

Les antioxydants primaires sont des molécules qui agissent en neutralisant les radicaux lipidiques (L° , LO° , LOO°) par transfert d'un hydrogène

Exemple : $LOO^\circ + AH \Rightarrow LOOH + A^\circ$,

Ce groupe de composés nommés anti-radicalaires comprend plusieurs substances, notamment, les composés phénoliques : tels que les antioxydants de synthèse (BHA, BHT, TBHQ, gallates) et composés phénoliques végétaux (flavonoïdes, acides phénoliques, diterpénoïdes...). Les antioxydants secondaires, ou préventifs agissent sur les facteurs favorisant l'oxydation : ils chélatent les ions métalliques (EDTA, acide citrique, certains composés phénoliques, acide ascorbique...), ils désactivent l'oxygène singulet (β -carotène) (Berset, 2006 ; Brand-Willians,1995).

VII. Potentiel biotechnologique des grignons d'olives en vue de leur valorisation

En Algérie, une grande partie des grignons générés est laissée sur place ou brûlée. Ainsi, valoriser les sous-produits oléicoles représente une opportunité de générer des revenus supplémentaires et d'améliorer la rentabilité des exploitations oléicole (Iboukhoulef, 2005).

En effet, les actinobactéries jouent un rôle écologique important dans le recyclage des substances dans le monde naturel en utilisant la matière organique (Medouni et al, 2017).

Le phylum *Actinobacteria* est l'une des plus grandes unités taxonomiques parmi les principales lignées reconnues (Ludwig et al., 2008). Ce sont des microorganismes procaryotes filamenteux ramifiés à Gram positif, ayant un pourcentage de guanine et cytosine élevé (supérieur à 55%) qui les différencie des autres bactéries (Goodfellow et al., 2012).

Bien que certaines espèces d'actinobactéries sont pathogènes, la majorité d'entre elles sont cependant très utiles. Leur hétérogénéité métabolique assez exceptionnelle fait des actinobactéries des producteurs potentiels de nombreuses molécules à propriétés très diverses et intéressantes dans les domaines médical, vétérinaire agronomique et industriel (Peczynska-czock et Mordarski, 1988 ; Sanglier et al., 1993). Depuis la découverte de l'actinomycine en 1940, plus de 20000 métabolites ont été obtenus à partir de ces bactéries (Barka et al., 2015).

PARTIE
EXPERIMENTALES

**Matériels
Et
Méthodes**

I. Échantillonnage

Dans la présente étude, deux échantillons de grignon d'olive (frais et sec) ont été utilisés. Les grignon d'olive ont été obtenus au niveau d'une huilerie localisée à Sidi Aich (Bejaia). Cette huilerie est moderne et adopte un système d'extraction d'huile à deux phases.

II. Détermination des paramètres physico-chimiques

II.1. Taux d'humidité

Cinq grammes de chaque échantillon ont été séchés à l'étuve ($105 \pm 2^\circ\text{C}$). Après un temps écoulé de 24h, les échantillons retirés sont refroidis dans un dessiccateur puis pesés. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Humidité (\%)} = (M_a - M_b) \times 100 / (M_a - M_c)$$

Où : M_a : la masse initiale du creuset contenant l'échantillon (g) ;

M_b : la masse finale du creuset contenant l'échantillon (après séchage) (g) ;

M_c : la masse du creuset vide (g)

II.2. Taux de cendres

Une masse de deux gramme de chaque échantillon a été séchée dans un four à moufle à $525^\circ\text{C}/5\text{h}$. Après séchage, les échantillons sont refroidis dans un dessiccateur puis pesés. Le taux de cendres est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Cendre (\%)} = (P_2 - P_0) / (P_1 - P_0) \times 100$$

Où : P_0 : poids du creuset vide ;

P_1 : poids du creuset + échantillon sèche

P_2 : poids du creuset + le résidu calciné.

III. Extraction de la matière grasse par soxhlet

L'extraction par la méthode au SOXHLET est une technique simple et efficace qui permet de réaliser des cycles d'extraction répétés avec un solvant frais jusqu'à ce que le soluté contenu dans la matière première soit complètement épuisé. Le solvant condensé s'accumule progressivement dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon. Cela entraîne le retour du solvant vers le ballon, entraînant avec lui les substances extraites de la matière première. L'extraction se poursuit de manière continue jusqu'à ce que la matière solide

chargée dans la cartouche soit épuisée. Ce point d'épuisement est généralement atteint lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, indiquant que la plupart des composés solubles ont été extrait (**Amrouche et Tsamda, 2020**). La méthode a été adoptée en prélevant une masse de dix gramme de grignon d'olive de chaque échantillon (frais, sec) qui est extraite en utilisant un volume de 170ml d'éthanol pure, le temps d'extraction a duré cinq heures à température 60°C.

IV. Dosage des composés phénoliques

IV.1. Préparation des extraits

Une masse d'un gramme de grignon d'olive est homogénéisée avec 10ml d'éthanol à **50%**. Après agitation, le mélange est centrifugé à 5000 rpm/5min.

IV.2. Composés phénoliques totaux

IV.2.1. Composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques est déterminée selon la méthode décrite **Kahkönen et al. (1999)** : un volume de 200µl d'extrait a été additionné de 1000µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Après agitation pendant 3 minutes, un volume de 800µl de carbonate sodium (7,5%) est ajouté. Le mélange ainsi obtenu est incubé à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 725 nm. La teneur en composés phénoliques est exprimée en g d'acide gallique par kg de grignon (g EAG/Kg), en se référant à une courbe d'étalonnage (figure 1, annexe).

IV.2.2. Ortho-diphénols

La teneur totale en ortho-diphénols est déterminée selon la méthode décrite par **Bendini et al. (2003)** : un volume de 2 ml d'extrait est mélangé avec un volume de 0,5 ml de molybdate de sodium (5%). Après agitation puis incubation pendant 15 minutes, l'absorbance la solution a été mesurée à une longueur d'onde de 370 nm. La quantité des ortho-diphénols est alors exprimée en gramme équivalents d'acide caféique par kilogramme de grignon (g EAC/Kg), en se référant à une courbe d'étalonnage (figure 2, annexe)

IV.2.3. Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée selon la méthode décrite par Kim et al. (**2003**) : un volume de 200 µl d'extrait de grignons d'olive a été mélangé avec 800 µl d'eau distillée, puis 60 µl de nitrite de sodium et 60 µl de chlorure d'aluminium ont été ajoutés. Après incubation pendant 5 minutes, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. La teneur en

flavonoïdes est exprimée en gramme équivalents de catéchine par Kg de grignon (g EC/100Kg), en se référant à une courbe d'étalonnage (figure 3, annexe)

IV.2.4. Flavonols

La teneur en flavonols est déterminée selon la méthode rapportée par Kumaran et Karunakaran (2007) : un volume de 0,5 ml du chlorure d'aluminium (2%) a été additionné d'un volume de 0,75 ml d'acétate de sodium et 0,5 ml d'extrait. Après incubation pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 440 nm. La teneur en flavonols est exprimée en gramme équivalent de quercétine par Kg de grignon (g EQ/Kg) par référence à une courbe d'étalonnage (figure 4, annexe).

V. Activité antioxydante

V.1. Pouvoir réducteur

Ce test mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence d'antioxydants donneurs d'électrons, Il en résulte un changement de couleur du ferricyanure de potassium qui vire au bleu-vert dont la force dépend du pouvoir réducteur des antioxydants (**Chou et al., 2003**).

Le pouvoir réducteur des extraits de grignon est déterminé en suivant la méthode décrite par **Gülçin et al. (2002)**: Un volume de 375 μ L d'extrait a été mélangé avec 375 μ L de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 375 μ L de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C/20 min, un volume de 375 μ L d'acide trichloracétique (10%) a été additionné au mélange qui est incubé pendant 5min, puis, 300 μ L de chlorure ferrique (0,1%) ont été ajoutés et enfin l'abs est mesuré à 700 nm. Le pouvoir réducteur est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique/kg des grignons d'olive par référence à une courbe d'étalonnage (Figure 5, annexe).

V.2. Activité anti-radicalaire

La méthode au DPPH• (1,1-diphényl-2-picrylhydrazino) est utilisée pour déterminer la capacité de l'extrait à générer des protons et/ou des électrons afin de neutraliser les radicaux libres DPPH•. Sous sa forme radicalaire, le radical DPPH• absorbe à 515nm (**Williams et al., 1995**).



L'activité anti-radicalaire des échantillons de grignons d'olives est évaluée selon la méthode de Lesage-Meessen et al. (2001): Un volume de 100 μ L d'extrait est additionné de 900 μ L de la solution DPPH. Le mélange agité est incubé à l'obscurité pendant 30min et l'absorbance est

mesurée à 517 nm. La réduction des radicaux DPPH• implique une baisse de l'absorbance. Le pouvoir antioxydant est exprimé en pourcentage de l'activité anti-radicalaire selon la formule suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} : [(A_t - A_e)] / A_t \times 100$$

Où ; A_t : Absorbance du témoin ; A_e : Absorbance de l'échantillon.

➤ IC50

La concentration inhibitrice à 50 % (EC50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires ou logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des extraits testés (Scherer et Godoy, 2009).

V.3. Pouvoir chélateur du fer

Le pouvoir chélateur des extraits est évalué selon la méthode décrite par Liu et al. (2007). La ferrozine, composé stable, forme avec les ions Fe^{2+} libres un complexe ferrozine- Fe^{2+} de couleur violette intense. Une diminution de l'absorbance du complexe Fe^{2+} -ferrozine indique la présence d'antioxydants chélateurs. Un volume de 250 μ L d'extrait est additionné de 50 μ L de $FeCl_2$ et 800 μ L d'eau distillée. Après 5 min d'incubation, un volume de 50 μ L de ferrozine (5 mM) a été ajouté, puis le mélange est agité et enfin incubé 10 min. L'absorbance du complexe ferrozine- Fe^{2+} est mesurée à 562 nm. L'effet séquestrant des extraits de grignons d'olives vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\text{Capacité chélatrice (\%)} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100$$

Où ; A_0 : Absorbance en absence d'extrait ; A_1 : Absorbance en présence de l'extrait ;
 A_2 : Absorbance sans ferrozine.

V.4. Activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène

La capacité des extraits de grignon à piéger le peroxyde d'hydrogène est déterminée selon la méthode rapportée par Ruch et al. (1989) : un volume de 150 μ l d'extrait a été additionné d'un ml de la solution du peroxyde d'hydrogène (40 mM) et 1350 μ l de la solution du tampon (0,1 M, pH 7,4). Après incubation pendant 10 min, l'absorbance est mesurée à 230 nm. L'activité est exprimée en pourcentage d'inhibition qui est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'inhibition (\%)} = [(At - Ae) / At] \times 100$$

Où **At** : Absorbance du témoin ; **Ae** : Absorbance de l'extrait.

V.5. Activité anti-radicalaire (contre le radical cationique ABTS^{o+})

La méthode ABTS implique la création directe d'un chromophore de couleur bleue/verte en mettant en réaction l'ABTS avec le persulfate de potassium (**Re et al, 1999**). Une quantité de 0,018g d'ABTS (7 m M) et 0,033g du persulfate de potassium (K₂S₂O₈) (2,45 m M) ont été solubilisés dans un volume de 5ml d'eau distillée et incubés à l'obscurité pendant 12 à 16 heures. Puis, un volume de 160µl d'ABTS est additionné de 40µl de l'extrait. Après incubation pendant 10 min, l'absorbance est mesurée à 734 nm.

V.6. Test de blanchissement du β-Carotène

Dans ce test, nous évaluons la capacité antioxydante des extraits de grignon d'olive en mesurant leur capacité à inhiber l'oxydation du β-carotène par les produits de dégradation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par Velioglu et al. (**1998**). Une émulsion de β-carotène/acide linoléique est préparée en dissolvant 0,12 mg de β-carotène dans 1 ml de chloroforme. Ensuite, 3 ml de cette solution sont mélangés avec 40 mg d'acide linoléique et 400 mg de Tween 20. Le chloroforme est ensuite évaporé sous vide à une température de 30°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Ensuite, 100 ml de peroxyde d'hydrogène (30%) sont ajoutés au mélange, qui est vigoureusement agité. Pour effectuer le test, 150 µl de l'émulsion ainsi préparée sont mélangés avec 25 µl d'extrait de grignon d'olive. Le mélange est ensuite incubé à une température de 50°C pendant une période de 2 heures. L'oxydation de l'émulsion est suivie en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 470 nm. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(At - Ae) / At] \times 100$$

Où **At** : Absorbance du témoin ; **Ae** : Absorbance de l'extrait

VI. Mesure du potentiel microbiologique

Afin de les valoriser et de les exploiter le grignon d'olive a été utilisée comme substrat par une souche d'actinobactérie pour produire des métabolite d'intérêt.

VI.1. Matériel analytique

Le matériel utilisé dans cette étude est rapporté en annexe.

VI.2. Matériel biologique

L'utilisation de grignon d'olive comme substrat par une souche d'actinobactérie pour produire des métabolites d'intérêt. La souche d'actinobactérie (S2) étudiée dans ce travail est d'origine tellurique, elle a été isolée par Dr. Djinni en 2019 à partir d'un échantillon de sol salin de la région de Bechar.

VI.3. Méthodes

VI.3.1. Repiquage de la souche

La souche S2 a été repiquée à partir d'une culture sur milieu solide conservée à 4°C, sur le milieu Amidon Caséine Agar SCA (**Küster et Williams, 1964**). Les boîtes de Petri sont incubées à 28°C pendant 7 jours. La composition de ce milieu de culture est donnée en annexe

VI.3.2. Mise en évidence du potentiel enzymatique de la souche

Les actinobactéries sont connues pour leur capacité à produire diverses enzymes d'importance industrielle. Parmi ces enzymes, on retrouve les amylases, les protéases, les lipases, les cellulases...etc (**Passari et al., 2016 ; Salwan, 2018**). Dans le but d'évaluer le potentiel enzymatique de la souche, des tests sont réalisés.

a. Activité lipasique

Les lipases sont des enzymes qui possèdent la capacité à rompre les liaisons esters carboxyliques dans les graisses pour former des diglycérides, des monoglycérides, des acides gras et du glycérol (**Salwan et al, 2018**). L'activité lipasique a été recherchée sur un milieu sierra additionné de tween 80 (a été remplacé par l'huile d'olive) (annexe), puis incubé pendant 7 jours à 28°C. L'activité lipasique est révélée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

b. Activité cellulosique

Les cellulases sont des enzymes inductibles qui sont synthétisées par des micro-organismes lorsqu'ils se développent sur des substrats contenant de la cellulose (**Gaur et al., 2015**). L'activité cellulosique a été recherchée sur une gélose à la cellulose (annexe). Après une période d'incubation de 5 à 7 jours à 28°C, une solution de rouge de Congo est ajoutée à la surface des boîtes de Pétri. L'activité cellulosique est révélée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

Remarque : La lecture de l'activité cellulosique se fait après 15 minutes à partir du moment où le révélateur est ajouté.

VI.3. Condition de fermentation en milieu liquide

VI.3.1. Test de viabilité de la souche en présence du substrat

La fermentation submergée pour la production d'enzymes a été réalisée sur milieu MSM additionné de 3% de grignon d'olive (frais et sec). Après mélange, les flacons ont été inoculés avec six cylindres d'agar provenant d'une culture de la souche préalablementensemencée sur milieu SCA et incubée pendant de 7 jours à 28°C. Sous agitation permanente à 120 tours par minute. Un volume de 10 ml est prélevé quotidiennement pendant 10 jours pour subir une centrifugation à 4000g pendant 10 min. Le surnageant de culture est utilisé pour la mesure du pH alors que le culot est destiné pour l'évaluation de la croissance de la souche à travers l'estimation du poids sec ainsi que la mesure du pH après centrifugation à 4000g pendant 10min.

Le test de viabilité a été utilisé comme indicateur ou mesure de la quantité de biomasse microbienne vivante en culture submergée. Il a été déterminé selon la méthode décrite par **Medouni et al (2017)**.

VI.3.2. Evaluation de l'activité enzymatique

L'activité lipolytique de la souche étudiée a été estimée selon **Benhoula et al., (2023)**. Le dosage enzymatique a été réalisé avec le surnageant de culture (extraits enzymatiques) issus de la fermentation immergée. Les mélanges réactionnels contenaient 0,5 ml d'extraits enzymatiques et 5 ml d'émulsion à 10 % (v/v) et de gomme à 10 % (p/v) sont dissous dans un tampon phosphate 0,1 M (pH 7,0). Un agitateur orbital à 150 tr/min a été utilisé pour agiter la combinaison enzyme-substrat pendant 30 min à 28°C. Puis un volume d'un ml supplémentaire d'éthanol/acétone (1 :1, v/v) a été ajouté au mélange réactionnel pour arrêter la réaction. Le test à blanc a été réalisé en ajoutant de l'eau distillée à la place de l'extrait enzymatique. Les acides gras libérés ont été titrés avec du NaOH 0,2 M en utilisant de la phénolphtaléine comme indice de pH, le point final a été obtenu par l'apparition d'une coloration rose.

VII. Analyse statistique

Tous les résultats expérimentaux de cette étude représentent la moyenne de trois essais. Ces résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type (ET). Les moyennes des échantillons ont été comparées par analyse de variance ANOVA (Statistica7.1). Le seuil de signification des résultats est pris à la probabilité $p < 0,05$.

**RESULTATS
ET
DISCUSSION**

I. Analyses physico-chimiques

I.1. Taux d'humidité

Les teneurs en eau des grignons d'olive analysées sont illustrées dans la figure ci-dessous. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative ($p < 0,05$) entre les deux grignons d'olive étudiés. Les résultats indiquent que les deux échantillons étudiés renferment un taux moyen d'humidité moyen de 32 %. Il s'est avéré que le taux d'humidité de l'échantillon frais ou sec est demeuré stable malgré le séchage naturel subit au cours de sa conservation, ceci peut être expliqué par les conditions climatiques notamment l'humidification....

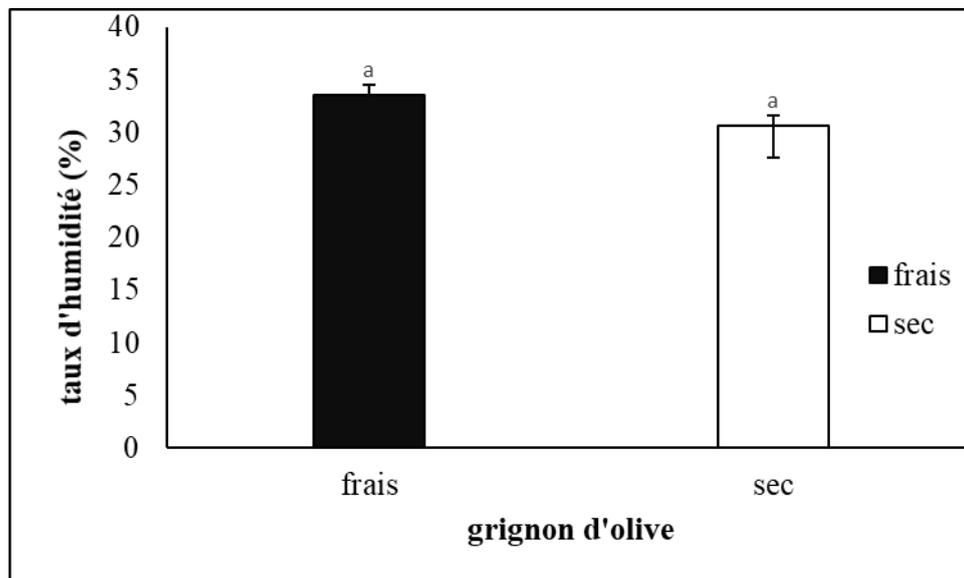


Figure 6 : Taux d'humidité des grignons d'olive frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts type, Les lettres minuscule indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons d'olive étudiées.

Les résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **Mouzaoui et al. (2014)**. Cette différence peut être expliquée par le système d'extraction utilisé ; en effet : le système à deux phases implique l'utilisation d'une quantité d'eau plus importante par rapport au système à trois phases. Les grignons issus de système d'extraction à deux phases sont en mélange avec les margines contrairement au système à trois phases qui sépare ces deux résidus.

I.2. Cendres

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les deux grignons étudiés (figure 7). Les résultats montrent que le grignon d'olive frais est plus riche en cendre (1,95%) que le grignon sec (1,72%). Le taux de cendres enregistré dans les grignons d'olives analysés est supérieur à celui enregistré par **Amirouche et Tsamda (2020)**

qui ont mené une étude sur les grignons d'olive issus d'une huilerie traditionnelle et d'une huilerie moderne dans la région kabyle.

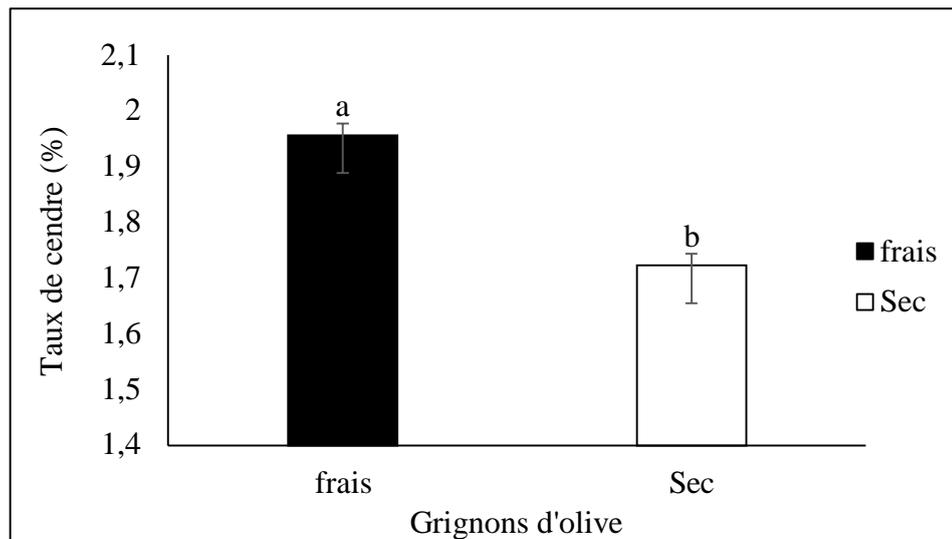


Figure 7 : Taux de cendres des grignons d'olive frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

I.3. Détermination de la teneur en matière grasse par soxhlet

L'analyse statistique a révélé une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux grignons étudiés. Les résultats montrent que le grignon frais plus riche en matières grasses (17,74%) que le grignon sec (13,34%) (figure 8).

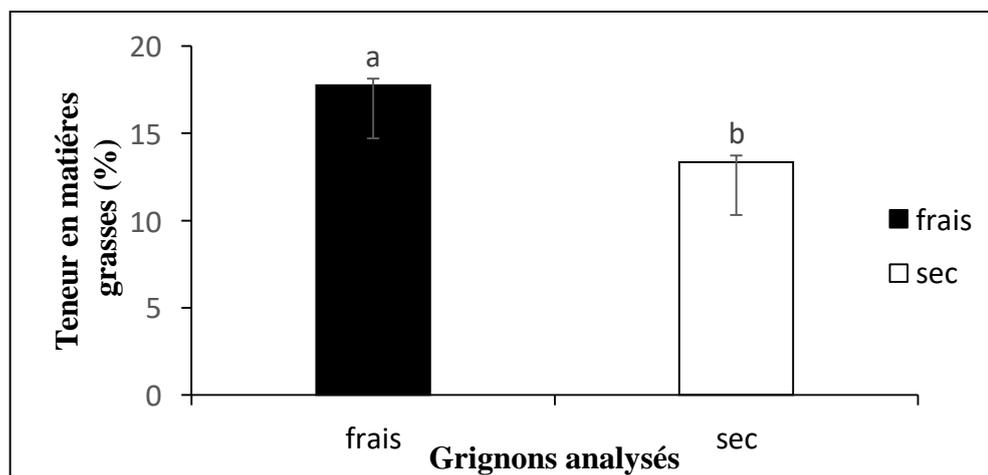


Figure 8 : Teneur en matières grasses des grignons frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

Le taux en matières grasses enregistré dans les grignons d'olives analysés sont supérieurs à ceux enregistrés par **Amirouche et Tsamda (2020)** qui ont mené une étude sur les grignons d'olive issus d'une huilerie traditionnelle et d'une huilerie moderne dans la région kabyle.

II. Composés phénoliques

II.1. Composés phénoliques totaux

L'analyse statistique a révélé des différences significatives des teneurs en composés phénoliques des grignons d'olives frais et sec analysés ($P < 0,05$) (figure 9). Les résultats indiquent que le grignon d'olive frais renferme la teneur en composés phénoliques la plus élevée (145 g EAG/kg), contrairement à l'extrait sec qui présente la concentration la plus faible (90 g EAG/kg).

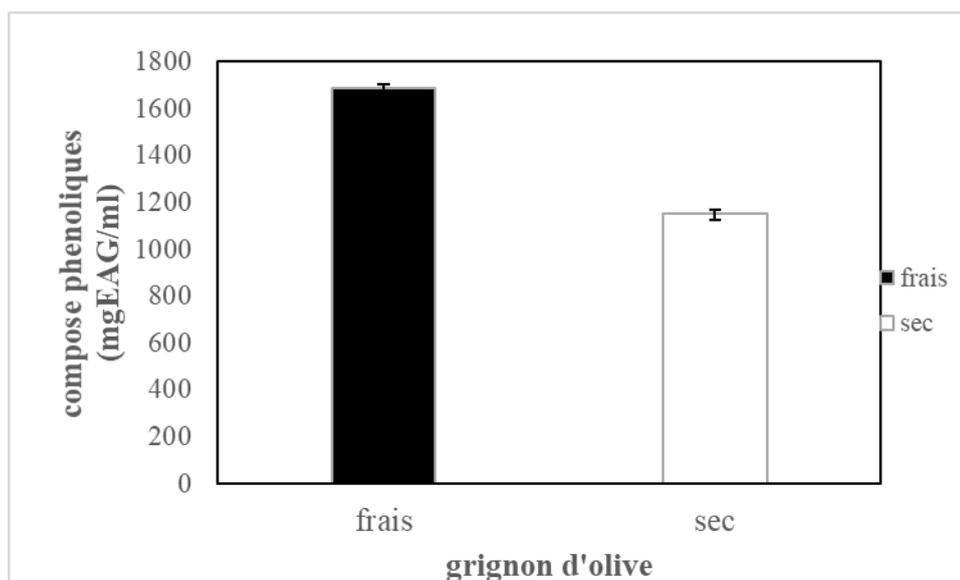


Figure 9 : Teneurs en composés phénoliques totaux des grignons d'olive frais et sèche analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

La teneur en composés phénoliques notée dans les grignons d'olives analysés est supérieure à celle enregistrée par **Mouzaoui et al. (2015)**, qui ont mené à une étude sur les grignons d'olive issus d'une huilerie traditionnelle et d'une huilerie moderne dans la région kabyle. La variabilité de la concentration en polyphénol enregistrée est largement dépendante de plusieurs facteurs : cultivar, degré de maturation (**Boudhrioua et al. 2009**), des conditions climatiques, et géographiques (**Mylonaki et al. 2008**), de l'état physiologique, l'âge de la plante (**Leonardis et al., 2008**) et de la méthode d'extraction d'huile adoptée.

Selon **blaide et al. (2002)**, parmi les principaux facteurs responsables de la variation en composés phénoliques : l'état de maturation des olives, et les conditions d'extraction de l'huile d'olive.

II.2. Flavonoïdes

L'analyse statistique des teneurs des grignons d'olives en flavonoïdes a révélé des différences significatives ($P < 0,05$) entre les échantillons frais et sec (figure 10). Les résultats

indiquent que l'extrait frais renferme la teneur en flavonoïdes la plus élevée (80g EAC/kg) contrairement à l'extrait sec qui présente la concentration la plus faible (65g EAC/kg). Les résultats notés sont supérieurs à ceux obtenus par **Zebadi et al. (2018)**. Ces différences peuvent s'expliquer par : les conditions climatiques, la période de récolte des olives et/ou le cultivar (**Criado et al ,2004., Vinha et al, Leouifoudi et al.,2015**).

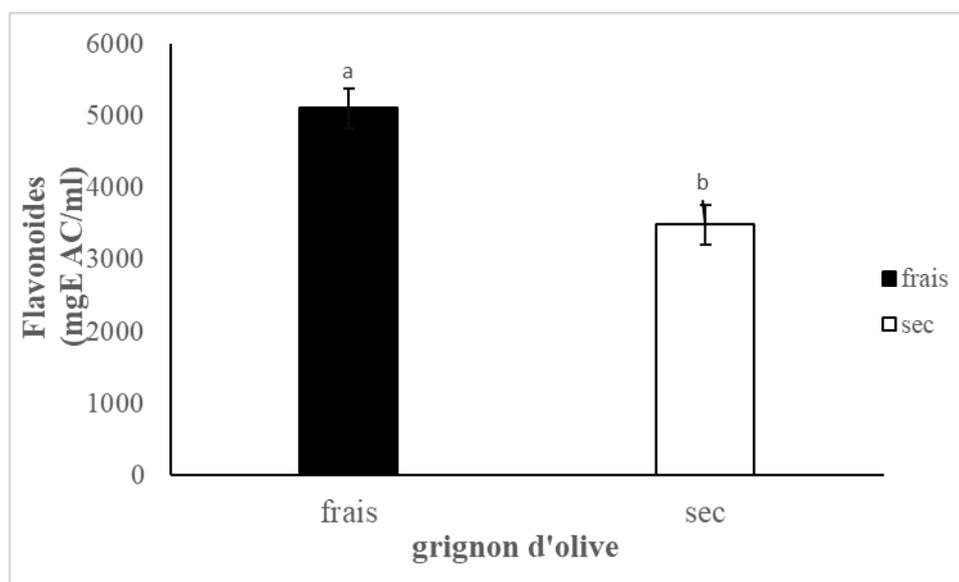


Figure 10 : Teneur en flavonoïdes des grignons d'olive frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

II.3. Flavonols

L'analyse statistique a révélé des différences significatives de la teneur en flavonols ($p < 0,05$) entre les échantillons analysés (figure 11). Les résultats indiquent que l'extrait frais renferme la teneur en flavonols la plus élevée (95 g EQ/kg) contrairement à l'extrait sec qui présente la concentration la plus faible (62 g EQ/kg). Ces différences peuvent s'expliquer par l'impact de plusieurs facteurs : cultivar, degré de maturation (**Boudhrioua et al. 2009**), (**Mylonaki al. 2008**). Les teneurs en flavonols analysées supérieures à celle obtenue par (**Soufi, 2015**).

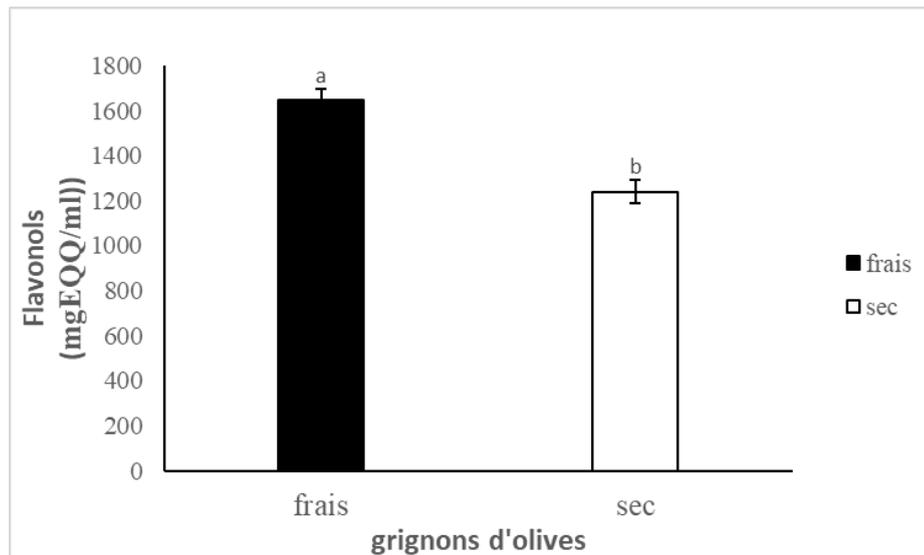


Figure 11 : Teneur en flavonols des grignons d'olive frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

II.4. Ortho-diphénols

L'analyse statistique a révélé des différences significatives de la teneur en *ortho*-diphénols ($p < 0,05$) entre les deux échantillons analysés (figure 12). Les résultats indiquent que l'extrait frais renferme la teneur la plus élevée (96 g EAC/kg), contrairement à l'extrait sec qui contient la concentration la plus faible (75 g EAC/kg). Les teneurs en *ortho*-diphénols enregistrées sont supérieures à celles obtenues par **Rubio et al. (2012)**. Ces différences des concentrations peuvent être dues à plusieurs facteurs tel que : la période de récolte des olives et/ou le cultivar (**Criado et al, 2004**).

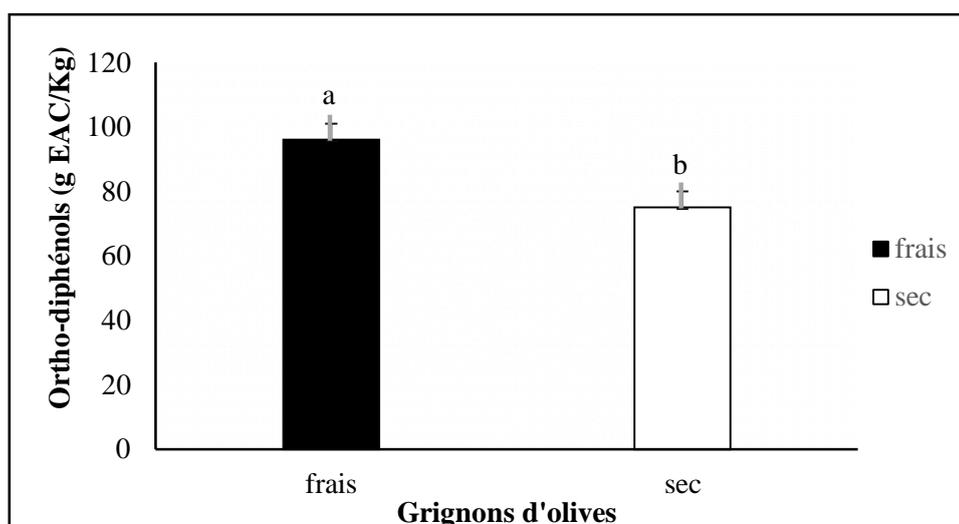


Figure 12 : Teneur en Ortho-diphénols des grignons d'olive frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

III. Activité antioxydante

III.1. Pouvoir réducteur

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative ($p < 0,05$) entre les deux grignons étudiés (figure 13). Les résultats indiquent que les extraits des deux grignons analysés exercent un pouvoir réducteur moyen de 177g EAA/kg.

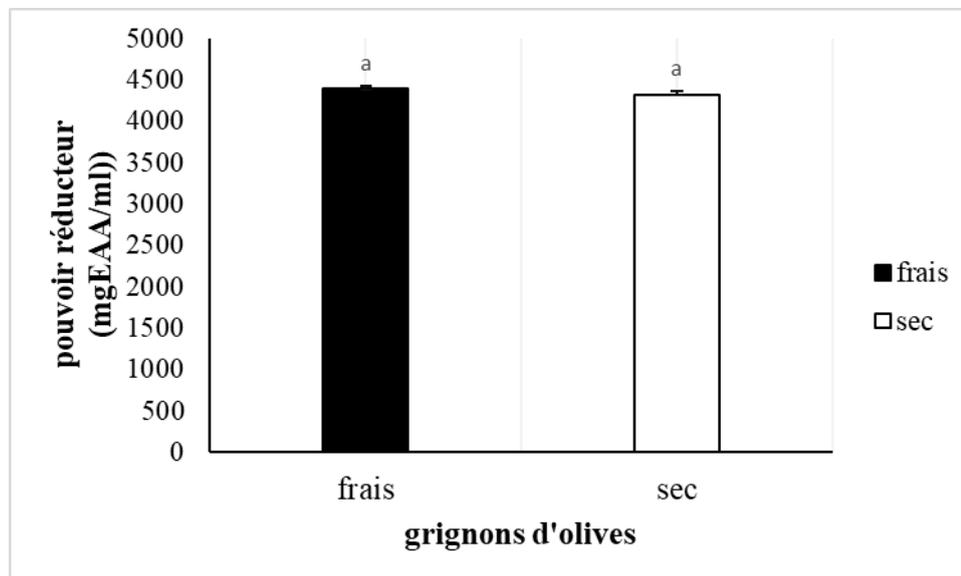


Figure 13 : Pouvoir réducteur des grignons frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

Les valeurs du pouvoir réducteur enregistrées sont supérieures à celles déterminées par **Gomez-Cruz et al. (2020)**. On remarque que les deux grignons d'olives analysés qui renferment des teneurs semblables en composés phénoliques exercent des pouvoirs réducteurs similaires, ceci peut être expliqué par la présence d'autres donneurs d'électrons autres que les composés phénoliques. Ceci concorde avec l'observation notée par plusieurs auteurs confirmant ainsi le rôle de telles substances dans cette activité (**Soufi et al, 2014 ; Ghedabha et al. (2015)**)

III.2. Activité anti-radicalaire (contre le radical cationique ABTS⁺)

Les teneurs en ABTS des grignons d'olive analysée sont illustrés dans la figure 14. L'analyse statistique a révélé des différences significatives de l'activité antiradicalaire contre le radical cationique ABTS⁺ ($p < 0,05$) entre les deux échantillons étudiés. Les résultats indiquent que l'extrait frais présente le pourcentage le plus élevé (58%) contrairement à l'extrait sec qui présente le taux le plus faible (38%). Cela signifie que l'extrait de grignon d'olive frais est riche en antioxydant potentiellement efficaces contre ces radicaux ABTS⁺. Ces résultats enregistrés sont supérieurs à ceux obtenus par **Djeghim (2016)**.

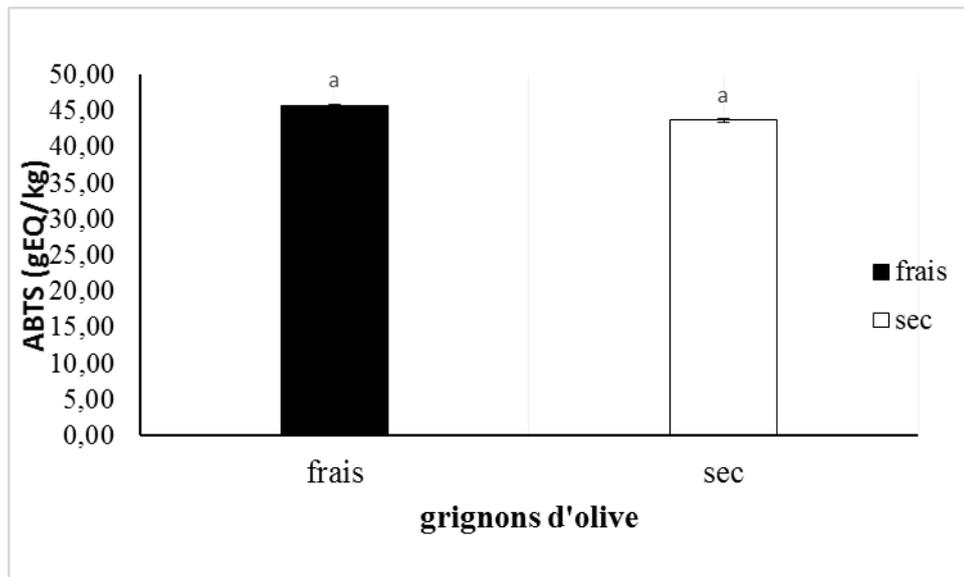


Figure 14 : Activité anti-radicalaire (contre ABTS^{°+}) de grignon d'olive frais et sec.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

III.3. Activité anti-radicalaire (contre le radical DPPH[°])

L'activité anti radicalaire des grignons d'olive analysées est illustrée dans la figure 15.

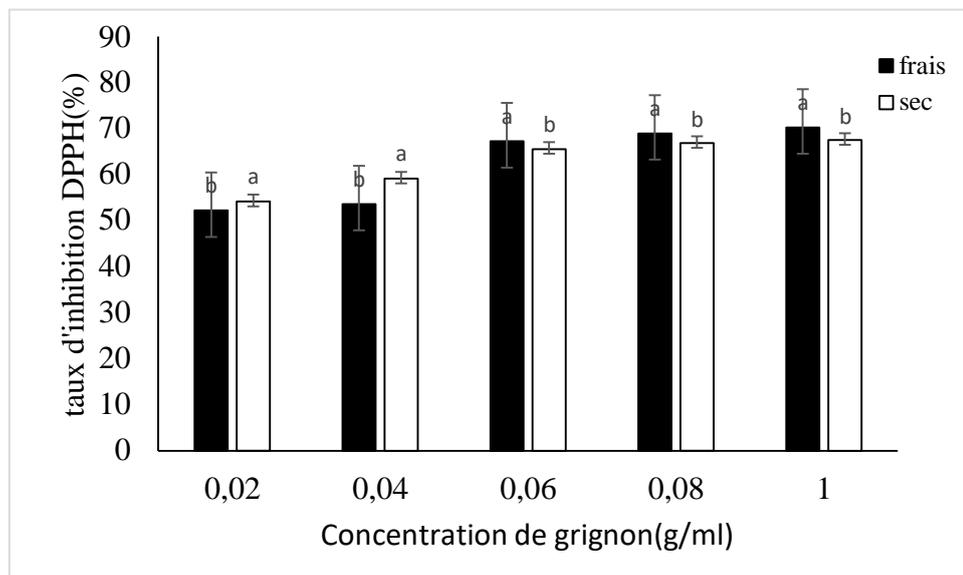


Figure 15 : Activité anti radicalaire (DPPH[°]) des grignons d'olives frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des variétés étudiée.

L'analyse statistique a révélé des différences significatives de l'activité anti-radicalaire (DPPH[°]) ($p < 0,05$) entre les deux échantillons étudiés. Le pourcentage d'inhibition est compris entre 52% (grignon frais à une concentration de 0,021g/ml) à 70% (grignon frais à

une concentration de 1g/ml) ; les valeurs enregistrées en activité anti radicalaire sont supérieures à celle obtenue par **Mlle Khial, (2017)**.

Plus la valeur de IC50 est faible, plus l'activité antioxydante à piéger ces radicaux libres est élevée. L'extrait sec exerce le meilleur pouvoir réducteur avec une IC50 de 0,00199g/ml, cela signifie que l'extrait sec est plus efficace et pourrait contenir des antioxydants très puissants vis-à-vis de la neutralisation de tels radicaux. Cette variation peut être due à la composition des extraits en molécules antioxydantes spécifiques, Etant donné l'importance de la structure chimique dans le mécanisme d'action des antioxydants peuvent être différent au niveau structural qu'au niveau propriétés chimiques.

III.4. Pouvoir chélateur du fer

La teneur en pouvoir chélateur du fer des grignons d'olive analysée sont illustrés dans la figure 16. L'analyse statistique a révélé des différences significatives de l'activité chélatrice ($p < 0,05$) des deux grignons analysés.

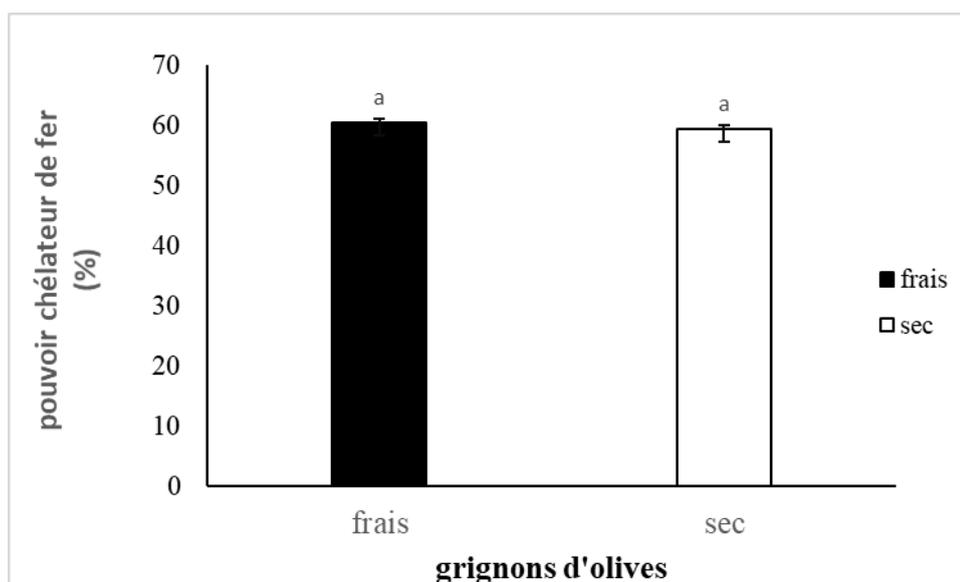


Figure 16: Teneur en pouvoir chélateur du fer des grignons des échantillons étudiés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

Les résultats montrent que les extraits de grignon frais sont plus efficaces dans la chélation du fer (20 %) que ceux du grignon sec qui présente le faible pourcentage (13%). Ces valeurs sont inférieures à celles enregistrées par **Zbadi (2018)**. Ces différences peuvent être due à plusieurs facteurs tel que : l'espèce de la plante, les conditions de séchage, la composition chimique, les méthodes d'extraction appliquées.

III.5. Activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène

Les teneurs en activité inhibitrice du peroxyde hydrogène des grignons d'olive analysée sont illustrés dans la **figure 17**. L'analyse statistique a révélé des différences significatives du taux d'inhibition du peroxyde hydrogène ($p < 0,05$) entre les deux grignons analysés. Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition de peroxyde hydrogène le plus élevées est enregistré dans l'échantillon frais (38%), contrairement à l'échantillon sec qui présente le faible pourcentage (22%).

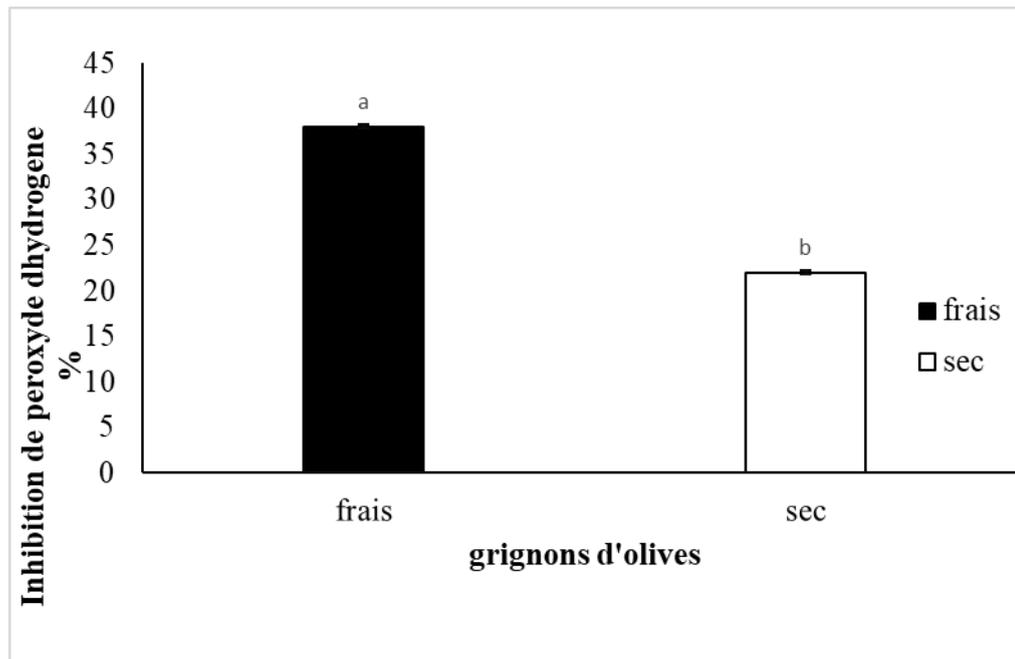


Figure 17 : Taux d'inhibition du peroxyde hydrogène des grignons d'olives frais et sec.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des Echantillons étudiées.

Le pourcentage d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des grignons analysés est supérieur à celui noté par **Gulcin. (2010)**. L'effet variétal peut influencer cette activité et être à l'origine des différences constatées entre les grignons frais et sec (**Ucella., 2001**). L'étude menée par **Wang et al. (2007)**, affirme que l'effet inhibiteur de l'espèce H_2O_2 est attribué aux composés phénoliques qui sont responsables du transfert d'électrons pour neutraliser l'espèce H_2O_2 .

III.6. Blanchissement de la β -carotène

Les teneurs de la β - carotène des grignons d'olives analysée sont illustrés dans la figure 18.

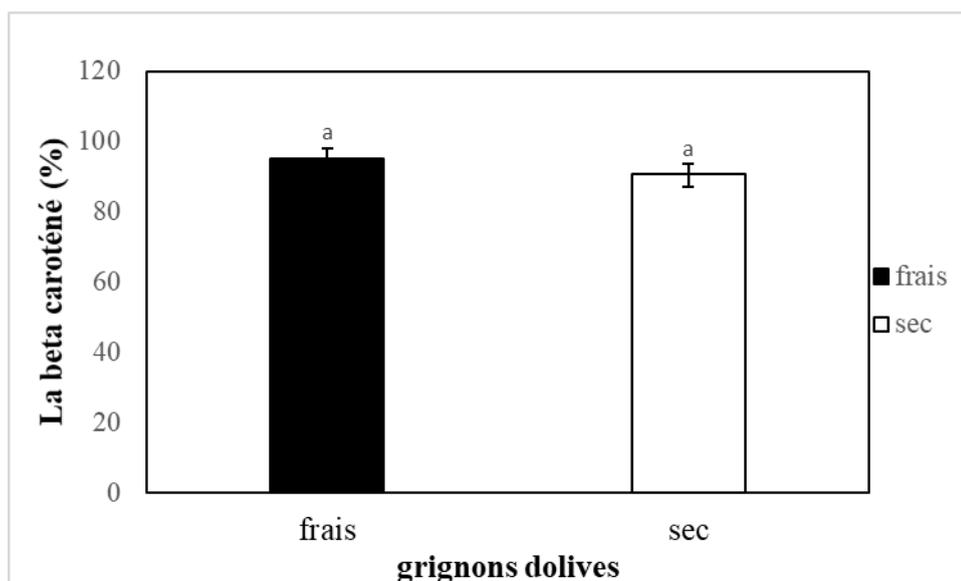


Figure 18 : Taux d'inhibition du β -carotène des grignons frais et sec analysés.

Les barres verticales représentent les écarts types, les lettres minuscules indiquant les différences significatives ($p < 0,05$) entre les grignons des échantillons étudiés.

L'analyse statistique a révélé des différences significatives du taux d'inhibition du β -carotène ($p < 0,05$) des deux grignons étudiés. Les résultats montrent que les extraits des grignons frais exercent un taux d'inhibition de 40%, contrairement à ceux des grignons secs qui présentent le faible taux (32%). Cela signifie que les extraits frais sont plus riches en antioxydant lipophiles efficaces dans l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique en composés organiques volatiles et des hydroperoxydes diènes conjugués. Les taux enregistrés sont supérieurs à ceux obtenus par **Djehim (2016)**.

IV. Relation activité antioxydante/teneurs en composés phénoliques

Le pouvoir réducteur des extraits présente de bonne corrélation linéaire positive avec les teneurs en composés phénoliques ($r=0,84$), flavonoïdes ($r=0,90$), flavonols ($r=0,70$), Ortho-diphénol ($r=0,8$). Ceci concorde avec les résultats de plusieurs auteurs confirmant ainsi le rôle de tels composés dans l'activité réductrice; cette dernière peut également impliquer d'autres composés autres que les composés phénoliques (protéines, sucres...). L'activité anti radicalaire des échantillons présente une corrélation positive parfaite avec les teneurs en composés phénoliques ($r=1$), flavonoïde ($r=1$), ortho-diphénols ($r=1$). Ceci confirme le rôle de telles substances dans le piégeage des radicaux libre DPPH°.

L'activité inhibitrice du peroxyde hydrogène présente une bonne corrélation positive linéaire avec les teneurs en composés phénoliques ($r=0,97$), flavonoïdes ($r=0,92$), flavonols ($r=0,97$), ortho-diphénol ($r=0,96$). Ceci confirme l'implication de ces derniers dans le piégeage

de cette espèce non radicalaire.

L'activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical cationique ABTS^{o+} des extraits de grignons présente de bonne corrélation linéaire positive avec les teneurs en composés phénoliques ($r=0,90$) flavonoïdes ($r=0,80$), flavonols ($r=0,98$), *ortho*-diphénols ($r=0,90$). Ceci confirme le rôle de tels composés dans la neutralisation de cette espèce (ABTS) (Annexe, tableau I).

V. Mesure du potentiel microbiologique

V.1. Mise en évidence de l'activité enzymatique de la souche

Les actinobactéries sont capables de produire un grand nombre d'enzymes, d'une valeur commerciale élevée (Zhou et al, 2000 ; Chakraborty et al, 2009 ; Avramenko et Galynkin, 2010). Dans cette étude, la souche S2 a été testée pour son pouvoir d'hydrolyse enzymatique à travers la recherche de cellulases et lipases.

V.1.1. Recherche des cellulases

D'après les résultats obtenus et illustrés dans la figure 19, il y a formation d'une zone claire relativement faible autour des colonies, donc la souche présente une activité cellulosique. Comme il a été rapporté par Vinogradova et Kushnir, (2003), les actinobactéries sont l'une des communautés microbiennes importantes responsables de la dégradation de la cellulose. Par ailleurs, ces résultats confirment le potentiel relatif de la valorisation des grignons à travers sa dégradation par ces microorganismes afin de transformer ces polysaccharides en sucres simples pouvant être utilisés à des fins agroalimentaires (substituants, ingrédient) et contribuer aussi à la dégradation biologique de ces déchets et lutter par conséquent contre la pollution environnementale.



Figure 19: Mise en évidence de l'activité cellulósique de la souche S2.

V.1.2. Recherche des lipases

L'activité lipasique a été recherchée en utilisant l'huile d'olive comme substrat. Une zone opaque importante est formée autour des colonies indiquant son potentiel d'hydrolyse des lipides (figure 20) (Li et al., 2015). A la lumière des résultats obtenus, la souche S2 a présenté une activité lipasique positive. Ceci témoigne de l'éventuelle utilisation de ces matrices naturelles afin de produire de telles enzymes très utilisées dans le domaine alimentaire contribuant ainsi à la valorisation de ces déchets



Figure 20 : Mise en évidence de l'activité lipasique de la souche S2.

Ce résultat démontre le potentiel enzymatique non négligeable des actinobactéries. En effet, Benhoula *et al.* (2023) ont rapporté une activité lipasique non négligeable d'une souche de *Streptomyces* SC1 isolée à partir des eaux usées des moulins d'huile d'olive.

V.2. Viabilité de la souche en présence du substrat

Il s'est avéré à travers ce test que la souche S2 se développer efficacement en fermentation submergés sur milieu MSM additionné de 3% de grignons d'olive frais et sec. Une croissance mycélienne représentative a été observée après 3 jours d'incubation à 28 °C pour les deux types de grignon (figure 21).

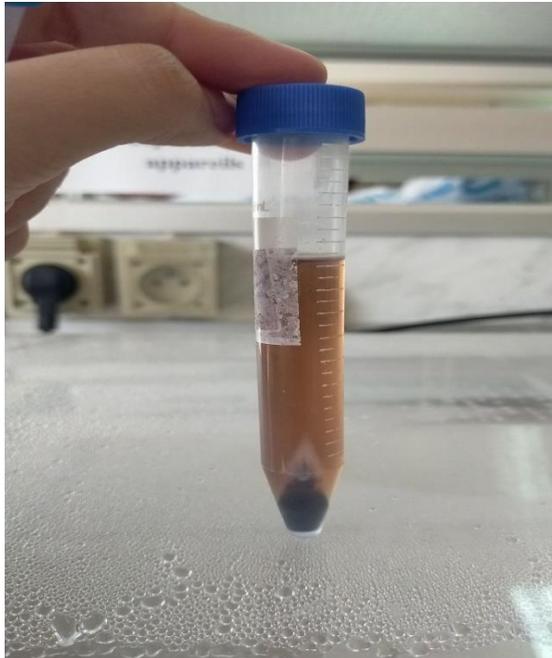


Figure 21 : développement de la souche S2 en fermentation submergés.

En effet, la culture utilisant le grignon frais a permis d'obtenir une biomasse de 7,8 mg/L comparée à la culture en présence de grignon sec où une biomasse estimée à 12,8 mg/L a été obtenue. Ces résultats confirmant l'utilisation des grignons d'olives pour produire une multitude de métabolites à intérêt agroalimentaire produits par cette souche et participent en parallèle à leur traitement biologique.

CONCLUSION

Le présent travail a été consacré à l'étude comparative des teneurs en divers composés bioactifs, notamment les composés phénoliques totaux, *orthodiphénols*, flavonols, et flavonoïdes des grignons d'olive frais et sec, ainsi que l'évaluation du pouvoir antioxydant de leurs extraits par différents test (pouvoir réducteur, activité anti-radicalaire (DPPH° et ABTS^{o+}), activité chélatrice, activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène, test de blanchissement du β -carotène). Par ailleurs, le potentiel biotechnologique des grignons étudiés a été investigué en vue de valoriser ces déchets oléicoles.

Les résultats obtenus indiquent que les teneurs en diverses substances phénoliques quantifiées ainsi que l'activité antioxydante diffèrent significativement entre les grignons d'olive frais et secs. Les extraits issus du grignon frais renferment les concentrations les plus élevées en composés phénoliques totaux (145 g EAG/kg), flavonoïdes (80g EAC/kg), flavonols (95 g EQ/kg) et en ortho-diphénols (96 g EAC/kg), et exercent une activité antioxydante plus importante, notamment un pouvoir réducteur estimé à 177g EAA/kg, un taux d'inhibition du radical ABTS de 58% une activité chélatrice de 20%, un taux d'inhibition du peroxyde d'hydrogène de 38%, un taux de blanchiment de β -carotène de 40%, et atteignant un taux d'inhibition de radical DPPH° de 70% à une concentration de 1g/ml.

Par ailleurs, les résultats quant à l'étude du potentiel biotechnologique indiquent que la souche S2 d'actinobactérie testée sur ces matrices oléicoles a démontré une forte activité lipasique et cellulasique modérée pour les deux grignons d'olives (frais et sec), suggérant qu'elle pourrait être utilisée pour produire ces enzymes.

De plus, il a été démontré que la culture en utilisant le grignon frais a conduit à une biomasse de 7,8 mg/L, tandis que la culture en présence de grignon sec a produit une biomasse estimée à 12,8 mg/L. Ces résultats confirment que les grignons d'olives peuvent être utilisés comme substrat pour la production de divers métabolites d'intérêt agroalimentaire par la souche étudiée. Ceci rentre dans le cadre de la valorisation de ces grignons étudiés et vas contribuer ainsi à leur traitement biologique, afin de réduire les problèmes de pollution environnementale liées à la non utilisation de ces déchets oléicoles.

Enfin, cette étude ouvre des perspectives intéressantes quant à la détermination des différents métabolites produits par la souche étudiée en utilisant ces grignons d'olives, et d'explorer les différentes méthodes d'extraction des substances bioactives à partir de ces déchets.

Il serait également intéressant d'élargir l'échantillonnage sur l'ensemble des huileries modernes et anciennes fonctionnant avec différents systèmes d'extraction au niveau du territoire national afin de mieux valoriser ces déchets et de promouvoir des approches durables dans l'industrie alimentaire. Ces avancées contribueront à la gestion efficace de ces déchets oléicoles.

Références bibliographique

Références bibliographique

A

Aliakbarian B, Sampaio FC, De Faria JT, Gpitangui C, Lovaglio F, CasazzaAA, Converti A et Perego P, (2018). Optimization of Spray Drying Microencapsulation of Olive Pomace Polyphenols Using Response Surface Methodology and Artificial Neural Network. *LWT - Food Science and Technology*. 93 : 220–228.

Amrouche Fatiha et Tsamda Imene, (2020). Essai de valorisation des grignon d'olives. *Agroalimentaire et contrôle de qualité, université de Blida 1*.

Anonyme : Centre d'Activité Régionale pour la Production Propre (2000). Prévention de la pollution dans la production d'huile d'olive. Barcelona Espagne.

Association Française Interprofessionnelle De l'Olive (AFIDOL), (2013). Le marché mondial de l'huile d'olive. Mars 2013 - N° 20

B

Bendini A., Bonoli M., Cerretani L., Biguzzi B., Lercker G. et Toschi T. G. (2003). Liquid–liquid and solid-phase extractions of phenols from virgin olive oil and their separation by chromatographic and electrophoretic methods. *Journal of Chromatography A*, 985, 425–433.

Ben hassine K., Bouchoucha S. et Kamoun N, (2009). Impact de la variété et du système d'extraction de l'huile d'olive sur les préférences consommateurs : 1-6.

Berset C, (2006). Antioxydants phénoliques. Structures, propriétés, sources végétales. In *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, p. 265-294.

Bianchi G, (2003). Lipides and phenols in table olive. *Journal Lipid Science Technology*, 105, 229-242.

Bruneton J, (1993). Pharmacognosie et phytochimie. *Plantes médicinales plants*, Paris France Lavoisier ; 278-279.

Brand-Williams W., Cuvelier ME., Berset C, (1995). Use a free radical method to evaluate antioxydant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Boudhrioua N., Bahloul N., Ben Slimane I. et Kechaou N, (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Corps and Products*, Vol.29, N°2, pp.412-419.

C

Cioffi G., Pesca S., De Caprariis P., Braca A., Severino L et De Tommasi N. (2010). Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxydant activity. *Food Chemistry*; 1: 105-111.

Références bibliographique

Christoforou Elias et Fokaides Paris A, (2016). A review of olive mill solid wastes to energy utilization techniques. *Waste Management*, 49, pp. 346-363. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.012>.

Chou S.T., Chao W.W et Chung Y.C. (2003). Antioxydative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*phaseolus Radiatus* L. var. Aurea). *Journal of Food Science*, 68 :21- 25.

Conseil Oléicole International, (2023). Norme commerciale applicable aux huiles d'olives et aux grignons d'olives.

D

Dermeche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F et Michaud P, (2013). Olive mill wastes : Bio- chemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry* ; 48 : 1532-1552.

Ducom G, Gautier M, Pietraccini M, Tagutchou JP, Lebouil D, Dumont N et Gourdon R, (2019). Caractérisation de grignons d'olives en vue d'une valorisation thermochimique par gazéification. *Déchets Sciences et Techniques*. 82 :42- 54.

Djeghim Hanène, (2016). Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne du Genre Genista (Fabaceae). Département de Biochimie Cellulaire et Moléculaire. Université des Frères Mentouri Constantine, p : 10-68.

De Leonardis A., Aretini A., Alfano G., Macciola V. et Ranalli G, (2008). Isolation of hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea europea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food Research and Technology*, Vol.266, N°4, pp.653-659.

E

Edenharder, R., Grünhage, D, (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540 : 1–18.

F

Ferhat R, Laroui S, Zitouni B, Lekbir A, Abdeddaim M, Smaili N, et al, (2014). Experimental study of solid waste olive's mill : extraction modes optimization and physicochemical characterization. *Journal of Natural Product Plant Resour* ;4 :16–23.

Fernández- Bolaños J., Rodriguez G., Rodriguez R., Heredia A., Guillen R. et Jiminez A, (2002). Production in large quantities of highly purified hydroxytyrosol from liquid-solid waste of the two-phase olive oil processing or "alperujo". *J. Agri. Food Chem.*, 50, 6804– 11.

Références bibliographique

Francesco Visiolia, Claudio Gallia, Francis Bornetb, Alissa Matteic, Rossana Patellia, Giovanni Gallia et Donatella Carusoa (2000). Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS Letters* 468 (2000) 159-160.

G

Garrido-Fernández A., Fernández-Díez M. J. et Adams M. R, (1997). Table olives : Production and processing. In *Olives and table olives* (pp. 10–21). Chapman and Hall. London, UK.

Ghanbari R., Anwar F., Alkharfy K. M., Gilani A. H. et Saari N, (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.) a review. *International journal of molecular sciences*. 13, 3291-3340.

Gülçin İ., Oktay M., Küfrevioğlu İ. et Aslan A. (2002). Determination of antioxidant activity of lichens *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*,79, 325–329.

Goodfellow M., Whitman W.B., et David H. Bergey, éd. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 5 : The Actinobacteria.*

Garrido-Fernández A., Fernández-Díez M. J. et Adams M. R, (1997). Table olives : Production and processing. In *Olives and table olives* (pp. 10–21). Chapman and Hall. London, UK.

H

Haslam, E., Lilley, T. H, (1988). Natural astringency in foodstuffs : à molecular interpretation. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 27(1) : 1–40.

Hachemi Zaidi, Ouari Meradi, Mohammed Bouzmit, (2021). La filière oléicole à Bejaia État des lieux, contraintes et perspectives. *The olive sector in Bejaia : Inventory, constraints and prospects. Journal des Etudes Economiques Contemporaines*, p 601-624.

I

Iboukhoulef Hamida, (2005). Influence du carbonate de sodium anhydre sur l'extraction de l'huile à partir du grignon d'olive. Faculte des sciences, departement de chimie, memoire de m **Irene Gómez-Cruz, Cristóbal Cara, Inmaculada Romero, Eulogio Castro et Beatriz Gullón, (2020).** *Antioxidants*, 9, 1010.

agister, p : 30-31.

K

Kailis S. et Harris D, (2007). *Table olive processing : general aspects.* CSIRO publishing, Landlinks Press Collingwood, p : 131-189.

Références bibliographique

Kahkönen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J.P., Pihlaja K., Kujala T.S. et Heinonen M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.

Kim D.O., Chun O.K., Kim Y.J., Moon H-Y. et Lee C.Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6509-6515.

Kumaran A. et Karunakaran R.J. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of *Phyllanthus* species from India. *Food Science and Technology*, 40, 344-352.

L

Medouni-Haroune L., Zaidi F., Medouni-Adrar S., Kernou N., Azzouz S et Kecha M. (2017). Bioconversion of Olive Pomace by Submerged Cultivation of *Streptomyces* sp. S1M3I. *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.* p : 1-2.

Medouni-Haroune L., Zaidi F., Medouni-Adrar S., et Kecha M. (2017). (2018). Olive pomace : from an olive mill waste to a resource, an overview of the new treatments. *Journal of Critical Reviews* p : 2.

Lamani O., Ilbert H, (2016). Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie) : Pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. In : Ater M. (ed.), Essalou h L.(ed.), Ilbert H. (ed.), Moukh li A. (ed.), Khadari B. (ed.). *L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques.* Montpellier : CIHEAM, 2016. p. 149-159 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens ; n. 118).

Lesage-Meessen L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J. C., Lorquin J., Delattre M.,et al. (2001). Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*, 75, 501-507.

Liu Q. et Yao H. (2007). Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry*, 102, 732-737.

Ludwig W., Schleifer K.H., et Whitman W.B. (2008). Revised Road Map to the Phylum Firmicutes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 3.

M

Moreno J.J. (2003). Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages *in vitro*. *Free Radical Biol. Med.*, 35 (9), 1073–1081.

Ministère De L'Agriculture Et Du Développement Rural « MADR », (2012). Le Renouveau Agricole et Rural en marche. *Revue et Perspectives*.

Références bibliographique

Moussaoui R, (2007). Valorisation des sous-produits de l'huilerie d'olive et margines. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie, 133 pp.

Mouzaoui K., Yazzag L. et Moulti-Mati F, (2014). Composés phénoliques des grignons d'olives provenant d'huileries traditionnelle et moderne : essai de purification de l'oleuropeine et de l'hydroxytyrosol. *Sciences & Technologie*, 40 : 9-15.

Mylonaki S., Kiassos E., Makris D.P et Kefalas P, (2008). Optimization of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Anal Bioanal Chemistry*, Vol.392, N°5, pp.977-985.

N

Nefzaoui, A, (1987). Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits. Séminaire sur l'économie de l'Olivier, Tunisie.

P

Peczynska W., Mordarski H. (1988). Actinomycetes enzymes. In : Actinomycetes in Biotechnology. Goodfellow S, Mordarski M (Eds.). Academic Press, London. 219-283.

Pütün Ayse E., Uzun Başak Burcu, Apaydin Esin et Pütün Ersan, (2005). Bio-oil from olive oil industry wastes: pyrolysis of olive residue under different conditions. *Fuel Processing Technology*, 87(1), pp. 25-32.

Q

Quiles, J.L., Ramirez-Tortosa, M.C., Yaqoob, P., (2006). Olive Oil and Health. CABI. Le journal britannique de la nutrition 97(05). DOI : 10.1017/S0007114507250494. Volume 97 Numéro 5.

R

Pellegrini N., Proteggente A., Pannala M., Yang C. et Rice- Evans. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol & Med.*, 26, 1231-1237.

Rosello´-Soto, E., Koubaa, M., Moubarik, A., Lopes, R.P., Saraiva, J.A., Boussetta, N., et al., (2015). Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: non-conventional methods for the recovery of high-added value compounds. *Trends Food Sci. Technol.* 45 (2), 296310. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2015.07.003>.

Roger François (1974), Les industries des corps gras, édition Technique et Documentation. ISBN-10. 2880200075, 431 pages.

Références bibliographique

Rodríguez G., Lama A., Rodríguez R., Jiménez A., Guillén R. et Fernández- Bolaños J, (2008). Olive stone an attractive source of bioactive and valuable compounds. *Bioresource Technol.*, 13, 5261-5229.

Ruch R. J., Cheng S. J. et Klaunig J. E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10, 1003-1008.

Rhita Zbadi, Hicham Mohti et Fadila Moussaoui, (2018). Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *mt* 2018 ; 24 (2) : 134-41.

S

Sanglier, J., Haag H., Huck T., Fehr T. (1993). Novel bioactive compounds from Actinomycetes: a short review (1988–1992). *Research in Microbiology*. Vol. 144 n°8. 633–642.

Salami M., Gallic., De Angelis L. et Visioli F. (1995). Formation of f,-isoprostanes in oxidized low density lipoprotein: inhibitory effect of hydroxytyrosol. *Pharmacol. Res*, 31(5), 275–279.

Seddiki et tadjer, (2013). Extraction de composés phénoliques issus d'un rejet agroalimentaire (Grignon d'Olives). Ecole nationale polytechnique. <http://repository.enp.edu.dz/jspui/handle/123456789/9424>, p : 34-51.

Silva S., Gomes L., LEITÃO F., Coelho A.V. et Vilas Boas L, (2006). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea Europaea* L. fruits and leaves. *Food Science Tect Int*, 12(5), 385-396.

Scherer R. et Godoy H. T. (2009) Antioxydant Activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* ; 112 : 654-658.

Soler-Rivas C., Espin J.C, et Wishers H.J, (2000). Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 114, 1380-1385.

SOUFI Ouahiba , (2015). Etude des effets du salage sur le profil phénolique et les propriétés antioxydantes de variétés d'olives noires. Thèse en vue de l'obtention du diplôme du doctorat en sciences, p : 40-45.

V

Visioli F., Bellomo G. et Galli C. (1998). Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 247, 60–64.

Vlyssides A.G., Loizides M., Karlis P.K, (2004). Integrated strategic approach for reusing olive oil extraction by-products. *Journal of Cleaner Production* ; 12 : 603-611.

Références bibliographique

W

Wagner, W.L., Herbst, D, et Sohmer, S.H, (1999). Manual of the flowering Plants of Hawai'i. 2 vols. Bishop Museum Special publication 83. University of Hawai'i and Bishop Museum Press,4 :1-9.

Williams W. B., Cuvelier M.E. et Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, 28, 25-30.

Whitman W.B., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.-J., Trujillo M.E., Ludwig, W.and Suzuki K.-I. (Eds.) (2012). Bergey's manual of systematic bacteriology. The Actinobacteria,Part A. Springer New York, Dordrecht Heidelberg London. vol .5, 2nd Edition.

Y

Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J, Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S, (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. Plant. Food Hum. Nutr, 59 : 113-122.

ANNEXES

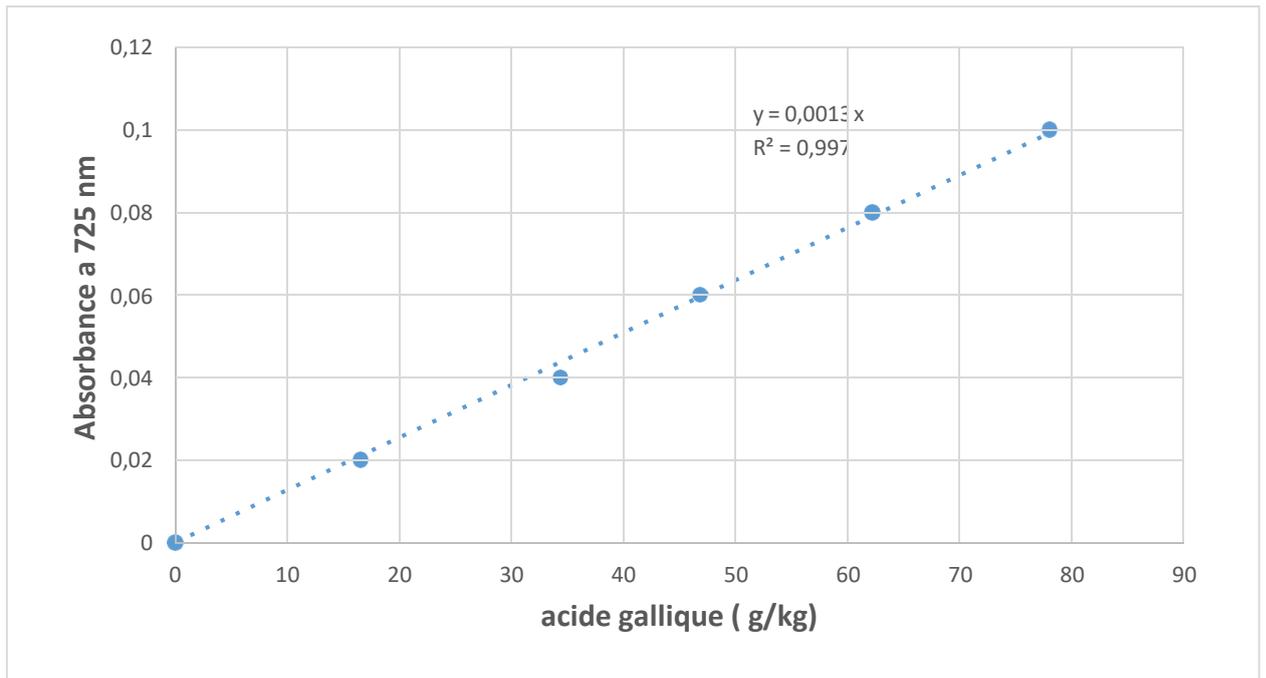


Figure 1 : courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux.

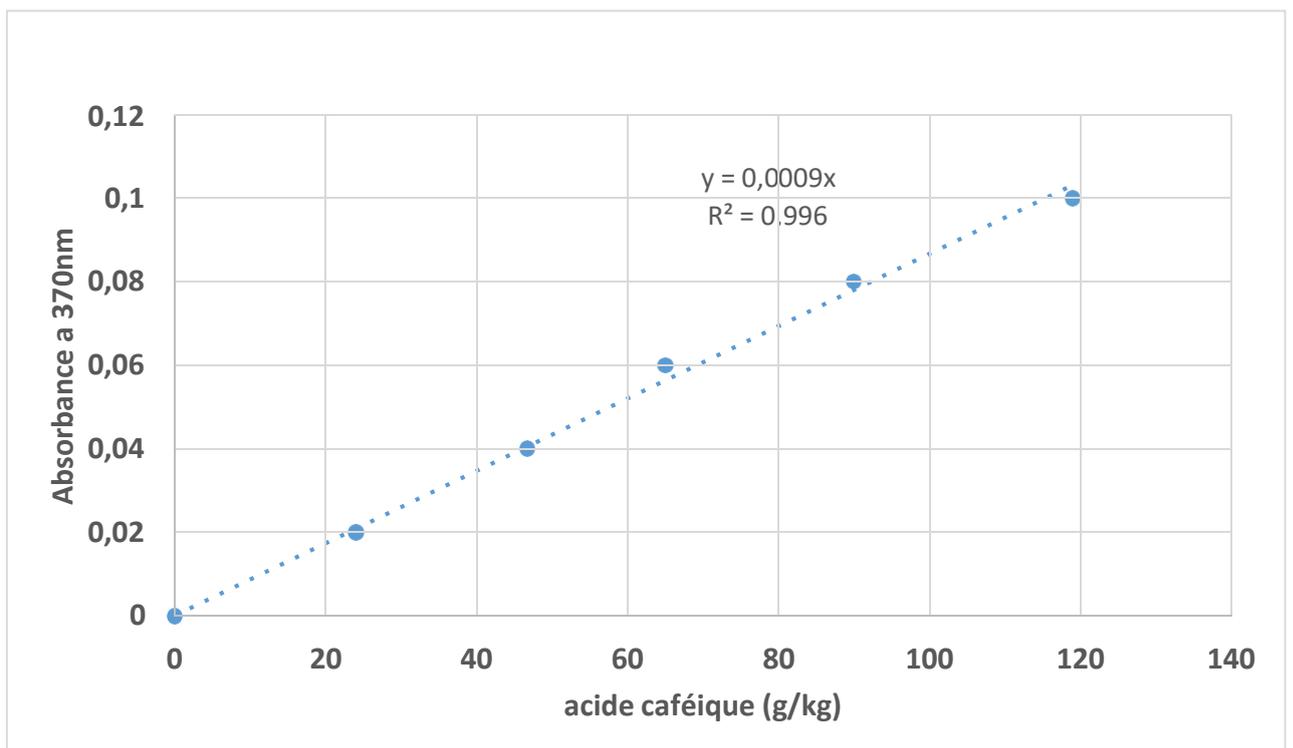


Figure 2 : courbe d'étalonnage des ortho-diphénols.

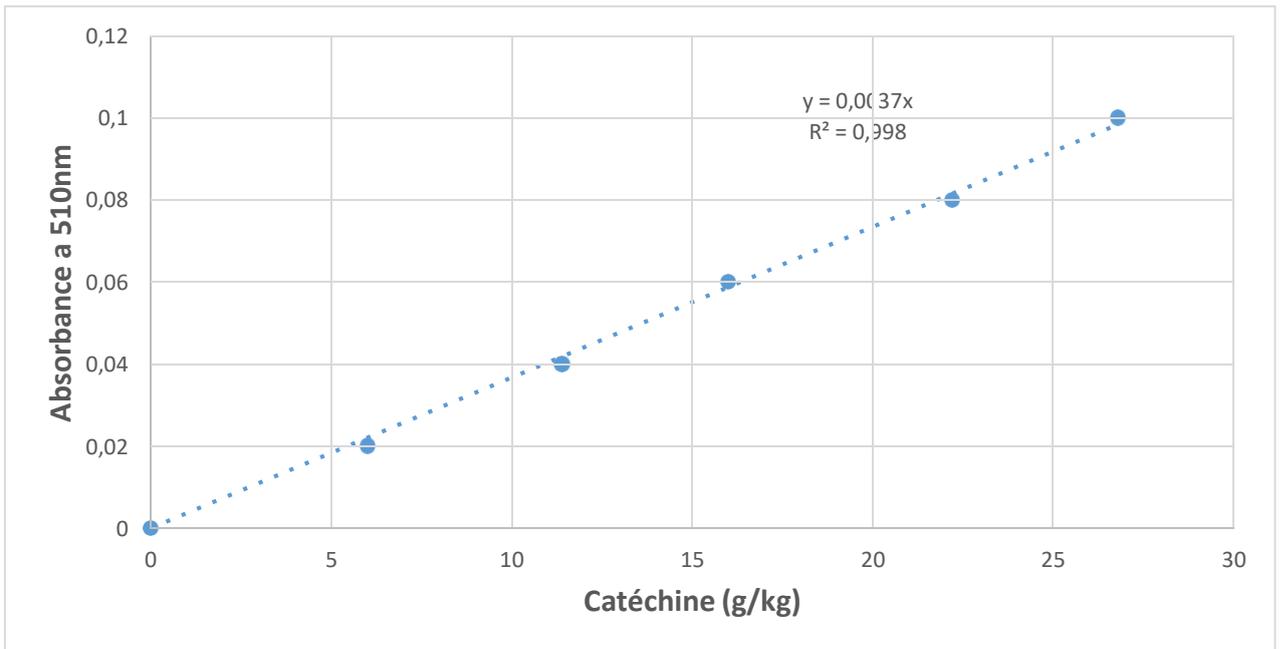


Figure 3 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

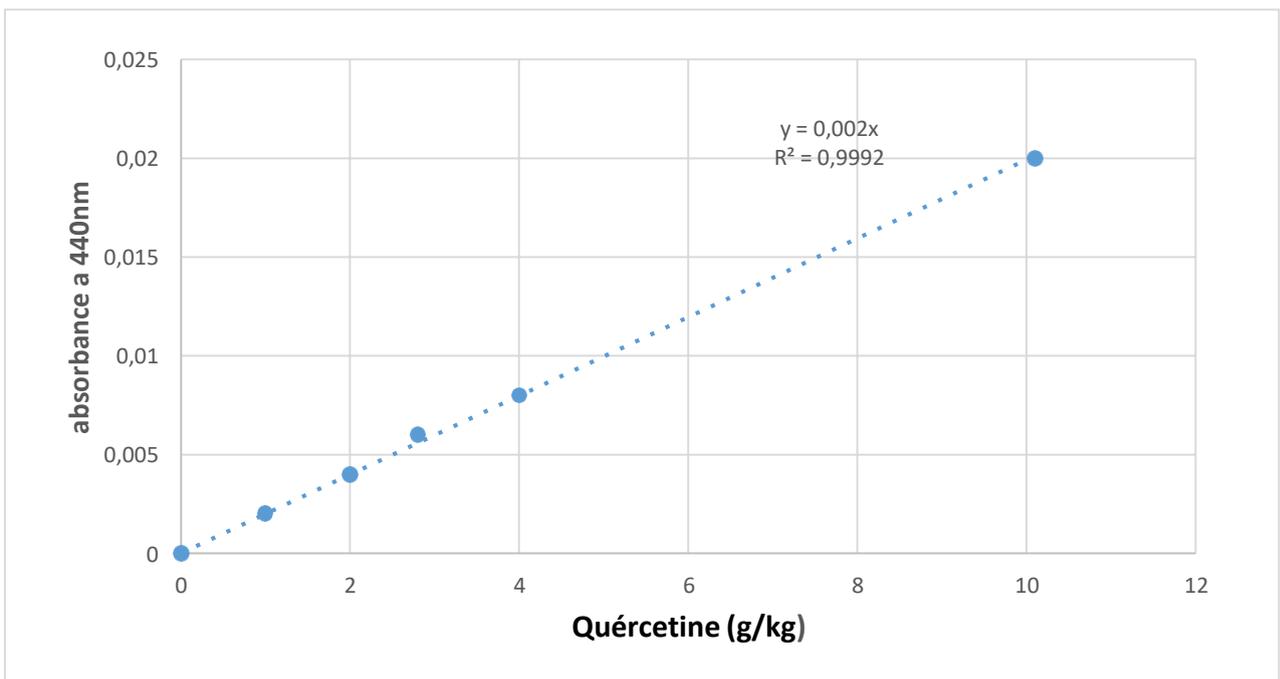


Figure 4 : courbe d'étalonnage des flavonoles.

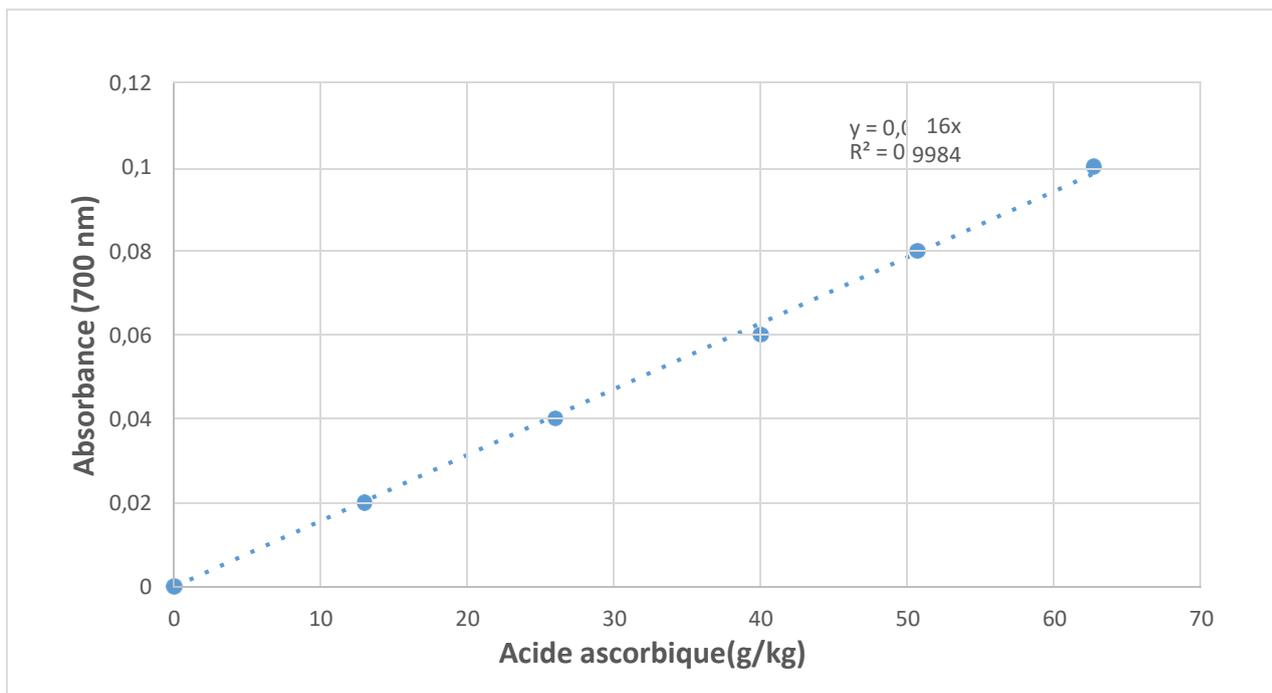


Figure 5 : courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

Tableau I : relation activité antioxydante et teneur en composés phénoliques

Corrélation	Coefficient de corrélation (r)
Composé phénoliques –pouvoir réducteur	0.85
Flavonoïdes –pouvoir réducteur	0.90
Flavonols – pouvoir réducteur	0.70
Ortho-diphénol –pouvoir réducteur	0.88
Composés phénoliques –L'activité anti radicalaire	1
Flavonoïdes - L'activité anti radicalaire	1
Flavonols - L'activité anti radicalaire	-1
ortho-diphénol - L'activité anti radicalaire	1
Composés phénoliques - L'inhibition de peroxydes d'hydrogène	0.97
Flavonoïdes - L'inhibition de peroxydes d'hydrogène	0.92
Flavonols - L'inhibition de peroxydes d'hydrogène	0.97
ortho-diphénols - L'inhibition de peroxydes d'hydrogène	0.96
L'inhibition de peroxydes d'hydrogène- L'activité anti radicalaire	1
Polyphénols – ABTS	0.90
Ortho-diphénols ABTS -	0.90
Flavonoïdes - ABTS	0.80
Flavonols - ABTS	0.98

Matériel analytiques

- Plaque agitatrice
- Balance analytique
- Etuve
- Autoclave
- Bain-marie

PH mètre

Bec bunsen

- Anse de platine
- Boites de pétri
- Verrerie : béchers, éprouvettes, tube à essai et flacons
- Pipettes pasteur

Composition des milieux de culture

I. Milieu de culture

- Milieu SCA (Starch Casein Agar) (Kuster et Williams, 1964)**

Amidon : 10g ; Caséine : 0,3g, KNO₃ : 2g ; K₂HPO₄ : 2g ; NaCl : 2g ; MgSO₄, 7H₂O : 0,05g ; CaCO₃ : 0,02g ; FeSO₄, 7H₂O : 0,01g ; Agar : 18g ; H₂O : 1000ml ; pH 7,2 ±0,2.

II. Milieu pour les tests des activités enzymatiques

- Gélose a la cellulose**

Cellulose : 0,1g ; Na NO₃ : 0,02g ; K₂ HPO₄ : 0,02g ; Mg SO₄ : 0,01g ; Extrait de levure : 0,01g ; Agar : 3g ; PH : 7.

- Milieu de sierra additionné de tween 80

Peptone : 2g ; Na Cl : 1g ; Ca Cl₂-H₂O : 0,02g ; eau distillée : 200ml ;
Agar : 3,6g ; Tween 80 : 2ml ; PH : 7,4.

III. Milieu de test de viabilité

- Milieu de fermentation liquide (Medouni et al 2017)**

KH₂ PO₄ : 3g/l ; K₂ HPO₄ : 6g/l ; (NH₄)₂ SO₄ : 3g/l ; Na NO₃ : 1,2g ;

Mg SO₄-7H₂O : 0,2 g/l ; Ca CL₂ : 0,05 g/l ; Mn SO₄-7H₂O : 0,01g/l ; Fe SO₄-7H₂O : 0,001g/l ; Extrait de levure : 0,05g/l ; grignon d'olive : 3g ; PH : 7,4.

L'ajustement du pH des milieux de culture s'effectue à l'aide d'une solution de NaOH ou d'une solution d'HCl.

IV. Les colorant

□ Solution aqueuse de Rouge Congo

Rouge de Congo : 0,5g ; eau distillée : 50ml.

Résumé

L'industrie oléicole, outre sa production principale d'huile d'olive vierge, génère deux sous-produits. Liquide appelé margines, et solide appelé les grignons. Ces derniers présentent une composition diversifiée. Cette étude a été conduite afin de comparer les teneurs en divers composés bioactifs ainsi que l'activité antioxydante des grignons d'olive frais et sec. Le potentiel biotechnologique de ces déchets oléicoles a été également investigué. Les résultats indiquent que les teneurs en diverses substances bioactives ainsi que l'activité antioxydante diffèrent significativement entre les grignons analysés. Des teneurs considérables en substances phénoliques et une activité antioxydante plus importante sont enregistrées dans les extraits de grignons d'olive frais. Par ailleurs, le potentiel biotechnologique de ces matrices en utilisant la souche S2 a montré une forte activité lipasique et une activité cellulase modérée, et une biomasse plus élevée a été notée dans les grignons sec. Ceci confirme les perspectives diverses de valorisation de ces matrices afin de produire une multitude de composés.

Mots clés : grignon d'olive, Extraction, activité antioxydante, potentiel biotechnologique.

Abstract

The olive industry, in addition to its main production of virgin olive oil, generates two by-products. A liquid called margines, and a solid called pomace. The latter have a diverse composition. This study was conducted to compare the contents of various bioactive compounds and the antioxidant activity of fresh and dried olive pomace. The biotechnological potential of this olive waste was also investigated. The results indicate that the contents of various bioactive substances and antioxidant activity differ significantly between the analyzed olive pomace. Considerable levels of phenolic substances and higher antioxidant activity were recorded in fresh olive pomace extracts. Furthermore, the biotechnological potential of these matrices using the S2 strain showed high lipase activity and moderate cellulase activity, and a higher biomass was noted in dry pomace. This confirms the diverse prospects for valorizing these matrices to produce a multitude of compounds.

Key words: olive pomace, extraction, antioxidant activity, biotechnological potential.