

UNIVERSITE BLIDA1

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département des Sciences Agronomiques

MEMOIRE DE MAGISTER

en Sciences Agronomiques

Spécialité : Nutrition et Transformation des aliments

ANALYSE DES CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES ET DE L'ACTIVITE
ANTIMICROBIENNE ET DES ANTIOXYDANTS DES FIGUES SECHES SEULES ET
IMPREGNEES DANS L'HUILE D'OLIVE

Par

Khoukha ALILECHE

Devant le jury composé de :

A. BOUTEKRABT	Professeur, U.S.D.Blida	Président
A.BITAM	MCA, E.N.S.A .Alger	Examineur
L. BENHADJA	Professeur, U.S.D.Blida	Examinatrice
A. DOUMANDJI	MCA, U.S.D. Blida	Examinatrice
A. HADJ ZIANE	Professeure, U.S.D.Blida	Promotrice

Blida ,Janvier 2014

RESUME

Les polyphénols sont des composés très précieux, présents spécifiquement chez les végétaux jouent un rôle antioxydant puissant aux quels sont attribuées diverses activités biologiques. Vu les vertus nutritionnelles et thérapeutiques de ces composés nous nous sommes intéressés à déterminer leur teneur dans deux aliments Il s'est agit des plantes suivantes : huile d'olive (*Olea europaea*) et la figue (*Ficus carica* L) seules et leur imprégnation.

Nous avons tout d'abord procédé aux analyses physicochimiques, biochimiques et microbiologiques de deux produits avant et après leur imprégnation qui ont révélé leur richesse en métabolites primaires. L'analyse qualitative des extraits phénoliques par chromatographie liquide à haute performance a révélé la présence probable de la quercetine et la catéchine dans les extraits phénoliques et d'identifier les acides phénols. Les dosages quantitatifs colorimétriques par un spectrophotomètre UV-Vis des polyphénols totaux, ont révélé leurs richesses en polyphénols .Les examens pharmacologiques ont révélé que ces derniers possèdent des effets thérapeutiques très importants notamment l'effet anti-inflammatoire. En outre, l'évaluation de l'activité anti-oxydante par deux méthodes : le pouvoir réducteur et la méthode au DPPH montre que les extraits possèdent une activité antioxydant puissante en comparant avec celle du BHT et l'acide ascorbiques. Par ailleurs, l'étude de la sensibilité des souches a révélé activité antimicrobienne et antifongique de certaines souches.

Ces résultats obtenus se sont avérés très encourageants et démontrent la richesse de ces deux nutriments en composés phénoliques, on pourrait exhorter la communauté scientifique algérienne à prendre conscience des trésors des produits de terroir de notre pays.

Mots clés : Huile d'olive, figues sèches poly-phénols, activité antioxydant, activité antimicrobienne, activité Antifongique, activité anti-inflammatoire analyses physicochimiques, analyses microbiologiques.

ABSTRACT

The polyphenols are compounds very invaluable, present specifically at the plants play a powerful antioxydant part to which various biological activities are allotted. Considering the nutritional and therapeutic virtues of these compounds we were interested to determine their content in two food It east acts of the following plants: olive oil (*Olea europaea*) and the fig (*Ficus carica* L) only and their impregnation.

We first of all carried out the physico-chemical, biochemical and microbiological analyzes of two products before and after their impregnation which revealed their wealth of primary metabolites. The qualitative analysis of the phenolic extracts by high performance liquid chromatography revealed the probable presence of quercetin and the catéchine in the phenolic extracts and to identify the acids phenols. Colorimetric quantitative proportionings by a spectrophotometer UV-Screw of total polyphenols, revealed their high contents in polyphenols. The pharmacological examinations revealed that the latter have very important therapeutic effects in particular the anti-inflammatory drug effect. Moreover, the evaluation of the antioxydant activity by two methods: the reduction and the method with the DPPH show that the extracts have a powerful antioxydant activity while comparing with that of the BHT and the ascorbic acid. In addition, the study of the sensitivity of the stocks revealed antimicrobial and antifongic activity certain stocks.

These results obtained proved very encouraging and show the richness of these two nutrients in phenolic compounds, one could exhort the Algerian scientific community to become aware of the treasures of the products of soil of our country.

Key words: olive oil, figs dry polyphenols, antioxydant activity, antimicrobial activity, microbiological Antifongique activity, activity anti-inflammatory drug physico-chemical analyzes, analyzes microbiological.

ملخص

البوليفينول هي مركبات لا تقدر بثمن جدا و تحديدا في النباتات وتلعب دورا قويا في الأكسدة ، و يوجد ثلاث فئات رئيسية هي : الأحماض الفينولات، و الفلافونويد (flavonoïdes) ، و الدابغة.(tanins)

النظر في الفضائل الغذائية والعلاجية لهذه المركبات و نحن مهتمون لتحديد محتواها في اثنين من الغذاء ، فهي النباتات التالية :شجرة الزيتون (olea europaea) و شجرة التين (Ficus carica) والمزج بينهما.

أولا التحاليل الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية من اثنين من المنتجات قبل وبعد الحمل، و الكمية اللونية بواسطة مقياس الطيف الضوئي -برغي من إجمالي البوليفينول إكشفت محتواها عالية في مادة البوليفينول .مثل تحليل بواسطة HPLC، جعلت من الممكن لتحديد الفينولات الأحماض . وكشفت الفحوص الطبية الدوائية أن هذا الأخير له آثار علاجية مهمة جدا ولا سيما تأثير العقاقير المضادة للالتهابات .وعلاوة على ذلك، أظهر تقييم النشاط المؤكسد من خلال طريقة للحد من الحديد FRAP و DPPH أن هذا الأخير لديها القدرة في الأكسدة قوية .وبالإضافة إلى ذلك، كشفت دراسة حساسية من الأسهم نشاط معين الأسهم المضادة للميكروبات والمضاد للفطريات.

أثبتت هذه النتائج التي تم الحصول عليها مشجعة للغاية وتظهر ثراء من هذه المواد الغذائية اثنين في المركبات الفينولية، يمكن للمرء أن حث المجتمع العلمي الجزائري لتصبح على بينة من الكنوز من المنتجات من تراب بلدنا.

الكلمات المفتاحية : زيت الزيتون، والتين الجاف مادة البوليفينول، والنشاط المؤكسد ، والنشاط المضادة للميكروبات، والنشاط ضد الفطريات الميكروبيولوجية، والنشاط المضادة للالتهابات التحاليل الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية . نشاط مضاد للجراثيم

DEDICACES

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes qui me sont les plus chères au monde. A la lumière de ma vie, ma très chère mère, ZEKRAOUI LOUIZA pour son amour et ses sacrifices sans limites consentis à mon égard ; qu'elle trouve en ces quelques mots le témoignage de ma profonde affection.

A mon cher père RAMDANE, avec toute ma reconnaissance, mon affection et mon respect.

A mon cher mari et ma belle famille

A mes sœurs et mes frères.

Mes nièces, mes neveux.

Mes enseignants de tout le département d'agronomie.

Et toute la promotion 2011/2013 l'option Nutrition et Transformation des aliments.

REMERCIEMENTS

Je voudrais commencer par remercier très chaleureusement ma promotrice M^{me} HADJ ZIANE .A, Maitre de Conférences à l'université de Blida pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire de Génie Chimique de la Faculté de Technologie, Université de Blida. Ces deux années de collaboration ont été facilitées par sa disponibilité à chaque moment important de mémoire. La confiance qu'elle m'a accordée m'a également permis de m'épanouir pleinement et de développer mes recherches. Ses conseils avisés ont toujours été très constructifs et m'ont permis de toujours bien avancer dans le travail. Qu'elle soit assurée de toute ma gratitude. J'espère pouvoir continuer à collaborer avec elle.

Mes sincères remerciements s'adressent également à M^r. BOUTEKRABT, Professeur à l'université de Blida, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury. Qu'il trouve ici mes sentiments de gratitude et de déférence.

Je tiens à exprimer ma grande considération et ma vive reconnaissance à M^{me} BOUTEKRABT.L, et M^{me} Doumandji. A, Maitres de Conférences à l'université de Blida pour leurs précieux conseils et aide et m'ont fait l'honneur d'évaluer mon travail.

Mes vifs remerciements vont à M^r BITAM, Maître de Conférences a Alger, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Qui est malgré ses multiples obligations, m'a fait l'honneur d'évaluer mon travail.

Je remercie aussi très sincèrement Mr BOUTOUMI.H Maître de Conférences à l'université de Blida, Je lui suis reconnaissante de m'avoir accordé son temps pour m'expliquer, m'aider et me conseiller.

Mes vifs remerciements vont aussi à Mr. DJAZOULI E.Z. Enseignant à l'université de Blida, qui m'a facilité pleines de tâches administratives, favorise

ainsi la réalisation de mon mémoire.

J'exprime particulièrement ma reconnaissance à Mme RADJI. M Chef service au niveau d'ITAF à Tessala-El Merdja pour son encouragement et sa disponibilité et toute l'équipe physicochimie pour son aide et ses conseils.

Je voudrais aussi exprimer mes remerciements à Mme BAKHETI F., Chef de service au niveau du laboratoire contrôle physicochimique de SAIDAL et aussi M^{elle} IMANE au niveau de laboratoire toxico de Médéa- pour leur aide.

Je tiens à remercier Mr LEHADJ. Chef service au niveau du laboratoire d'hygiène a Blida et toute l'équipe surtout Mr TEFAHI DJAMEL pour son aide et ses conseils.

Mes remerciements vont également à tous les membres du personnel de Département de chimie industrielle -Blida - pour leur accueil, leur aide et leur sympathie en particulier.

Enfin je remercie ma famille et plus particulièrement mes parents pour leur soutien permanent tout au long de ce mémoire et plus généralement tout au long de ma vie universitaire. Je remercie également tous les amis qui m'ont entouré et intégré dans ma vie.

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	7
DEDICACE	9
TABLE DES MATIERES	10
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	19
INTRODUCTION	27
Chapitre 1 : HUILE D'OLIVE	30
1.1Présentation de l'olivier	30
1.1.1 Histoire, Origine et répartition géographique d'olivier	30
1.1.2 Secteur oléicole dans le monde et en Algérie	30
1.1.3 Taxonomies et systématiques et description botanique	32
1.2 Huile d'olive	33
1. 2.1 Technologie d'extraction de l'huile d'olive	34
1.2.2 Classification de l'huile d'olive	35
1.2.3 Caractérisation de l'huile d'olive	36
1.2.4 Composition chimique de l'huile d'olive	38
1.2.5 Conditions de stockage de l'huile d'olive	46
1.2.6 Variabilité externe influençant l'oxydation de l'huile d'olive	46
1.2.7 Les bienfaits de l'huile d'olive	48
CHAPITRE 2 : LE FIGUIER ET LA FIGUE	51
2-1 Le figuier (<i>Ficus carica</i> L)	51
2.1.1 Origine géographique et botanique de figuier	51
2.1.2. Secteur figuicole dans le monde et en Algérie	51
2.1.3 Classification, Description botanique et systématique de figuier	52
2.2. La figue	55
2.2.1 Croissance et maturation des figues	55
2.2.2 Composition et valeur nutritive des figues sèches	55

2.2.3 Séchage des figues	61
2.2.3.1 Aptitude à la conservation des figues	61
2.2.3.1.1 Figues fraîches	61
2.2.3.1.2 Figues séchées	61
2.2.4 Classification	62
2.2.5 Transformation des figues	63
2.2.6 Facteurs de modifications des qualités lors du séchage	63
2.2.7 Les bienfaits de la figue	64
Chapitre 3 : les polyphénols	67
3.1. Définition	67
3.2. Composés phénoliques dans la plante	67
3.2.1. Répartition cellulaire et tissulaire dans les différents organes de la plante	68
3.2.3. Facteurs influençant la teneur des plantes en composés phénoliques	68
3.2.4. Principales formes et classes des composés phénoliques	69
3.2.4.1. Les formes simples	69
3.2.4.1.1 Phénols simples	69
3.2.4.1.2 Les acides phénoliques simples	69
3.2.4.1.3 Les flavonoïdes	71
3.2.4.2 Formes condensées	73
3.2.4.2.1 Les tannins	73
3.2.5. Rôles et Propriétés antioxydantes des polyphénols	75
3.2.6. Intérêts dans l'industrie agroalimentaire	79
3.3 Les antioxydants	79
3.3.1 Définition d'un antioxydant	79
3.3.2 Classification des antioxydants	80

3.3.2.1 Antioxydants naturels	80
3.3.2.2 Les antioxydants de synthèse	80
3.3.2.3 Les antioxydants enzymatiques	80
3.3.3 Activité antioxydante des polyphénols	81
3.4 Le stress oxydatif	82
3.4.1 Historique	82
3.4.2 Définition d'un radical libre	82
3.4.3 Rôle des radicaux libres	83
3.4.4 Définition du stress oxydant	84
3.4.5 Origine du stress oxydant	84
3.4.6 Conséquences du stress oxydant	85
3.4.7 Les maladies liées au stress oxydant	85
3.5 Mécanisme d'action des antioxydants	85
3.6 Méthodes de mesure de l'activité antioxydante	86
CHAPITRE 4 : MATERIELS ET METHODES	87
4.1 Contexte de l'étude	87
4.2 Description, origines et choix de la variété	88
4.2.1 Traitement des figes sèches	89
4.2.2 Préparation de la macération de la fige sèche dans l'huile d'olive	89
4.3 Méthodes analytiques	91
4.4 Caractérisations physico chimiques des figes sèches et de l'huile	91
4.4.1 Caractérisation physicochimique des figes sèches	91
4.4.2 Caractéristiques biochimiques des figes sèches	94
4.4.3 Détermination des caractères physicochimiques de l'huile d'olive	100
4.5 Extraction des polyphénols	106
4.5.1 Extraction solide– liquide des composés phénoliques d'huile d'olive	106
4.5.2 Extraction liquide-liquide des composés phénoliques d'huile d'olive	107

4.6 Calcul du rendement	107
4.7 Analyse qualitative par HPLC	108
4.8 Analyse quantitative	109
4.8.1 Dosage des composés phénoliques extractibles totaux	109
4.8.2 Dosage des flavonoïdes	111
4.8.3 Dosage des tanins hydrolysables	112
4.9 Les activités biologiques des composés phénoliques des extraits	113
4.9 .1 L'activité anti-oxydante des composés phénoliques des extraits	113
1.9.1.1 Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH	114
1.9.1.2 Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux	115
4.9.1.3 Mesure du pouvoir réducteur	116
4.10 Les analyses microbiologiques	118
4.10. 1 Recherche et dénombrement des GAMT	120
4.10.2 Dénombrement des spores d'anaérobies sulfitoréducteurs	120
4.10.3 Dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux	122
4.10.3.1 Recherche des coliformes	123
4.10.4 Recherche et dénombrement des levures et moisissures	123
4.10.5 Recherche de <i>Staphylocoques aureus</i>	124
4.10.6 Recherche du germe Salmonella	125
4.10.7 Dénombrement des levures osmophiles des figues sèches	126
4.11 L'activité anti-inflammatoire	127
4.12 Etude de l'activité antibactérienne	129
4.12.1 Identification et isolement des souches	129
4.12.2 Stérilisation du matériel	130
4.12.3 Souches microbiennes utilisées	130
4.12.4 Préparation des dilutions des extraits à tester	131
4.12.5 Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne	131
4.13 Etude l'activité antifongique	132
4.14 Etude statistique	133

CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION	134
5.1 Caractérisation des figes sèches et l'huile d'olive	134
5.1.1 Résultats de la caractérisation physicochimique	134
5.1.2 Résultats de la caractérisation Biochimique	150
5.1.3 Résultats de la caractérisation phytochimique	156
5.1.3.1. Rendement d'extraction Extraction	156
5.1.3.2 Analyse quantitatives des extraits	158
5.1.3.3 Résultats de l'analyse qualitative par HPLC	163
5.2 Résultats de l'activité anti-oxydante	170
5.2.1 Le pouvoir réducteur	171
5.2.2. Test au DPPH	172
5.3 Résultats de l'effet anti-inflammatoire des extraits méthanoliques	177
5.4 Résultats des analyses microbiologiques	181
5.5 Evaluation de l'activité antimicrobienne	183
5.6 Activité antifongique	187
CONCLUSION	189
APPENDICES	192
A Liste des abréviations	192
B Les étapes de fabrication des figes sèches	193
C Les gammes et les courbe d'étalonnages pour le dosage des composés phénoliques	194
D La gammes et courbe d'étalonnages pour le dosage des sucres totaux	195
E La gammes et courbe d'étalonnages pour le dosage des protéines	196
F Chromatogrammes des standards	197
G Appareillage Verrerie et accessoires	198
H Réactifs et produits chimiques	201
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	202

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1: Centres, distribution et production d'olivier dans le monde	30
Figure 1.2: La production d'olivier dans le monde	31
Figure 1.3: La consommation d'olivier dans le monde	31
Figure 1. 4 : Composition de l'olive	33
Figure 1. 5: Stades de maturation de l'olive	33
Figure 1. 6 : Les procédés modernes d'extraction de l'huile d'olive sont de deux types : à deux phases, et à trois phases	35
Figure 1.7 : Hydrolyse du glycérol et libération des acides gras	34
Figure 1.8 : Auto-oxydation d'acide linoléique	37
Figure 1.9 : Structure de l'oleuropéine (a) et du ligstroside (b)	41
Figure 1.10 : Structure du pinorésinol et de l'acétoxy-pinorésinol	41
Figure 1.11: Structure de la lutéoline et de l'apigénine	42
Figure 1.12 : Structure de deux alcools phénoliques : l'hydroxytyrosol et le tyrosol	42
Figure 1.13 : Structure de deux acides phénoliques : l'acide vanillique et l'acide Caféique	42
Figure 1.14 : Structure des tocophérols	43
Figure 1.15 : Structure chimique des composés volatiles majoritaires	45
Figure 2.1: la production de figuier dans le monde	52
Figure 2.2 : Les superficies occupées par le figuier FAO 2008	52
Figure 2.3: La répartition de l'exportation de la figue sèche FAO 2008	52
Figure 2.4 : La répartition de production de la figue sèche FAO 2011	52
Figure 2.5: Feuillage, inflorescences et fructification du figuier	54

Figure 2.6 : caractéristiques de fruit <i>Ficus carica</i>	55
Figure 2. 7 : Structures moléculaires des principaux phénols dans les figues	57
Figure 2.8 : Les deux méthodes de séchage des figues séchées	62
Figure 3.1: Structure du phénol (noyau aromatique).	67
Figure 3.2 : Principaux acides hydroxybenzoïques	70
Figure 3.3 : Principaux acides hydroxycinnamiques	70
Figure 3.4 : Principaux types de coumarines	71
Figure 3.5 : Structure de base des flavonoïdes	66
Figure 3.6 : Structure de base et simplifiée des flavonoïdes	73
Figure 3.7 : Structure des tanins condensés	74
Figure 3.8 : Structure des tanins hydrolysables	74
Figure 3.9: pouvoir antioxydant des polyphénols	75
Figure 3.10 : Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Me^{+n})	76
Figure 3.11 : Rôle des enzymes antioxydantes dans le processus d'inactivation de l'ion superoxyde	81
Figure 4.1 Schéma de l'étude expérimentale	91
Figure 4.2 : Calibrage des figues (FB, FN, HFB, HFN)	93
Figure 4.3 : l'extraction solide-liquide des composés phénoliques des figues sèches.	106
Figure 4.4 : l'extraction liquide – liquide des composés phénoliques d'huile d'olive	107
Figure 5.5 : L'acide gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque).	110
Figure 5.6: Principe de réaction entre les flavonoïdes et $AlCl_3$	11

Figure 4.5 : Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 Diphenyl-1-Pikryl-Hydrazyle.	114
Figure 4.6 : Réduction du radical DPPH	115
Figure 4.8: Les étapes d'évaluation du pouvoir réducteur.	117
Figure 4.9: Protocole expérimental du principe de l'activité anti inflammatoire.	129
Figure 5.10 : Illustration de la méthode d'antibiogramme sur boîte de Pétri	132
Figure 5.1 : Poids, longueur, largeur des figues séchées étudiées	136
Figure 5.2. : L'acidité des différents échantillons étudiés	138
Figure 5.3 : L'indice de peroxyde des différentes huiles étudiées	140
Figure 5. 4: Le pH des différents échantillons étudiés.	141
Figure 5.5: La teneur en eau des différents échantillons étudiés	144
Figure 5.6 : L'indice d'iode des différentes huiles étudiées.	145
Figure 5.7 : L'indice de réfraction des différentes huiles étudiées	145
Figure 5.8 : l'extinction spécifique des différentes huiles étudiées	146
Figure 5.9 : L'indice de saponification des différentes huiles étudiées	147
Figure 5.11 : Composition en acide gras des différentes huiles étudiées	150
Figure 5.12 : taux de sucres totaux en % de MS des figues étudiées	151
Figure 5.13 : La teneur en protéines des différents échantillons étudiés	153
Figure 5.14 : La teneur en matière grasse des différents échantillons	154
Figure 5.15 : La teneur en cellulose des différents échantillons étudiés	156
Figure 5.16 : Rendement d'extraction des différents échantillons étudiés	157
Figure 5.17: Teneur en polyphénols totaux des différents échantillons	160

Figure 5.18 : Teneur en flavonoïdes des différents échantillons étudiés	162
Figure 5.19 : Teneur en polyphénols totaux des différents échantillons	163
Figure 5.120 : Profil chromatographique des acides phénols présents dans OHN	164
Figure 5.21: Profil chromatographique des acides phénols présents dans OHB par H.P.L.C à 280 nm.	165
Figure 5.22 : Profil chromatographique des acides phénols présents dans OH par H.P.L.C à 280 nm.	166
Figure 5.23 : Profil chromatographique des acides phénols présents FB détectés par H.P.L.C à 280 nm.	167
Figure 5.24 : Profil chromatographique des acides phénols présents FN détectés par H.P.L.C à 280 nm	168
Figure 5.25: Profil chromatographique des acides phénols présents dans HFN détectés par H.P.L.C à 280 nm	169
Figure 5.26: Profil chromatographique des acides phénols présents dans HFB détectés par H.P.L.C à 280 nm	169
Figure 5.27 : Pouvoir réducteur du BHT et acide ascorbique et des extraits en fonction de la concentration	172
Figure 5.28 : Activité de piégeage du radical libre par les extraits méthalonique et du BHT et acide ascorbique	174
Figure 5.29 : Concentrations pour 50% d'inhibition des radicaux libres, du BHT et acide ascorbique et des extraits méthalonique	176

Tableau 1.1 : Classification de l'huile d'olive	35
Tableau 1.2 : Caractères physico-chimiques de l'huile d'olive	36
Tableau 1.3 : Principaux constituants de l'huile d'olive	39
Tableau 1.4 : Composition en acide gras d'une huile d'olive	40
Tableau 1.5 : Composition de l'huile d'olive en stérol	45
Tableau 2.1 : les stades de Croissance et maturation des figues	56
Tableau 2.2 : Composition moyenne des figues séchées en acides gras	57
Tableau 2.3 : composition moyenne des figues séchées et des figues fraîches	58
Tableau 2.4 : Classification des figues sèches	63
Tableau 3.1 Principales classes des flavonoïdes	67
Tableau 3.2 : Principales activités biologiques des composées phénoliques	78
Tableau 4.1 : Données relatives aux échantillons étudiés	79
Tableau 4.2 : Représentation des échantillons étudiés	90
Tableau 4.3: Conditions opératoires pour les esters méthyliques de l'huile d'olive	105
Tableau 4.4 : Les conditions opératoire d'H.P.L.C.	109
Tableau 4.7: Les germes recherche dans la figue séchée, huile d'olive et leur mélange après macération	119
Tableau 4.8: Provenance des microorganismes.	130
Tableau 5.1 : Résultats de la caractérisation physicochimique pour les trois huiles étudiées (OH, OHN, OHB).	134
Tableau 5.2 : Résultats de la caractérisation physicochimique des figues sèches (FB, FN, HFB, HFN).	135
Tableau 5.3 : la composition en acide gras des trois huiles exprimée en pourcentage	148
Tableau 5.4 : La masse, rendement et couleur des extraits obtenus.	156
Tableau 5.5 : Teneur en composés phénoliques des différents extraits	159

méthaloniques

Tableau 5.6 : Temps de rétention des poly phénols standards	164
Tableau 5.7: Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés chez OHN à 280 nm.	165
Tableau 5.8 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés OHB à 280 nm	166
Tableau 5.9 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés OH à 280 nm.	167
Tableau 5.9: Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés FB à 280 nm.	168
Tableau 5.10 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés FN à 280 nm.	168
Tableau 5.11 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés HFN à 280 nm.	169
Tableau 5.12 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés HFB à 280 nm.	170
Tableau 5.13: Pouvoir réducteur des différents antioxydants testés	171
Tableau 5.14: Activité de piégeage du radical libre des extraits étudiés comparées à celle du BHT et C	173
Tableau 5.15 : La concentration inhibitrice IC ₅₀ (µg/ml) du radical DPPH.	175
Tableau 5.16: Valeurs des IC ₅₀ , polyphénols totaux et flavonoïdes et des tanins hydrolysables différents extraits	176
Tableau 5.17 : Evolution des épaisseurs moyennes des pattes postérieures droites des souris de chaque	179
Tableau 5.17 : Pourcentages de réduction de l'œdème des pattes postérieures droites des souris des souris de chaque lot	180
Tableau 5.18 : Résultats des analyses microbiologiques effectuées	184

sur les extraits phénoliques.

Tableau 5.19. Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec <i>Staphylococcus aureus</i> à différentes concentrations des extraits	184
Tableau 5.20. Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec <i>Escherichia coli</i> à différentes concentrations des extraits	185
Tableau 5.21 : Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec <i>Bacillus subtilis</i> à différentes concentrations des extraits	185
Tableau 5.22 : Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec <i>Streptococcus thermophilus</i> à différentes concentrations des extraits	186
Tableau 5.24 : Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à différentes concentrations des extraits	188

INTRODUCTION

Depuis l'antiquité, certaines plantes étaient vénérées pour des vertus qu'on leurs avaient reconnues. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissaient, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir, ou tout au moins soulager un état maladif ou des troubles organiques [137]. En Algérie, la pratique de la médecine par les plantes a toujours existé en raison de la diversité de la flore, qui est riche en plantes et particulièrement en plantes médicinales car de nombreuses plantes sont employées [138]

« WA ATIN WA AZIATOUNE . . . » Ces versets bénis viennent au début de la sourate "At-Tîn" (Le Figuier). Allah (que Son nom soit exalté) a juré par eux ; Il apparaît et Allah seul le sait, que le serment a été fait par la figue à cause du prodige de la création de ces fruits et des bienfaits importants qu'ils apportent comme éléments nutritifs. La sourate commence par un serment d'Allah qui en est dispensé mais qui le fait pour attirer notre attention sur l'importance de ces apports nutritifs mais aussi par les apports mystérieux bénis par la volante divine [110].

Le figuier est très probablement, l'un des premiers arbres dont nos ancêtres aient savouré les fruits. Son histoire présente beaucoup d'analogie avec celle de l'olivier, en ce qui concerne l'origine et les limites géographiques [130] Le figuier (*Ficus carica* L.) et l'olivier (*Olea europaea*) ont évolué à travers les âges des plantes sauvages à des arbres cultivés très appréciés pour ses valeurs mythiques, religieuses et nutritives et pour leurs rusticités. En Algérie, son exploitation souvent associée à celle d'olivier, constitue une ressource alimentaire pour les habitants des montagnes de Kabylie, c'est d'ailleurs dans cette partie de l'Algérie que se concentre la quasi-totalité des figuiers [70]. Ces espèces s'adaptent à plusieurs conditions pédoclimatiques de culture et ses fruits n'ont pas été assez mis en valeur par l'homme, malgré ses pouvoirs thérapeutiques et son intérêt socioéconomique. Pourtant, ils font partie de notre histoire et de notre culture.

L'huile d'olive est un élément clé du régime méditerranéen. Très présent dans l'alimentation des pays méditerranéens et préconisée par de nombreux diététiciens, elle a acquis une place essentielle dans la recherche sur ses propriétés médicinales et cosmétiques. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable [120]. La figue et l'huile d'olive sont gorgées de vitamines et de sels minéraux, des fibres alimentaires et antioxydants de même qu'elles ont des propriétés thérapeutiques prouvées : abaisser l'hypertension artérielle, contrôler le cholestérol, soulager la constipation, prévenir le cancer du côlon, contrôler le taux de glucose dans le sang et prévenir l'apparition du diabète de type II. [1.83.128].

Au cours de la dernière décennie, une réelle prise. Les fruits sont particulièrement intéressants car ils sont riches en polyphénols qui sont des micronutriments particulièrement abondants dans les fruits, les céréales et les légumes. Les effets biologiques des polyphénols ont été évalués dans de nombreuses études et souvent associés à leurs propriétés antioxydantes [126 127].

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des études récentes ont montré que l'hydroxytyrosol de l'huile d'olive améliore la fonction mitochondriale qui prévient le vieillissement cellulaire et par conséquent le vieillissement du corps. Ceci nous ramène à confirmer que ce composé est un agent utile et efficace pour prévenir le vieillissement et les maladies liées à l'âge comme la maladie d'Alzheimer. [1, 2,3].

Sachant qu'à l'époque actuel un problème crucial et majeur se pose à la population malgré que le développement de la technologie agroalimentaire ait fait des progrès significatifs et importants. Néanmoins certaines maladies dites modernes tel que le diabète, l'hypertension artérielle, l'obésité, MICI (maladie inflammatoire du colon et de l'intestin) . . . sont toujours existantes et d'actualité de nos jours. Ces plantes ont été employées pendant des siècles comme remède pour différentes maladies car elles contiennent des composants de valeur

thérapeutique. Dans ce contexte notre travail consiste à évaluer la valeur nutritive de deux plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle en Algérie (figues sèches) et jus de fruit (huile d'olive) et de quantifier les teneurs en composés phénoliques que renferment ces espèces végétales et d'évaluer leur pouvoir antioxydant et antibactérien et de mettre en évidence une potentielle activité antioxydante des polyphénols qu'elles contiennent. Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules anti- oxydantes et antimicrobiennes comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols. Il nous a semblé donc, intéressant d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche. Pour cette raison notre démarche expérimentale s'est articulée autour des réponses à apporter aux questions supports suivantes :

Nous nous intéressons ici en premier lieu à la caractérisation de la composition physico - chimique et microbiologique de deux produits Pour voir la valeur nutritionnelle et la qualité microbiologique avant et après l'imprégnation. En effet, quelle valeur aurait l'identification des métabolites primaires et secondaires (polyphénols) ? Et aussi les activités biologiques ?

Le premier volet consiste à effectuer une évaluation des caractérisations physico-chimiques et microbiologiques et biochimiques de deux variétés de figues sèches et de l'huile d'olives séparément et leurs mélanges en vue de déterminer la valeur nutritionnelle et les vertus thérapeutiques des produits étudiés et analysés.

On procèdera au deuxième volet l'extraction et la quantification des composés phénoliques. Il porte également sur le diagnostic et la séparation des principaux composés phénoliques par l'utilisation d'une technique chromatographique (HPLC).

Le troisième volet consiste à une évaluation des l'activités biologiques : antioxydantes, antimicrobiennes, antifongiques et anti-inflammatoire des figues sèches et l'huile d'olive et leur imprégnation.

Enfin, une conclusion générale portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives.

Références bibliographiques

- 1 A.O.A.C 1990. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th Edition, Washington, D.C., USA.
- 2 Abbey, M. Belling, GB. et Noakes, M. 1993. Oxidation of low-density lipoproteins : intraindividual variability and the effect of dietary linoleate supplementation. Am J Clin Nutr, 57: 391- 398.USA
- 3 AFNOR, 1999. Normes internationales de microbiologie. Directives générales pour la recherche et le dénombrement des microorganismes dans les aliments, vol.8B.
- 4 Al Askari.G. Kahouadji .A. Khedid.K. Charof.R et Mennane.Z .2012 .Caractérisations physico-chimique et microbiologique de la figue sèche prélevée des marchés de Rabat-Salé, Temara et Casablanca.Les technologie de laboratoire. N°26 .V 7 : 12-19.
- 5 Alais .C et Linden. G.1997. Abréché de biochimie alimentaire. Ed : Masson Paris .PP168.
- 6 Albagnac.G.Montigaud.J.C et Varoquaux. P. 2002.Technologies de transformation des fruits .Ed.Technique et documentation Lavoisier.Paris.PP498
- 7 ALLOUN Dj., 1974. L'oléiculture Algérienne. L'olivier. Revue options méditerranéennes. N° 24. Ed CIHEAM. Paris. p 45.
- 8 Amira Abdel Motaal, and Sherif Shaker., 2011.Antioxidant Activities of Standardized Whole Fruit, Pulp, and Peel Extracts of Egyptian Pomegranate.vol:66, p.p41-45.
- 9 Amirante P., Clodoveo M. L., Dugo G., Leone A. & Tamborrino A. 2006. Advance technology in virgin olive oil production from traditional and de-stoned pastes: Influence of the introduction of a heat exchanger on oil quality. Food Chemistry. 98 (4) pp 797-805.
- 10 Angerosa F.Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by Aparicio, R. et Luna, G. 2002. Characterization of monovarietal virgin olive oils. European Journal of Lipid Science and Technology, 104: 614-627.
- 11 Angerosa F., Basti C.and Vlto R. 1999.Virgin olive oil volatile compounds from

- lipxygenase pathway and characterization of some Italian cultivars. *J. AgricFood Chem*, Vol 47. N°3. P9-836.
- 12 ANGEROSA F., SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., ESPOSTOS. AND MONTEDOROG. F. 2004. Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *Journal of chromatography*. Vol 1054. p.17-31.
 - 13 Aparicio, R. Roda, L. Albi, M.A. et Gutiérrez, F. 1999. Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4150-4155. USA
 - 14 ATIK BEKKARA F., BOUSMAHA L., TALEB BENDIAB S.A., BOTI J.B. et CASANOVA J. 2007. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé* vol. 7. n° 1. P6-11. Algérie.
 - 15 Avignon A lamBerT Ket BisBal.C Thé, chocolaT, raisin... ou les polyphénols comme outils de prévention du diaBèTe de Type 2. *Mises au point clinique d'Endocrinologie*. 2010. Paris
 - 16 Awad, AB. Downie, AC. et Fink, CS. 2000. Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDAMB- 231 human breast cancer cells in culture. *Int J Mol Med*, 5: 541-545. USA
 - 17 Ayadi m.A., Grati-kamoun N., ATTIA H. 2009. Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 47. N° 10. P2613-2619.
 - 18 Baby. J. Justin Raj. S. 2011. Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn -An overview. *International Journal of PharmTech Research*. Vol. 3, No.1, pp 08-12. Turquie
 - 19 BEN TEKAYA I. et HASSOUNA M. 2005. Étude De La Stabilité Oxydative De L'huile D'olive Vierge Extra Tunisienne Au Cours De Son Stockage. *Revue OCL*. Vol. 12. N° 5. P447-454.
 - 20 BEN TEKAYA I., HASSOUNA M., 2007. Effets des chlorophylles, du bêta-carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne. *Revue OCL*. Vol. 14 N° 1. P 60-67

- 21 Benlemlih.M .Ghanam.J.2012. Polyphénols d'huile d'olive trésors santé !
.Medicatrix. France. PP130.
- 22 Berset C .et al., 2006. Méthode dévaluation de degré d'oxydations des lipides
et de mesure du pouvoir antioxydant.Sciense des aliments, n.16, p. p. 219-
245.France
- 27 Bouchefra. A et Idoui.T.2012 .Effet nutritionnel de l'huile d'olive vierge " variété
Sigoise " sur les performances de croissance, les lipides plasmatiques et la
flore endogène du rat Wistar. Les technologies de laboratoire. N°26 .V 2 : 20-
26.Algérie
- 28 Boudhioua.N . .Ben Slimen.I . Bahloul.N et N. Kechaou.Etude du séchage par
infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne.Partie 2: Influence du
séchage et du blanchiment sur les composés phénoliques totaux.Revue des
Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger (2008) 111 – 116
- 29 BOUHDID S., IDAOMAR M., ZHIRI A., BAUDOUX D., SKALI N.S and ABRINI
J. 2006.Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant
and antibacterial activities.Biochimie, Substances Naturelles et
environnement. Congrès International de Biochimie. AGADIR. Vol .09 .p 324-
327.
- 30 BOUSKOU D. BLEKAS G. TSIMIDOU M., 2006. Olive Oil composition in :
Olive oil chemistry and technology Ed AOCS press Greece . P.41-63.
- 31 Brenes, M. Garcia, A. Garcia, P. Rios, JJ. et Garrido, A. (1999) Phenolic
compounds in Spanish olive oil. J Agri. Food Chem, 47 : 3535-40
- 32 Bruneton J, 1993. Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales.
Paris, France: Lavoisier. 278 - 279p
- 33 Bruneton J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales.
2eme edition Tec et Doc(Ed). Paris, 914p.
- 34 Bylka., Mathwska I.et Pilewski N.A., 2004. Natural flavonoid as antimicrobial
agents. Journal of the American Natraceutical Association, vol.7, n.2,P.P.24-
26.
- 35 Canal, J. R., M. D. Torres; A. Romero; C. Perez 2000. A chloroform extract
obtained from a decotion of Ficus carcia leaves improves the cholesterolemic
status of rats with streptozotocin-induced diabetes. Acta Physiol. Hung.
87(1):71-6.Turquie

- 36 CECCHI T., DE MARCO C., PASSAMONTI P. and PUCCIARELLI F. 2006. Analytical Definition Of The Quality Of Extra-Virgin Olive Oil Stored In Polyethylene Terephthalate Bottles. *Journal Of Food Lipids*. Vol. 13. P251-258.
- 37 Chaux, C. Méthodes de recherches adoptées en matière de biologie florale de l'olivier- fruits et primeurs de l'Afrique du nord. 1955, 25, 202-207.
- 38 CHIMI H. 2001. Qualité Des Huiles D'olive Au Maroc. *Bullettin Mensuel D'information Et De Liaison*. PNTTA. N°79. 4p.
- 39 Chimi, H. et Atouati, B.Y. 1994. Détermination du stade optimal de récolte des olives de la Picholine marocaine par le suivi de l'évolution des polyphénols totaux. *Olivae*, 54 : 56 - 60.
- 40 Chimi.H et Ouaouich.A.2005.Guide du sécheur de figes.Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II.Rabat.Maroc.PP27.
- 41 CHIMI.H., 2002. Séminaire international sur l'olivier. Amélioration de la qualité de l'huile d'olive. Restructuration et modernisation des unités trituration des olives. INRA Maroc. Marrakech. P.335-351
- 42 CHMI H, 2006. Technologie d'extraction de l'huile d'olives et gestion de sa qualité ; bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA N°141. 4p.
- 43 Chouchene .A.2010. Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique .Tunisie.220P
- 44 CIAFARDINI G., CIOCCIA G., PECA G., ZULLO B.A. (2004a). Transfer of Selected Yeasts To Oil Through Olive Inoculation. Dans *Micro-Flore Des Huiles D'olive Vierge*. Qualité'oliveAfidol. Juillet/Août 2005. P1-4.
- 45 CIAFARDINI G., ZULLO B.A., PECA G. (2004b). Presence of Microorganisms in Flavoured Extra Virgin Olive Oil. *Annals Of Microbiology*. Vol.54. N° 2. P161–168.
- 46 Codex Stan 33.1981. Norme codex pour les huiles d'olives vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée codex Stan (Rév. 1-1989) Antérieurement CAC/RS 33-1970.
- 47 COI, 2006. L'oléiculture en Algérie. E.108/Doc. N°4. COI. p1-4.
- 48 COI, 2012 Production et consommation mondiale de l'huile d'olives.
- 49 Commission du codex alimentarius.2001. Rapport des dix septième sessions

- du comité du codex sur les graisses et les huiles. Londres (Royaume-Uni) 19 – 23 février.PP63.
- 50 Conseil oléicole international.1996.Normes commerciales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive. COI/T.15/NC n. 2/Rév. 10. PP19.Algérie
- 51 Corner, E. J. H. 1995. Check-List of Ficus in Asia and Australasia with keys to identification. Garden's Bulletin, Singapore, 21: 1-186.
- 52 Criado, M.N. Motilva, M.J. Goni, M. et Romero, M.P. 2007. Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll an carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars. Food chemistry, 100: 748-755
- 53 Cuvelier C., Cabaraux J.-F., Dufrasne I., Hornick J.-L., Istasse L. Acides gras : nomenclature et sources alimentaires Ann. Méd. Vét., 2004, 148, 133-140
- 54 Dacosta, E. 2003 .Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317p
- 55 DAMECHKI M., SOTIROPOULOU S. AND TSIMIDOU M. 2001. Antioxidant And Pro-Oxidant Factors In Oregano And Rosemary Gourmet Olive Oils. Grasas Y Aceites Vol. 52. Fasc. 3-4. p 207-213.
- 56 Darvesh, A.S., R.T. Carroll, A. Bishayee, et al. 2010. "Oxidative stress and Alzheimer's disease: dietary polyphenols as potential therapeutic agents." Expert Rev Neurother 10: 729-745.
- 57 Decker, EA. (1995) The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as non essential dietary antioxidants. Nutr Rev, 53 : 49-58.
- 58 Delplanque, B. Jusselin, I. Le Roy, B. et Motta, C. 1999.Intérêt nutritionnel des huiles d'olive. Oléagineux corps gras lipides.6: 86-93
- 59 Di Giovacchino, L. (2000) Technological Aspects. In: Handbook of olive oil : Analysis and properties . Harwood, J. et Aparicio, R. Edition : An Aspen Publication, USA, 17-5.
- 60 Di Giovacchino, M., Mascolo, L. Solinas, M. et Angeroica, F. 1980. Incediza dei Sistemi di Lavorazione della Oliva sui taluni parametri indicativi della Qualita dell'Olio d'Oliva. In : Proceedings of the 3rd Congr. Biological Value of Olive Oil, Crete, 683-688
- 61 Dowson et Aten , 1963 composition et maturation , récolte et conditionnement

- des dattes , collection F.A.O.Rome,397p.
- 62 El rayes .R. 1991. The fig tree in the Mediterranean region and in Syria. Option méditerranéennes .Tunisie :79-83.
- 63 El-Najjar.Z.2010 Quelques secrets du Coran .Les signes cosmiques dans le Saint Coran et leurs significations scientifiques. Caravane française.110P.
- 64 Espirad .E.2002.Introduction à la transformation des fruits .Ed. Technique et documentation Lavoisier. Paris. PP359
- 65 F. Y. Ntanios 1, A. J. van de Kooij, E. A.M. de Deckere, G. S.M.J.E. Duchateau, E. A. Trautwein, Effects of various amounts of dietary plant sterol esters on plasma and hepatic sterol concentration and aFoirtic foam cell formation of cholesterol-fed hamsters, *Atherosclerosis* 2003,169, 41-50
- 66 Favier A., 2003.Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. Vol.15, p.p.108-115.
- 67 Fedeli E., 1977 .Lipids of olives. *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids*. 15 pp 57-74.
- 68 Feliachi.k. 2006.deuxième rapport national sue l'état des ressources phytogénétiques INRA.PP68
- 69 Fernandez-Gutierrez, A. (2006) .Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1220-1234
- 70 Ferradji .A. Chabour .H et Malek .A.2012. Séchage solaire des figues: Bilan thermique et isotherme de désorption. *Des Energies Renouvelables*. N°4 .V 14: 717-726.
- 71 Ferriere I., Barros L., Soares M.Bastos M.L., Pereira J.A., 2007. Antioxydant activity and phenolic contents of olèa europaea L.leaves sprayed with different copper Formulations. *Food chemistry*, 103,188_195.
- 72 Francesco G.L. 1993. Evaluations économiques sur l'innovation technologique. Les problèmes de l'environnement dans le secteur oléicole en Italie. *Olivae*, 47 : 15-20.
- 73 Frankel E.N., Meyer. A.S., 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxydants, *Journal of Science and Food Agriculture* ,vol.80,p.p.1925-1941

- 74 Frankel, E.N. 1998. Photooxidation of unsaturated fats in: Frankel EN (ed). Lipid oxidation. The oily Press, Dundee; 4-54
- 75 FZ. Laamiri, A. Barkat. 2012. Lipides alimentaires et cancer du sein NUTRITION Espérance Médicale o Mai o Tome 19 o N° 188 192 – 197
- 76 Galli, C. et Visioli, F. 1999. Antioxidant and other properties of phenolics in olives/olive oil, typical compounds of the Mediterranean diet. *Lipids*, 34: S23-S26
- 77 Gandul-Rojas, B. et Mnguez-Mosquera, M.I. 1996. Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72 : 31-39
- 78 Garcia, J.M. Yousfi, K. Mateos, R. Olmo, M. et Cert, A. 2001. Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea* fruits). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 : 4231-4235.
- 79 Gardès-Albert, M. and D. Jore 2005. "Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène." Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier: p 1-23.
- 80 Gomes pereira .J . 1991. Notes sur quelques espèces fruitières sous-utilisées au Portugal (néflier, japonais, figuier, kaki et grenadier). option méditerranéennes .Tunisie :63-67.
- 81 Grek, C.L. and K.D. Tew 2010. "Redox metabolism and malignancy." *Curr Opin Pharmacol* 10: 362-368.
- 82 Guillard, J.C. 2003. Répartition des vitamines dans la nature. In : Les vitamines dans les Industries Agro-Alimentaires. Bourgeois, C. Eds : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 40-52.
- 86 Hertog M.G. 1996. Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proceeding of the nutrition society.*, vol.55,n.1.p.p. 385-397.
- 87 Horwitt, M.K. (1960) Vitamin E and lipid metabolism in man. *Am J Clin Nutr*, 8: 451-461.
- 88 Huang CL, Sumpio BE 2008. Olive oil, the Mediterranean diet, and cardiovascular health. *J Am Coll Surg*. 207 :407-16
- 89 Huis I., Veld J.H., .1996. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *Int. J. Food Microbial*, 33, 1–18.
- 90 ISO 6887-1, 1999. Microbiologie des aliments : Préparation des échantillons,

de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.

- 91 ISO 7954, 1988. Microbiologie : Directives générales pour le dénombrement des levures et moisissures. Technique par comptage des colonies à 25°C.
- 92 Jayaraman.K.S.1995. critical review on intermediate moisture fruits and vegetables. Ed.Welti chanes . USA:411-442
- 93 Jeddi.L.2008. Valorisation des figues de Taounata potentiel, mode et stratégies proposées. Mode et stratégies proposées. Direction provinciale d'agriculture de Taounate.29P.
- 94 Jung, M. et Min, D. 1990 .Effects and d tocopherols on oxidative stability of soybean oil. J. Food Sci, 55: 464-1465.
- 95 Kahouli. I. 2010. Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l'huile de canola chauffée. Quebec . 111P.
- 96 Kanyahaoglu.S. Saglumand.H.Kivaçak.B.2005. a-Tocopherol, Flavonoid, and Phenol Contents and Antioxidant Activity of *Ficus carica* Leaves.Taylor et Francis . Turkey.Vol. 43, No. 8, pp683-686
- 97 Khandhadia, S. and A. Lotery 2010. "Oxidation and age-related macular degeneration: insights from molecular biology." *Expert Rev Mol Med* 12: e34.
- 98 Kim J Y., Lim H J., Lee D Y., Kim D H., Jeon R., Ryu J H., 2009. In vitro anti inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargessii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19: 937 -940. Travaux personnels 230.
- 100 Kiritsakis, A. et Markakis, P. 1987.Olive oil: a review. *Adv. Food Res*, 31: 453-482.
- 101 Kiritsakis, A.K. 1998.Composition of olive oil. In *Olive Oil from the tree to the table*. Second Edition. Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, 006611, USA. pp. 113-154.
- 102 Kislev, M.E., Hartmann, A., Bar-Yosef, O. 2006. Early domesticated fig in the JordanValley. *Science* 312:1372-1374.
- 103 Koechlin-Ramonatxo C., 2006. Oxygène, stress oxydant et supplémentassions anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*,vol.,20,p.p.165-

- 177.
- 104 Kruidenier, L. and H.W. Verspaget 2002. "Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous?" *Aliment Pharmacol Ther* 16: 1997-2015.
- 105 Kubo, A. Lunde, C.S. et Kubo, L. 1995. Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *J Agric. Food Chem*, 43: 1629- 1633
- 106 Kucharski, S. 1964. Composition of fig tree cultivated in the Azerkajani SSR form, *polska* 20:581
- 107 Laurent C et Oestveldt K., 2008. Impact des polyphénols de raisin sur des marqueurs physiologiques et biochimiques du vieillissement intestinal, Ed howest, 78 p.
- 108 Laurent., 1991.Éléments minéraux. In : *Techniques d'analyses et du contrôle dans les industries agroalimentaires*. Paris Volume 4, Lavoisier, PP78_98
- 109 Lavee S 1996. *Olive Tree Biology and Physiology*, World Olive Encyclopaedia, IOOC, Madrid, pp 5910.
- 110 Le figuier et l'exploitation des figues en Algérie n° 67.PP4.1950
- 111 Le Grusse, J. 2003 Structure chimique et propriétés physicochimiques. In : *Les vitamines dans les Industries AgroAlimentaires*. Bourgeois, C. Eds : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 5-23
- 112 LECHAT H., ARNAUD J.N., LACOSTE F. 2005. Évolution des Paramètres Physico-Chimiques et Sensoriels des Huiles D'olive Vierges Lors de Leur Stockage Prolongé In : *Évolution des Paramètres de Qualité de L'huile D'olive au Cours du Stockage*. *Qualit'olive*. Afidol. Mars 2012. P1-2.
- 113 Li Y., Guo C., Yang J., Wei J ., Xu J.and cheng S., 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract.*Food Chem*.vol96p.p 254_260.
- 114 LOUSSERT, R et BROUSSE, G. L'olivier : Techniques agricoles production méditerranéenne. Paris. Ed : « G.P maison neuve et la rose », 1978, p.48-464.
- 215 M. D. Patel, P. D. Thompson_ *Phytosterols and vascular disease, Atherosclerosis review*, 2006, 186, 12-19.
- 116 M.ñguez-Mosquera, M.I. Gandul-Rojas, B. Garrido-Fernandez, J. et Gallardo-

- Guerrero,L. 1990 . Pigments present in virgin olive oil. Journal of the American Oil Chemists Society, 67 : 192-196.
- 117 M.ñguez-Mosquera, M.I. Rejano-Navarro, L. Gandul-Rojas, B. Sanchez-Gamez, A.H. et Garrido-Fern.ñdez,J. 1991 .Color-pigment correlation in virgin oil. Journal of the AmericanOil Chemists Society, 68 : 332-336
- 118 Macheix et coll., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier 1-28
- 119 Macheix J.J., Fleuriet Annie et al., 2005. Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques, presses polytechniques et universitaires romandes162p.
- 120 Macheix J-J., Fleuriet A et Sarni - Manchado P 2006. Composés phénoliques dans la plante -structure, biosynthèse répartition et rôles, In Sarni Manchado P. et Cheynier V., les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier, 398 p.
- 121 Malesev D.et KunticV., 2007. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoids complexing reactions. Journal of the Serbian chemical society. vol.c 72, n.10,p.p. 921-939.
- 22 Mariod, A. A., Ibrahim, R. M., Ismail, M., & Ismail, N. 2010. Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. Food Chemistry, 118, 120e127.
- 123 Mars M, Carraut, A., Marrakchi, M., Gouiaa, M. et Gaaliche, F., 1994. Ressources génétiques fruitières en Tunisie (poirier, oranger, figuier, grenadier). Plant genetic resources Newslette.Vol :100.P_P1-4.
- 124 Martin .M.2001.Apport nutritionnels conseillés pour la population Française. 3eme édition .Ed. Technique de documentation .Lavoisier . Paris .PP320
- 125 Masquelier J, Dumon M et Dumas J, 1979. Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. Acta thérapeutique 1, 101-104 p.
- 126 Mata, P. Alonso, R. et Lopez-Farra, A. 1996. Effect of dietary fat saturation on LDL oxidation and monocyte adhesion to human endothelial cells in vitro. Arterioscler Throm Vasc Biol, 16: 1347-1355.
- 127 Mauray, A., D. Milenkovic, C. Besson, et al. 2009. "Atheroprotective effects of bilberry extracts in apo E-deficient mice." J Agric Food Chem 57: 11106-11111.

- 128 Morillo J. A., Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sánchez M., Ramos-Cormenzana A., Russell N. J. 2009. Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology Biotechnology*, 82 : 25-39.
- 129 MOYANO M. J., HEREDIA F. J. AND MEL'ENDEZ-MART'INEZ A. J. 2010. The Color of Olive Oils: The Pigments and Their Likely Health Benefits and Visual and Instrumental Methods of Analysis. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol 9. P278-291.
- 130 Narayana K.R., Reddy M .S., Chaluvadi M.R. et Krishna D.R., 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, vol.33 p. p.2-16.
- 131 Naseem Ullah, Javid Ali, Farhat Ali Khan, Muhammad Khurram, Arshad Hussain., 2012. Proximate Composition, Minerals Content, Antibacterial and antifungal Activity evaluation of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Peels Powder, *Journal of Scientific Research*, vol, 11, p.p.396-401.
- 132 Nefzaoui .A.1991. Valorisation des sous produits de l'olivier .option méditerranéennes. Tunisie :101-108
- 133 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*.
- 134 Negi Jayaprashka et Jena., 2003. Antioxydant and antimicrobial activity of pomagrenate peel extract improves the shelf life of chicken products .*Inter .J.of food and tech ; 45 P.p 216_222*.
- 135 Negi Jayaprashka et Jena., 2003. Antioxydant and antimicrobial activity of pomagrenate peel extract improves the shelf life of chicken products .*Inter .J.of food and tech ; 45 P.p 216_222*.
- 136 Neve J., 2002. Antioxydants alimentaires : Vitamines, oligoéléments et non-nutriments in *Aliments fonctionnelles*. Tec & doc éd, paris, p.p. 281-313
- 137 NF V 08 056, 1994. Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfite-réductrices des colonies obtenues à 46°C.
- 138 NF V 08 051, 1991. Dénombrement de la flore mésophile totale (FMAT).
- 139 NF V 08 060, 1996. Dénombrement des Coliformes thermotolérants par comptage des colonies à 44°C.

- 140 Nijveldt R .J., Van Nood E., Van Hoorn D.E .C.,Boelens P.G.,Van Norren K. et Van Leeuwen P.A.M.,2001.Flavonoids : a review of probable mechanisms of action andpotentiel applications.American journal of clinical nutrition, vol.74,p.p 418-425.
- 141 Okamura H, Mimura A, Yakou Y, Niwano M, Takahara Y, 1993. Antioxidant activity of tannins andflavonoids in Eucalyptus rostrata. *Phytochemistry* 33: 557-561.
- 142 OLIVAE. 2010. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olives. COI. N°113. P.35-36.
- 143 OLIVAE. 2012. Le marché mondial en chiffres COI. N°117 - p30.
- 144 OLLIVIER D., BOUBAULT E., PINATEL C., SOUILLOL S., GUÉRÈRE M. et ARTAUD J. 2004. Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique*. N°965.P.169-196.
- 145 Ouakbli, A, 2003, Le Figuier : un patrimoine génétique diversifié à exploiter. Bulletin réalisé par l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat institut, Maroc, Transfert de technologie en agriculture, N ° 106 .PP4
- 146 Owen, RW. Giacosa, A. Hull, WE. Haubner, R. Spiegelhalder, B. et Bartsch, H. 2000a. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Eur J Cancer*, 36: 1235-47.
- 147 Owen, RW. Mier, W. Giacosa, A. Hull, WE. Spiegelhalder, B. et Bartsch, H. 2000b.Phenolic compounds and squalene in olive oils : the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem. Toxicol*, 38: 647-659
- 148 Panza F, Solfrizzi V, Colacicco AM, D'introno A, Capurso C, Torres F, Del Parigi A, Capurso, S, Capurso A (2004). Mediterranean diet and cognitive decline. *Public Health Nutr.* 7 : 959-963.
- 149 Pascale .S.M. et Cheynier.V.2006. Les polyphénols en agroalimentaire.Dec et Doc.Lavoisier . Paris.PP398.
- 150 Patthamakanokporn, O., Puwastien, P., Nitithamyong, A., Prapaisri, P., & Sirichakwal. 2008. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 241e248.

- 151 Paull, R.E. et Chen, N.J. 2000.Heat treatment and fruit ripening. *Postharvest. Biology and Technology*, 21: 21-37.
- 152 Pelletier, X. Belbraouet, S. et Mirabel, D. 1995. A diet moderately enriched in phytosterols lowers plasma cholesterol concentrations in normocholesterolemic humans. *Ann Nutr Metab*, 39: 291-295.
- 153 Pelli K et Lyly M., 2003. Les antioxydants dans l'alimentation in *biotechnology Final,n.2,p.p. 15-20.*
- 154 Pèrez .C . Canal .J.R. Torres. M.D.2009. Experimental diabetes treated with ficus carica extract: effect on oxidative stress parameters. *Acta Diabetol .Spain 40:3-8*
- 155 Perez C.; J. R. Canal and M.D.Torres 2003. Experimental diabet treated with Ficus carcia extract effect on oxidative stress parameters. *Diabetol.*, 40 (1): p 3-8.
- 156 Perez, C.; J. R. Canal; J.E. Campillo; A. Romero and M.D. Torres1999.Hypotriglyceridemic activity of Ficus carcia leaves in experimental hypertriglyceridemic rats. *Phytother. Res.*, 3(3): P188-191
- 157 Philippe Legrand les acides gras : structures, fonctions, apports nutritionnels conseilles huiles et santé *Cah. Nutr. Diét.*, 42, Hors série 1, 2007 .1s7.1s12
- 158 Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J., 2002. Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydant *Physiological action of antioxydantdefences. Nutrition clinique etmétabolisme*,vol. 16,p.p.233-239.
- 159 Pitocco, D., F. Zaccardi, E. Di Stasio, et al. 2010. "Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes." *Rev Diabet Stud* 7: 15-25.
- 160 Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B., 2009 Evaluation de l'activité antioxydant des Composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel*, V. 4, , 25-39.
- 161 Pristouri G., Badeka A. and Kontominas M.G. 2010. Effect of Packaging Material Headspace, Oxygen And Light Transmission, Temperature And Storage Time On Quality Characteristics Of Extra Virgin Olive Oil. *Food Control*.Vol. 21.P412-418.
- 162 Psomiadou, E. Tsimidou, M. et Boskou, D. 2000.Alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oil. *J Agric. Food Chem*, 48: 1770-1775

- 163 Rahmani M. Bennani.A.2008. Traçabilité et production de l'huile d'olive vierge de qualité. Et qualité et compétitivité des produits agro-alimentaires. Actes de la table ronde Produits de terroir du Tadla-Azilal.Maroc.PP72
- 164 Randoin.L.1974.table de composition des aliments .ED :J.L.paris.PP74
- 165 Reaven, P. 1996 .The role of dietary fat in LDL oxidation and atherosclerosis . Nutr Metab Cardiovasc Dis, 6: 57-64
- 166 Reaven, P. Parthasarathy, S. et Grasse, BJ. 1991. Feasibility of using an oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification in humans. Am J Clin Nutr, 54: 701-706
- 167 Reaven, P. Parthasarathy, S. et Grasse, BJ. 1993. Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects. J Clin Inves, 91: 668-676
- 168 Renyes . M.Bouabidi.H.Piombo.G et Risterussi.A.M.1994. caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans une région du Djérid Tunisie. Fruits.Vol 49.N°4 :289-298.
- 169 Rezaie, A., R. Parker and M. Abdollahi 2007. "Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause Dig Dis Sci 52: 2015-2021
- 174 Salghi. R. 2007. Analyses physicochimiques Analyses des denrées alimentaires. Ecole nationale des sciences appliquées d'Agadir .PP33
- 175 SALVADOR M.D., ARANDA F.and FREGAPANE G.2001. Influence of fruit ripening on « Cornicabra » virgin olive oil quality a study of four successive crop seasons. Food chemistry.Vol. 73.N°1.p.45-53.
- 176 Sannomiya M., Fonseca V B., Da silva M A., Rocha LRM. Dos Santos L C, Hiruma-Lima C A., Britoc A R M S, Vilegas W., 2005. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. Journal of Ethnopharmacology 97: 1- 6.
- 177 Sarni Machado P. et Cheynier V., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire, Ed.Lavoisier,398 p.
- 178 Simons, L.A. Von Konigsmark, M. et Balasubramaniam, S. 1996 Whate dose of itamin Eis required to reduce susceptibility of LDL to oxidation? Aust NZ J Med,26: 496-503
- 179 Slatnar, A., Klancar, U., Stampar, F., & Veberic, R. (2011). Effect of drying of

- figs (*Ficus carica* L.) on the contents of sugars, organic acids and phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 11696e11702
- 180 Smyth T; Ramachandran V. N.; Smyth W. F., 2009. A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents* 33: 421 - 426.
- [181] Tanouti. K, Serghini Caid .H, Abid M., Mihamou A., Khiar M., Hachem M. E., Bahetta Y. et Elamrani A. 2011. Analyse des Triglycérides et Composition en Acides Gras. *Les technologies de laboratoire*. N°23 :58-63.
- 182 Tazaïrt.B. 2006. Alimentation pour diabétiques et pour toute personne soucieuse de rester en bonne santé. Ed. El Maarifa. PP132.
- 183 Tripoli E., Guardia M L Giammanco S. Di Majo D. Giammanco M., 2007. Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: *Food chemistry* 104: 466 - 479.
- 184 Uno, K. and S.J. Nicholls (2010). "Biomarkers of inflammation and oxidative stress in atherosclerosis." *Biomark Med* 4: 361-373
- 85 Urquiaga I. et Leighton F., 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, vol .33, n, p. p.55-64.
- 186 VELASCO J., DOBARGANES C. 2002. Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal Of Lipid Science And Technology*. Vol.104. N° 9-10. p 661–676.
- 187 VELASCO J., DOBARGANES C. 2002. Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal Of Lipid Science And Technology*. Vol.104. N° 9-10. p 661–676.
- 188 Vidaud. J .Baccaunaud. M. Baud. P. Caraglio. Y. Honoré. F. Hutin. G. Pecheur .G. Roger J.P. 1997. *Le figuier* .Ed : CTIFL. Paris .PP264..
- 189 Vijaya Kumar Reddy, C., Sreeramulu, D., & Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International*, 43, 285-288
- 190 VILLEMUR, Pierre et DOSBA, Françoise. Oleiculture : évolution variétale et acquisition de maîtrise des pratiques culturelles .OCL, Octobre 1997, Vol 4, No 5, p. 5-3
- 191 Vinson JA. The functional food properties of figs, *Cereal foods world*, 1999, 44:82-86.

- 192 Vinson, J. A., Zubik, L., Bose, P., Samman, N., & Proch, J. 2005. Dried fruits:excellent in vitro and in vivo antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 24, 44-50.
- 193 Visioli, F. Bellomo, G. Montedoro, G. et Galli, C. 1995 Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*, 117: 25-32.

CHAPITRE 1

HUILE D'OLIVE

1.1 Présentation de l'olivier :

1.1.1 Histoire, Origine et répartition géographique d'olivier

L'olivier est au centre de nombreuses légendes, Arbre spécifique du bassin méditerranéen, a été depuis la nuit des temps considéré comme symbole de la sagesse, de la paix et de la richesse. La présence de l'olivier sauvage remonte aux alentours de 6000 av. JC, Le berceau de l'olivier doit se situer en Asie mineure, sa culture ne serait apparue que vers 3000 av. JC, en Palestine, en Syrie et en Phénicie. C'est en Grèce, à travers l'Anatolie, que l'olivier s'est surtout développé, avant de s'étendre vers la Crète et l'Egypte, puis vers l'ensemble du bassin méditerranéen. [7. 9.12 .31]



Figure 1.1: Centres, distribution et production d'olivier dans le monde [18]

1.1 2 Secteur oléicole dans le monde et en Algérie

Le patrimoine oléicole mondial compte actuellement environ 750 millions d'oliviers cultivés sur une superficie de 9,23 millions d'hectares. Les pays méditerranéens comptent 715 millions d'oliviers sur une superficie d'environ 8.16 millions d'hectares, soit 95 % du patrimoine oléicole mondial [5. 11.7]. L'Algérie se

positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Tunisie qui sont par ordre d'importance, les plus gros producteurs d'huile d'olive [7]. Le patrimoine oléicole algérien est estimé à 32 millions d'oliviers, ce qui représente 4,26% du patrimoine mondial. La production annuelle en huile a atteint 35.000 tonnes et celle de l'olive de table 80.000 tonnes [8].

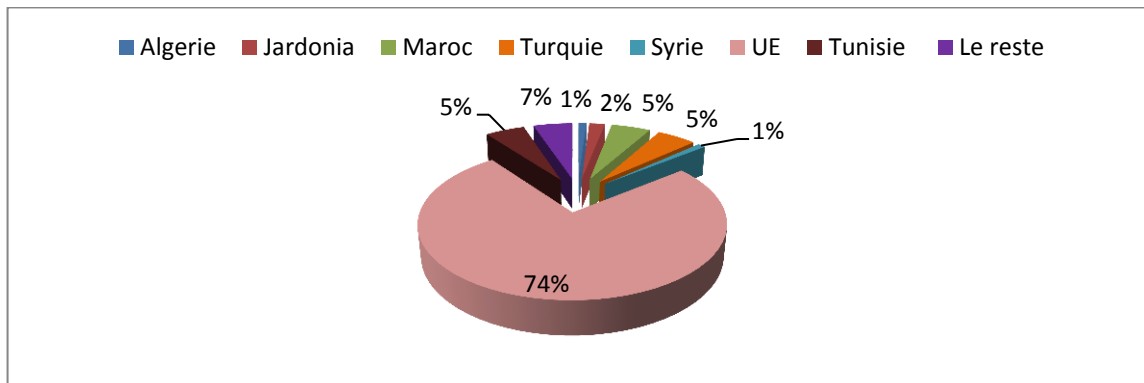


Figure 1.2: La production d'olivier dans le monde [18]

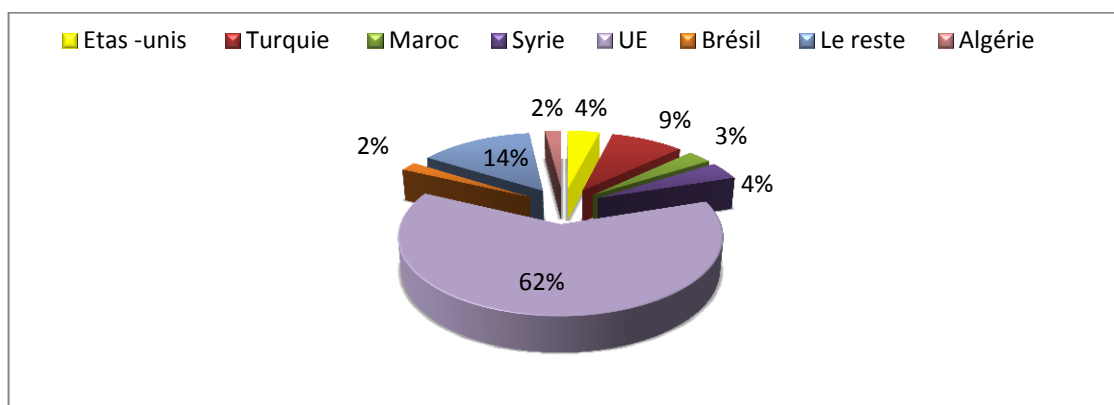


Figure 1.3: La consommation d'olivier dans le monde [18]

En Algérie, il existerait plus de 150 variétés d'oliviers [7]. Nous avons trois zones oléicoles : La zone Centre (Béjaia Tizi Ouzou et Bouira) , la zone Est (Guelma, Jijel et Skikda) et la zone Ouest (Mascara, Relizane et Tlemcen). La plupart des oliveraies (80 %) sont situées dans des zones de montagne, sur des terrains accidentés et marginaux, il existe quatre espèces :

- *SSP europaea* du bassin méditerranéen avec ses variétés *Europaea* (les

- cultivars) et *Sylvestris* (les oliviers sauvages : les oléastres) ;
- *SSP laperrinei* des montagnes sahariennes et de l'Atlas marocain (*O.laperrinei* et *O. maroccana*).
 - *SSP cerasiformis* des îles Canaries (*O.cerasiformis*) et de madère (*O. maderiensis*)
 - *SSP cuspidata* d'Asie du sud (*O.cuspidata*), d'Arabie et Abyssinie (*O.chrysophylla*) et de l'est et du sud de l'Afrique (*O.africana*)

1.1.3 Taxonomies et systématiques et description botanique

selon [7.13.14] l'olivier appartient au :

Règne	Plantae
Emb	Magnoliophyta
S/emb	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
S/classe	Dialypetales
Ordre	Lamiales
Famille	Oleaceae
Genre	Olea
Espèces	Olea europea L

L'arbre d'olivier



S/Espèces	O.europea subsp.europea var sylvestris
	O.europea subsp.europea var.europaea

L'olivier est un arbre bien adapté au climat sec et aux sols pauvres des régions méditerranéennes [17.19.20] . Cet arbre est de taille moyenne, comprise entre quatre et huit mètres de hauteur, suivant les variétés. Sa durée de vie et sa productivité peuvent dépasser une centaine d'année [22]. L'olive est une drupe de forme ovale constituée d'un péricarpe et d'un endocarpe. Elle pèse de 2 à 12 g, (Figure 1.4). Le péricarpe comprend deux parties : l'épicarpe et le mésocarpe qui représente environ 65-83 % du poids total. L'endocarpe (noyau) représente 13 % à 30 % du poids total. L'épicarpe est couvert de cire et passe du vert clair au noir quand le fruit mûrit. [74]

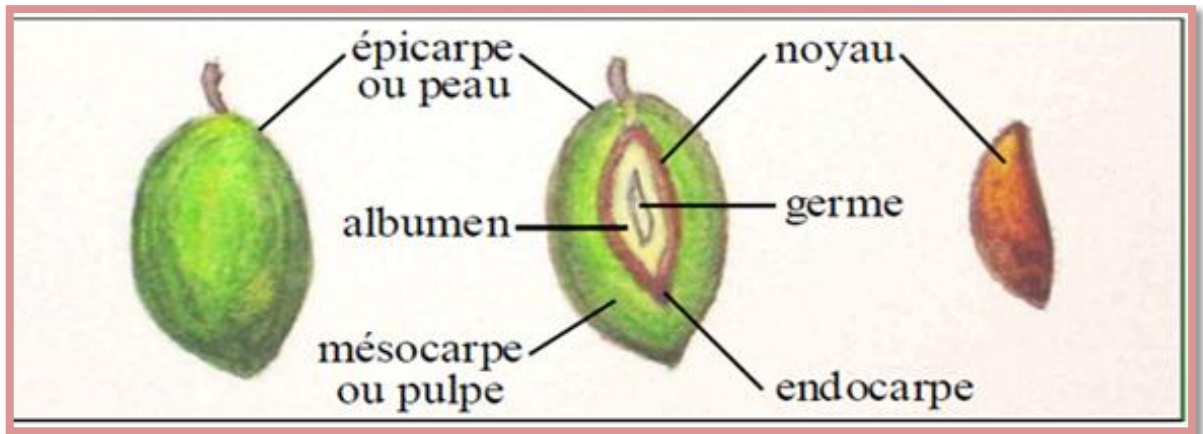


Figure 1. 4 : Composition de l'olive [23]

La maturation de l'olive est un lent et long processus qui dure plusieurs mois, La première étape de maturation (Figure 1.5), fin mai/juin-août, est connue sous le nom du stade « Vert » pendant lequel la taille du fruit augmente considérablement. Ensuite, la couleur des fruits vire au rouge-violacé, puis au noir. C'est le stade de la véraison qui survient à la mi-octobre. [24.25].

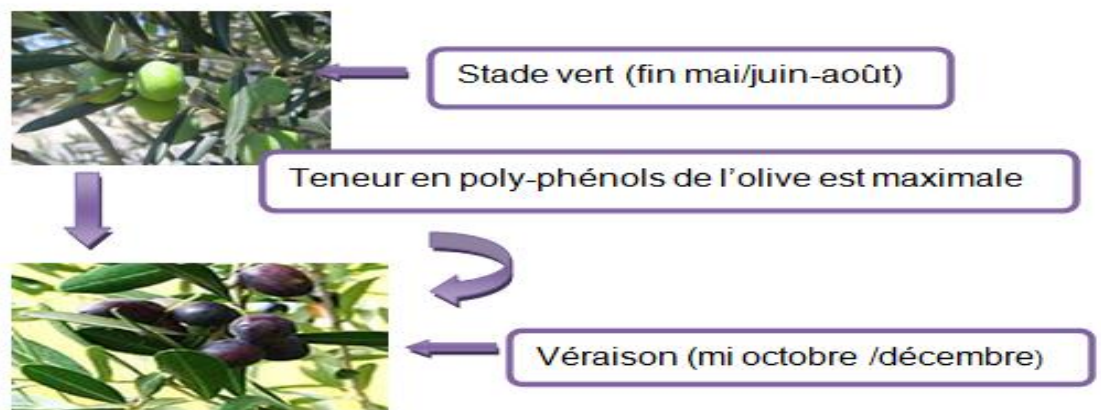


Figure 1. 5: Stades de maturation de l'olive [24].

1.2 Huile d'olive

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea sativa* Hoffm. & Link) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de ré estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature [22].

1.2 1 Technologie d'extraction de l'huile d'olive

Avec le développement du secteur oléicole, les systèmes traditionnels discontinus (lavage des olives, broyage mécanique, malaxage) sont actuellement

remplacés par des équipements modernes (Figure 1.6). Ce perfectionnement, moins onéreux, permet d'extraire l'huile en continue à travers des phases successives et la séparation par centrifugation de l'huile des eaux de végétation [21]. Trois systèmes d'extraction sont à présent utilisés (Appendice B) : procédés discontinus ou systèmes à presses et procédés continus ou systèmes à centrifugation. Ce dernier se déroule soit selon un procédé continu à trois phases ou en un procédé continu à deux phases [27.28].

1.2.1.1 Système d'extraction par presse

Les olives sont broyées et malaxées à l'aide de broyeurs comportant une ou deux meules qui tournent avec une énergie électrique. La pâte d'olive obtenue est répartie manuellement dans des sacs ou scrutins qui sont ensuite empilés sous des presses hydrauliques. Il en résulte, après pression, un résidu solide appelé grignon brut et un moût huileux constitué de l'eau de végétation (les margines) et de l'huile d'olive. La récupération de l'huile est obtenue après décantation accompagnée d'une séparation par une centrifugation [23]

1.2.1.2 Système d'extraction continue avec centrifugation à trois phases

L'extraction de l'huile d'olive se fait à travers des phases successives contrairement au procédé discontinu. Les olives sont lavées, broyées, mélangées avec de l'eau chaude et malaxées pour former la pâte d'olive qui est ensuite diluée. Les phases liquides et solides sont séparées par centrifugation donnant les grignons et le moût. Le moût subit à son tour une centrifugation pour séparer l'huile des effluents d'huileries d'olive [23.22.42]

1.2.1.3 Système d'extraction continue avec centrifugation à deux phases

Les olives subissent les mêmes étapes que celles du système précédent à trois phases. Cependant, ce présent procédé d'extraction d'huile d'olive fonctionne avec un nouveau décanteur avec centrifugation à deux phases (huile et grignons d'olives humides) qui ne nécessite pas l'adjonction d'eau pour la séparation des phases huileuses et solides contenant des grignons et les margines. Ce décanteur à deux phases permet l'obtention de rendements en huile légèrement plus élevés que ceux obtenus par le décanteur conventionnel à trois phases et le système de presse.

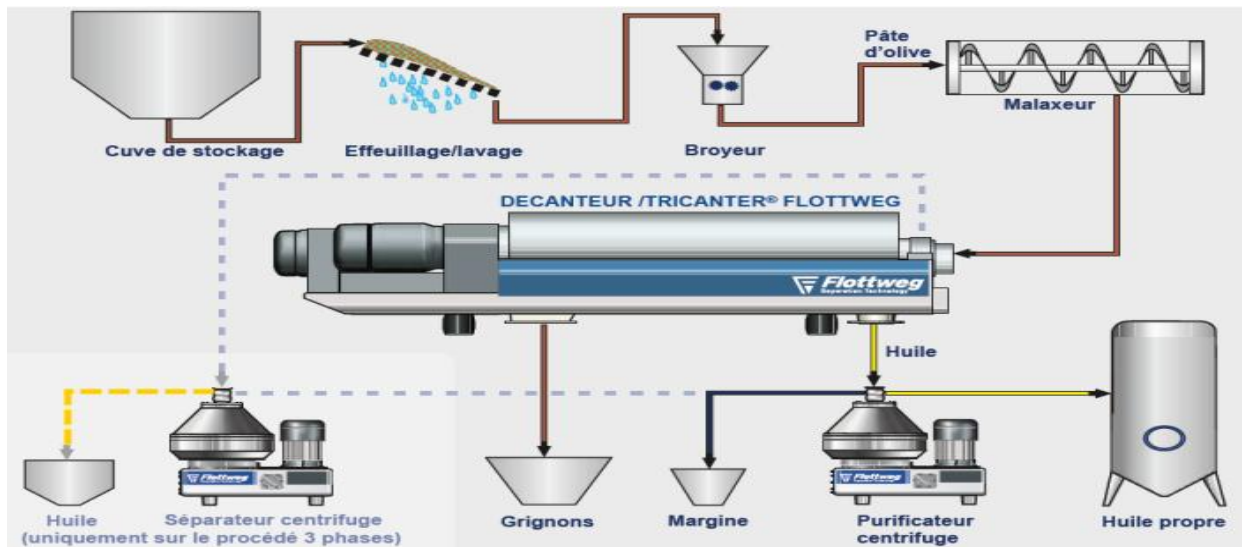


Figure 1. 6 : Les procédés modernes d'extraction de l'huile d'olive sont de deux types : à deux phases, et à trois phases [21]

1.2.2 Classification de l'huile d'olive

Différents critères permettent de diviser les huiles en différentes sous-catégories (tableau 1.3)

Tableau 1.1 : Classification de l'huile d'olive : [24]

types	Définitions	catégories	Acidité
L'huile d'olive vierge	obtenue du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques	Huile d'olive vierge extra	≤ 1 g/100
		Huile d'olive vierge	≤ 2 g/100
		Huile d'olive vierge courante	$\leq 3,3$ g/100
Huile d'olive vierge lampante	Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques	Huile d'olive raffinée	0,3 g/100
		Huile d'olive : constituée par un coupage d'huile d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges	1,5 g/100
Huile d'olive de grignon	Obtenue par extraction par solvant à partir des grignons d'huilerie	Huile de grignon d'olive crue	$\leq 0,3$ g/100
		Huile de grignons d'olive raffinée	$\geq 0,3$ g/100
		Huile de grignons d'olive	≥ 1 g/100

1.2. 3 Caractérisation de l'huile d'olive

1.2. 3 .1Caractères organoleptiques :

L'huile d'olive est un liquide limpide transparent jaune au jaune vert d'odeur caractéristique, pratiquement insoluble dans l'alcool, miscible à l'éther di éthylique et l'éther de pétrole [25].

1.2. 3 .2 Données physico-chimiques

Le COI propose une classification rapide des huiles en fonction de leur acidité libre. Cependant les critères de sélection ou d'exclusion d'une huile dans une catégorie sont très nombreux (Tableau 1.4). 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

Tableau 1.2 : Caractères physico-chimiques de l'huile d'olive [20-21]

Paramètres	Huile d'olive Vierge extra	Huile d'olive vierge	Huile d'olive courante
acidité libre (% acide oléique)	≤ 0.80	≤ 2	≤3.30
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20
Densité relative (20°C/eau à 20°C)	0,910-0,916	0,910-0,916	0,910-0,916
Absorbance dans l'ultra-violet-à 270nm	≤0 .22	≤0.25	≤3.00
-à 232nm	≤ 2 .50	≤ 2 .60	
Indice d'iode	75-94	75-94	75-94
Indice de réfraction	1 ,4677- 1 ,4705	1 ,4677- 1 ,4705	1 ,4677- 1 ,4705
Indice e saponification	184-196	184-196	184-196

Vue risque sanitaire 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. Dans une huile, les acides gras naturels sont essentiellement présents sous forme de triglycérides (98-99%). L'hydrolyse de ces derniers libère les acides gras (Figure 1.7) donc leur dosage permet d'avoir un état de l'avancement de la dégradation de l'huile .

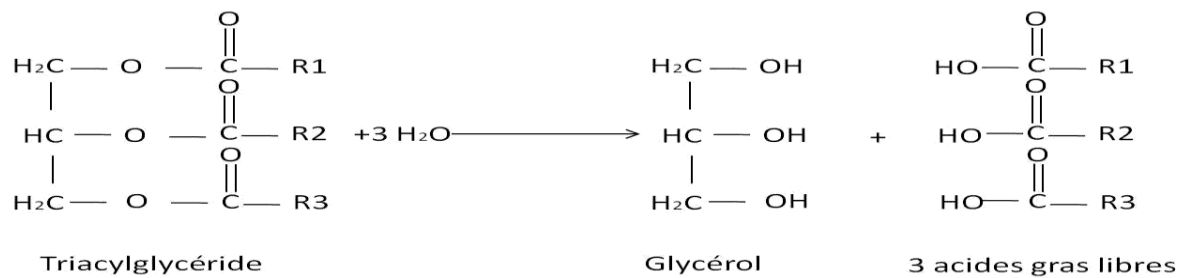


Figure 1.7 : Hydrolyse du glycérol et libération des acides gras

L'oxydation des acides gras insaturés aboutit à la formation d'hydroperoxydes (Figure 1.8) cette étape est aussi appelée initiation de la peroxydation lipidique. Ces hydroperoxydes sont instables et peuvent réagir avec d'autres molécules pour générer de nouveaux radicaux. Ceci constitue l'étape de propagation dans la peroxydation des acides gras. Topallar *et coll.* ont démontré en 1997 que l'oxydation des acides gras dépend directement de la capacité de l'oxygène à réagir avec les radicaux peroxydes. Leur dosage permet donc d'avoir un état de l'avancement ou non de l'oxydation de l'huile [5.6].

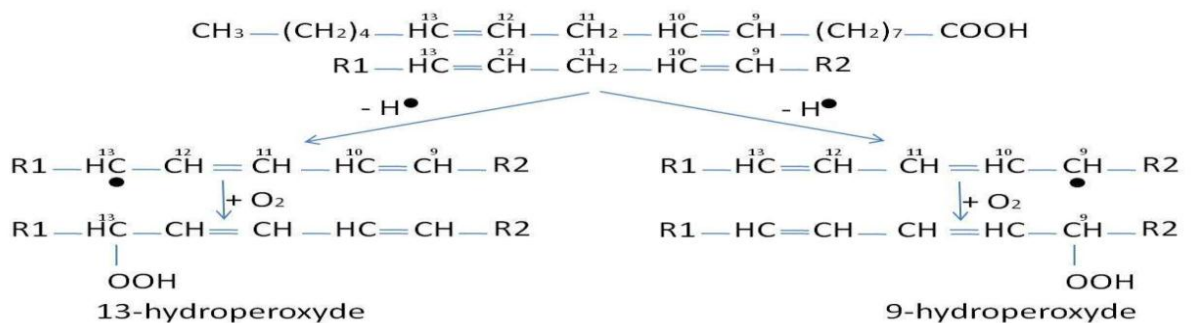


Figure 1.8 : Auto-oxydation d'acide linoléique [150]

1.2. 3.3 Caractéristiques sensorielles

Une simple analyse chimique ne peut suffire pour déterminer la qualité d'une huile. En effet, les composés volatiles qui se développent au cours du procédé de fabrication de l'huile puis pendant son stockage sont capables de modifier l'odeur et la saveur de l'huile. Pour cela une analyse sensorielle codifiée et détaillée a été développée par le COI et la Communauté Economique Européenne (CEE)

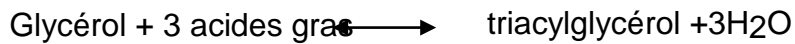
1.2.4 Composition chimique de l'huile d'olive

Les huiles d'olive vierges jouent un rôle important dans l'industrie agroalimentaire et sont importantes en nutrition humaine pour plusieurs raisons. En premier lieu car les lipides sont la principale source d'énergie pour le corps humain en comparaison de leur masse. De plus l'intérêt pour les huiles d'olive a été accru depuis la découverte de leur richesse en vitamines liposolubles et en polyphénols qui sont des antioxydants. Elles sont également une source importante d'acides gras poly-insaturés essentiels car non synthétisables par le corps humain. Si les acides gras sont les constituants majeurs de l'huile d'olive, ce sont les constituants mineurs qui permettent l'authentification d'une huile, tant sur le plan de la provenance géographique que sur sa qualité physico-chimique [36,37].

1.2.4 .1 Les acides gras

Les acides gras sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle. Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison carbone-carbone, dans ce cas les acides gras sont dits « saturés ». Elle peut également contenir une double liaison (acides gras monoinsaturés AGMI) ou plusieurs doubles liaisons (acides gras polyinsaturés AGPI). Pour les acides gras insaturés, ils sont souvent référencés selon la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyl terminal. Il existe 2 grandes familles d'AGPI : la série en n-6 (ou oméga 6) et la série n-3 (ou oméga 3). Dans l'huile d'olive on trouve de l'acide linoléique (oméga 6) et de l'acide alpha-linolénique (oméga 3).(Tableau 1.5) [52]

Ces acides gras sont dits « essentiels » car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'homme et doivent donc être apportés par l'alimentation. Dans la nature, les acides gras sont généralement sous forme de triesters entre des acides gras et du glycérol selon la formule :



Dans le cas de l'huile d'olive les triacylglycérides représentent entre 98% et 99% de la masse totale.

Tableau 1.3 : Principaux constituants de l'huile d'olive [51]

Constituants	Huile d'olive Extra vierge	Huile d'olive vierge	Huile d'olive raffinée
Sitostérol	7.3	2.3	1.1
Stigmastérol	8.2	6.4	12.0
Protéines (µg/kg)	1.76	1.76	1.76
Esters non glycéridés	100 250	100 250	100 250
Cires	≤250	≤250	≤250
Hydrocarbures			
Squaléne	4,277	ND	ND
β-carotène	0.33– 4.0	ND	11
Polyphénols			
• Lipophiles	236	164	11
α-tocophérols	300	ND	200
Tocotrienols	ND	ND	ND
hydrophiles	40-1,000	40-1,000	ND
Hydroxytyrosol Tyrosol	Principaux représentants des composés phénoliques de l'huile d'olive avec une concentration moyenne de 8mg/kg		

Quelques rares acides gras libres peuvent être trouvés et témoignent d'une oxydation du triester. La composition en acide gras est très variable et dépend de la variété d'olives, la région de production et de l'année de la récolte. Des normes telles que celle du Codex Alimentarius régulent cependant cette variabilité en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras (Tableau 1. 6).

Tableau 1.4 : Composition en acide gras d'une huile d'olive [40.42]

Acide gras	Formule brute	Ollivier et coll. (%)	Codex alimentarius (%)
Ac myristique	C14:0	Tr	<0,1
Ac palmitique	C16:0	7,5-15,6	7,5-20
Ac sapiénique	C16:1n-9	0,1-0,2	0,3-3,5
Ac palmitoléique	C16:1n-7	0,3-1,9	
Ac margarique	C17:0	<0,3	<0,5
Ac margaroléique	C17:1n-8	<0,5	<0,6
Ac stéarique	C18:0	1,4-3,4	0,5-5
Ac oléique	C18:1n-9	60,9-82,1	55-83
Ac vaccénique	C18:1n-7	0,7-3,6	-
Ac linoléique	C18:2n-6	4,5-16,1	3,5-21
Ac α -linoléique	C18:3n-3	0,4-1,2	<1,5
Ac arachidonique	C20:0	0,3-0,5	<0,8
Ac gadoléique	C20:1n-9	0,2-0,5	-
Ac béhénique	C22:0	<0,2	<0,2
Ac lignocérique	C24:0	<0,1	<1

1.2.4 .2 Les composés phénoliques

les composés mineurs tels que les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation des huiles et pour leur intérêt nutritionnel [25.17] L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité et lui confère des propriétés antioxydantes et modulent sa saveur [55]. Les composés phénoliques contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à l'amertume des huiles [25.44.47]. Différentes familles de composés phénoliques sont présentes dans les olives et dans les huiles :

- Les dérivés sécoiridoïdes qui sont des composés glycosylés issus du métabolisme secondaire des terpènes [17.49.48]. Parmi eux, l'oleuropéine (Figure 1.9 a) est le composé majoritaire dans les feuilles d'olivier et dans les olives et c'est le principal responsable de l'amertume des olives [17.60].
- Le ligstroside (un groupement hydroxyle de moins que l'oleuropéine) (Figure 1.9 b) est également présent en grande quantité dans l'olive. Cependant, lors de

la transformation en huile d'olive, ces molécules sont hydrolysées en de nombreux dérivés de masses moléculaires très variables, les plus grosses molécules résiduelles étant leurs dérivés aglycones.

-les lignanes telles que le pinorésinol, l'acétoxypinorésinol et l'acide élenolique sont également détectées dans les huiles (55.71) (Figure 1.10).

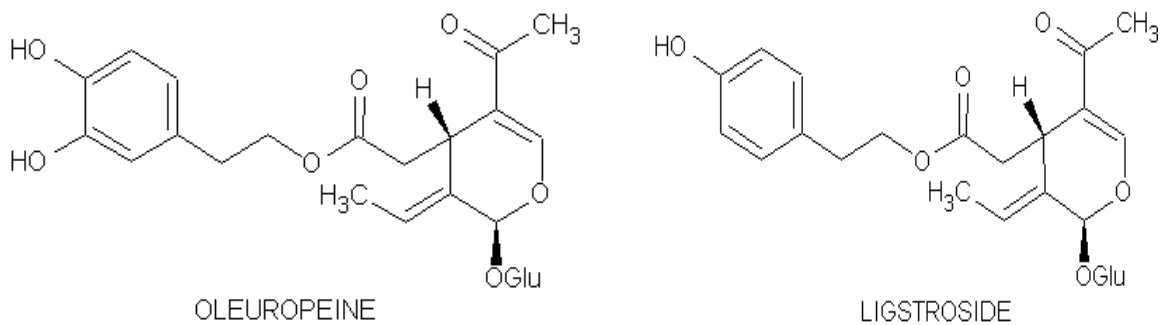


Figure 1.9 : Structure de l'oleuropéine (a) et du ligstroside (b)



Figure 1.10 : Structure du pinorésinol et de l'acétoxypinorésinol

-Des flavonoïdes font également partie des composés majoritaires trouvés dans l'huile, il s'agit de l'apigénine et de la lutéoline [171] (Figure 1.11).

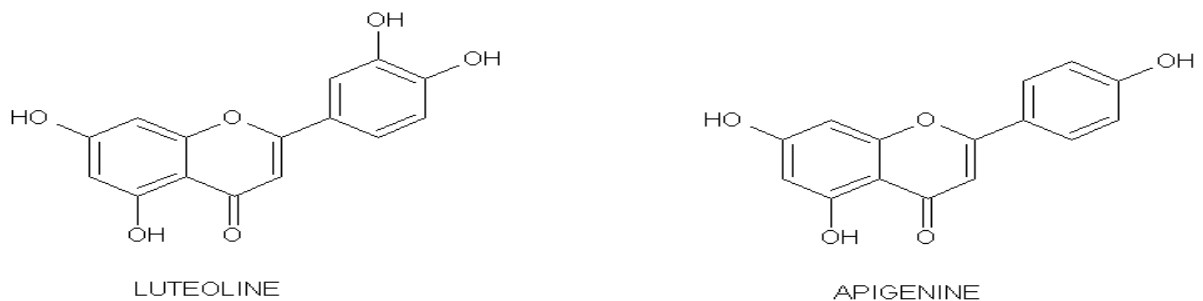


Figure 1.11: Structure de la lutéoline et de l'apigénine

-Les phénols simples : deux sous catégories avec les alcools phénoliques (Figure

1.12) et les acides phénoliques (Figure 1.13). Dans le premier groupe on retrouve l'hydroxytyrosol et le tyrosol [56.190]. Ces deux composés sont directement dérivés de l'hydrolyse de l'oleuropéine et du ligstroside. Dans le groupe des acides phénoliques on peut citer l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique ou encore l'acide vanillique qui sont également généralement retrouvés dans les huiles [57.161].



Figure 1.12 : Structure de deux alcools phénoliques : l'hydroxytyrosol et le tyrosol

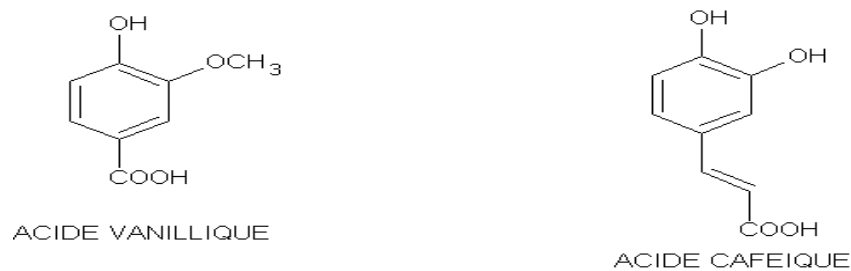


Figure 1.13 : Structure de deux acides phénoliques : l'acide vanillique et l'acide Caféique

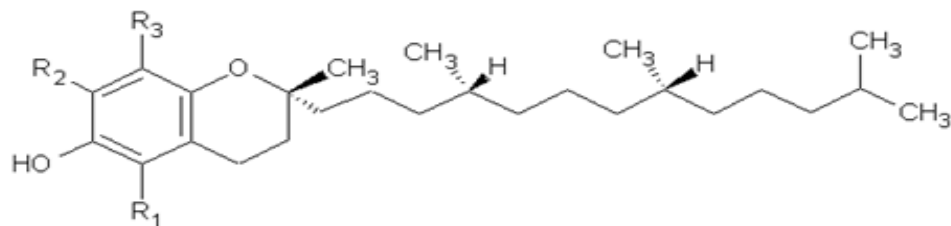
Les composés phénoliques sont très variables d'une huile à une autre, tant sur le plan quantitatif que qualitatif. Il est généralement admis que l'activité phénolique se situe entre 200 et 600 mg d'équivalents d'acide gallique par litre d'huile. Si la composition phénolique peut servir de marqueur pour l'identification des huiles c'est parce que l'origine géographique a une forte influence sur le développement de certains phénols [133]. Le second facteur influençant la composition phénolique est la culture de l'olivier, notamment les systèmes d'entretien des arbres ou les systèmes d'irrigation [170].

En effet, un stress hydrique engendrera une plus grande richesse des huiles en composés phénoliques. Si l'entretien des parcelles ainsi que les systèmes d'irrigation peuvent être optimisés ou standardisés, le facteur climatique ne peut pas être maîtrisé par les oléiculteurs or différentes conditions météorologiques

engendreront des compositions phénoliques très variables. Enfin le facteur le plus déterminant de tous est la variété des olives cultivées. De nombreuses études ont montré que certaines variétés d'olives étaient plus riches en composés phénoliques que d'autres [170].

1.2.4.3 Les tocophérols

Les tocophérols (Figure 1.14) sont reconnus pour leur double action bénéfique. En effet ils ont tout d'abord l'atout d'être une vitamine (vitamine E) et ils ont également une forte activité anti oxygène [48]. La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable puisqu'elle a été reportée dans une gamme allant de quelques mg à 450 mg/kg d'huile [53]. L'alpha-tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols [52]. Mais on trouve également un peu de beta et gamma tocophérols, alors que le delta tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces [57].



	R1	R2	R3
Alpha-tocophérol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
Beta-tocophérol	CH ₃	H	CH ₃
Gamma-tocophérol	H	CH ₃	CH ₃
Delta-tocophérol	H	H	CH ₃

Figure 1.14 : Structure des tocophérols

1.2.4.4 Les composés aromatiques

Si l'huile d'olive est intéressante d'un point de vue nutritionnel, elle est surtout appréciée pour son goût et ses arômes particuliers. Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 300 Da) possédant une volatilité à température ambiante.

L'odeur de l'huile est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez [63]. Ces composés volatiles sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras. D'une manière

générale, les enzymes endogènes présentes dans l'olive, vont dégrader les acides gras par des voies de lipoxygénase et ces produits de dégradation vont être associés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olive. A l'inverse, les produits d'oxydation chimique ou dus à des enzymes exogènes (activité microbiologique) seront généralement associés aux défauts sensoriels [64].

Plus de 70 molécules composent la fraction volatile des huiles d'olive. Elles sont réparties en aldéhydes, alcools, esters, hydrocarbures et cétones. La majorité des composés a 5 ou 6 atomes de carbone (Figure 1.15) et parmi eux on trouve l'hexanal, le trans-2-hexenal, l'hexan-1-ol et le 3-méthylbutan-1-ol [59].

Aucune de ces molécules ne peut être à elle seule responsable d'un arôme caractéristique d'une huile, cependant des corrélations positives ou négatives ont été observées entre concentration de certaines molécules et développement de certains attributs de l'huile. Ainsi le 1-penten-3-one est positivement corrélé à la sensation d'amer alors que le 3-hexen-1-ol et l'hexanal sont eux corrélés de façon négative avec l'amertume [59]. De même, concernant la sensation de piquant, le 1-penten-3-one est positivement corrélé à la sensation de piquant alors que le 2-hexenal et l'hexanal sont eux corrélés de façon négative avec le piquant [60].

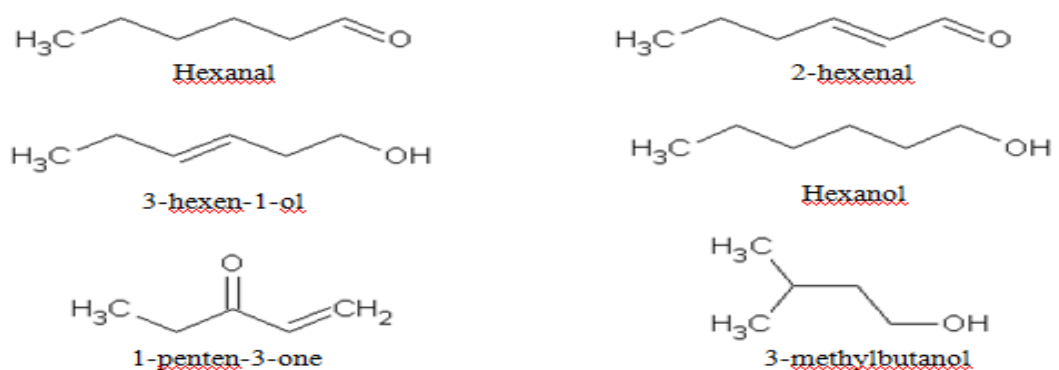


Figure 1.15 : Structure chimique des composés volatiles majoritaires

1.2.4.5 Les stérols

Les stérols sont présents dans l'huile d'olive sous forme libre et estérifiée avec les acides gras. En général, le contenu en stérols totaux est d'environ 100 –

300 mg pour 100g de l'huile []. Les principaux stérols de l'huile d'olive sont présentés dans le tableau 1.5

Tableau 1.5 : Composition de l'huile d'olive en stérol [63]

Stérols	% des stérols totaux
β -sitostérol	70 – 90
Δ - 5 avenasterol	5 – 20
Campestérol	1 – 5
Stigmastérol	0 ,5 – 2
Cholestérol	< 0,5

1.2.4.6 Autres composés

L'huile d'olive contient de nombreux autres composants qui sont

- Les hydrocarbures (Squalène : 1,5 mg/ kg et β - carotène).
- Les alcools terpéniques (cycloarténol, favorisant l'excrétion fécale du cholestérol).
- Les phospholipides (phosphatidylcholine et phosphatidyléthanolamine).
- Les substances colorantes (caroténoïdes, chlorophylles)

1.2.5 Conditions de stockage de l'huile d'olive

Durant son stockage, l'huile d'olive peut subir des changements organoleptiques caractérisés par l'augmentation de l'acidité (due à l'action des lipases) et le développement des réactions de rancissement. Pour cela, un ensemble de précautions doivent être mises en place pour le stockage de l'huile d'olive :

- ❖ Réservoir pour le stockage devraient être construits en matière inerte et imperméable
- ❖ L'huile doit être abritée de l'air, de la lumière, et de la fluctuation de la température.

❖ L'huile doit être conservée à l'intérieur de la chambre de stockage. Si le stockage a lieu à l'extérieur, les réservoirs doivent être revêtus d'un revêtement extérieur pour éviter les changements extrêmes de température. stockée à une température entre 12 - 18 °[65]

1.2.6 Variabilité externe influençant l'oxydation de l'huile d'olive

1.2.6.1 Influence de la température et de la concentration en oxygène.

Joaquin veslasco et al 2005 ont expliqué les différentes étapes de l'oxydation de l'huile d'olive à différentes température :

❖ La solubilité de l'oxygène est très élevée à température ambiante ou à basse température. Pendant la phase de propagation, l'oxygène réagit rapidement avec les radicaux alkyl R* pour générer les hydroperoxydes ROOH.

❖ La cinétique de formation du ROOH est largement élevée par rapport à leur décomposition. Par contre, lorsque la température augmente, la solubilité de l'oxygène diminue considérablement. La réaction d'initiation devient plus importante et la concentration des radicaux libres ROOH augmente. Ceci entraîne la formation des polymères, une réaction faisant intervenir les radicaux alkyl R° et les radicaux alkoxy RO° [140]

1.2.6.2 Effet des métaux

L'initiation de l'oxydation lipidique par les métaux peut se faire par transfert d'électron ou par formation de complexe de transition ou de complexe avec le peroxyde d'hydrogène qui catalysent l'auto-oxydation et la décomposition par la réaction redox. Les traces de métaux pro-oxydants (fer et cuivre sous forme libre) augmentent les cinétiques de formation des radicaux et de décomposition des hydroperoxydes pour des teneurs faibles [66.67].

1.2.6.3 Effet de la lumière

Les photosensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes [70]. Les photosensibilisateurs de type I, telle que la riboflavine, agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, ils arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour

former un radical capable de réagir avec l'oxygène [71]. Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité avec l'oxygène triplet auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet. L'oxygène singulet ainsi formée est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxyde ROOH. Par la suite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'autooxydation. [78]

1.2.6.4. Effet des enzymes.

Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase [68], qui incorporent deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques. [69]. L'oxydation enzymatique se produit même à basse température. Durant le stockage à l'état congelé, l'activité enzymatique est très faible. Cependant, une fois la décongélation amorcée et des températures de 0°C à 4°C atteintes, il semblerait que cette activité reprenne et s'accroisse [70]. Ces enzymes peuvent être inhibées par les tocophérols (vitamine E) qui sont des antioxydants naturels. [70]

1.2.7 Les bienfaits de l'huile d'olive

Les propriétés nutritionnelles et les bienfaits de l'huile d'olive sur la santé ont fait l'objet de beaucoup de recherches ces derniers temps, bien que de nouvelles recherches reconnaissent et confirment tous les jours les vertus de ce produit, il reste encore beaucoup à découvrir à son sujet.

Les maladies cardio-vasculaires par athérosclérose représentent la première cause de mortalité dans les pays industrialisés. [147]. L'huile d'olive riche en polyphénols permet la prévention et le traitement des maladies cardio-vasculaires. En effet, les polyphénols de l'huile d'olive favorisent la réduction de la présence des molécules d'adhérence cellulaire, augmentent la disponibilité du monoxyde d'azote, suppriment l'agrégation plaquettaire, stimulent les antioxydants endogènes des LDL pour retarder l'artériosclérose et réduisent les réactions inflammatoires. L'hydroxytyrosol, puissant composé phénolique de l'huile d'olive,

augmente la production de mitochondries. Le nombre élevé de mitochondries dans la cellule est un indicateur de la jeunesse du corps et de la bonne santé.

L'oleuropéine et l'hydroxytyrosol sont des agents utiles pour inhiber la fusion et l'intégration du VIH dans les cellules humaines et ils sont de puissants protecteurs contre le cancer. Ces composés naturels sont aussi d'excellentes substances pour le traitement du cancer. Plusieurs études ont montré la capacité de l'hydroxytyrosol à retarder ou à empêcher la croissance d'une gamme de bactéries et des champignons y compris les bactéries pathogènes pour l'homme (agents pathogènes humains). Il a été rapporté que *l'eau de végétation résultant* de l'extraction de l'huile d'olive est toxique pour les bactéries phytopathogènes *Pseudomonas syringae* (Gram-négatif) et *Corynebacterium michiganense* (Grampositif).[116.117]

Les polyphénols d'olives sont efficaces contre l'hyperglycémie et peuvent jouer un rôle dans la prévention des complications diabétiques associées au stress oxydatif. L'huile d'olive peut prévenir contre la maladie d'Alzheimer, Les études épidémiologiques indiquent que la consommation d'huile d'olive peut retarder le déclin cognitif. [93.104]

L'huile d'olive joue un rôle fondamental pour le fœtus au cours de la période de gestation. La vitamine E qui est présente dans le sang de la femme enceinte se concentre au cours de l'accouchement dans la glande mammaire, ce qui permet à la mère de continuer à apporter cette vitamine à son bébé pendant l'allaitement. Le maintien des niveaux de cette vitamine au cours de l'allaitement est fondamental. L'huile d'olive fournit non seulement une quantité d'acides gras essentiels suffisante pour le développement du nouveau-né mais également un rapport acide linoléique/acide linoléique (les deux acides gras essentiels) similaire à celui du lait maternel [99.100].

L'huile d'olive réduit le risque de reflux d'acidité de l'estomac vers l'œsophage. Elle exerce sur le système hépatobiliaire une action cholagogue et cholécystokinétique, double action garantissant un drainage biliaire optimal et une vidange complète de la vésicule. Sur l'intestin grêle, l'huile d'olive empêche

partiellement l'absorption du cholestérol, grâce au sitostérol qu'elle contient, et favorise l'absorption de divers éléments (calcium, fer, magnésium, etc.) [112.116].

Les acides gras mono insaturés de l'huile d'olive la rendent plus résistante à la chaleur. C'est pourquoi l'huile d'olive peut être réutilisée pour la friture sans subir d'hydrogénation ou d'isomérisation [50]. Des études récentes [52] indiquent que l'emploi de l'huile d'olive permet de réduire les doses quotidiennes d'anti-hypertenseurs, probablement en raison des niveaux supérieurs d'oxyde nitrique favorisés par les polyphénols de l'huile d'olive. Un régime alimentaire riche en huile d'olive ne constitue pas seulement une bonne alternative au traitement du diabète sucré [53] mais permet également de prévenir ou de ralentir l'apparition de cette maladie. Différentes études épidémiologiques ont également permis de démontrer que l'huile d'olive a un effet protecteur contre certains types de tumeurs malignes (sein, prostate, endomètre, tractus digestif, etc.) [55]

Il a été démontré que l'huile d'olive renforçait le système immunitaire contre les attaques externes provoquées par des micro-organismes tels que les bactéries et les virus [72]. L'huile d'olive est également bonne pour le cerveau, d'après les résultats obtenus par Caruso *et al.*, de l'université de Bari, en 1999. La consommation d'huile d'olive protège les individus contre la détérioration des fonctions cognitives provoquée par le vieillissement et contre la perte de mémoire liée à l'âge. Dans une étude intitulée OLIVE, Colquhoun et Weyers, de l'université de Queensland (Australie), montrent que le régime alimentaire méditerranéen a non seulement un effet positif dans la prévention des récives d'accidents coronariens mais également, pour la première fois, que l'huile d'olive a un effet positif sur la dépression. L'huile d'olive a un effet favorable dans la calcification osseuse et le fait de la consommer permet d'améliorer la minéralisation osseuse [73]

L'huile d'olive est la matière grasse la plus digeste et celle qui est le plus facilement absorbée par l'organisme. Elle a également un léger effet laxatif qui aide à lutter contre la constipation [77]. Il a été démontré qu'une alimentation à base d'huile d'olive permet d'obtenir une perte de poids plus importante et plus durable qu'un régime pauvre en graisse. Le régime à base d'huile d'olive est mieux toléré grâce à la saveur agréable de l'huile d'olive qui favorise la consommation des légumes verts [75]

CHAPITRE 2

LE FIGUIER ET LA FIGUE

2-1 Le figuier (*Ficus carica* L.)

2.1.1 Origine géographique et botanique de figuier

Le figuier (*Ficus carica* L.), souvent évoqué dans les textes anciens, appartient à la famille botanique des Moracées, au genre *Ficus*, qui comprend 700 espèces [70]. Originaire d'Asie occidentale, peut-être aussi d'Afrique du Nord et des îles Canaries, il provient très probablement de l'hybridation de plusieurs espèces sauvages. La culture du figuier était déjà bien connue des 3000 avant J.C, cet arbre s'est dispersé dans plusieurs régions du monde : en Amérique, en Afrique et en Australie. Le figuier a été cultivé par les Phéniciens, les Syriens, les Égyptiens et les Grecs dans tout le bassin méditerranéen. [50-60]



Figure 2.1: la production de figuier dans le monde [70]

2.1.2 Secteur figuicole dans le monde et en Algérie

L'essentiel de la production mondiale est assuré par les pays du Bassin Méditerranéen [70] (Figure 2.1). En Algérie, sa production est concentrée dans les régions montagneuses de la Kabylie. C'est justement là où elle revêt, pour des considérations alimentaires, économiques et socioculturelles, une grande importance pour la population locale.

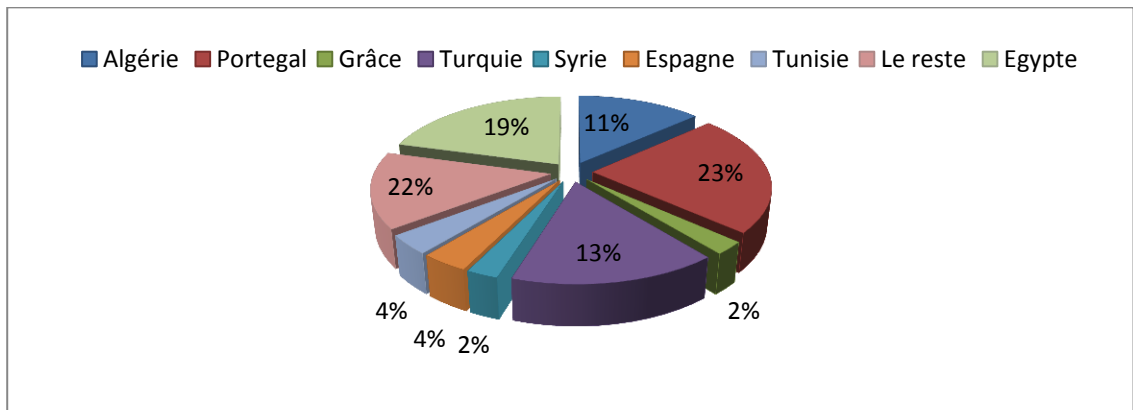


Figure 2.2 : Les superficies occupées par le figuier FAO 2008

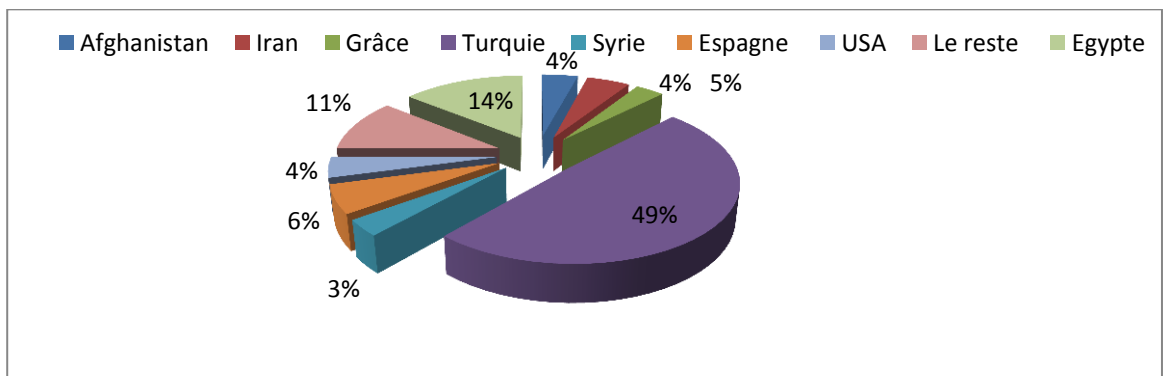


Figure 2.3: La répartition de l'exportation de la figue sèche FAO 2008

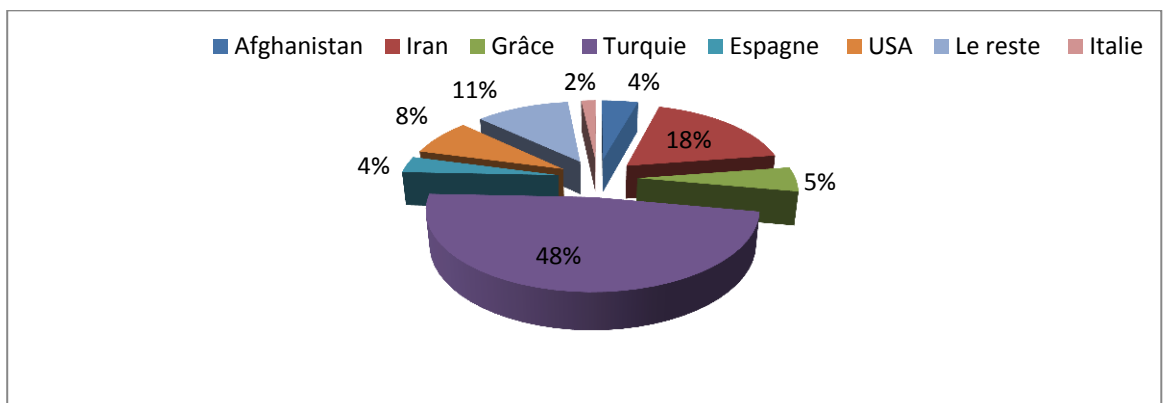


Figure 2.4 : La répartition de production de la figue sèche FAO 2011

2.1.3 Classification, Description botanique et systématique de figuier

Les figues sont généralement classées [70.61]

- La forme horticole

- Les figuiers bifères ou Bakors : avec deux productions qui sont les figes fleurs en juillet et les figes d'automne.

b.Les figuiers unifères : donnant une production en automne avec plusieurs générations échelonnées.

- Les caprifiguiers ou dokkars (figuiers mâles) : ayant trois productions qui sont les mames, les profichis et les mammonis.

La classification botanique du figuier telle que l'a décrite et la suivante : [70.94]

Règne	Plantae
S/règne	Tracheobionta
Emb	Spermaphytes
S/ emb	Angiospermes
Dévision	Magnoliophyta
Ordre	Urticales
Famille	Moracée
Genre	Ficus
Classe	Magnoliopsida
S/ classe	Dilleniidae
Espèces	Ficus carica.L



- L'arbre

Le figuier est un arbre ou arbrisseau de « 4 à 5 mètres » de haut, il est quelquefois sarmenteux [82]. C'est une espèce dioïque avec des feuilles caduques et polymorphes, un port buissonnant qui présente à sa base des rejets. [84] ; Il entre en production à partir de sa 5^{ème} année. Cet arbre peut atteindre 12 à 15 mètres de hauteur dans les régions septentrionales [85]

- Les racines

La densité du chevelu racinaire assure l'alimentation de l'arbre en eau et en éléments nutritifs. Le système racinaire est développé surtout dans les milieux drainants où les racines peuvent croître rapidement et atteindre une grande surface. [70]

- Les organes aériens
 - ✓ Les feuilles

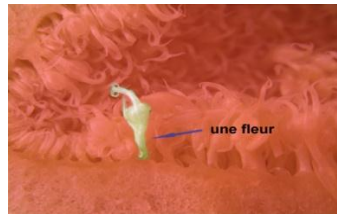
Le figuier a des feuilles simples à nervation palmée [70], grandes et très décoratives, mesurant « 10 à 20 cm » de long. Elles sont profondément découpées en 3 à 5 lobes [76] Le tronc est trapu et épais. Il peut dépasser « 1 m » de circonférences. Sa cime, constituée de rameaux gros et glabres, couvre une grande surface [73]. Son écorce est lisse et de couleur gris clair [70]

- ✓ Les fleurs

Les fleurs sont petites et unisexuées, monoïques, apétales, enfermées dans une inflorescence. Cette dernière est une urne piriforme avec un réceptacle globuleux plus ou moins ouvert en haut et renfermant des fleurs mâles dans la partie supérieure et des fleurs femelles dans la partie inférieure [73]. Le fruit ou figue est un réceptacle charnu contenant de nombreux akènes grossissant après fécondation de la fleur [75]. Les fruits sont d'abord verts puis au fur et mesure qu'ils mûrissent deviennent violets verdâtres. Elle a une saveur aromatique



Feuille



Fleur



Début de fructification



Figues fraîches



Figues séchées blanches



Figues séchées noires

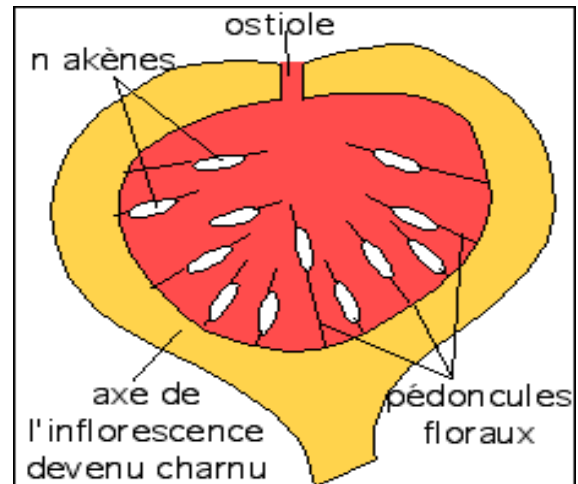
Figure 2.5: Feuillage, inflorescences et fructification du figuier

2.2 La figue

La figue est un faux fruit, une inflorescence en forme d'urne, qui ne s'ouvre jamais appelée sycone possédant une petite ouverture, l'ostiole. De minuscules fleurs femelles en tapissent l'intérieur [12] , de forme sphérique ou ovoïde, présentant un téton sur le quel est fixé la queue qui le rattache (fig.) le poids du fruit varie selon les variétés de 30 à 65 g [73].



Détail d'une coupe longitudinale



Interprétation schématique

Figure2.6 : caractéristiques de fruit *Ficus carica*

2.2.1 Croissance et maturation des figues

La maturité des figues est un paramètre déterminant sur la qualité du fruit sec, la couleur et la fermeté du fruit étant les critères généralement employés pour déterminer la date optimale de récolte. [12]

2.2.2 Composition et valeur nutritive des figues sèches

La composition de la figue séchée est bien différente de celle de la figue fraîche (Tableau 2.4) avec un apport moyen de 250 Calories (1045 K joules) /100 g ; la figue sèche se situe parmi les fruits fortement énergétiques, elle dépasse les prunes (109 K Calories)/100g ou de la pomme (91 K Calories)/100g [79]

Tableau 2.1 : les stades de Croissance et maturation des figues

Stades	Croissance de fruit	Diamètre du fruit (mm)	Longueur du fruit	TTS(%)
Stade 0	Fruit immature, dur, dont la croissance n'est pas encore achevée	-	-	-
Stade I	Fruit vert, dur, dont la croissance est achevée coloration peu importante occupent moins de 1/3 de la surface, Œil complètement fermée	5,87	5,72	15,52
Stade II	Fruit peu mur, ferme coloration occupant, 1/3 à 2/3 la surface aucune craquelure sur l'épiderme, commercialisation nationale ou internationale	5,61	5,75	17,70
Stade III	Fruits mur, moins ferme, coloration occupant plus de 2/3 de la surface ; œil plus ouvert, épiderme pouvant être craqué, fruit destiné à un marché local	5,94	5,95	13,70
Stade IV	Fruit mur, mou, coloration totale, consommable mais non commerciale	5,56	5,28	45

2.2.2.1 Les lipides

Le taux des lipides ne dépasse pas 1,20 g/100g, ils jouent un rôle essentiel dans la vie végétale de la figue et ont un intérêt nutritionnel majeur selon une recherche effectuée dans l'université de new jersey USA, (Tableau 2.5)

Tableau 2.2 : Composition moyenne des figes séchées en acides gras

Composant	Concentration /100g
Acides gras totaux	0,27g
Acides gras total libre	0,204 g
Les acides gras saturés	0,060 g
14 :00 acide myristique	0,008 g
16 :00 acide palmitique	0,16 g
18 :00 acide stéarique	0 ,0042
18 :1, n-9 acide oléique	0,23 g
Acide gras 18 :2 cis, n-6 (acide linoléque)	83mg
Acide gras 18 :3 n-3 cis (acide alpha linoléique)	12mg
cholestérol	0
Phytostérols totaux	48,2mg

2.2.2.2 Les polyphénols

Les figes contiennent différents antioxydants, particulièrement des composés phénoliques de la famille des flavonoïdes (quercitine 0.93mg/100g, Cathechine 0.15g/100G et Epicatechine 0.02 mg/100G) et α tocophérol, [78]. Elles sont reconnues pour avoir de nombreux composés bioactifs tels que l'arabinose, les β amyrynes, β -carotènes, β sitostérols, xanthotoxol et des glucosides [78].

La pelure des figes, qui est habituellement consommée, contient la majorité des antioxydants du fruit. Les figes de couleur foncée contiendraient davantage d'antioxydants que les variétés de couleur plus pâle, dans une étude [79] en utilisant la RMN à proton et RMN de carbone, ils sont identifié quatre autres anthocyanines, dont cyanidin-3-O-glucoside était un composant plutôt mineur, tandis que le cyanidin-3-rhamnoglucoside (C3R) s'est avéré le colorant principal dans l'épluchure de fruit. Cette anthocyanine a été identifiée dans d'autres fruits tel que les olives [80]

Tableau 2.3 : composition moyenne des figes séchées et des figes fraîches

	Constituants	unité	Figue fraîche	Figue séchée
Apport Énergétique		K calories	74,00	250,00
		K joules	230,0	1045
Macronutriments	Eau	g/100g	79,5	25 ,00
	Glucides	g/100g	19,18	53,00
	Protéines	g/100g	0,90	3,20
	Lipides	g/100g	0,20	1,20
	Fibres alimentaires	g/100g	2,30	11,00
Minéraux	potassium	mg/100g	232 ,00	770,00
	phosphore	mg/100g	23,00	71,00
	calcium	µg/100g	60,00	160,00
	magnésium	mg/100g	18,00	62 ,00
	sodium	mg/100g	3,000	14,00
	Fer	mg/100g	0,78	2 ,500
	Cuivre	mg/100g	0,070	0,550
	Zinc	mg/100g	0,260	0,500
	Fluore	mg/100g	0,020	0 ,071
	Iode	mg/100g	0,01	0,004
Vitamine	Vitamine C	mg/100g	5,00	1,00
	Provitamine A	mg/100g	0,046	0,080
	Vitamine K	mg/100g	-	21,31
	Vitamine E	mg/100g	-	2,9
	Vitamine B1	mg/100g	0,050	0,080
	Vitamine B2	mg/100g	0,060	0,090
	Vitamine B3	mg/100g	0,460	0,800
	Vitamine B5	mg/100g	0 ,300	0,440
	Vitamine B6	mg/100g	0,110	0,220
	Vitamine B9	mg/100g	0,007	0,013

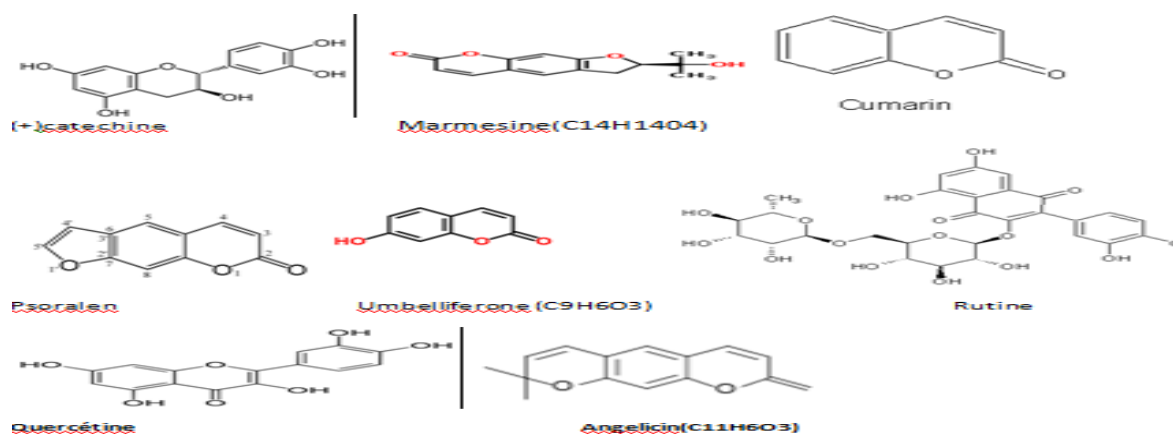


Figure 2. 7 : Structures moléculaires des principaux phénols dans les figes

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, ils sont particulièrement abondants chez les rosacées [79]. La teneur dans les figues atteint une valeur de 1861mg/Kg de fruits [80]. Les composés phénoliques les plus fréquents dans les figues sont les acides cinnamiques de concentration de 85,87 à 154,17mg/kg [82]. (L'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide ferarique et l'acide sinapique) [83]. Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, sont les composés principaux d'isolement dans l'extrait volatil des figues [79] en effet, la teneur des coumarines des figues est 0.5 [82].

2.2.2.3 Fibres alimentaires

Les figues séchées ont un taux de fibres plus élevé que n'importe quel autre fruit ou légume, une seule figue séchée fournit 2 g de fibres : 20% de la consommation quotidienne [81] plus de 28% sont de type soluble qui a montré leur efficacité dans le contrôle de la glycémie, du cholestérol et la perte de poids [81] .Elles sont constituées pour les 2/3 par des fibres insolubles (qui forment les parois cellulose et les petits grains présents dans la pulpe) et pour 1/3 par des fibres solubles (pectine, amidon résistant , gomme et inuline) [77]. En effet des investigations suggèrent que les fibres solubles et insolubles fonctionnent mieux ensemble [81].

2.2.2.4 Vitamines

Le séchage des figues entraîne la concentration des vitamines sauf pour la vitamine C, les vitamines du groupe B sont nombreuses et à des taux comparables à ceux des autres fruits , les vitamines B3 et B5 sont les plus abondants , la vitamine B6 atteint un taux de 0,22mg/100G , il est nécessaire pour assurer la solidité de l'armature du collagène grâce au pontage des brins protéiques par l'hydroxydase chez l'animal un déficit en vitamine B6 empêche la formation osseuse et la consolidation des fractures [82] .La provitamine A ne dépasse pas la valeur assez modeste de 0,08 mg/100g plusieurs caroténoïdes y compris la lutéine, la cryptoxanthine , la lycopène , le b carotéine et le R carotéine ont été identifiés dans la figues [83] D'après [91] la figue contient un bon rapport en vitamine du groupe B, mais pauvre en vitamine C,

2.2.2.5 Les minéraux et les oligo-éléments

La teneur en minéraux est de l'ordre de 1200mg/100g, comme dans la majorité des fruits, le potassium arrive largement en tête, il constitue près de 40% du total (770mg/100g), le calcium est particulièrement abondant, puisque il atteint 160mg/100g (tableau) soit un taux supérieur à ce qu'on trouve dans l'orange considérée comme une très bonne source de calcium, Les phosphore et le calcium atteignent aussi les niveaux appréciables (71mg et 62mg/100g) [34], en effet 40gramme de figes contiennent 308 mg de potassium (8% des besoins quotidiens) 64 mg de calcium (7% des besoins quotidiens) et 1,2mg de fer (6% des besoins quotidiens). En terme de teneur en calcium une caisse de figes séchées contient le même taux de calcium qu'une caisse de bouteille de lait [79] en plus le potassium dans la figue peut également contrecarrer la perte urinaire accrue de calcium provoqué par les régimes de haut sel, de ce fait aidant à prévenir contre l'ostéoporose [82] L'oligo-élément le plus important dans les figes sèches est le fer car il est accompagné de petite quantité de cuivre de zinc de bore de magnésium, on a aussi identifié la présence de fluor, de sélénium et d'iode [83]

2.2.2.6 Les glucides

Quatre vingt cinq pour cent des hydrates de carbone dans les figes sèches sont des sucres [80] Sont responsables de l'essentiel de l'apport énergétique de la fige. Leur teneur moyenne est de 53 g/100g mais peut varier de 48,6 à 61,6 g en fonction de la variété, de la date de maturité et de l'ensoleillement. Il s'agit en majorité de sucres simples : fructose (15,5g/100g) glucose (21,7 g/100g), [84]

2.2.3 Séchage des figes

2.2.3.1 Aptitude à la conservation des figes

2.2.3.1.1 Figes fraîches

La récolte des figes fraîches est effectuée au moment où elles cèdent sous la simple pression des doigts. A ce moment l'ostiole est entrouvert et la peau généralement fendillée [83] la fige doit être enveloppée pour sa bonne

conservation. La durée de conservation du fruit à 25° C est de 24 heures, et de l'ordre d'une semaine en chambre froide, à la température de 4 à 5° C. Les variétés à peau noire et violette sont consommées fraîches, alors que les variétés à peau verte sont le plus souvent séchées. [85]

2.2.3.1.2 Figues séchées

La récolte des figues séchées est différente de la récolte des figues à consommer fraîches. Les figues destinées à être séchées doivent être laissées sur l'arbre pour la surmaturation. Une fois qu'elles perdent leur eau, qu'elles sont partiellement séchées et qu'elles se ratatinent, une couche d'abscission se forme et les figues se détachent naturellement de l'arbre et tombent sur le sol [79]

Les figues après triage, sont trempées pendant un temps qui varie selon les variétés (trente cinq (35) à cinquante (50) secondes) dans de l'eau bouillante contenant 4 kg de sel marin pour 100 litres. Elles sont ensuite soumises à l'action de vapeur d'anhydride sulfureux (2 kg de soufre par tonne de fruit frais) pendant 2 heures, ce qui améliore leur couleur et leur assure une meilleure conservation [80] . Dans les séchoirs artificiels, les figues sèchent plus rapidement et les produits obtenus sont plus hygiéniques et moins endommagés par les insectes et animaux nuisibles. Les concentrations d'aflatoxines sont également plus basses [84] .Quant au séchage naturel par l'utilisation de la chaleur solaire, les figues sont disposées sur des claies étalées à proximité des chambres de sulfitage et sur un terrain bien ventilé [85] .

Les claies de séchage qui sont placées de 10 à 15 cm au-dessus du sol sont préférables afin d'éviter la contamination des fruits par les matières étrangères comme les particules du sol ou les parties de végétaux. Comme les fruits bénéficient de la chaleur au niveau du sol et qu'ils sont bien aérés, ils peuvent ainsi sécher rapidement, les pertes dues aux maladies et aux insectes et aux animaux nuisibles seront réduites. [70 .191] (voir appendice C)

2.2.4 Classification

Les figes séchées, y compris les figes séchées modelées à la main sont classe en trois catégories selon leur qualité mais tous doivent avoir : Texture douce, sans mélange de variétés, la couleur doit être uniforme, pulpe et consistance mielleuse. (Tableau 2.7)



Séchage traditionnel



Résultats de séchage traditionnel



Séchage artificiel



Résultats de séchage artificiel

Figure 2.8 : Les deux méthodes de séchage des figes séchées

2.2.5 Transformation des figes

Selon VIDAUD (1997) les figes fraîches ou séchées peuvent aussi subir une transformation supplémentaire pour donner des produits comme les figes en dés, en tranches, hachées ou encore des produits comme la confiture, la pate, le jus, l'alcool, la confiserie, la fige torréfiée

Tableau 2.4 : Classification des figes sèches

Catégorie	Caractéristiques
extra	doit contenir 72 unités/kg et avoir au maximum 5% de figes endommagées toutes causes confondues, parmi elles 2% au maximum de figes endommagées par les insectes.
I	doit contenir au maximum 105 unités/kg, avoir au maximum 10% de figes endommagées toutes causes confondues, parmi elles au maximum 5% de figes endommagées par les insectes
II	doit contenir au maximum 120 unités/kg, avoir au maximum 15% de figes endommagées toutes causes confondues, parmi elles 10% au maximum de figes endommagées par les insectes.
non calibrée	doit contenir au maximum 15% de figes endommagées toutes causes confondues, parmi lesquelles 10% au maximum de figes endommagées par les insectes.

2.2.6 Facteurs de modifications des qualités lors du séchage

On peut classer les phénomènes modifiant la qualité du fruit de la façon suivante :

2.2.6.1 Réactions biochimiques

Les oxydations enzymatiques ou non qui concernent surtout certains arômes, les vitamines, et les provitamines (acide ascorbique et Beta carotène) sont accélérées par la température, mais aussi par la présence de l'oxygène et par la lumière [93] .

Les pectines, qui participent à la texture des fruits et font partie des fibres alimentaires, peuvent subir des dégradations enzymatiques avant, pendant et après le séchage [94] . La dénaturation des protéines abaisse leur solubilité et leur pouvoir de rétention d'eau, ce qui intervient négativement lors de la déshydratation (inactivation des enzymes facteur favorable lors du séchage) [92]

2.2.6.2 Pertes d'arôme

On constate par fois des pertes de 20% ou 30% des molécules d'arome, les molécules d'arome peuvent être oxydées au séchage et au stockage, d'autre part les réactions de Maillard produisent des goûts « de chauffé », voir de brûlé ou de caramélisé qui évidemment masquent les arômes naturelles des fruits [92]

2.2.6.3 Modification de la texture

Le texture des fruits secs dépend surtout de celle du produit frais initial, liée à leur espèce et leur maturité , mais aussi à leur teneur en eau , les teneurs en eau plus élevées qui donnent aux fruits à pulpes des textures plus molles , souvent appréciées entraînent en plus de problème de conservation , le désavantage de fournir des fruits collants ce qui peut constituer un inconvénient de présentation , d'où l'importance de saupoudrage des fruits par l'amidon [92]

2.2.6.4 Modification de la valeur nutritive

Les fruits séchés contiennent trois fois moins d'eau que leur équivalent frais, ce qui concentre leurs éléments nutritifs ; ils contiennent habituellement de 4 à 5 fois plus de nutriments à poids égal, que lorsqu'ils sont frais, ce qui les rend hautement énergétiques, l'énergie fournie est immédiatement disponible, car leur glucides se métabolisent rapidement [92]

2.2.7 Les bienfaits de la figue

La présence d'antioxydants et de fibres dans les figues pourrait jouer un rôle dans ces effets protecteurs. Selon Raymond Dextreit , la figue se révèle un aliment " équilibrant ". Laxative et pectorale, elle constitue un important draineur des voies respiratoires et intestinales. Une figue cuite dans l'eau, ou mieux, dans du lait, puis coupée en deux et appliquée bien chaude sur un abcès ou un furoncle, en hâtera la maturation. Autre conseil de Raymond Dextreit, pour calmer la toux et les maux de gorge, on peut préparer un sirop en utilisant 5 figues sèches que l'on fera cuire dans un bol d'eau, jusqu'à réduction du liquide en sirop.

En médecine, Ce fruit est très conseillé comme aliment regorgé de plusieurs nutriments, dont les fibres, le potassium, le calcium et le fer. Il fournit de précieux antioxydants (Flavonoïdes et composés phénoliques) ayant la capacité à neutraliser ou à réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme humain [86]

Grâce aux acides gras essentiels omega-3 et omega-6 et au phytostérol que contiennent les figues sèches, celles-ci jouent un rôle considérable dans la réduction du taux de cholestérol, ils sont indispensables pour le bon fonctionnement du cœur, du cerveau et du système nerveux. Les figues sèches, comparativement aux autres fruits contiennent une quantité non négligeable de calcium 175 mg/100g, l'absorption de cet élément est réduite dans l'organisme sous l'effet de l'acide oxalique que la figue contient en quantité de 90 mg /100g [87] Akoy ont enregistré la présence des tanins en quantité de 0,02 à 0,03% pour les variétés Grôklop, Sarilop et Dumanlykorn.

La figue est particulièrement indiquée en cas de tendance à la constipation. Une fois séchée, la figue contient encore plus de fibres car ses éléments nutritifs sont concentrés. Pour un effet optimal, la figue sèche peut être trempée dans de l'eau et prise à jeun, avec son jus. Toutefois il est recommandé d'augmenter la quantité de fibres progressivement car celles-ci peuvent provoquer des ballonnements et des flatulences qui peuvent être désagréables.

La figue est très énergétique, riche en vitamine et en éléments minéraux. Ce fruit qui a aussi des propriétés laxatives et diurétiques, peut être séché et transformé de plusieurs manières. L'industrie accorde actuellement une grande importance à ce fruit pour ses utilisations diverses (confiture, eau de vie, sirop. Figue torréfiée. .) [88] La peau est composée d'une partie externe lisse et colorée, représentant au maximum 10% du poids du fruit, et d'un parenchyme blanc qui contient un latex, liquide nourricier du fruit tant que celui-ci n'est pas mur. Le latex est riche en protéases et lipases et peut représenter plus de 20% du poids du fruit. A maturité la peau ne représente plus guère que 10 à 12% du poids [73]. Son fruit, racines et feuilles sont utilisés dans le système natif de la médecine dans divers troubles gastro-intestinaux tels que (coliques, indigestion, perte d'appétit

et la diarrhée), troubles respiratoires (maux de gorge, la toux, l'asthme et les problèmes bronchiques), inflammatoire, troubles cardio-vasculaires, les maladies ulcéreuses, les maladies du foie, le diabète, la gingivite, la grippe et les cancers [92].

Les figes ont été étudiées et prouvées leurs effets antioxydant, antiviral, antibactérien hypoglycémiant hypocholestérolémiant, hypotriglycéridémiant anthelminthiques, spasmolytique, antiplaquettaire et anticancéreux [89]. Le latex, libéré lors de la cueillette des fruits, a été utilisé pour traiter les tumeurs de la peau et les verrues [94].

CHAPITRE 3

LES POLYPHENOLS

3.1. Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 8000 structures différentes connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale [134].

Les polyphénols sont des constituants communs des plantes, ils se retrouvent sous forme conjuguées et/ou glycosylées. Ils sont caractérisés comme indique leur nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaires. Ils sont probablement produits comme des métabolites secondaires responsables de plusieurs propriétés organoleptiques des végétaux, particulièrement, de couleur et d'astringence et agir comme des détergents normaux au pâturage des animaux et en tant qu'agent antimicrobiens [135]. Ils sont caractérisés par la présence d'un au moins un motif phénolique (cycle aromatique sur lequel viennent se greffer un ou plusieurs groupement (OH)).



Figure 3.1: Structure du phénol (noyau aromatique).

3.2. Composés phénoliques dans la plante

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans les qualités sensorielles et nutritionnelles des produits végétaux car ils sont présents dans la plupart des organes et tissus utilisés ou consommés par l'homme, cependant comme pour la plupart des métabolites dits secondaires, il existe en réalité une extrême diversité de répartition de ces composés selon les espèces et en fonction des différents organes et tissus d'une plante [136].

3.2.1. Répartition cellulaire et tissulaire dans les différents organes de la plante

A l'échelle cellulaire, la répartition des composés phénoliques est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites : d'une part, la paroi cellulaire où sont présentes les lignines (et quelquefois certains flavonoïdes et des molécules associées aux lignines comme l'acide férutique) et la vacuole où sont stockés les phénols solubles (acide chlorogénique, anthocyane, flavonols, tanins,...). Certains flavonoïdes (quercétine, kaempférol) pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique []. Mais toujours à être faible que lorsque des perturbations membranaires interviennent, soit au cours de certaines évolutions physiologiques soit à la suite de divers traitements. L'apparition de brunissement en est généralement la conséquence [134].

A l'échelle tissulaire, on observe également des répartitions très inégales des différents composés phénoliques [133].. Ainsi les anthocyanes et les pigments de type flavonols sont généralement présents dans les couches cellulaires externes des organes végétaux, en particulier les épidermes des fruits et des feuilles [135].. Des différences très marquées existent également entre les différents organes d'une plante donnée, chacun d'entre eux (feuille, fruit, graine, racine...) pouvant souvent être caractérisé par son profil polyphénolique [134]. Parmi les 20 premiers fruits et légumes les plus riches en polyphénols. 60 % représentent les fruits et le reste des 40 % est représenté par les légumes.

3.2.3. Facteurs influençant la teneur des plantes en composés phénoliques

3.2.3.1. Facteurs physiologiques

En fonction du stade physiologique on remarque des variations qualitatives et quantitatives très particulière de la teneur en polyphénols des plantes. Les organes jeunes sont quelquefois plus riches en composés phénoliques que les organes âgés dont la teneur en ces composés tend à diminuer au cours de la croissance [136].

3.2.3.2. Facteurs génétiques

Les variations des teneurs en composés phénoliques sont souvent considérables d'une espèce à une autre et, à l'intérieur d'une espèce, selon les variétés ou les cultivars considérés.

3.2.3.3. Facteurs externes

Certains facteurs externes comme la lumière et la température peuvent influencer nettement sur la teneur des plantes en polyphénols, en agissant sur leur métabolisme phénolique. En effet pour la lumière deux paramètres interviennent : d'une part, l'intensité du flux lumineux et d'autre part, la nature des radiations constitutives [137]. La température est également un facteur de régulation de l'expression du métabolisme phénolique, souvent en interaction avec la lumière [138]. Toutefois, la contamination du végétal par des micro-organismes pathogènes entraîne également une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, correspondant à la mise en place du mécanisme de défense de la plante [139].

3.2.4. Principales formes et classes des composés phénoliques

3.2.4.1 Les formes simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C_6 (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C_{15} et à des molécules proches [139].

3.2.4.1.1 Phénols simples

Selon [140]. Les phénols simples (catéchol, guaiacol, phloroglucinol,...) sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...).

3.2.4.1.2 Les acides phénoliques simples

- Acides hydroxybenzoïques
- Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque ;
- Ils ont une structure générale de base de type (C₆-C₁) ;
- Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides.
- Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le

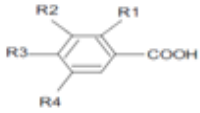
Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Figure 3.2 : Principaux acides hydroxybenzoïques [140].

- Acides hydroxycinnamiques
- Ils dérivent de l'acide cinnamique ;
- Ils ont une structure générale de base de type (C₆-C₃) ;
- Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques
- Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules, le tableau II représente les principaux acides hydroxycinnamiques

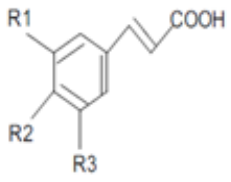
Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Figure 3.3 : Principaux acides hydroxycinnamiques [140]

- Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique

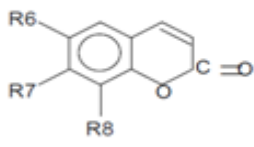
Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétole
	OCH3	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

Figure 3.4 : Principaux types de coumarines [140]

3.2.4.1.3 Les flavonoïdes

- Généralités

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.CHERVREUL en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins. Cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la

définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes [141].

- Structure

Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants dans nos régimes, les plus nombreux (plus de 5000 molécules isolées) et les plus connus. Ils ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C₃ en formant ainsi l'hétérocycle (C) [142]. La structure de base ainsi qu'un schéma simplifié des flavonoïdes sont représentés par la structure dans les figures 3.5 et 3.6 [143]

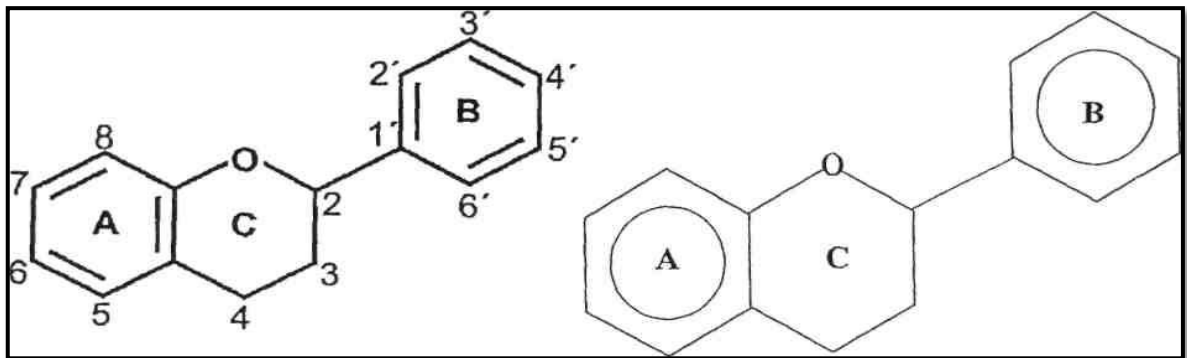
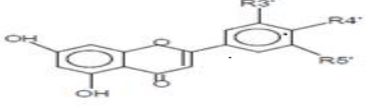
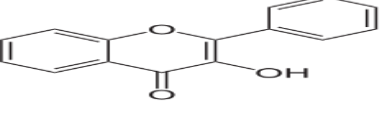
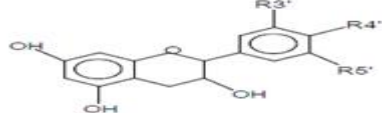
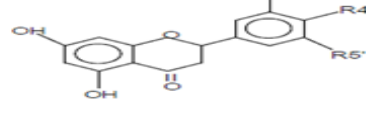
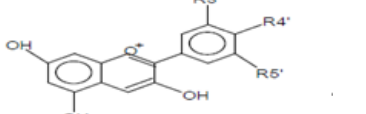
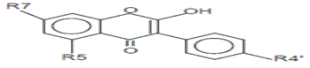


Figure 3.5 : Structure de base et simplifiée des flavonoïdes

- Classification

Tableau 3.1 Principales classes des flavonoïdes [144]

Classes	Structure chimique	R3'	R4'	R5'	exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavanols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelarganidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

3.2.4.2 Formes condensées

3.2.4.2.1 Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation [145]. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides [146]. Les tanins sont divisés en deux groupes [107, 108, 109]

- Les tanins condensés : sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8
- Les tanins hydrolysables : Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude

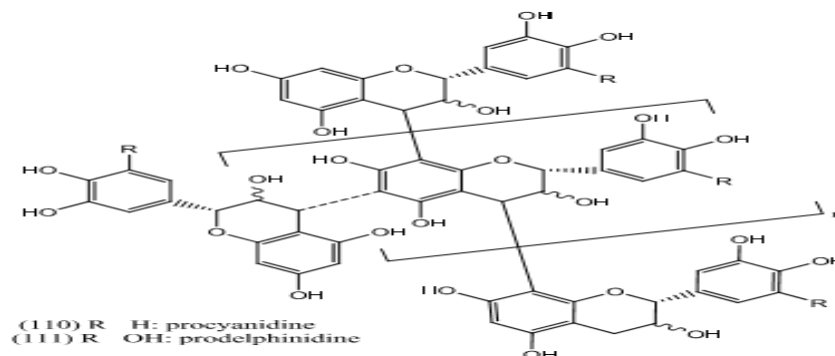


Figure 3.7 : Structure des tanins condensés

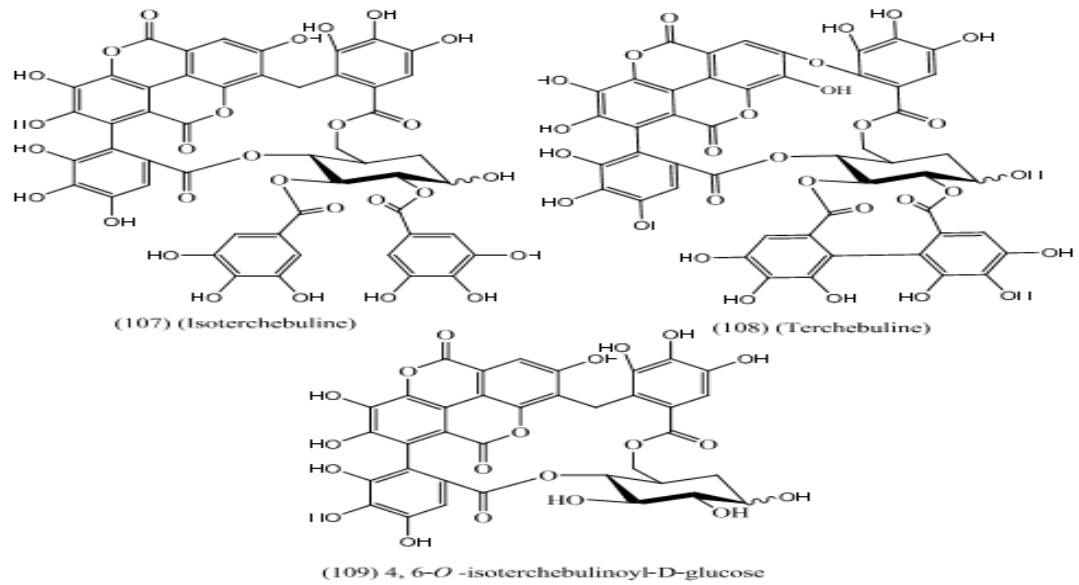


Figure 3.8 : Structure des tanins hydrolysables

3.2.4.2.2 Les lignines

Ce sont des composés de haut poids moléculaire qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires et des vaisseaux de sève où elles sont responsables de leur rigidité. [147]

3.2.5 Rôles et Propriétés antioxydantes des polyphénols

3.2.5.1 Propriétés antiradicalaires

Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres découlant aussi bien des réactions d'oxydations de différents nutriments que celle de l'organisme. Le mécanisme global de cette réaction est schématisé dans la figure suivante :

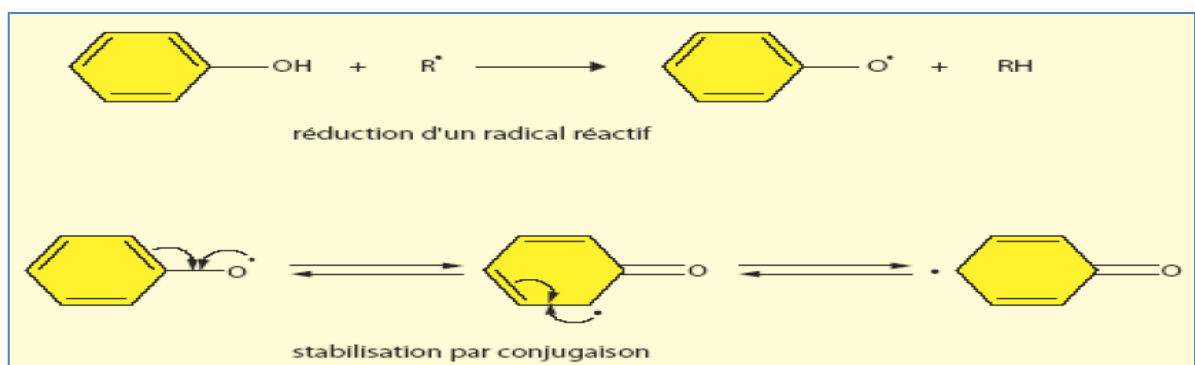
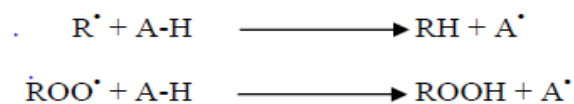
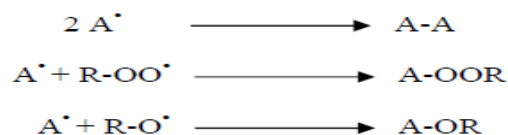


Figure 3.9: pouvoir antioxydant des polyphénols [142].

L'oxydation est un phénomène irréversible qui peut et qui doit être ralenti. Parmi les solutions, les meilleurs sont sûrement issue de la nature comme les désormais célèbres tocophérols et polyphénols. Ces derniers doivent leurs activités (comme leur nom indique), à un très grand nombre de résidus hydroxyles qui sont autant de munitions pour lutter contre les radicaux libres et stopper la réaction de chaîne comme le montre la figure 3.6 [148] Les polyphénols étant des antioxydants primaires et radicalaires, peuvent ralentir la formation de radicaux libres et interrompre la chaîne autocatalytique. Dans le cas particulier des lipides, les polyphénols (A-H) réagissent avec un radical libre lipidique pour le convertir soit en acide gras de départ R-H soit en hydroperoxyde R-OOH ou en dérivé hydroxylipidiques de type R-OH. Simultanément, un radical A· issu de l'antioxydant est formé. Celui-ci est plus stable que le radical lipidique [146].



En règle générale, les formes radicalaires de l'antioxydant peuvent soit subir des réactions de réarrangement interne soit réagir entre elles pour donner des dimères ou encore réagir avec second radical lipidique pour stopper la chaîne radicalaires.



3.2.5.2 Propriétés chélatrices des ions métalliques

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus biochimiques et physiologiques cellulaires, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou une blessure des tissus. A titre d'exemple, Cu^{+2} est un stimulateur de la peroxydation des LDL [149] Grâce à leur structure chimique spécifique, les polyphénols notamment les flavonoïdes peuvent facilement chélater les ions métalliques en créant des

composés complexes inactifs [150]. La chélation des ions métalliques nécessite trois sites principaux (figure 3.7):

- Site situé entre le groupe 3' OH et le groupe 4' OH du cycle B ;
- Site situé entre le groupe 3OH et 4 C=O de l'hétérocycle C ;
- Site situé entre le groupe 5OH du cycle A et le groupe 4C=O de l'hétérocycle

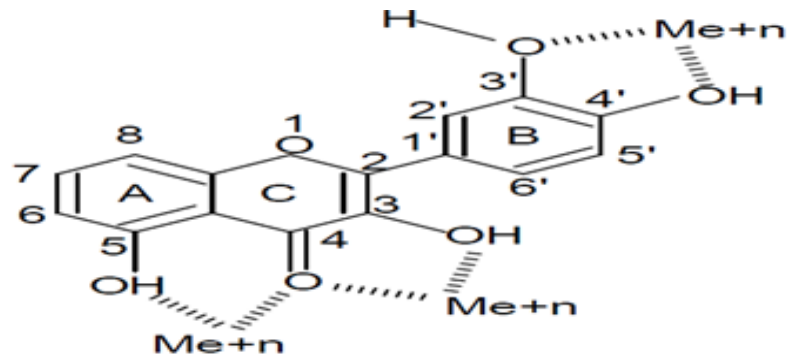


Figure 3.10 : Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Me^{+n}) [150]

3.2.5.3 Propriétés antibactériennes

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les andésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire [151].

3.2.5.4 Propriétés anticancéreuses

Le cancer se présente habituellement comme une tumeur formée d'une masse cellulaire qui est l'aboutissement d'une série de transformation pouvant se dérouler pendant plusieurs années, donc la cancérogénèse est un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et finalement à un stade précoce de cancer [152].

Les travaux réalisés par [153] montrent que les polyphénols permettent de prévenir la formation des tumeurs spontanées induites génétiquement, ce même flavonoïde réduit l'apparition des tumeurs de la peau induite chimiquement. La

quercétine et la rutine sont les deux flavonoïdes les plus conseillés pour prévenir l'apparition du cancer de l'appareil gastro-intestinal tandis que l'apigénine avec la quercétine ont la capacité d'inhiber la phase de métastase. Toutefois, [151].signalaient que l'inhibition des différents stades de développement de cancer est plutôt assurée par tous les flavonoïdes. L'activité anticancéreuse des polyphénols est assurée par l'intervention de plusieurs mécanismes :

- Piégeage des radicaux libres ;
- Inhibition du métabolisme d'acide arachidonique ;
- Formation d'un complexe inactif avec le carcinogène [151] .
- Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes ;
- Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses ;
- Arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses ;
- Induction de l'apoptose ;
- Inhibition des processus d'angiogénèse [152].

3.2.5.5 Propriétés antivirales

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale des cellules en culture, une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

- Au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte ;
- Au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte ;
- Au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales ;
- Au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte.

L'activité antivirale des polyphénols contre HIV peut être liée directement par leurs effets sur les enzymes responsables de son réplication (HIV-1 reverse transcriptase ou HIV-1 integrase). Par ailleurs, d'autres flavonoïdes montraient une activité antivirale contre le virus d'influenza, HIV-1, HIV-2 [153] .

3.2.5.6 Autres activités biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont doués d'activités diverses, probablement du à leurs diversités structurales, le tableau suivant englobe les activités biologiques des polyphénols les plus importantes.

Tableau 3.2 : Principales activités biologiques des composés phénoliques [154]

Classes de polyphénols	Activités
Acide phénoliques	Anti carcinogènes Anti mutagènes Anti oxydants
Stilbénes	Inhibent l'oxydation des LDL et l'agrégation des plaquettes Anti carcinogènes Anti mutagènes
Coumarines	Anti carcinogènes Anti mutagènes Digestibilité des protéines
Flavonoïdes	Anti carcinogènes Anti mutagènes Anti oxydants
Anthocyanes	Anti oxydants Colorants
Lignines	Anti carcinogènes Anti mutagènes
Tanins	Anti oxydants Anti tumoral Digestibilités des protéines
Proanthocyanidines	Anti inflammatoires Anti bactériens Anti fongiques

3.2.6. Intérêts dans l'industrie agroalimentaire

Les composés phénoliques sont à l'origine du caractère amer de certains produits d'origine végétale, tels que les agrumes et leurs produits dérivés (naringine) et les olives (oléuropéine). Ils sont aussi responsables de l'astringence des fruits des boissons. La maîtrise de ces caractères conditionne l'acceptabilité des produits par le consommateur et présente un enjeu économique majeur pour certaines industries de transformation des végétaux [155]. Bien que non connus officiellement comme des additifs puisque ils sont étiquetés comme « épices », les fabricants proposent des condiments en poudre, sous forme d'oléorésine ou d'émulsion à partir des extraits de romarin pour stabiliser les huiles et les graisses, protéger les pigments de caroténoïdes, inhiber le brunissement et stabiliser la couleur. Ces extraits sont utilisés en pâtisserie, produits d'extrusion, huile de soja, saucisson fraîche... ils sont autorisés seulement dans les États-Unis [156]. Les principaux polyphénols d'intérêt technologique dans la pomme, le raisin, l'orge ou

le thé sont les flavonols ou tanins condensés et lorsqu'une couleur rouge est recherchée, les pigments anthocyaniques [157]..

Les polyphénols peuvent être considérés comme ingrédient fonctionnel .les extraits riches en polyphénols comme thé sont actuellement incorporés aux biscuits, lait, boissons pour des raisons alimentaires dues à leurs effets bénéfiques sur la santé. L'addition des composés phénoliques aux produits à bases de viandes comme antioxydants, à la B-lactoglobuline écume comme stabilisateurs, au lait en tant qu'agent antifongiques et aux nourritures comme inhibiteurs des réactions de brunissement. [156]..

3.3 Les antioxydants

3.3.1 Définition d'un antioxydant

Une définition large du terme antioxydant donné par Halliwell (1994) est « toute substance qui, présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat ».

Les antioxydants sont des composés, naturels ou ajoutés, qui permettent de ralentir le phénomène d'oxydation et apparaissent ainsi comme essentiels pour maintenir la qualité des aliments et les protéger des oxydations [158]

3.3.2. Classification des antioxydants

3.3.2.1. Antioxydants naturels

Le groupe le plus important d'antioxydants naturels comprend la vitamine E (tocopherol), les flavonoïdes et autres composés végétaux [159]

➤ Acide ascorbique

L'acide ascorbique ou vitamine C est un nutriment essentiel pour l'homme, elle exerce divers activités biologiques, notamment Co-substrat de plusieurs oxygénases et d'oxydases, c'est aussi un important antioxydant hydrosoluble capable d'interagir avec plusieurs dérivés de l'oxygène O_2^- , H_2O_2 , O_2 , NO et OH []

➤ Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont un groupe dont la structure de base comprend toujours un ensemble de doubles liaisons conjuguées, responsables de la couleur caractéristique (lycopène, xanthophiles, lutéine, zeaxanthine,...). [160]

➤ Vitamine E (α-tocophérol)

Selon [] le D-α-tocophérol (vitamine E) possède la plus abondante distribution naturelle et la plus grande activité biologique.

3.3.2.2. Les antioxydants de synthèse

Le BHT (Butylhydroxytoluène ou E321) est un monophénol de synthèse très utilisé industriellement comme antioxydant. De même le BHA (Butylhydroxyanisole ou E320) fait partie du groupe des monophénols de synthèse, il est obtenu à partir d'un mélange de deux isomères en proportions égales : 3-tertiobutyl-4-hydroxytoluène. La dose autorisée varie de 0,01 à 0,02% du poids de la matière grasse contenant dans l'aliment.

3.3.2.3 Les antioxydants enzymatiques

➤ *Le superoxyde dismutase et la catalase*

Les superoxydes dismutases(SOD) sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en molécules de peroxyde d'hydrogène (Théron et Bennefont, 2006). Selon Menvielle-Bourg (2005), cette enzyme inactive l'ion superoxyde (point de départ de la chaîne de production des radicaux libres) en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), celui-ci est ensuite rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en dioxygène (O₂) et en molécules d'eau (H₂O) (figure14).

➤ Gluthation peroxydase (GPX)

La GPx (figure14) est une enzyme capable de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur [161].

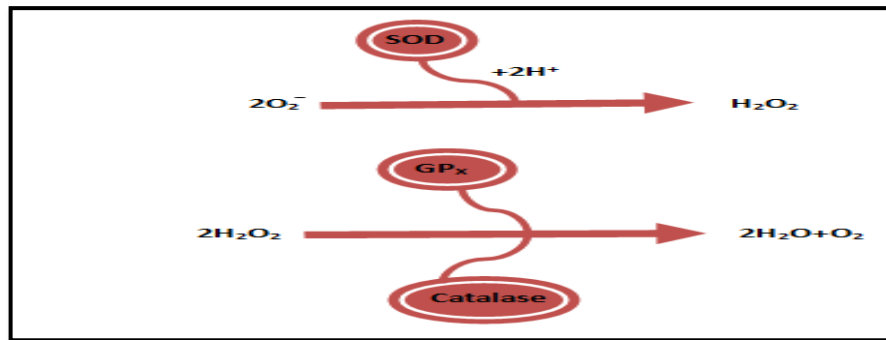


Figure 3.11 : Rôle des enzymes antioxydantes dans le processus d'inactivation de l'ion superoxyde [162].

3.3.3 Activité antioxydante des polyphénols

➤ Pouvoir antioxydant

Les composés phénoliques ont la particularité de posséder plusieurs groupements hydroxyles greffés sur un noyau benzénique qui sont responsables de leur pouvoir antioxydant.

➤ Mécanisme antioxydant

Grace aux propriétés précédentes, les composés phénoliques peuvent céder un hydrogène aux peroxydes lipidiques LOO pour les stabiliser sous forme d'hydroperoxydes LOOH et bloquer les réactions de propagation de la chaîne d'oxydation.

La délocalisation de l'électron non apparié sur le cycle aromatique et l'absence de site d'attaque de l'oxygène empêchent la propagation de nouvelles réactions radicalaires.

➤ Flavonoïdes

Comme il était évoqué dans la partie consacrée aux composés phénoliques que beaucoup de flavonoïdes ont une bonne activité antioxydante, due principalement à la configuration catéchol du noyau B [161]

3.4. Le stress oxydatif

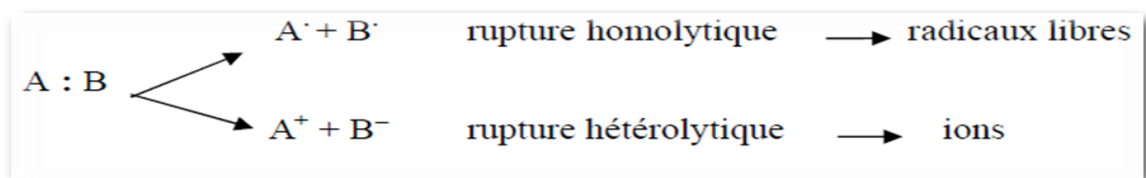
3.4.1. Historique

Les radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les

professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, R. Gerschman puis D. Hartman évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus du vieillissement. En 1969, les Américains Mc Cord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant la SOD, démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit bel et bien des ERO dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants [163].

3.4.2 Définition d'un radical libre

La majeure partie de la toxicité de l'oxygène provient de la formation de radicaux libres, c'est-à-dire, selon la définition proposée par Halliwell et Gutteridge, d'espèces capables d'existence indépendante, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires. Ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente selon le schéma suivant : [163].



Après une rupture homolytique, chacun des deux électrons intervenant dans la liaison entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres [163]. Du fait de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule: ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants. En jouant le rôle d'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano à la milli seconde) [168].

Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont

pas forcément des oxydants. De même que tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres [156].

3.4.3 Rôle des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (Favier, 2003), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire [164].

3.4.4 Définition du stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant [158].

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (Diallo, 2005). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé [159]

3.4.5 Origine du stress oxydant

Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte

pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, les ischémies/reperfusions suivant des thromboses [158], le dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale ; l'activation de systèmes enzymatiques ; la libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules [154] Les radicaux libres sont produits pendant l'irradiation, par la lumière UV, par rayons X et par les rayons γ . Ce sont des produits des réactions métal-catalysées présents comme des polluants dans l'atmosphère ; ils sont produits par des neutrophiles et des macrophages pendant l'inflammation et se sont des sous-produits des réactions mitochondrie-catalysées de transport d'électron et d'autres mécanismes [163].

L'ingestion d'alcool est suivie par la formation de radicaux libres, également des antibiotiques, des anticancéreux. L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (Mohammedi, 2006). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant. [162]. Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme [158]

3.4.6 Conséquences du stress oxydant

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information [165]. La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine [127].

Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques. Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides

a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les EOR attaquent les muco- polysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage [129.130].

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogénèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions [183].

3.4.7 Les maladies liées au stress oxydant

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires [167].

3.5 Mécanisme d'action des antioxydants

D'après Berset (2006), les antioxydants s'utilisent pour réduire l'oxydation du produit auquel ils sont mélangés et l'effet des antioxydants provient de plusieurs mécanismes :

- ils neutralisent les radicaux libres et empêchent les réactions en chaîne initialisées par ces derniers ;
- ils abaissent la pression partielle en oxygène et chélatent les métaux de transition ;

- ils désactivent les espèces oxygénées réactives et détruisent les hydroperoxydes en interrompant la liaison O-O ;
- ils inactivent également les enzymes de peroxydation.

En effet, certains antioxydants de type phénoliques réagissent selon un mécanisme proposé dès 1976 par Sherwin décrit comme suit : l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, par un transfert de protons, pour donner un intermédiaire radical stabilisé par ses structures mésomères conjuguées [187]

3.6 Méthodes de mesure de l'activité antioxydante

La mesure du potentiel antioxydant et le suivi des processus d'oxydation sont abordés globalement en déterminant des produits résultant de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux de modèles réactionnels, plusieurs analyses peuvent être effectuées dont les principales sont cités dans (AppendiceN)[189].

CHAPITRE 4

MATERIELS ET METHODES

4.1 Contexte de l'étude

Cette étude a été faite dans le cadre de la recherche scientifique, en vue de l'obtention d'un diplôme de magistère en Sciences Agronomiques Option Nutrition et transformation des aliments à l'université SAAD DAHLAB de Blida. Le travail expérimental subdivisé en plusieurs étapes a été réalisé au niveau de plusieurs structures scientifiques :

- La préparation des extraits méthaloniques, ont été réalisées au niveau du laboratoire de Génie Chimique au département de chimie industrielle, Université Saad Dahlab de Blida.
- L'activité anti inflammatoire et quelques paramètres physicochimiques et HPLC ont été réalisées au niveau du laboratoire de SAIDAL de Médéa.
- Les analyses microbiologiques et l'activité antimicrobienne et anti fongique au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.
- Les analyses physicochimiques au niveau de l'institut technique des arbres fruitiers et de la vigne « ITAFV » à Tessala-elmerdja (Blida)
- Le dosage des fibres alimentaires au niveau du laboratoire de Zootechnie au département d'agronomie, Université Saad Dahlab de Blida
- L'estérification de l'huile d'olive vierge et la chromatographie en phase gazeuse (CPG) ont été réalisées au niveau du laboratoire de physique instrumentale au département technologique à l'INA d'El Harrach.

L'objectif de notre travail consiste à mettre en évidence la richesse de deux produits en composés phénoliques (Huile d'olive, les figues séchées et leurs mélanges) et de déterminer leurs propriétés biologiques. Pour cela, notre étude englobe deux aspects, dont le premier est d'ordre photochimique et microbiologique basé principalement sur les analyses physico-chimiques, microbiologiques, l'extraction et la quantification des composés phénoliques. Il porte également sur le diagnostic et la séparation des principaux composés phénoliques par l'utilisation d'une technique chromatographique (HPLC). Le second aspect est consacré à une évaluation des activités biologiques des composés phénoliques des extraits méthanoliques vis-à-vis du radical libre DPPH, aux souches bactériennes (antibactérienne) et fongiques (antifongiques) et pour une activité anti-inflammatoire. Pour cet effet, plusieurs répétitions ont été établis à l'aide d'un logiciel SYSTA.

4. 2 Description, origines et choix de la variété

Tout le matériel non biologique utilisé (appareillage, accessoires et verreries) est répertorié dans (Appendice). Le matériel biologique qui a fait l'objet de cette étude est constitué de :

- Les Figs sèches de deux variétés : noire (Azendjar) et blanche (Taranimt). utilisées lors de la réalisation de notre travail proviennent des figuiers de la région Slim (Tikjeda) de la willaya de Bouira récoltées à la saison d'été 2012, séchées traditionnellement à l'air libre, placées dans des sachets hermétiques fermés et stockées à température ambiante, jusqu'au délai des analyses (Tableau 4.1).
- L'huile d'olive vierge utilisée lors de la réalisation de notre travail provient d'une huilerie moderne fonctionnelle, c'est une huile extraite par première pression à froid, avec un système d'extraction continue avec centrifugation à trois phases d'une construction suédoise : ALFA LAVAL. (Appendice B2). Les olives triturées sont de la variété Chemlal provient des oliviers de la région de Lakhdaria de la willaya de Bouira. Les olives ont été récoltées à la saison de l'hiver 2012. L'huile d'olive a été placée dans des récipients en verre fumé hermétiquement fermé et conservée

à une température ambiante, jusqu'au délai des analyses (Tableau 4.1).

Le choix du matériel végétal (L'huile d'olive, les figes séchées) a obéi à des considérations bibliographiques tout à bord, qui ont montré une chimio-diversité remarquable de ces deux espèces à travers des travaux effectués, nous avons de notre part, apporter aussi une contribution à cette chimio-diversité par l'étude des variétés Algériennes. Le deuxième critère de choix se rattache aux vertus médicinales de deux espèces et aussi leurs qualités gustatives, leurs abondances, et leurs facilités de conservation.

Tableau 4.1 : Données relatives aux échantillons étudiés

Echan	Région	Variété	Date de récolte	Méthode d'obtention
Huile d'olive OH	LAKHDARIA BOUIRA	CHEMLAL	Fin Décembre 2012	Extraction par centrifugation à 3 phases
Figes Noires FN	Tikdjeda	Azenadjar	Aout 2012	Séchage à l'air libre
Figes Blanches FB	Tekdjeda	Taranimt	Aout 2012	Séchage à l'air libre

4.2.1 Traitement des figes sèches

Les figes sèches, blanches et noires ont été lavées avec l'eau distillée pour l'élimination de résidus de poussières et séchées sur papier absorbant. Le tout a été blanchi à la vapeur afin d'éliminer les micro-organismes éventuelles (levures, moisissures et bactéries non sporulantes) pendant 15 min.

4.2.2 Préparation de la macération de la fige sèche dans l'huile d'olive

L'imprégnation des figes sèches dans l'huile d'olive a été préparée selon la méthode traditionnelle. Les figes bien lavées, séchées et blanchies ont été ajoutées à l'huile d'olive vierge (placée dans des boucaux en verre hermétiquement fermés de 250ml). Les boucaux d'huile d'olive ont été stockés dans l'obscurité (pour éviter toute oxydation) à une température ambiante du milieu (environ 25-28°C) (Tableau 4.2).

4.3 Méthodes analytiques

Le diagramme suivant illustre en détail la démarche suivie pour la réalisation de cette étude

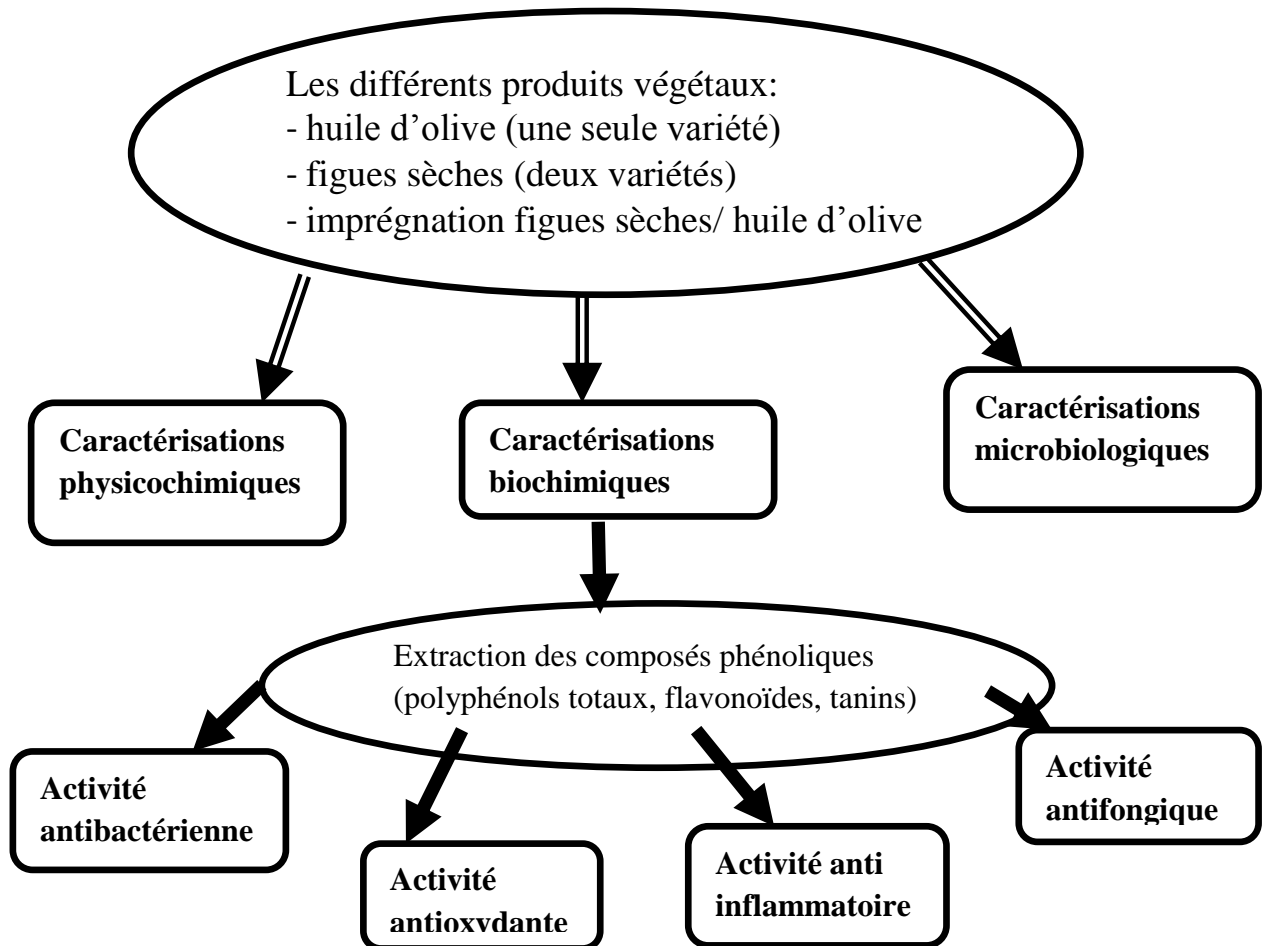



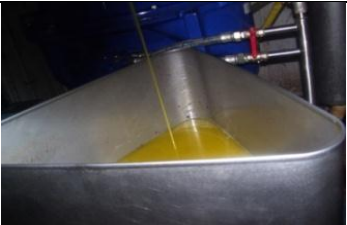







Figure 4.1 Schéma de l'étude expérimentale

Tableau 4.2 : Représentation des échantillons étudiés

		
F B (Taranimt)	FN (Azerdjar)	FN et FB sèches
		
OH chemellal	Les olives murs	HFB
		
poudre des HFN et HFB	poudre des FB et FN	HFN, HFB, FB et FN

4.4 Caractérisations physico chimiques des figes sèches et de l'huile d'olive

4.4.1 Caractérisation physicochimique des figes sèches

4.4.1.1 Le poids, la longueur, le diamètre

4.4.1.1 Le poids

La masse du poids d'une unité de figes séchées a été déterminée sur 25 fruits choisis au hasard et exprimée en gramme (g) (moyenne+ Ds). [Dowson et Aten, 1963]. Nous avons pesé chaque figue récoltée pour chaque variété à l'aide d'une balance de précision, nous avons estimé le poids moyen des figes (Pm) en (g) pour chaque variété selon la formule suivante :

$$P_m = \sum P/n$$

P_m : poids moyen des figes.

$\sum P$: somme des poids des figes d'une variété.

n : nombre total de figes par variété.

4.4.1.2 Longueur des figes

Après avoir pris les poids moyens des figes et à l'aide d'un pied à coulisse, nous avons calculé les longueurs (L_m) (Voir Figure 4.2).

$$L_m = \sum L/n$$

L_m : la longueur moyenne d'une fige d'une variété

$\sum L$: somme des longueurs moyennes d'une fige d'une variété.

n : nombre total de figes par variété.

4.4.1.3 Largeur des figes

Nous avons calculé les largeurs moyennes (D_m) des figes selon la formule suivante (Voir Figure 4.2). :

$$P_m = \sum P/n$$

$L^{\circ}m$: largeur moyenne d'une fige d'une variété

$\sum L^{\circ}$: somme de largeurs moyennes d'une fige d'une variété.

n : nombre total de figes par variété



Figure 4.2 : Calibrage des figes (FB, FN, HFB, HFN)

4.4.1.2 .Déterminations de la teneur en eau (NF V 05-108,1970)

Le principe de la détermination de la teneur en eau des figes sèches analysées et déterminée sur une partie aliquote de fruit réduit en petits morceaux à l'aide d'une lame bistouri, et séché dans une étuve réglée au préalable à la température de 103 ± 2 °C, jusqu'à l'obtention d'un poids constant. D'après (Salghi.2007), la méthode thermogravimétrique utilisée sert de référence pour la détermination de la teneur en eau dans les aliments. La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{(M_1 - M_2) \times 100}{M}$$

H% : La teneur en eau.

M₁ : La masse de la prise d'essai avant séchage (g).

M₂ : La masse de la prise d'essai après séchage (g).

M : La masse de la prise d'essai.

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - H\%$$

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.1.3 Détermination du pH

Dans une fiole de 200 ml, 4g de figes dénoyautées et broyées ont été dispersées dans de l'eau chaude. Après refroidissement, la fiole est complétée jusqu'au trait de Jauge avec de l'eau distillée. La solution obtenue sert à la détermination du pH en utilisant un pHmètre [Dowson et Aten, 1963].

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.1.4 Détermination de l'acidité

La solution liquide du produit a été préparée et analysée par titrimétrie à pH 8.1 avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0.1N selon les méthodes AOAC n°920.149 (c), n° 942.15A et n° 942.15B (AOAC,). L'acidité titrable totale est

exprimée par convention en grammes d'acide citrique monohydrate pour 100g de figue :

$$A = 250 \times V_1 \times 100 \times 0,07 / V_0 \times M \times 10$$

M : masse en gramme de la prise d'essai

V₀ : volume en ml de la prise d'essai

V₁ : volume en ml de la solution de NaOH à 0,1 utilisé pour le titrage

0,07 : facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique monohydrate

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.2 Caractéristiques biochimiques des figues sèches

4.4.2.1 Dosage des sucres totaux

Le dosage des sucres totaux a été fait par la méthode de Dubois et al .1956. La méthode repose sur la mesure de l'intensité de coloration (jaune orange) développée par les sucres en présence de phénol et d'acide sulfurique.

- Principe

Le principe de dosage se base sur la condensation des produits de déshydratation des oses avec un chromogène qui est le phénol, il se forme des chromophores de couleur jaune-orange, leur apparition est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490nm. La teneur en sucres est exprimée en µg / ml (convertie en grammes / litre) de α D (+) glucose à partir d'une courbe d'étalonnage.

- Mode opératoire

- ✓ Préparation de l'échantillon

On additionne à 0,5g d'échantillon, 20 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) 0,5 M, puis on place l'ensemble dans une étuve réglée à 105°C pendant 3 heures. On transverse la solution dans une fiole de 500ml tout en ajustant le volume par de l'eau distillée jusqu'à 500ml ; on filtre la solution puis on réalise trois dilutions

au 1/3 .Dans des tubes, on met 1ml de chaque dilution, ensuite on ajoute dans chaque tube 1ml de phénol à 5 % et 5ml d'acide sulfurique H₂SO₄ à 98 % , Les tubes sont maintenus dans l'étuve pendant 5 minutes à 105°C, puis laissés dans l'obscurité pendant 30 minutes .

✓ Préparation de la gamme étalon du glucose monohydrate

Une série de tubes à essai a été préparée a partir d'une solution étalon mère à 80µg/ml du glucose monohydrate de la façon suivante : Dissoudre 100 mg soit 0,01 de glucose monohydrate dans 100g d'eau distillée. On prélève de cette solution un volume de 4ml et le complété à 50ml avec de l'eau distillée (ainsi 1ml renferme 80µg /ml), on préparer une série de tubes à essais dans lesquels on verse : 0,1, 0,2, 0,3,..... 0,8 de la solution précédente (80µg /ml), On ajuste ensuite les volumes dans chaque tube à essai à 1ml avec de l'eau distillée. On Ajoute à chaque tube, 1ml du phénol à 5% et on agite soigneusement, on ajoute 5ml de la solution de H₂SO₄ concentrée

✓ Préparation de l'aliquote à analyser

A partir de l'extrait alcoolique obtenu, on prélève 1ml et on ajuste à 100ml avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée de 100 ml. Puis à partir de cette solution on prélève 1ml dans un tube essai on ajoute 9 ml d'eau distillée, la dilution 1/1000 de l'échantillon est ainsi préparée dans un tube à essai, 1ml de la solution à 10⁻³ est additionné de 1 ml de la solution du phénol à 5% et de 5ml de la solution d' H₂SO₄ à 98% comme est indiqué dans l'étape précédente. La lecture spectrophotométrique se fait dans un spectrophotomètre UV/vis (HELIOS) à la longueur d'onde de 490nm, contre un blanc constitué de : 1ml d'eau distillée, 1ml du phénol à 5% et de H₂SO₄ à 98% en utilisant une cuve de mesure en verre de 1cm d'épaisseur.

4.4.2.2Détermination de la teneur en matière grasse : (ISO 659, 1998)

- Principe

Les corps gras sont les substances organiques qui peuvent être extraites à partir des fruits et végétaux par des solvants organiques non polaires au moyen de l'extracteur Soxhlet. La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés [121]

- Mode opératoire :

Sécher les ballons de 250 ml à l'étuve à plus de 80 C° jusqu'à séchage complet, refroidir les ballons aux dessiccateurs pendant 15 mn, peser les ballons à la précision de 0,001 g, peser environ 10 g morceaux de fruits et marquer le poids avec précision de 0,001 g, introduire la prise d'essai dans une cartouche de papier filtre, placer les cartouches avec les prises d'essai à l'intérieur du dispositif Soxhlet, verser 200 ml de n-Hexane dans le ballon, chauffer le ballon sur le chauffe ballon pendant 5h30 à 70 C° jusqu'à épuisement de toute matière grasse de l'échantillon, verser de temps en temps quelques ml de solvant n-Hexane dans l'extracteur Soxhlet afin de pousser le siphonage, récupérer les ballons et distiller leur contenu en solvant sous vide à l'aide d'un Rotavapeur , sécher les ballons avec les résidus solides dans l'étuve à 70-80 C° pour éliminer les traces de solvant , refroidir les ballons au dessiccateur pendant 15 min, peser les ballons avec la matière grasse récupérée à la précision de 0,001 g.

- Expression des résultats

Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante :

$$MG\% = \frac{P2 - P1}{M} \times 100$$

Soit :

P2 : Poids du ballon avec la matière grasse extraite(g).

P1 : Poids du ballon vide (g).

M : Masse de la prise d'essai (g).

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.2.3 Détermination de cellulose

La cellulose est déterminée par la méthode de weende (AfNOR-NFV03, février 1977). L'indice d'insoluble dit « cellulosique » constitue le résidu insoluble après traitement du produit alimentaire de graissage au préalable, puis hydrolyse par un acide et par une base. Le principe consiste après broyage et dégraissage éventuel, en un traitement de l'insoluble, à ébullition par une solution d'acide sulfurique de concentration déterminée, puis séparation et lavage de l'insoluble. Ensuite traitement à ébullition de l'insoluble obtenu par une solution d'hydroxyde de sodium de concentration déterminée, puis séparation, lavage, dessiccation, pesée du résidu insoluble et détermination de sa masse par incinération.

- Principe

Par convention, la teneur en cellulose brute est le résidu organique obtenu après deux hydrolyses successives, l'une en milieu acide et l'autre en milieu alcalin. La différence de poids entre les deux pesées représente les matières cellulosiques, une grande partie de cellulose varie, une partie de lignine et les résidus d'hémicellulose.

- Mode opération

Se déroule en 3 étapes :

- ✓ Hydrolyse acide

Peser 1 g d'échantillon de chaque lot, l'introduire dans un ballon de 500 ml muni d'un réfrigérant rodé sur le goulot, ajouter 100 ml d'une solution aqueuse bouillante d'acide sulfurique à 0,128 M. chauffer pour obtenir une ébullition rapide et maintenir celle-ci pendant 30 min exactement agité régulièrement le ballon pendant l'hydrolyse, séparer le ballon du réfrigérant et laisser refroidir.

Transverse dans un ou plusieurs tubes de centrifugeuse en conservant la plus grande quantité possible de produit dans le ballon, centrifuger le contenu des tubes pendant 4 min à 3000 tours /min et récupérer la pâte (précipité) en éliminant le surnageant et si nécessaire répéter l'opération en ajoutant un peu d'eau distillée dans le ballon jusqu'à la clarification totale du liquide.

✓ Hydrolyse alcaline

Introduire le résidu récupéré de la première étape dans le même ballon en le détachant du tube à centrifuger avec 100 ml de solution bouillante d'hydroxyde de sodium à 0,312M. Faire bouillir durant 30 min exactement enlever le ballon, laisser refroidir et filtrer leur contenu sur un creuset filtrant de porosité 1 à 2 d'acide d'une pompe sous vide et si nécessaire ajouter l'eau distillée dans le ballon pour récupérer tout l'échantillon.

✓ Dessiccation

Passer le creuset plus le résidu à l'étuve réglée à 105 C° pendant 24 heures, après refroidissement au dessiccateur durant 30 min, le peser puis incinérer dans le four à moufle à 500 C° pendant 3 heures. Refroidir au dessiccateur durant 1 heure et peser à nouveau.

✓ Expression des résultats :

La teneur en cellulose brute exprimée en pourcentage est donnée par la formule suivante :

$$CB \% MS = \frac{P_1 - P_2}{P} \times 100$$

P1 : Poids du creuset +résidu après dessiccation, en gramme.

P2 : Poids du creuset + résidu après incinération, en grammes.

P : Poids de la prise d'essai, en gramme.

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.2.4 Dosage des protéines

Les protéines sont dosées par la méthode de Lowry et al. (1951). Le sulfate de cuivre en milieu alcalin et le réactif de Folin-ciocalteu (acide phosphomolybdotungstique) en présence d'une protéine donne une coloration bleue, qui est le

résultat de deux réactions :

- Réaction de Biuret : qui en présence de sulfate de cuivre en milieu alcalin, permet le dosage des liaisons peptidiques des protéines.
- Réaction du réactif de Folin sur la tyrosine et le tryptophane, qui sont réduits en un complexe bleu.
- Extraction des protéines

L'extraction des protéines a été réalisée par deux solvants à savoir :

- Na Cl 0.5M
- H₂O

A partir de deux grammes de figues séchées, les protéines sont extraites par macération à froid pendant 48 heures en utilisant 100 ml de solvants. Après filtration, le volume de l'extrait est ajusté à 130 ml par de l'eau distillée.

- Réactifs :

- Solution A : Na₂CO₃ 2 % dans NaOH 0,1 N
- Solution B : Tartrate double de Na et K 2 % dans l'eau distillée.
- Solution C : CuSO₄, 5H₂O 1 % dans l'eau distillée.
- Solution M : 0,5 ml de la solution C
- 0,5 ml de la solution B
- 0,5 ml de la solution A Réactif de Folin-ciocalteu dilué au 1/3

- Protocole :

Ajouter à 1ml d'échantillon, 5ml de la solution M. Agiter et laisser reposer 10min à température ambiante. Ajouter 0,5 ml de réactif de Folin et agiter. Laisser la réaction colorée se développer 30 min à l'obscurité, et lire la valeur de l'absorbance à 650nm.

N.B : La courbe étalon est établie avec une solution de sérum albumine bovine (BSA) dont les concentrations varient de 0-500 µg/ml (Appendice F).

4.4.3 Détermination des caractères physicochimiques de l'huile d'olive

4.4.3.1. Acidité libre

L'acidité libre de l'huile a été déterminée selon la norme officielle AOCS Ca 5a-40. Les volumes de réactifs et de produits ajoutés sont fonction de tests préliminaires permettant d'évaluer un pourcentage approximatif d'acides libres dans l'huile avant l'analyse précise dans les conditions suivantes : 2,5 g d'huile d'olive ont été pesés et solubilisés dans 50 mL (d'éthanol 96% préalablement neutralisé avec l'oxyde diéthylique, v/v). 2 mL d'indicateur coloré (phénolphtaléine) sont ensuite ajoutés et cette solution a été titrée par une solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N. L'acidité libre a ensuite été exprimée en pourcentage d'acide oléique libre selon la formule :

$$\% \text{ ac. Oléique} = (V C \times 0,1 \times M) / m \text{ huile}$$

V : Le volume en millilitre de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée

C : La concentration exacte en mol/l de solution titrée d'hydroxyde de potassium

M : la masse molaire, en g/l de l'acide oléique 282g/mol

m : la masse en gramme de la prise d'essai

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.3 .2 Valeur peroxyde

Elle a été réalisée selon la méthode officielle AOCS Cd 8–53 (92) (American Oil Chemist's Society). Cette méthode consiste d'abord à préparer un mélange acide acétique/chloroforme dans les proportions 3v/2v. Une solution d'iodure de potassium (KI) est obtenue en dissolvant 13,33 g de KI dans 10 ml d'eau distillée dans un flacon brun. Une solution de thiosulfate de sodium (0,1 N) a été utilisée pour le titrage. Une solution d'amidon de patate a été obtenue en dissolvant 1 g d'amidon dans 200 ml d'eau distillée (la solution a été portée à ébullition pendant

quelques secondes, puis mise au réfrigérateur). On fait dissoudre 5 g d'huile dans 30 ml du mélange acide acétique/chloroforme. On a ajouté 0,5 ml de la solution de KI, puis on a agité pendant 1 min exactement. La réaction a été arrêtée par l'addition de 30 ml d'eau distillée. La titration a été réalisée par la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N en présence de quelques gouttes d'amidon de pomme de terre. Selon la formule :

$$VP \text{ (meq.O}_2\text{/kg)} = ((V_{ech} - V_{blanc}) \times 0,01 \times 1000) / m \text{ huile}$$

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.3 .3 Détermination de l'indice de réfraction : (ISO 6320 - 1995)

La détermination de l'indice de réfraction, s'est faite selon la méthode officielle algérienne n° 11.95.08 équivalente à la méthode ISO 6320 : 2000. L'indice de réfraction est le rapport de la vitesse de la lumière, à une longueur d'onde définie dans le vide à celle dans l'huile.

- Principe :

Mesurage à l'aide d'un réfractomètre convenable de l'indice de réfraction de l'huile d'olive à une température constante de 20°C.

- Mode opératoire :

- Étalonnage de l'appareil : vérifier l'étalonnage du réfractomètre en mesurant l'indice de réfraction de la lampe de verre selon les instructions du fabricant ou en mesurant l'indice de réfraction du laurate d'éthyle.

- Mesurer l'indice de réfraction à la température de +20° à laquelle, l'huile d'olive est complètement liquide.

- Maintenir la température du prisme du réfractomètre à la valeur constante requise au moyen d'une circulation d'eau assurée par le bain d'eau.

- Contrôler la température de l'eau sortant du réfractomètre en utilisant un thermomètre de précision convenable.
- Immédiatement avant le mesurage, abaisser la partie mobile du prisme en position horizontale. Essuyer la surface du prisme avec un chiffon doux, ensuite avec un tampon d'ouate mouillé par quelques gouttes de solvant (hexane).
- Effectuer les mesurages conformément aux instructions opératoires de l'appareil utilisé.
- Lire l'indice de réfraction à 0,0001 près en valeur absolue et noter la température du prisme de l'appareil.
- Immédiatement après le mesurage, essuyer la surface du prisme avec un chiffon doux, puis avec un tampon d'ouate mouillé avec quelques gouttes de solvant (hexane).
- Réaliser deux autres mesurages de l'indice de réfraction.
- Prendre comme résultat de l'essai la moyenne arithmétique des trois mesurages.

- Expression des résultats :

L'indice de réfraction N_D^t à la température de référence est égale a :

$$N_D^t = N_D^{t_1} + (t_1 - t)F$$

Où :

t_1 : est la température de mesurage, en degrés Celsius ;

t : est la température de référence, en degrés Celsius et qui est de 20°C pour l'huile d'olive et qui fait partie des corps gras complètement liquides à cette température.

F : est un facteur de correction égal à 0,00035 pour $t = 20^\circ\text{C}$

4.4.3 .4 Détermination de l'absorbance spécifique en rayonnement ultraviolet

La présente norme (CCE 2568-1991 équivalente à la méthode ISO 3980-1995)

décrit une méthode de la détermination de l'absorbance spécifique de l'huile, par quantification spectrophotométrique, en rayonnement ultraviolet dans un domaine spécifique de longueur d'onde. L'huile d'olive est dissoute dans l'hexane, puis l'extinction de la solution est déterminée aux longueurs prescrites par rapport à l'hexane, les extinctions spécifiques sont déterminées à partir des lectures spectrophotométriques.

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.3 .5 Indice d'iode (I.I)

L'indice d'iode (I.I) d'une matière grasse est le nombre de grammes d'halogène exprimé en iode fixé par 100 grammes de corps gras. Le principe de sa détermination est basé sur la fixation d'halogènes par les doubles liaisons des acides gras insaturés, il permet donc d'évaluer le taux des insaturations moyennes de l'huile (*Mordet. F, 1992*). La norme (*AFNOR NFT 60-203*) est utilisée pour la détermination de l'indice d'iode en suivant le mode opératoire :

Une quantité de 0.2g d'huile est solubilisée dans 20 ml dans de CCl₄. A cette solution on ajoute 20ml de réactif de Wijis (solution de concentration de 0,1M de monochlorure d'iode (ICl). Le mélange est bouché et mis à l'obscurité pendant 1 heure. On ajoute au mélange précédent 20ml d' une solution à 10 % m/v d'iodure de potassium (KI) et 100ml d'eau distillée puis on dose l'excès d'iode par une solution de thiosulfate de sodium Na₂S₂O₃ (0.2N) en utilisant l'amidon comme indicateur. L'indice d'iode est calculé à l'aide de la relation suivante :

$$\text{Indice d'iode} = 12,69 \times T \times (V_0 - V_1) / M$$

V₀: le volume en millilitre de la solution de thiosulfate de sodium, utilisé pour l'essai à blanc

V₁: le volume en millilitre de la solution de thiosulfate de sodium ; utilisé pour l'échantillon

M : la masse en gramme de la prise d'essai

T : le titre de la solution de thiosulfate de sodium utilisée (0.1).

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.3 .6 Détermination de l'indice de saponification

Il correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour la saponification d'un gramme de corps gras , La valeur de l'indice de saponification nous permet d'estimer les longueurs des chaînes de carbone des acides gras constituant l'huile d'une part, et de calculer les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides que renferme l'huile. La détermination de l'indice de saponification est réalisée en utilisant la norme (AFNOR. NF T60-206) en suivant les étapes suivantes : Une quantité d'un gramme d'huiles est saponifiée à reflux par 25 ml de KOH éthanolique (0.5N) pendant une heure.

L'excès de KOH est neutralisé par de l'acide hydrochlorique (HCl) (0.5N) en présence de phénophtaléine comme indicateur coloré. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions sans huile. L'indice de saponification est calculé par la relation suivante:

$$\text{Indice de saponification} = (V_0 - V_1) \times T \times 56,1 / M$$

V_0 : le volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique, utilisé pour l'essai à blanc,

V_1 : le volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique

M : la masse en gramme de la prise d'essai

T : le titre de la solution de l'acide chlorhydrique utilisée (0,1 mol/l)

NB : prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat

4.4.3 .7 Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras (CPG)

Les huiles sont principalement composées de triglycérides - triesters d'acides gras du glycérol. Ces molécules sont difficiles à analyser tel quel en

chromatographie gazeuse, et on analyse généralement les acides. Pour se faire, il faut d'abord détruire les liaisons ester glycérol - acide gras et à synthétiser des esters de méthanol et des acides gras (ces esters, étant plus volatils, sont plus faciles à analyser que les acides gras « libres »).

Tableau 4.3: Conditions opératoires pour les esters méthyliques de l'huile d'olive

Chromatochgraphe	Chrompack CP 9001
Détecteur	FID
Injecteur	SPLIT 1/100
Colonne capillaire	DB 23 (50% cyanopropyl)
Longueur	30m
Diamètre intérieur	0.32mm
Epaisseur	0.25µm
Gaz vecteur	Azote
Température de l'injecteur	250°C
Température de détecteur	280°C
Température du four	200°C
Quantité injectée	0.1µl
Vitesse du papier	0.5cm/min

Les esters obtenus, souvent appelés FAME pour Fatty Acid Methyl Esters, sont séparés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne suffisamment polaire pour séparer les molécules aussi bien en fonction de leur taille que de leur degré d'insaturation (les nuages électroniques des liaisons π étant susceptibles d'interagir avec des phases stationnaires polaires). La préparation des esters méthyliques est effectuée selon le protocole suivant :

Les triglycérides sont attaqués par de la soude et les acides gras libérés sont estérifiés par le méthanol sous catalyse acide. Environ 3 gouttes d'huile sont reprises par 1ml d'heptane dans un tube et le contenu est agité pendant 2secondes tout en maintenant le tube bouché. 0,2ml de NaOH méthanolique (2mol/l) est ajoutée et le tube est agité vigoureusement pendant 10 secondes, ensuite placé dans un bain marie à 50° C pendant 20 secondes tout en continuant de maintenir le bouchon fermé.

Après ce délai, le tube est agité encore une fois pendant 10secondes puis

0,4ml d'HCl méthanolique (1mol/l) est ajouté suivi d'une agitation. Après décantation, la phase organique contenant les esters méthyliques est recueillie et diluée 10 fois dans de l'heptane, puis transvasée vers le flacon d'analyse de la chromatographie en phase gazeuse.

4.5 Extraction des polyphénols

4.5.1 Extraction solide– liquide des composés phénoliques d'huile d'olive

Le principe consiste à ce que le solvant doit franchir la barrière. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion. Le solvant utilisé dans cette présente étude est le méthanol pur (99%). Celui-ci possède l'avantage d'être plus facilement éliminé sous-vide.

Il donne en plus un meilleur rendement d'extraction [105.107] dépassant celui obtenu avec l'eau de 7 fois. Le rendement d'extraction en polyphénols augmente aussi avec le temps de contact [173]


		
Figes Nettoyées et Broyées	Macération : 200 mg du broyat dans 200 ml de méthanol pendant 5 jours avec agitation périodique et filtration	Concentration au rota vapeur à 60 C°

Figure 4.3 : l'extraction solide-liquide des composés phénoliques des figes sèches.

4.5.2 Extraction liquide-liquide des composés phénoliques d'huile d'olive

La méthode utilisée est celle de Tsimidou et al, 1992, modifiée, elle consiste à une introduction d'une solution d'échantillon (50g d'huile dans 50ml d'hexane)

dans une ampoule à décanter, l'ajout du mélange méthanol/eau (80/20), après agitation (5min) et décantation, la phase polaire (phase méthanolique) contenant les composés phénoliques est récupérée, tandis que la phase apolaire subit une 2^{ème} et une 3^{ème} extraction pour récupérer la fraction phénolique restante. chaque phase polaire récupérée subit un lavage par l'hexane




		
50g d'huile+ 50ml d'hexane + méthanol/eau (80/20)	Récupération la phase polaire	lavage par l'hexane des 3 phases polaires récupérées

Figure 4.4 : l'extraction liquide – liquide des composés phénoliques d'huile d'olive

4.6 Calcul du rendement

Le pourcentage en extrait bruts sec méthanolique a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

4.7 Analyse qualitative par HPLC

L'analyse qualitative est réalisée par la chromatographie, qui est un ensemble de méthodes de séparations basés sur différents principes physiques, elle sépare les constituants d'un mélange par entraînement au moyen d'une phase mobile (liquide), le long d'une phase stationnaire (solide). Suivant la disposition du support de chromatographie on distingue [13]:

- La chromatographie sur papier (de partage) ;
- La chromatographie sur couche mince (d'adsorption) ;
- La chromatographie liquide à haute performance.

Par manque de disponibilité de moyens, nous avons utilisé, pour notre travail un seul type de chromatographie, qui est la dernière chromatographie. Dosage par chromatographie liquide à haute performance HPLC –RP-C18 :

Dans le cadre d'identifier les polyphénols existants dans l'extrait brut, l'analyse est réalisée par un HPLC, le besoin d'identifier les composés individuels dans les échantillons exige le remplacement des méthodes traditionnelles par des techniques séparatives. L'HPLC est sans doute la technique analytique la plus utile pour caractériser les composés polyphénoliques [36]. C'est une technique très fiable et très pratique pour la séparation de très faibles quantités de produits non volatiles (comme les polyphénols) dans les mélanges les plus complexes. Dans le cadre de notre étude, nous avons opté pour une méthode de choix très précise (VP SHIMADZU LIQUID CHROMATOGRAPH) qui a été réalisé au niveau du laboratoire physico-chimique du complexe antibiotique SAIDAL Médéa.

- Principe :

20 µl de chaque extrait ont été injectés sur une colonne de type phase inverse C18, de dimensions égales à (125x 4.6 mm). La phase mobile est constituée de trois éluant : eau distillée, méthanol, acide acétique (50 : 47 : 2.5) (V / V / V). Le gradient d'élution appliqué est de type isocratique étalé sur 10 min. Le débit est de 1 ml / min [8] La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde égale 254 nm.

- Expression des résultats :

Les polyphénols contenus dans chaque extrait analysé ont été identifiés par la comparaison des temps de rétention obtenus par ceux des témoins.

Tableau 4.4 : Les conditions opératoire d'H.P.L.C.

Matériel	Types et caractéristiques	Fournisseurs
Colonne	C18	SHIMADZU
-Diamètre	4,6mm	
Longueur	25nm	
Température	25°C	
Pompe (Débit)	1ml/min	
Micro-seringue	20 µl	
Détecteur multi faisceaux	260 nm (UV visible)	

4.8 Analyse quantitative

4.8.1 Dosage des composés phénoliques extractibles totaux

L'estimation de la teneur en composés phénoliques extractibles totaux a été réalisée par la méthode de Folin- Ciocalteu (Waterman et Mole, 1994, cité par Mansouri, 2005).

- Principe

Le réactif de Folin- Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) (Ribereau-Gayon et al, 1976, cité par Benamara et al., 2007). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

- Réactifs et extraits utilisés

Un polyphénol témoin : l'acide gallique pour la réalisation de la gamme d'étalonnage en milieu aqueux, Réactif de Folin-Ciocalteu : à 10 ml du réactif Folin Ciocalteu on a ajouté 90 ml d'eau distillée, Bicarbonate de sodium à 7.5 % : 15g de

bicarbonate de sodium ont été dissous dans 200 ml d'eau distillée

- Mode opératoire

a- Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Une gamme de 9 concentrations d'acide gallique allant de 0 à 0.17 mg /ml a été préparée à partir d'une solution mère de 0.2 mg/ml de concentration, (voir Appendice D pour courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux)

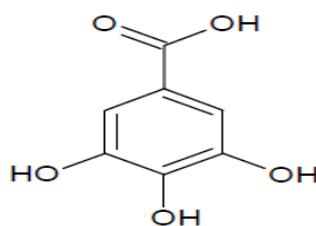


Figure 5.5 : L'acide gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque).

- Analyse du standard et des extraits

Introduction de 300 µl de la solution de l'acide gallique à différentes concentrations dans les tubes d'une première série et 300 µl de chaque échantillon à analyser dans les tubes d'une deuxième série ,ajout de 1500 µl du réactif Folin Ciocalteu puis de 1200 µl de la solution de bicarbonate de sodium dans chaque tube , agitation puis incubation à l'obscurité pendant 1 heure , lecture des absorbances à 760 nm. Le blanc est représenté donc par 300 µl d'eau distillée, additionnée de 1.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 1.2 ml de carbonate de sodium à 7.5 %.

- Expression des résultats

La concentration en composés phénoliques extractibles totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique . Tous les dosages ont été réalisés en triplicata (trois répétitions pour toutes les concentrations)

4.8.2 Dosage des flavonoïdes

La méthode utilisée pour l'estimation des taux de flavonoïdes extraits est celle

décrite par Lamaison et Carnat (1991) et cité par Bahorun (1997).

- Principe

La coloration jaunâtre donnée dans cette méthode est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [61].

- Réactifs et extraits utilisés

2g de chlorure d'aluminium (AlCl_3) dissous dans 100 ml de méthanol absolu
Solution mère du standard : 0.4 mg de quercétine dissous dans 100 ml de méthanol absolu avec tous les extraits.

- Mode opératoire

- ✓ Préparation de la gamme d'étalonnage

Une gamme de 9 concentrations de quercétine allant de 2.5 à 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a été préparée à partir d'une solution mère de 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de concentration (400 μg de quercétine dissous dans 10 ml de méthanol). (Voir Appendice G pour courbe d'étalonnage des flavonoïdes).

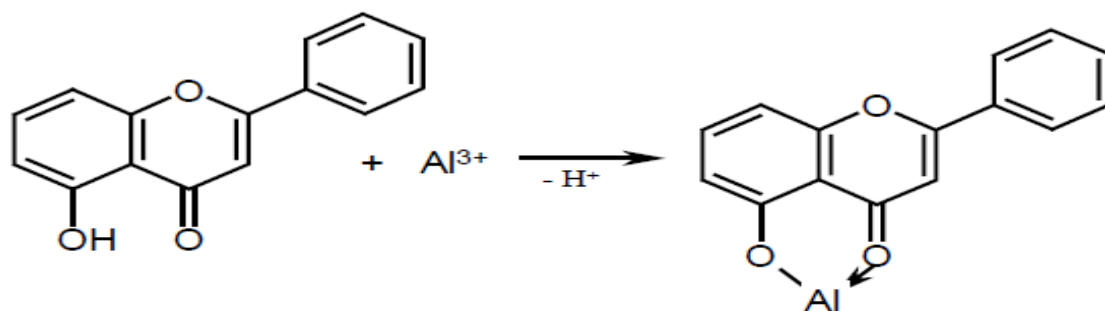


Figure 5.6: Principe de réaction entre les flavonoïdes et AlCl_3 [192].

- ✓ Analyse du standard

Des aliquotes de 0.2 à 3.0 ml de la solution mère de quercétine ont été introduites dans une série de tubes à essai, le volume final dans chaque tube a été complété à 3 ml par addition de méthanol absolu ; 1 ml a été prélevé de chaque tube et transféré à un autre. ; 1 ml de la solution méthanolique du chlorure d'aluminium à 2 % y a été ajouté ; Après 10 mn, l'absorbance est lue à 430 nm.

✓ Analyse des extraits

Deux séries de tubes à essai ont été préparées ; 1 ml de chaque extrait a été introduite dans un tube de chacune des deux séries , 1 ml de la solution méthanolique du chlorure d'aluminium à 2 % a été additionné à chacun des tubes de la première série , 1 ml de méthanol absolu a été ajouté à chacun des tubes de la deuxième série , Après 10 mn, l'absorbance est lue à 430 nm.

✓ Expression des résultats

La concentration en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard (voir appendice D). Tous les dosages ont été réalisés en triplicata (trois répétitions pour toutes les concentrations)

4.8.3 Dosage des tanins hydrolysables

Les anthocyanines ont été déterminées selon la méthode de Willis et Allen (1998) modifié par Cam et Hisil (2010) :

Dans un tube à essai ; 1ml de l'extrait dilué dix fois et 5ml de KIO_3 à 2,5 sont mélangés et vortex pendant 10 secondes. Le temps de réaction optimal pour obtenir la valeur maximale d'absorbance a été déterminé et estimé à 2 minutes pour les extraits et à 4minutes pour les solutions étalons de l'acide tannique.

L'absorbance du mélange de couleur rouge a été déterminée à 550 nm contre un blanc (eau distillée), six concentrations différentes de solution d'acide tannique (5000-2000 μ g/ml) sont préparées pour l'étalonnage. Les résultats finaux sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique par g de matière sèche (mg EAT/g MS) .Tous les dosages ont été réalisés en triplicata (trois répétitions pour toutes les concentrations) (Voir Appendice D pour courbe d'étalonnage des Tanins).

4.9 Les activités biologiques des composés phénoliques des extraits méthaloniques

4.9.1 L'activité anti-oxydante des composés phénoliques des extraits méthaloniques

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydante des extraits (FN, FB, HFN, HFB, OHN, OHB, OH), 2 (deux) tests ont été réalisés : pouvoir réducteur et le pouvoir de piégeage du radical DPPH. L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH) et superoxydes (O_2).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, in vitro et in vivo, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) ; les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ; ou les radicaux ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH (diphényl-picrylhydrazyle).

Dans notre étude, l'activité antioxydante des extraits végétaux étudiés a été évaluée in vitro par deux méthodes de référence : le pouvoir réducteur et l'activité d'inhibition du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl). Le pouvoir antioxydant de ces extraits a été comparé à un antioxydant de synthèse qui est le BHT et l'acide ascorbique

1.9.1.1 Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH

- Principe :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation

structure-activité antioxydant des composés phénoliques, Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, le DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH (figure 4.6).

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH, mesurable par spectrophotométrie à une absorbance de 515 à 518 nm.

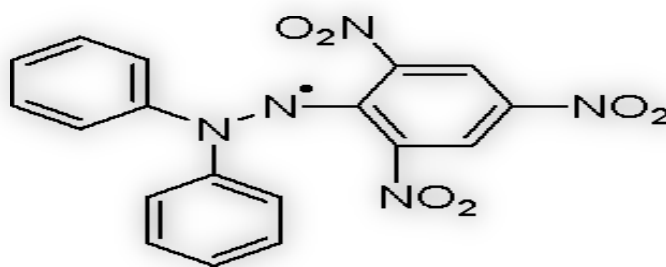


Figure 4.5 : Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 Diphenyl-1-Pikryl-Hydrazyle).

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes :

- la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivées phénoliques).
- la libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycosylées et des anthocyanes).

Dans le cas des composés phénoliques, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH, alors, transformé en une molécule stable DPPH-H (figure n°24).

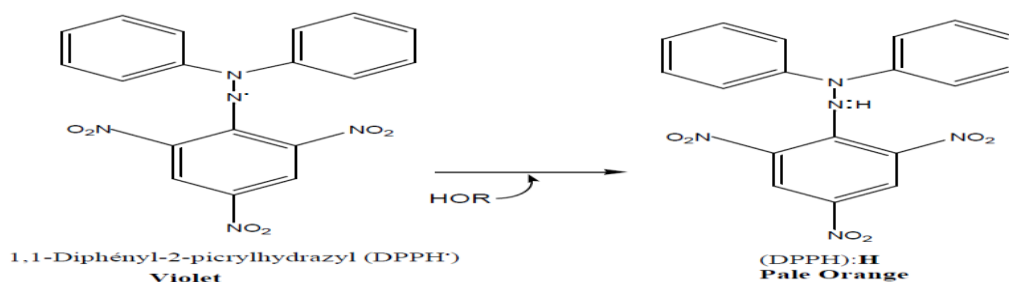


Figure 4.6 : Réduction du radical DPPH[•] [156].

- Mode opératoire :

Le test utilisant le radical DPPH est réalisé, en suivant la méthode décrite par Sahin *et al.* (2004). 25 µl de la solution méthanolique de l'extrait phénolique et 0.975 ml de la solution méthanolique de DPPH (0.0024 g/100 ml méthanol) sont ajoutés dans une cuvette après incubation pendant 30 min et l'absorbance a été mesuré à 517 nm contre le méthanol. L'expérience est répétée 3 fois pour chaque concentration d'extrait dilué.

Le pourcentage d'activité antioxydante (I%) est calculé selon la formule suivante :

$$I \% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100$$

A_{blanc} = Absorbance du témoin (nm): c'est l'absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon (extrait méthanolique) à une concentration donnée.

$A_{\text{éch}}$ = Absorbance de l'échantillon testé après 30 minutes.

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour le BHT et acide ascorbique présent comme antioxydant standard.

1.9.1.2 Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50)

Elle est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. Elle est obtenue à

partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant.

4.9.1.3 Mesure du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est un essai simple, rapide et reproductible (Benzie et Strain, 1996). Il est universel pour être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et les extraits organiques et aqueux (Li et al. 2008), le pouvoir réducteur d'un composé sert d'indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle [92]

La présence des réducteurs dans les extraits de la plante provoque la réduction de Fe^{+3} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{+2} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm [54]

En d'autres termes, le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ confère à la méthode de la sensibilité pour la détermination « semi quantitative » des concentrations des poly phénols, qui participent à la réaction rédox [31].

- Mode opératoire :

L'estimation du pouvoir réducteur des échantillons (les extraits végétaux) est obtenue en suivant le protocole expérimental représenté par la figure 4.9.

L'expérience est répétée 3 fois pour chaque concentration de l'échantillon testé, L'augmentation de l'absorbance indiquera une augmentation du pouvoir réducteur de l'échantillon. Le blanc est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par le méthanol.

Le BHT et l'acide ascorbique ont différentes concentrations sont utilisés comme standard. Une absorbance élevée indique un pouvoir réducteur élevé. La concentration en extrait fournissant 0.5 d'absorbance (EC50) ou la concentration effective a été calculée à partir du graphique de l'absorbance à 700 nm contre la concentration en extrait [71].

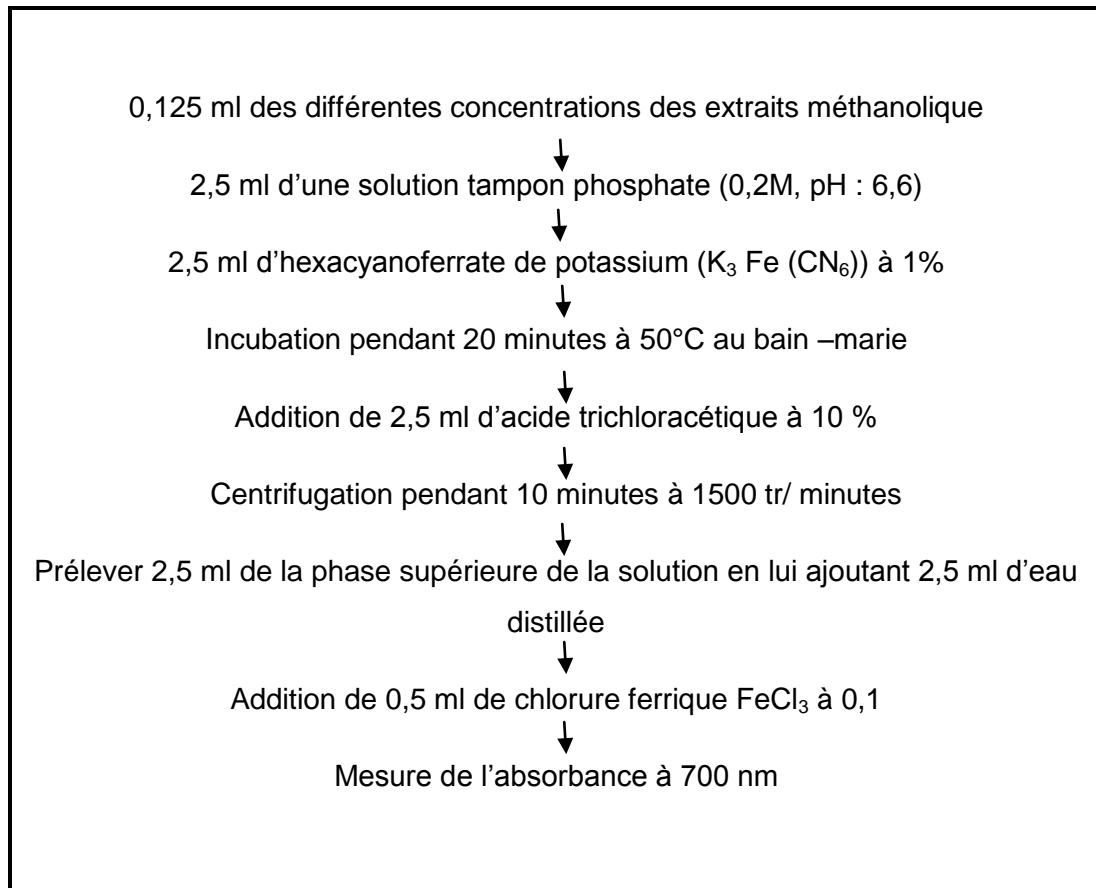


Figure 4.8: Les étapes d'évaluation du pouvoir réducteur.

4.10 Les analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques ont pour objectif la recherche et le dénombrement de la microflore à incidence sanitaire et technologique c'est-à-dire les germes responsables des accidents de fabrication et qui sont impliqués dans des altérations de la qualité organoleptique et marchande du produit.

L'huile d'olive vierge peut contenir une microflore (bactéries, levures, moisissures) due au mauvais traitement des olives lors de la cueillette ou le stockage, ou à l'absence d'hygiène lors de l'extraction. L'huile d'olive mélangée avec la figue sèche peut aussi contenir une microflore, provenant soit de l'huile d'olive vierge elle-même mais soit des figues ajoutées à l'huile d'olive. Pour ce la on a réalisé :

- Le dénombrement de la flore mésophile totale qui est un indice de l'état général de la qualité du produit.

- La recherche et le dénombrement des germes indicateurs de la contamination fécale tels que Les Coliformes totaux et Les Coliformes fécaux.
- La recherche des germes pathogènes tels que Les Salmonelles et Les Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*) et les spores de Clostridium .sulfito réducteurs.

Les germes recherchés dans nos échantillons sont mentionnés sur le tableau 4.7 (voir Appendice M)

- Préparation des échantillons

La technique figure dans la norme (AFNOR. NF 08 010 de Mars 1996), il existe parallèlement une norme (ISO 6 887 de 1999). Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques : Peser 25g de figue, on transfère dans un flacon stérile contenant 225 ml de TSE (Tryptone Sel Eau) pour l'obtention de la suspension mère. On prélève aseptiquement 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette graduée stérile de 1 ml munie d'une poire à aspiration ; l'homogénéisation du prélèvement se fait après aspiration et refoulement 3 fois ou par l'utilisation d'un homogénéisateur. On transfère aseptiquement les 1 ml prélevés dans le 1er tube (10^{-2}), la pipette ne devrait pas pénétrer dans les 9 ml du diluant qui est le TSE. A l'aide d'une 2ème pipette stérile de 1 ml, procéder de même du tube 10^{-2} au tube 10^{-3} . Pour l'huile d'olive : Mettre une ampoule de Tween 80 dans 100ml d'eau distillée (Tween 80 est un émulsifiant/solubilisant "huile dans eau", il est soluble dans l'eau et permet à l'huile de bien se mélanger à l'eau , introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette automatique avec un embout stérile, 1 ml d'huile d'olive (une dilution décimale de 10^{-1}) dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml du mélange (tween+ eau distillée).

Tableau 4.7: Les germes recherche dans la figue séchée, huile d'olive et leur mélange après macération

Produit	Les germes recherches	Le milieu de culture	Incubation à
OH OHN OHB	-Flore aérobies mésophiles	-PCA	30°C pdt 72h
	- Coliformes	-VBL eau péptonée Kovacs	37°C pdt 24 h à 48 h
	-Staphylococcus aureus	-Gilloti contoni	-37°C pdt 24h
	-Levures	- OGA	-20°C à 25°C pdt 5 j
	-Salmonella	-SFB (Enrichissement) -Hektoene (Isolement)	30°C pdt 24 h
HFB-HFN	-Flore aérobies mésophiles	-PCA	30°C pdt 72h
	-Coliformes	-VBL	37°C pdt 24 h à 48
	-Clostridium sulfito réducteurs	-VF	46°C pdt 24 h à 48 h
	-Staphylococcus aureus	- <i>Giolliti Cantonii.</i>	-37°C pdt 24h
	-Salmonella	SFB (Enrichissement) -Hektoene (Isolement)	30°C pdt 24 h
FB-FN	-Levures osmophiles -Moisissures	- OGA	-20°C à 25°C pdt 5 j
	-Escherichia coli	-PCA	30°C pdt 72h

4.10.1 Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) (AFNOR, NF 08-051, 1991)

- Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , porter 1 ml dans deux boîtes de Pétri. , ajouter environ 20 ml de la gélose PCA (gélose glucosé à l'extrait de levure « Plate Count Agar ») fondu et refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, effectuer des mouvements circulaires et de va et vient en forme de huit pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée, laisser solidifier sur pailleasse, rajouter une deuxième couche de la même gélose pour éviter les contaminations, incuber les boîtes couvercles en bas à 30°C pendant 72 heures, effectuer la lecture chaque jour , les colonies des GAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

- Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant

compte du facteur suivant : Ne dénombrer que les boites contenant entre 15 et 300 colonies.

- Expression des résultats

$N = C \times \text{inverse de la dilution}$

Où :

N : Nombres de micro-organismes par gramme de produit analysé.

C : Nombres de colonies de chaque boite.

4.10.2 Dénombrement des spores d'anaérobies sulfitoréducteurs (AFNOR NF 08-061, 1994)

- Principe

La méthodologie proposée permet la destruction des formes végétatives et le seul dénombrement des spores ayant résisté au traitement thermique. Les microorganismes anaérobies sulfitoréducteurs sporulent et sont capables de se développer en condition d'anaérobiose et de manifester des propriétés sulfitoréductrices. Le milieu viande foie (VF) contient de l'amidon qui favorise la germination des spores, du sulfite qui est réduit en sulfure qui précipite avec les ions ferriques en formant un précipité noir. Outre la thermorésistance des spores, la sélection est basée sur la culture en anaérobiose stricte (Guiraud, 1998).

- Mode opératoire

- ✓ Préparation du milieu :

Faire fondre un flacon de la gélose viande foie (VF) puis le refroidir à 45°C, ajouter une ampoule d'alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium, mélanger soigneusement et aseptiquement, maintenir le milieu dans une étuve ou au bain-marie à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation.

- ✓ Ensemencement et incubation :

Porter aseptiquement 2 ml de chaque dilution (10^{-1} et 10^{-2}) en double dans deux tubes à vis stériles de 16 mm de diamètre, les tubes contenant les

dilutions 10^{-1} et 10^{-2} seront soumis, d'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes, puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées, puis ajouter environ 15 ml de gélose Viande Foie prête à l'emploi, dans chaque tube, laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes. Ces tubes seront ainsi incubés à 37°C pendant 16, 24 ou au plus tard 48 heures.

✓ Lecture

La première lecture doit se faire impérativement à 16 heures car : D'une part les colonies de Clostridium Sulfitoréducteurs sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire, d'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussée en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5 mm. Dans le cas où il n'y a pas de colonie caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 heures voir 48 heures.

4.10.3 Dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux (NF 08-060 (1996) /ISO

La technique utilisé est une technique d'ensemencement dans la masse , nous avons introduit 0.1ml de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) dans des boites Petri vides et stériles puis on complète avec environ 20ml de gélose PCA (Plat Count Agar) en surfusion à 45°C , on a fait ensuite des mouvements de va et vient en forme 8 (huit) pour bien homogénéiser et on a on laisse solidifier , on réalise trois répétitions pour chaque dilution . Les boites sont incubées à 37°C pendant 72 heures (Normes AFNOR NF V08 -051). Apparition de colonies sous forme lenticulaire implique la présence des germes mésophiles, le dénombrement ne concerne que les boites contenant entre 30 et 300 colonies. La lecture finale se fait à partir de 24 h d'incubation.

4.10.3.1 Recherche des coliformes

- Méthode :

Dans les denrées alimentaires, les coliformes sont dénombrés en milieu par la technique du nombre le plus probable (NPP) (voir appendice) à l'aide du bouillon VBL (Liquide lactose au vert brillant), reparti à raison de 9ml par tube munis d'une cloche de durham (Normes AFNOR NF V08 -050). Cette technique fait appel à deux tests consécutifs.

- Test de présomption : Recherche des coliformes totaux.
- Test de confirmation : Ou test de MACKENZIE réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

- Test de présomption

Préparer les tubes contenant le milieu VBL à raison de 3 tubes par dilution. A partir de chaque dilution décimale (10^{-1} à 10^{-3}), on porte aseptiquement 1ml dans les trois tubes correspondant du milieu VBL. On mélange la suspension pour chasser le gaz présent éventuellement dans la cloche et on incube à 37°C pendant 24 à 48 heures. Le résultat positif se traduit par :

- un dégagement de gaz (Supérieur à 1/10 de la hauteur de la cloche)
- Observation d'un trouble dans le milieu

Les deux caractères étant témoin de la fermentation de lactose dans les conditions opératoires décrites. La lecture finale pour déterminer le nombre de coliformes totaux se fait selon la table statistique de MAC – GRADY.(voir appendice)

- Test de confirmation :

Pour rechercher les coliformes fécaux (*Echerichia Coli*), on additionne 0.1ml de chacun des tubes positifs du test de présomption à un tube contenant le milieu VBL + cloche de Durham et à un autre contenant l'eau péptonée exempte d'indole. On incube les tubes à 44°C pendant 24 heures à 48 heures.

Le résultat positif se traduit par un dégagement de gaz dans la cloche du tube VBL et une apparition d'un anneau rouge à la surface du tube, après addition de 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs. les deux caractères étant témoin de la

fermentation du lactose (Production du gaz) et production d'indole par *Echerichia Coli* dans les conditions opératoires décrites.

- Lecture et dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boites en tenant compte des facteurs de dilutions, de plus : Les colonies apparaissent rouges à violettes de 0,5 à 1 mm entourées d'un halo de précipité des sels biliaries, ne dénombrer que les boites contenant entre 30 et 300 colonies, multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution, faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions. Il est impossible de trouver plus de Coliformes fécaux que de Coliformes totaux.

4.10.4 Recherche et dénombrement des levures et moisissures (AFNOR NF ISO 7954, 1988)

- Principe

L'isolement des champignons est réalisé par l'emploi d'un milieu sélectif doté de propriétés antibactériennes : le milieu OGA (à l'Oxytétracycline 0,1 mg/l).

- Mode opératoire

- ✓ Préparation du milieu

- Faire fondre le milieu de base et le refroidir à 45°C. Ajouter à 10 ml du milieu de base 1 ml de la solution d'Oxytétracycline, bien mélanger et couler en boite de Pétri.

Laisser solidifier sur paillasse couvercle fermé.

- ✓ Ensemencement et incubation

- Transférer à l'aide d'une pipette de 1 ml, à la surface de 3 boite de Pétri contenant la gélose OGA, 4 gouttes de la prise d'essai, répartir sur toute la surface à l'aide d'un râteau stérile, incuber les boites retournées (couvercle en bas) pendant 5 jours à 20-25°C.

✓ Remarque :

- Opérer de la même façon et dans les mêmes conditions, avec le diluant (TSE), c'est-à-dire qu'il faut prendre quatre gouttes du diluant, les étaler avec un râteau à part et les incuber dans le même endroit que les boîtes tests, cette boîte constitue le témoin diluant.
- Incuber telle quelle, une boîte du milieu utilisé, cette dernière sera incubée également telle quelle dans le même endroit et dans les mêmes conditions de température, elle constitue le témoin du milieu. Après 48h d'incubation, repérer chaque jour les colonies sur les boîtes.

$N = C \times 5 \times \text{inverse de la dilution}$

N : Nombres de levures ou moisissures par gramme de produit analysé

C : Nombres de colonies de chaque boîte

4.10.5 Recherche de *Staphylococcus aureus*

- Méthode

La recherche de *Staphylococcus aureus* nécessite deux étapes consécutives. En premier lieu, on réalise un enrichissement sur le milieu de Chapman liquide afin de récupérer les cellules stressées, puis on réalise un isolement sur milieu de Chapman solide pour arriver à compter les colonies (Norme Afnor NF V08-052).

- Enrichissement :

On introduit 1ml de chaque dilution dans un tube correspondant contenant le milieu Chapman liquide à raison de trois (3) tubes par dilution. Après homogénéisation, incuber les tubes à 37 °C pendant 24 heures. Les résultats positifs se traduisent par l'apparition d'un trouble bactérien dans les tubes.

- Isolement :

Dans des boîtes de Petri contenant du milieu gélose de Chapman, on ensemence en surface un volume de 0.1 ml de chacun des tubes positifs. Pour chaque tube trois (3) répétitions sont réalisées. On étale à l'aide d'un râteau en verre stérile. On incube à 37 °C pendant 24 à 48 heures la suspension. La lecture

finale des résultats est réalisée par comptage des colonies de *Staphylococcus aureus* et qui apparaissent circulaires et de coloration jaunâtre (Fig 14). En cas de résultat positif, on procède à la confirmation par la catalase et gélatinase.

4.10.6 Recherche du germe Salmonella

- Méthode :

Nous avons introduit aseptiquement dans un flacon 225 ml de l'eau physiologique stérile, 25g de la poudre de lait (Pesée à l'aide d'une balance électronique) et la même chose pour les fruits, les sucres ; et les produits finis. En agitant pendant 3 à 5 minutes pour obtenir une suspension homogène qui est la dilution 10^{-1} .

Pour l'eau de process , les laits intermédiaires , les suspensions mère étant les produits eux-mêmes, la dilution 10^{-1} est obtenue par addition à 1ml de la suspension mère , 9ml d'eau physiologique, puis homogénéiser à l'aide d'une pipette graduée stérile , on prélève 1ml de la solution mère de la dilution 10^{-1} pour l'introduire dans un tube stérile contenant 9ml d'eau physiologique ainsi s'obtient une dilution 10^{-2} , de cette dernière , on introduit aseptiquement un volume de 1 ml dans un tube contenant 9ml d'eau distillée , homogénéiser et c'est la dilution 10^{-3} (Fig. 9). Les salmonelles sont des bactéries difficiles à isoler, vue leur nombre très faible, pour cela , leur recherche nécessite de passer par différentes étapes , d'abord un pré enrichissement , puis un enrichissement sur milieu sélectif , et à la fin un isolement sur milieu d'héktoen . (Norme AFNOR, V08.013 : ISO 6579 08 – 052). (Bourgeois, 1990).

- Pré enrichissement

On prend un volume de 11ml de la dilution 10^{-1} préparée, et les incubent à 37 °C pendant 18 heures.

- Enrichissements

A partir du milieu de pré enrichissement, on prélève d'une part un volume de 10ml et d'autre part un volume de 1ml qu'on introduit respectivement dans un flacon stérile contenant 90ml du milieu sélectif SFB (D/C)+ cystéine et un tube stérile contenant 9ml du SFB (S/C) + cystéine . On incube à 37°C pendant 24

heures, le virage de la couleur du marron au rouge indique le résultat positif, que se soit pour la simple ou la double concentration.

- Isolements

A partir du milieu d'enrichissement présentant le résultat positif, on réalise un ensemencement par stries sur le milieu gélose d'hektoen + additif de SFB sélénite acide de sodium (Une ampoule par flacon) coule et solidifie au préalable dans des boîtes de Petri, on incube à 37°C pendant 24 heures. Les colonies du genre salmonella sur hektoen apparaissent le plus souvent gris bleu avec ou sans centre noir.

4.10.7 Dénombrement des levures osmophiles des figues sèches

- Définition

Les levures osmophiles, sont des champignons microscopiques unicellulaires capables de se développer en présence de 20% ou plus de glucose ou saccharose (Guiraud ,2004)

- Principe

Ensemencement en profondeur d'une quantité déterminée d'un milieu de culture, coulé dans deux boîtes de pétri, avec une quantité définie de la suspension mère. Dans les mêmes conditions, ensemencement des dilutions décimales des autres boîtes obtenues à partir de la suspension mère. Incubation de ces boîtes en aérobiose à 25 °C pendant 48h. Calcul du nombre de levures osmophiles par gramme d'échantillon, à partir du nombre de colonies obtenues dans des boîtes choisies aux niveaux de dilutions donnant un résultat significatif

- Mode opératoire

Dans un sac Stomacher , peser 0,01 g près 10 g de morceaux de fruits ,ajouter 90 ml d'eau péptonnée (diluant) de façon à ce que le poids total obtenu est de 100g , fermer le sac Stomacher , et l'introduire dans l'appareil d'homogénéisation Stomacher , faire fonctionner l'appareil pendant 1 min. La dilution ou la suspension mère 10^{-1} est ainsi préparée .A partir de cette suspension, on commence à préparer les dilutions décimales 10^{-2} et 10^{-3} dans des tubes à essais contenant 9ml de diluant (eau péptonnée tamponnée), transvaser avec une pipette,

1ml de la dilution primaire (dilution 10^{-1}) dans un tube à essai contenant 9ml du même diluant stérile, à la température ordinaire, en évitant le contact entre la pipette et le diluant. Mélanger soigneusement soit à la main ou par agitateur vortex pendant 1min, le tube à essai pour obtenir la dilution 10^{-2} , préparer de la même façon la dilution 10^{-3} tout en utilisant une nouvelle pipette.

4.11 L'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode citée par (Berkan, 1991).

- Le principe

Le principe générale consiste à réduire expérimentalement chez l'animal de laboratoire un processus inflammatoire qui sera antagonisé par des substances censées être douées d'une activité anti-inflammatoire ; administrées préalablement (extrait aqueux).

- Mode opératoire

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux à (0,2g/l et 0,4g/l) sur l'œdème des pattes postérieures provoquées par l'injection d'une solution de carraghénine à (1%) chez les souris. L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction anti-inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire (extrait aqueux de la plante). La préparation de la solution de carraghénine (1%), a été faite par une dilution de 20 mg de la carraghénine dans 02ml d'eau physiologique. Les animaux testés sont répartis en 09 lots de 05 souris dont le poids est supérieur à 24g (de 24g à 28g).

❖ A T_0 : Les 03 solutions (eau physiologique, extrait aqueux de 0.2g/ml et extrait aqueux de 0.4g/ml, sont administrées par voie intra-péritonéale :

- Lot témoin : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau physiologique.
- Lot 01 : chaque souris reçoit 0.5 ml d'infusé à dose 0.2g/ml.
- Lot 02 : chaque souris reçoit 0.5ml d'infusé à dose de 0.4g/ml.

- ❖ Après 30mn : La solution de carraghénine à 1% est injectée sous l'aponévrose plantaire des pattes postérieures droites à un volume de 0.025ml à toutes les souris des différents lots d'expérimentation. Ces même souris reçoivent une injection de 0.025ml d'eau physiologique dans les pattes postérieures gauches.
- ❖ La lecture : Le volume des pattes postérieures droites et gauches des 9 lots a été mesuré chaque 30mn à l'aide d'un pied à coulisse. Le pourcentage de réduction de l'œdème est calculé selon la formule suivante []

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}}$$

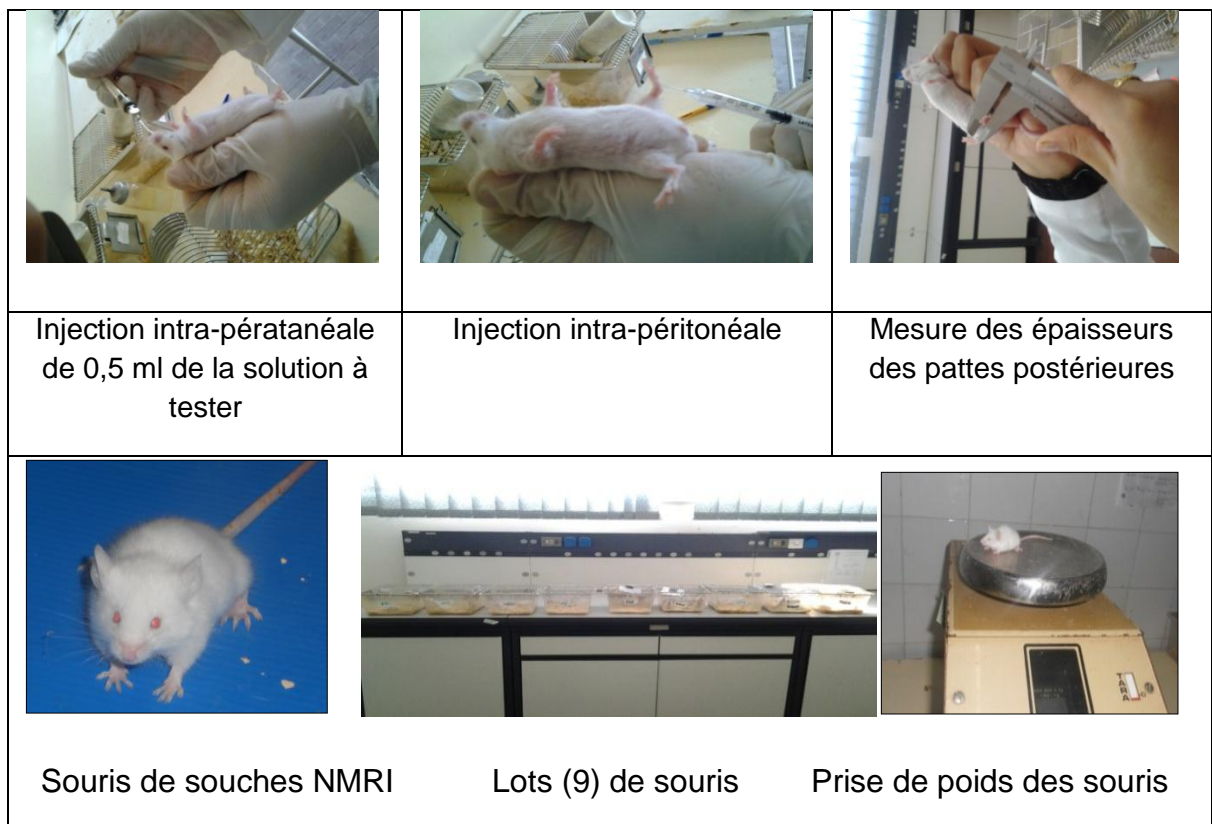


Figure 4.9: Protocole expérimental du principe de l'activité anti-inflammatoire.

4.12 Etude de l'activité antibactérienne

4.12.1 Identification et isolement des souches

Les souches ont été identifiées et isolées au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida (souches de références) et au sein du laboratoire de Saidal. Elles ont été conservées par la suite au réfrigérateur dans des tubes à essai contenant de la gélose inclinée ou sur milieu de conservation. Toutes les souches utilisées pour la préparation d'inoculum ont été auparavant repiquées sur gélose nutritive (bactéries) et OGA (champignons) dans des boîtes de pétri et incubées à 37° C pendant 18 à 24 heures

4.12.2 Stérilisation du matériel

On stérilise à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes L'eau distillée et les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes (inoculums) ainsi que dans la préparation des dilutions de nos échantillons. On stérilise à l'étuve à 121° C pendant 15 minutes : Les disques en papier Whatman (6 mm de diamètres) après enrobage dans du papier aluminium.

4.12.3 Souches microbiennes utilisées

Les souches utilisées ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie du complexe SAIDAL, ces souches ont été produites et développées à l'institut PASTEUR, le transport de l'échantillon au laboratoire a été fait dans une glacière afin d'éviter toute contamination, à son arrivée au laboratoire, l'échantillon est placé au réfrigérant. Ces souches sont inscrites dans le (tableau 4.5):

Tableau 4.8: Provenance des microorganismes.

Souches utilisées		Code de la souche
a- Bactéries : Bactéries à Gram(-) :	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536
Bactérie à Gram (+) :	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29737
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
	<i>Streptococcus</i>	ATCC 3082
	<i>Pseudomonas a�ruginosa</i>	ATCC 27853
b- Levure :	<i>Candida Albicans</i>	ATCC 10231
	<i>Aspergillus niger</i>	-
	<i>Schigella</i>	ATCC 363
	<i>Botyris</i>	-
	<i>Fusarium</i>	-

4.12.4Pr paration des dilutions des extraits à tester

Les extraits à tester sont les extraits méthanoliques (OH, OHN, OHB, FN, FB, HFN, HFB). Les extraits ont été dissous dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO). Le test a été effectué à différentes concentrations des extraits : 1g/ml (100%), 0.5g/ml (50%), 0.25g/ml (25%), 0.125g/ml (12.5%).

4.12.5 Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion de disques (Rahal et al. 2005)

- Préparation des inoculums

Dans la zone septique du bec bunsen et à partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement gélose nutritive, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester.

Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 MC Farland. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau distillée stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

- Ensemencement et dépôt des disques

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Recharger l'écouvillon à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Des disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont imprégnés ensuite d'une petite quantité des extraits (plus de 20 µl par disque) et déposés sur la surface de la gélose inoculée. Des disques de papier Whatman imprégnés de DMSO servant de témoin négatif, sont aussi déposés sur la surface de la gélose inoculée. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures

- Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite à l'aide d'un pied à coulisse, elle a été réalisée à l'extérieur de la boîte pour les milieux MH et à l'intérieur de la boîte pour MH au sang. Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 6 mm et à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée.

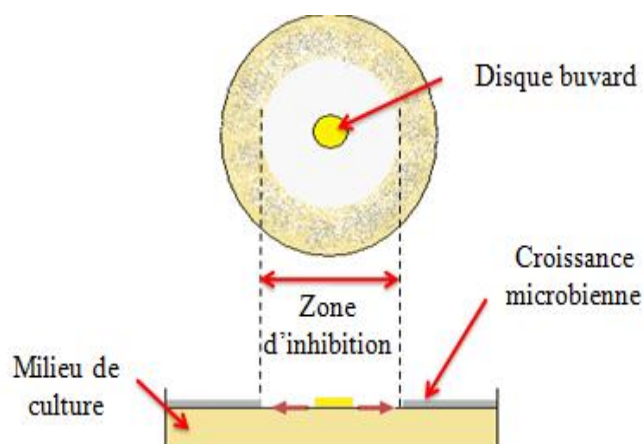


Figure 5.10 : Illustration de la méthode d'antibiogramme sur boîte de Pétri

4.13 Etude l'activité antifongique

La même procédure de l'activité antibactérienne a été suivie pour tester l'activité antifongique du 5 souches, le milieu de culture utilisée pour le repiquage est OGA. La durée d'incubation de l'antifongigramme est de 48 heures

4.14 Etude statistique

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'analyse physico- chimique ont fait l'objet d'une analyse descriptive à l'aide à l'aide de deux Logiciels ANOVA (test de Fisher) et Excel 2007. Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne et antifongique à l'aide du logiciel Excel.

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de la quantité des composées phénoliques et de l'activité antioxydante et pouvoir réducteur des extraits méthaloniques ont fait l'objet d'une analyse statistique à l'aide de deux Logiciels ANOVA (test de Fisher) et Excel 2007.

CHAPITRE 5

RESULTATS ET DISCUSSION

Les principaux résultats obtenus au cours de cette présente étude ainsi que les interprétations et discussion feront l'objet de ce chapitre.

5.1. Caractérisation des figes sèches et l'huile d'olive

Dans ce qui suit, les résultats des différentes analyses (physico-chimiques, microbiologiques, bactériologiques,..) seront présentés.

5.1.1 Résultats de la caractérisation physicochimique

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur les trois huiles étudiées (OH, OHN, OHB) sont mentionnés sur le (tableau 5.1) et sur les quatre figes sèches étudiées (FN, FB, HFN, HFB) sont représentés dans le (tableau 5.2).

Tableau 5.1 : Résultats de la caractérisation physicochimique pour les trois huiles étudiées OH, OHN, OHB).

Paramètres	OH (%) Moyenne ± Ecart type	OHN (%) Moyenne ± Ecart type	OHB(%) Moyenne ± Ecart type
Acidité	1.43 ± 0.304	1.22 ± 0.007	1.34 ± 0.007
pH	4.95 ± 0.014	4.64 ± 0.021	4.77 ± 0.028
I. peroxyde	8.01 ± 0.063	8.35 ± 0.360	8.5 ± 0.784
I. Réfraction	1.468	1.468	1.468
I. saponifications	186.46 ± 0.056	184.50 ± 0.035	189.57 ± 0.028
I. d'iode	76.42 ± 0.261	78.80 ± 1.562	77.96 ± 0.346
K270	0.20 ± 0.007	0.16 ± 0.014	0.18 ± 0.007
K232	2.53 ± 0.049	2.21 ± 0.049	2.36 ± 0.205
Humidité	0.11 ± 0.070	0.08 ± 0.070	0.08 ± 0.063

n= 3 répétions

Tableau 5.2 : Résultats de la caractérisation physicochimique des figes sèches (FB, FN, HFB, HFN).

Paramètres	FN (%) Moyenne ± Ecart type	FB(%) Moyenne ± Ecart type	HFB(%) Moyenne ± Ecart type	HFN(%) Moyenne ± Ecart type
Acidité	0.11±0.028	0.12±0.049	0.22±0.042	0.19±0.007
pH	5.01 ±0.02	5.05 ±0.014	4.90±0.028	4.85±0.021
Humidité	18.54 ±0.190	22.29 ±0.056	18.23±0.820	22.18 ±0.127
Poids t (g)	314 ± 1.612	260±1.406	299±1.163	345 ±1.274
Poids m (g)	12.56± 1.612	10.60±1.406	11.96±1.163	13.80±1.274
longueur (mm)	39 ± 1.942	37±2.175	37.5 ±2.034	39.7 ±2.586
Largeur (mm)	38 ± 2.239	36±1.24	36.4 ±1.863	39.5 ±2.167
Protéines	2.88 ±0.002	2.72±0.01	2.92 ±0.039	3.12 ±0.002
M. grasse	2.11±0.014	2.26±0.014	4.18 ±0.692	3.16 ±1.230
Sucre	55.74 ±0.707	59.61±1.414	58.58 ±1.414	54.63 ±0.707
Cellulose	2,92 ±0.115	3.45±0.121	4,38±0.064	3.41±0.04

n= 3 répétions

5.11.1. Détermination du poids, longueur et la largeur du fruit Ficus carica

La pesée des figes a été réalisée sur 25 fruits. Les résultats exprimés en gramme (g) sont indiqués dans le (tableau 5.2) Les diagrammes suivants (Figure 5.1) représentent le poids, la largeur, la longueur des différents échantillons étudiés. On remarque d'après les diagrammes que le calibre de la variété noire (azendjar) est important que celui de la variété blanche (taranimt) avant et après le mélange avec une différence très hautement significative entre elles ($P < 0,001$).

Le poids moyen des figes noires (FN) et blanches (FB) varie entre 12,56 et 10,60 g, alors que pour les figes qui on été mélangés avec l'huile, il a été estimé entre 11,96 et 13,80 g des HFB et HFN respectivement. La longueur des figes noires (FN) et blanches (FB) varie entre 39 et 37mm ; alors que pour les figes qui on été mélangés avec l'huile, il a été estimé entre 37,5 et 39,5 mm pour les HFB et HFN respectivement. Pour la largeur des figes noires (FN) et blanches (HFB), il a été estimé entre 38 et 36m ; alors que pour les figes qui on été mélangé avec l'huile, les valeurs varient entre 36,4% et 39,5 mm des HFB et HFN respectivement.

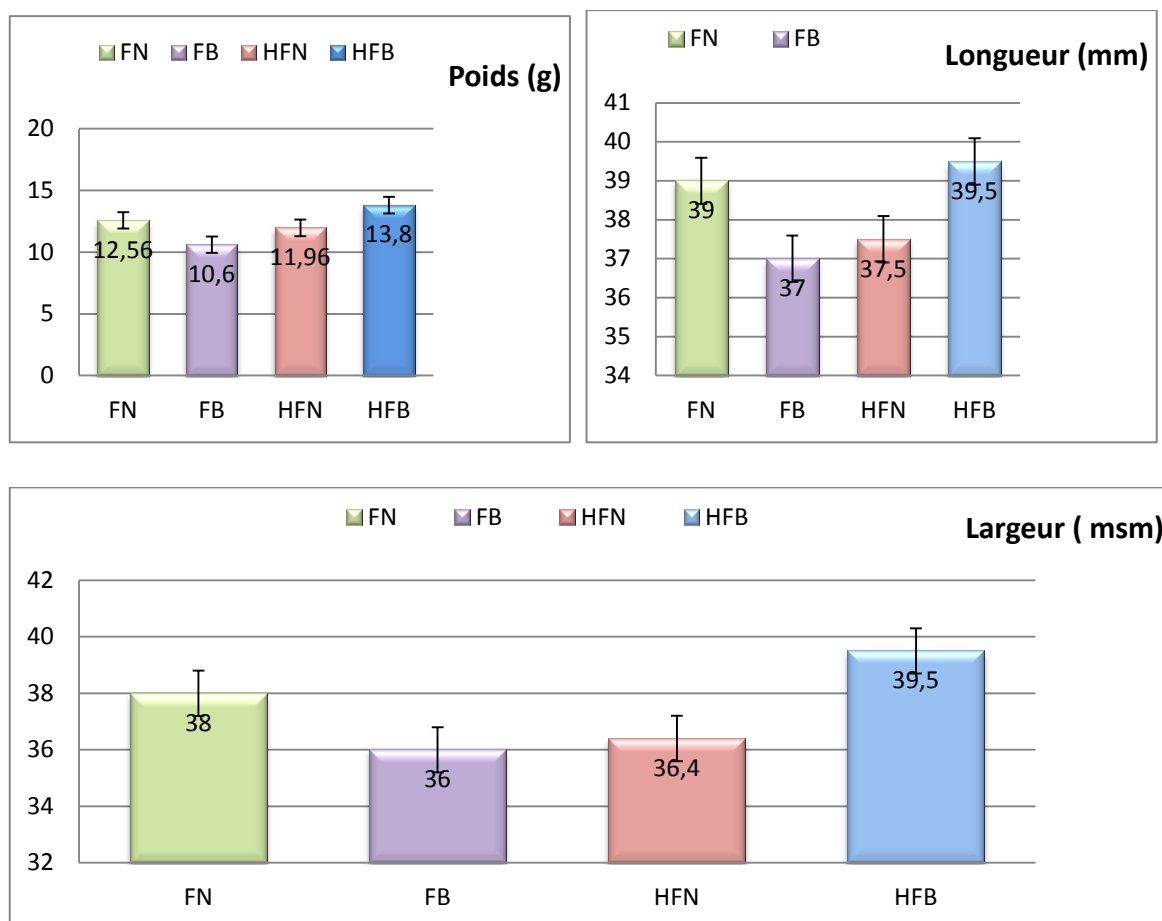


Figure 5.1 : Poids, longueur, largeur des figes séchées étudiées.

D'après ces résultats et selon la norme CEE-ONU-14, 2005, les deux variétés étudiées FB (Taranimt) FN (Azendjar) peuvent être classées dans la catégorie « Extra » (nombre de fruits au kilogramme ne doit pas dépasser 65). Elles sont presque uniformes du point de vue calibre et exemptes de défauts (photo 4.3), avec un conditionnement conforme aux normes. Pour les figes FB (Taranimt) et FN (Azendjar) imprégnées dans l'huile d'olive, le volume a augmenté par l'huile d'olive qui a pénétré à l'intérieur vu la perméabilité membranaire des fruits, il paraît que les figes ont absorbés l'huile d'olive par le phénomène d'osmose.

5.1.1.2 Détermination de l'acidité

Les diagrammes suivants (Figure 5.2) représentent l'acidité des différentes huiles étudiées (OH, OHN, OHB) avec une différence hautement significative ($P < 0,001$), et l'acidité des différentes figes étudiées (FB, FN, HFB, HFN), avec une différence non significative ($p > 0,05$). L'acidité est le plus ancien paramètre

utilisé pour évaluer la qualité de l'huile d'olive. Car elle est étroitement liée à la qualité des matières premières et représente l'étendue des activités hydrolytiques. L'excellente qualité de l'huile d'olive vierge est l'aboutissement d'un processus qui commence par l'arborescence et se termine dans la bouteille. Ainsi, il est nécessaire de prendre soin de chaque étape du processus et des facteurs qui peuvent influencer sur sa durée de vie commerciale (oxygène, la lumière, la température et métaux) conduisant à une détérioration de la qualité à la suite de dégradations oxydatives et à l'hydrolyse [170]

L'acidité, critère de qualité important, permet de classer l'huile en différentes catégories en fonction de leurs teneurs en acides gras libres et permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique, des chaînes d'acides gras des triglycérides [21]. L'huile d'olive produite à partir de variété étudiée appartient à la catégorie des huiles d'olive dénommées « vierge » conformément à la norme fixé par le COI (2003) qui est $\leq 2\%$. Par contre l'acidité titrable totale moyenne des figes sèches imprégnées dans l'huile d'olive varie entre 0.19 et 0.22 % d'acide citrique /100g de MF de HFN et HFB respectivement (tableau 5.1). Ces résultats sont conformes à ceux de la bibliographie [12]

D'après les valeurs trouvées, on remarque que les trois huiles présentent une acidité de 1.34%(OHB) à 1.43%(OH) et 1.22%(OHN) qui répondent aux normes du (COI) caractérisant l'huile d'olive vierge [23, 24, 25] L'acidité titrable totale moyenne des figes sèches analysées s'échelonne entre 0.12% FB (Taranimt) et 0.11% FN (Azendjar) d'acide citrique /100g de MF (tableau 5.1). Ces valeurs sont légèrement inférieures à celles trouvées par d'autres auteurs [12], dont l'acidité titrable des figes sèches est comprise entre 0.14% et 0.22% exprimée en équivalent AC Citrique. D'après [102]. La diminution de l'acidité titrable des figes résulte soit des pertes des acides organiques volatiles pendant le séchage prolongé à l'air libre par évaporation soit de l'activité oxydative que les levures contaminants de figes exercent vis-à-vis des acides organiques des fruits [62].

L'oxydation de l'huile d'olive commence après que les olives soient cueillies de l'arbre, et continue pendant le stockage des fruits et leurs traitements. Les premiers produits formés par l'attaque de l'oxygène, activée sur les doubles liaisons des chaînes d'acides gras, sont des composés peroxydés instables, et des hydroperoxydes dont la structure va dépendre de la nature des acides gras attaqués (acides mono-, di- tri- ou polyinsaturés) [12.18]. L'oxydation des huiles d'olives vierges résultent de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation. L'auto-oxydation dépend de plusieurs facteurs qui sont, entre autres, le degré d'insaturation de l'huile, les acides gras libres, la présence de traces métalliques et d'eau, l'emballage utilisé, la température ambiante, l'oxygène de l'atmosphère et l'exposition à la lumière du jour pour les emballages transparents. En revanche, la photo-oxydation est affectée par la quantité totale de pigments chlorophylliens et d'antioxydants naturels (bêta carotène, tocophérols, phénols) contenus dans l'huile d'olive vierge. [13]

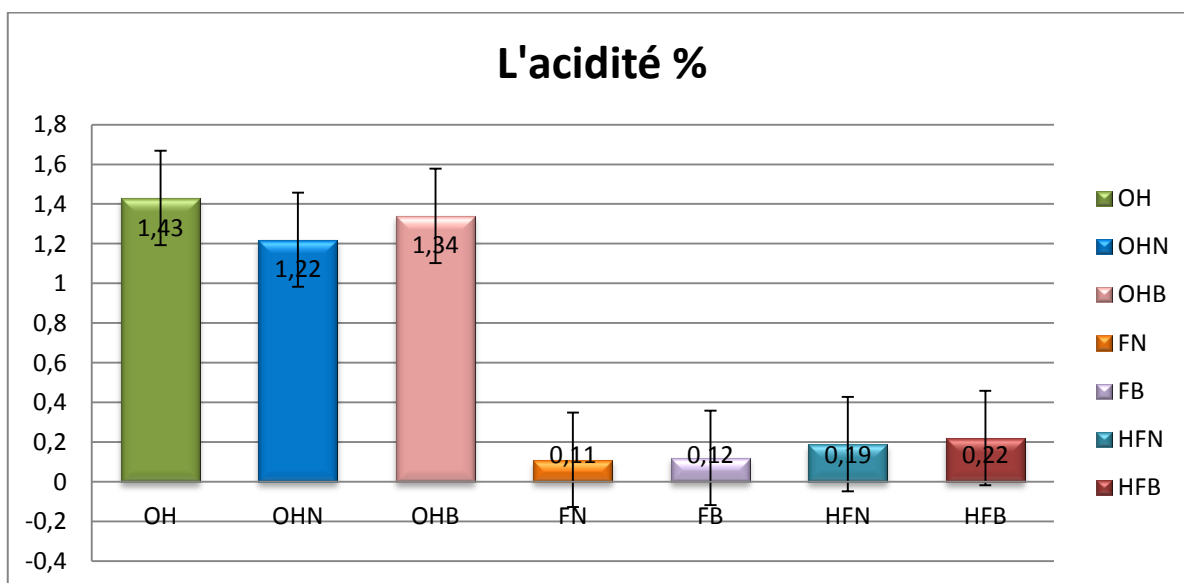


Figure 5.2. : L'acidité des différents échantillons étudiés.

En consultant les résultats du (tableau 5.2) et (figure 5.2) , on remarque une diminution de l'acidité des deux huiles : OHB et OHN qui peuvent être distinguées de l'huile (OH) par des valeurs inférieures (1.34 et 1.22%). Ces faibles teneurs en acidité témoignent d'une faible activité lipolytique sur les triglycérides des huiles, cela peut être une conséquence du mélange effectué avec les figes sèches . Donc d'après notre résultat, les figes sont

laissées pendant une période au contact de l'huile, il n'y a pas eu des changements indésirables. Cette augmentation de l'acidité explique que les figues ont été bien conservées et l'huile d'olive vierge est un bon milieu pour la conservation des figues sèches. Nous pouvons donc pronostiquer une bonne durée de conservation pour ces huiles, peu importe les figues utilisées (noires au blanches), et ainsi d'après notre résultat préliminaire la figue de peau noire est mieux que la figue de peau blanche.

5.1.1.3 L'indice de peroxyde

Les diagrammes suivants (Figure 5.3) représentent l'indice de peroxyde des différentes huiles étudiées (OH, OHN, OHB) avec une différence hautement significative ($P < 0,001$) avec l'ajout des figues sèches. L'indice de peroxyde est utilisé pour évaluer l'état d'oxydation de l'huile. Les résultats consignés dans le tableau (5. 1) montrent que les valeurs obtenues répondent aux normes du COI (2003) qui recommande un indice de peroxyde inférieur ou égal à 20 meq d'O₂/kg. La valeur maximale est enregistrée pour OH (8.01 meq d'O₂/kg), suivie de la OHB avec une valeur de 7,47 meq d'O₂/kg et 7.20 pour OHN.

Les faibles valeurs de l'indice de peroxyde de nos variétés seraient liées d'une part à leur richesse en antioxydants (les polyphénols) et à l'état sain des figues sèches et aux bonnes conditions de transformation des olives (la récolte à la main, de transport, de stockage sur une période courte à l'air libre) et du système d'extraction.

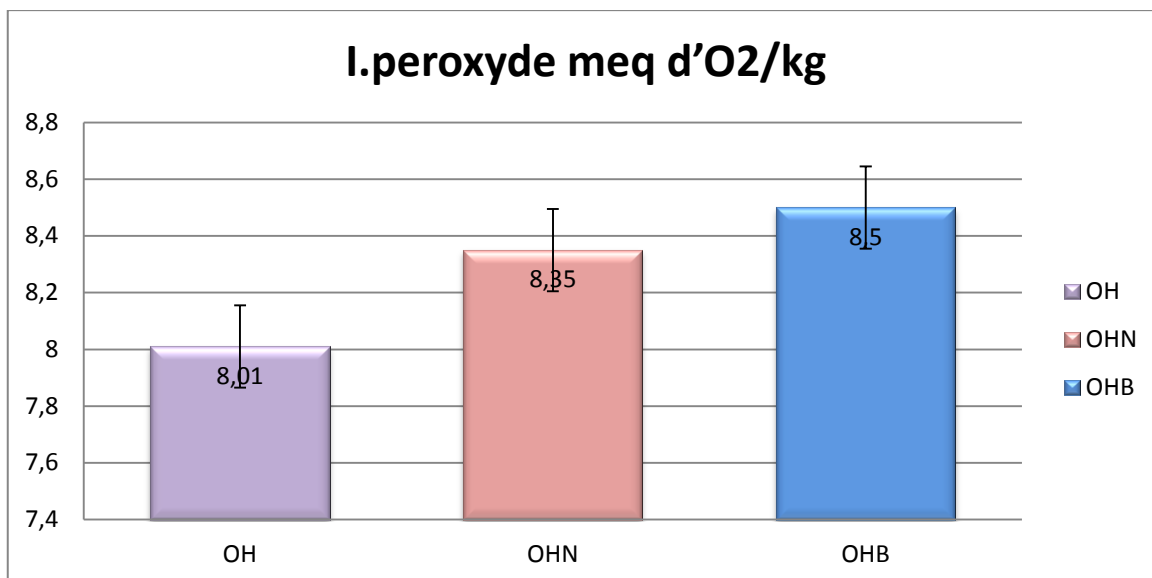


Figure 5.3 : L'indice de peroxyde des différentes huiles étudiées.

Nos résultats concordent avec ceux des variétés d'origine « Aciete Campo de Montiel » (espagnole) tels que rapportés par Pardo et *al.* (2005). Ces résultats sont proches de ceux rapportés par Salvador et al (2003), qui ont obtenus des valeurs entre 7,8 et 12,9meq O₂/kg dans des huiles d'olive de différentes régions oléicoles au centre de l'Espagne.

Ces études préliminaires montrent que les huiles d'olive sont très peu oxydées car elles ont des valeurs peroxyde très faibles par rapport à de nombreuses autres études (Rotondi, 2004 ; Aparicio, 1999) et également très peu d'acidité libre. Ces huiles ne présentent donc aucune contre-indication à ce stade pour pouvoir porter l'appellation d'huile d'olive vierge. Aucune différence significative ($\alpha = 0,05$) n'a été trouvée entre les deux traitements sur les critères de valeur peroxyde et d'acidité libre. (Rotondi *et al.* (2004) ; On trouve une corrélation positive entre faible acidité et longue durée de vie de l'huile d'olive.

5.1.14 Détermination du pH

Les diagrammes suivants (Figure5.4) représentent le pH des différentes huiles étudiées (OH, OHN, OHB) et le pH des différentes figues étudiées (FB, FN, HFB, HFN), avec une différence hautement significative ($P < 0,001$).

L'analyse des résultats obtenus indique que les valeurs de pH des FB et FN sont (5.01 et 5.05), le pH peut varier suivant l'état physiologique du fruit lors de la récolte. En comparaison avec d'autres travaux sur les figues sèches concernant d'autres variétés, les valeurs sont très proches des résultats obtenus sur des variétés Tunisiennes et Italiennes (4.76 - 5.30) [Aljane, F. et Ferchichi, A. 2007, Genna, A. et 2008 Bostan et al 1997 et chebli et Mars 1997, 12].

Par conséquent les figues imprégnées dans l'huile d'olive HFB et HFN présentent une légère acidité (4.85 – 4.90). Ce faible pH trouvé peut s'expliquer par l'effet du stockage (plus de 5 mois) ainsi que de la concentration des constituants acides de la matière sèche du fruit par séchage de celui-ci et aussi par l'acidité de l'huile d'olive qui représente un pH de (4.95, 4.64, 4.77) des OH, OHN et OHB respectivement. La valeur de pH trouvée nous renseigne que les figues sèches imprégnées dans l'huile d'olive sont un aliment acide dont la contamination et le développement des bactéries sont moindres excepté les bactéries lactiques capables de contaminer les denrées végétales [83], mais cette valeur s'inscrit dans la fourchette du pH optimum pour les levures qui entre 3 et 7.5 [124].

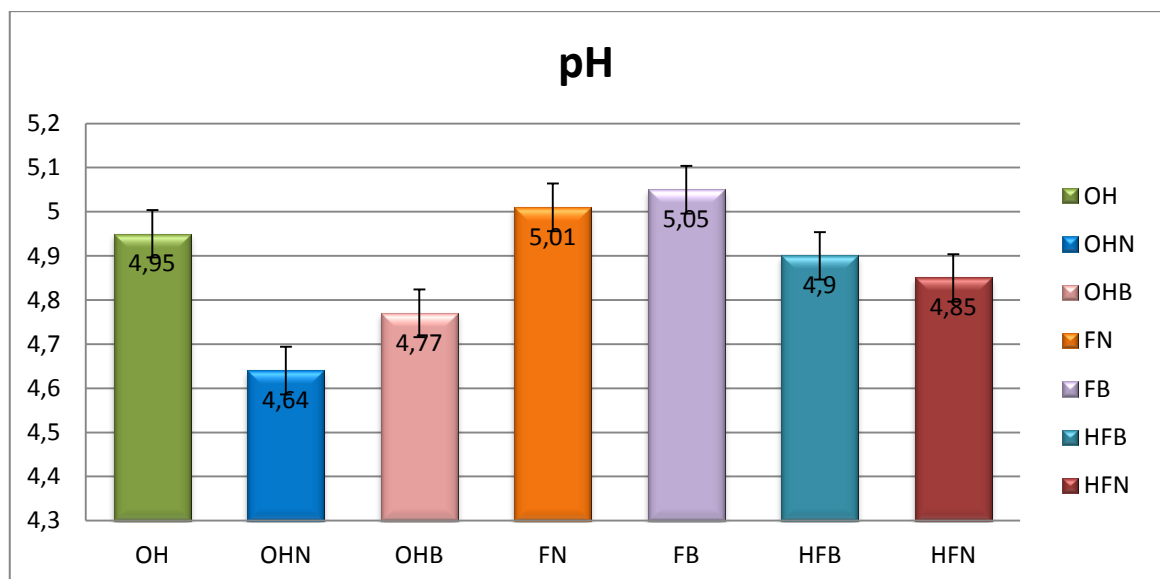


Figure 5. 4: Le pH des différents échantillons étudiés.

Les figues sèches sont alors sujettes beaucoup plus au développement de cette population microbienne qui fermentent les sucres du fruit et altèrent sa valeur nutritive et son aspect sensoriel sans risque de pathogénicité. Le pH a une grande influence sur l'activité antioxydante comme les autres composés réducteurs qui ne peuvent être actifs qu'à des pH en dessous de 5 (Albagnac et al 2002) et il en est de même pour l'action antimicrobienne c'est-à-dire le pouvoir antimicrobien est amélioré en milieu acide [22].

A partir de ces données, on peut déduire que notre conservateur naturel l'huile d'olive utilisée semble trouver un champ d'action favorable dans les figues sèches aussi bien qu'antimicrobien, limitant la prolifération microbienne, qu'antioxydant réduisant les réactions de brunissement enzymatiques et non enzymatique de grandes importances chez les fruits séchés. Même pour les trois huiles d'olives de mêmes échantillons, on remarque une diminution du pH de l'huile d'olive restante que ce soit pour la figue de couleur noire ou blanche, cela explique que l'huile d'olive restante garde toujours sa valeur nutritionnelle avec l'odeur de figues sèches.

5.1.1.5 Détermination de la teneur en eau

Godon et Willm (1998) définissent la teneur en eau comme étant la quantité en grammes d'eau rapportée à 100 g de substance sèche (teneur en eau en % M S). Elle nous permet donc, de ramener tous nos résultats à, une même échelle de grandeur à savoir la matière sèche. Le dosage de l'humidité permet de statuer sur les risques d'altération lors du conditionnement et du stockage des aliments. C'est un facteur crucial dans l'évolution des phénomènes biologiques notamment la prolifération des microorganismes [17]

Les diagrammes suivants (Figure 5.5) représentent la teneur en eau des différentes huiles étudiées (OH, OHN, OHB) et la teneur en eau des différentes figues étudiées (FB, FN, HFB, HFN), avec une différence hautement significative ($P < 0,001$). La teneur en eau des figues sèches est de (18.54 %, 22.29%, 18.23% , 22.18%) de FB, FN , HFB , HFN respectivement. Cette teneur est en accord avec celles fixées par la réglementation en vigueur, elle est $\leq 26\%$ selon la norme CEE-ONU), cette teneur enregistrée nous amène à classer les figues sèches parmi les aliments à humidité intermédiaire (AHI) qui renferment entre 10 à 50 %

d'eau avec des a_w entre 0.6 et 0.9 [27]. Cette catégorie d'aliments, constitue un milieu hostile pour le développement des bactéries, mais constitue au contraire un milieu favorable au développement de la flore fongique représentée essentiellement par des levures osmophiles et des moisissures xérophiles, capables de vivre à des a_w un peu supérieurs à 0.6 [22,65]

D'après [77], les aliments à humidités intermédiaires, sont stables sans réfrigération, ni traitement thermique pendant un an, et peuvent être consommés tels quels sans réhydratation. Les résultats de la mesure d'humidité présentés dans le (tableau 5.2) montrent une variation de la teneur en eau des trois huiles analysées allant de 0.08% pour OHB à 0.09% pour OHN et 0.11% pour OH. Cette variabilité est illustrée dans la (figure 5.5). Les trois huiles présentent une variation de la teneur en eau, conforme aux normes d'huile d'olive vierge fixées par le (C.O.I.2003). L'huile peut renfermer de l'eau ayant son origine dans les procédés d'obtention ainsi que les tissus végétaux. Les différences d'humidité observées dans les trois huiles peuvent être expliquées par la qualité des olives. En effet, Selon [83] la teneur en eau dans le fruit diminue progressivement avec la maturation, ce qui laisse supposer une récolte des olives à degré de maturité incomplète. Etant donné que le taux d'humidité est très lié au processus d'extraction de l'huile [85] plus précisément par la qualité de l'eau ajoutée au cours du malaxage. La présence de l'eau dans l'huile est susceptible d'avoir une incidence sur sa qualité, elle constitue un support pour le développement microbien et d'autres activités enzymatiques (hydrolyse et oxydation).

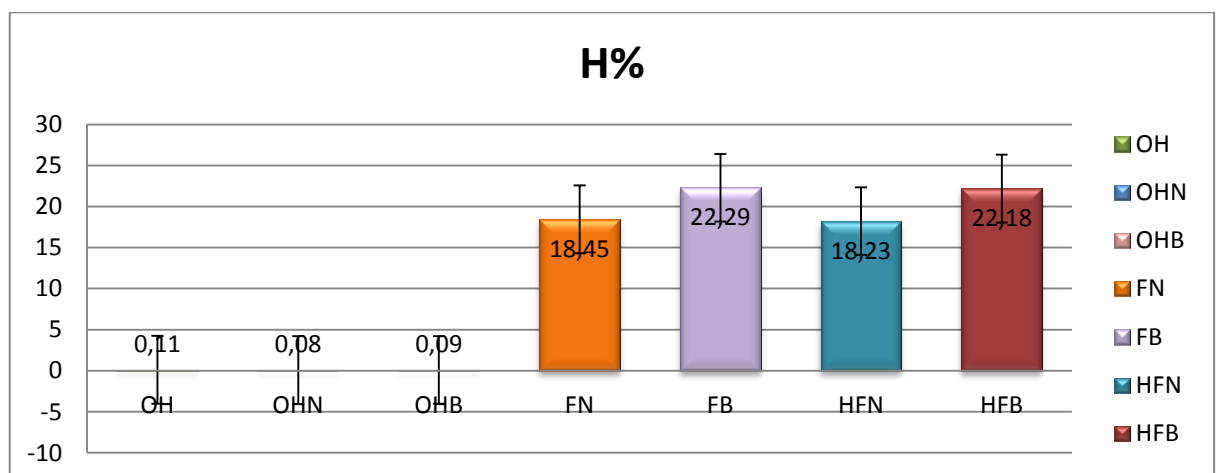


Figure 5.5: La teneur en eau des différents échantillons étudiés

5.1.1.6 L'indice d'iode

Les diagrammes suivants (Figure 5.6) représentent l'indice d'iode des différentes huiles étudiées (OH, OHN, OHB) avec une différence non significative ($P > 0,05$). La détermination de l'indice d'iode permet de déterminer le degré d'insaturation global des huiles.

Nos résultats indiquent (tableau 5.1) montre que les valeurs d'indice d'iode sont dans la fourchette (76.42, 77.96 et 78.80 g d'I₂/100g) donnée par Codex Stan 33 dans l'huile d'olive de Chemellal. Or on constate que le facteur variétal des figues sèches exerce une influence sur l'instauration de l'huile d'olive. La variété figue noire présente une valeur maximale (79,59g d'I₂ /100g). La variété figue blanche présente la valeur (76,79 g d'I₂/100g) et l'huile d'olive présente la plus faible (76,79 g d'I₂/100g). En reliant ces résultats à ceux de l'analyse des acides gras manipulés par la (CPG), on remarque que l'indice d'iode est en rapport avec l'instauration globale des chaînes grasses, c'est le cas de la variété figue noire qui présente le taux élevé en acides gras polyinsaturés (acide linoléique (C18 :3) et un taux élevé en acide gras di-insaturé (acide linoléique C18:2).

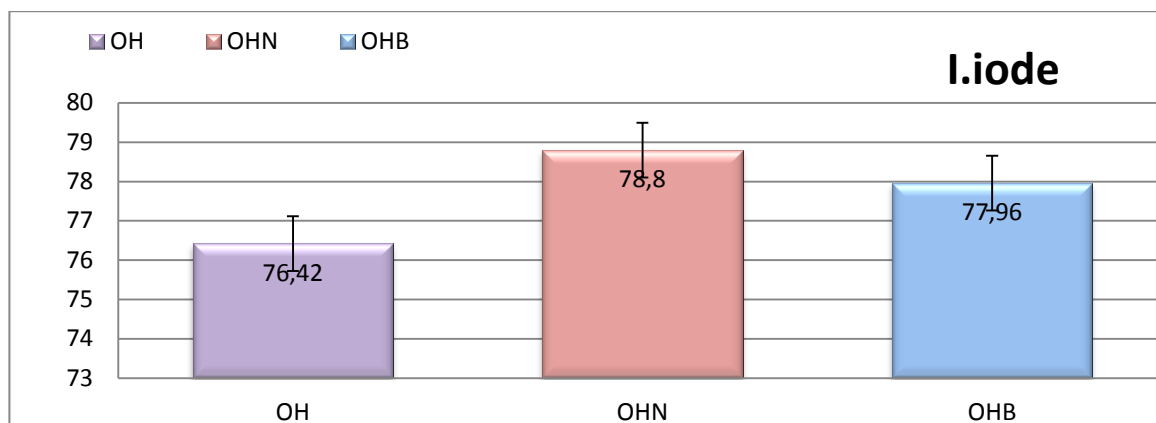


Figure 5.6 : L'indice d'iode des différentes huiles étudiées.

5.1.1.7 Indice de réfraction

L'indice de réfraction dépend de l'insaturation et peut être utilisé en tant que paramètre de commande facilement accessible à des procédés d'hydrogénation. L'indice de réfraction d'une huile végétale est un test simple pour l'identité et la

pureté de l'huile. Il dépend de la température et de la structure des acides gras d'ester de glycérol [55]. Les résultats regroupés sur le (tableau 5.2) et illustrés dans la (figure 5.7) révèlent une similarité des indices de réfraction pour l'ensemble des huiles d'olives étudiées (1,468) à 20°C, des indices qui se rapprochent également de ceux relevés pour l'huile d'olive (COI). L'indice de réfraction étant dépendant de la composition chimique de l'huile et de la température, il est très influencé par l'acidité libre et l'oxydation, il accroit avec le degré d'insaturation [32]

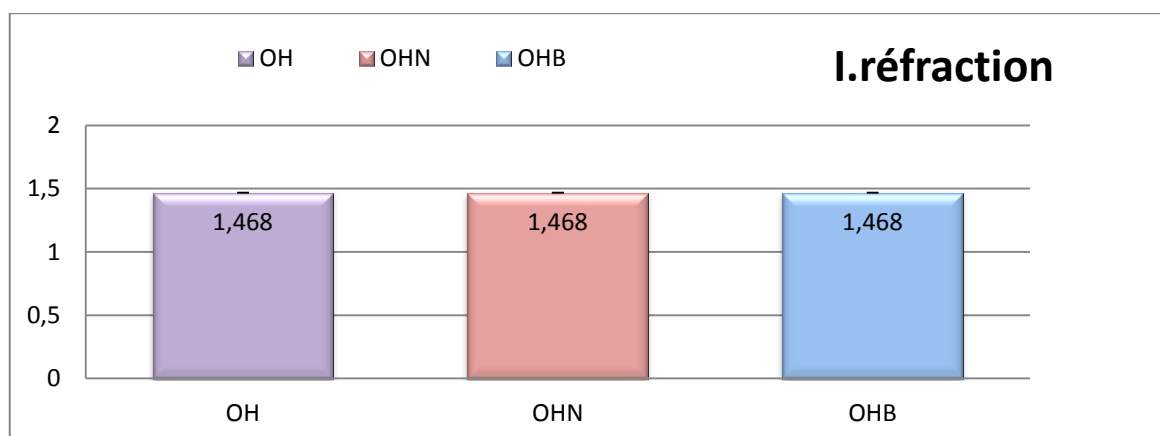


Figure 5.7 : L'indice de réfraction des différentes huiles étudiées

5.1.1.8 Extinction spécifique

La mesure de l'absorbance à 232 nm (1.53, 1.21, 1.36) de OH, OHN, OHB respectivement avec une différence non significative ($p > 0,05$) et la mesure de l'absorbance à 270 nm (0.20, 0.16, 0.18) de OH, OHN, OHB respectivement avec une différence significative ($p < 0,05$). Ces résultats sont conforme aux limites fixées par le COI (2003) respectivement $\leq 2,60$ et $\leq 0,25$. Les diènes et les triènes conjugués sont proportionnels au degré d'oxydation des acides gras insaturés en particulier à ses teneurs respectives en acides oléique, linoléique et linoléique (Gutiérrez et al, 1992 ; Sciancalepore, 1998). Les valeurs de l'IP ≤ 20 meq O₂/Kg d'huile ne signifient pas toujours l'absence du phénomène d'oxydation. Le recours à la détermination des coefficients (K₂₃₂, K₂₇₀) d'absorbance dans l'ultraviolet, renseigne sur la présence ou l'absence de produits d'oxydation secondaire dans l'huile.

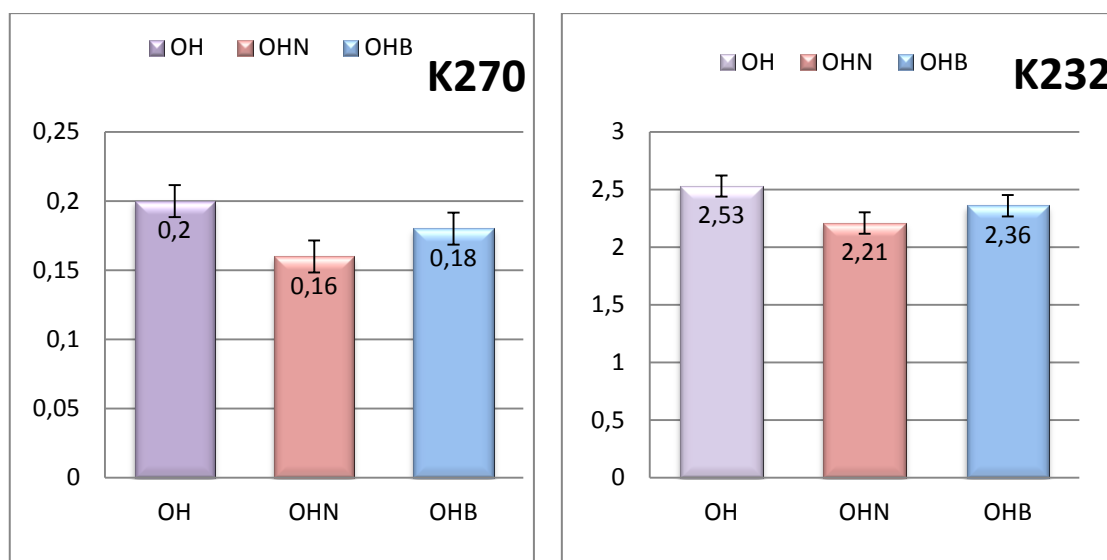


Figure 5.8 : l'extinction spécifique des différentes huiles étudiées

Les hydroperoxydes des premiers stades de l'oxydation absorbent à 232 nm, alors que les produits d'oxydation secondaires tels que les cétones insaturées-dicétones absorbent au voisinage de 270 nm [12, 26,27]. Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Pardo et *al.* (2005) qui ont travaillé sur les variétés d'origine espagnole (*Picual, Cornicabra et Manzanilla*). Nous remarquons d'après nos résultats que la figue noire et la figue blanche n'ont pas un effet négatif sur la stabilité oxydative de l'huile mais au contraire elles jouent un rôle positif et il paraît clairement que la variété figue noire est excellente par rapport à la blanche

D'après [122], il estime que le lieu de culture n'a aucune influence significative sur ces paramètres analytiques (acidité, absorbances en UV et indice de peroxyde) qui sont fondamentalement affectés par des facteurs endommageant les fruits tels que l'attaque par les parasites (mouches) ou l'emploi de systèmes impropres pour la récolte ainsi que le transport et le stockage des olives [26, 39, 48]. D'après [14], les drupes blessées souffrent des actions de la lipase endogène et exogène, ainsi que des enzymes lipoxydase, qui peuvent modifier l'état d'oxydation et l'acidité des gouttelettes de l'huile.

5.1.1.9 Indice de saponification

Les résultats regroupés dans le (tableau 5.2) et illustrés dans la (figure 5.9)

révèlent que l'indice de saponification de nos échantillons d'huile d'olive se situe entre (184.46, 184.57 et 184.50) de (OH, OHN, OHB). La différence hautement significative, les valeurs obtenues répondent aux normes du COI (2003) qui recommande un indice de saponification entre 184-196 mg KOH /g d'huile.

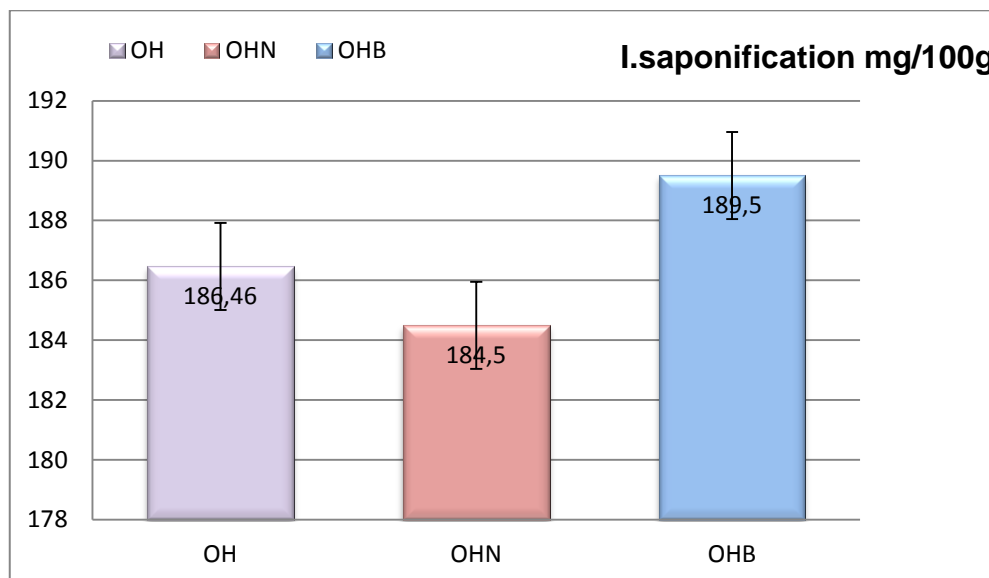


Figure 5.9 : L'indice de saponification des différentes huiles étudiées

L'indice de saponification nous renseigne sur la longueur de la chaîne hydrocarbonée des acides gras [53], une valeur faible de saponification nous informe que les huiles analysées présentent des acides gras à longue chaîne carbonée [27, 28, 29, 30].

5.1.1.10 La composition en acides gras

Dès la première observation du chromatogramme (Appendice E), nous remarquons que l'acide gras majoritaire est l'acide oléique (C18 :1), suivi de l'acide palmitique (C16 :0) et de l'acide linoléique (C18 :2).

Les résultats de cette intégration sont présentés dans le (tableau 5.3) et illustrés dans la figure (5.11) .Le procédé de trituration n'influence pas grandement la composition en acide gras des huiles. Deux explications peuvent être à l'origine : tout d'abord le fait que les lipovacuoles des drupes d'olive ne peuvent pas libérer préférentiellement un acide gras plutôt qu'un autre en fonction du procédé de trituration, mais elles libèrent l'ensemble de leur contenu. Ensuite la forte teneur des huiles en composés minoritaires protège les acides gras de

l'oxydation ou de la dégradation. Les acides gras majoritaires sont l'acide oléique, palmitique, linoléique et stéarique comme repérés sur la (figure 5.11). Un bon rapport entre acide oléique et acide linoléique a également été trouvé (rapport recommandé supérieur à 7), or ce rapport a déjà été corrélé à une longue durée de vie de l'huile d'olive [121]. Des rapports similaires ont également été trouvés dans une autre publication sur l'huile d'olive de la même région de France [90]

Tableau 5.3 : la composition en acide gras des trois huiles exprimée en pourcentage

Acides gras %	OH	OHB	OHN
Acide palmitique (C16 :0)	17	17,59	16,5712
Acide palmitolique (C16 :1)	1,14	2,838	2,3842
Acide stéarique (C18 :0)	2,64	2,0826	2,3925
Acide oléique (C18 :1)	80	65,4689	64,4854
Acide linoléique (C18 :2)	10 ,71	11,381	13,5397
Acide linoléinique (C18 :3)	0,62	0,6326	0,627

La composition en acides gras totaux est un paramètre de qualité et d'authenticité des huiles. L'analyse de la composition en acides gras totaux est qualitativement similaire entre les échantillons. Cette composition se caractérise par la dominance de l'acide oléique qui oscille entre 64 % et 80% des acides gras totaux pour les trois huiles étudiées. Ces pourcentages entrent dans la fourchette de la norme établie par COI (2001).

L'examen des résultats du (tableau 5.3) et illustré dans le figure 5.11 montre que la composition en acides gras des huiles d'olive testée est quantitativement variable et nettement influencée par le facteur variétal des figues, On remarque principalement que le taux de l'acide oléique (C18 :1), acide gras majeur de l'huile d'olive est plus faible pour OHN de la variété *figues noires* (64,48%) alors qu'il est à teneur plus élevée pour la OH (80%). Pour les OHB, il présente un taux de 65,46%. Le pourcentage le plus élevé de l'acide linoléique (C18 :2) est observé chez OHN (13,53%) suivi par OHB dont le taux est de 11.38% et le plus bas chez OH (10,71%), alors que HFB a une teneur plus élevé en acide palmitique

(17,59). Le plus faible dans HFN(16,57) et (17) pour OH. Les différences notées pour les teneurs en acides gras des trois huiles pourraient être expliquées par l'effet de l'imprégnation des figues, ou il y a eu une migration des acides gras à l'intérieur du fruit par le phénomène d'osmose. La teneur en acides gras de l'huile d'olive varie en fonction de la zone de production, l'altitude, le climat, la variété et le stade de maturation du fruit. Tous ces facteurs prouvent que le ratio acide oléique/acide linoléique montre une tendance à baisser avec la maturité des olives. En outre, les huiles grecques, italiennes et espagnoles sont pauvres en acides linoléique et palmitique. De plus, elles présentent un pourcentage élevé en acide oléique. Les huiles marocaines et tunisiennes sont riches en acides linoléique et palmitique et plus faibles en acide oléique [11.10].

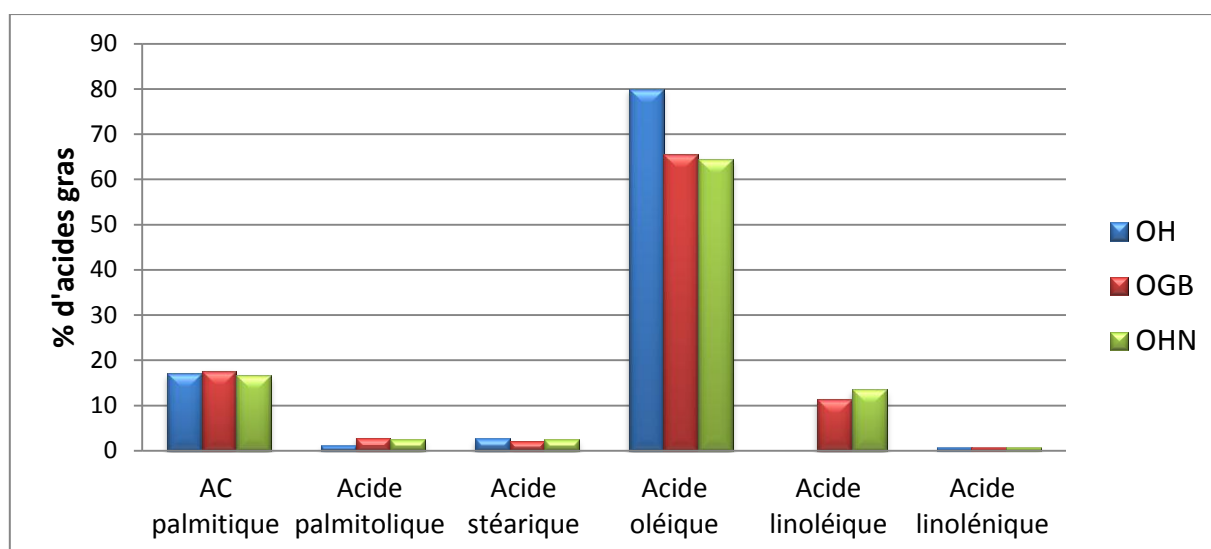


Figure 5.11 : Composition en acide gras des différentes huiles étudiées

5.1.2 Résultats de la caractérisation Biochimique

5.1.2.1 Sucres totaux

Les résultats du dosage des sucres totaux au niveau des (FN, FB, HFN, HFB) des figues sont représentés dans le (tableau 5.2) et illustrés sur la (figure 5.12). La figue est un fruit riche en sucres simples, ce qui lui vaut sa saveur très sucrée. Le dosage des sucres a révélé une concentration en sucres totaux (ST) des figues étudiés (FB, FN, HFB, HFN) de (59.61 %, 55.74 , 58.58%

, 54.63%) respectivement (Tableau 5.2). Selon les résultats de notre étude, le taux de sucres totaux au niveau de FB est plus élevé que celui de FN et celui de HFB et HFN avec une différence hautement significative ($P < 0,001$).

Nos résultats concernant la teneur des figues en sucres s'accordent parfaitement avec, Oguzhan calishan et al ,2011 qui ont trouvé que la variété de peau claire présente une teneur en sucres plus élevée que la variété de peau noire. Ainsi les études effectuées sur quelques variétés de figues sèches d'après Desai et Salunkhe 1984, la variété Calimmyrna sèche contient 58.2% MF et la variété Mission contient 50.1% MF. D'après Vidaud et al (1997), les différences observées entre ces teneurs sont dues aux différences notables des caractéristiques et de comportements entre les différentes variétés. Par ailleurs Hasselin et Oreiller 2008, ont signalé que la teneur en sucres des figues est variable selon les variétés, le stade de maturité et l'ensoleillement mais en générale, les figues sèches sont très riches en sucres donc en calories (242 ka/100g selon [72] car les sucres constituent l'essentiel de l'apport calorique de ce fruit d'où son importance dans les régimes alimentaires des enfants et des personnes pratiquant des efforts physiques et intellectuels.

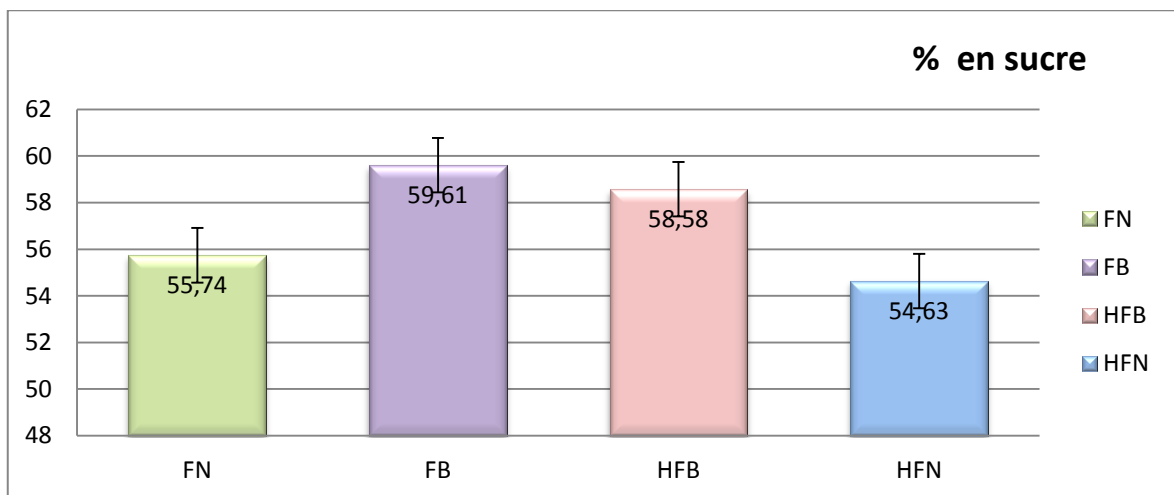


Figure 5.12 : taux de sucres totaux en % de MS des figues étudiées

Mais la quantité des sucres peut subir encore des chutes considérables au cours du stockage, dans notre cas, il résulte essentiellement du phénomène de

diffusion/solubilisation des sucres hydrolysables des fruits dans l'huile et pas beaucoup dans l'eau (vapeur), du blanchiment qui s'est plus au moins saturé, en effet le blanchiment et le refroidissement par eau qui y fait suite entraînent des pertes de substances soluble telles que les minéraux, sucres; vitamines mais également en faible quantité, des protéines et certaines fractions de fibres alimentaires [53]

5.1.2.2 Teneur en protéines

Les résultats du dosage des protéines au niveau des (FN, FB, HFN, HFB) des figes sont représentés dans le tableau (5.2) et illustrés dans la (figure 5.13).

Le dosage des protéines a été réalisé par la méthode colorimétrique de Lowry (1927) qui permet de détecter et de quantifier les liaisons peptidiques des protéines. A l'aide de la courbe d'étalonnage de l'albumine (Appendice F), on détermine les pourcentages massiques des solutions protéiques. La teneur en protéines est l'un des critères utilisés pour évaluer la valeur nutritive d'un aliment. La teneur en protéines dépend sans aucun doute des conditions pédoclimatiques ainsi que du stade de développement de la plante.

D'après les valeurs du (tableau 5.2), L'évaluation du taux de protéines des figes (FN, FB, HFB, HFN) révèle des quantités appréciables dans les figes blanches, figes noires et les figes imprégnées dans l'huile d'olive (3,12%, 2,87%, 2,92%, 3,52%) respectivement avec une différence très hautement significative ($p < 0,001$).

Ce qui ressort essentiellement de ces résultats concernant la comparaison entre les protéines totales des échantillons étudiés; il existe une grande différence entre les protéines totales des différentes figes, le taux de protéines est plus élevé chez la fige de peau noire que celle mélangée avec l'huile HFN avec un taux de (3,52%), ensuite la fige de peau noire FN avec un taux de (3,12%) et puis celle de fige blanche mélangée avec l'huile d'olive HFB avec un taux de (2,92) et en dernier FN avec un taux de (2,87%)

En effet, de nombreuses études ont démontré que la composition en acides aminés varie d'un fruit à l'autre suivant l'espèce, l'origine géographique, le stade de maturation et la méthode de culture. Beaucoup de travaux ont été réalisés afin de déterminer la composition en acides aminés de la figue.

On remarque que Le pourcentage des protéines atteint une valeur importante dans le la figue noire, notre résultat est comparable aux résultats dont la teneur est située un peu près de 3% par exemple d'après Dessi et Salunkhe 1984, la variété Calimyrana sèche renferme 3% MF et la variété Mission sèche en contient 2.82% MF. Pendant la croissance du végétal, la teneur moyenne en protéines enregistrée après imprégnation est de 2.92% et 3.52% MF témoigne une augmentation des protéines qui résulte du phénomène de diffusion solubilisation des protéines hydrosolubles dans l'eau (vapeur) pendant le blanchiment (72) et pendant l'imprégnation avec l'huile qui perméabilise beaucoup plus les parois des fruits. Les protéines participent à la biosynthèse de l'éthylène qui est l'hormone de maturation par le biais des résidus méthionine (cycle de Yang). Par ailleurs, les acides amines aromatiques tels que phénylalanine sont impliqués comme substrats pour la biosynthèse des poly phénols. Bien que ces teneurs soient faibles, elles restent non négligeables car d'une part les figues sèches sont remarquablement plus riches en protéines que les figues fraîches, d'autre part, ces apports protéiques présentent une bonne valeur nutritive liée à l'équilibre entre acides aminés ordinaires et acides aminés indispensables.

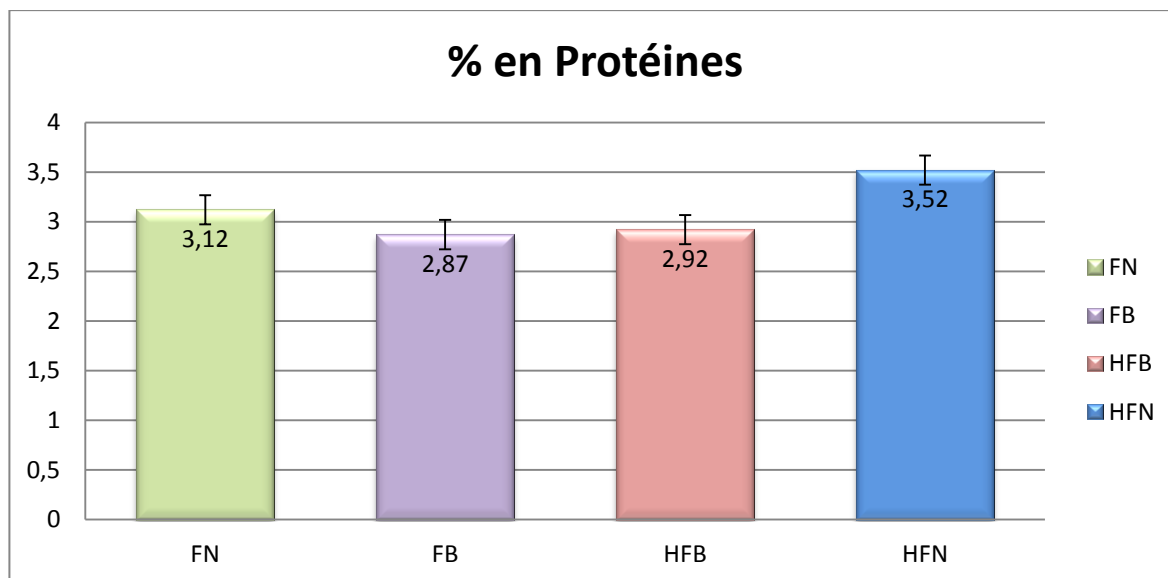


Figure 5.13 : La teneur en protéines des différents échantillons étudiés

5.1.2.3 Lipides totaux

De multiples paramètres influent sur le taux de la matière grasse comme la granulométrie, l'humidité, la nature du solvant et la méthode d'extraction utilisée. Dans les diagrammes ci-dessous (Figure 5.14) sont illustrées les teneurs en lipides des figes sèches étudiées, exprimées en pourcentage de matière sèche (MS). D'après les valeurs du (tableau 5.2), l'évaluation du taux de matière grasse des figes (FN, FB, HFB, HFN) révèle des quantités appréciables dans les figes blanches, figes noires et les figes imprégnées à l'huile d'olive (2,11%, 2,26%, 4,18%, 3,16%) respectivement avec une différence très hautement significative ($p < 0,001$).

D'après les résultats, on remarque que la fige sèche de peau blanche contient des lipides plus que la fige de couleur noire qui sont (2,26% et 2,11%) respectivement, et on remarque aussi une augmentation de la teneur en lipides des deux variétés après l'imprégnation (HFN, HFB) et cela s'explique par la perméabilité membranaire des deux variétés.

La teneur moyenne des lipides des figes sèches est plus élevée que celle trouvée par Dessi et Salunkhe 1984 dans la variété Mission (0.9%). Cependant

la variété Climyrna renferme 1.9% MF, autre variété renferme 2.7% MF d'après le même auteur, la teneur en lipides peut varier selon la variété et aussi selon le stade de maturité, la fraction lipidique des figues sèches est importante du point de vue nutritif car elle répond à la composition suivante [111]: AGS=0.23% AGMI=0.26% AGPI=0.56%. Les lipides sont des constituants biologiques nutritionnellement importants du point de vue calorique et de l'apport en acide gras essentiels ainsi qu'en vitamines liposolubles, ce qui confère à la figue la propriété de diminuer le risque de maladies cardiovasculaires [111].

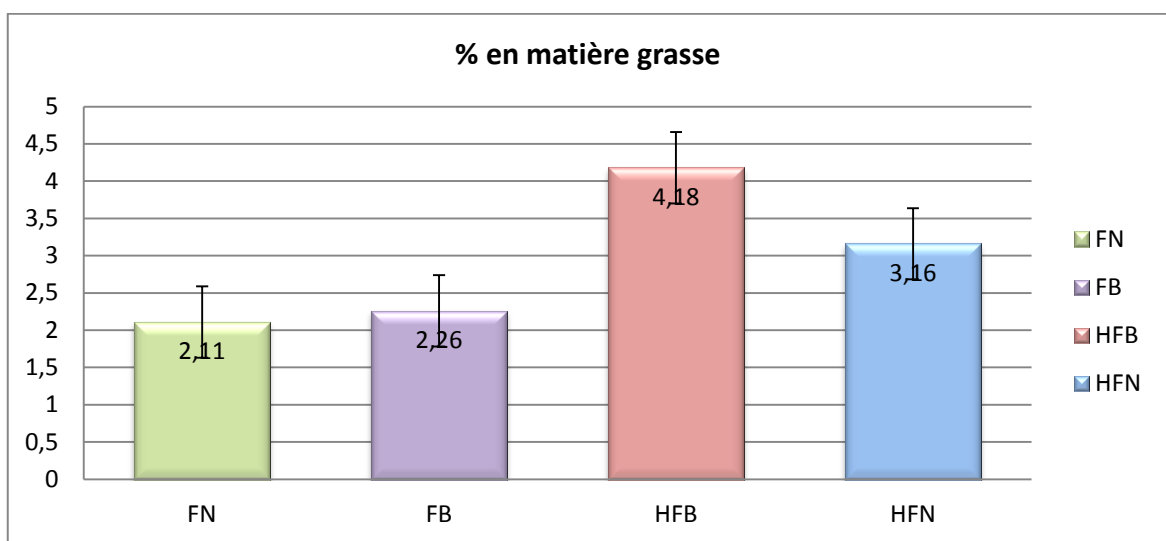


Figure 5.14 : La teneur en matière grasse des différents échantillons étudiés

5.1.2.4 Cellulose

Les fibres alimentaires sont des polymères glucidiques d'origine végétale, associées ou non dans la plante à la lignine ou à d'autres constituants non glucidiques (polyphénols, cires, saponosides, phytostérols...) (AFSSA, 2002). L'apport en fibres provient majoritairement des végétaux qui constituent notre alimentation : fruits, légumes, diverses graines et céréales [11]. Les fibres alimentaires ont plusieurs effets bénéfiques sur la santé, notamment : augmentation du bol fécal, diminution de la cholestérolémie et du taux de LDL plasmatique, diminution de la glycémie et de l'insulinémie post-prandiale.

Le dosage des fibres alimentaires effectué sur les échantillons des figes sèches étudiés est représenté sur les diagrammes suivants (Figure 5.15) en pourcentage de (MS). Les taux de fibres alimentaires pour nos échantillons sont (7,92%MS, 6,15%MS, 6,21%MS et 7,11%MS) des FN, FB, HFB, HFN respectivement avec une différence très hautement significative ($P < 0,001$). Nous avons enregistré des valeurs très rapprochées également pour les résultats que nous avons obtenus à ceux obtenus par Yousif et Alghzawi en 2000 (10,99% de MS), et Jeddi 2009, la teneur des fibres est de 3 % et les figes sèches 10 %.

Les figes fraîches et sèches contiennent environ 30 % de fibres solubles et 70 % de fibres insolubles. Une portion de 60 ml (1/4 tasse) de figes sèches fournit 10 % des apports quotidiens recommandés en fibres totales pour les hommes de 19 ans à 50 ans, et 15 % pour les femmes du même groupe d'âge [12]. La fige séchée se distingue également par un contenu en différents nutriments (dont les fibres, le potassium, le calcium et le fer) supérieur à celui des , dattes, raisins et prunes sèches [5.17].

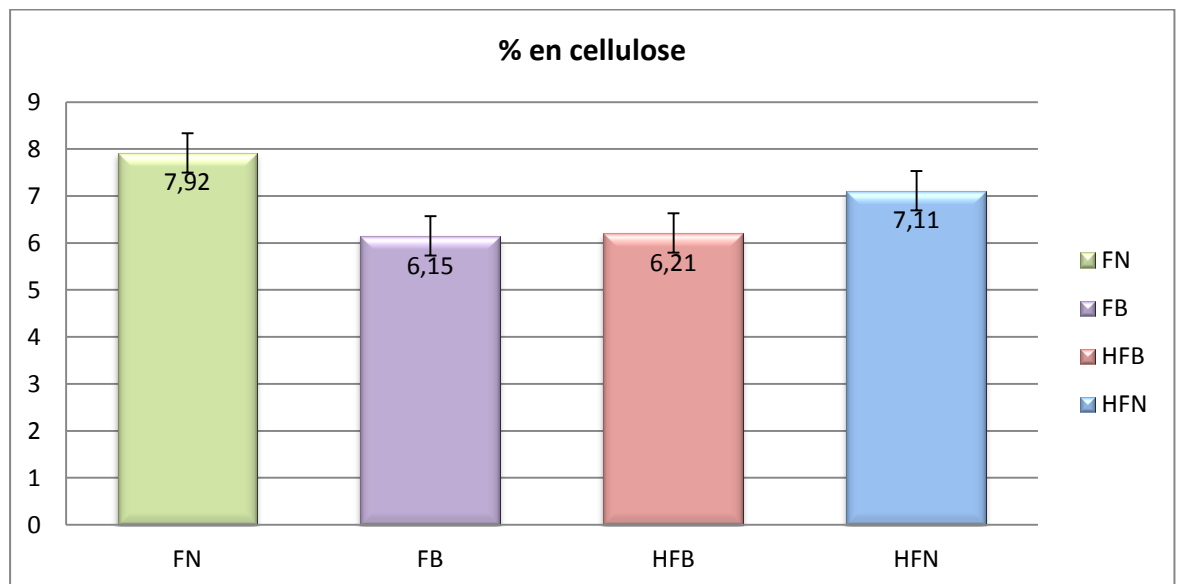


Figure 5.15 : La teneur en cellulose des différents échantillons étudiés

5.1.3 Résultats de la caractérisation phytochimique

5.1.3.1. Rendement d'extraction Extraction

L'utilisation du méthanol comme solvant permet de séparer des composés selon leur degré de solubilité, cette méthode d'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composants bioactifs et de prévenir leur dénaturation ou modification probable, dont la température élevée provoque l'inactivation des composés phénoliques, la diminution de leur rétractibilité dans le solvant aussi affecte leur quantification [63].

La préparation des extraits à partir du fruit *Ficus carica* et jus de fruit huile d'olive ont été effectuées selon deux méthodes : deux différents extraits ont été obtenus :

- L'extrait méthanolique (100% méthanol)
- L'extrait méthanolique (50% méthanol, 50% hexane)

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le (Tableau5.4) et illustrés dans la (figure 5.16). Chaque extrait a été caractérisé par son rendement, sa couleur et son aspect.

Tableau 5.4 : La masse, rendement et couleur des extraits obtenus.

Extraits	Solvant	Masse (g)	Rendement %	aspect	couleur
OH	Hexane+Méthanol +eau	50	80.23±0.565	huileux	jaunâtre
OHN	Hexane+Méthanol +eau	50	86 .32±2.890	huileux	jaunâtre
OHB	Hexane+Méthanol +eau	50	82.65 ±2.121	huileux	jaunâtre
FN	Méthanol	25	29.93 ±0.014	pâteux	Marron clair
FB	Méthanol	25	28.16±0.098	pâteux	Marron clair
HFN	Méthanol	25	38.9 ±0.042	pâteux	Marron foncé
HFB	Méthanol	25	34.86±0.014	pâteux	Marron foncé

Les résultats obtenues montrent que le rendement en extrait méthanolique des OHN (86,32%) est supérieur aux OHB et OH (82,65% et 80,23%) respectivement.

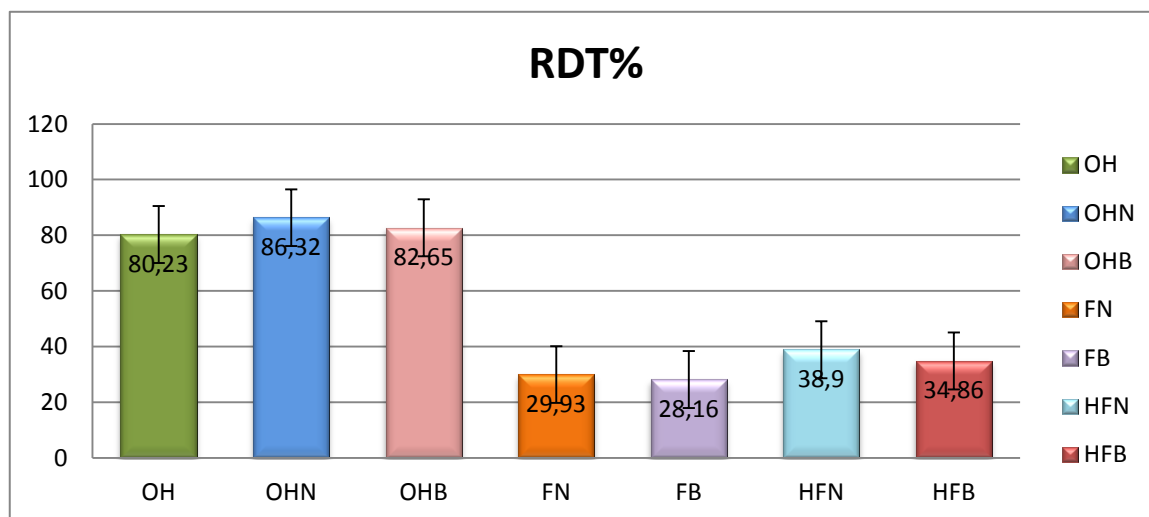


Figure 5.16 : Rendement d'extraction des différents échantillons étudiés

Les résultats obtenus (Tableau 5.4) montrent que le rendement en extrait méthanolique des HFN (38,90%) est supérieur à celui des HFB, FN et FB (34,86%, 29,93% et 28,16%) respectivement.

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient d'une plante à une autre de la même famille mais également des paramètres de l'extraction liquide - liquide ou solide- liquide des polyphénols à savoir la température, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion dans le solvant. Le calcul des rendements permet non seulement d'apprécier les extraits totaux issus de la plante, mais également d'envisager la quantité d'organes à prélever en cas de besoin pour une éventuelle étude similaire : ce qui rendrait l'utilisation rationnelle et donc durable des espèces visées [9] D'après le test colorimétrique mené sur les extraits méthanoliques, les résultats obtenus ont démontré que les figes et l'huile d'olive en aspect qualitatif - contiennent plusieurs métabolites secondaires : les flavonoïdes, les tanins, et polyphénols totaux. Ces derniers ont des intérêts mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

5.1.3.2 Analyse quantitatives des extraits

5.1.3.2.1 Les polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été alors déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Appendice F) et exprimée en milligrammes d'équivalent en acide gallique par 100 gramme de figue sèche et de l'huile d'olive. Les résultats sont mentionnés dans le (tableau 5.5) et illustrées dans la figure (5.17). La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin- Ciocalteu. [4].

Tableau 5.5 : Teneur en composés phénoliques des différents extraits méthaloniques

Extraits	Polyphénols totaux mgEAG/g extrait	Flavonoïdes mgEQ/g extrait	Tanins mgEAT/g extrait
OH	710.22±5.066	3.8±0.148	4 .19±0.025
OHN	398.86±5.44	2.54±0.060	3 .90±0.007
OHB	275±5.05	2.79±0.02	3 .94±0.022
FB	318.86±2.89	65 .45±0.581	153 .9±0.01
FN	346.59±6.29	53.45±4.163	160 .9±1.057
HFB	321.13±5.61	48.23±0.574	104.34±0.729
HFN	607.95±2.57	54,27±1.527	162.69±1.188

Les teneurs en polyphénols totaux enregistrées pour nos extraits phénoliques sont comprises entre (710.22 mgEAG/g extrait, 398.86 mgEAG/g extrait, 275 mgEAG/g extrait) des OH, OHB, OHN respectivement et (318.86 mgEAG/g extrait, 346.59 mgEAG/g extrait, 321,13 .13 mgEAG/g extrait, 607,95 mgEAG/g extrait) FB, FN, HFB, HFN respectivement avec une différence hautement significative.

Les teneurs en poly phénols totaux enregistrées pour nos extraits phénoliques sont comprises dans l'intervalle trouvé par (tl2426) et dans l'intervalle trouvé par (Tura D et al .2007) (55,4 à 615,78 ppm) pour dix huit variétés Italiennes et dans

l'intervalle trouvé (Brahmi et Boutagrabt.2008), (71 .89 à 539.78ppm) pour cinq variétés Algériennes.

Dans une étude faite sur les figes séchées de la Californie, Vinson J.A et al 2005 ont dosé les polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu dans des extraits polaires obtenus par extraction à base de méthanol/eau (50%/50%) et méthanol/eau à 1,2M d'acide chlorhydrique afin d'extraire les polyphénols libres et glycosylés , les résultats des polyphénols totaux obtenus (320 ± 37) mg équivalent catéchine /100g de figes sèches , sont presque similaires à ceux obtenus avec l'extrait (348.86ppm, 346.59ppm) de FB et FN respectivement.

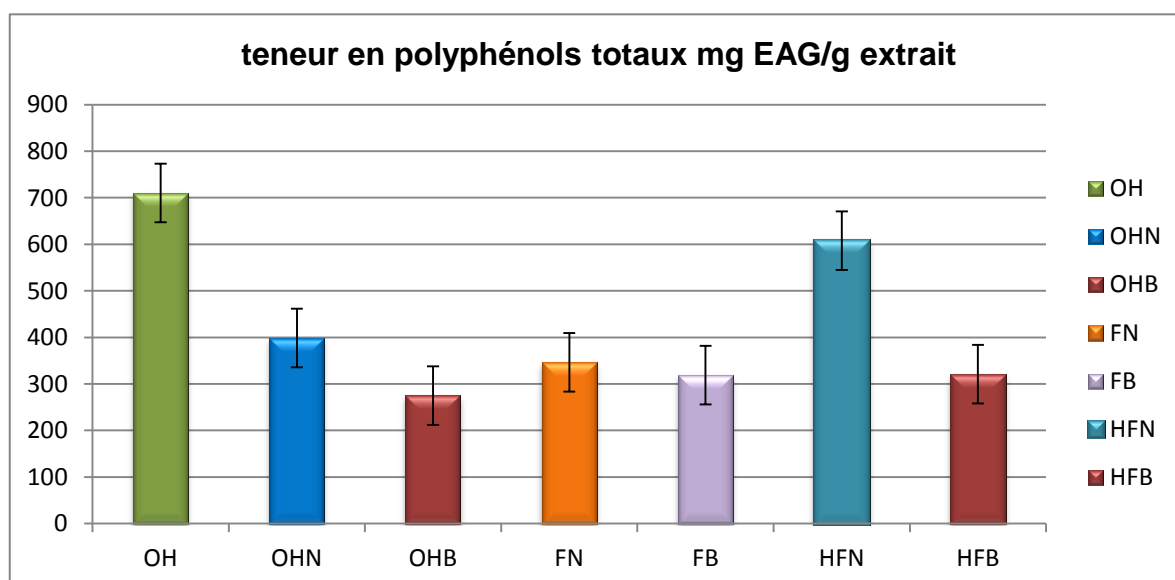


Figure 5.17: Teneur en polyphénols totaux des différents échantillons étudiés

Les teneurs en poly phénols totaux enregistrées pour nos extraits phénoliques sont comprises dans l'intervalle trouvé par [123]. Les composants phénoliques sont des éléments qui peuvent jouer un rôle important en tant qu'antioxydants et avoir une influence sur la flaveur de l'huile [125]. A la lumière des résultats du (tableau 5.5), on constate que la concentration des polyphénols totaux varie pour OH qui renferme un taux très élevé (710,22 ppm) suivis par OHN avec un taux de 398,86 ppm et puis OHB avec un taux de 275 ppm. La concentration en composés phénoliques est en relation avec les valeurs d'acidité et

particulièrement d'indice de peroxyde, ce qui fait ressortir le rôle de ces composés dans la stabilité de l'huile.

Les teneurs de nos huiles en ces composés sont très proches de celles des variétés espagnoles de la région « *Aciete Campo de Montiel* » qui a été étudiées par Pardo et *al.* (2005) (*Arbequina* avec 244ppm et *Picual* avec 652ppm). L'influence du cultivar est particulièrement importante sur la composition quantitative des substances phénoliques ; ce qui confirme ce qu'est rapporté par Dugo et *al.* (2004). Les polyphénols passent dans l'huile lors de son extraction. Les ortho- diphénols (comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine), présents dans l'huile d'olive sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation. Ils lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant [18, 26, 34].

D'après nos résultats préliminaires on constate qu'il y a un changement dans le taux de polyphénols dans l'huile d'olive avant et après le mélange et cela pour la figue ainsi, on remarque que l'huile s'appauvrit en quantité de poly phénols et la figue s'enrichit.

5.1.3.2.2 Les flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux a été réalisée par la méthode du trichlorure d'aluminium [56]. La quercitine a été utilisée comme standard (Appendice F), les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercitine par 100g de figes sèches et huile d'olive. Les résultats sont mentionnés dans le (tableau 5.5) illustrées dans la figure [5.18].

Les teneurs en flavonoïdes totaux enregistrées pour nos extraits phénoliques sont comprises entre (3,8, 2,54 et 2,79 mgEQ/g extrait) des OH, OHB, OHN respectivement et (56,45, 53,45, 48,23 et 54,27 mgEQ/g extrait) FB, FN, HFB, HFN respectivement avec une différence hautement significative.

D'après ces résultats, cette huile étudiée présente des teneurs faibles en flavonoïdes confirmant ainsi l'étude de [66]. La plus grande teneur est enregistrée pour l'OHN à une teneur de 3.5 mgEAG/g extrait. En comparant nos résultats à ceux obtenus par [66] pour trois variétés italiennes et huit variétés espagnoles (0.61 à 2.6 ppm). Nos résultats sont situés dans un intervalle un peu plus élevé mais elles sont comprises dans les teneurs trouvées par [15] pour cinq variétés Algériennes (0.3 0 à 4.47 ppm). Les figues contiennent différents antioxydants, particulièrement des composés phénoliques de la famille des flavonoïdes [20].

Nos résultats concordent avec la littérature scientifique qui confirme la présence des flavonoïdes dans les figues, (Epicatechine 0.02 mg, le (+)-Catechine 0.15 mg/100g, la quercitine 0.93 mg/100g et la rutine 527.96 à 1071.41mg/kg [12.14.123] et cela conforme a [128](43,20±2,0mg), le séchage des figues sèches entraîne une diminution de 87% dans la teneur des polyphénols totaux [127].

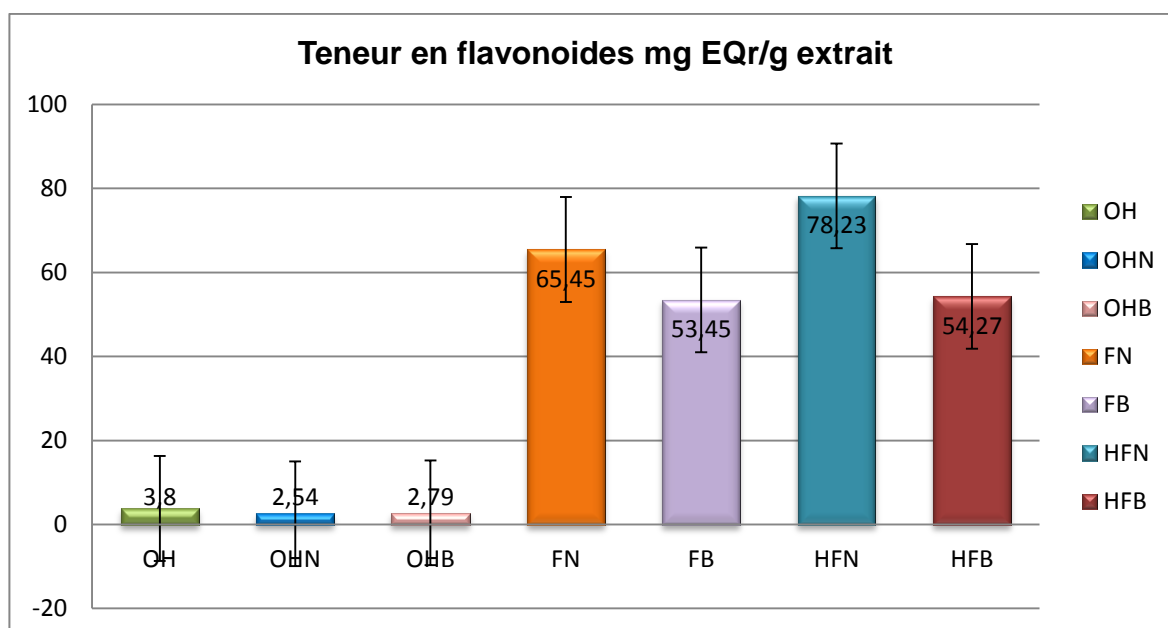


Figure 5.18 : Teneur en flavonoïdes des différents échantillons étudiés

5.1.3.2.3 Les tanins

Les anthocyanines ont été déterminés par la méthode de Willis et Allen (1988), en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique indiquée sur (Appendice H). Le dosage des tanins montre la haute teneur de ces molécules dans les extraits méthanoliques (FN, FB, HFN, HFB) avec un taux de (173.9, 134.91, 189.34 et 141,69 mgEQ/g extrait) Ces résultats corroborent d'autres travaux déjà réalisés [39] qui suggèrent la présence des tanins dans les extraits méthanoliques. et sont proches à ceux trouvés par Refat Aat al .2008, dans des variétés de la Jordanie (186.1mg/100g de fruit). La pelure des figes, qui est habituellement consommée, contient la majorité des antioxydants du fruit [4]. Les figes de couleur foncée (par exemple la variété Mission) contiendraient davantage de tanins que les variétés de couleur plus pâle [4.19].

Pour les extraits méthanoliques des huiles étudiées (OH, OHN, OHB) avec un taux de (49.19, 53.9, 47.94 mgEQ/g extrait) qui est dans l'intervalle trouvé [17].

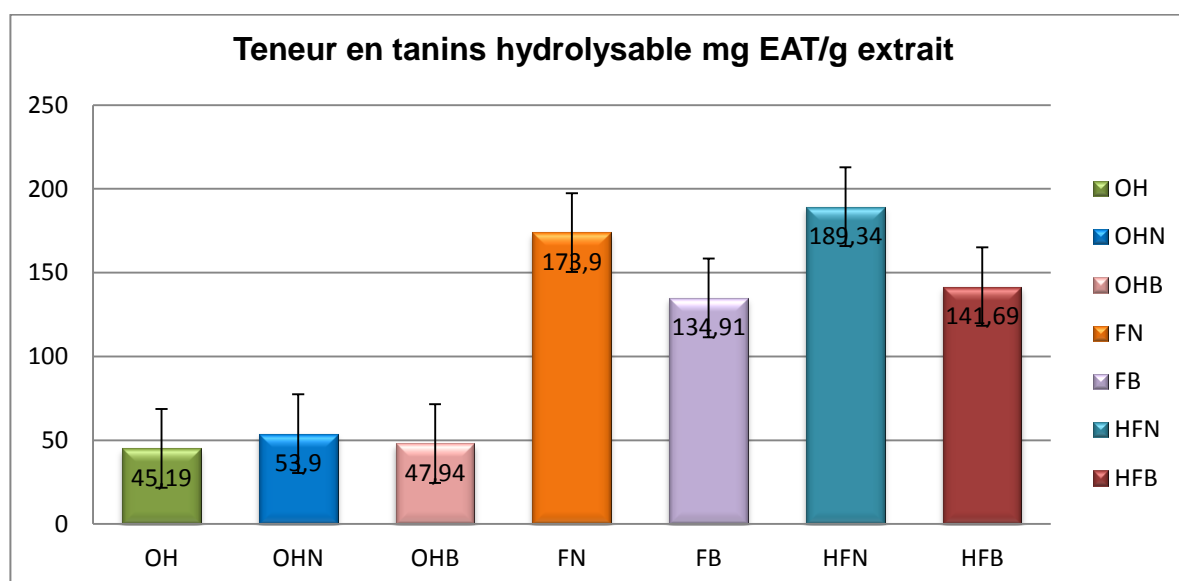


Figure 5.19 : Teneur en polyphénols totaux des différents échantillons étudiés

Les tannins sont connus pour empêcher la peroxydation des lipides et les lipo-oxygénases in vitro, et l'information a été accumulée au cours de ces dernières années, démontrant leur capacité de piéger les radicaux tels que l'hydroxyle, le

superoxyde et le peroxyde qui sont connus pour être importants dans les états de pro-oxydation cellulaires [69].

5.1.3.3 Résultats de l'analyse qualitative par HPLC

Afin de compléter l'étude sur les composés phénoliques, nous avons cherché à déterminer les modifications au niveau de chaque composé phénolique. La tentative d'identification des phénols dans les trois types d'huile d'olive (OHN, OHB, OH) et quatre figes (HFN, HFB, FN, FB) a été réalisée par HPLC. Le méthanol utilisé pour l'extraction a un rôle protecteur. Il peut empêcher les composés phénoliques d'être oxydés par des enzymes, telles que les phénols oxydases. La colonne utilisée pour séparer les composés phénoliques est exclusivement à phase inverse. Ce système est une haute technique de résolution chromatographique largement répandue, pour la séparation et la quantification simultanée des substances phénoliques [123]. Les figures ci-dessous illustrent les chromatogrammes des différents étalons utilisés (1 mg/ ml), les analyses ont été réalisées à une même longueur d'onde 280nm. L'identification et la quantification de composés phénoliques contenus dans les extraits se fait par comparaison du temps de rétention, des surfaces des étalons utilisés par rapport à ceux obtenus en analysant les extraits. Les chromatogrammes d'HPLC des standards et des différents extraits sont représentés ci-dessous : La comparaison des temps de rétention (Tableau 5.6) des standards avec ceux enregistrés dans les différents chromatogrammes (tableau : 5.7 ,5.8 ,5.9, 5.10, 5.11 et 5.12,), permet l'identification probable de certains flavonoïdes dans nos extraits.

Tableau 5.6 : Temps de rétention des poly phénols standards

Temps de rétention (min)	Les standards
6.9	Quercétine
3.3	Rutine
1.74	Catéchine
1,67	Ac gallique
1.64	Ac tannique
2.5	Ac caféine

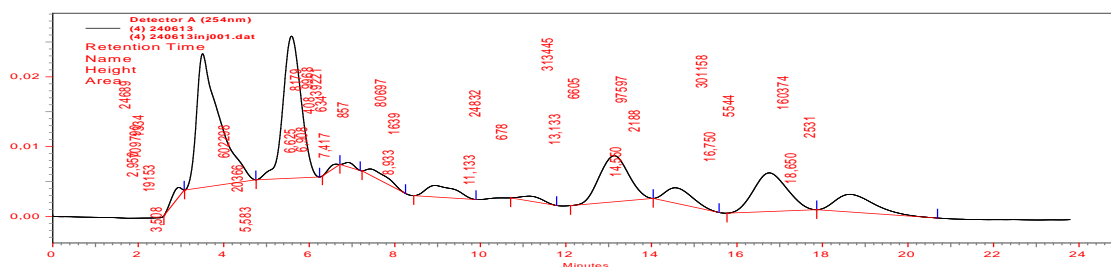


Figure 5.20 : Profil chromatographique des acides phénols présents dans OHN par H.P.L.C à 280 nm.

Tableau 5.7: Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés chez OHN à 280 nm.

Pics	Temps de rétention (min)	Teneur relatives (%)	Composés identifiés
1	2, 90	1,04	Non identifié
2	3,308	29,92	Rutine
3	5,583	25,39	Non identifié
4	6,625	0,34	Non identifié
5	6,908	0,42	Quercétine
6	7,417	1,65	Non identifié
7	8,933	3,4	Non identifié
8	11,133	1,05	Non identifié
9	13,133	13,21	Non identifié
10	14,55	4,11	Non identifié
11	16,75	12,7	Non identifié
12	18,65	6,76	Non identifié

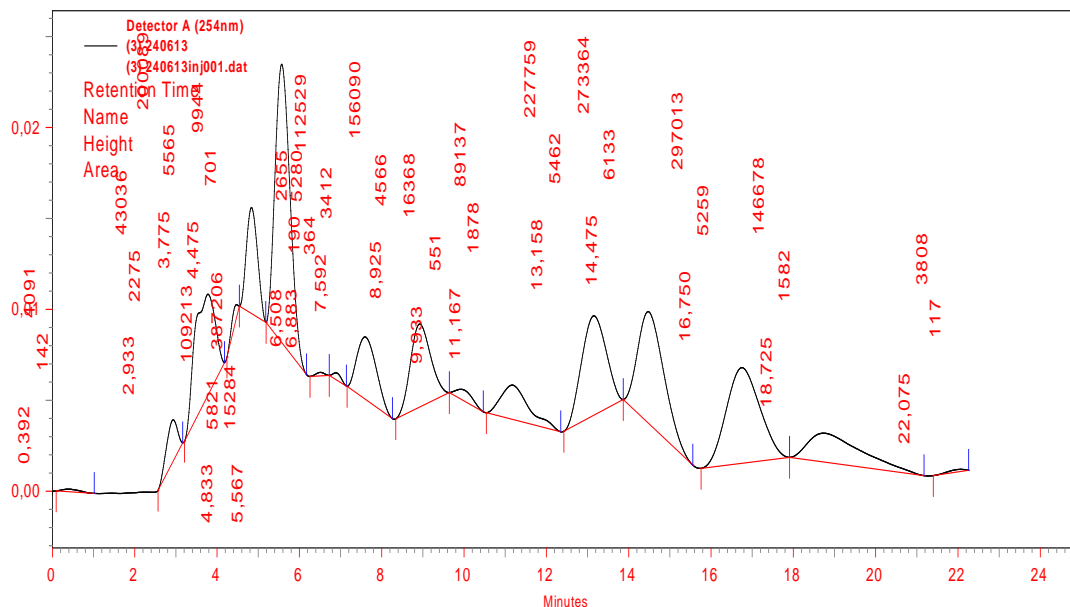


Figure 5.21: Profil chromatographique des acides phénols présents dans OHB par H.P.L.C à 280 nm.

Tableau 5.8 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés OHB à 280 nm.

Pics	Temps de rétention (min)	Teneur relatives (%)	Composés identifiés
1	2,933	2,06	Non identifié
2	3,775	9,6	Non identifié
3	4,475	0,48	Non identifié
4	4,833	5,24	Non identifié
5	5,567	18,58	Non identifié
6	6,983	0,25	Quercétine
7	7,592	5,4	Non identifié
8	8,925	7,49	Non identifié
9	11,167	4,28	Non identifié
10	13,158	10,93	Non identifié
11	14,475	13,12	Non identifié
12	16,75	14,25	Non identifié
13	18,725	7,04	Non identifié

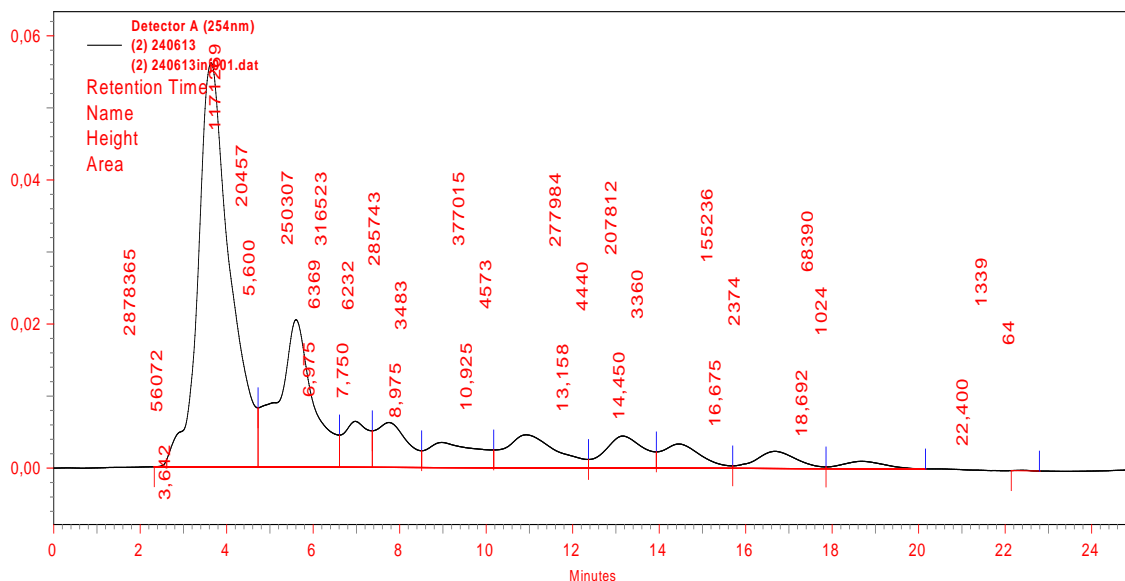


Figure 5.22 : Profil chromatographique des acides phénols présents dans OH par H.P.L.C à 280 nm.

Tableau 5.9 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés OH à 280 nm.

Pics	Temps de rétention (min)	Teneur relatives (%)	Composés identifiés
1	3,642	48,01	Non identifié
2	5,600	19,54	Non identifié
3	6,975	4,18	Quercétine
4	7,750	5,28	Non identifié
5	8,975	4,77	Non identifié
6	10,925	6,29	Non identifié
7	13,158	4,64	Non identifié
8	14,450	3,47	Non identifié
9	16,675	2,59	Non identifié
10	18,692	1,14	Non identifié
11	22,400	0,02	Non identifié
12	26,000	0,09	Non identifié

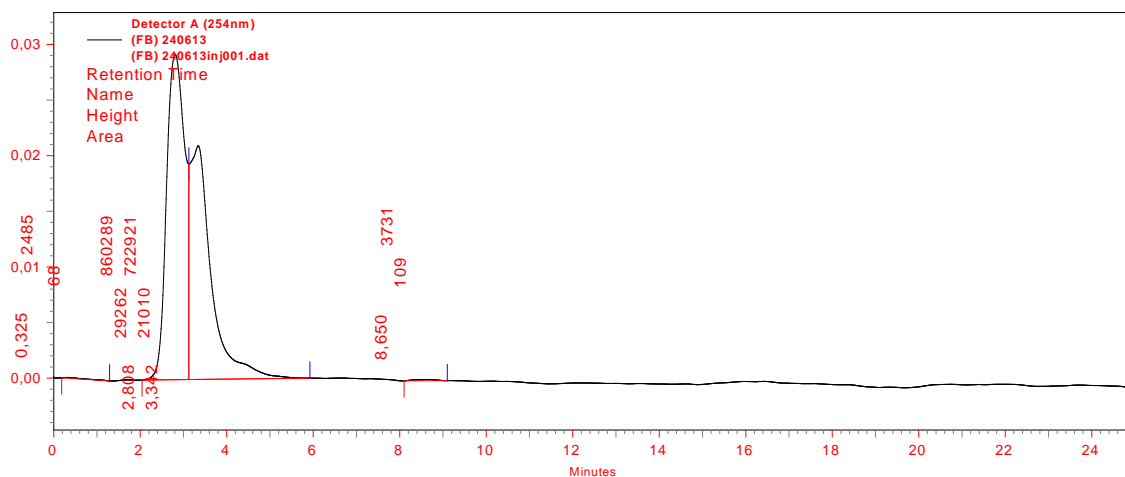


Figure 5.23 : Profil chromatographique des acides phénols présents FB détectés par H.P.L.C à 280 nm.

Tableau 5.9: Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés FB à 280 nm.

Pics	Temps de rétention (min)	Teneur relatives (%)	Composés identifiés
1	0,325	0,16	Non identifié
2	2,808	54,13	Non identifié
3	3,342	45,48	Rutine
4	8,650	0,23	Non identifié

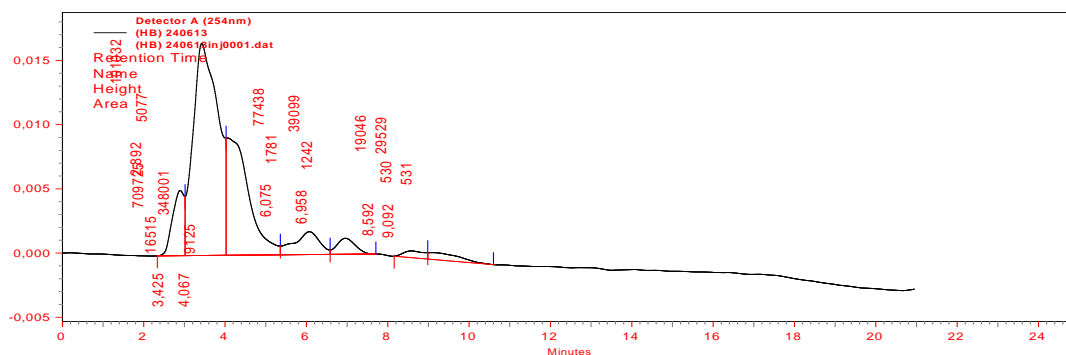


Figure 5.24 : Profil chromatographique des acides phénols présents FN détectés par H.P.L.C à 280 nm

Tableau 5.10 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés FN à 280 nm.

Pics	Temps de rétention (min)	Teneur relatives (%)	Composés identifiés
1	2,892	7,63	Non identifié
2	3,325	53,61	Rutine
3	4,067	26,29	Non identifié
4	6,075	5,85	Non identifié
5	6,958	2,95	Quercétine
6	8,592	1,44	Non identifié
7	9,092	2,23	Non identifié

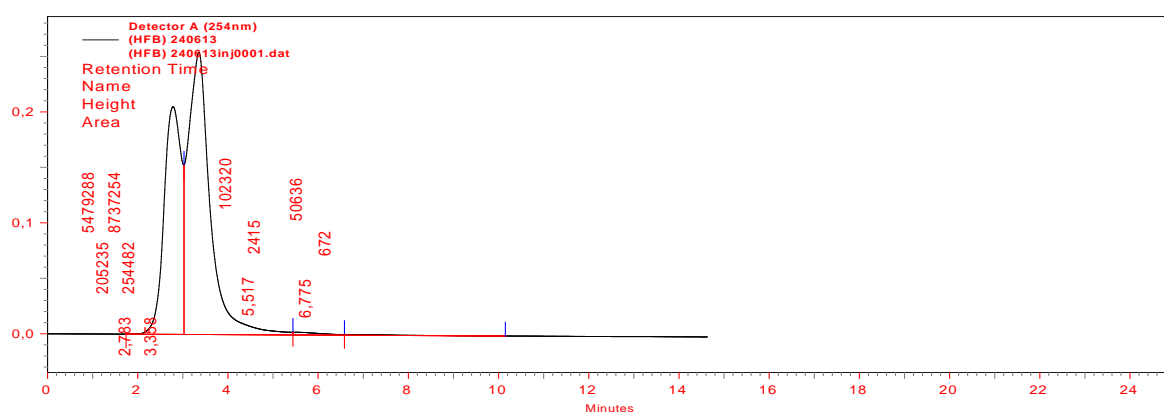


Figure 5.25: Profil chromatographique des acides phénols présents dans HFN détectés par H.P.L.C à 280 nm

Tableau 5.11 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés HFN à 280 nm.

Pics	Temps de rétention (min)	Teneur relatives (%)	Composés identifiés
1	2,783	38,13	Non identifié
2	3,358	60,80	Rutine
3	5,517	0,71	Non identifié
4	6,775	0,35	Non identifié

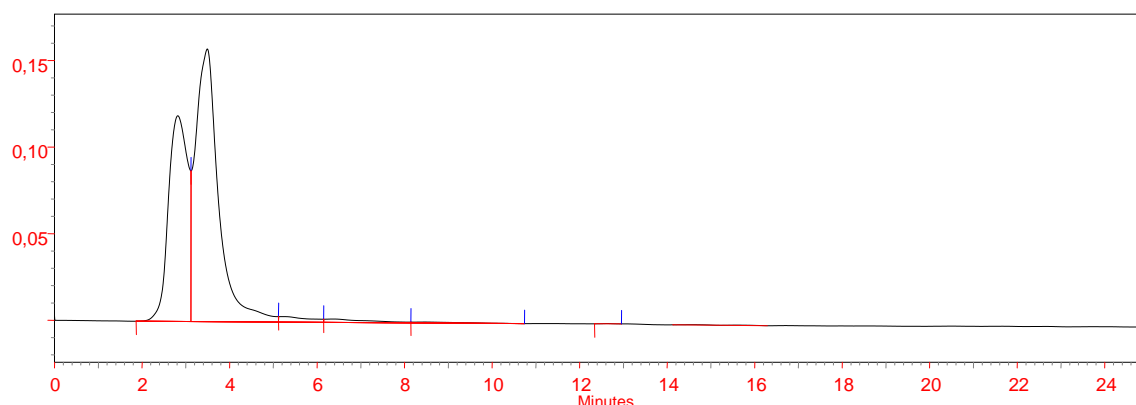


Figure 5.25: Profil chromatographique des acides phénols présents dans HFB détectés par H.P.L.C à 280 nm

Tableau 5.12 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés HFB à 280 nm.

Pics	Temps de rétention (min)	Teneur relatives (%)	Composés identifiés
1	2,517	36,97	Non identifié
2	3,392	58,94	Rutine
3	12,633	0,02	Non identifié
4	14,6	0,07	Non identifié

L'analyse par HPLC des extraits phénoliques montre la présence de flavonoïdes (figures 5.19, 5.20, 5.21, 5.22, 5.23, 5.24, 5.25). La Quercétine et la Rutine sont les deux flavonoïdes identifiés dans les extraits phénoliques. La quercétine est présente pour un temps de rétention de 6,9 à une concentration de 0,4 mg/ml pour tous les extraits méthanoliques. Pour la Rutine, elle est présente pour un temps de rétention de 3,3 à une concentration de 0,4 mg/ml pour les extraits méthanoliques.

Après comparaison des temps de rétention des témoins avec ceux des extraits, on constate que tous les extraits méthanoliques semblent contenir la quercétine, la

Rutine. Ce résultat est en accord avec ce qui est décrit dans la littérature [120.167 .169.172].

5.2 Résultats de l'activité anti-oxydante

On a dépisté l'activité antioxydante (test au DPPH et le test du pouvoir réducteur) de tous les extraits préparés. Il est nécessaire de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut ou d'une fraction enrichie est la composante de deux paramètres : l'activité intrinsèque d'un produit, d'une part, et d'autre part, sa quantité relative dans l'extrait. Ainsi, l'activité marquée d'un extrait peut tout aussi bien provenir d'une faible quantité de constituants très actifs, que d'une grande quantité de constituants peu actifs. De plus, il se peut qu'une activité observée résulte de la somme d'activités de plusieurs constituants [15.129].

5.2.1 Le pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur exprime la capacité à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2}) et donc l'aptitude d'un extrait à s'interagir avec des composés chimiques réactifs en tant que donneur d'électrons de sorte que les radicaux libres deviennent plus stables lorsqu'ils sont réduits. Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de l'espèce étudiée comparés au pouvoir réducteur du BHT et l'acide ascorbique, et exprimés par une absorbance à 700 nm sont représentés dans le (tableau 5.13) et illustré par la (figure 5.27).

La figure montre l'évolution du pouvoir réducteur des différents antioxydants en fonction de la concentration, il est observé que la concentration a un effet hautement significatif sur le pouvoir réducteur. Tous les composés montrent un certain degré de pouvoir réducteur, cependant comme prévu, leur pouvoir réducteur est inférieur à celui de l'acide ascorbique, qui est connu pour être un fort agent réducteur [171] et supérieur à celui de BHT. Aux concentrations (2, 5,10mg /l), l'extrait de HFN a un pouvoir réducteur le plus élevé que les autres extraits suivis par HFB, OHN, OHB, OH, FN, et FB successivement.

Tableau 5.13: Pouvoir réducteur des différents antioxydants testés

Les extraits méthaloniques	Activité de pouvoir réducteur ^a des extraits					
	Concentration (mg/l)					
	2	5	10	20	50	100
OH	0.087±0.015	0.193±0.01	0.332±0.1	0.548±0.3	0.834±0.6	1.417±0.5
OHN	0.079±0.003	0.105±0.3	0.321±0.2	0.524±0.01	0.805±0.05	1.615±0.06
OHB	0.084±0.004	0.096±0.01	0.338±0.00	0.571±0.03	0.824±0.00	1.423±0.01
FN	0.076±0.03	0.165±0.01	0.333±0.01	0.532±0.02	0.864±0.05	1.309±0.00
FB	0.085±0.05	0.189±0.00	0.453±0.02	0.526±0.03	0.941±0.13	1.289±0.4
HFN	0.066±0.003	0.152±0.05	0.454±0.03	0.642±0.04	0.908±0.06	1.843±0.1
HFB	0.083±0.02	0.183±0.5	0.483±0.02	0.645±0.03	0.812±0.02	1.523±0.03
C	0.076±0.003	0.220±0.02	0.432±0.07	0.936±0.05	2.355±0.04	3.329±0.01
BHT	0.043±0.003	0.106±0.01	0.255±0.80	0.408±0.06	0.877±0.01	1.333±0.11

L'étude statistique de ces résultats montre une différence hautement significative ($P < 0,01$). On rapporte une augmentation du pouvoir réducteur des extraits avec l'augmentation de la concentration. Sachant que l'activité antioxydante (DPPH), le pouvoir réducteur de l'extrait augmentent avec l'augmentation de la quantité de l'extrait.

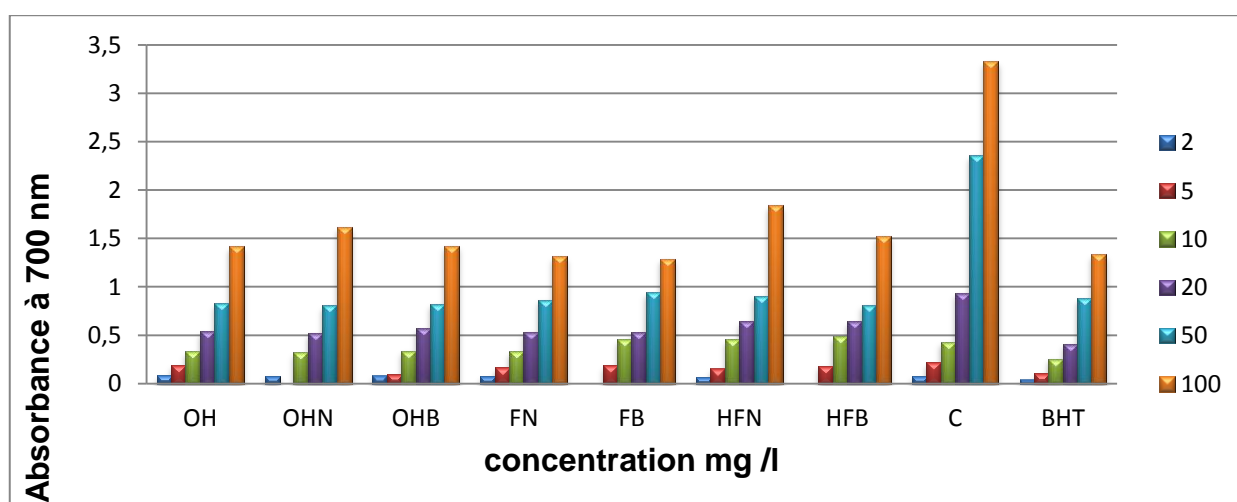


Figure 5.26 : Pouvoir réducteur du BHT et acide ascorbique et des extraits de méthalonique en fonction de la concentration

5.2.2. Test au DPPH

L'utilisation d'un test in vitro comme DPPH, pour évaluer préliminairement les propriétés qui devraient se produire à l'intérieur des systèmes biologiques est soutenue par les résultats obtenus à partir des études antérieures [5]. Selon des études, la capacité de piégeage des composés testée contre le radical DPPH suit une tendance qui reflète celle de l'activité antioxydante contre le radical superoxyde (O₂), le radical hydroxyde (OH), la capacité inhibitrice contre l'oxydation des lipoprotéines basse densité (LDL) induite chimiquement utilisée comme système modèle biologiquement approprié (Romanie).

Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH sont mentionnés dans le (tableau 5.14). Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire (Figure 5.27), révèlent que tous les extraits testés ainsi que le BHT et l'acide ascorbique prises comme référence sont des anti-radicalaires,

Il ressort de ces résultats que le pouvoir de piégeage du radical DPPH est très significativement dépendant de la concentration. L'acide ascorbique montre le pouvoir de piégeage le plus élevé même à faible concentration (10µg/ml), il inhibe complètement le radical stable DPPH (95%) par rapport au BHT qui montre un pouvoir de piégeage (80,35%) d'inhibition même à 100µg/ml ,

L'extrait phénolique de HFN a présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée (98.71%), suivie par OHN (96.84%) et puis HFB (93.89%) ensuite OHB (92.1%) suivis par OH (90.01%) et en dernier FN et FB (88,87%et 87,37%) respectivement avec une différence hautement significative (P<0,01).

Tableau 5.14: Activité de piégeage du radical libre des extraits étudiés comparées à celle du BHT et C

Les extraits métoniques	Activité de piégeage du radical libre DPPH ^a des l'extraits méthanoliques					
	Concentration (µg/l)					
	2	5	10	20	50	100
OH	25,01±0.01	64,47±0.9	70,33±0.8	88,99±0.5	90,89±0.11	90,01±0.32
OHN	32,1±0.02	80,296±0.7	88,88±0.01	94,13±0.01	96,36±0.01	96,84±0.34
OHB	28,88±0.21	70,93±0.5	75,69±0.01	90,1±0.21	92,1±0.22	92,1±0.015
FN	22,72±0.15	81,79±0.5	88,29±0.4	88,87±0.5	88,87±0.3	88,87±0.15
FB	20,65±0.05	76,98±0.12	88,22±0.6	87,37±0.07	87,37±0.6	87,37±0.4
HFN	41,1±0.03	90,34±0.17	97,65±0.17	98,71±0.09	98,71±0.4	98,71±0.11
HFB	37,09±0.04	87,34±0.18	92,15±0.23	93,89±0.04	93,89±0.7	93,89±0.07
BHT	9,37±0.02	79,74±0.06	29,5±0.02	48,69±0.44	74,39±0.53	89,35±0.5
C	34,87±0.19	85,87±0.01	95,22±0.03	95,27±0.24	95,34±0.7	95,34±0.01

On constate que OHN HFN, ont présenté une activité plus élevée que celle du contrôle positif de (BHT) et de l'acide ascorbique et aussi OH, OHB,HFB ont présenté une activité plus élevée que celle du contrôle positif de (BHT) . L'activité anti radicalaire des extraits HFN, OHN et OHB, HFB, OH est probablement liée à leur contenu en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins. De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacités antioxydantes, l'activité de ces molécules à piéger les radicaux libres .

La teneur des polyphénols totaux des extraits de l'huile d'olive et des figes imprégnées dans l'huile s'est corrélée significativement avec leurs activités anti-radicalaires. Ces résultats corroborent ceux déjà mentionnés auparavant [131.132.133.135]. Selon [139] les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale.

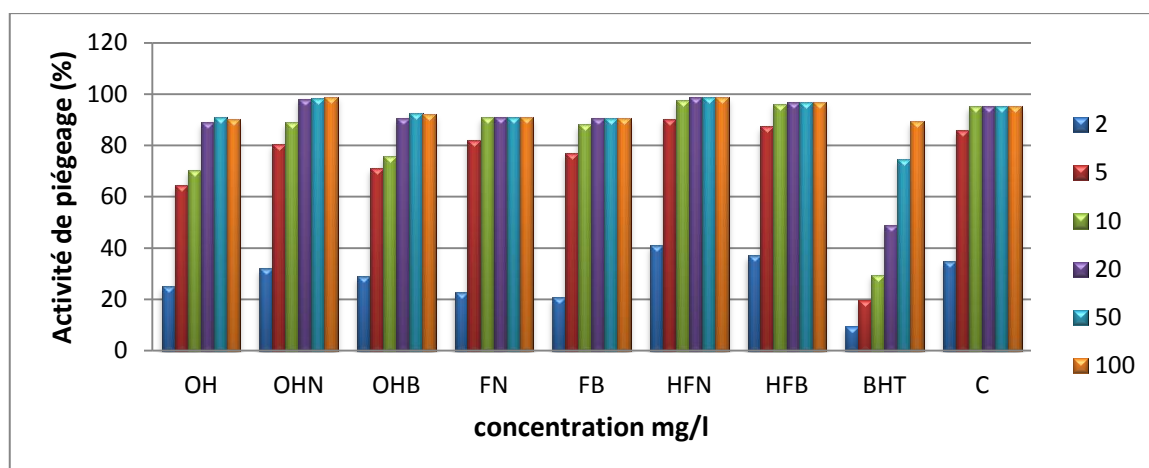


Figure 5.27 : Activité de piégeage du radical libre par les extraits méthalonique et du BHTet et acide ascorbique

Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, par ce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique, l'activité de piégeage du radical libre de l'extrait méthalonique de HFN est plus importante que celle de HFB et les autres extraits.

Les pourcentages supérieurs à 90% peuvent être considérés comme une inhibition de l'absorption complète du DPPH, parce qu'après avoir terminé la réaction, la solution finale possède toujours une couleur jaunâtre et, par conséquent, l'inhibition de l'absorption à l'incolore ne peut atteindre à 100% par rapport à la solution de méthanol. Selon [173], l'activité antioxydante est en relation avec la méthode d'extraction et la nature du solvant utilisé.

Ces résultats suggèrent que l'antioxydant naturel inhibe mieux le radical DPPH que l'antioxydant synthétique BHT et l'acide ascorbique. Ceci est soutenu par les valeurs d'IC₅₀. Une valeur plus faible d'IC₅₀ (définie comme la concentration du composé capable d'inhiber 50% de tous les radicaux de DPPH) indique une activité antioxydante plus élevée (voir appendice J) [181] Les concentrations inhibitrices IC₅₀ des différents antioxydants sont représentées dans la figure suivante :

Tableau 5.15 : La concentration inhibitrice IC₅₀ (µg/ml) du radical DPPH.

	OH	OHN	OHB	FN	FB	HFN	HFB	BHT	A. ascorbique
IC ₅₀ (mg/ml)	5,48	4,34	5,25	4,43	5,21	3,15	4,23	28,15	2,903

La variabilité des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes déterminante du pouvoir de piégeage, est elle-même liée à la variabilité relative des écotypes dont les extraits sont issus [182] Cette variabilité en composition chimique des écotypes (et donc du pouvoir de piégeage du radical DPPH) est dépendante des facteurs génétiques et environnementaux (climat, altitude, latitude, etc...) dans lesquels évolue la plante [182]

L'activité antioxydante des extraits HFN, HFB, FN, FB, OHN, OHB et OH pourrait être attribué à la présence des poly phénols, comme les tanins l'acide gallique [78.165].

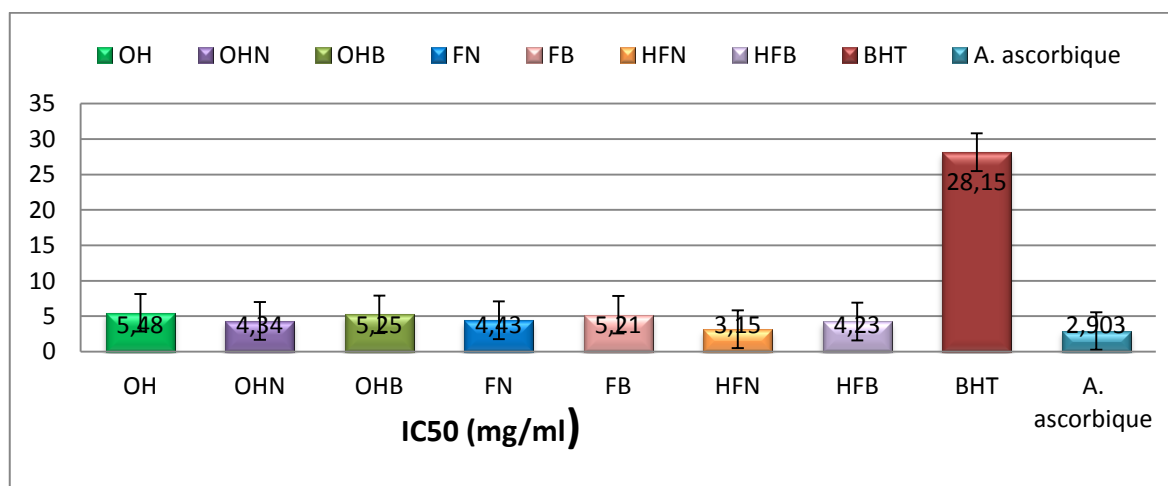


Figure 5.28 : Concentrations pour 50% d'inhibition des radicaux libres, du BHT et acide ascorbique et des extraits méthalonique

Tableau 5.16: Valeurs des IC₅₀, polyphénols totaux et flavonoïdes et des tanins hydrolysables différents extraits

Extraits	Polyphénols totaux mgEAG/g extrait	Flavonoïdes mgEQ/g extrait	Tanins mgEAT/g extrait	IC ₅₀ (µg/ml)
OH	710.22±5.066	3.8±0.148	4.19±0.025	12,48±0,23
OHN	398.86±5.44	2.54±0.060	3.90±0.007	7,34±0,26
OHB	275±5.05	2.79±0.02	3.94±0.022	11,45±0,33
FB	318.86±2.89	65.45±0.581	153.9±0.01	12,43±0,12
FN	346.59±6.29	53.45±4.163	160.9±1.057	13,21± 0,05
HFB	321.13±5.61	48.23±0.574	104.34±0.729	9,23±0,62
HFN	607.95±2.57	54,27±1.527	162.69±1.188	6,65±0,43

La capacité des flavonoïdes ainsi que des phénols totaux à piéger les radicaux libres s'explique par leurs structures chimiques comportant un nombre important d'atomes d'hydrogène, des groupements hydroxylés, des noyaux phényles qui seraient capables de capter les radicaux libres en démobilisant leurs électrons célibataires [25].

Les résultats de test de piégeage du radical libre DPPH suggèrent que les composants qui se trouvent dans l'extrait sont capables de piéger les radicaux libres par l'intermédiaire de donation d'électrons ou d'hydrogène.

Ceci montre également la capacité des extraits à piéger les différents radicaux libres dans les différents systèmes, ce qui indique qu'ils peuvent être des agents thérapeutiques utiles pour le traitement des dommages pathologiques liés aux radicaux [186] ceci peut être bénéfique dans la conservation des produits alimentaires, des formulations médicamenteuses et des produits cosmétiques, où les réactions en chaîne de radicaux libres ont comme conséquence l'oxydation des lipides et la détérioration ultérieure des produits [24] .

5.3 Résultats de l'effet anti-inflammatoire des extraits méthanoliques

Après l'administration de l'eau physiologique et des extraits phénoliques à des souris, chez lesquelles on a provoquée une inflammation par l'injection de la carraghénine à 1% dans la surface plantaire des pattes postérieures, nous avons pris les estimations des épaisseurs des pattes postérieures (en mm). Les résultats obtenus sont indiqués dans la figure et le tableau suivants :

Après l'administration de la carraghénine au niveau des pattes postérieures des souris, nous avons observé la formation des œdèmes et une augmentation considérable des épaisseurs des pattes chez toutes les souris des 08 lots.

Après 30 min de l'administration de la carraghénine, on remarque une légère baisse des œdèmes chez le lot témoin traité par l'eau physiologique (pourcentage de réduction =1,97%), la réduction de ces œdèmes est très lente dans le temps car il n'atteint pas le point de stabilisation avant 210 min de l'injection. Les souris des lots : OHN, OHB, OH, HFN, HFB, FN et FB dont la dose des extraits phénoliques administrée est de 0.2g/ml, une baisse importante des œdèmes est observée après 30 min (pourcentage de réduction 9.61,9.85 , 9.85, 10.6 , 10.18 , 14.66 et 17.56%) respectivement , le temps de stabilisation étant de 150 min après l'injection.la plus élevée a été enregistré par HFN et puis HFB. Les souris des lots : OHN, OHB, OH, HFN, HFB, FN et FB dont la dose des extraits phénoliques administrée est de 0.4g/ml, une baisse plus importante des œdèmes est observée après 30 min (pourcentage de réduction = 11.69 , 12.68,11.59,10.68, 12.17,15.11 et 19.02%) respectivement , le temps de stabilisation étant de 120 min après l'injection. D'après les résultats obtenus, on déduit que l'extrait des deux doses a un effet anti-inflammatoire très marqué par rapport au lot témoin. Le temps de l'expérimentation était suffisant pour atteindre le point de stabilisation des 8 lots. Nos résultats concordent avec ceux de [117.118] qui mentionnent l'effet anti-inflammatoire des figues sèches et de l'huile d'olive. La propriété astringente des tanins est à la base d'autres propriétés (vulnéraire, antidiarrhéique), elle permet la cicatrisation de la peau et des muqueuses, favorise la vasoconstriction des petits vaisseaux [76] En outre, les tanins ont un très grand pouvoir anti-inflammatoire [78] Les plantes riches en tanins sont utilisées en cas de rhume, de maux de gorge, les infections internes et externes, blessures,

coups et brûlures [14]. D'après nos résultats, on remarque que HFN présente un pouvoir anti-inflammatoire plus élevé que HFB et cela peut s'expliquer par la teneur plus élevée des composés phénoliques dans la figue de couleur noire par rapport à la blanche.

Tableau 5.17 : Evolution des épaisseurs moyennes des pattes postérieures droites des souris de chaque lot (0,2 et 0,4 mg/ml en mm)

épaisseurs moyennes des pattes postérieures droites des souris											
T: eau Physi+carraghénine		2,88±0,2	3,55±0,2	3,48±0,7	3,41±0,1	3,26±0,2	3,09±0,2	2,99±0,4	2,92±0,3	2,9±0,5	2,88±0,1
OH	0,2mg/ml	2,44±0,3	3,12±0,3	2,82±0,4	2,64±0,7	2,53±0,3	2,47±0,6	2,44±0,1	2,44±0,2	2,4±0,7	2,44±0,9
	0,4mg/ml	2,81±0,5	3,42±0,1	3,02±0,2	2,91±0,5	2,83±0,4	2,81±0,7	2,81±0,2	2,81±0,1	2,8±0,6	2,81±0,1
OHN	0,2mg/ml	2,74±0,4	3,45±0,3	3,11±0,3	2,87±0,1	2,81±0,6	2,76±0,3	2,74±0,5	2,74±0,3	2,7±0,7	2,74±0,7
	0,4mg/ml	2,88±0,2	3,39±0,5	2,96±0,1	2,92±0,2	2,89±0,3	2,88±0,5	2,88±0,6	2,88±0,2	2,9±0,5	2,88±0,6
OHB	0,2mg/ml	2,80±0,1	3,35±0,1	3,02±0,3	2,9±0,8	2,85±0,2	2,82±0,3	2,8±0,9	2,8±0,5	2,8±0,6	2,8±0,4
	0,4mg/ml	2,96±0,7	3,45±0,2	3,05±0,6	2,98±0,7	2,97±0,4	2,96±0,1	2,96±0,7	2,96±0,6	3±0,2	2,96±0,4
FB	0,2mg/ml	2,44±0,8	2,98±0,5	2,68±0,7	2,57±0,4	2,51±0,2	2,47±0,6	2,44±0,5	2,44±0,3	2,4±0,6	2,44±0,2
	0,4mg/ml	2,84±0,4	3,37±0,6	3,01±0,5	2,9±0,3	2,85±0,5	2,84±0,4	2,84±0,1	2,84±0,9	2,8±0,5	2,84±0,6
FN	0,2mg/ml	2,65±0,2	3,24±0,7	2,91±0,2	2,8±0,7	2,73±0,3	2,67±0,7	2,65±0,6	2,65±0,5	2,7±0,1	2,65±0,3
	0,4mg/ml	2,98±0,1	3,45±0,5	3,03±0,1	3,01±0,6	2,99±0,7	2,98±0,3	2,98±0,1	2,98±0,4	3±0,50	2,98±0,2
HFB	0,2mg/ml	2,50±0,3	3,41±0,4	2,91±0,3	2,71±0,2	2,53±0,1	2,52±0,3	2,5±0,7	2,5±0,8	2,5±0,3	2,5±0,2
	0,4mg/ml	2,64±0,1	3,44±0,7	2,92±0,6	2,75±0,3	2,69±0,4	2,64±0,6	2,64±0,3	2,64±0,3	2,6±0,3	2,64±0,9
HFN	0,2mg/ml	2,62±0,4	3,55±0,1	2,93±0,5	2,75±0,1	2,65±0,1	2,63±0,7	2,62±0,3	2,62±0,1	2,6±0,4	2,62±0,3
	0,4mg/ml	2,66±0,5	3,47±0,4	2,81±0,1	2,7±0,2	2,68±0,9	2,66±0,9	2,66±0,5	2,66±0,4	2,7±0,2	2,66±0,1

Tableau 5.17 : Pourcentages de réduction de l'œdème des pattes postérieures droites des souris

Pourcentages de réduction de l'œdème des pattes postérieures droites des souris.									
% de réduction des pattes		Après 30 min	Après 60 min	Après 90 min	Après 120min	Après 150min	Après 180min	Après 210min	Après 240min
Lot témoin		1,97±0,1	2,01±0,33	4,39±0,34	5,21±0,12	3,23±0,23	2,34±0,3	1,36±0,2	0
OH	0,2mg/l	9,61±2,1	6,38±0,3	4,16±0,44	2,37±0,6	1,21±0,11	0	0	0
	0,4mg/l	11,69±3,1	3,64±0,25	2,74±0,16	0,70±0,7	0	0	0	0
OHN	0,2mg/l	9,85±0,2	7,71±0,8	2,09±0,11	1,77±0,8	0,72±0,5	0	0	0
	0,4mg/l	12,68±0,1	1,35±0,7	1,02±0,6	0,34±0,6	0	0	0	0
OHB	0,2mg/l	9,85±0,21	3,97±0,35	1,72±0,25	1,05±0,16	0,70±0,22	0	0	0
	0,4mg/l	11,59±0,23	2,29±0,22	0,33±0,23	0,33±0,12	0	0	0	0
FB	0,2mg/l	10,06±0,4	4,10±0,6	2,33±0,8	1,59±0,11	1,21±0,23	0	0	0
	0,4mg/l	10,68±0,5	3,65±0,11	1,72±0,21	0,35±0,23	0	0	0	0
FN	0,2mg/l	10,18±0,3	3,78±0,5	2,5±0,22	2,19±0,22	0,74±0,33	0	0	0
	0,4mg/l	12,17±0,2	0,66±0,21	0,66±0,25	0,33±0,34	0	0	0	0
HFB	0,2mg/l	14,66±0,5	6,87±0,22	6,64±0,19	0,39±0,23	0,79±0,22	0	0	0
	0,4mg/l	15,11±0,1	5,82±0,4	2,18±0,17	1,85±0,12	0	0	0	0
HFN	0,2mg/l	17,46±0,2	6,14±0,4	3,6±0,23	0,75±0,21	0,38	0	0	0
	0,4mg/l	19,02±0,3	3,91±0,5	0,74±	0,74±0,34	0	0	0	0

5.4 Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques des figues sèches noires (FSN) et figues sèches blanches (FSB) sont mentionnées dans le tableau suivant : Pour estimer le degré de contamination des échantillons, nous avons procédé au dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT), levures, moisissures, coliformes totaux, coliformes fécaux et Clostridium sulfito-réducteurs.

Tableau 5.18 : Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les extraits phénoliques.

Germes recherchés	Nombres de germes trouvés / gr							Norme*
	FN	FB	HFN	HFB	OH	OHN	OHB	
GAMT à 30°C	70	130	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	10 ²
Coliformes totaux à 30°C	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS
Coliformes fécaux à 44,5°C	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS
Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	-	-	ABS	ABS	-	-	-	ABS
Staphylococcus aureus à 37°C	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	10
Levures moisissures à 25°C	3	7	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS	10
Salmonella à 37°C	-	-	-	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS

Norme* : Journal Officiel de la République Algérienne. (J.O.R.A N° : 35 21 du 27 Mai 1998).

Les analyses microbiologiques effectuées sur les deux figues séchées, huile d'olive et les figues imprégnées à l'huile ont montré que ces fruits ne contiennent pas des coliformes fécaux et totaux, ni bactéries sulfito-réductrices, ainsi que les germes de *staphylococcus aureus* et les salmonella. Ces résultats montrent que les deux fruits sont conservés dans des bonnes conditions d'hygiène et ne représentent pas un milieu favorable au développement de ces micro-organismes.

Les germes témoins de contamination recherchés sont les coliformes totaux et fécaux et les Clostridium sulfite-réducteurs. Ces germes peuvent contaminer la figue et l'huile d'olive au cours des manipulations nécessaires au conditionnement, effectué dans de mauvaises conditions hygiéniques. Aucune poussée de Clostridium sulfite-réducteurs, coliformes totaux, coliformes fécaux, moisissures n'a été détectée dans les deux variétés de figues et même pour l'huile. L'effet antibactérien de la figue est dû à sa haute teneur en sucre et à la présence de substances antibactériennes spécifiques.

Cette bonne qualité bactériologique des figues et de l'huile d'olive doit être mise en relation avec ses propriétés. La figue constitue un milieu hostile à la multiplication bactérienne, il est acide, l'eau libre (non liée aux sucres) est réduite par la forte teneur en sucres réducteurs, le potentiel d'oxydo-réduction est bas et la pression osmotique élevée.

La croissance microbienne est liée à l'activité de l'eau. Si $A_w < 0,4$ la croissance microbienne s'arrête ainsi que les réactions enzymatiques et biochimiques ralentissent [16]. Selon [18] pour la plupart des microorganismes, l'optimum de croissance est réalisé pour $0,92 < A_w < 0,99$.

La stabilité microbienne est donc très grande dans les produits déshydratés ($A_w = 0,2-0,4$). La vitesse de développement des microorganismes diminue quand le pH diminue, dans ces conditions les bactéries sont les premières touchées, puis les levures et enfin les champignons [45]. Les germes de moisissures et levures trouvés dans les deux figues, ne présentent aucun effet dangereux en raison de leurs conformités aux normes établies dans le journal officiel de la république algérienne N° 35 pour les fruits séchés ; cette flore ne doit pas dépasser 10^3 germes / g ; alors que la présence des GAMT est tolérable par les normes du journal officiel jusqu'à un seuil de $3 \cdot 10^5$ germes / g.

La synergie entre le pH et la destruction thermique est connue et utilisée depuis longtemps. On sait bien que la thermorésistance des spores bactériennes disparaît en dessous de pH 4,5. Notons cependant qu'entre 5,0 et 8,0 l'action du pH

sur les thermorésistants n'est pas toujours très forte. Les interactions entre l' A_w et la thermorésistance sont plus complexes que la synergie précédente. Le soluté joue un rôle aussi important que l' A_w , et la diminution de l' A_w a une tendance à augmenter la thermorésistance des spores bactériens dans la zone 0,5-1, ce qui englobe largement les valeurs utilisées en industries alimentaires [11]

Les figues et l'huile d'olive ainsi traitées sont sur le plan microbiologique plus fragile que les produits entiers et doivent faire l'objet de soins hygiéniques particuliers et de rigueur dans les conditions et les temps de stockage si on ne veut pas voir augmenter leur charge microbienne (Bourgeois et *al.*, 1996).

Lors d'une diminution d' A_w , certains micro-organismes développent des stratégies d'adaptation consommatrices en énergie, ce qui ralentit leur croissance. Ces conditions sont donc favorables pour la conservation et la qualité sanitaire des produits déshydratés. Il ressort en fait, que les figues analysées et l'huile d'olive présentent une qualité microbiologique satisfaisante.

5.5 .Evaluation de l'activité antimicrobienne

Nous avons évalué l'activité antimicrobienne des extraits organiques par la méthode de diffusion en milieu solide, cette activité a été révélée sur cinq souches bactériennes de référence (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* *Bacillus subtilis* et *Streptococcus thermophilus*) et cinq souches fongiques (*Candida albicans*, *Aspergillus niger* , *Schigella* , *Botyris* , *Fusarium*),

Ensuite pour chaque disque, nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes. Les résultats du screening antimicrobien des extraits FN, FB, HFN, HFB, OH, OHN, OHB sont reportés dans les tableaux 5.19 :

Tableau 5.19. Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations des extraits

Les extraits méthaloniques	Diamètres des zones d'inhibition de croissance (mm)			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923			
	1	2	3	4
OH	12±0.33	11±0.22	10±0.34	8±0.25
OHN	22±0.24	14±0.41	12±0.35	10±0.12
OHB	-	-	-	-
FN	12±0.19	10±0.47	-	-
FB	-	-	-	-
HFN	34±0.17	28±0.36	-	-
HFB	36±0.26	34±0.5	32±0.27	30±0.33

* : Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques (diamètre du disque inclus). Les valeurs sont la moyenne de six répétitions.

(-) : pas d'inhibition

Tableau 5.20. Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec *Escherichia coli* différentes à différentes concentrations des extraits

Les extraits méthaloniques	Diamètres des zones d'inhibition de croissance (mm)			
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536			
	1	2	3	4
OH	12±0.33	10±0.32	8±0.31	-
OHN	22±0.11	20±0.22	12±0.12	-
OHB	-	-	-	-
FN	13±0.37	12±0.41	11±0.27	-
FB	-	-	-	-
HFN	34±0.09	28±0.24	-	-
HFB	24±0.21	20±0.32	16±0.14	12±0.26

Tableau 5.21 : Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec *Bacillus subtilis* à différentes à différentes concentrations des extraits

Les extraits	Diamètres des zones d'inhibition de croissance (mm)			
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633			
méthaloniques	1	2	3	4
OH	8±0.27	7±0.22	-	-
OHN	18±0.31	12±0.41	-	-
OHB	-	-	-	-
FN	14±0.41	12±0.34	7±0.42	-
FB	-	-	-	-
HFN	34±0.32	28±0.27	-	-
HFB	21±0.51	19±0.18	15±0.19	11±0.23

Tableau 5.22 : Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec *Streptococcus thermophilus* à différentes à différentes concentrations des extraits

Les extraits	Diamètres des zones d'inhibition de croissance (mm)			
	<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 3082			
méthaloniques	1	2	3	4
OH	15±0.21	12±0.14	11±0.17	8±0.22
OHN	14±0.34	13±0.16	12±0.18	-
OHB	12±0.41	-	-	-
FN	14±0.35	-	-	-
FB	14±0.16	12±0.15	10±0.19	8±0.25
HFN	26±0.12	21±0.16	-	-
HFB	8±0.13	-	-	-

Tableau 5.24 : Diamètres moyens des zones d'inhibition(en mm) obtenues avec *Pseudomonas aeruginosa* à différentes à différentes concentrations des extraits

Les extraits méthaloniques	Diamètres des zones d'inhibition de croissance (mm)			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853			
	1	2	3	4
OH	-	-	-	-
OHN	13±0.33	10±0.09	8±0.57	-
OHB				
FN	12±0.26	10±0.02	-	-
FB	-	-	-	-
HFN	21±0.27	18±0.48	15±0.63	11±0.45
HFB	-	-	-	-

Au regard de ces résultats, nous avons observé que les extraits phénoliques ont inhibé la croissance de toutes les souches bactériennes, ces extraits exercent une activité antibactérienne dose dépendante. La plus forte activité a été obtenue avec HFN avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 36.01 ± 0.21 mm (à la concentration de 1g/ml) (Figure 5.).

L'activité antibactérienne de HFN sur *souches bactérienne* pourrait s'expliquer par la présence probable des polyphénols et par la présence de différents constituants, notamment les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les terpènes. Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on peut citer :

- L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiens.
- La séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer.
- L'inhibition de métabolisme microbien [101].

Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont des puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN [111]. Une étude récente a montré l'effet bactéricide de certains flavonoïdes sur *S. aureus* [87].

La zone d'inhibition augmente considérablement avec la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi par [45]. Les auteurs ont révélé des zones d'inhibition de l'ordre de $(20.5 \pm 1.8 \text{ mm})$, $(12.8 \pm 0.5 \text{ mm})$, $(16.3 \pm 0.5 \text{ mm})$ respectivement pour les souches *Staphylococcus aureus* ATCC, *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC pour une dilution au 2% , ces zones sont augmentées de l'ordre de : $(21.8 \pm 0.9 \text{ mm})$, $(13.5 \pm 0.5 \text{ mm})$, $(19.3 \pm 0.5 \text{ mm})$ pour une dilution au 4%. La charge du disque influe l'activité antimicrobienne, Il ne faut pas oublier que le produit actif qui se présente dans la plante peut être : soit actif sans être métabolisé et aura ainsi une activité *in vitro* et *in vivo* ; soit actif après métabolisation et dans ce cas il sera inactif *in vitro* et actif *in vivo*.

Il a été rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne semblent vraisemblablement être les diterpénoïdes phénoliques, qui sont les composés principaux de la fraction apolaire des extraits des plantes [93], Ceci pourrait expliquer la modeste activité de nos extraits polaires. Néanmoins, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative [29]. En conclusion, la différence de l'activité anti-oxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques semble être directement liée à la diversité quantitative et/ou qualitative des composés qui sont présents dans ces extraits.

5.6 Activité antifongique

Aucune zone d'inhibition n'a été constatée autour des disques imprégnés des différents extraits. Les résultats de [44], ont démontré des zones d'inhibition de 15 à 14 mm de l'extrait éthanolique du respectivement vis-à-vis d'*Aspergillus niger* et *Candida albicans*. Ce qui indique que l'activité antifongique dépend aussi de plusieurs facteurs tels que le type du solvant utilisé pour l'extraction. A la lumière de ces résultats on peut dire que les extraits des deux plantes ne contiennent pas d'agent antifongique.

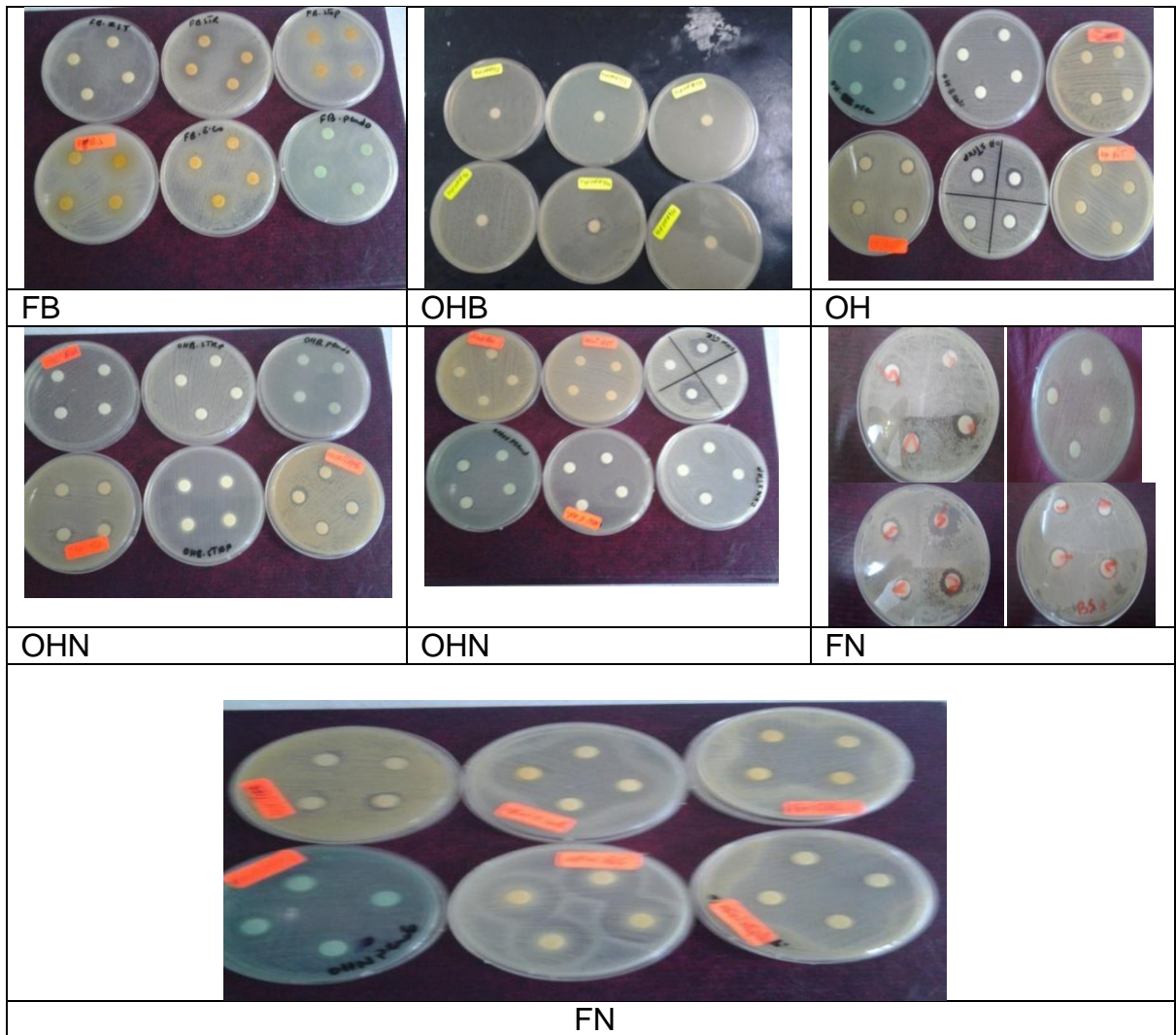


Figure 5.30 : Résultats de l'activité antimicrobienne

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ces dernières années, l'intérêt croissant de l'utilisation des antioxydants et des antimicrobiens naturels a incité de nombreux chercheurs à s'intéresser aux composés biologiquement actifs issus des matières végétales qui occupent de plus en plus une place importante dans le domaine thérapeutique. En effet, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit.

A cet effet, nous avons entrepris une étude sur deux variétés de figes séchées noires et blanches (Azendjar, taranimte) et sur l'huile d'olive vierge de la variété (chemlal) et l'effet de la macération de la fige dans l'huile d'olive. Nous avons tenté de contribuer à sa valorisation en Algérie en établissant une relation entre sa composition chimique et ses activités biologiques et relativement à leur teneur en métabolites primaires et secondaires (polyphénols).

L'analyse de la composition de figes séchées en métabolites primaires, révèle respectivement une richesse en sucres totaux, on a remarqué une légère diminution dans les deux variétés après le mélange, un taux de protéines estimé soit une légère augmentation après le mélange. La détermination de la teneur en fibres montre des valeurs importantes en l'occurrence ce pourcentage reste beaucoup plus important dans le mélange surtout avec la fige noire que le pourcentage de fibres avec la fige blanche. L'évaluation du taux de la matière grasse révèle une quantité. Les analyses physicochimiques des figes sèches montre une acidité de (0.11, 0.12, 0.22% et 0.19%) un pH de (5.01, 5.05, 4.90, 4.85 et 22.18) une Humidité (18.54, 22.29 et 18.23%) un poids de (12.56, 10.60, 11.96 et 13.80 g) une Longueur de (39, 37, 37.5 et 39.7 mm) et une largeur de (38, 36, 36.4 et 39.5 mm) des (FN, FB, HFB, HFN) respectivement.

Les analyses physicochimiques de l'huile d'olive révèle a mis en évidence une acidité de (1.43, 1.22 et 1.34%) pH de (4.95, 4.64 et 4.77) I. Peroxyde de (8.01,

8.35, 8.5) I. Réfraction de (1.468) I. Saponification de (184.46, 184.57, 184.50) I.I de (76.42, 78.80, 77.96) K272 de (0.20, 0.16, 0.18) K233 de (2.53, 2.21, 2.36) H% de (0.11, 0.08 , 0.08%) des (OH,OHN,OHB) respectivement. Les rendements en extraits méthaloniques réalisés ont été estimés à 86.32% pour OHN suivi par OHB et OH avec un taux de (82.65 et 80.23%) respectivement et 38.9% pour la variété de figue noire imprégnées dans l'huile d'olive HFN supérieure à celui de la variété de figue blanche imprégnées dans l'huile d'olive HFB 34.86% , en fin le faible taux a été enregistré pour FN et FB 29.93 et 28.16% respectivement. Cela peut être attribué au type d'extraction et à la variété et les conditions climatiques.

L'analyse de la composition des extraits méthaloniques en métabolites secondaires, révèle une richesse en polyphénols totaux (710.22, 398.86, 275 , 318.86, 346.59, 321.13 , 607.95 mg/g de MS) des flavonoïdes avec un totaux (3.8 , 2.54, 2.79 56.45, 53.45, 48.23, 5.,27 mg/g de MS) et des tanins condensés (173.9, 134.91, 189.34, 141,69, 49.19, 53.9, 47.94 mg/g de MS) des (OH,OHN,OHB,HFN,HFB,FN,FB) successivement respectivement. La diversité de ces métabolites et leur présence au niveau des deux composés justifie leurs effets thérapeutiques. L'analyse qualitative des extraits par HPLC a révélé la présence probable dans les extraits de la quercétine et la rutine , ces molécules sont considérées comme le composé antioxydant le plus actif de la famille des flavonoïdes et des phénols . Le test de piégeage du radical DPPH a montré une forte capacité inhibitrice des extraits méthaloniques par rapport à celle du BHT et l'acide ascorbique liée à sa forte teneur en polyphénols :

- Aux concentrations utilisées (2,5, 10,20 mg/l), l'extrait de HFN présente une activité antiradicalaire plus importante par rapport à celle des autres extraits.
- L'inhibition du radical DPPH exprimé en concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres (IC₅₀) indique d'une part que les extraits faible en comparant à celle du BHT (IC₅₀=28,01mg/l). Les extraits méthaloniques ont le pouvoir de piégeage le plus élevé (IC₅₀ le plus faible).
- En ce qui concerne le pouvoir réducteur des extraits étudiés, nous constatons qu'aux différentes concentrations, l'extrait de l'acide ascorbique possède un

pouvoir réducteur plus élevé et suivi par HFN. Les résultats des tests pharmacologiques des extraits méthaloniques ont mis en évidence une activité anti-inflammatoire nettement remarquable des extraits analysés à la dose 0.4g/ml signalée chez les souris traitées par une solution de carraghénine à 1%. L'activité antimicrobienne a été évaluée sur cinq (5) souches bactériennes et cinq (5) souches fongiques, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats biologiques obtenus tout au long de ce test ont montré que : les extraits méthaloniques ont présenté une activité antibactérienne contre un certain nombre de bactéries et l'extrait de HFN s'est révélé le plus actif avec une zone d'inhibition de croissance de 36.01mm à la concentration de 1g/ml. Tous les extraits organiques n'ont exercé aucune activité antifongique sur les souches fongiques. On peut déduire que nos extraits sont actifs sur les souches bactériennes testées.

Les figues sèches et l'huile d'olive (avant la macération :FN,FB,OH) peuvent être riches en un ou plusieurs composés comme elles peuvent être pauvres en d'autres et vice-versa et présentaient des caractéristiques typiques d'une huile vierge et des figues sèches de bons qualités ainsi qu'une bonne qualité microbiologique., mais les secondes (après la macération HFN, HFB, OHN, OHB) Les paramètres étudiés auparavant ont subi plusieurs changements conséquents après la macération et les résultats obtenus révèlent qu'ils sont plus riches en principes actifs et cela s'explique par les activités biologiques étudiées. D'après nos résultats préliminaires Les extraits phénoliques de HFN, HFB, OHN et OHB (après la macération) sont plus riches en métabolites secondaires par apport aux extraits phénoliques de FN, FB, OH (avant la macération) et la figue de couleur noir est plus active que la figue de couleur blanche donc le mélange de figue sèche et l'huile d'olive étant très riches en métabolites secondaires , donc l'exploitation de ses diverses propriétés implique une recherche plus poussée sur ses principes actifs. L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* et *in vivo* ne constituent qu'une contribution à la recherche des substances de source naturelle à intérêt technologique et munies de propriétés biologiques de la partie comestible des fruits *Ficus caricas* et *olea euopea*

APPENDICE A

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius.

°D : Degré Dornic.

µg : Microgramme

Abs : absorbance

Ac : Acide.

AFNOR : la norme de l'Association Française de Normalisation

AG : acide gallique,

AGPI: acide gras polyinsaturé,

ATCC : American Type Culture Collection.

Aw : Activité d'eau

BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol.

C G : Cytosine et Guanine.

Ca⁺⁺ : Calcium.

CF : Coliforme fécaux.

CLHP: chromatographie liquide à haute performance,

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CRS: Clostridium sulfito-reducteurs.

CT : Coliformes totaux.

Cu: Cuivre,

DO : Densité optique

DO: degrés d'oxydation,

DPPH : Diphenylpicrylhydrazine

DPPH⁺ : 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

EOR : espèces oxygénées réactives

FAM : Flore aérobies mésophiles.

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

FB: Figues blanches

Fe: fer,

FeCl₃: Chlorure féérique

FN: Figues noires

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power

g : Gramme

g/l : Gramme par litre.

H (%) : Taux d'humidité exprimé en pourcentage

h : Heure

H₂O₂ : hydroperoxyde d'hydrogène, L: ligand,

HCl : Acide chlorhydrique

HFB: Huile d'olive mélange avec les figues blanches

HFN: Huile d'olive mélange avec les figues noires

I% : Pourcentage d'inhibition

IC₅₀: Concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale

ISO : International Standard Organisation.

J.O.R.A : Journal Officiel de la République Algériennes.

Kcal : Kilocalories

KJ : Kilojoule.

L : Litre.

L+M : Levures et moisissures.

LDL: low density lipoprotein, MO: micro-ondes

m : Mètre

mg : Milligramme.

Mg: Magnesium.

ml : Millilitre.

mn : Minute.

NAD : Nicotinamide adénine dinucleotide.

ND : Non dénombrable.

nm : Nanomètre

NPP : Nombre le plus probable.

OH: Huile d'olive

OHB: Huile d'olive restante après le mélange avec les figues blanches

OHN: Huile d'olive restante après le mélange avec les figues noires

OMS : Organisation mondiale de la Santé

PFE : Projet Fin d'Etude

PI: potentiel d'inhibition

ppm : Partie par million.

PPO: polyphénols oxydase

R• : Radical libre

RH : Antioxydant

Sa : Staphylococcus aureus.

Sal : Salmonella.

TH: Titre hydrométrique.

USDB : Université Saad Dahleb Blida

UV : Ultraviolet

VBL : Bouillon lactose bilié au vert brillant.

VF : Gélose viande foie.

APPENDICE D

Les gammes et les courbe d'étalonnages pour le dosage des composés phénoliques

Tableau D.1: gamme d'étalon de l'acide gallique

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Concentration finale de l'acide gallique en mg/ml	0	0.01	0.02	0.05	0.08	0.10	0.13	0.15	0.17
Do à 760 nm de l'acide gallique	0.388	0.758	1.111	1.214	1.217	1.326	1.660	1.671	2.318

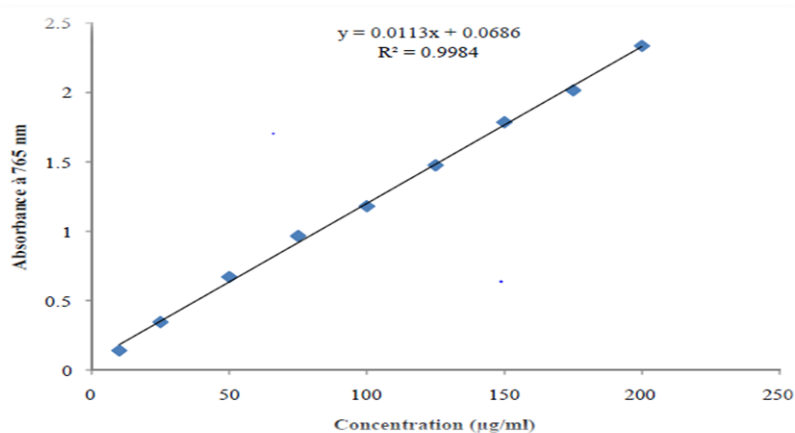


Figure D.1 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau D.2 : gamme d'étalon de la quercétine

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Concentration finale de quercétine en µg/ml	2.5	5.0	10	15	20	25	30	35	40
Do à 760 nm de la quercétine	0.099	0.118	0.120	0.160	0.175	0.215	0.468	0.876	1.825

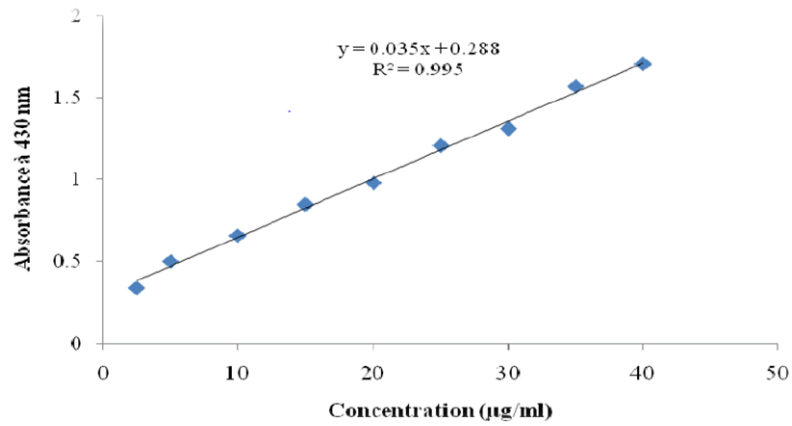


Figure D.2: Courbe d'étalonnage de la quercétine

Tableau D.3 : La gamme d'étalon de l'acide tannique

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Concentration finale de l'acide tannique en mg/ml	0	0.01	0.02	0.05	0.08	0.10	0.13	0.15	0.17
Do à 760 nm de l'acide tannique	0.916	0.131	0.140	0.156	0.183	0.276	0.489	0.692	1.214

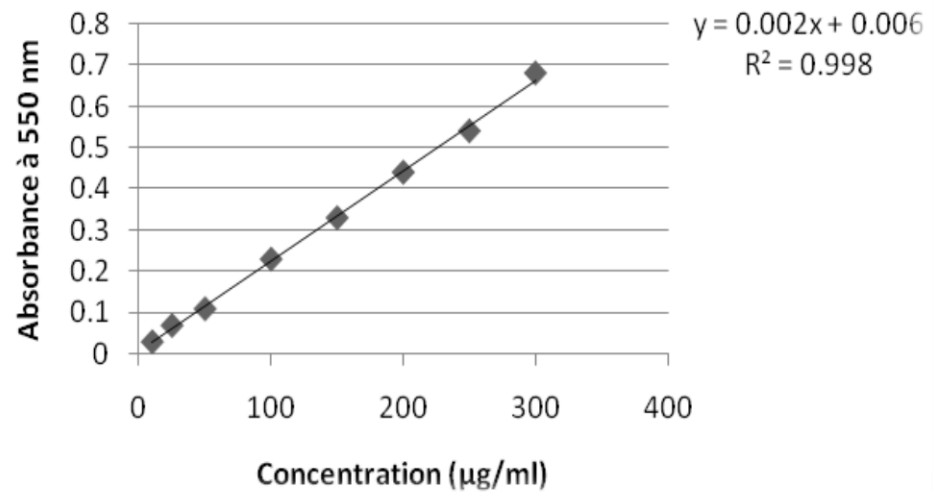


Figure D.3 : courbe d'étalonnage de l'acide tannique

APPENDICE E

La gammes et courbe d'étalonnages pour le dosage des sucres totaux

Tableau E.1 : la gamme d'étalon du glucose monohydrate

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	8
Glu 1H ₂ O µg/ml	0	8	16	24	40	48	56	64
Volume du phénol à 5% ml	1	1	1	1	1	1	1	1
Volume de H ₂ SO ₄ à 98% ml	5	5	5	5	5	5	5	5
Do à 490 nm de glu 1H ₂ O	0.340	0.110	0.185	0.250	0.485	0.555	0.650	0.750

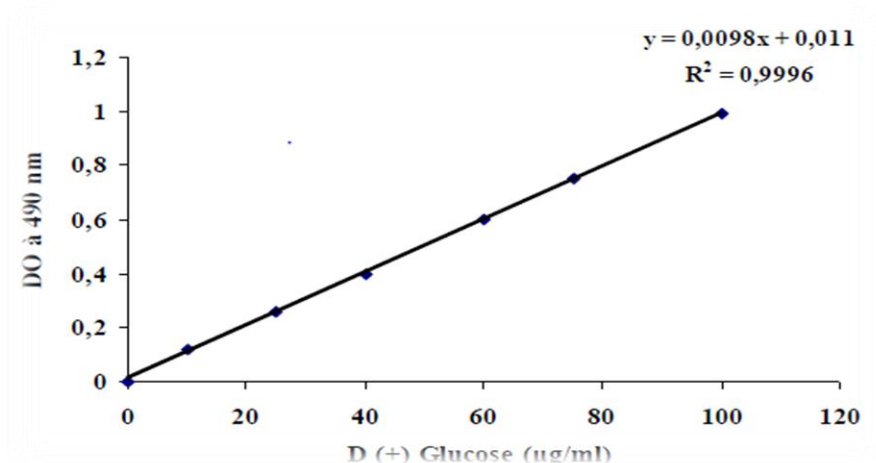


Figure E.1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux.

APPENDICE F

La gammes et courbe d'étalonnages pour le dosage des protéines

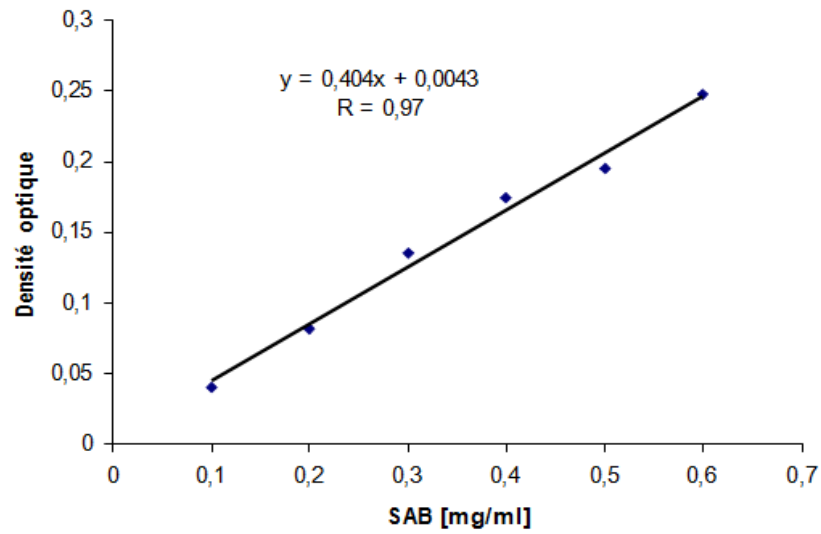


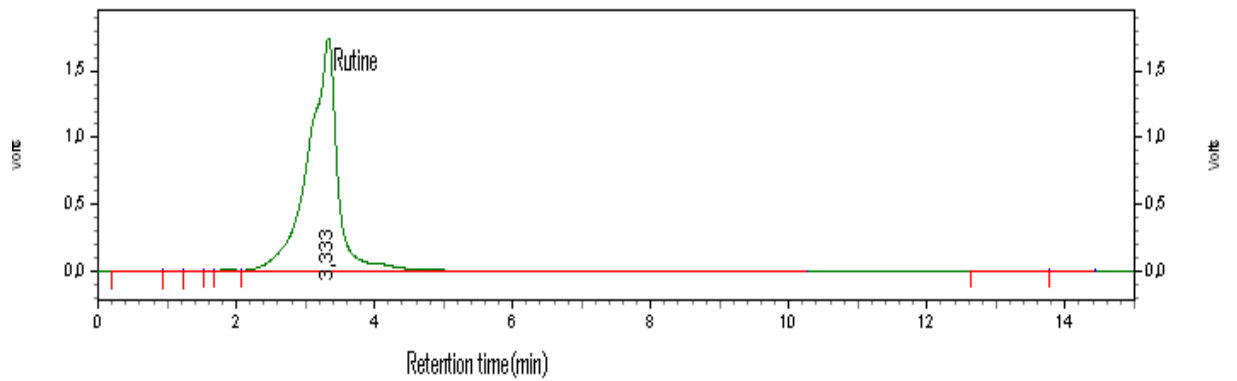
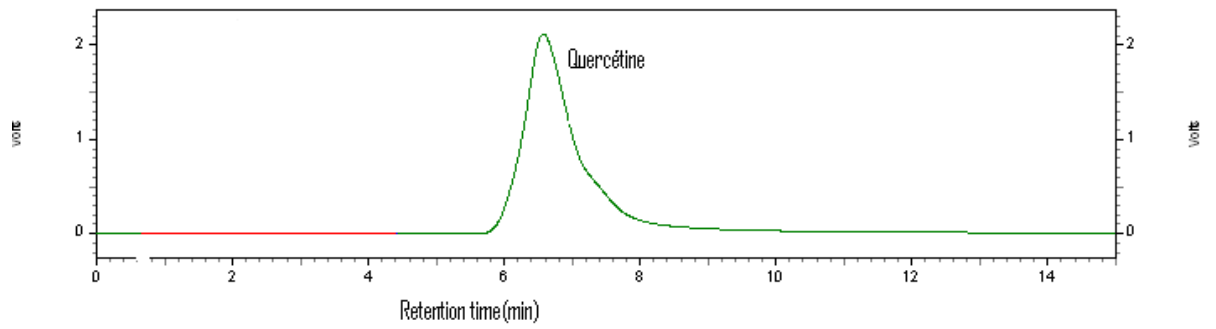
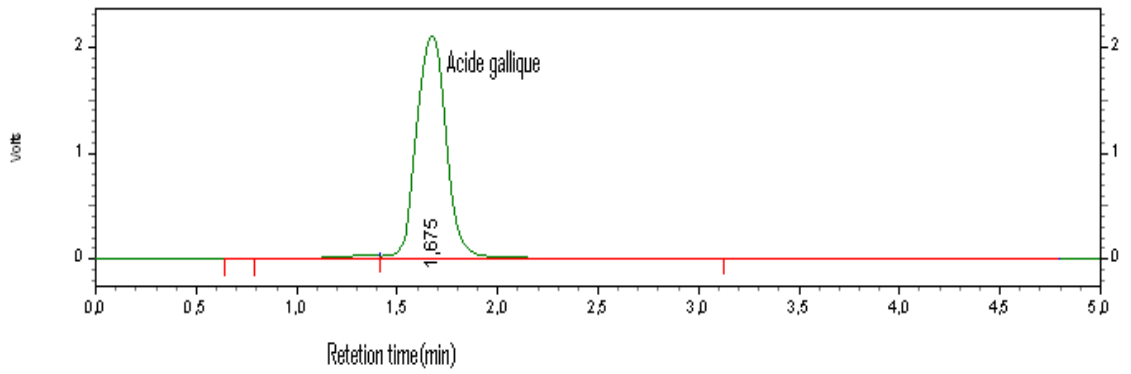
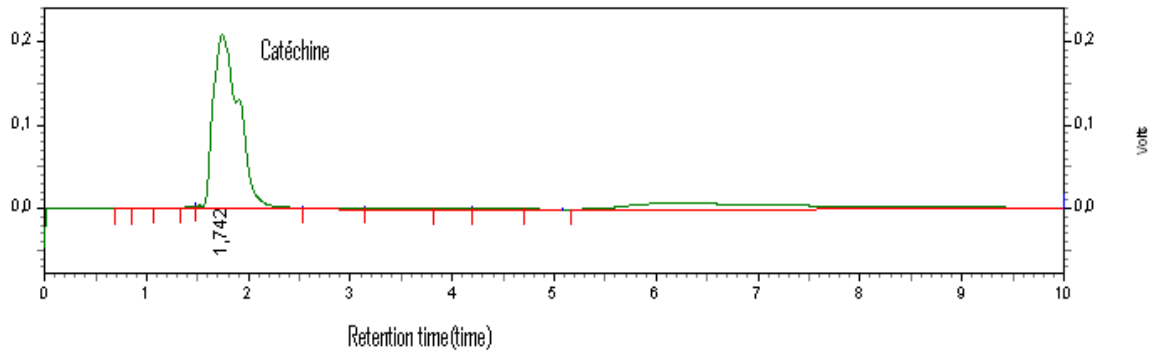
Figure F.1 : Courbe étalon du dosage des protéines (sérum albumine bovine)

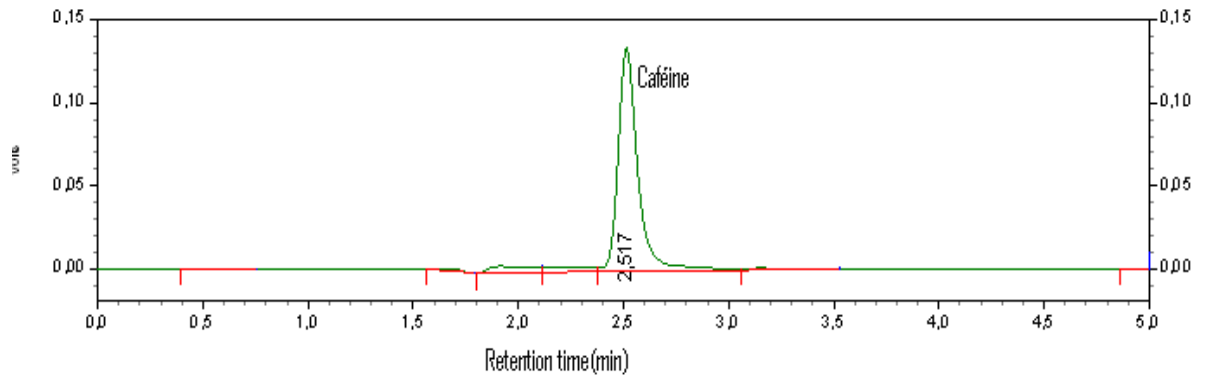
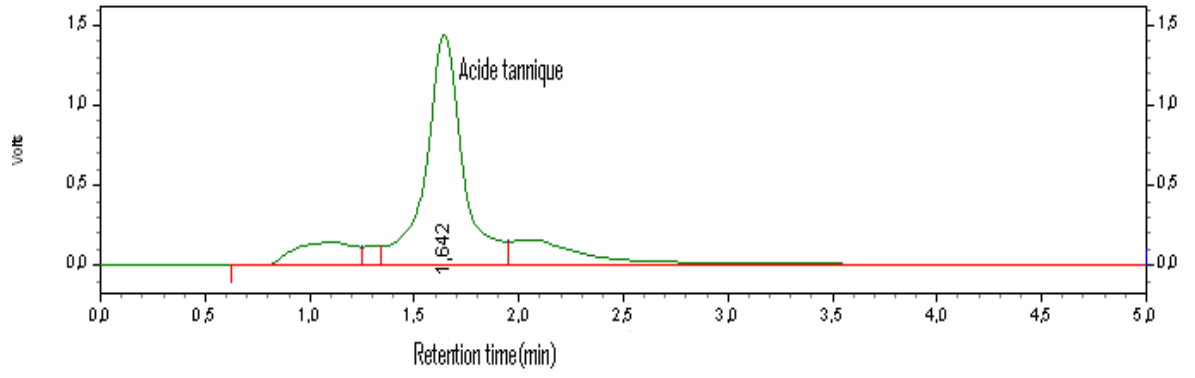
Tableau F.1: préparation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines.

Quantité BSA (μg)	0	4	8	12	16	20
Volume de folin (ml)	2	2	2	2	2	2
DO à 595nm	0	0.126	0.194	0.238	0.3	0.367

APPENDICE G

Chromatogrammes des standards





Appendice H

Appareillage Verrerie et accessoires

Appareillage

Appareil de Soxhlet
 Bain marie.
 CPG
 Chauffe-ballons.
 Chauffe-ballons.
 Dessiccateur
 Balance à précision
 Dessiccateur : garni d'un agent desséchant efficace.
 Etuve
 Etuve ventilée : réglée à 103 ± 2 °C.

 Broyeur électrique.
 Four à moufle.
 Centrifugeuse
 Homogénéiseur Ultra turrax.
 La hotte.
 Rota vapeur.
 Chromatographie liquide à haute performance (H.P.L.C).
 Agitateur magnétique.
 Incubateur à 25°C. et à 35°C
 pH mètre.
 Agitateur Vortex.
 Bain-marie à système à reflux.
 Bec bunsen
 Centrifugeuse.
 Réfrigérant à reflux.
 Spectrophotomètre UV /vis.

Verrerie et accessoires

Ampoule à décanter.
 Anse à boucle
 Anse de platine
 Ballon de 250 ml
 Béchers.
 Boîtes de pétrie.
 Burette : de 50 ml.
 Cartouches en papier filtre.
 Creusets en porcelaine.
 Disque en papier.
 Entonnoir : muni d'un papier filtre plissé.
 Erlen Meyer de 250 et 500 ml
 Fioles jaugé de 100 et 200 ml
 Fioles.
 Gants.
 Milieux de culture.
 Papiers filtres.
 Pince de laboratoire.
 Pipettes de 0.1, de 10 et de 25 ml
 Pipettes pasteur
 Seringue de 1ml.
 Seringue de 5ml.
 Spatule.
 Tamis.
 Tubes à essais.