

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté de sciences de la nature et de la vie

Département des sciences biologiques



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Qualité Des Produits Et Sécurité Alimentaire

Présenté par :

AZIZI Maroua et BRELLA Riane

Thème

**Etude des polysaccharides des eaux de lavage
des huiles brutes d'olives bio-activités**

Soutenu publiquement le :

Devant le jury

Président	BOUAL Zakaria	Pr.	U. Ouargla
Encadreur	OULD EL HADJ Mohamed Didi	Pr.	U. Ouargla
Co-Encadreur	M ^{elle} HADRI Nassima	Doctorante.	U. Ouargla
Examineur	BENAOUN Fatima	MCB	U. Ouargla

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Avant tous nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, la patience et la santé durant nos cursus d'études et que grâce à lui qui nous entamons et terminons ce mémoire.

Nous remercions tous du fond du cœur particulièrement notre, encadreur Mr **OULD EL HADJ Mohamed Didi** professeur au Département des Sciences Biologiques la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, pour avoir accepté de nous encadrer, pour sa disponibilité et sa contribution générale à l'élaboration de ce travail.

Nous présentons nos remerciements les plus sincères à Melle **Hadri Nassima** maître assistante au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah Ouargla pour son aide, son ouverture d'esprit, ses conseils précieux et sa vision de la recherche scientifique.

Nos remerciements vont également au membre de jury Mr **BOUAL Zakaria**, qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence du jury, que vous trouvez ici l'expression de notre profond respect. A M^{elle} BENAOUN Fatima, qui a fait l'honneur d'être parmi le jury pour examiner notre travail.

Nous remercions chaleureusement nos familles qui, nous ont soutenus et contribués à la réalisation de ce travail.

Enfin, merci à toute personne qui a pu, de près ou de loin contribuer à l'accomplissement de ce travail.

MERCI



Dédicace

Grâce à ALLAH, le Tout -Puissant

le miséricordieux créateur des terres et des Cieux, merci de m'avoir accordé la santé et la force pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail à :

- + Mon adorable mère Fatima pour son soutien et ses encouragements: Merci ma mère ma vie et mon bonheur qui a œuvré pour ma réussite;*
- + Mon père Hocine, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur: Merci Mon père;*
- + Les fleurs de ma vie mes sœurs: Hanan, Sabrina, Safa;*
- + Mes héros: mes frères« Younas, Tarak, Ishak et Madjde Eddine »;*
- + A Epouses de mes frères et petits bourgeons;*
- + Toute la famille Azizi, Kadour;*
- + Ma chère et mon binôme: Riane merci pour ces années passées ensemble;*
- + Tous mes amis sans exception« Halima, Ibtissam, Meriem, AbdeAlhak, Dalal .. » ;*
- + A tous ce qui m'a aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail;*

« Merci à tous pour votre présence dans ma vie »

Maroua

Dédicace



J'ai le plaisir de dédier ce travail

Que Dieu te protège et t'accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur,

A ma mère Noura la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie;

A mon père Ali , l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie;

A ma chère Abir, ce travail représente le fruit de votre soutien, et vos encouragements, Merci infiniment;

A mes chers frères, Ahmed, Mohamed Nizar, Ibrahim Iskander, pour qui je souhaite que de bonheur, Merci pour m'avoir aidé, et m'orienté;

A mes chères Othmane ,Maniaa toujours aidé et encouragé;

A ma famille Brella et Yahiouche;

A ma chère binôme Maroua pour le encouragement et mes amis proche Maroua, Souad, Kawther, Hayat, et tous les amis sans exception

Riane

Liste de tableaux

Tableau	Page
Tableau 1.- Données physico-chimiques de classification des huiles (Food and Agriculture Organization (FAO), 2001 et Codex alimentarius 1989.	9
Tableau 2.- La teneur en acide gras d'une huile d'olive	10
Tableau 3.- les fractions insaponifiables principales d'huile d'olive	11
Tableau 4.- techniques des traitements des grignons d'olive	19
Tableau 5.- Composition des margines : Sousoucy R, 1984, FAO.	21
Tableau 6.- Principaux techniques de traitement des eaux de lavage.	22
Tableau 7.-Origines et types d'appareils utilisés au cours de l'expérimentation.	30
Tableau 8.- gamme étalon du glucose	34
Tableau 9.- Gamme étalon de glucose	34
Tableau 10.-Gamme étalon d'acide glucuronique	35
Tableau 11.-Gamme d'étalonnage de sérum albumine bovin .	37
Tableau 12.- Gamme étalon de l'acide gallique	38
Tableau 13.-Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique	40
Tableau 14.- Test de l'activité anti-diabétique	41
Tableau 15.- Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique de l'eau de lavage de l'huile d'olive.	43

Liste des figures

Figure	Page
Figure 1.- production mondiale de l'huile d'olive.	7
Figure 2.- Répartition de la zone oléicole en Algérie (a: sur la carte géographique, b: en pourcentage (Oreggia et Marinelli, 2017).	8
Figure 3.- Effeillage des olives (Oleiculture. Com,2002).	7
Figure 4 .- lavage des olives (Ahmidou et Hammadi,2007).	13
Figure 5.- Le Broyage des olives (Ahmidou et Hammadi,2007).	13
Figure 6.- Le Malaxage des olives (oleiculture. Com,2002).	14
Figure 7.- système discontinue d'extraction par pression.	15
Figure 8.- système d'extraction avec centrifugation à 3 phases (SekourB,2012).	16
Figure 9.- système discontinue d'extraction par centrifugation à 2 phases (Sekour B, 2012).	16
Figure10.- Quantité d'huile d'olive extraite et sous produits en pourcentage (Mendil, 2009)	18
Figure 11.- Principaux techniques de valorisation des eaux de lavage (FIORENTINO et al.,2003)	24
Figure 12.- Formule chimique de la cellulose (Chouana, 2017).	26
Figure 13.- Représentation schématique des éléments structuraux de pectine (Voragen <i>et al.</i> 2009).	27
Figure14.-Repartions géographique de wilaya d'Oued souf	29
Figure 15.- extrait de polysaccharides hydrosoluble.	31
Figure 16.- Protocole d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de l'eau de lavage (GALANAKIS et al., 2010).	32
La figure17- présente les pourcentages d'inhibition (%) de l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase en présence de l'acarbose ou de l'extrait polysaccharidique.	44

Liste des abréviations

AC : codex alimentaire.

AG : Acide gras.

Abs: absorbance.

AGL : Acide gras libre.

AOC : Appellations d'origine contrôlée.

CAC : Commission du Codex Alimentaire .

COI : conseil oléicole international.

CP: Composés phénoliques

DBO₅: demande biologique en Oxygène

DCO: Demande Chimique en Oxygène

FAO: Food and Agriculture Organization .

g: gramme

H: heure

g/l: gramme par litre

H₂O: Eau

H₂S: sulfure d'hydrogène

HCl: Chlorure d'Hydrogène

IA : Indice d'acidité.

IP : Indice de peroxyde

KCl: Chlorure de Potassium

K₂₃₂ : Coefficient d'extinction spécifique a 232 nanomètre.

K₂₇₀ : Coefficient d'extinction spécifique a 270 nanomètre.

l: litre

Mg d'O₂/l : milli gramme d'oxygène par litre

Min: Minute.

ml: milli litre

Mm: milli mètre

NaCl: chlorure de sodium

NaOH: Hydroxyde de sodium

nm: nanomètre

PH: Puissance d'Hydrogène

TG : Triglycérides.

µl: micro litre

°C: degré Celsius

Table des matières

Titre	page
Remerciements	I
Dédicaces	II
Liste des tableaux	IV
Liste des Figures	V
Liste des abréviations	VI
Introduction	2
Chapitre I: Synthèse bibliographique	
I.1.-Productions mondial d'huile d'olive	6
I.2.- La production d'huile d'olive en Algérie	7
I.3. -Caractéristiques physico-chimiques l'huile d'olive	8
I.4.- Composition générale d'huiles d'olive	9
I.4.1.- La fraction saponifiable	9
I.4.1.1.- Les acides gras	9
I.4.1.2.- Triglycérides	10
I.4.2.- La fraction insaponifiable	10
I.5. -Technologie de fabrication d'huiles d'olive	12
I.5.1-Effeuillage	12
I.5.2.- Lavage	12
I.5.3.- Broyage	13
I.5.4.-Malaxage	13
I.6.-Procédés d'extraction de l'huile d'olive	14
I.6.1-système discontinue d'extraction par pression	14
I.6.2-système discontinue d'extraction par centrifugation	15
I.6.3.-Système d'extraction continue avec centrifugation	15
I.6.3.1.-Système d'extraction continue avec centrifugation à trois phases	15
I.6.3.2.-Système d'extraction continue avec centrifugation à deux phases	16
I.7. -conditions de conservation et stockage des huiles	17
I.8. -Intérêt nutritionnel et thérapeutique de l'huile d'olive	17
I.8.1.-Autres intérêts	18
I.9-Les sous-produits générés de l'extraction d'huile d'olive	18
I.9.1.-Les grignons d'olives	18
I.9.1.1.- Définition des grignons d'olives	18
I.9.1.2.- Valorisations possibles des grignons	18
II.1.- Présentation des eaux de lavage des huiles d'olive	20
II.2.- Composition chimique	20
II.3.- Caractéristiques physico-chimique de l'eau de lavage	21
II.4.- Traitement et valorisation de l'eau de lavage	22
II.4.1.- Traitement de l'eau de lavage	22
II.4.2.- Techniques de valorisation de l'eau de lavage	23
II.5.-Les polysaccharides	25
II.5.1.- Définition	26
II.6.- polysaccharides des végétaux	26
II.6.1.- Cellulose	26
II.6.2.- Pectine	26
II.6.3.-Hémicellulose	27

Chapitre II : Partie expérimentale	
II.1.-Principe d'étude	29
II.2.- Matériel	29
II. 3.-Méthode	30
II.3.1-Procédé d'extraction	30
II.3.1.1- Extraction des polysaccharides	30
II.4.-Analyse de la composition globale des polysaccharides	33
II.4.1.-dosage des oses totaux	33
II.4.2.- dosage des oses neutre	34
II.4.3- dosage des oses acides	35
II.4.4.-Dosage des protéines	36
II.4.5.-Dosage des composées polyphénoléque totaux	37
II.4.6.- Activités biologiques des polysaccharides	38
II.4.7.-Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique	38
II-4.8 Activité anti-diabétique	39
Chapitre III: Résultat et discussion	
III. Extraction des polysaccharides	43
III-1. Extraction des polysaccharides des sous-produits oléicoles	43
III.2.- Activités biologiques des polysaccharides	44
Conclusion	47
Références bibliographiques	49
Résumé	-



Introduction générale

Introduction générale

L'industrie oléicole est l'une des activités importantes pour l'homme à cause de sa production d'huile d'olive. Elle se concentre principalement dans les pays du pourtour méditerranéen, dont la production représente 94% de la production mondiale (**Sbai et Loukili, 2015**).

L'huile d'olive est la principale source de matière grasse du régime méditerranéen ou de régime crétois. On la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours (**Gharbi et al, 2014**).

La qualité de l'huile d'olive vierge, l'une des rares huiles alimentaires pouvant prétendre au qualificatif de "naturelle" est un atout majeur parce qu'elle est intimement liée à la valeur commerciale, nutritionnelle et biologique, et organoleptique. La qualité de l'huile d'olive vierge est intimement liée à sa composition chimique (**Ahmidou et Hammadi, 2007**). En effet, des compositions "idéales" ont été identifiées et une bonne huile doit avoir un équilibre prédéfini de ses taux d'acidité, des rapports entre composants mineurs qui conditionnent ses propriétés organoleptiques. La composition chimique de l'huile varie non seulement en fonction de la variété d'olive, du sol et des conditions climatiques mais également avec de nombreux facteurs ayant trait au cycle de production, de transformation, de stockage et de conditionnement de l'huile (**COI, 2004**).

Les eaux de lavage d'huile d'olive présentent un sérieux inconvénient pour l'écologie locale et l'environnement des pays producteurs d'huile d'olive et trouver un moyen pour y'est valoriser devient nécessaire.

Les eaux de lavage sont des eaux des végétations qui sont générées lors de l'extraction de l'huile d'olive vierge. Ce sont des effluents riches en matières organiques (composés phénoliques, lipides, sucres, protéines...) et en sels minéraux (potassium, sodium, magnésium...), (**Hamdi et Ellouz, 1993; Zahri et al., et al., 2014**).

Les eaux de lavage de l'huile d'olive sont souvent épandues de manière incontrôlée sur les sols agricoles ou stockées dans des bassins d'évaporation à proximité des huileries, exposant ainsi les systèmes eau-sol- plante à une pollution inéluctable. Les (**Noureddine El Aissi, 2019**), traitements physico-chimique et biologique des eaux de lavage d'huile d'olive, qui consistent à réduire leur impact sur les ressources en eau, restent encore insuffisants et coûteux (**Yaakoubi et al., 2009**). Le rejet des eaux de lavage d'huile d'olive reste jusqu'à présent un problème écologique prépondérant, pour les pays producteurs d'huile d'olive.

Le présent travail est subdivisé en deux parties:

Introduction générale

Une partie bibliographique portant sur une généralité sur l'huile d'olive et les différents procédés d'extraction, (par des Système d'extraction continu avec centrifugation à trois phases et deux phase), et l'identifie de l'étude de l'eau de lavage valorisation et leur traitement.

Une partie expérimentale dans laquelle nous avons présenté le protocole expérimentale, le matériel et les méthodes utilisées. Les résultats obtenus sur la composition globale des polysaccharides des eaux de lavage ainsi que les procédés permettant leur extraction sélective et l'évaluation de leur activité biologique.

Chapitre I

Synthèse bibliographique



I. Olivier et huile d'olive

L'étude de l'huile d'olive mérite une attention particulière, compte tenu de la place spécifique qu'elle occupe parmi les huiles de table, et ce pour plusieurs raisons:

L'huile d'olive est la plus ancienne huile connue, sa consommation remonte à l'antiquité, - sa zone de production correspond à celle de la civilisation gréco-romaine et à travers elle, la notre, c'est par celle-là que la culture de l'olivier, la production et la consommation de l'huile d'olive se sont répandues dans tout le bassin méditerranéen,

L'huile qui est le jus d'un fruit est presque uniquement consommée à l'état vierge. Elle est pratiquement la seule aujourd'hui à avoir cette particularité. Toutes les études démontrent que les régimes alimentaires à base d'huile d'olive sont bénéfiques pour la santé humaine en diminuant le risque de plusieurs maladies.

De nombreuses recherches ont été faites pour en garantir sa pureté, son authenticité et sa qualité. Elle est également une de celle pour lesquelles on a observé en premier l'influence de la variété, la région de culture et les conditions climatiques sur la composition et les caractéristiques [Uzzan.A, «Olive et huile d'olive». In «Manuel des corps gras» Karleskind. A, Tome 1, Ed : Lavoisier, Paris, (1992) 221-228.]

I.1.-Productions mondial d'huile d'olive

Selon les premières estimations, la production mondiale de la campagne 2018/19 est supérieure à 3 064 000 t donc moins que l'année dernière où la récolte estimée tourne autour de 3 315 000 t. La production des pays européens seuls a atteint 2 207 000 t en 2019 (+ 1,1 %)(COI,2019).

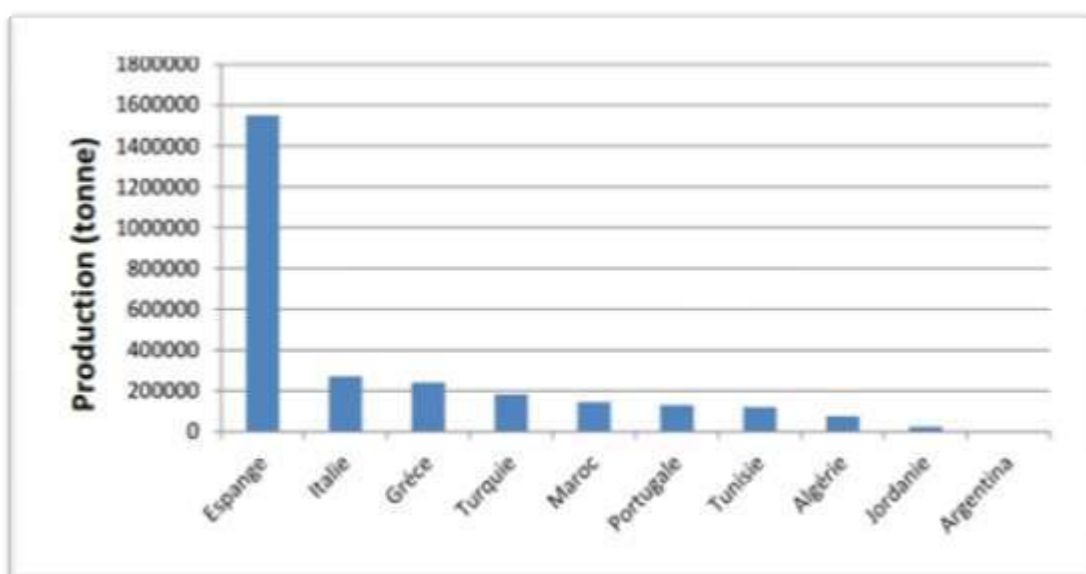


Figure1.- production mondiale de l'huile d'olive (COI,2019).

Les données indiquent que les pays membres du COI et certains membres non membres du COI produiront 3.130 millions de tonnes cette année agricole, comparativement à l'année dernière avec 3.314 millions de tonnes. Toutefois, le rendement en huile d'olive de cette campagne agricole est toujours supérieur au rendement des années passées à savoir (2014 / 15, 2016 / 17).

I.2.-La production d'huile d'olive en Algérie

En effet, l'oléiculture a besoin d'être développée au plan technique et scientifique et organisée notamment au plan logistique et l'Algérie pourra produire après l'application de ce plan de développement de la filière environ 5 millions de litres de l'huile d'olive. En fait, ce pays jouit des meilleures conditions climatiques et dispose d'importantes surfaces de terres propices aux différentes cultures. À noter que la production d'huile d'olive en Algérie est estimée de 80 000 tonnes durant la campagne 2017-2018, soit une hausse de 27% par rapport à la période précédente, tandis que la surface réservée à l'oléiculture à l'échelle nationale se compose de 56,3 millions d'oliviers dont 32,3 millions oliviers productifs, soit un taux de 57%.

L'oléiculture est concentrée au niveau de sept principales wilayas (Bejaïa, Tizi-Ouzou, Bouira, Bordj-Bou-Argeridj, Jijel, Sétif et Mascara) dont la région centre représente un taux de plus de 75% de la superficie oléicole globale de ces sept wilayas. (ANDO, 2018).

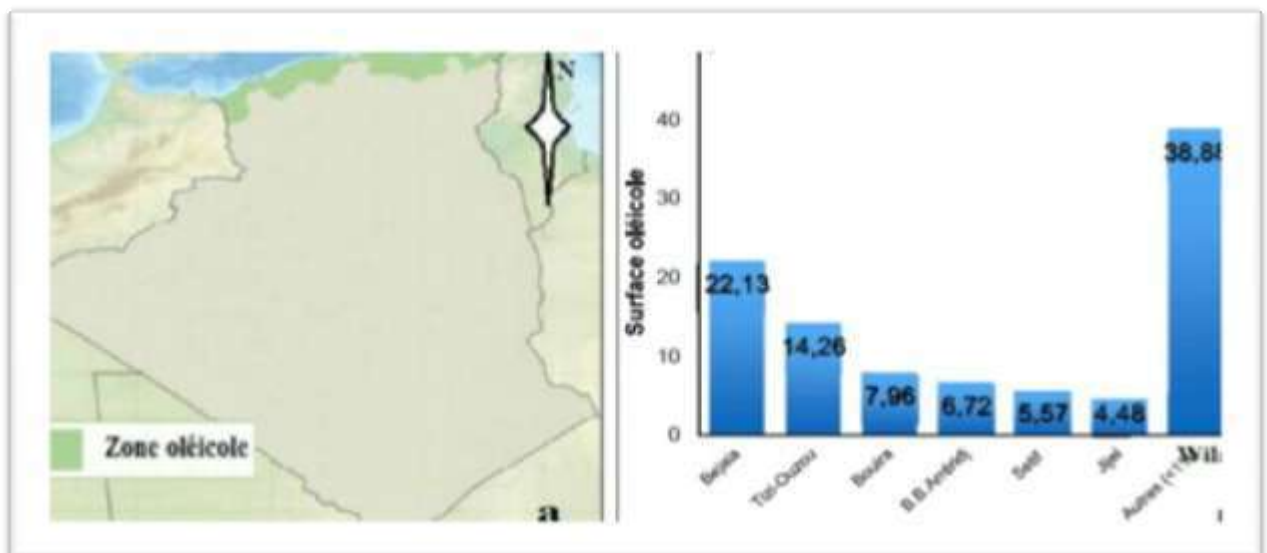


Figure2.- Répartition de la zone oléicole en Algérie (a: sur la carte géographique, b: en pourcentage (Oreggia et Marinelli, 2017).

1.3. -Caractéristiques physico-chimiques l'huile d'olive

Selon Conférence des nations unies sur le commerce Et le développement. (CNUCED) en classé des huiles en fonction de leur acidité libre. les critères de sélection ou d'exclusion d'une huile dans une catégorie sont très nombreux. Ils peuvent être spécifiques à une catégorie d'huile ou plus généraux. Le suivi de ces différents critères est nécessaire car une dégradation de la qualité de l'huile peut avoir de nombreuses conséquences tant d'un point de vue nutritionnel que d'un point de vue risque sanitaire. En effet, certains composés tels que les acides gras polyinsaturés (acides gras essentiels) ou la vitamine E sont parmi les acteurs principaux de l'intérêt nutritionnel de l'huile d'olive, mais ils sont très sensibles à l'oxydation. Une huile oxydée aura un intérêt nutritionnel plus faible qu'une huile bien conservée. Les produits d'oxydation des acides gras (radicaux peroxydes) pourraient potentiellement entraîner des mutations génétiques à l'origine de certains cancers.

Tableau 1 : Données physico-chimiques de classification des huiles (Food and Agriculture Organization (FAO), 2001 et Codex alimentarius 1989.

	Densité relative (à 20 °C)	Acidité (%acide oléique)	Indice peroxyde (meq O ₂ /kg)	Extinction Spécifique à 270nm E% 1cm	Acides gras saturé en position 2(%)
Huile d'olive vierge extra		<1	<20	<0,25	<1,5
Huile d'olive vierge		<2	<20	<0,3	<1,5
Huile d'olive vierge ordinaire	0,910	<3,3	<20	<0,3	<1,5
Huile d'olive raffinée	0,916	<0,3	<5	<1,1	<1,8
Huile d'olive		<1,5	<15	<1,9	-----
Huile de grignon d'olive raffinée		<1,5	<5	<2,0	<2,2
Huile de grignon d'olive		<1,5	<15	<1,7	----

I.4.- Composition générale d'huiles d'olive :

La composition de l'huile d'olive varie en fonction de la variété, des conditions climatiques et de l'origine géographique. Ces composés peuvent être divisés en deux catégories: Les substances saponifiées (triglycérides, acides gras) (96% à 98% d'huile), Insaponifiables (2-4% d'huile).

I.4.1.- La fraction saponifiable :

I.4.1.1- Les acides gras :

Les principaux acides gras présents sous forme de glycérides dans l'huile d'olive sont les acides gras suivants: acide oléique, acide linoléique, acide palmitoléique, acide palmitique et acide stéarique.

La teneur en acide oléique est beaucoup plus élevée que les autres acides Il représente 80% des acides gras et constitue le principal objectif de la médecine préventive. La composition en acides gras est l'une des normes de pureté de l'huile d'olive et sa teneur est donnée par COI. (Rodrigues et al.,2018).

Tableau2.- La teneur en acide gras d'une huile d'olive

Acide gras	Formule	Teneurs(%)
Acidee myristique	C14:0	0.03≥
Acide palmitique	C16:0	7.50-20
Acide palmitoléique	C16:1	0.30-3.50
Acide heptadécanoéique	C17:0	0.3
Acide héptadécénoique	C17:1	0.3
Acide stéarique	C18:0	0.50-5
Acide oléique	C18:1	55-83
Acide linoléique	C18:2	2.50-21
Acide linoléique	C18:3	1
Acide arachidique	C20:0	0.6
Acide gondoique	C20:1	0.4
Acide béhénique	C22:0	0.2
Acide lignocérique	C24:0	0.2

I.4.1.2.-Triglycérides:

les plus part des les triglycérides sont les constituants principaux des huile d'olive avec différentes proportion d'acides gras saturés et insaturés (**Rodrigues et al., 2018**).

I.4.2.-La fraction insaponifiable

Tableau3.- les fractions insaponifiables principales d'huile d'olive

Les fractions insaponifiables						
D'hydrocarbures	Stérols	D'alcools terpéniques	tocophérols	composés phénoliques	phospholipides (chlorophylle, caroténoïdes)	pigments
Est un terpène insaturé qui apparait dans la voie de biosynthèse du cholestérol. il représente 30 à 50% composants. mineures de l'huile d'olive, avec une teneur de 3 à 7 mg / g (Motilva et Romero,2010).	Le stérol principal est le B- sitostérol, qui représente, 90 à 95% de tous les stérols. l'huile d'olive est la seule huile qui contient des niveaux particulièrement élevés de tels stérols. (Fuentes de Mendozae et al., 2013).	Ils sont présents dans l'huile d'olive à l'état libre ou bien estérifiés avec les acides gras. . On trouve aussi de l'érythrodiol et de l'uvaol, rencontrés exceptionnellement ailleurs.	sont des composés important de l'huile d'olive en raison de leurs contributions à la stabilité oxydative et nutritionnelle de l'huile .Dans l'huile d'olive les tocophérols se trouvent sous forme libres non estérifiés	Elle varie pour chaque huile d'olive vierge à cause des facteurs (la région, la variété et les conditions climatiques, le stade de maturité, le mode d'extraction, et le conditionnement) (Boskou, 2015).	Constituants essentiels des cellules vivantes, ils sont présents en très petite quantité: 5 à 15 mg pour 100 g. L'huile d'olive en contient moins que les huiles de graines. Il s'agit de la phosphatidylcholine et phosphatidyléthanolamine.	La couleur de l'huile est une caractéristique de base de la qualité des huiles vierges. La couleur vert-jaune est attribuée à la présence de nombreux pigments : les chlorophylles, les caroténoïdes et les anthocyanes (Motilva et Romero,2010).

1.5.-Technologie de fabrication d'huiles d'olive :

1.5.1-Effeuilage

Cette opération est nécessaire pour éviter une coloration trop verdâtre de l'huile, se traduisant par un excès d'amertume et par une moindre aptitude à la conservation de l'huile. Le poids de feuilles à tolérer ne doit pas dépasser 1% du poids du lot d'olives à triturer. L'effeuillage des olives peut être effectué manuellement ou à l'aide d'un système rectangulaire en fils de fer, séparés entre eux par environ 1 cm. Cette opération peut être effectuée par des machines effeuilleuse-laveuse en même temps (**Ahmidou et Hammadi, 2007**).



Figure3.-Effeuilage des olives (**Oleiculteur. Com,2002**)

1.5.2.-Lavage

Il s'agit d'une opération fondamentale pour éviter les problèmes suivants (**Roehli, 2002**):

- Une interférence des terres avec la couleur et les autres propriétés organoleptiques (odeur, goût) de l'huile.
- Une baisse du rendement d'extraction, sachant que les terres accompagnant les olives absorbent près du quart (25%) de leur poids en huile.
- Une durée de conservation réduite de l'huile étant donné que certaines traces métalliques dans les terres sont des catalyseurs de l'oxydation de l'huile.
- Une augmentation de la proportion des « fonds de pile »qui entravent une bonne séparation des phases liquides.



Figure 4.- lavage des olives (Ahmidou et Hammadi,2007)

1.5.3-Broyage

IL est réalisé à l'aide d'un broyeur à marteau. Le broyage des olives ne doit être trop grossier, ni trop fin. Il doit être adapté aux conditions physiques des olives et à leur degré de maturité (Labdaoui, 2017).

Selon la norme du Conseil Oléicole International (COI), la durée de broyage ne doit pas dépasser 20 à 30 minutes. Si le broyage est plus prolongé, les polyphénols inhibiteurs naturels de l'oxydation ainsi que l'huile produite s'oxydent en présence de l'air et cette dernière perd de sa qualité.



Figure5.-Le Broyage des olives (Ahmidou et Hammadi,2007).

1.5.4.-Malaxage

Dans le cas des huileries disposant d'équipements de centrifugation, c'est le cas de l'unité de chaîne continue à deux phases (système écologique), (Boudissa, 2012), l'opération de malaxage s'avère nécessaire et doit être réalisée pendant 60 minutes au minimum et à des températures supérieures à la température ambiante mais ne dépassant pas 25°C. (Ahmidou et Hammadi 2007) .



Figure 6.-Le Malaxage des olives (oleiculteur. Com,2002)

1.6.-Procédés d'extraction de l'huile d'olive :

Pour extraction et produire une huile d'olive de bonne qualité, la procédé d'extraction d'huile constitue une étape importante (Wong et al., 2014). Il est nécessaire d'utiliser uniquement des méthodes mécaniques ou physiques pour extraire l'huile, en évitant les réactions chimiques et enzymatiques qui changer sa composition naturelle (Benlemlih et Ghanam, 2012).

Dans le cas particulier des huiles essentielles, d'une façon générale, l'extraction est faite par entraînement à la vapeur d'eau. Cette méthode est un procédé de séparation basé après condensation sur la différence de composition entre l'eau et la vapeur produite pendant l'exécution de l'opération unitaire (Lawrencet, 2000; Rose, 1965).on utilisé deux systèmes de la séparation des phases (liquide-solide)sont :système de presse et un système de centrifugation(Argenson,1999) .

1.6.1.-système discontinue d'extraction par pression :

Ce système utilisé des presses métalliques ou, le cas échéant, des presses hydrauliques. La pulpe issue du broyage est empilée sur des scrutins, à raison de 5 à 10kg par scourtin,cette opération doit être réalisée progressivement (chimi,2006).La durée totale de l'opération varie entre 45et 60 min sous l'action de la pression, la pâte d'olive libère le moût huileux (huile et eau végétale),l'huile est séparée de l'eau végétale par décantation ou par centrifugation (chimi,2006) .

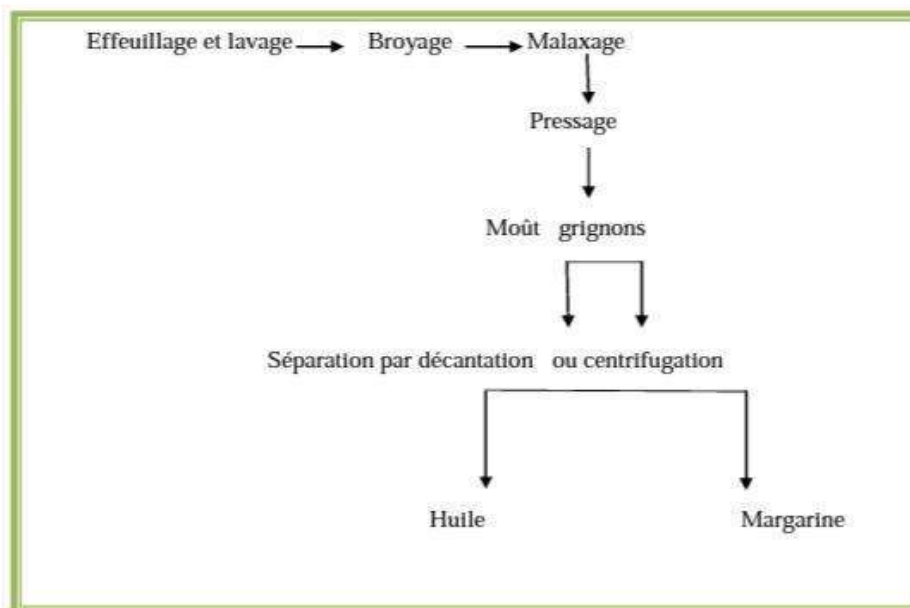


Figure 7.- système discontinu d'extraction par pression (Sekour B, 2012).

1.6.2-système discontinu d'extraction par centrifugation :

La méthode de centrifugation est un processus continu qui permet de séparer, grâce à la force centrifuge, l'huile d'olive des autres phases de la pâte d'olive telle que les eaux végétales et le marc (Nadour, 2015). Il utilise des centrifugeuses horizontales appelées «décanteurs», qui améliorent les rendements et la productivité des huileries (Chimi, 2006).

1.6.3-Système d'extraction continue avec centrifugation :

1.6.3.1- Système d'extraction continu avec centrifugation à trois phases :

Les trois phases sont: l'huile, l'eau végétale et le marc. Ce système nécessite deux centrifugations: Une centrifugeuse horizontale qui isole le marc de la phase liquide, puis une centrifugeuse verticale pour séparer l'huile des eaux végétales. Il nécessite de l'eau tiède pour une meilleure séparation. Ce procédé d'extraction a permis de réduire le coût de transformation et la durée de stockage des olives (Ben Hassine et al, 2013).

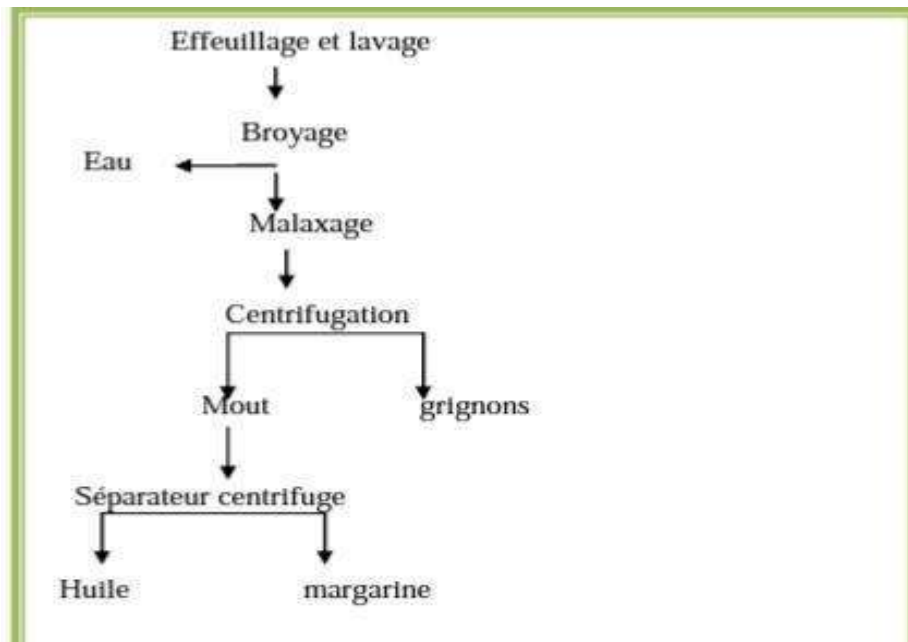


Figure 8.- système d'extraction avec centrifugation à 3 phases (SekourB,2012)

1.6.2.2-Système d'extraction continu avec centrifugation à deux phases

Ce processus d'extraction d'huile d'olive actuel fonctionne avec un nouveau décanteur avec centrifugation en deux phases (huile et marc) qui ne nécessite pas l'ajout d'eau pour la séparation des phases huileuses et du marc humide. Permet d'obtenir des rendements en huile légèrement supérieurs à ceux des autres (chimi, 2006).

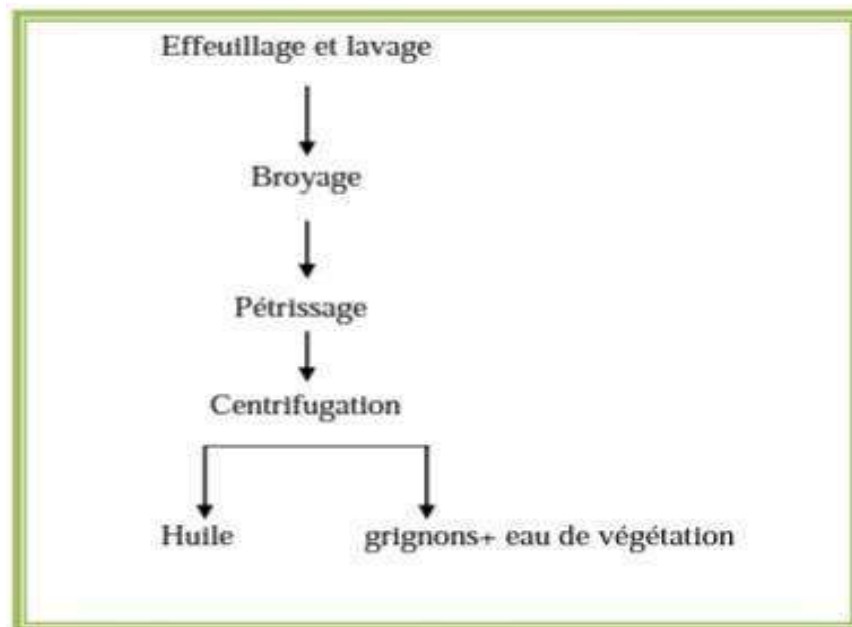


Figure 9.- système discontinu d'extraction par centrifugation à 2 phases (Sekour B, 2012)

1.7.-conditions de conservation et stockage des huiles :

conditionnement de l'huile d'olive est soumis à des règles très strictes par application des contrôles relatifs aux produits chimiques dans l'alimentation humaine, des matériaux et objets au contact des huiles ainsi que des procédés et des produits utilisés pour le nettoyage de ces matériaux(Ahmidou et Hammadi,2007). En effet, les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive destinées au commerce international doivent faire l'objet de conditionnement dans des récipients conformes aux principes généraux d'hygiène alimentaire recommandés par la Commission du Codex Alimentarius (CAC/RCPI-1969, Rev.1).

Selon le COI, toutes les mesures doivent être prises, au cours de la conservation de l'huile, pour éviter les altérations suivantes : i) altérations par contact avec des matériaux non appropriés, ii) altérations par contact, prolongé avec les impuretés aqueuses, iii) altérations oxydatives.

D'une manière générale ces matériaux utilisés doivent répondre aux exigences suivantes : i) Ne communiquer à l'huile aucune odeur ni saveur étrangères, ne pas donner lieu à une contamination par les métaux et être résistants à la corrosion due éventuellement aux acides gras libres de l'huile, ii) Etre imperméable à l'oxygène de l'air et à l'humidité, et iii) Protéger l'huile contre les amplitudes thermiques et être opaques(Ahmidou et Hammadi,2007).

Le verre est le plus inerte chimiquement, très facile à laver mais il est non opaque, fragile, lourd et coûteux. Le fer blanc présente une bonne résistance mécanique, il est opaque, Les soudures peuvent être l'objet d'une contamination de l'huile par simple migration des métaux constituants ; L'emploi des bouteilles et bidons en matière plastique ou en fer blanc, dits « de récupération » est rigoureusement interdit. Est également interdit l'emploi de bouchons et de capsules, dits « de récupération » (Ahmidou et Hammadi, 2007).

1.8.-Intérêt nutritionnel et thérapeutique de l'huile d'olive :

Bien que l'huile d'olive fournisse une grande quantité d'acide gras mono insaturé (AGMI), elle contient également des acides gras polyinsaturés (AGPI), nécessaires et suffisants, ce qui est essentiel pour maintenir de nombreuses fonctions physiologiques de l'organisme (perméabilité de la membrane cellulaire, synthèse des prostaglandines et divers processus enzymatiques). Ratio AGMI élevé L'huile d'olive ne peut pas empêcher l'abaissement du cholestérol dans le sang. Il semble être un élément essentiel de la prévention des maladies cardiovasculaire (Charbonier, 1985).

Les avantages de la consommation d'huile d'olive ne sont pas seulement l'acide oléique, mais pas tous liés au métabolisme des lipides. D'autres substances aux propriétés antioxydants, telles que les phénols, les stérols et les tocophérols, sont également bénéfiques

pour la santé; elles sont impliquées dans diverses maladies pathologiques. Lutte : Athérosclérose, certains types de cancer, pathologie cérébrale, dégénérescence associée à un vieillissement accéléré (Covas, 2007).

I.8.1.-Autres intérêts :

L'huile d'olive est utilisée comme excipient dans les produits cosmétiques. On la retrouve dans de nombreuses formulations du savon, crèmes, pommades, lait ou huile où elle joue un rôle d'inducteur de pénétration. L'huile d'olive entre aussi dans la composition de lipogels. Les lipogels à base d'huile d'olive contenant la vitamine E (Gallardo, 2005).

I.9.-Les sous-produits générés de l'extraction d'huile d'olive

Une quantité de 100 kg d'olives donne seulement 17% d'huile et beaucoup plus de sous-produits notamment 49% grignons d'olives et 73% margines ; ceci est récapitulé sur le schéma (Figure) :

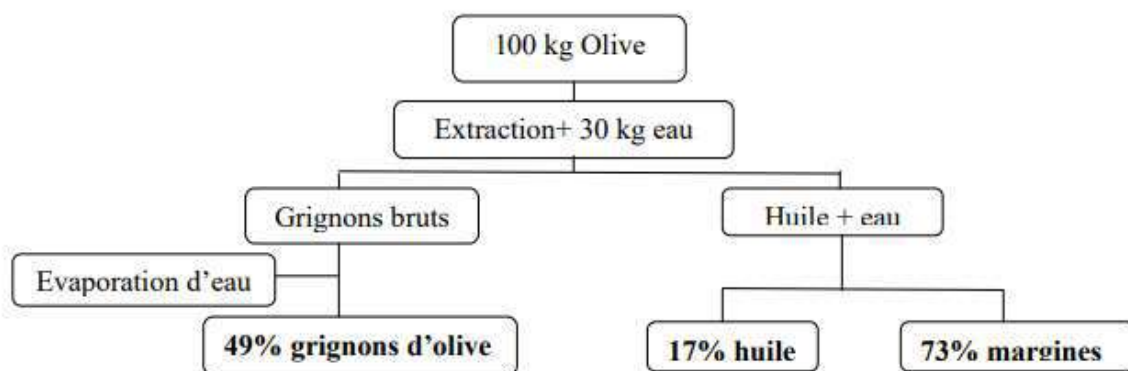


Figure10.- Quantité d'huile d'olive extraite et sous produits en pourcentage (Mendil, 2009) Mendil M., 2009. «L'oléiculture: Expériences algériennes», Filaha Innove, N. 4. 6 pages.

I.9.1.-Les grignons d'olives

I.9.1.1.- Définition des grignons d'olives

Ce sont des déchets solides résultants suite aux extractions d'huile d'olive (Argenson et al., 1999). Ils comprennent l'épicarpe du fruit (pellicule), le mésocarpe (pulpe et chair) dont la masse est de 21%, l'endocarpe (coque et amande).

I.9.1.2.- Valorisations possibles des grignons

Plusieurs techniques qui sont adoptées pour le traitement des grignons d'olive.

Tableau 4.- techniques des traitements des grignons d'olive

Valorisation des grignons					
L'extraction de l'huile de grignon	Alimentation du bétail	Utilisation de grignon comme un engrais	Milieu de culture pour les levures	Utilisation comme combustible	Autre utilisation possible de la coque
L'huile de grignon est récupérée par un solvant. Elle est utilisée pour la consommation humaine et en industrie pour la fabrication du savon (Boudissa, 2012).	Etant comme un produit non toxique, le grignon peut être destiné à l'alimentation des animaux.	Les cendres peuvent être utilisées comme un engrais en raison de leurs teneurs élevés en oxyde de potassium et en phosphore (Boudissa, 2012).	Le grignon d'olive est un milieu de culture de déférentes levures, grâce à sa richesse en éléments minéraux, en sulfate d'ammonium et en oligo-élément.	C'est l'application la plus utilisée dans la majorité des pays producteurs d'huile d'olive.	Après séparation, la coque peut être utilisée comme combustible dans l'industrie de bois ou comme matière première pour la fabrication du furfural, un composé chimique utilisé comme solvant en raffinage pétrochimique (Benhayoun et al, 2007).

II.1.- présentation des eaux de lavage des huiles d'olive

Les eaux de lavage ou margine sont obtenues lors de l'extraction de l'huile d'olive à partir de l'eau contenue dans le fruit et de l'eau ajoutée au cours du broyage et des étapes de trituration (**Galanakis et al., 2010**).

A l'origine, l'eau de lavage est apparue sous la forme d'un liquide hydrique résiduel, la couleur était brun rougeâtre, est devenue de l'eau de lavage noire et l'apparence était trouble. Ils se caractérisent par une faible acidité (**Nefzaoui, 1987, Eroglu et al. , 2008, Hachicha et al. , 2009, Yaakoubi et al. , 2009, Yalcuk et al. , 2010**), et ont une conductivité électrique élevée principalement en raison de potassium. Ions, composés chlorés, calcium et magnésium (**Salvenmin, 1985, Zbakh et Basse, 2012**).

II.2.- composition chimique de l'eau de lavage

Le PH de l'eau de lavage acides des légumes est compris entre 3.6 et 5.08 et le pourcentage d'humidité entre 84.83 et 94.83%. En raison de la grande quantité de sel ajoutée pour conserver les olives elles sont généralement caractérisées par une salinité élevée (**Tsioulpas et al., 2002**). la teneur en minéraux est compris entre 0.61et 39g / l est principalement composée de potassium, ce qui a conduit certains chercheurs à tester leur capacité de fertilisation. il existe des métaux lourds comme l'arsenic (As), le cuivre(Cu), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le sélénium (Se), le mercure(Hg), et le (Ni), dont la plupart sont des traces. la concentration en matière organique de l'eau végétale est de 20à 129.93g/l, dont :

- une fraction insoluble constituée essentiellement de pulpes d'olives, matières en suspension et colloïdales,
- une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient des sucres, lipides, acides organiques, pectines, composés phénoliques (**Hamdi, 1991**), vitamines et traces de pesticides (**Kapellakis et al., 2008**).

La composition chimique des eaux de lavage ont de nature et la concentration très différents. Cette variation est due essentiellement aux facteurs suivants:

La qualité et le degré de maturité des olives ;

- le système d'extraction
- les conditions climatiques
- la durée de stockage des olives avant la trituration ;
- la qualité d'eau rajoutée lors de la phase d'extraction de l'huile
- Technique et lieu de stockage;
- Nature de conservation des olives;

- Procédé d'extraction d'huile d'olive qui représente l'élément le plus important.

(Romoscormenzana et al., 1996; Khoufi et al., 2007; Moussaoui et al., 2010).

II.3.- caractéristiques physico-chimiques de l'eau de lavage

Les industries d'extraction de l'huile d'olive génèrent une importante quantité de sous-produits et de résidus (grignon et margines et/ou eaux de lavage) appelant une gestion spécifique, afin de minimiser ou atténuer ses nuisances, et ainsi valoriser et exploiter leur richesse.

Les eaux de lavage ont une couleur brun à brun rougeâtre, d'aspect trouble. Ces effluents ont une forte charge saline et sont très acides, riches en matières organiques et en polyphénols peu dégradables. Ces eaux sont caractérisées par un pH de 4.5 à 5 et une conductivité de l'ordre de 10 Ms/cm, due surtout aux ions potassium, chlorures, calcium et magnésium. La DCO peut varier de 50 à 220 g/l.

Tableau 5.- composition des l'eau de lavage Sousoucy R, 1984, FAO.

Composant	Teneur en %
Eau	83—88%
Matières organiques	10---15 %
Matières minérales	1.5—2%
Matières azotées totales	1.25—2.4%
Matières grasses	0.08—1%
poly phénols	1---1.5%

La matière organique des eaux de lavage est constituée par des polysaccharides (13-53%), des protéines (8- 16%), des polyphénols (2-15%), des lipides (1- 14%), des polyalcools (3-10%) et des acides organiques (3-10%) (**Fiestas Ros de Ursenos et Borja Pailla, 1992**). Cette composition résulte de la dégradation des tissus de l'olive au cours de la trituration et de l'extraction de l'huile (**Cossu et al., 1993; al Mallah et al., 2000; Centi et al., 2000; Chamkha et al., 2001**).

II.4.- Traitement et valorisation de l'eau de lavage

II.4.1.- Traitement de l'eau de lavage

De nos jours, le traitement des eaux de lavage constitue un problème complexe vu la qualité et la quantité des substances chimiques qu'elles renferment, de nombreuses méthodes technologiques ont été développées pour le traitement des eaux de lavage (**Toscano et Montemurro, 2012**). Le but commun est d'étudier et de proposer les meilleures stratégies et technologies à appliquer pour éliminer le maximum la charge polluante des eaux de lavage et

peuvent être classé en 03 catégorie et peuvent être utilisée seule ou combiné comme ce illustré dans le tableau (Dermeche et al, 2013).

Tableau 7.- Principaux techniques de traitement des eaux de lavage

Traitement	Principe	Domaines d'application	Références
Biologique	Anaérobique: Dégradation de la matière organique par les microorganismes anaérobiques	Conversion des biogaz en énergie	Mann et al (2010)
	Aérobique: Utilisation des lipides ou des substances liées aux lipides seuls ou avec les sucres comme sources de matière organique par certains microorganismes lipolytiques	- Alimentation humaine (production de champignons comestibles) - Laiterie, industrie pharmaceutique	Xavier Da Silva (2014)
Physique	- Membranes de filtration permettant la séparation des substances dissoutes selon la taille des particules et la charge électrique - Utilisé surtout pour margines 2-phases	- Très efficaces dans la diminution de la charge polluante. - Très utiles dans les pré- et post traitements	Akdemir et Ozer (2008).
Chimiques	Il peut être utilisé en tant que prétraitement ou traitement de finition après épuration biologique. Ces techniques sont basées généralement sur les phénomènes de coagulation-floculation ou d'adsorption	- Elimination de l'huile et les matières en suspension (solides)	Aissam H (2003).
Combinés	L'eau de lavage ne peut être traitée par un simple procédé. Une série de traitements s'avère nécessaire pour réduire la forte concentration en DCO et la toxicité de ces effluents.		Aissam H (2003).

II.4.2.- Techniques de valorisation de l'eau de lavage

Un sous-produit est considéré comme un produit résidu qui apparaît durant la fabrication ou la distribution d'un produit fini. Il est non intentionnel, non prévisible et accidentel. Il peut être utilisé directement ou bien constituer un ingrédient d'un autre processus de production en vue de la fabrication d'un autre produit fini (**Ademe, 2000**). Ainsi, la valorisation des eaux de lavage consiste dans le réemploi, le recyclage ou toute autre action visant à obtenir, à partir des déchets, des matériaux réutilisables ou de l'énergie (**Proot, 2002**).

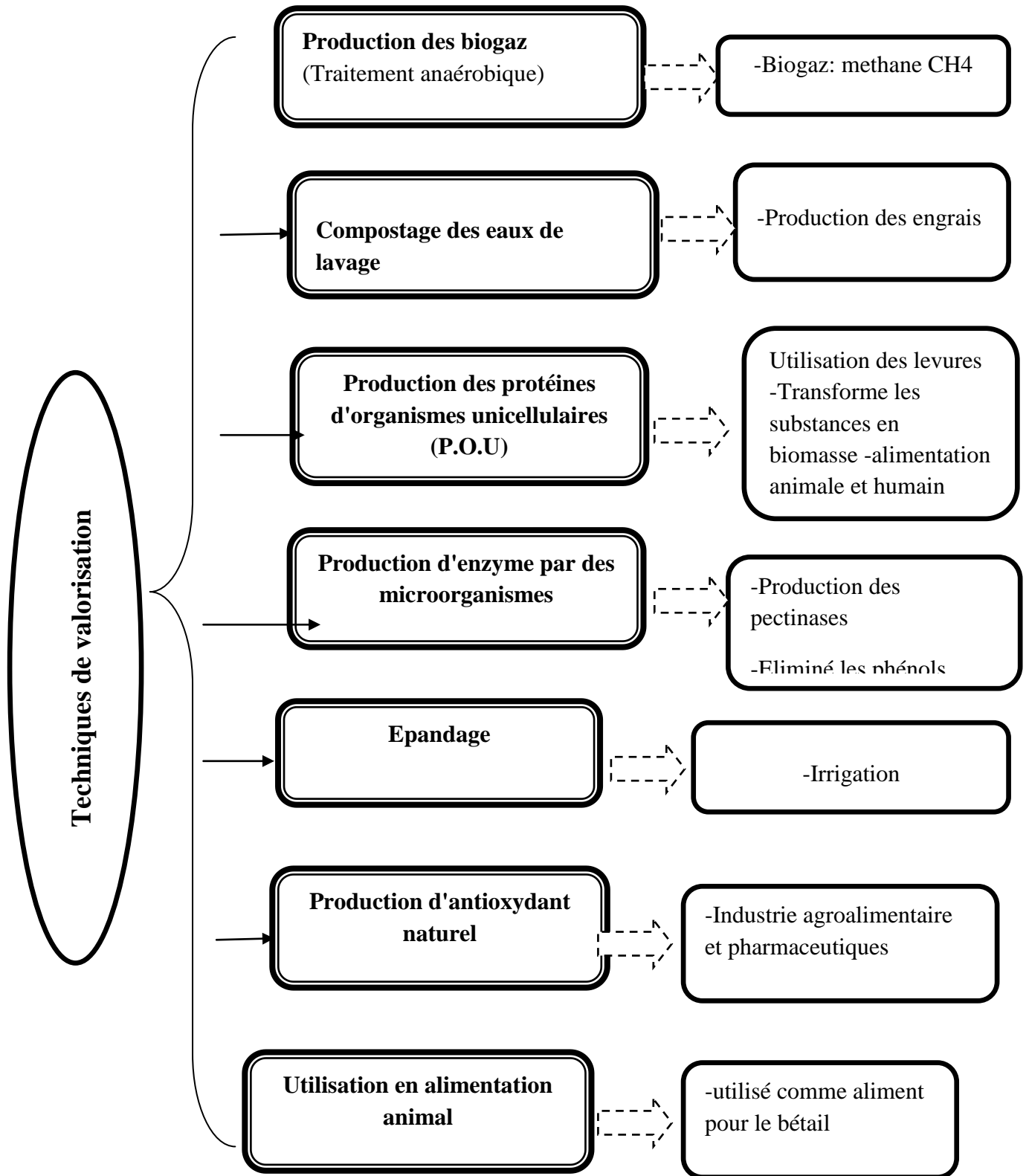
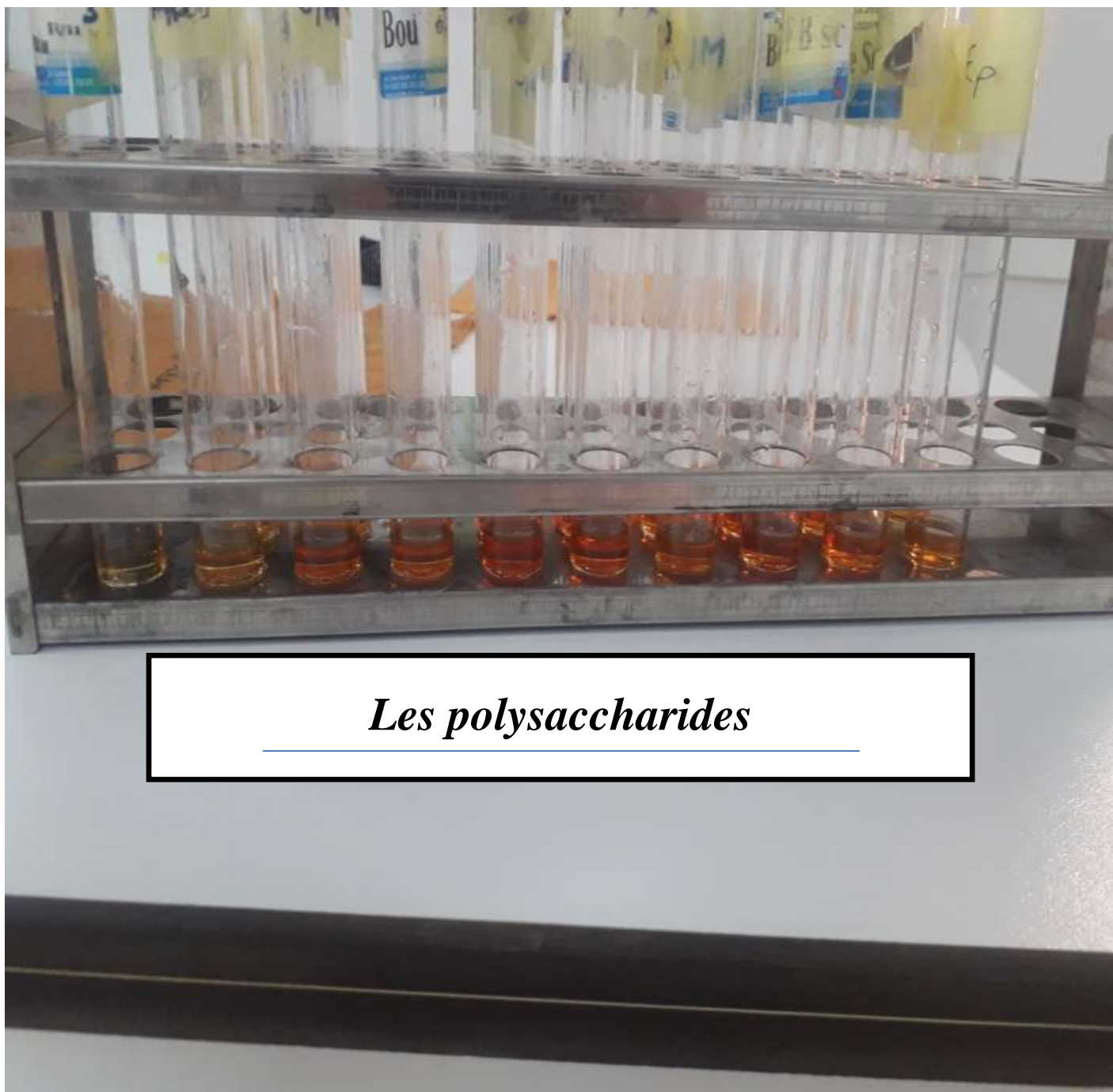


Figure 11.- Principaux techniques de valorisation des eaux de lavage

(Fiorentino et al., 2003)



Les polysaccharides

II-5.1 Définition

La cellulose, l'hémicellulose, et les pectines sont les principaux polysaccharides décrits dans les sous-produits oléicoles (Fernandez- Bolanos et al., 1999 ; Cardoso et al., 2003 a, b ; Galanakis et al., 2009 ; Galanakis et al., 2010a). Les polysaccharides solubles ont été identifiés dans la pulpe et dans l'eau de lavage, Approximativement 5–10% des polysaccharides des olives sont hydrosolubles et se retrouvent dans les margines (Vierhuis et al., 2003).

Vierhuis et al. (2003) et Galanakis et al. (2009 ; 2010a, 2010b, 2010c) ont étudié la composition en polysaccharides de l'eau de lavage et mis en évidence en fraction pectique dominante. La composition en monosaccharides des pectines extraites par les différents travaux est variable notamment en ce qui concerne sa teneur en Glucose (Glc) et en Galactose (Gal.) Galanakis et al. (2010a) ont montré que les extraits polysaccharidiques hydrosolubles sont exclusivement composés de pectine formée uniquement acides galacturonique et arabinose.

II .6.- Polysaccharides des végétaux

II .6.1.- Cellulose

La cellulose est le premier réseau porteur des parois primaire et secondaire (Voragen et al., 2009). Elle constitue le principal constituant des parois cellulaires des végétaux où elle joue le rôle de maintien. Il s'agit d'un homopolymère linéaire formé d'unités D-glucopyranose, liées entre elles par des liaisons glycosidiques β -(1-4) (Chouana, 2017). C'est le principal composant fibrillaire des parois cellulaires des plantes et de nombreux taxons d'algues. Elle se trouve généralement dans des brins cristallins insolubles, non ramifiés, appelés microfibrilles qui résultent à la fois de la liaison hydrogène inter et intra-polymère d'hydroxyles .ce polysaccharide est important dans l'industrie croissante des biocarburants (Ramawat et Mérillon, 2015).

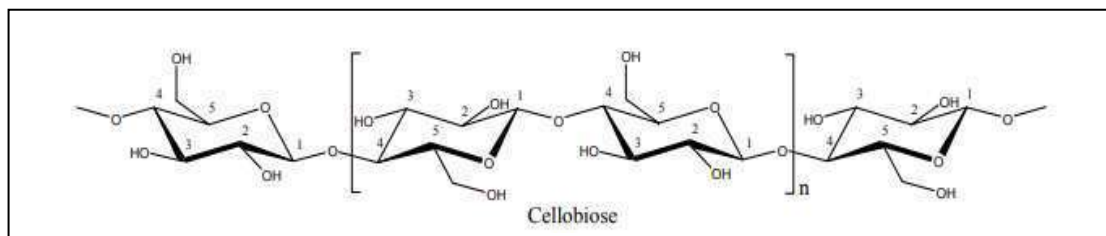


Figure12.- Formule chimique de la cellulose (Chouana, 2017).

II .6.2.- Pectines

Les pectines sont une classe de polysaccharides hétérogènes trouvés dans les parois cellulaires de la plante. La pectine commerciale est extraite de citrus, de pomme, ou d'autres plantes supérieures.

Elle est utilisée en tant que stabilisant, épaississant, agent gélifiant, émulsifiant, et comme véhicule de médicaments dans les industries alimentaires et pharmaceutiques. Les structures des pectines varient grandement en raison de ses diverses sources et méthodes d'extraction, mais elles peuvent être classées en trois catégories en fonction de caractéristiques communes à savoir homogalacturonane, rhamnogalacturonane-I et galacturonanes substitués (Zhang et al ; 2015).

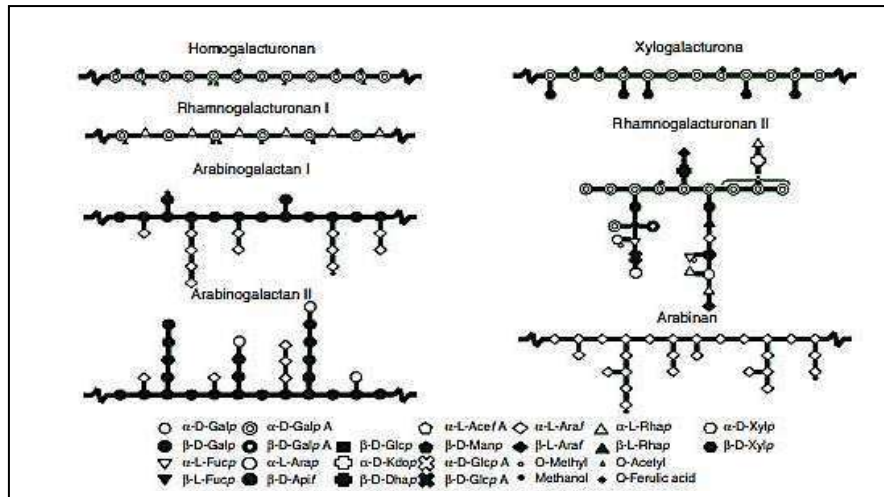


Figure 13.-Représentation schématique des éléments structuraux de pectine (Voragen *et al.* 2009).

II .6.3.- Hémicellulose

Les hémicelluloses sont présentes dans toutes les plantes vertes. Il y a une grande variété de types structuraux d'hémicelluloses. Elles constituent un groupe de polysaccharides complexes qui se caractérisent par leur solubilité dans des solutions alcalines (par exemple KOH 1M) et leur insolubilité dans l'eau. Les hémicelluloses sont définies structurellement comme des polysaccharides dont le squelette est composé de résidus β -(1-4)-D-pyranose. Elles sont divisées en quatre groupes : xylanes, mannanes, β -glucanes mixtes et xyloglucanes. Les xylanes sont les principaux composés hémicellulosiques de la paroi secondaire, ils représentent environ 20–30 % de biomasse des plantes dicotylédones (Angone et al.,2010) .

-

Chapitre II

Partie expérimentale

II. MATERIEL ET METHODES

II.1.-Principe d'étude

Le travail expérimental de cette étude a été effectué au sein du Laboratoire d'analyse physique et chimique (CARPC) de l'Université et au sein de l'Université Khasdi merbah Ouargla.

L'étude à vise l'extraction des polysaccharides hydrosolubles issus de l'eau de lavage. Ainsi, l'extrait de polysaccharide est caractérisé partiellement par des méthodes colorimétriques, à savoir la détermination des teneurs en oses totaux, neutres, acides, composé phénolique et en protéines. Cette étude vise aussi les propriétés biologiques dont l'activité anti-diabétiques.

➤ Matière d'étude

Les échantillons des eaux de lavage utilisés au cours de cette étude proviennent de la trituration des olives de variété chemelal dans les huileries moderne située dans la région de Oued souf .Cette huilier fonctionne avec un système de centrifugation à trois phases.

Les échantillons ont été collecte pendant la période (janvier-mares) dans des bouteilles de 1.5 l et transportés au. Ils sont stockés à l'obscurité, dans un environnement non oxygéné et à 4°C.



Figure14.-Repartions géographique de wilaya d'Oued souf

II-2. Matériel

➤ Appareils

Tableau7.- Origines et types d'appareils utilisés au cours de l'expérimentation.

Appareil	Type
Evaporateur rotatif	HEATING BATH
Spectrophotomètre UV Visible	SCHIMADZU, Japon
Autoclave de paillasse	PB INTERNATIONAL
Etuves	MEMMERT
Four pasteur	BINDER
Bain-marie	LAUDA
Centrifugeuse réfrigérée	Hettich ZENTRIFUGEN, ROTINA 380R
Agitateurs	VELP SCIENTIFICA
Balances	OHAUS
Vertexer	BENCH MIXER
Analytik Jena US	Jena US

➤ Consommable

Verrerie, micropipettes, boîte pétré en verre, tubes en verre, spatule, cuve, bécher, flacon, éprouvette,

➤ Acides et bases

Acide acétique, acide sulfurique, , acide trifluoroacétique, hydroxyde de sodium, hydroxyde d'ammonium , bleu de Coomacie , NaHCO_3 , NaCO_3 , H_2SO_4 , AlCl_3 , acide phosphorique,

➤ Solvants organiques

Méthanol, éthanol, acétone, diéthyl éther, hexane, chloroforme, phénol, glucose, BSA, pyridine, acétonitil, propanol,

➤ Sous-produits oléicoles

Des échantillons de l'eau de lavage d'olives issus d'olives de variété *Olea europaea* ont été obtenus dans une huilerie utilisant le système d'extraction à trois phases. Les échantillons de l'eau de lavage ont été répartis en aliquotes de 2L et à 4°C jusqu'à utilisation.

II-3 Méthodes

II- 3.1- Procédés d'extraction

II-3.1.1-Extraction des polysaccharides

L'extraction de l'eau de lavage est réalisée par Evaporateur rotatif selon le protocole décrit par **Galanakis et al. (2010a)** avec **quelque modification** Une délipidation partielle des eaux est d'abord réalisée par centrifugation de 2 L de l'eau de lavage à 4000 g pendant 15 min à 4°C. La phase apolaire est alors éliminée. Le culot est mis en suspension dans la phase aqueuse (surnageant). L'eau de lavage délipidées sont ensuite concentrées au rotavapor

à 80°C jusqu'à la réduction du volume initial. L'extraction est réalisée en mélangeant 300 mL de l'eau de lavage délipidées avec 200 mL d'éthanol absolu pendant 24 h . Ensuite, le mélange est dispersé dans l'éthanol à 95% (v/v) pour une concentration finale de 85% (v/v). Après refroidissement à température ambiante. Le précipité est lavé 5 fois avec acétone (5 fois le volume initial) et agitation. Le précipité peut dans un boit pétré est congelé 48h puis séché température ambiante dans un tuve à 100°C pendant 10 min. La poudre des polysaccharides hydrosolubles.



Figure15.- extrait de polysaccharides hydrosoluble (poudre).

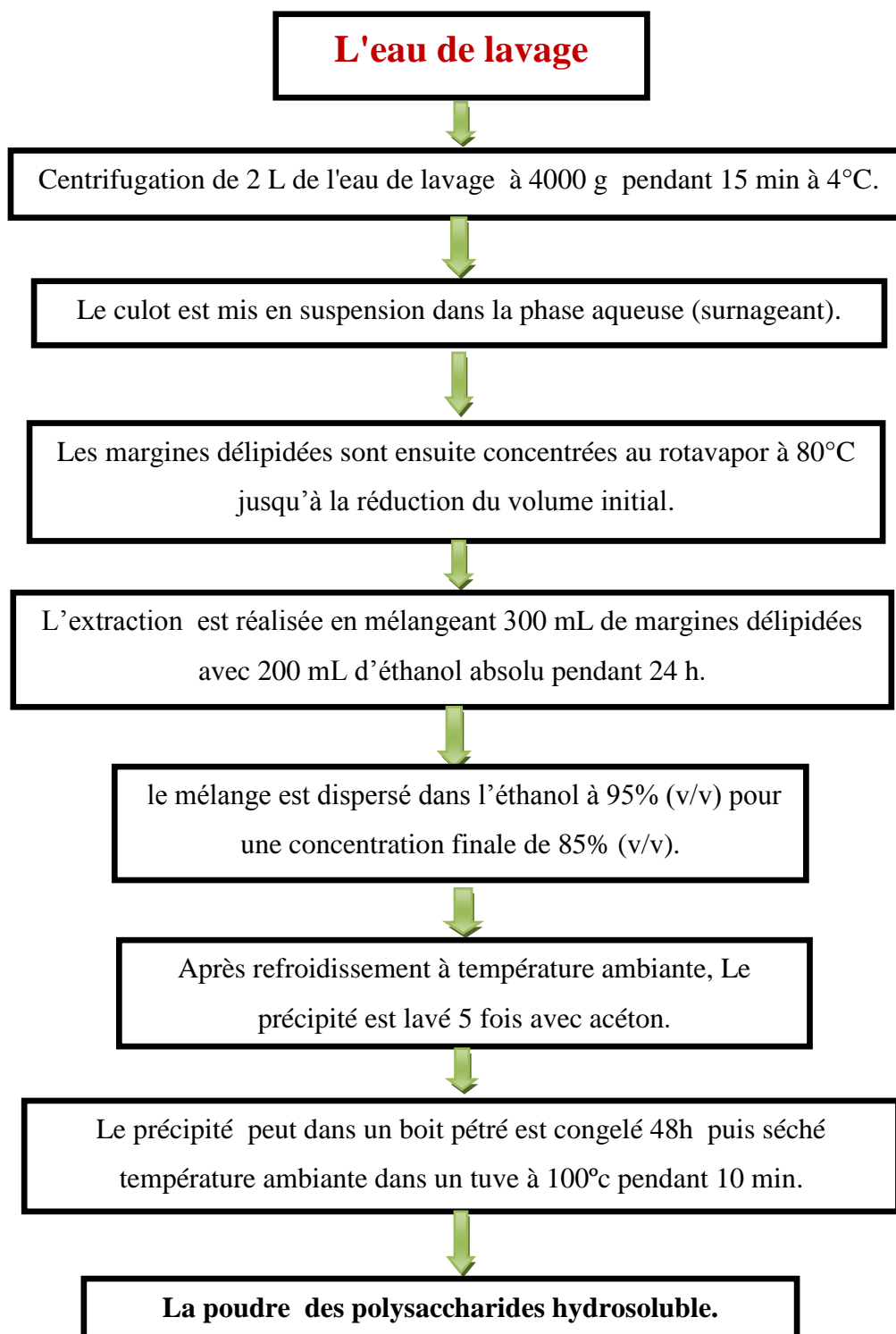


Figure 16.- Protocole d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de l'eau de lavage (Galanakis et al., 2010).

II-4. Analyse de la composition globale des polysaccharides :

Cette partie de l'étude a consisté en la détermination de la composition biochimique des de fraction obtenue après extraction. Pour se faire, les teneurs en sucres totaux, protéines et poly phénols ont été quantifiées. L'étude obtenue pour les différents polysaccharides complète cette caractérisation de la composition globale.

Les teneurs en oses totaux, neutres et acides, en protéines et en composées phénoliques totaux des polysaccharides de l'eau de lavage d'huile d'olive. ont été déterminées par des méthodes colorimétriques. La solution à doser est préparée à une concentration de 1 g/L (0,1 %) par l'ajout de 10 mL d'eau ultra pure à 10 mg de la poudre de l'extrait, puis diluée à 1/10, 1/20, 1/50 et 1/100 (v/v).

II-4.1. Dosage des oses totaux

❖ Principe

La quantité d'oses totaux constitutifs des polysaccharides est déterminée par la méthode de dosage colorimétrique de **Dubois et al. (1956)** utilisant le phénol et l'acide sulfurique. Ce dosage se réalise dans les mêmes conditions que le dosage des oses neutres décrit ci-dessus.

Les liaisons glycosidiques sont hydrolysées, à chaud, en présence d'acide sulfurique concentré et la déshydratation des unités osidiques conduit à la formation de composés furfuriques.

Ces derniers interagissent avec les composés phénoliques (phénol) par condensation pour former des composés de coloration orange-jaune absorbant à 490 nm. Une gamme étalon de glucose est réalisée avec des concentrations en oses comprises entre 0,05 et 0,3 g/L. Une solution de phénol à 5 % (m/v) est préparée avec de l'eau ultra pure.

➤ Préparation des réactifs et des solutions

➤ Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique 0,01%

La solution est préparée avec 10 mg de l'extrait brut polysaccharidique lyophilisé dans 10ml d'eau distillée.

➤ Préparation de la solution mère de glucose 0,01%

La préparation est effectuée par 0,01g du glucose dans 100ml d'eau distillée.

➤ Préparation de la gamme étalon de glucose 0,001% à 0,01% (Dubois et al., 1956).

Tableau 08 : gamme étalon du glucose

	Blanc	0.001%	0.002%	0.005%	0.008%	0.01%
Eau distillée (ml)	1	0.9	0.8	0.5	0.2	0
Glc0.01%(ml)	0	0.1	0.2	0.5	0.8	1
Concentration (mg.l-1)	0	10	20	50	80	100

➤ **Préparation de la solution du phénol 5%**

La solution est préparée avec 1g du phénol dans 20ml d'eau distillée selon la méthode de **DUBOIS et al. (1956)** modifiée.

Mode opératoire

La teneur en oses totaux est déterminée **Brudieux (2007)**, par la méthode de **Dubois et al. (1956)** avec des modifications selon

- ✓ Dans des tubes à essai en verre, introduire 200 µl de la solution polysaccharidique, ainsi que 200 µl des solutions du glucose constitutive de la gamme d'étalonnage;
- ✓ Additionner 200 µl de la solution du phénol à 5%;
- ✓ Agiter le mélange;
- ✓ Ajouter rapidement 1ml d'acide sulfurique concentré au milieu réactionnel,
- ✓ Faire chauffer le mélange au bain Marie à 100 °C pendant 5 min;
- ✓ Après refroidissement dans un bain de glace, placé dans l'obscurité pendant 30 min;
- ✓ Lire la densité optique à 490 nm contre le blanc par un spectrophotomètre UV Visible

II.4.2.-Dosage des oses neutres

Lors du dosage des oses neutres, les dérivés de furfural générés par l'hydrolyse des polysaccharides par l'acide sulfurique se condensent avec le résorcinol pour donner un complexe brun-orange dont l'absorbance est mesurée à 480 nm.

Une solution de résorcinol est préparée à 6 mg/mL dans l'eau distillée et est stockée à 4 °C (stabilité de 4 semaines). Une gamme étalon de glucose est préparée de 0 à 0,25 g/L dans l'eau distillé.

➤ **Préparation des réactifs et solutions**

Préparation de la Gamme étalon du glucose 0,001% à 0,01% (**Warrand, 2004**).

Tableau 09.- Gamme étalon de glucose

	Blanc%	0.001%	0.002%	0.005%	0.008%	0.01%
Eau distillée (ml)	1	0.9	0.8	0.5	0.2	0
Glc 0.01	0	0.1	0.2	0.5	0.8	1
Concentration	0	10	20	50	80	100

➤ **Préparation de la solution du résorcinol 0,6%**

La solution est préparée avec 0,3g du résorcinol dans 50ml d'eau distillée selon la méthode de **Monsigny et al. (1988)** modifiée.

Mode d'opérateur

- Introduire, dans des tubes à essai en verre 200 µl de la solution polysaccharidique ou de l'étalon;
- Ajouter 200 µl de la solution du résorcinol à 0,6%;
- Après l'agitation de mélange, ajouter rapidement 1ml d'acide sulfurique;
- Faire chauffer le mélange au bain Marie à 90 °C pendant 30 min;
- Après refroidissement dans un bain de glace, placer les échantillons dans l'obscurité pendant 30 min;
- La densité optique est mesurée à 480 nm contre le blanc par un spectrophotomètre UV-Visible.

II.4.3.-Dosage des oses acides

Le principe de dosages repose sur la condensation, par estérification, d'un chromogène avec les produits de déshydratation acides uroniques (**Brudieux, 2007**).

En milieu acide fort et à chaud, ces oses se déshydratent en acide 5-formylfuroïque. Les chromophores ainsi formés absorbent dans le domaine du visible proportionnellement avec la quantité de sucres présents. Le méta-hydroxydiphényle en présence de tétraborate de sodium a été utilisé comme chromophore sélectif lors du dosage des acides uroniques. Les complexes formés de couleurs rose-rouge absorbent à 520 nm qui permettent de déterminer les concentrations en oses acides en comparaison de l'échantillon analysé en se référant par projection à une courbe d'étalonnage $DO=f(c)$ dont l'acide glucuronique est utilisé comme étalon (**Brudieux, 2007**) Cette méthode est décrite par **Blumenkrantz et Asboe-Hansen (1973)**.

➤ **Préparation des réactifs et des solutions**

➤ **Préparation de la solution mère d'acide glucuronique 0,01%.**

La préparation est effectuée par 10 mg d'acide glucuronique dans 100 ml d'eau distillée.

➤ **Préparation de la gamme étalon de l'acide glucuronique de 0,001% à 0,01%**

Tableau 10.- Gamme étalon d'acide glucuronique

	Blanc	0.001%	0.002%	0.005%	0.008%	0.01%
Eau distillée (ml)	1	0.9	0.8	0.5	0.2	0
Glc A .0.01%	0	0.1	0.2	0.5	0.8	1
Concentration (mg.l-1)	0	10	20	50	80	100

Solution A •

Dans bain de glace et avec agitation magnétique, une quantité de 0,095g de tétraborate de sodium ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) à 0,0125 est ajouté à 20 ml d'acide sulfurique. Cette solution est conservée à 4°C à l'abri de la lumière.

Solution B •

Une quantité de 40mg de NaOH est dissous dans 8ml d'eau distillée, puis 12 mg de m-HDP est ajouté. Cette solution est conservée à 4°C.

- Mode d'opérateur

- Ajoute 1,2 ml d'une solution de tétraborate de sodium à 0,125M dans l'acide sulfurique concentré à 200 µl de solution polysaccharidique à doser;
- Après agitation, incuber les tubes dans un bain la glace pendant 5min;
- Porter les échantillons à 100°C au bain-marie durant 5 min;
- Ajouter 20 µl d' m-HDP (métahydroxydiphényle);
- Après agitation, une coloration rose se développe pendant 5 min;
- Réaliser la lecture des densités optiques à 520 nm.

II-4.4.- Dosage des protéines

La concentration en protéines a été déterminée par la méthode de **Bradford et al. (1976)**.

Dans un milieu acide, le réactif de Coomassie se lie aux protéines provoquant la formation d'un complexe de coloration bleue qui absorbe 595nm. L'intensité de la coloration est quantifiable et permet de déterminer indirectement et de manière proportionnelle la quantité de protéines présentes. La concentration en protéines est obtenue par référence avec une gamme étalon de sérum albumine bovine, après coloration au bleu de Coomassie (**Warrand, 2004; Pierre, 2010**), par interactions non covalentes avec les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines (**Autran, 1991**).

❖ Principe:

La méthode de Bradford est basée sur le changement de couleur du bleu de Coomassie lorsqu'il se complexe avec les acides aminés basiques, (arginine, histidine, lysine) et les acides aminés hydrophobes présents dans les protéines. Les formes cationiques (libres) du colorant sont rouge-marron. La forme anionique du réactif correspond à la forme liée avec les protéines. L'absorbance de ce complexe est mesurée à 595 nm. L'absorbance est proportionnelle à la quantité de protéines dans l'échantillon.

❖ **Matériels et réactifs :**

Réactif de Bradford (Sigma-Aldrich, B6916). Sérum d'albumine bovine (BSA), (Sigma-Aldrich, A2153). Eau ultrapure. Echantillons à analyser (1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-Visible-1700- Pharma Spec).

➤ **Préparation des réactifs et des solutions**➤ **Préparation de la solution mère de sérum albumine bovine (BSA) 0,01%**

La solution est préparée avec 0,01g de BSA dans 100 ml d'eau distillée. -

➤ **Préparation de la gamme étalon de BSA 0,001% à 0,01%(BRADFORD, 1976)**

Tableau 11 : Gamme d'étalonnage de sérum albumine bovin

	Blanc	0.001%	0.002%	0.005%	0.008%	0.01%
Eau distillée (ml)	1	0.9	0.8	0.5	0.2	0
BSA 0.01%	0	0.1	0.2	0.5	0.8	1
Concentration (mg.l-1)	0	100	200	500	800	1000

➤ **Préparation de la solution de bleu de Coomassie**

- Dissoudre 25mg du Bleu de Coomassie dans 12,5 ml d'éthanol.
- Ajouter 25ml d'acide phosphorique.
- Diluer la solution obtenue à un volume finale de 250ml.

Mode opératoire

Le dosage est effectué selon la méthode micro **Bradford (1976)** adopté:

- Introduire 200µl de l'échantillon ou l'étalon dans des tubes à essai en verre;
- Ajouter 2ml de bleu de Coomassie;
- Après agitation, faire chauffer les échantillons au bain Marie à 37°C pendant 30 min;
- Ensuite après refroidissement à température ambiante pendant 20min, lire la densité optique à 595nm par un spectrophotomètre UV-Visible.

II.4.5.-Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques est une méthode d'analyse quantitative réalisée selon le protocole adapté de (**Singleton et al, 1999**).

La teneur en composés phénoliques est déterminée en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. 500µl de chacune de ces solutions, on ajoute 27 ml d'eau distillée puis 100µl du réactif de Folin-Ciocalteu et on laisse reposer 3 min. On ajoute ensuite 2ml de la solution saturée de Na₂CO₃ (20%), la couleur bleue commence à apparaître. Après 30 min à l'obscurité, on mesure la densité optique en UV-Visible à 765 nm.

❖ **Principe :**

Le réactif de Folin-Ciocalteu contenant du phosphomolybdate et du tungstate de sodium, oxyde les polyphénols et se réduit en oxydes de tungstène et de molybdène (bleu) qui absorbent à 765 nm.

Matériels et réactifs :

Réactif de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, F9252). Carbonate de sodium (Sigma-Aldrich, S7795). Solution aqueuse de carbonate de sodium à 10%. Acide gallique (Sigma-Aldrich, G7384). Eau ultrapure. Echantillons à analyser (1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Spectrophotomètre (, UV-Visible).

- **Préparation des réactifs et des solutions**
- **Solution mère d'acide gallique : 100mg d'acide gallique dans 100 ml.**
- **Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 1/10**
- **Solution carbonate de sodium à 20% : 12g de carbonate de sodium dans 60ml.**
- **Préparation de la gamme d'étalon d'acide gallique 0,05% à 0,35%**

Tableau12 : Gamme étalon de l'acide gallique

	Blanc	0.05%	0.10%	0.015%	0.20%	0.25%	0.30%	0.35%
Eau distillée (µl)	1	95	90	85	80	75	70	65
AG 0.1%µ	0	5	10	15	20	25	30	35
Concentration (mg.l-1)	0	50	100	150	200	200	300	350

Mode opératoire

- Introduire un volume de 100 µl de l'échantillon dans des tubes à essais en verre;
- Ajouter 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 1/10;
- Agiter les tubes sont agités et incubés durant 2 min;
- Ajoute de 2 ml de carbonate de sodium à 20%;
- Mettre immédiatement les tubes à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante;
- Lire la densité optique à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre UV-Visible.

II.4.6.-Activités biologiques des polysaccharides**II.4.7.-Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique**

L'étude des activités biologiques porte sur les polysaccharides bioactifs constitutifs de l'eau de lavage utilisée traditionnellement pour sa propriété pharmacologique en phytothérapie.

La présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité anti-diabétique, des polysaccharides issus de l'eau de lavage.

II- 4.8 Activité anti-diabétique

Le diabète, communément appelé le diabète sucré, est une maladie métabolique qui se traduit par une hyperglycémie chronique (Morel et al., 2012) résultant d'un défaut de la sécrétion ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (Drouin et al., 1999). Les traitements couramment utilisés par voie orale peut être subdivisée en deux types : les médicaments hypoglycémiantes (sulfonylurées et dérivés de l'acide benzoïque) et les agents anti-hyperglycémiques (biguanides, les inhibiteurs de l'enzyme α -D-glucosidase et thiazolidinediones) (Bisht et al., 2013).

α -D-glucosidases des mammifères, situés au niveau de bordure en brosse à la surface de la membrane des cellules intestinales, est l'enzyme clé catalysant la dernière étape dans le processus digestif des glucides. Par conséquent, des inhibiteurs de l' α -D-glucosidase peuvent retarder la libération du glucose à partir des glucides complexes alimentaires et retarder son absorption, ce qui entraîne une réduction du taux de glucose sanguin postprandial plasmatique et suppression de l'hyperglycémie postprandiale (Zhang et LI, 2015). Parmi ces inhibiteurs: l'Acarbose, Miglitol et Voglibose qui sont des inhibiteurs compétitifs de la α -D glucosidase intestinale, réduisent la glycémie postprandial en retardant la digestion et l'absorption de l'amidon et disaccharides dans le diabète sucré de type 2. Cependant ces inhibiteurs sont caractérisés par leurs effets indésirables tels que les flatulences, la diarrhée, des douleurs abdominales, une augmentation des enzymes hépatiques et de la malnutrition (Bisht et al., 2013).

Les chercheurs ont découvert une grande variété des molécules actives à partir des plantes médicinales, et les polysaccharides ont fait le sujet le plus important des recherches, en tenant vue leur potentiel élevé dans le traitement de diabète sucré. Wang et al. (2016) ont rapporté que les polysaccharides extraits de *Morus alba* ont un effet hypoglycémiant par régulation de la voie JNK/p38 intra-pancréatique pour la protection contre l'apoptose induite par streptozotocine (STZ) dans le tissu pancréatique, ainsi l'amélioration de la fonction métabolique dans le pancréas.

CFPB et CFPA-3 sont deux polysaccharides acides issus de tégument du fruit de *Camellia oleifera*. Ces polysaccharides ont montré une activité anti diabétique par l'inhibition de l'activité l' α -glucosidase. Les concentrations IC50 inhibitrices de α -D-glucosidase de CFPB et CFPA-3 sont 11,80 et 10,95 μ g/mL, respectivement (Zhang et LI, 2015).

❖ Principe de l'étude de l'activité anti-diabétique

L'étude de l'activité anti-diabétique des polysaccharides porte sur la détermination de leur pouvoir inhibiteur de l'enzyme α -D-glucosidase.

Le test de détermination de pouvoir inhibitrice de l'enzyme α -D-glucosidase est basé sur la mesure de la libération de p-Nitrophénol (p-NP) dont l'enzyme catalyse la dégradation de p-Nitrophényl- α -D-glucopyranoside (p-NPGP) en α -D-glucopyranoside et p-Nitrophénol. Ce dernier absorbe à 405 nm, qui permet d'évaluer l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase (HA et al., 2012).

En présence d'inhibiteur, l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase diminue ou inhibé. Cela est exprimé par diminution de la dégradation de substrat p-NPGP (Mosihuzzman et al., 2013). Dans ce test l'acarbose est utilisé comme control positif. Le contrôle négatif représente le milieu réactionnel de l'enzyme α -D-glucosidase sans aucun aditif.

➤ Préparation des solutions et réactifs

La préparation se fait selon les méthodes de Bisht et al. (2013); Qian et al. (2015) modifiées.

➤ Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique (10mg/100ml)

La solution est préparée avec 10 mg de l'extrait brut polysaccharidique lyophilisé dans 100 μ l d'eau distillée. Préparation des dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

Tableau 13.- Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

	Blanc	10%	25%	50%	75%	100%
Eau distillée (μ l)	20	19	15	10	05	0
Sol. mère (μ l)	0	01	5	10	15	20
Concentration (mg.ml)	0	10	25	50	50	100

➤ Préparation la solution de l'acarbose

Pour préparer une solution de l'acarbose de 100mM, 50 mg de l'acarbose est dissout dans 774 μ l d'eau distillée.

➤ Préparation des dilutions de l'acarbose

Une gamme de dilution allant de 0,01 à 100 mM est préparée à partir de la solution mère d'acarbose 100mM.

Mode opératoire (Bisht et al., 2013; Qian et al., 2015)

- Dans un tube sec, ajouter un volume de 500 μ l de la solution de l' α -D-glucosidase ;
- Ajouter 10 μ l de l'acarbose pour le contrôle positif, de l'extrait polysaccharidique pour le test, ou de l'eau distillée pour le contrôle négatif;

- Incuber le mélange pendant 15 min à 37° C;
- Ajouter un volume de 125 µl de la solution du substrat (p-NPG) préalablement incubé à 37° C;
- Faire agiter bien le tube pendant une minute;
- Après 2 min d'incubation, lire l'Absorbance à 405 nm et suivre la cinétique enzymatique de l'α-D-glucosidase en mesurant l'Absorbance chaque 12 sec pendant 3 min de réaction par un spectrophotomètre UV- Visible.

- Tableau 14.- Test de l'activité anti-diabétique

		Volumes
Contrôle positif	p- NPG(µl)	125
	α-D-glucosidase (µl)	500
	Acarbose (µl)	10
Commiphora myrrha	p-NPG (µl)	125
	α-D-glucosidase (µl)	500
	Polysaccharides (µl)	10
Contrôle négatif	p-NPG (µl)	125
	α-D-glucosidase (µl)	500
	Eau distillée (µl)	10

➤ Calcul de pourcentage d'inhibition (XU et al., 2014; Zang et LI, 2015)

Le % d'inhibition est calculé selon la relation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{\Delta A_{\text{Contrôle négatif}} - \Delta A_{\text{échantillon}}}{\Delta A_{\text{Contrôle négatif}}}$$

$$\Delta A_{\text{Contrôle négatif}} = A_{1\text{Contrôle négatif}} - A_{0\text{Contrôle négatif}}$$

$$\Delta A_{\text{échantillon}} = A_{1\text{échantillon}} - A_{0\text{échantillon}}$$

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Extraction des polysaccharides

III-1. Extraction des polysaccharides des sous-produits oléicoles

Composition des extraits bruts des polysaccharides

Les polysaccharides de l'eau de lavage d'olive sont extraits à l'éthanol et lavés par de solvant (acétone) dans le but d'éliminer les lipides et les composés phénoliques (CP).

Le précipité obtenu est nommé résidu hydrosoluble. Une extraction à l'eau de lavage conduit à l'obtention d'une seule fraction qualifiée de fraction hydrosoluble dans le cas de l'eau de lavage. Les résultats de la composition générale des extraits sont présentés dans le tableau qui obtenu selon les conditions qui expérimenter.

Le rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des l'eau de lavage de huile d'olive. Était de 1574.1mg de extrait totale et de matière liquide 2 L. Il est rapporté que les différences dans l'eau de lavage utilisées, la composition du fruit (qui dépend du cultivar, des conditions agronomiques et environnementales (latitude, climat)), Le système d'extraction, Les conditions climatiques, le stade de maturation des olives et les procédures d'extraction affectent les rendements d'extraction de l'extrait polysaccharidique. **Vierhuis et al. (2000)** Certains auteurs rapporté que le rendement du résidu à partir des olives diminue au cours de la maturation du poids frais de la pulpe d'olive dénoyautée. Ainsi, la différence dans le rendement de l'extrait obtenu dans notre étude et les résultats rapportés par nous, pourrait s'expliquer par ces différences de paramètres liés à l'état de l'olive et/ou aux procédés d'extraction utilisés. La composition du fruit (qui dépend du cultivar, des conditions agronomiques et environnementales (latitude, climat)), le stade de maturation des olives et les procédures d'extraction affectent les rendements d'extraction.

Après la série des dosages colorimétriques, les concentrations d'oses totaux, d'oses neutres, d'oses acides et des protéines sont évaluées dans le tableau suivant :

Tableau 15.- Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique de l'eau de lavage de l'huile d'olive.

Oses	Oses totaux	Oses neutres	Oses acide	Polyphénole totale	Protéine
Percentages	46.1%	10.20%	22.3%	13%	6.9%

L'extrait de polysaccharide hydrosoluble renferme à 46.1 % d'oses totaux, 10.20% d'oses neutres, les oses acides 22.3%.

Selon les résultats qui sont obtenus, l'extrait polysaccharidique hydrosoluble renferme des oses totaux avec une teneur de 46.1 % qui est une quantité faible. Certains auteurs recommandent une étape de déprotéinisation au cours de l'extraction des polysaccharides

(Feng et al., 2010 ;Huang et al., 2011). Cependant, ce prétraitement peut conduire à la perte de plus de 60% de la teneur des extraits en polysaccharides (Chang et al., 2011).

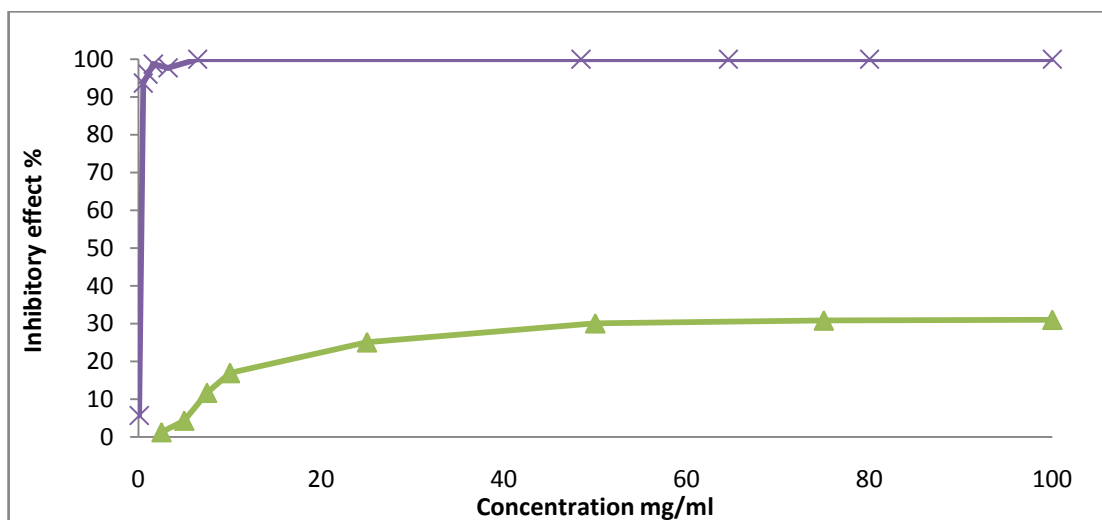
L'analyse biochimique des fractions polysaccharidiques a montré que les sucres (oses neutres (ON) et oses acides (OA)) sont les principaux constituants, même si les protéines et les composés phénoliques CP ont été détectés.

Le taux de protéines mesurées dans les eaux de lavage obtenus à partir des eaux de lavage.

de cette étude (6.9 %) apparaît comme faible et pourrait trouver son origine dans la dénaturation des protéines au cours du processus d'extraction de l'huile d'olive en utilisant un procédé à trois phases mais également être due aux différences entre les variétés d'olives utilisées (Tanilgana et al., 2007).

III.2.- Activités biologiques des polysaccharides

Activité anti-diabétique



La figure 17.- présente les pourcentages d'inhibition (%) de l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase en présence de l'acarbose ou de l'extrait polysaccharidique.

Il apparaît que l'extrait des polysaccharides a un faible pouvoir inhibiteur de l' α -Dglucosidase. Le pourcentage d'inhibition des polysaccharides est de 31% pour une concentration maximale de 100 mg/l et de 1,24% pour une concentration minimale de 2.5 mg/l. Tandis que l'acarbose a un fort pouvoir inhibiteur. Cette inhibition est de 100% à partir de la concentration 100mg/l, tandis qu'il semble que cette inhibition est négligeable à la concentration de 0.064 mg/l. Il est remarqué que pour l'acarbose et l'extrait des polysaccharides les pourcentages d'inhibitions augmentent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations.

Selon les résultats obtenus, il est constaté que l'eau de lavage n'a pas un effet important sur l'activité enzymatique de l'enzyme α -D-glucosidase. L'étude de l'activité enzymatique est finement influencée par les conditions et les paramètres expérimentaux tels que la durée d'incubation, la température, le pH ...etc. De même le type de polysaccharides à étudier et leur pureté.

L'étude d'effet des polysaccharides sur l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase est l'une des méthodes et paramètres pour élucider et identifier l'activité anti diabétique. Il est souhaitable donc de continuer les études sur l'activité anti diabétique mais avec les autres voies métaboliques et hormonales pour confirmer ou infirmer l'activité anti diabétique de l'eau de lavage.

Conclusion

Conclusion

Le rejet des eaux de lavage des industries productrices d'huiles d'olives, est un problème majeur surtout pour les pays du bassin méditerranéen du fait qu'elles renferment une fraction organique importante et provoquent plusieurs types de pollution.

Le présent travail a pour objectif de déterminer sur une généralité sur l'huile d'olive et les différents procédés d'extraction, (par des Système d'extraction continu avec centrifugation à trois phases et deux phase), et l'identifie de l'étude de l'eau de lavage valorisation et leur traitement.

Les pays producteurs sont confrontés cependant à une augmentation significative des sous-produits issus du procédé d'extraction à savoir les margines et les grignons qui impactent fortement cette activité au niveau environnemental.

L'étude de la composition de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles de l'eau de lavage révèle la prédominance des oses neutres. L'analyse des oses des polysaccharides hydrosolubles montre une hétérogénéité et une diversité des oses neutres, acides et totaux, pentoses et hexoses.



Références
Bibliographique

- **Akdemir E.O., Ozer A. (2008)**. Application of a statistical technique for olive oil mill waste water treatment using ultrafiltration process. *Sep Purif Technol*, 62(1), 222-227.
- **Ademe. 2000**. Les coproduits d'origine végétale des industries agroalimentaires. Ademe Edition, 76p.
- **Ahmidou O., Hammadi C. (2007)**. Guide du producteur de l'huile d'olive Préparé dans le cadre du projet de développement du petit entrepreneuriat agro-industriel dans les zones périurbaines et rurales des régions prioritaires avec un accent sur les femmes au Maroc.
- **Aissam H (2003)**. Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat national. Université sidi mohamed ben abdellah. Fes. 156p.
- **Aissam H. (2003)**. Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Microbiologie de l'environnement. Thèse de 3ème cycle. Université sidi Mouhamed Ben Abedellah de Fès, Maroc, 162.
- **Barsacq, 1997**. Le secteur de l'huile d'olive au sein de l'Union européenne : situation et rôle de la Communauté : Huile d'olive : production et marchés. *Revue Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Volume 4, Numéro 5, pages 340-345.
- **Boussenadji, 2005**. L'huile d'olive et la santé. *Santé plus* n° 39-40 , Janvier-février 2005.
- **Boskou, D. 2015**. Olive fruit, table olives, and olive oil bioactive constituents. In: *Olive and olive oil bioactive constituents*. AOCS Press, pp1-30.
- **Conseil Oléicole International.(2015)**. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive.
- **Conseil Oléicole International.(2016)**. COI/T.15/NC n° 3/Rév 8.
- **Conseil Oléicole International.(2015)**. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. Conseil Oléicole International. COI/T.15/NC n° 3/Rév 8.
- **C.O.I, 2007**. Analyse sensorielle de l'huile d'olive : méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge. COI/T/ 20/Doc. n° 15/Rev.2.septembre 2007.
- **Codex Alimentarius., 1989**. Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév. 1-1989).

Références bibliographique

- **Conseil Oléicole International (COI).** 2018a. Analyse sensorielle de l'huile d'olive, méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge. COI/T.20/Doc. no 15/Rév. 10. 20p.
- **Conseil Oléicole International.** (2011). Normes commerciales applicables aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. T.15/NC n°3,/Rév 6.
- **Dermeche S., Nadour M., Larrouche C., Moulti-Mati F. and Michaud P.** (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochem.*, 48, 1532–1552.
- **Fiestas Ros de Ursinos, (1983); Ranalli, (1998,2000); Fiestas., R.(1981)** "The anaerobic digestion of wastewater from olive oil extraction", anaerobic digestion, Travemund.
- **Fiestas Ros De Ursinos J.A., Borja R.** 1992. Use and treatment of olive mill wastewater: Current situation and prospects in Spain. *Grasas y Aceites*, 2: 101-106.
- **Food And Agriculture Organization (2001).** Rapport du comité du codex sur les graisses et les huiles – Annexe IV : Projet de norme pour les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive. Archives de documents de la FAO.
- **Galanakis C. M., TORNBERG E. and Gekas V.** (2010). A study of the recovery of the dietary fibres from olive mill wastewater and the gelling ability of the soluble fibre fraction. *LWT - Food Sci. and Techn.*, 43 : 1009-1017.
- **Gharbi I., Issaoui M., et Hammami M.** (2014). oilcrops and supplychain in africa *OCL*, 21(2):1-3.
- **Hamdi M., 1993.** Future prospects and constraints of olive mill waste waters use and treatment: A. Review. *Bioprocess Engineering*, 8, pp 209-214
- **Hamdi M. and Ellouz R.** (1993). Treatment of detoxified olive mill wastewaters by anaerobic filter and aerobic fluidized bed processes. *Environmental Technology*, 14: 183-188.
- **Iboukhoulef-Bekda H., 2014.** Traitement des margines des huileries d'olive par les procédés d'oxydation avancée basés sur le système Fenton-like (H₂O₂ / Cu). Thèse. Université de Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, Algérie ; P139.
- **Kapellakis I.E., Tsagarakis K.P. & Crowther J.C.** (2008). Olive oil history, production and byproduct management. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 7, 1-26.
- **Koutrotsios G. & Zervakis G.I.** (2014). Comparative examination of the olive mill wastewater biodegradation process by various wood-rot macrofungi. *Bio Med Research International*, Article ID 482937, 14 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/482937>.

Références bibliographique

- **Labdaoui D. (2017)** .Impact socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases et possibilités de sa diffusion dans la région de Bouira (Algérie). Diplôme d'état de docteur en sciences agronomiques. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, 25p
- **Lazzeri, 2009**. Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne. L'olivier en méditerranée. Conférence centre culturel Français de Tlemcen – Algérie.
- **Morisot A., Tournier J.P., (1986)** Répercussions agronomique de l'épandage d'effluents et déchets de moulins à huile d'olive, *Agronomie*, 6, 235-241.
- **Motilva, M.J., Romero, M.P. 2010**. The effect of the ripening process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils. In : Preedy, V.R., Ross Watson, R. *Olives and olive oil in health and disease prevention*. First edition. Academic Press, pp59-68.
- **Mann J., Markham J.L., Peiris P., Nair N., Spooner-Hart R.N. & Holford P. (2010)**. Screening and selection of fungi for bioremediation of olive mill wastewater. *World J Microbiol Biotechnol*, 26, 567-571.
- **Nefzaoui A. (1987)**. Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits. Séminaire sur l'économie de l'olivier. Tunis.
- **Nefzaoui A. (1987)**. Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits, séminaire sur l'économie de l'olivier. Tunis, 20-22 Janvier. *Science et Technique, Olivae* n° 19.
- **Nefzaoui A (1987)**. Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits. *L'économie de l'olivier (Tunis)* ; 153-173.
- **Niaounakis M, Halvadakis CP (2004)**. Olive mill waste management. Literature Review and Patent Survey. Typothito-George Dardanos. Athens, Greece, pp xiv, 430.
- **Ouzounidou G., Zervakis G.I. & Gaitis F. (2010)**. Raw and microbiologically detoxified olive mill waste and their impact on plant growth. *Terrestrial and Aquatic Environmental Toxicology*, 4, 21-38.
- **Proot J. 2002**. Les technologies propres appliquées aux industries agroalimentaires. Aris.T, Bourgone, 12p.
- **Ramos-Cormenzana A. Juirez-Jimenez B & Garcia-Pareja.M.P. (1996)**. Antimicrobial activity of olive mill wastewater (Alpechin) and biotransformed olive oil mill wastewater. *Journal of agricultural Food Chemistry*. 58-67.

Références bibliographique

- **Ramos-Cormenzana A., Juirez-Jimenez B., Garcia-Pareja M.P. (1996).** Antimicrobial Activity of Olive Mill Wastewaters (Alpechin) and Biotransformed Mill Wastewater WasteOlive Oil. *International Biodeterioration & Biodegradation*; 283-290.
- **Salvemini F. (1985),** Composizione chimica e valutazione biologica di un mangime ottenuto essicando tercemente le acque di vegetazione delle olive. *Riv. Delle Sostanze Grasse*, 112 : 559- 564.
- **Salvemini F. (1985).** Composizione chimica e valutazione biologica di un Mangime ottenuto essicando tercemente le acque di vegetazione delle olive. *Riv. Delle Sostanze Grasse*, 112 : 559- 564p.
- **Sancoucy R. (1984).** Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin méditerranéen. Etude FAO production et santé animale synthèse no. 43FAO PubRome.
- **Sekour B., 2012.** Phytoprotection de l'huile d'olive vierge (H.O.V.) par ajout des plantes végétales (thym, ail, romarin). *Mag. Université de Boumrdesse*, 127 p.
- **Xavier da Silva O.M (2014).** Olive Mill Wastewaters treatment: evaluation of microalgae applicability. Thèse de Doctorat, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 59p.
- **Velletts., 2010.** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Mémoire de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, p 160.

Sites Web:

- Oleiculteur.com, 2002.
- Le Moulin Margier à Auriol, 2016
- **Zbakh A. and EL Abbassi A. (2012).** Potential use of olive mill wastewater in the preparation electrochemical treatment of olive mill wastewater: treatment extent and effluent phenolic compounds monitoring using some uncommon analytical tools. *J. of function. Foods.*, 4: 53 –65.

Résumé

La production industrielle d'huile d'olive dans les pays méditerranéens, à l'instar de l'Algérie, génère de grandes quantités de sous-produits qualifiés de l'eau de lavage et grignons. Les eaux de lavage, par leur richesse en composés phénoliques (CP) peu biodégradables, causent un réel problème pour l'environnement. La valorisation de ces déchets par extraction de molécules d'intérêt tels que les polysaccharides constitue l'une des solutions pour leur traitement.

L'objectif de ce travail était l'extraction des polysaccharides et de caractériser l'extrait polysaccharidique afin d'évaluer leurs activités biologiques. Une caractérisation biochimique des extraits polysaccharidiques a été réalisée par dosages colorimétriques. La fraction hydrosoluble extraite des eaux de lavage s'est révélée être une source intéressante de polysaccharides.

Les résultats indiquent que tous les extraits polysaccharidiques présentent une composition hétérogène en monosaccharides, Les résultats des analyses réalisées montrent la présence dans cette fraction de CP et de protéines.

Ainsi les sous-produits oléicoles, à l'exemple des eaux de lavage, est une source de molécules à activité biologique et leur extraction peut constituer l'une des stratégies de valorisation de ce déchet.

L'étude d'effet des polysaccharides sur l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase est l'une des méthodes et paramètres pour élucider et identifier l'activité anti diabétique. Il est souhaitable donc de continuer les études sur l'activité anti diabétique mais avec les autres voies métaboliques et hormonales pour confirmer ou infirmer l'activité anti diabétique de l'eau de lavage.

Mots clés : Sous-produits oléicoles, polysaccharides, olive, composés phénoliques, anti-diabétique.

ملخص

يولد الإنتاج الصناعي لزيت الزيتون في دول البحر الأبيض المتوسط، مثل الجزائر، كميات كبيرة من المنتجات الثانوية المؤهلة لمياه الغسيل والثقل. يعتبر غسل الماء، بسبب ثرائه في المركبات الفينولية ضعيفة التحلل البيولوجي (PCs)، مشكلة حقيقية للبيئة. يعد استرداد هذه النفايات عن طريق استخراج الجزيئات ذات الأهمية مثل السكريات المتعددة أحد الحلول لمعالجتها. كان الهدف من هذا العمل هو استخراج السكريات وتوصيف مستخلص السكريات من أجل تقييم أنشطتها البيولوجية. تم إجراء توصيف كيميائي حيوي لمستخلصات السكريات عن طريق المقاييس اللونية. لقد ثبت أن الجزء القابل للذوبان في الماء المستخرج من الغسالات مصدر مثير للاهتمام للسكريات. تشير النتائج إلى أن جميع مستخلصات السكريات تظهر تركيبة أحادية السكريات غير متجانسة، وأظهرت نتائج التحاليل التي تم إجراؤها وجود هذا الجزء من CP والبروتينات. تعتبر المنتجات الثانوية للزيتون، على سبيل المثال مياه الغسيل، مصدرًا للجزيئات ذات النشاط البيولوجي ويمكن أن يشكل استخلاصها إحدى الاستراتيجيات لاستعادة هذه النفايات. تعتبر دراسة تأثير السكريات على النشاط الأنزيمي لـ α -D-glucosidase إحدى الطرق والمعلمات لتوضيح وتحديد النشاط المضاد لمرض السكري. لذلك من المستحسن مواصلة الدراسات حول النشاط المضاد لمرض السكري، ولكن مع مسارات التمثيل الغذائي والهرمونات الأخرى لتأكيد أو استبعاد النشاط المضاد لمرض السكري في ماء الغسيل.

الكلمات المفتاحية: مشتقات زيت الزيتون الثانوية، السكريات، الزيتون، المركبات الفينولية، مضادات السكري.

Summary

The industrial production of olive oil in Mediterranean countries, like Algeria, generates large quantities of qualified by-products of washing water and pomace. Washing water, due to its richness in poorly biodegradable phenolic compounds (PCs), is a real problem for the environment. The recovery of this waste by extracting molecules of interest such as polysaccharides is one of the solutions for their treatment. The objective of this work was to extract the polysaccharides and to characterize the polysaccharide extract in order to evaluate their biological activities. A biochemical characterization of the polysaccharide extracts was carried out by colorimetric assays. The water-soluble fraction extracted from the washings has been shown to be an interesting source of polysaccharides. The results indicate that all the polysaccharide extracts exhibit a heterogeneous monosaccharide composition. The results of the analyzes carried out show the presence in this fraction of CP and of proteins. Olive by-products, for example washing water, are a source of molecules with biological activity and their extraction can constitute one of the strategies for recovering this waste. The study of the effect of polysaccharides on the enzymatic activity of α -D-glucosidase is one of the methods and parameters to elucidate and identify anti-diabetic activity. It is therefore desirable to continue studies on anti-diabetic activity, but with other metabolic and hormonal pathways to confirm or rule out the anti-diabetic activity of the wash water.

Key words: Olive oil by-products, polysaccharides, olive, phenolic compounds, anti-diabetic.