

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

École Nationale Polytechnique

Département de Génie Chimique



PROJET DE FIN D'ETUDES

Pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'État en Génie Chimique

Intitulé

**Extraction et Valorisation des Polyphénols
du Grignon d'Olive**

Proposé et dirigé par :

Mme R.DERRICHE

Présenté par :

BOUALILI Nadia

SAIDI Rachid

PROMOTION JUIN 2009

استخلاص و تقييم دبأغ عظم الزيتون

ملخص

يندرج هذا العمل في تقييم عظم الزيتون الخام, و ذلك بالبحث عن الشروط العملية المثلى لاستخلاص مادة الدبأغ الموجودة فيه باستعمال المخطط ألعاملي للتأارب.

ثم قمنا بتعيين نموذج رياضي للمردود بدلالة الشروط العملية و هذا باستعمال نموذج العقل الرياضي (Stat Graphics)

وأخيرا قيمنا هذه المادة المستخلصة بالبحث عن مدى مقاومتها للأكسدة في ثلاث زيوت نباتية و ذلك بقياس مؤشر الحموضة و البيروكسيد.

الكلمات المفتاحية عظم الزيتون. الدبأغ. استخلاص. تقييم

Extraction et valorisation des polyphénols du grignon d'olive.

Résumé

L'objet de ce travail consiste à rechercher les conditions opératoires favorables pour l'extraction des polyphénols du grignon d'olive en adoptant la planification factorielle des expériences. Les polyphénols ont été extraits à fin d'être valorisés en tant qu'antioxydants naturels dans trois huiles végétales en les comparant avec l'acide tannique.

Mots clés : Grignon d'olive, Polyphénols, Antioxydants, Extraction, Valorisation.

Extraction and valorization of the polyphenols from crude olive cake.

Abstract

The aim of this work is to study the effect of certain operative parameters on the polyphenols's extraction for a crude olive cake while adopting the factorial design of experiments . The polyphenols has been extracted in order to valorize them as natural antioxidants in three vegetable oils which are compared with tannic acid.

Key words: Crude olive cake, Polyphenols, Antioxidants, Extraction, Valorization.

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre des activités de l'équipe « valorisation des espèces végétales » dirigé par Monsieur le professeur C.E CHITOUR,

Nous tenons à témoigner notre profonde reconnaissance à madame R.DERRICHE, Professeur à l'ENP, pour nous avoir confiés ce sujet ; mais aussi pour les encouragements, conseils précieux, et les orientations qu'elle nous a prodigués ; et surtout pour la totale confiance qu'elle nous a accordée. Sans lesquels ce travail n'aurait pas pu aboutir.

Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Madame A. MEFTI Docteur à l'ENP, de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.

Ainsi Qu'a Madame F.MOUHELLEBI Docteur à l'ENP,

Monsieur T. AHMED- ZAID Professeur à l'ENP,

Trouvez l'expression de nos vifs remerciements pour avoir accepté d'être membre de notre jury.

Et en fin nous tenons vivement à remercier tous nos ami(e)s, chacun à son nom.

Dédicaces

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

*A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les
plus durs*

A mes très chers parents que j'aime beaucoup

A mes très chers frères et sœurs

A mon très cher Boussad

A tous ceux qui me sont chers ;

Je dédie ce modeste travail,

Nadia BOUALILI

Dédicaces

A mes parents qui m'ont donné le jour et m'ont apporté le soutien financier et moral si nécessaires à mes études ; à mes frères et sœurs qui sont un prolongement de ma personnalité; à mes amis, qui par leur affection exemplaire et leurs conseils ont aplani devant moi les difficultés de la vie et des études; à tous ceux qui, mus par l'humanisme et l'amour du savoir, ont consacré leur vie à éloigner le spectre terrible de l'ignorance, pour faciliter la vie de l'homme, guérir ses maux ou du moins les soulager ; je dédie humblement mon travail.

Notre devise est celle de BALZAC ; « j'ai mis ma vie non dans le cœur qui se brise, ni dans les sens qui s'émeussent, mais dans le cerveau qui ne s'use pas et survit à tout. Vouloir nous brûle, pouvoir nous détruit, mais savoir laisse notre faible organisation dans un perpétuel état de calme ».

Je dédie ce modeste travail,

Rachid SAIDI

| | |
|-----------------------------------|----------|
| Sommaire | |
| Liste des tableaux | i |
| Liste des figures | ii |
| Annexes | iii |
| Introduction générale..... | 1 |

Chapitre I : La matière végétale : le Grignon d'Olive

| | |
|---|----------|
| I. Introduction..... | 2 |
| I.I Définition..... | 2 |
| III. Caractéristiques physiques | 3 |
| IV. Caractéristique chimiques | 3 |
| IV.1 Composition chimique des grignons | 3 |
| V. La valorisation du grignon d'olive | 5 |

Chapitre II: Les polyphénols végétaux

| | |
|---|-----------|
| I. Introduction | 6 |
| II. Les principales sources des tanins | 6 |
| II.1 Produits alimentaires..... | 6 |
| II.2 Végétaux..... | 8 |
| III. Structure et classification des tanins..... | 8 |
| III.1. Tanins hydrolysables ou galliques | 8 |
| III.1.1 Les ellagi-tanins ou tanins ellagiques..... | 9 |
| III.1.2 Les gallo-tanins ou les tanins galliques..... | 9 |
| III.2 Tanins condensés | 9 |
| IV. Propriétés des tanins | 9 |
| IV.1 Propriétés physico-chimique | 9 |
| IV.2 Caractéristiques physiques des tanins | 10 |
| IV.3 Caractérisation des tanins..... | 11 |
| V. Analyse chimique des tanins | 11 |
| V.1 Analyse colorimétrique | 12 |
| V.2 Analyse Gravimétrique..... | 13 |
| V.3 Analyse Gravimétrique..... | 14 |
| V.4 Analyse Mélangé..... | 14 |
| VI. Extraction des tanins et purification..... | 15 |
| VII. Différentes utilisations des tanins | 15 |
| VIII. Les antioxydants | 17 |
| VIII.1 Définitions | 17 |
| VIII.2 Antioxydants naturels | 18 |
| VIII.3 Mesure de l'état d'oxydation et du pouvoir antioxydant..... | 19 |
| VIII.4 Capacité antioxydante de quelques fruits et légumes..... | 20 |
| IX. La valorisation des polyphénols dans les huiles végétales..... | 21 |

Chapitre III :Extraction des polyphénols

| | |
|--|----|
| I. Introduction..... | 22 |
| II. Les procédés d'extractions solide-liquide | 22 |
| III. Technologies des extracteurs solide-liquide | 23 |
| III.1 Extracteur à lit fixe ou immobile..... | 23 |
| III.2 Extracteur à lit mobile | 23 |
| III.3 Extracteurs à immersion..... | 23 |
| III.4 Extracteurs à agitation à charges dispersées ou en suspension..... | 24 |
| IV. Mécanisme de l'extraction par solvants..... | 24 |
| V.Facteurs intervenant dans l'extraction solide-liquide..... | 25 |
| V.1 La température | 25 |
| V.2 L'agitation du fluide..... | 25 |
| V.3 Le taux de l'humidité | 25 |
| V.4 La nature du solvant | 25 |
| V.5 La durée d'extraction..... | 25 |
| V.6 Nature et état du solide et du soluté..... | 25 |
| VI. L'extraction des tanins | 2 |
| VII. Procèdes d'extraction du tanin | 25 |
| VIII. Facteurs Intervenants dans l'extraction des tanins..... | 25 |
| VIII.1 L'effet de la température | 25 |
| VIII.2.L'effet de l'agitation | 25 |
| VIII.3 La nature de solvant | 43 |
| VIII.4 La durée de l'extraction | 43 |
| IX. Différents travaux effectués sur l'extraction des tanins..... | 43 |

Chapitre IV: Extraction des polyphénols

| | |
|---|----|
| I. Introduction..... | 32 |
| II. Le protocole expérimental | 32 |
| III. Dosage des tanins | 35 |
| III.1 La courbe d'étalonnage..... | 35 |
| IV.Protocole expérimentale pour la mesure de la concentration des tanins..... | 35 |
| V. Calcul du rendement en tanin | 35 |
| VI. Essais préliminaires | 36 |
| VI.1 Choix du solvant..... | 36 |
| VII. Application du plan factoriel..... | 38 |
| VII.1 Analyse des résultats par le logiciel STAT GRAPHICS..... | 39 |
| VII.1.1 Validité du modèle..... | 39 |
| VIII. Détermination de l'optimum | 41 |
| IX. Etude de la cinétique de l'extraction..... | 43 |
| X. Conclusion..... | 45 |

Chapitre V: Valorisation des polyphénols

| | |
|--|-----------|
| I. Introduction | 46 |
| II. Caractéristiques des huiles utilisées | 46 |
| III. Analyse des huiles | 46 |
| III.1 Evolution de l'indice de peroxyde | 47 |
| III.1.1 Discussion des résultats obtenus..... | 50 |
| III.2 Evolution de l'indice d'acidité | 51 |
| III.2.1 Discussion des résultats obtenus..... | 53 |
| IV. Conclusion | 54 |
| Conclusion générale | 55 |

Liste des figures

Figure IV.1: Dispositif de l'extraction des tanins

Figure IV.2 : la courbe d'étalonnage

Figure IV.3 : erreur relative des différents essais

Figure IV.7 : effets standardisés

Figure IV.4 : évolution au cours du temps du rendement des polyphénols extrait du grignon d'olive à $T= 45^{\circ}\text{C}$

Figure IV.5: évolution au cours du temps du rendement en polyphénols extrait du grignon d'olive à $T=50^{\circ}\text{C}$

Figure IV.6: évolution au cours du temps du rendement en polyphénols extrait du grignon d'olive à $T= 55^{\circ}\text{C}$

Figure V.1 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile A durant le stockage à 98°C

Figure V.2 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile B durant le stockage à 98°C

Figure V.4 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile A durant le stockage à 98°C

Figure V.3 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile C durant le stockage à 98°C

Figure V.5 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile B durant le stockage à 98°C

Figure V.6 : : évolution de l'indice d'acidité de l'huile C durant le stockage à 98°C

Liste des tableaux

Tableau I.1: Composition chimique indicative des différents types de grignons

Tableau I.2 : Caractéristiques des grignons bruts issus de divers procédés d'extraction de l'huile

Tableau I.3 : Caractéristiques du grignon d'olive

Tableau II.1 : Teneur en tanins de divers produits alimentaires.

Tableau II.2 : Teneur en tanins de certaines espèces végétales

Tableau II.3 : activité anti-cancérogène des tanins

Tableau II.4 : les types d'antioxydants et leurs caractéristiques

Tableau II.5: la capacité antioxydante et la teneur globale en composés phénoliques de quelques fruits et légumes

Tableau III.1 : Température d'extraction en °C des différents matériaux tannants

Tableau III. 2 : propriétés physico-chimiques des solvants utilisés

Tableau III.3 : principaux travaux effectués sur l'extraction des tanins

Tableau IV.1 : effet des solvants sur le rendement des tanins

Tableau IV.2 : résultats obtenus avec les conditions opératoires de LOUCIF

Tableau IV.3 : essais préliminaires

Tableau IV.4 :paramètres opératoires ; niveau inférieurs et supérieurs du plan factoriel

Tableau IV.5 :conditions opératoires du plan factoriel

Tableau IV.6 : valeurs du rendements expérimentales et calculées à partir du modèle

Tableau IV.7: évolution du rendement de l'extraction des polyphénols en fonction du temps à différents conditions opératoires

Tableau IV.8 :résultat de l'extraction des polyphénols à un pH=3

Tableau V.1 : Caractéristiques des huiles utilisées

Tableau V.2 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile A durant le stockage à 98°C.

Tableau V.3 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile B durant le stockage à 98°C

Tableau V.4 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile C durant le stockage à 98°C

Tableau V.5 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile A durant le stockage à 98°C

Tableau V.6 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile B durant le stockage à 98°C

Tableau V.7 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile C durant le stockage à 98°C

Arbre mythique, symbole de paix et de pérennité, l'olivier s'inscrit comme une espèce privilégiée dans le paysage méditerranéen.

L'oléiculture représente une des plus anciennes activités agricoles dans le bassin méditerranéen, Pour ces pays, la production d'huile d'olive est une fortune économique transmise sur plusieurs générations.

Toutefois, elle présente l'inconvénient de générer d'énormes quantités de grignon d'olive et margines dont la fraction organique complexe et la demande chimique élevée en oxygène les rendent un déchet industriel gravement polluant. [1]

La valorisation des sous-produits de l'olivier est donc indispensable, c'est dans ce contexte que notre travail s'intègre, la valorisation du grignon d'olive.

Le présent mémoire a pour objectif l'extraction des polyphénols du grignon d'olive et de les valoriser par la suite comme antioxydants naturels dans différentes huiles végétales.

Les polyphénols ont montré des propriétés antimicrobiennes et anti-cancérigènes. [2] Plus particulièrement, ces polyphénols sont identifiés comme des antioxydants naturels de la famille des antioxydants phénoliques largement utilisés en agroalimentaire. [3]

Ce manuscrit comporte cinq chapitres, les trois premiers chapitres permettent de présenter le grignon d'olive, les polyphénols, les antioxydants et l'extraction.

Le quatrième chapitre concerne l'extraction des polyphénols, on y recherche les conditions opératoires optimales.

Le cinquième chapitre est consacré à la valorisation de ces polyphénols dans trois huiles végétales comme antioxydants. On mesure l'indice de peroxyde et l'indice d'acide des différentes huiles pour deux concentrations en polyphénols.

I. Introduction

L'industrie oléicole, en plus de sa production principale qui est l'huile (huile d'olive vierge et huile de grignons) laisse deux résidus l'un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons). De plus, En adoptant la moyenne de 35% de grignons bruts (avec une humidité de 25-27 %) qui, après épuisement (extraction de l'huile résiduelle) par solvant donnent 25-26 kg de grignon épuisé (avec une humidité de 15 %) constitués de plus 13 à 14 kg de coque et de plus 12 à 13 kg de pulpe (avec une humidité de 5 à 8 %). [4]

Par rapport aux olives traitées, d'après [4], la production mondiale de grignons bruts est environ de 2,9 millions de tonnes sachant qu'en moyenne 100 kg d'olives traitées engendrent 100 litres de margines, la production mondiale de margine serait de 8,4 millions de mètres cubes.

La valorisation de ces résidus est devenue une nécessité pour éviter une pollution de plus en plus sérieuse. Les champs d'application des sous-produits de l'olivier sont nombreux et variés.

Les possibilités suivantes peuvent être évoquées:

- Utilisation des grignons comme matières premières pour l'extraction des antioxydants, ou après épuisement et séparation de la coque comme aliments pour le bétail.
- Utilisation de la coque et des grignons impropres comme combustible ou pour d'autres fins.
- Utilisation des margines comme fertilisant, ou après des traitements d'épuration appropriés, comme matières premières pour l'industrie. La production du biogaz, de protéines unicellulaires et voire même d'antioxydants. [4]

II. Définition

Le grignon d'olive est un sous produit résultant de l'extraction de l'huile à partir des olives entières broyées. Il est constitué par un agrégat de pulpes, de pellicules du fruit, de coques, de noyaux fragmentés et de l'amandon. [5]

III. Caractéristiques physiques

Les grignons bruts renferment la coque du noyau réduite en morceaux, la peau et la pulpe broyée de l'olive, environ 25% d'eau et encore une certaine quantité d'huile environ 9,1%.

Les grignons épuisés diffèrent essentiellement par une plus faible teneur en huile et une teneur en eau réduite du fait qu'ils ont été déshydratés au cours du processus de l'extraction.

Les grignons épuisés partiellement dénoyautés sont constitués essentiellement par la pulpe (mésocarpe) et contiennent encore une petite proportion de coques qui ne peuvent être séparées complètement par les procédés de tamisage ou de ventilation utilisés. [6]

IV. Caractéristique chimiques

IV.1. Composition chimique des grignons

La composition chimique du grignon d'olive varie dans de très larges proportions, non seulement d'un produit à un autre mais également d'un échantillon à l'autre pour un même sous produit. Elle dépend des facteurs inhérents au fruit (variété, stade de maturité, au procédé de l'extraction de l'huile et aussi de l'épuisement par solvant). [5]

Les procédés technologiques modifient les proportions relatives des différents composants des grignons (épicarpe, mésocarpe, endocarpe et amandon) qui ont des compositions chimiques différentes.

Depuis longtemps on a cru que la valeur nutritive limitée des grignons serait due à la présence des substances phénoliques. Les dosages ont montré que ces teneurs ne dépassent guère le 1% de la MS (matière sèche). [4] Les polyphénols de l'olive sont éliminés dans les margines qui sont caractérisées par leur forte coloration (forte concentration en polyphénols : 4 à 12 g/l). [7] Ceci est consolidé par le fait que les grignons contiennent peu de produits de nature phénolique alors que les margines et l'huile en contiennent des quantités appréciables. [4]

D'après (Dr Ahmed TRIGUI, 2008), le grignon d'olive peut contenir jusqu'à 2.5% de polyphénols comme le montre le tableau II.2 [8]

Contrairement aux autres tourteaux oléagineux les grignons bruts sont pauvres en matières azotées et riches en cellulose brute. Ils restent relativement riches en matières grasses. L'épuisement par les solvants diminue la teneur en matières grasses et augmente relativement les autres teneurs. Le dénoyautage partiel par tamisage ou ventilation réduit les teneurs en cellulose brute. Les pulpes, du fait de la séparation totale du noyau avant pression, ont la valeur la plus faible en cellulose brute. [6]

Tableau I.1: Composition chimique indicative des différents types de grignons: [6]

| Type | Matière Sèche | % de la Matière Sèche | | | |
|----------------------------|---------------|-----------------------|------------------|-----------------|------------------|
| | | Matières minérales | Mat. Az. Totales | Cellulose brute | Matières Grasses |
| Grignon brut | 75–80 | 3–5 | 5–10 | 35–50 | 8–15 |
| Gr. gras part. dénoyauté | 80–95 | 6–7 | 9–12 | 20–30 | 15–30 |
| Grignon épuisé | 85–90 | 7–10 | 8–10 | 35–40 | 4–6 |
| Gr. épuisé part. dénoyauté | 85–90 | 6–8 | 9–14 | 15–35 | 4–6 |
| Pulpe grasse | 35–40 | 5–8 | 9–13 | 16–25 | 26–33 |

Tableau I.2 : Caractéristiques des grignons bruts issus de divers procédés d'extraction de l'huile [8]

| Paramètres | Extraction par | Système continu a | |
|------------------------|----------------|-------------------|----------|
| | Pressage | 3-Phases | 2-Phases |
| Humidité en % | 27.2 | 50.23 | 56.8 |
| huile % | 8.72 | 3.89 | 4.65 |
| composés Phénoliques % | 1.14 | 0.326 | 2.43 |
| Protéines % | 4.77 | 3.43 | 2.87 |
| Sucres totaux % | 1.38 | 0.99 | 0.83 |
| Cellulose % | 24.1 | 17.37 | 15.54 |
| Hémicellulose % | 11.0 | 7.92 | 6.63 |
| Carbone Total% | 42.9 | 29.03 | 25.37 |
| Potassium K2O % | 0.54 | 0.39 | 0.32 |
| Cendres % | 2.36 | 1.7 | 1.42 |
| Azote % | 0.71 | 0.51 | 0.43 |
| Phosphore P2O5 | 0.07 | 0.05 | 0.04 |
| Lignine % | 14.1 | 10.21 | 8.54 |

D'après (Pr. R.DERRICHE et K.S. BERRAHMOUNE) le grignon d'olive contient 30.7% d'hémicelluloses. Ce que nous pouvons voir dans le tableau I.3 :[9]

Tableau I.3 : Caractéristiques du grignon d'olive

| matière organique (%) | humidité(%) | Hémicellulose(%) | Cellulose(%) | Lignine(%) |
|-----------------------|-------------|------------------|--------------|------------|
| 2.6 | 4.8 | 30.7 | 36.9 | 18.5 |

V. Valorisation du grignon d'olive

Les grignons d'olive constituent le résidu de l'extraction de l'huile ; majeure partie de cette production en Algérie est abandonnée sur place ou brûlée. Pour cela, la valorisation des sous produits oléicoles constitue une source potentielle de revenu complémentaire susceptible de contribuer à l'amélioration de la rentabilité des exploitations oléicoles [6], à savoir :

- Alimentation des animaux,
- Fabrication des panneaux à particules dans l'industrie du bois ; la coque peut servir aussi au polissage de certaines surfaces métalliques,
- Les cendres qui peuvent servir comme engrais en raison de leurs teneurs élevées en oxyde de potassium et en phosphore,
- Elaboration du furfural destiné à l'industrie du plastique et aussi des alcools après saccharification de la cellulose,
- Récupération des composés phénolique par extraction comme solvants,
- L'utilisation des coques ou des grignons épuisés dégraissés comme combustible.

I. Introduction

Le mot tanin a été utilisé pour la première fois en 1797 par SEGUIN pour désigner le constituant chimique de la noix de galle qui est capable de transformer la peau fraîche en cuir imputrescible et peu perméable.

En 1987 MOLE et WATERMAN ont défini les tanins comme étant des "produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses. [10]

Plus récemment et pour tenter d'accentuer la multiplicité des caractéristiques des groupements phénoliques des composés phénoliques, le terme polyphénol a été substitué par celui de «tanin »par HASLAM. [11]

HAGERMAN quant à elle préfère utiliser le caractère qui distingue les tanins des autres composés phénoliques, elle les définit comme des composés « ayant la capacité de précipiter les protéines ». [12]

Les tanins sont des substances extraites de nombreux produits alimentaires et végétaux, et considérés comme étant des polymères végétaux de la classe polyphénolique répondant à la formule brute $(C_{76}H_{52}O_{45})_n$, ils constituent alors des macromolécules de poids moléculaires compris entre 5000 et 20000. Ils se caractérisent par leurs capacités à former des complexes avec les protéines, les alcaloïdes et certains polysaccharides, Ces substances de structure variée et de saveur astringente ont la propriété de tanner les peaux en les rendant imputrescibles. Ils ont des propriétés antioxydantes. [13]

II. Les principales sources de tanins

II.1. Produits alimentaires

Les composés phénoliques sont présents dans la plupart des organes végétaux consommés par l'homme : graines (soja, coton, moutarde, riz, cacao, café...), fruits (raisin, citron, olive...); feuilles : (romarin, thym...), ils se retrouvent également, plus au moins transformés dans les produits industriels issue de ces même végétaux, jus de fruit, vin, bière, thé, café, chocolat...etc. Ce que nous pouvons voir dans le **tableau II.1.**

Tableau II.1 : Teneur en tanins de divers produits alimentaires. [14], [15]

| PRODUIT ALIMENTAIRE | TENEUR EN TANINS (g/100g ou ml) |
|----------------------------|---------------------------------|
| Laitue (matière fraîche) | 1,5 |
| Céleri (//) | 0,55 |
| Persil (//) | 0,40 |
| Pêche (//) | 0,07 à 0,25 |
| Poire (//) | 0,4 |
| Pomme (//) | 0,17 à 0,25 |
| Cerise (//) | 0,01 |
| Fraise (//) | 0,20 |
| Café (poudre) | 1,1 |
| Thé (feuille) vert | 9,1 |
| Thé noir (feuille) | 9,9 à 11,80 |
| Cacao (poudre) | 2,50 à 12,15 |
| Vin bordeaux | 0,15 à 0,44 |
| Vin madère | 0,08 |
| Vin rouge | 0,14 à 0,32 |
| Vin blanc | 0,025 à 0,031 |
| jus d'orange (1 verre) | 0,01-0,05 |
| jus tomate(1 verre) | 0,001-0,002 |
| jus de pomme (1 verre) | 0,02-0,11 |
| huile d'olive (1 cuillère) | 0,006 |
| chocolat noir (20 g) | 0,01-0,02 |

Ces constituants sont riches en polyphénols, on peut citer les tanins condensés, Flavanones, anthocyanes, dérivés hydroxycinnamiques, dérivés caféiques, acide chlorogénique.

II.2 Végétaux

Les tanins peuvent exister dans les différents organes des végétaux : racines, écorces, bois, feuilles, fleurs, graines.

Tableau II.2 : Teneur en tanins de certaines espèces végétales. [16]

| Sources | Teneur moyenne en tanin (%) |
|------------------|-----------------------------|
| Ecorce | |
| • Chênes. | 10,0 |
| • Pin et épicéa. | 11,3 |
| • Saule. | 10,7 |
| • Mimosa. | 35,0 |
| • Mangrove. | 38,0 |
| Bois | |
| • Quebracho. | 20,0 |
| • Châtaignier. | 9,0 |
| • Chênes. | 6,3 |
| Fruits | |
| • Vallonnées. | 30,0 |
| • Trillo. | 42,0 |
| • Myrobolam. | 34,0 |
| • Algarobille. | 34,0 |
| • Dividivi. | 41,5 |
| Feuilles | |
| • Sumac. | 28,0 |

III. Structure et classification des tanins

III.1 Tanins hydrolysables ou galliques

Ce sont des tanins qui en milieu acide ou en présence d'enzymes se décomposent en substances plus simples et donnent des acides phénoliques (Voir les différents acide-phénols

en (**Annexe1**). Généralement l'acide gallique ou l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et des polyesters de sucre généralement le glucose. [10]

En fonction des substances obtenues après hydrolyse, les tanins hydrolysables sont repartis dans deux catégories :

III.1.1. Les ellagi-tanins ou tanins ellagiques

L'hydrolyse de ces tanins conduit à la formation du « glucose » et de « l'acide HHDP », souvent accompagnée de ses dérivés biogénétiques telles que les acides « chébulique ». On les trouve dans les fruits et dans certains bois de plantes tel que terminalia chebula (myrobalans), les quercus valonea, les gousses de caesalpinia coriaria. (**Annexe 1**)

III.1.2. Les gallo-tanins ou les tanins galliques

L'hydrolyse de ces tanins conduit à la formation de « l'acide gallique » et du « glucose » dans des proportions de 1/5 à 1/8, ils sont moins répandus que les ellagi-tanins mais ont néanmoins une importance commerciale plus importante. On les trouve surtout dans les espèces de la famille des amardiaceae. (**Annexe 1**)

III.2. Tanins condensés

Les tanins condensés sont aussi désignés par catechine ou proanthocyanidines, on les trouve surtout dans les écorces et les bois de mimosa et des arbres de la famille des légumineuses. Ils diffèrent fondamentalement des tanins galliques et ellagiques par :

- Leurs structures voisines de celle des flavonoïdes.
- Absence de sucre dans leur molécule. Non hydrolysables, ils ont, au contraire, tendance à se polymériser pour donner des produits de coloration rouge ou brune, nommés phlobaphènes, insolubles dans beaucoup de solvants.

Ils sont formés de 2 ou plusieurs molécules de flavanne-3-ols (catéchols ou catéchines) ou de flavanne-3,4-diols (leucoanthocyanes ou proanthocyanidols). [13]

IV. Propriétés des tanins

IV.1. Propriétés physico-chimique

Les tanins sont des corps généralement amorphes, solubles dans l'eau, dans les alcools et dans l'acétone. Ils se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales, mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation (elle diminue lorsque celui-ci augmente). Ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires. On les extrait donc par des mélanges hydro-alcooliques additionnés ou non d'éther et par l'acétone. [13]

Les tanins hydrolysables et les tanins condensés peuvent être distingués sur la base de leur comportement en milieu acide à chaud [10], ils possèdent des propriétés réductrices vis-à-vis des acides phosphotungstique, phosphomolybdique, du ferricyanure ferrique. Ils sont précipités par de nombreux réactifs ;

Précipitation : [18]

- Les sels de métaux lourds : Fer, Plomb, Zinc, Cuivre.
- Les sels ferriques, on obtient des précipités colorés différemment selon la nature des tanins :
 - Bleu-Noir avec les tanins hydrolysables.
 - Brun-vert avec les tanins condensés.
- L'eau de chaux, la baryte, le tungstate de sodium et aussi les protéines en général (poudre de peau, gélatine, albumines) et les alcaloïdes (ce qui en fait des contre-poisons efficaces) ;
- Le réactif de Stiasny ou formol chlorhydrique (tanins catéchiques uniquement).

Réduction : [17]

Les tanins possèdent des propriétés réductrices vis-à-vis des acides phosphotungstique, phosphomolybdique, du ferricyanure ferrique, etc.

IV.2. Caractéristiques physiques des tanins [13]

- Couleur : qui va du blanc jaunâtre au brun qui fonce à la lumière
- Odeur : légère et caractéristique.
- Goût : amer et ils sont astringents.

- Solubilité : les tanins se dissolvent dans l'eau, l'acétone et l'alcool, mais ni dans le benzène, ni dans l'éther ou dans le chloroforme.
- Aspect : ils se présentent en morceaux plus au moins chamois, ou en palettes blanche paraissant cristallisées ou sous forme de pâte ou liquides sirupeux.

V.2. Caractérisation des tanins

On utilise pour la caractérisation des tanins la capacité de ces derniers à se précipiter avec les sels ferriques.

- Les tanins galliques et ellagiques donnent des colorations et des précipités bleu-noir tandis que les tanins condensés donnent des précipités brun verdâtre.
- Les tanins galliques donnent une coloration rosée avec l'iodate de potassium (l'acide gallique libre est coloré en orange par ce réactif).
- Les tanins ellagiques sont colorés par l'acide nitreux en milieu acétique (d'abord rose, la coloration vire au pourpre puis au bleu).
- Les tanins condensés sont colorés en rouge par la vanilline chlorhydrique.

Les colorations par le chlorure ferrique et l'acide phosphotungstique sont surtout utilisés pour la détection des tanins à partir des solutions extractives (infusé à 10%) ou après chromatographie sur couche mince ou sur papier. La différenciation entre tanins galliques et tanins catéchiqes est effectuée par addition de réactif de Stiasny. [13]

L'analyse des extraits fait appel aux techniques habituelles tel que :

- CCM sur cellulose ou silice ou on analyse les révélations par examen des fluorescences par UV et par les réactifs FOLIN-DENIS, FOLIN-CIOCALTEU.
- HPLC en phase inverse avec solvants alcooliques légèrement acides.

V. Analyse chimique des tanins

La quantité et le type de tanins extraits changent considérablement selon l'espèce végétale, l'étape du développement et les conditions environnementales. En raison de la complexité des tanins, plusieurs méthodes fondées sur leur caractère phénolique ont été développées pour leur quantification. Aucune d'elles, cependant, n'est complètement satisfaisante du fait qu'elles ne différencient pas entre les tanins et les autres composés phénoliques.

Certaines méthodes permettent toutefois une certaine sélectivité, en particulier à l'égard des seuls tanins condensés. Pour nombre d'auteurs, les meilleures méthodes pour détecter et doser les tanins sont celles qui visent à évaluer leur capacité " spécifique " à précipiter les protéines. [18]

Les analyses chimiques des tanins peuvent être divisées en :

- Analyse Colorimétrique.
- Analyse Gravimétrique.
- Analyse par Précipitation de protéine.
- Analyse Mélangé.

V.1 Analyse colorimétrique [18]

➤ **Méthode de Folin-Dennis et ces modifications (la méthode de Folin-Ciocalteu)**

La réaction est basée sur la réduction d'acide phosphomolybdique par des phénols en milieu alcalin aqueux, la méthode détermine les groupes phénoliques libres totaux et est donc une méthode pour déterminer les composés phénoliques solubles totaux qu'ils soient hydrolysables ou condensés.

Le problème de cette méthode est qu'elle ne différencie pas entre les tanins et beaucoup d'autres composés phénoliques qui ne sont pas des tanins. Des composés d'intervention tels que l'acide ascorbique, tyrosine et probablement glucose sont également mesurés.

➤ **Analyse par vanilline-HCl**

Utilisée pour analyser les tanins condensés, la vanilline réagit avec un anneau méta substitué des flavanols pour former un chromophore; le nombre de flavanols est proportionnel à l'absorbance de la solution.

L'inconvénient de cette méthode est quelle utilise la catéchine comme norme, Ce monomère donne une densité optique maximum menant à la sous-estimation de grands polymères.

➤ **Analyse par butanol- HCl**

La méthode implique la dépolymérisation catalysée par HCl des tanins condensés dans le butanol pour rapporter un produit rouge d'anthocyanidine qui peut être détecté spectrophotométriquement.

L'inconvénient de cette méthode c'est que des polymères de tanins sont fondus dans des dimères ou des trimères ce qui mène à une sous-estimation. Cette méthode ne permet d'analyser que les tanins condensés, combinée avec l'analyse par vanilline, elle peut nous renseigner sur le degré de polymérisation des tanins condensés. Ainsi le butanol mesure tout le nombre de résidus de flavonoïde présent dans l'échantillon tandis que l'analyse de vanilline mesure le nombre de molécules.

➤ **Analyse de rhodanine**

Cette méthode est utilisée pour analyser les gallo-tanins qui appartiennent à la catégorie des tanins hydrolysables, L'échantillon est soumis à l'hydrolyse pour libérer l'acide gallique. La réaction entre l'acide gallique et la rhodanine produit une couleur intense qui est mesurée spectrophotométriquement.

➤ **Analyse de Wilson et de Hagerman**

Cette méthode est utilisée pour analyser les ellagi-tanins qui appartiennent à la catégorie des tanins hydrolysables, cette fois l'échantillon est soumis à l'hydrolyse pour libérer l'acide ellagique. La réaction entre l'acide ellagique et le nitrite de sodium produit une solution colorée qui est mesurée spectrophotométriquement.

V.3.2. Analyse Gravimétrique [18]

➤ **Méthode gravimétrique avec du ytterbium (Reed et col, 1985)**

Cette méthode permet d'analyser seulement les tanins solubles, elle est basée sur la capacité de l'ytterbium trivalent de précipiter sélectivement des polyphénols, son avantage est que le précipité peut être facilement dissous avec de l'acide oxalique pour rapporter une solution polyphénolique et Yb-oxalate insoluble. La solution peut être employée pour d'avantage analyses (analyse chromatographie, études colorimétriques d'inhibition).

➤ **Méthode gravimétrique avec PVP (Makkar et autres, 1995)**

Cette méthode permet d'analyser seulement les tanins solubles, le PVP (polyvinylpyrrolidone) lie les tanins de manière irréversible. Cette méthode n'est pas très sensible et ne tend pas à sous estimer des tanins.

➤ **Méthode gravimétrique basée sur le système détergent (Horvarthet coll, 1981)**

Elle inclut les tanins solubles et insolubles, cette méthode mesure le résidu détergent acide NAD du NDF (Neutral detergent fiber) et le résidu détergent neutre du radiogoniomètre automatique. La différence NAD est employée pour estimer des tanins. Cette valeur a été avec succès employée dans l'équation sommative de Van Soest pour estimer la fraction des aliments non digestibles qui est due à l'action des tanins. L'inconvénient de cette méthode est que beaucoup de tanins solubles ne sont pas mesurés.

V.3.3. Analyse par précipitation de protéine [18]

➤ **Essai de la diffusion radiale (Hagerman, 1987)**

Cette méthode dépend de la formation des complexes entre les tanins et l'albumine de sérum de bœuf. Des extraits riches en tanins sont placés dans un agar, en rajoutant de l'albumine un précipité se forme sous la forme d'un cercle opaque. Le diamètre du cercle sera alors proportionnel à la quantité de tanins dans l'extrait. Des normes appropriées sont nécessaires pour estimer la quantité de tanins elles sont généralement établies à partir de l'acide tannique et les résultats sont exprimés en équivalents acides tanniques. Cette méthode permet la détermination d'un grand nombre d'échantillons avec les équipements limités de laboratoire.

V.3.4. Analyse Mélangé [18]

➤ **Méthode de Giner-Chavez, 1996**

C'est une méthode pour les tanins condensés qui combine quelques méthodes précédentes afin d'essayer d'éliminer leurs problèmes principaux et réduire le temps exigé pour l'analyse.

La méthode se compose en :

- L'extraction des tanins en utilisant l'acétone aqueuse (méthode traditionnelle)
 - Isolement des tanins condensés en utilisant l'ytterbium trivalent pour l'utiliser comme échantillon de référence.
- **Analyse des tanins condensés en utilisant la méthode butanol-HCl**

L'innovation principale dans cette méthode est qu'au lieu d'employer un échantillon externe comme le québracho (comme suggéré pour l'analyse au butanol), des échantillons

internes sont employés en utilisant des tanins de la même plante. Car l'absorption change avec l'espèce végétale en raison de la grande variété de types de tanins actuels dans la nature.

VI. Extraction des tanins et purification

L'extraction des tanins peut être faite par des mélanges « eau-acétone » ou « eau-méthanol », on préfère éviter en général le méthanol, il est connu comme un mauvais solvant pour certains composés phénoliques comme les glucosides car il provoque la méthanolyse des depsides et des galliques. On utilise un solvant acétonique plutôt que le méthanol ou l'éthanol pour extraire les polyphénols, car il a l'avantage de précipiter les protéines et d'extraire faiblement les sucres, la proportion eau-acétone dépendra du végétal utilisé ainsi que des conditions opératoires.

Un rendement maximal est obtenu avec des tissus frais ou conservés par congélation ou lyophilisation car, une partie des tanins est irréversiblement combinée à d'autres polymères. L'obtention de tanins purs nécessite le recours à des techniques chromatographiques appropriées, le plus souvent ce sont des chromatographies d'exclusion sur gel suivies de chromatographies en phase inverse, toujours en milieu hydro-alcoolique ou hydro alcool- acétonique. [10]

D'autres méthodes de purification sont proposées par HAGERMAN [12], telles que l'adsorption par le Sephadex LH-20, ou leur précipitation sélective par l'ytterbium. [19]

VII. Différentes utilisations des tanins

Les tanins possèdent surtout des propriétés astringentes en usages externe et interne Les utilisations sont donc très variés.

Actuellement, la principale utilisation des tanins est le tannage des cuirs qui grâce à leurs propriétés de se lier aux protéines rendent les peaux imputrescibles et peu perméables. Plusieurs autres propriétés ont été trouvées telles que : l'astringence, propriétés antimicrobiennes, antivirales, hypoglycémiantes, bons contre-poisons des alcaloïdes et des métaux lourds ainsi qu'une capacité à inhiber les enzymes. [13]

- **En pharmacie** : on les utilise pour leur action astringente, comme anti-diarrhéiques, vasoconstricteurs (veines et petits vaisseaux) et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes.

- **En médecine :** les tanins peuvent avoir un effet
 - Antimicrobien
 - Anti -mutagène
 - Anti-cancérigène, quelques exemples sont présentés dans le tableau II.3 ci-dessous :

Tableau II.3 : activité anti-cancérigène des tanins [20]

| tanin | cancer |
|----------------------------------|---|
| acide chlorogénique | colon, œsophage, poumon, peau (rongeur) |
| acide ellagique | |
| epigallocatechin-3-gallate(EGCG) | duodénum |
| polyphénols du thé vert | le poumon (souris) le colon |
| quercétin | peau, colon et rongeurs |
| acide tannique | colon, la peau (souris) |
| la consommation du thé | l'estomac, pulmonaire, et gastrique |

- **Dans l'industrie,** ils sont largement employés, dans l'industrie des vernis et peintures. Ainsi divers produits fabriqués à partir du tanin ont été mis au point et brevetés notamment. [18]
 - **Un apprêt anticorrosion :** Ce produit sert à traiter les surfaces d'acier rouillées avant l'application des peintures ; de telles surfaces devraient auparavant être nettoyées par des moyens mécaniques ou chimiques.
 - **Convertisseur de rouille:** Il transforme l'acier oxydé en une surface lisse et scellée. Les essais ont révélé que le convertisseur de rouille au tanin de pin fonctionnait mieux que les convertisseurs commerciaux.
 - **Colles à bois :** le tanin extrait est ajouté aux colles utilisées pour lier les copeaux de bois dans la production de panneaux de particules pour la construction, ils peuvent aussi remplacer le phénol et le résorcinol issu de l'industrie pétrochimique.
 - **Antirouille:** le tanin est ajouté à l'huile minérale pour protéger l'acier laminé à froid contre la corrosion durant le transport et l'entreposage.
 - **Encre :** en les faisant réagir avec les sels ferriques.
 - Coagulation du caoutchouc.
 - Clarification des vins et des bières.

De nombreuses données *in vitro* montrent que les composés phénoliques sont des antioxydants pouvant neutraliser les formes activées et toxiques de l'oxygène, ils jouent un rôle dans la santé humaine, soit en tant que composants de la ration alimentaire, soit entrant dans la composition du médicament, par ailleurs, ils peuvent aussi être utilisés en agroalimentaire pour protéger les produits d'origine végétale ou animale, surtout ceux qui sont sensibles à l'oxydation comme les lipides. [15]

VIII. Les antioxydants

Le terme antioxydant (antioxygène) était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. À la fin du XIX^e siècle et au début du XX^e siècle les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation dans les procédés industriels afin de réduire par exemple la corrosion des métaux, la vulcanisation du caoutchouc et la polymérisation des carburants dans les moteurs à explosion.

En biologie, les premières recherches sur les antioxydants concernèrent la réduction de l'oxydation des acides gras insaturés, cause du rancissement. L'activité antioxydante était facilement mesurée en enfermant des corps gras dans des récipients hermétiques avec de l'oxygène, puis en vérifiant le taux d'absorption de ce dernier. Cependant, ce n'est qu'avec l'identification des vitamines A, C et E qu'est apparue l'importance des antioxydants dans la biochimie des organismes vivants.

VIII.1. Définitions :

Les antioxydants sont des réducteurs capables d'interrompre la réaction de peroxydation et d'empêcher la formation des hydroperoxydes et des peroxydes à partir des huiles insaturées en particulier.

Ils sont des composés naturels ou ajoutés, qui permettent de ralentir le phénomène d'oxydation qui est celui qui fait rouiller les métaux, qui fait flétrir les légumes et les fruits, rancir les graisses. Il modifie le goût et la couleur des aliments.

En particulier, l'oxydation des lipides insaturés en présence d'oxygène sont des troubles majeurs qui, peuvent intervenir soit dans la cellule elle-même soit lors de la préparation et de la conservation du produit utilisés par l'homme dans des domaines variés comme l'agroalimentaire, la pharmacologie et la cosmétologie. Elles conduisent à la

formation de radicaux libres très réactifs et à des dérivés toxiques souvent carcinogènes et dont certains présentent des odeurs ou des saveurs désagréables. [15]

Un bon antioxydant doit présenter plusieurs propriétés :

- Efficacité à faible concentration
- Compatibilité physique et chimique avec le substrat qu'il est censé protéger
- Absence de toxicité

VIII.2. Antioxydants naturels

Dans la nature et en particulier dans le monde végétal, outre les tocophérols de certaines graines et plantes, de nombreuses autres substances présentent des propriétés antioxydantes : polyphénols de l'olivier, du chêne, sésamol des graines de sésame, flavonoïdes des plantes (quercétine, myricétine, etc.), huiles essentielles extraites d'épices et d'herbes : thym, carvi, cumin, clou de girofle, romarin, sauge.

Le tableau II.4 suivant illustre les types d'antioxydants ainsi que leurs caractéristiques :

Tableau II.4 : les types d'antioxydants et leurs caractéristiques : [21]

| Antioxydants fournis par l'alimentation | Caractéristiques |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Acide ascorbique et ses sels <ul style="list-style-type: none"> -ascorbate de sodium -ascorbate de calcium -acide palmityl-6-ascorbique | <ul style="list-style-type: none"> -hydrosolubles -protègent contre l'oxydation des constituants aromatiques |
| <ul style="list-style-type: none"> • Extraits naturels riches en tocophérols ou vitamine E • Vitamine C | <ul style="list-style-type: none"> -mélanges concentrés obtenus à partir d'huile végétales ou de leur sous produits. Vitamine E – 4 tocophérols + 4tocotriénols – Liposolubles (membranes) – Graines céréales, noix et les huiles olive et tournesol - Hydrosoluble – Recycle la vitamine E – Activité oxydante – Instable (lumière et T.) – Agrumes et légumes vert |
| <ul style="list-style-type: none"> • Caroténoïdes • Glucosinolates | <ul style="list-style-type: none"> – Rôle antioxydants – Présent dans + de 600 plantes (fruits et légumes colorés) – Plantes crucifères, Choux, brocolis, etc |

| | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Composés phénolique extrais des végétaux : <ul style="list-style-type: none"> -thymol, carvacrol -acide carnosique -carnosol -acide rosmarinique - Flavonoides - Catéchins -Anthocyanes | <p>les végétaux riches en ces substances sont :</p> <p>-la muscade, le clou de girofle, vanille une forte activité antioxydante est observée chez la sauge et le romarin</p> <p>Oignon, pommes thés - Isoflavones – soy – Raisins, vin rouge</p> |
| Antioxydant de synthèse | / |
| <ul style="list-style-type: none"> • Tocophérols de synthèses <ul style="list-style-type: none"> -α tocophérol -γ tocophérol -δ tocophérol | / |
| <ul style="list-style-type: none"> • Gallates <ul style="list-style-type: none"> - Gallates de propyle - Gallates d'octyle - Gallatesde dodécyle | / |
| <ul style="list-style-type: none"> • BHA (butyl hydroxy anisol) | il accroît l'utilisation se la vitamine A il présente des propriétés tératogènes et cancérogènes |
| <ul style="list-style-type: none"> • BHT (butyl hydroxy toluène) | il agit au niveau du métabolisme énegique du fois, poumons et de la coagulation sanguine |
| <ul style="list-style-type: none"> • TBHQ(ter-butyl-hydroxyquinone) • Ethoxyquinone | possibilité de provoquer des effets toxiques |
| <ul style="list-style-type: none"> • Erythorbates de sodium | / |

VIII.3. Mesure de l'état d'oxydation et du pouvoir antioxydant

En pratique, la mesure du pouvoir antioxydant est bien souvent empirique, et l'on se base sur les indices chimiques permettant d'apprécier l'état d'oxydation d'un corps gras. On peut citer :

- l'indice de peroxyde **IP**.
- d'autres indices, indice d'acidité, indice de p-anisidine, permettant d'apprécier les aldéhydes α -éthyléniques, le test à l'acide thiobarbiturique qui mesure le dialdéhyde inalonique, l'indice de carbonyle, l'indice d'oxygène oxirane, etc.

Parmi les méthodes qui permettant une mesure globale du pouvoir antioxydant de substances pures ou en mélanges basés sur les propriétés antiradicalaires des composés phénoliques on peut citer:

➤ **Méthode DPPH**

Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical stable R° à température ordinaire de couleur bleue intense. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres) se fait en mesurant la décoloration (violet -jaune) due à la réduction de DPPH° par les composés phénoliques. La décoloration est suivie en spectroscopie visible à 515nm. La méthode est standardisée par rapport à la quercétine.

➤ **Méthode ORAC**

Cette méthode mesure la capacité d'un antioxydant à empêcher l'oxydation d'une sonde fluorescente par des radicaux libres de type ROO°. La sonde utilisée est la fluorescéine ; le radical est l'AAPH (2,2-azobis (2 amidinopropane) dihydrochloride) qui se décompose à 37°C en deux radicaux libres. Le test est réalisé en spectrofluorimétrie.

VIII.4. Capacité antioxydante de quelques fruits et légumes [22]

Les légumes et les fruits riches en composés phénoliques ont généralement une capacité antioxydante élevée.

Le tableau II.5 suivant illustre la capacité antioxydante (exprimée en m mole d'équivalent trolox) et la teneur globale en composés phénoliques (exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique), toutes les données sont rapportées à 100g de matière fraîche Tableau II.5 : la capacité antioxydante et la teneur globale en composés phénoliques de quelques fruits et légumes.

Tableau II.5: la capacité antioxydante et la teneur globale en composés phénoliques de quelques fruits et légumes : [15]

| fruits/légumes | capacité antioxydante | teneur en polyphénols |
|----------------|-----------------------|-----------------------|
| fraise | 2591 | 330 |
| framboise | 1846 | 228 |
| prune rouge | 1825 | 320 |
| chou rouge | 1377 | 158 |
| pamplemousse | 861 | 150 |

| | | |
|-----------|-----|-----|
| orange | 849 | 126 |
| épinard | 757 | 72 |
| broccoli | 648 | 128 |
| raisin | 594 | 80 |
| oignon | 532 | 88 |
| chou vert | 492 | 58 |
| pois | 440 | 32 |
| tomate | 255 | 30 |
| poireau | 240 | 22 |
| banane | 181 | 38 |
| laitue | 171 | 14 |

IX. La valorisation des polyphénols dans les huiles végétales

Les tanins peuvent être utilisés comme antioxydants dans les huiles, le but est d'évaluer l'effet antioxydant des polyphénols extraits dans les huiles, en mesurant l'indice d'acidité et l'indice de peroxyde. (**Voir annexe 4**)

I. Introduction

L'extraction solide-liquide est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire, de séparer ou de dissoudre, par immersion dans un liquide ou par arrosage par un liquide, un ou plusieurs composants (solide ou liquide) mélangés à un liquide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide (la matière à extraire) et une phase liquide (le solvant d'extraction) les constituants recherchés pouvant être soit le soluté, soit le résidu. [23]

II. Les procédés d'extractions solide-liquide

L'extraction solide-liquide regroupe plusieurs méthodes différentes. Cette diversité de méthodes, a été induite par plusieurs facteurs, dont la variété de matières premières, l'utilisation industrielle des extraits ainsi que les conditions de mise en contact entre les deux phases, on distingue : [23]

- **La lixiviation ou lessivage** : Elle s'applique essentiellement à l'hydrométallurgie. Le solide (minerai), finement divisé, est mis en contact avec une liqueur d'attaque, chaude ou froide, qui solubilise le soluté.
- **La percolation** : Cette méthode consiste à laisser couler le solvant chaud sur un lit de solide finement divisé afin de dissoudre les composants solubles qui y sont contenus.
- **La décoction** : C'est l'opération dans laquelle le solide est mis à bouillir dans un liquide en vue d'extraire les parties solubles.
- **L'infusion** : C'est la mise en suspension d'un solide dans un liquide chaud ou l'arrosage du solide par ce liquide, afin de dissoudre les constituants utiles, suivie du refroidissement du mélange.
- **La macération** : C'est la mise en contact plus au moins prolongé à froid d'un solide dans un solvant en vue d'extraire les parties solubles.
- **La digestion** : C'est une macération à chaud. Cette opération et la macération sont utilisées particulièrement en pharmacie et en parfumerie.
- **L'élution** : Elle consiste à enlever un soluté fixé à la surface d'un solide par simple contact avec un solvant. C'est l'opération complémentaire à la fixation dans les opérations d'échange d'ions. Elle fréquemment employée dans les méthodes d'analyse (chromatographie).

III. Technologies des extracteurs solide-liquide

D'autres considérations interviennent dans la technologie de mise en œuvre d'une extraction solide-liquide : on distingue ainsi les processus continus ou discontinus, avec la phase solide en lit fixe, mobile ou dispersé ce qui distingue les appareils d'extractions. [23]

III.1 Extracteur à lit fixe ou immobile

Dans cette catégorie, les appareils sont constitués par des récipients ouverts ou fermés munis en leur base d'un dispositif d'égouttage supportant le lit de solide (tôle perforés, toile métallique, barres transversales). Des orifices sont prévus pour l'arrivée du solvant. La sortie de la solution, le changement du solide. Ils ne sont employés que dans le cas où l'extraction est facile et selon la méthode à étage unique ou à étages multiples.

On distingue deux types :

- Extracteurs ouverts : utilisés en extraction à l'eau et à basses températures. L'extraction se fait par percolation ou immersion complète.
- Extracteurs fermés : utilisés pour le traitement de solides de toutes tailles, avec des solvants chauds en phase liquide ou partiellement vaporisés, sous pression ou non, c'est le cas du SOXHLET.

III.2 Extracteur à lit mobile

Ce sont des appareils automatiques constitués par un système de convoyage entraîné mécaniquement, supportant les charges de solides, afin de pouvoir réaliser une extraction continue à étages multiples.

On distingue quatre types :

- Extracteurs à compartiments mobiles.
- Extracteurs à paniers mobiles.
- Extracteurs à chaîne de convoyage.
- Extracteurs à bande transporteuse.

III.3 Extracteurs à immersion

Ce sont des appareils dans lesquels la charge contenant beaucoup de fines particules, que les appareils à percolation auraient des difficultés à traiter, est immergée dans le solvant. Ils sont plus ou moins sensibles aux conditions de préparation du solide que les appareils précédents.

III.4 Extracteurs à agitation à charges dispersées ou en suspension

Les appareils de cette catégorie sont des mélangeurs dans lesquels le solide et le solvant sont mis en contact intime par agitation mécanique ou pneumatique. Ils sont utilisés pour l'extraction de particules de tailles en discontinu et en continu.

On distingue deux types :

- Extracteurs à simple agitation.
- Extracteurs à agitation multiples et à charge dispersée ou en suspension.

IV. Mécanisme de l'extraction par solvants [24]

Dans le cas typique de l'extraction des matières végétales, le soluté est localisé dans des cellules végétales à parois très peu perméables.

L'extraction de ces matières par solvants, est un processus assez complexe, basé sur le phénomène de transfert de matière où le solvant pénètre en premier dans la cellule (solide), son rôle est de dissoudre le soluté s'y trouvant.

Après la dissolution du soluté dans le solvant, ce dernier se trouve saturé en soluté ce qui va provoquer par diffusion un transfert de matière du soluté vers le solvant non saturé

Ce processus peut être résumé en quatre étapes :

- pénétration du solvant dans le solide.
- dissolution du soluté dans le solvant.
- transfert de matière extraite à travers les membranes cellulaires.
- diffusion de la matière extraite de la surface du végétal vers le solvant non saturé.

Les solvants utilisés sont généralement de nature organique, ils peuvent être pur ou mélangés (eau-acétone, eau-méthanol, eau-éthanol...). [25]

L'extraction par solvant reste l'une des méthodes les plus utilisées dans les différentes industries qui font appel à des matières premières de nature végétale, on peut citer :

- **L'industrie agro-alimentaire** : Extraction du sucre à partir de la canne à sucre ou de la betterave sucrière, extraction de l'huile à partir du tournesol.
- **L'industrie pharmaceutique** : Extraction des vitamines à partir des différents fruits, des antibiotiques et des alcaloïdes à partir des plantes.
- **L'industrie des parfums** : Extraction des huiles essentielles à partir des plantes, fleurs et racines.

V. Facteurs intervenant dans l'extraction solide-liquide [24]

L'extraction par solvant peut être influencée par plusieurs facteurs :

V.1 La température

L'élévation de la température permet généralement l'accroissement de la solubilité, de la diffusion du soluté et la diminution de la viscosité de la solution. Elle est limitée par le risque d'extraire des composés nuisibles, par le risque de dégradation thermique de soluté.

V.2 L'agitation du fluide

L'agitation du solvant en contact du solide permet le maintien des particules en suspension et l'homogénéité du milieu, a un effet toujours favorable sur l'opération.

V.3 Le taux de l'humidité

L'humidité influe négativement sur le rendement dans le cas d'utilisation des solvants hydrophobes qui peuvent pénétrer dans la cellule pour extraire les produits

V.4 La nature du solvant

Le choix du solvant repose sur plusieurs paramètres :

- Sélectivité.
- Température d'ébullition peu élevée.
- Grande capacité de dissolution.
- Faible viscosité.
- Sécurité de manipulation (point d'éclair, inflammabilité, toxicité).
- Prix du solvant et possibilité de recyclage.

V.5 La durée d'extraction :

Il est conseillé d'arrêter l'extraction à l'instant où le rendement en produit de meilleure qualité soit maximum.

V.6 Nature et état du solide et du soluté :

Plus la matière est divisée et plus la surface d'échange est grande et plus le parcours moyen du soluté est petit. La fragmentation fine s'impose lorsque le soluté est occlus dans un réseau d'inerte, mais une grande finesse du solide peut devenir un inconvénient quoique la division n'est pas toujours une règle générale.

VI. L'extraction des tanins

Les solutions de tanins ont été dans les premiers temps extraites grâce à leur réactivité avec d'autres composés, elles étaient connues pour :

- précipiter les alcaloïdes (sulfate de cinchonine),
- Complexer les ions des métaux lourds.
- Réduire le KMnO_4 ,
- Former des chélates bleus violacés avec le FeCl_3 (préparation des encres).

Précipitation des protéines salivaires et des glycoprotéines buccales.

Le teste le plus courant pour la recherche des tanins était basé sur la précipitation des solutions aqueuses de gélatine à 0,5%. [26]

Comme déjà indiqué, les tanins sont solubles dans l'eau et dans l'alcool. On les extrait donc par des mélanges hydroalcooliques additionnés ou non d'éther et par l'acétone. [27]

VII. Procèdes d'extraction du tanin [28]

Il existe plusieurs procédés pour extraire du tanin, cependant, chaque installation ne doit contenir aucun élément en fer puisque ce métal réagit avec le tanin. Les appareils sont, en général, en bois ou en béton avec des liaisons et des conduites d'amenée en cuivre.

➤ **Extraction dans des cuves** : les écorces sont mises en contact avec de l'eau dans une cuve et chauffées avec de la vapeur tout en étant agitées à la fois. La solution obtenue est concentrée dans un évaporateur. Les résidus de l'écorce après extraction sont utilisés comme combustible. Ce procédé a l'avantage d'extraire la plupart du tanin à basse température en évitant de foncer la couleur de la solution. Cette méthode est toujours réalisée en pratique avec une succession de six cuves. On peut alors réaliser une extraction continue à contre-courant avec décantation dans chaque bac.

➤ **Extraction dans une série de bidons tournés** : une cascade de bidons est utilisée comme extracteur et l'agitation est provoquée par la rotation de ces bidons. La procédure est tout à fait identique à l'extraction dans des cuves, c'est-à-dire que la solution passe d'un bidon à l'autre.

➤ **Extraction sous pression** : Cette méthode nous permet d'obtenir la plus grande quantité d'extrait total, cependant, elle présente l'inconvénient majeur de décomposer le tanin. On obtient aussi un produit de couleur plus foncée et une grande quantité de produits parasites.

➤ **Extraction sous vide** : le produit obtenu dans ce procédé n'est pas décomposé cette fois, cette méthode est très efficace ; HOUGH (1919)

VIII. Facteurs Intervenant dans l'extraction des tanins

VIII.1. L'effet de la température [29]

Peu d'études ont été menées sous l'effet de la température. Néanmoins, dans un travail fait par CHAVAN et ses collaborateurs, en trempant les graines dans de l'eau distillée à 30°C le rendement atteint est de 31% pendant 24 heures. Une fois trempés à 100°C, on obtient le même rendement mais pendant une durée de temps égale à 20mn. L'hydroxyde de sodium à une concentration de 0,05 M extrait 84% du tanin, une fois trempés à 30°C pendant une durée de temps égale à 24 h. lorsque l'extraction s'est déroulée à 100°C, le temps nécessaire à l'obtention de la même quantité est de 20mn. Ainsi, l'extraction à haute température augmente le rendement et réduit le temps. L'augmentation de la concentration en hydroxyde de sodium de 0,005 à 0,05 améliore le rendement de 36 à 84%. L'hydroxyde de sodium et le carbonate de sodium produisent des résultats similaires.

D'après G. A. Akowuah, A. Mariam, J.H. Chin, [30] qui ont travaillé sur *Gynura procumbens* ont constatés qu'à partir de 60 °C le rendement en polyphénols diminue. Pour quelques arbres les températures optimales d'extraction sont données par le tableau III.1 [16]

Tableau III.1 : Température d'extraction en °C des différents matériaux tannants :

| | Température d'extraction (°C) | | Température d'extraction (°C) |
|--------------------|-------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| Ecorce de chêne | 90-100 | Bois de châtaignier | 100-120 |
| Bois d'épicéa | 90-100 | Bois de quebracho | 100-120 |
| Ecorce de saule | 90-100 | Sumac | 50-60 |
| Ecorce de bouleau | 90 | Algarobille | 90-100 |
| Ecorce de hemlock | 90-100 | Badane | 60-80 |
| Ecorce de mimosa | 70-80 | Vallonnées | 90-100 |
| Ecorce de mangrove | 80-90 | Trillo | 60-80 |
| Bois de chêne | 100-120 | Myrobolam | 80-90 |

VIII.2 L'effet de l'agitation

L'agitation des particules dans le solvant permet leur maintien en suspension et homogénéité du milieu. Son effet est souvent favorable sur l'opération d'extraction.

VIII.3 La nature de solvant

L'extraction des tanins a fait l'objet de plusieurs études. Nous exposerons les principaux résultats obtenus.

NACZK, SHAHIDI et SULLIVAN procèdent à l'extraction des tanins en testant plusieurs solvants ; le méthanol, l'acétone, le N,N-diméthyl formamide, ainsi que leurs combinaisons avec de l'eau ou de l'HCl concentré. Ils ont trouvé que l'utilisation de solvants purs était sans efficacité pour l'extraction des phénols et particulièrement des tanins. Cependant, comme le soulignent-ils, l'addition de l'eau augmente cette efficacité.

Alors que MAKKAR et BEKKER, notent que les tanins sont généralement extraits en utilisant des solutions organiques comme solvants, généralement le méthanol ou l'acétone. La présence de concentrations différentes de méthanol dans l'échantillon contenant les catéchines ou les tanins n'altère pas les cinétiques de leur réaction ; mais l'absorbance en dépendait ; plus il y a du méthanol, plus l'absorbance est grande. Comme le rapportent-ils, en présence d'acétone, la durée de temps de la réaction pour les catéchines et les tanins est différente, elle dépend de la concentration en acétone et de la température de la réaction.

Lors de l'extraction, des mécanismes diffusionnels sont mis en jeu sur lesquels vont intervenir différentes caractéristiques physico-chimiques du solvant. Les propriétés physico-chimiques des solvants utilisées dans le tableau III. 2

Tableau III. 2 : propriétés physico-chimiques des solvants utilisés [31]

| SOLVANT | ACETONE | METHANOL |
|--|----------------------|----------------------|
| Masse moléculaire (g/mole) | 58,08 | 32,04 |
| d_4^{20} | 0,79 | 0,791 |
| Solubilité g/100mol à 20°C - dans l'eau - de l'eau dans le solvant | Miscible Miscible | Miscible Miscible |
| Viscosité centipoise à 20°C | 0,0085 | / |
| Température d'ébullition (°C) sous 760mmHg | 56 | 65 |
| Chaleur de vaporisation (cal/g) | 122,7 | / |
| Chaleur spécifique (cal/g °C) | 0,538 | / |
| Indice de réfraction à 20°C | 1,3584 | 1,329 |
| Pureté (°/°) | 99 | 99 |

VIII.4 La durée de l'extraction

La durée de l'extraction varie selon la nature du végétale et les conditions opératoires (Température, solvant, agitation), elle peut être comprise entre 20 mn et 24 h. Cependant, plusieurs phénols tendent à s'oxyder facilement durant la préparation de l'échantillon et lors de la phase d'extraction, ce qui diminue la teneur en tanin du produit final. Quelque fois l'addition d'agents convenables de réduction aux solvants d'extraction favorise une augmentation du rendement des composés phénoliques.

IX. Différents travaux effectués sur l'extraction des tanins

Les principaux travaux effectués sont résumés dans le tableau III.3

Tableau III.3 : principaux travaux effectués sur l'extraction des tanins

| Matière végétale | Solvant utilisé | Soluté | Méthode d'analyse | Objectif |
|--|--|---------------------------|---|--|
| La graine de Sorgum [32] | 95 % éthanol | Tanin condensé | Chromatographie sur couche mince | -Isolation -Fractionnement -caractérisation |
| Feuilles du saule [33] | Plusieurs | Tanin condensé | -Chromatographie Gazeuse -Méthode Folin-Ciocalteu | -Effet du séchage -Temps d'extraction -Effet du solvant |
| Feuilles de dicotyledon [19] | Acétone eau (7:3, v/v) | Phénols solubles + Tanins | Détermination gravimétrique par précipitation du Trivalent Ytterbium | Détermination gravimétrique par précipitation des protéines |
| Graines légumineuses [34] | Plusieurs | Tanin condensé | Précipitation des protéines | Effet thermique (cuisson) |
| Robinia pseudo acacia-L (Feuilles) [35] | Acétone eau (7:3, v/v) avec 0,5% d'acide ascorbique | Tanin condensé | Chromatographie sur couche mince | -Fractionnement -Caractérisation -Capacité de précipitation des protéines |
| Feuilles [36] | Acétone-eau (7:3) | Tanin | -Détermination gravimétrique -Méthode Folin-Ciocalteu -Méthode de vanilline-Hcl -Précipitation des protéines | Détermination gravimétrique et corrélation avec les méthodes chimiques et la précipitation des protéines |
| Feuille d'arbres (5 types d'arbres) [37] | 70 % d'acétone aqueuse avec 0,1 % d'acide ascorbique | Tanin | Chromatographie sur couche mince | Isolation des tanins par chromatographie sur couche mince et leurs propriétés |
| Le bois de chêne [38] | Solution à 12 % d'éthanol | Ellagitanins | / | Extraction des ellagitanins, selon leurs teneurs |

| | | | | |
|---|--|---|---|--|
| Quebracho (feuilles) [39] | 70 % d'acétone aqueuse | Tanin condensé | -Chromatographie sur couche mince -précipitation par la méthode de Trivalent Ytterbium | Isolation avec le Trivalent -Ytterbium et par chromatographie sur couché mince |
| Haricot. Séché [40] | -Méthanol 1% HC1 -Méthanol à 100% | Tanin | Méthode de vanilline - HC1 | Effet du stockage et du broyage. sur l'analyse |
| Thé vert [41] | plusieurs | Cathéchine Caffeines Acide gallique | HPLC | Isolation par HPLC |
| grains de tournesol [42] | - 80% acétone -80% méthanol -80% éthanol -80% isopropanol | polyphénols acide tannique acide caféique | / | effet du pH |
| Gynura procumbens [30] | -80% méthanol | phénols | -Méthode Folin-Ciocalteu | -effet de la température - pouvoir antioxydant |
| <i>thymelaea lythroides</i> feuilles d'une endémique ibéro marocaine [43] | -l' éther éthylique. | anthocyanes flavoniques l'acide caféique | spectrophotomètre UV-visible | -Identification des composés par chromatographie |
| grains de raisins [44] | -50% éthanol | -acide gallique -cathéchine | -Méthode Folin-Ciocalteu -HPLC | -optimisation |
| Ceratonia siliqua [45] | -80% acétone | -flavanols | -Méthode Folin-Ciocalteu | -activité antioxydante |

I. Introduction

La matière végétale utilisée lors de notre étude est le grignon d'olive récupéré en mars 2009 d'une huilerie semi-automatique de « TIZI-OUZOU ».

La préparation du grignon d'olive pour l'extraction consiste à le broyer dans un broyeur ménager afin qu'il puisse passer dans les tamis.

Tous les résultats obtenus lors de ce travail sont exprimés par rapport à la matière sèche (MS), cette dernière est déterminée en mesurant l'humidité du grignon dans l'appareil DEAN et STARCK (**annexe 3**), elle est de 21.7%.

II. Le protocole expérimental

Le montage expérimental de l'extraction solide-liquide par solvant volatil est donné par la **Figure V.1**.

Le protocole expérimental suivi pour la réalisation de cette extraction est le suivant:

- broyer ensuite tamiser le grignon d'olive, afin de préparer des échantillons de granulométrie précise.
- Mettre en marche le bain thermostaté à une température selon les conditions opératoires.
- Peser avec une balance électronique digitale la quantité nécessaire de grignon.
- Mettre le grignon d'olive dans un ballon contenant un barreau magnétique.
- Verser dessus le solvant par petite quantité afin d'éviter l'écoulement le long des parois (risque de perte).
- Assembler le montage, les vapeurs du solvant se condensent dans le réfrigérant.
- Mettre en marche l'agitation magnétique.
- Avec une seringue graduée prélever la quantité désirée de la solution en un laps de temps précis.
- Après un temps de marche bien déterminé, laisser refroidir et filtrer à l'aide d'un papier filtre.

A la fin, on récupère des solutions aqueuses de tanins.

- Analyse des tanins par la méthode colorimétrique de FOLIN-CIOCALTEU, qui est décrite par SRISUWAN [28], comme suit :

En présence de phénols, le mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique est réduit en oxydes bleus de tungstène et de molybdène que l'on détermine par colorimétrie.

Réactifs employés

1. Réactif de FOLIN-CIOCALTEU : tungstate de Na, H_3PO_4 , HCl, sulfate de Li, Br, préparation complexe, utiliser de préférence le réactif prêt à l'emploi, qui doit être à peine verdâtre

2. Na_2CO_3 4.25%.

Mode opératoire

1) On verse dans un erlen Mayer

0.2ml d'échantillon dilué autant de fois qu'il est nécessaire.

1ml de réactif de FOLIN-CIOCALTEU.

20ml Na_2CO_3 4.25%.

2) Agité, verser dans un tube à essais.

3) Porter au bain - marie à $70^\circ C$ pendant 20 mn.

4) Refroidir sous un courant d'eau froide.

5) Analyser au spectromètre à 760 nm par rapport à une solution témoin (eau distillée) à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations en tanin définies (acide tannique), on peut exprimer directement les résultats en grammes de tanin par litre de solution cette méthode est couramment utilisée dans l'industrie du vin et est reconnue comme la méthode la plus appropriée.

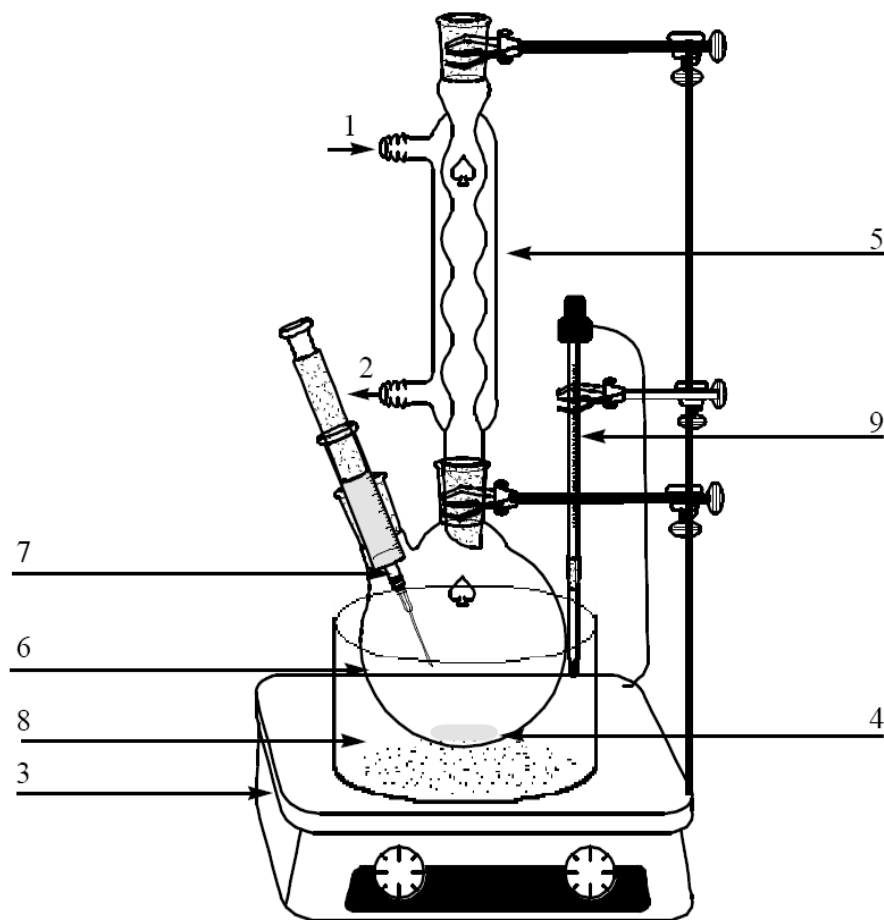


Figure IV.1: Dispositif de l'extraction des tanins

1. Entrée d'eau de refroidissement.
2. Sortie d'eau de refroidissement.
3. Plaque chauffante avec agitation magnétique.
4. Barreau magnétique.
5. Réfrigérant.
6. Ballon.
7. Seringue
8. Bain thermostaté.
9. Thermomètre de régulation.

III. Dosage des tanins

III.1 La courbe d'étalonnage

Des solutions très diluées de tanin et de différentes concentrations sont préparées à partir d'un échantillon de tanin (acide tannique), on procède ensuite au mode opératoire de la méthode de FOLIN-CIOCALTEU, et on détermine la densité optique des différentes solutions, la lecture de la densité optique a été faite plusieurs fois pour vérifier la reproductibilité des mesures ; les résultats sont représentés dans la figure IV .2

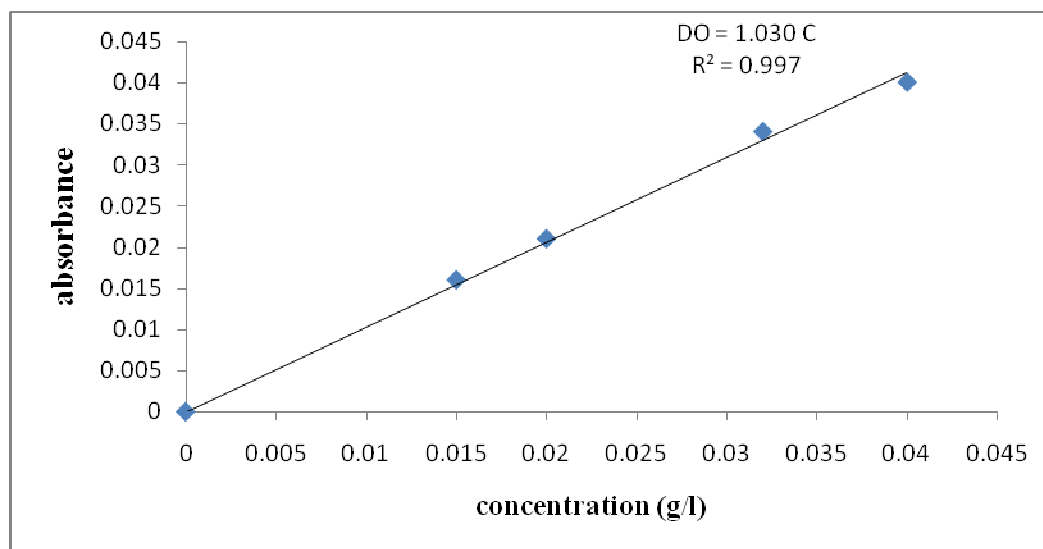


Figure IV.2 : la courbe d'étalonnage

IV. Protocole expérimentale pour la mesure de la concentration des tanins :

Pour avoir une bonne précision, nous avons dilué nos extraits avant de mesurer l'absorbance, car la loi de Beer LAMBERT est applicable à des faibles concentrations. Nous avons dilués 5, 20, 25, 50, 100 fois et nous avons choisi de diluer 50 fois car les absorbances obtenus étaient dans le domaine où nous avons une linéarité de la courbe d'étalonnage.

V. Calcul du rendement en tanin

Dans notre cas, la masse de tanin extrait ne peut être mesurée que par colorimétrie, en mesurant l'absorbance de l'extrait, et en lisant la concentration sur la courbe d'étalonnage (figure IV.2)

Le rendement de l'extraction se calcule par la relation suivante :

$$R = \frac{m_{ext}}{m_{vs}}$$

m_{vs} : masse de la matière végétale sèche

VI. Essais préliminaires

Il est difficile de comparer les résultats d'extraction des tanins des différents travaux car les conditions opératoires ne sont pas toujours mentionnées. Ceci nous a incité à entreprendre une série d'expériences afin de trouver les conditions opératoires qui nous serviront par la suite à améliorer le rendement. Les travaux réalisés par LOUCIF [25] sont pris comme point de départ, dans cette étude l'optimum était de ($T=45^{\circ}\text{C}$, Hydromodule=90ml/gr, $d=0.11\text{mm}$). D'autres travaux d'extraction des polyphénols ont été effectués entre $25-55^{\circ}\text{C}$. [46]

VI.1 Choix du solvant

Les différents travaux effectués sur l'extraction des tanins utilisent comme solvants, l'acétone, le méthanol et l'éthanol, nous avons fait une série d'expérience où nous avons utilisés les trois solvants, le tableau IV.1 donne les résultats obtenus :

Tous les résultats sont pris à une durée de 3h où l'équilibre est atteint et avec une agitation de 900 tr/mn

Tableau IV.1 : effet des solvants sur le rendement des tanins

| essais | solvant+eau | rendement (%) |
|--------|---------------|---------------|
| IV.1 | acétone(75%) | 2.23 |
| IV.2 | méthanol(80%) | 2.35 |
| IV.3 | éthanol(80%) | 2.23 |

Ces expériences sont déroulées dans les mêmes conditions opératoires, on voit bien que les rendements varient peu avec le solvant, nous avons choisi de travailler avec eau-acétone car le méthanol est connu comme un mauvais solvant pour certains composés phénoliques comme les glucosides , il provoque la méthanolyse des depsides et des galliques .

Le tableau IV. 2 donne le résultat obtenu avec les conditions optimales de LOUCIF [31] Nous avons mis 5g de matière végétale en contact avec 450ml de solvant à une température de 45°C ; sauf pour la granulométrie où on arrivait pas à atteindre des granulométries faibles car nous ne disposons que d'un broyeur ménager.

Tableau IV.2 : résultats obtenu avec les conditions opératoires de LOUCIF

| essai | température (°C) | hydromodule (ml/gr) | granulométrie(mm) | rendement (%) |
|-------|------------------|---------------------|-------------------|---------------|
| IV .4 | 45 | 90 | ≤ 4.43 | 3.07 |

Nous avons voulu améliorer ce résultat ; nous avons procédé à une série d'expériences où nous avons fait varier les conditions opératoires, pour la recherche du point central pour la planification des expériences.

Dans le but de réduire ou d'élargir le domaine des températures et de l'hydromodule, les essais portés sur le tableau IV.3 ont été menés.

On observe qu'une diminution de l'hydromodule de 90 à 20ml/g améliore le rendement, la valeur de 10ml /g donne un plus faible rendement, nous avons choisi la valeur de 30ml/g comme point central.

Concernant la température, un essai à 65°C a montré qu'il n'y avait pas d'amélioration, nous avons choisi la valeur 50°C comme point central. Quant à la granulométrie, le broyeur utilisé ne permettait pas d'atteindre de faibles granulométries. Le choix du point central a été fixé en fonction de la disponibilité des tamis.

Tableau IV.3 : essais préliminaires

| essais | température (°C) | hydromodule (ml/gr) | granulométrie(mm) | rendement % |
|--------|------------------|---------------------|-------------------|-------------|
| IV.5 | 45 | 20 | ≤ 4.43 | 3.22 |
| IV.6 | 45 | 20 | ≤ 1.12 | 0.80 |
| IV.7 | 45 | 20 | ≤ 0.295 | 2.11 |
| IV.8 | 65 | 20 | ≤ 0.295 | 1.42 |
| IV.9 | 45 | 10 | ≤ 1.12 | 0.71 |

VII. Application du plan factoriel :

Suite aux résultats précédents nous avons proposé les conditions opératoires résumées dans le tableau IV.4

Tableau IV.4 : paramètres opératoires ; niveau inférieurs et supérieurs du plan factoriel

| paramètres | -1 | 0 | +1 |
|---------------------|--------|---------|---------|
| température (°C) | 45 | 50 | 55 |
| hydromodule (ml/gr) | 20 | 30 | 40 |
| granulométrie (mm) | ≤ 0.16 | ≤ 0.227 | ≤ 0.295 |

Nous avons établi le plan factoriel 2^3 suivant :

Le tableau IV.5 résume les 11 essais programmés par le plan d'expérience

Tableau IV.5 : conditions opératoires du plan factoriel

| | essais | variable réelle | | | variable réduite | | | rendement% |
|----------------------|--------|------------------|---------------------|--------------------|------------------|----------------|----------------|------------|
| | | température (°C) | hydromodule (ml/gr) | granulométrie (mm) | X ₁ | X ₂ | X ₃ | |
| plan factoriel | IV.10 | 55 | 40 | ≤ 0.295 | +1 | +1 | +1 | 3.10 |
| | IV.11 | 45 | 40 | ≤ 0.295 | -1 | +1 | +1 | 12.65 |
| | IV.12 | 55 | 20 | ≤ 0.295 | +1 | -1 | +1 | 2.23 |
| | IV.13 | 45 | 20 | ≤ 0.295 | -1 | -1 | +1 | 2.11 |
| | IV.14 | 55 | 40 | ≤ 0.16 | +1 | +1 | -1 | 4.54 |
| | IV.15 | 45 | 40 | ≤ 0.16 | -1 | +1 | -1 | 11.65 |
| | IV.16 | 55 | 20 | ≤ 0.16 | +1 | -1 | -1 | 2.04 |
| | IV.17 | 45 | 20 | ≤ 0.16 | -1 | -1 | -1 | 2.35 |
| répétition au centre | IV.18 | 50 | 30 | ≤ 0.227 | 0 | 0 | 0 | 3.72 |
| | IV.19 | 50 | 30 | ≤ 0.227 | 0 | 0 | 0 | 6.32 |
| | IV.20 | 50 | 30 | ≤ 0.227 | 0 | 0 | 0 | 4.18 |

Le meilleur rendement d'extraction est obtenue pour l'essai IV.11 correspondant au point (-1, +1, +1) : (45°C, 40 ml/gr, ≤ 0.295mm).

VII.1 Analyse des résultats par le logiciel STATGRAPHICS

Dans notre cas les facteurs sont :

x_1 : température (°C).

x_2 : l'hydromodule (ml/gr).

x_3 : la granulométrie (mm).

la réponse Y sera le rendement (%).

Le logiciel STATGRAPHIC nous a donné le modèle suivant :

$$Y = 4.99 - 2.11x_1 + 2.90 x_2 - 0.063 x_3 - 2.06 x_1 x_2 - 0.25 x_1 x_3 - 0.048 x_2 x_3 - 0.36 x_1 x_2 x_3$$

Avec un coefficient $R^2 = 96.11\%$.

VII.1.1 Validité du modèle

Un modèle mathématique ne peut être utilisé que s'il est adéquat, il est donc nécessaire de vérifier que les valeurs de Y calculés à partir d'une expression mathématique du modèle correspond bien aux valeurs déterminées expérimentalement.

Le modèle peut s'avérer inadéquat essentiellement pour les raisons suivantes :

- Le modèle ne tient pas compte d'un paramètre important
- Le degré du polynôme est insuffisant ou excessif
- L'erreur expérimentale est très importante

La qualité d'approximation donnée par le modèle est estimée par la variance résiduelle δ^2_{res} et la variance δ^2_y relative à la dispersion des résultats autour de leur moyenne, elle nécessite un certain nombre d'essais répétitifs

➤ Variance résiduelle

$$\delta^2_{res} = \sum_{i=1}^n \frac{(y_i - \hat{y})^2}{V_{res}} \dots \dots \dots (1)$$

\hat{y} : Réponses du système calculé à partir du modèle

V_{res} : degré de liberté : $V_{res} = n - k \dots \dots \dots (2)$

n est le nombre total d'essais dans notre cas : $n = 1$

➤ **Variance relative**

$$\delta^2 y = \sum_{i=1}^m \frac{(y_i - \bar{y})^2}{V_y} \dots \dots \dots (3)$$

m : nombre d'essais répétitifs

\bar{y} : la moyenne des essais répétitifs $\bar{y} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m y_i \dots \dots \dots (4)$

y_i : résultats des essais répétitifs

$V_y = m - 1 \dots \dots (5)$

La validité du modèle est vérifié par le test de Fisher , qui permet d'apprécier l'écart entre δ^2_{res} et δ^2_y

Le test consiste à comparer la valeur du rapport $F = \frac{\delta^2_{res}}{\delta^2_y} (6)$ calculé à la valeur tabulée $F\alpha(V_{res} - V_y)$ correspondant à un seuil de confiance de 5%

Le modèle n'est valable que si la condition $F < F\alpha$ est vérifiée.

➤ **Application du teste**

Tableau IV.6 : valeurs expérimentales et valeurs calculées du rendements à partir du modèle

| essais | y_i | \hat{y} |
|--------|-------|-----------|
| IV.10 | 3.10 | 3.01 |
| IV.11 | 12.65 | 12.55 |
| IV.12 | 2.23 | 2.14 |
| IV.13 | 2.11 | 2.01 |
| IV.14 | 4.54 | 4.44 |
| IV.15 | 11.65 | 11.56 |
| IV.16 | 2.04 | 1.95 |
| IV.17 | 2.35 | 2.26 |
| IV.18 | 3.72 | 4.99 |
| IV.19 | 6.32 | 4.99 |
| IV.20 | 4.18 | 4.99 |

Les expériences IV.11, IV.18, IV.19 et IV.20 sont des essais répétitifs

Les variances δ^2_{res} et δ^2_y sont calculées par les relations (1) et (3)

La relation (2) nous donne $V_{res} = 11 - 8 = 3$

D'où $\delta^2 \text{res} = 1.37$

$m = 4$

La relation (5) nous donne $Vy = 5 - 1 = 4$

$\delta^2 y = 0.97$

F se calcul par la relation (6) $F = 1.41$

La valeur tabulée du teste de Fisher pour les degrés de liberté $F\alpha(3,4)$ pour un seuil de confiance $\alpha = 0.05$ $F\alpha(3,4) = 6.59$

On voit bien que $F < F\alpha$ donc le modèle est valable.

VIII. Détermination de l'optimum

Le calcul de l'optimum d'une fonction de n variables $f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_n)$ se fait par calcul des points stationnaires de la fonction (condition nécessaire) et examiner par la suite les dérivées d'ordre supérieur (condition suffisante)

Pour la fonction correspondant au plan factoriel, nous avons résolu le système compris de trois équations en annulant les dérivées partielles de cette fonction par rapport à x_1, x_2, x_3

$$\begin{cases} \frac{\partial y}{\partial x_1} = -2.11 - 2.06x_2 - 0.25x_3 - 0.36x_2x_3 = 0 \\ \frac{\partial y}{\partial x_2} = 2.9 - 2.06x_1 - 0.048x_3 - 0.36x_1x_3 = 0 \\ \frac{\partial y}{\partial x_3} = -0.063 - 0.25x_1 - 0.048x_2 - 0.36x_1x_2 = 0 \end{cases}$$

La résolution de ce système nous donne deux points stationnaires correspondant en variables réduites à :

$$(x_1 = 0.63; x_2 = -0.85; x_3 = 5.83); (x_1 = -0.84; x_2 = -0.63; x_3 = -30.83)$$

La deuxième solution est rejetée car elle nous donne en valeur réelle un diamètre négatif

Le point stationnaire correspond en valeur réelle à

$$(T = 53.15^\circ\text{C}; \text{Hydromodule} = 21.5 \text{ ml/gr}; \text{granulométrie} = 0.623\text{mm})$$

Après analyse des dérivées d'ordre deux de la fonction étudiée nous remarquons que cette fonction n'admet pas d'optimum dans l'intervalle de travail.

Donc pour la suite de notre travail, nous allons prendre en considération l'optimum du tableau IV.5 qui est celui de l'essai IV.11 qui correspond à un rendement de 12.65% ; cet essai a été refait et nous avons obtenu un rendement de 12.89%.

La représentation graphique (figure IV.3) de l'erreur relative commise sur le rendement d'extraction montre que celle-ci ne dépasse pas 1.6%.

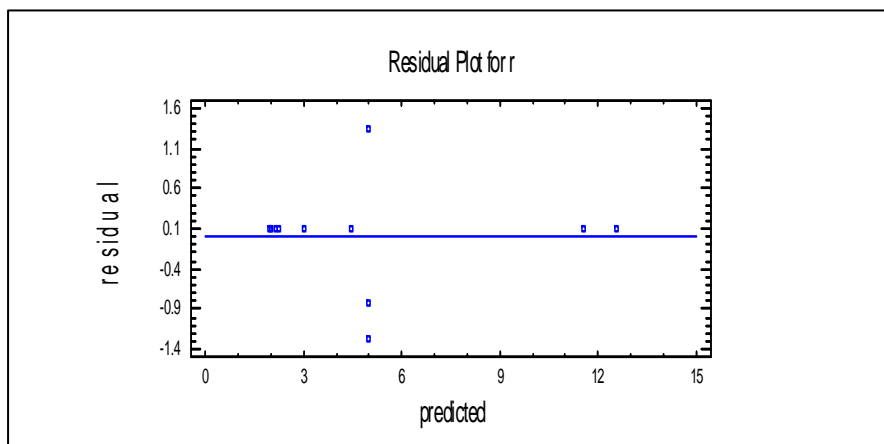


Figure IV.3 : erreur relative des différents essais

D'après les résultats trouvés précédemment, on voit bien sur la figure IV.7 (diagramme de PARETO) donnant la représentation des effets standardisés, ces effets sont significatifs s'ils dépassent le trait vertical, que le paramètre qui influe plus sur l'extraction est l'hydromodule, la granulométrie influe peu sur cette extraction.

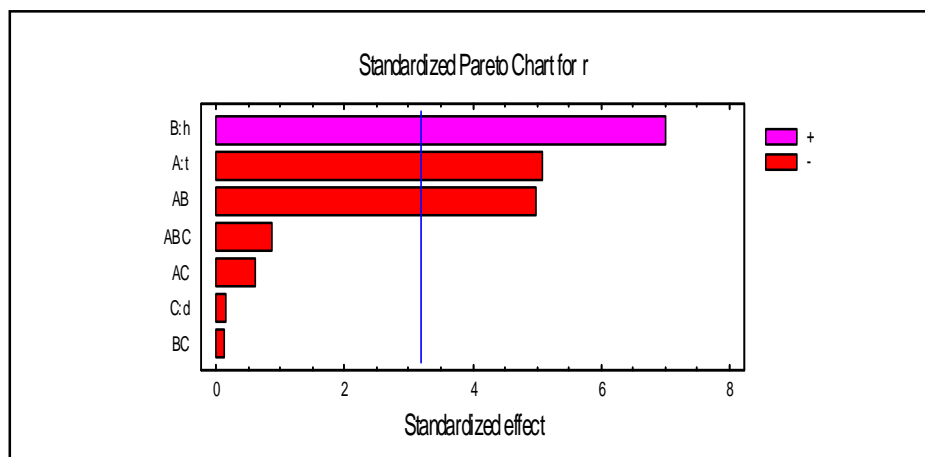


Figure IV.7 : effets standardisés

Donc le modèle peut s'écrire comme suit :

$$Y = 4.99 - 2.11x_1 + 2.90 x_2 - 2.06 x_1 x_2$$

IX. Etude de la cinétique d'extraction

Nous avons suivi la cinétique de trois extractions :

Tableau IV.7: évolution du rendement de l'extraction des polyphénols en fonction du temps à différents conditions opératoires

| temps (mn) | rendement en polyphénols, % | | |
|------------|--|---|--|
| | T=45°C, Hydromodule=20ml/g, granulométrie ≤ 0.16mm | T=50°C, Hydromodule=30ml/g, granulométrie≤0.227mm | T=55°C, Hydromodule =40ml/g, granulométrie≤ 0.16mm |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | / | 1.85 | / |
| 60 | 1.86 | 2.23 | 2.97 |
| 90 | 2.11 | 2.42 | 9.17 |
| 120 | 2.35 | 2.60 | 5.08 |
| 150 | 2.35 | 3.72 | 5.70 |
| 180 | 2.35 | 4.65 | 4.95 |

Sur la base de ces données, nous avons tracé les figures suivantes IV.4, IV.5 et IV.6

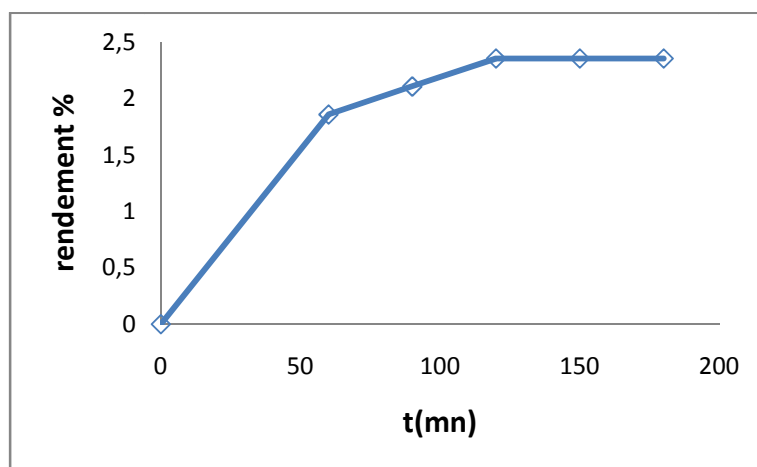


Figure IV.4 : évolution au cours du temps du rendement des polyphénols extrait du grignon d'olive à T= 45°C

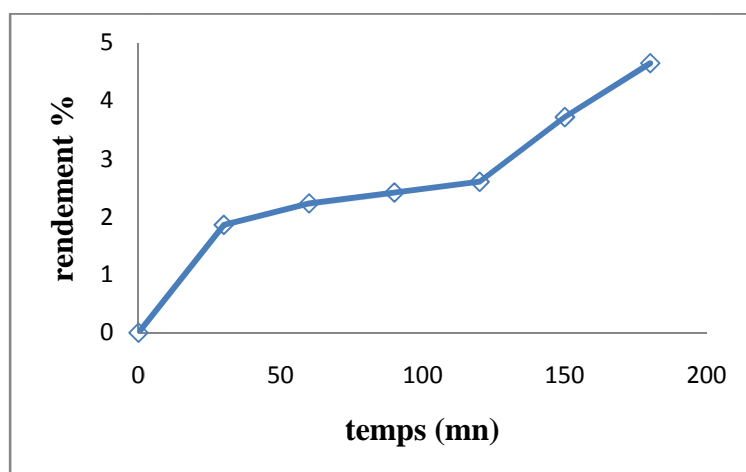


Figure IV.5: évolution au cours du temps du rendement en polyphénols extrait du grignon d'olive à T=50°C

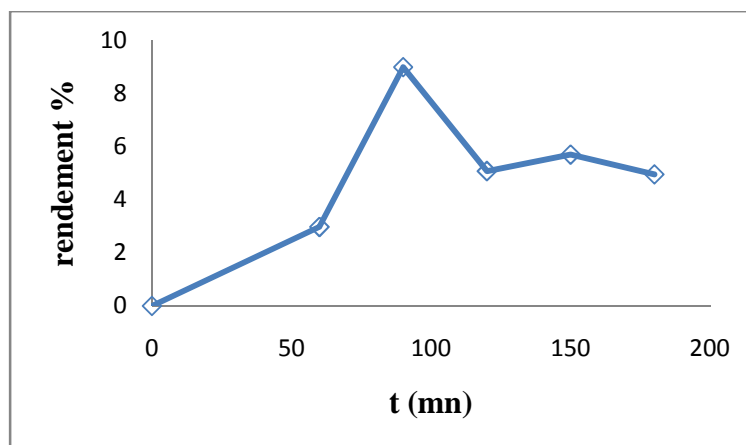


Figure IV.6: évolution au cours du temps du rendement en polyphénols extrait du grignon d'olive à T= 55°C

En examinant l'allure de la courbe relative à l'extraction des polyphénols à 45°C représentée par la figure IV.4, on peut constater que le rendement évolue plus rapidement au début de l'extraction, cela est due probablement à la diffusion des polyphénols à poids moléculaire réduit à travers les particules, et se stabilise après une durée de 120 mn.

En effet, en observant la figure IV.5 relative à l'extraction des polyphénols à 50°C, on voit bien que le rendement évolue rapidement au début de l'extraction mais il présente une stabilité entre 60 et 120 mn et une augmentation jusqu'à 180mn, cela est peut être du à l'augmentation de la température.

Cela peut être confirmé par la figure IV.6 de l'extraction des polyphénols à 55 °C qui présente un pic où le rendement est très élevé à 90 mn, mais au delà de cette période on observe une diminution qui serait due à une transformation des polyphénols sous l'effet de la température. Le rendement se stabilise à partir de 120 mn.

De cette étude cinétique, on peut conclure que le temps d'équilibre est fonction de la température.

Nous avons trouvé dans la bibliographie [47], que l'extraction des polyphénols peut se faire avec des solutions de pH variant de 1.5 à 5, nous avons fait un essai avec un pH de 3 le résultat est dans le tableau IV.8 :

Tableau IV.8 : résultat de l'extraction des polyphénols à un pH=3

| essai | température °C | Hydromodule ml/gr | granulométrie (mm) | rendement % |
|-------|----------------|-------------------|--------------------|-------------|
| IV.21 | 45 | 40 | ≤ 0.295 | 11.16 |

On voit bien que le rendement est faible par rapport à celui de l'essai IV.11 où le rendement est de 12.65%.

X. Conclusion

L'extraction des polyphénols du grignon d'olive sera faite par le solvant eau-acétone (25/75) dans les conditions suivantes pour faire les tests d'évaluation de l'activité antioxydante :

- Température : 45°C
- Hydromodule : 40ml/g
- Granulométrie : ≤ 0.295mm
- Agitation : 900tr /mn

Après cette étude, la concentration finale obtenue pour cette extraction est de 2.47g/l.

Notre plan d'expériences a abouti à un modèle du premier ordre, de se fait l'optimum n'a pas pu être cerné avec précision, il faut donc élargir le domaine d'étude en testant le modèle du second ordre. Nous suggérons de rajouter un quatrième paramètre dans le plan factoriel qui est le pH.

I. Introduction

La valorisation des polyphénols extraits du grignon d'olive en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales se fera à travers l'évaluation de leur effet antioxydant en déterminant l'indice de peroxyde et l'indice d'acidité de deux huiles commerciales, l'huile A (mélange de tournesol et soja), l'huile B et une huile brute C de soja.

Nous avons fait une distillation atmosphérique de l'extrait pour enlever l'acétone et nous avons mis l'extrait dans un dessiccateur puis dans l'étuve à 40°C pour enlever les traces d'eau.

Pour cela nous allons ajouter ces polyphénols, selon des concentrations convenables aux trois huiles, et nous allons suivre l'évolution de l'oxydation dans le temps, pour cela nous allons faire passer nos échantillons à l'étuve (test accélérer) à 98°C.

II. Caractéristiques des huiles utilisées

Tableau V.1 : Caractéristiques des huiles utilisées

| Huile | Indice d'acidité % acide (ac.) oléique | Indice de peroxyde meqO ₂ /Kg |
|--------------------------------|---|---|
| A (tournesol+soja) | 0.2256 | 4 |
| B (mélange d'huiles végétales) | 0.2256 | 4 |
| C brute* (soja) | 0.282 | 34.66 |

*l'huile brute est une huile non traitée(non raffinée, non neutralisée...)

III. Analyse des huiles

On prépare deux concentrations de composées phénoliques (200 et 400 ppm) qui sont ajoutées aux trois huiles ainsi qu'une série de témoins dans le but de comparer et d'apprécier leurs effets antioxydants. [48]

III.1 Evolution de l'indice de peroxyde

Les résultats sont portés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau V.2 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile A durant le stockage à 98°C.

| temps (jours) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
|---------------------------------------|----|-----|-----|-----|-----|
| huile A (témoin) | 4 | 98 | 156 | 136 | 204 |
| huile A (200ppm polyphénols extraits) | 24 | 130 | 136 | 150 | 300 |
| huile A (400ppm polyphénols extraits) | 12 | 80 | 156 | 176 | 300 |
| huile A (400 ppm acide tannique) | 24 | 54 | 136 | 136 | 116 |

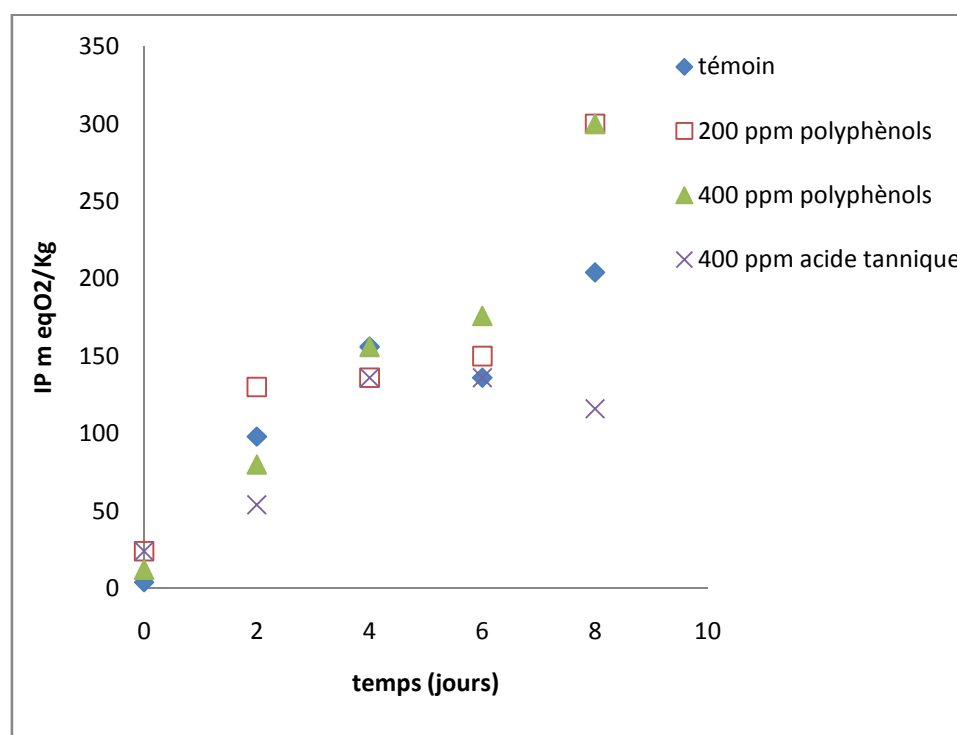


Figure V.1 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile A durant le stockage à 98°C

Tableau V.3 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile B durant le stockage à 98°C

| temps (jours) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
|---------------------------------------|---|-----|-----|-----|-----|
| huile B (témoin) | 4 | 60 | 96 | 140 | 172 |
| huile B (200ppm polyphénols extraits) | 8 | 138 | 132 | 208 | 208 |
| huile B (400ppm polyphénols extraits) | 6 | 150 | 216 | 216 | 272 |
| huile B (400 ppm acide tannique) | 8 | 154 | 148 | 560 | 408 |

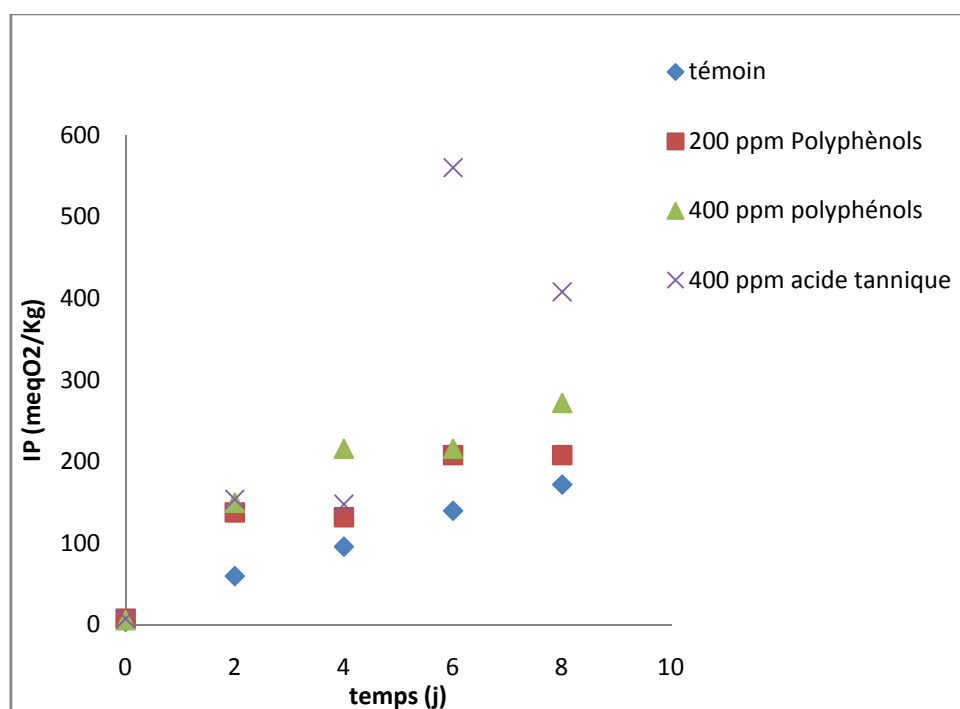
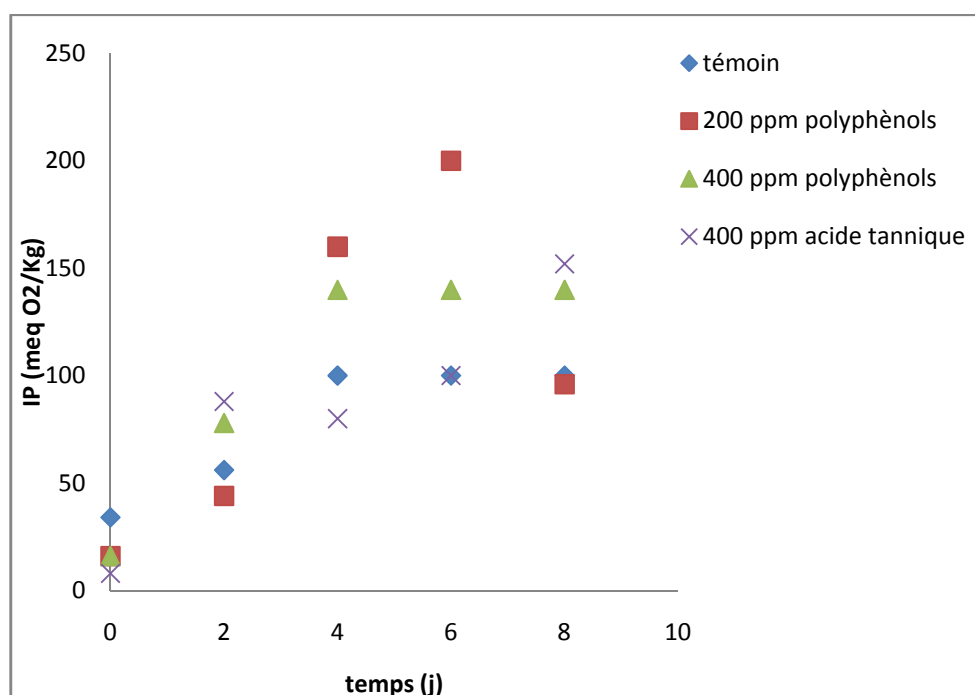
**Figure V.2** : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile B durant le stockage à 98°C

Tableau V.4 : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile C durant le stockage à 98°C

| temps (jours) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
|---------------------------------------|----|----|-----|-----|-----|
| huile C (témoin) | 34 | 44 | 100 | 100 | 100 |
| huile C (200ppm polyphénols extraits) | 16 | 56 | 160 | 200 | 96 |
| huile C (400ppm polyphénols extraits) | 16 | 78 | 140 | 140 | 140 |
| huile C (400 ppm acide tannique) | 8 | 88 | 80 | 100 | 152 |

**Figure V.3** : évolution de l'indice de peroxyde de l'huile C durant le stockage à 98°C

III.1 Discussion des résultats obtenus

La lecture du tableau V.2 montre que l'huile sans additifs a le plus faible indice de peroxyde ; les polyphénols ajoutés ne jouent pas le rôle d'antioxydant.

L'échantillon en présence d'acide tannique utilisé comme référence montre que cet acide n'est pas un antioxydant.

L'évolution en fonction du temps de l'IP montre une grande variation dans les premiers jours ; entre 2 et 6 jours cette variation est plus lente et réaugmente par la suite.

Il serait intéressant de pousser cette étude et de voir s'il y a une stabilité au-delà.

Les tableaux V.3 et V.4 avec l'huile B et C respectivement confirment les résultats de l'huile A à savoir que l'acide tannique n'est pas un antioxydant.

Concernant les polyphénols ajoutés, les échantillons donnent un IP supérieur à celui de l'huile sans additifs.

III.2 Evolution de l'indice d'acidité

Tableau V.5 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile A durant le stockage à 98°C

| temps (jours) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
|---------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| huile A(témoin) | 0.2256 | 0.2256 | 0.4512 | 0.564 | 0.4512 |
| huile A (200ppm polyphénols extraits) | 0.1128 | 0.2256 | 0.564 | 0.564 | 0.564 |
| huile A (400ppm polyphénols extraits) | 0.2256 | 0.2256 | 0.4512 | 0.564 | 0.6768 |
| huile A (400 ppm acide tannique) | 0.2256 | 0.2256 | 0.4512 | 0.6768 | 0.564 |

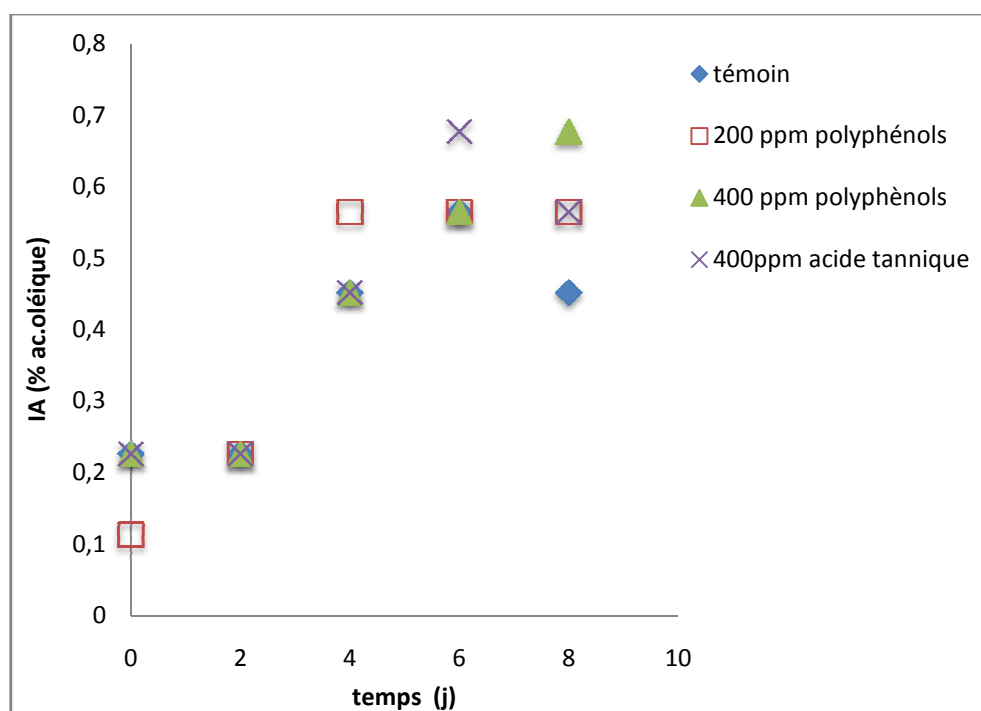


Figure V.4 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile A durant le stockage à 98°C

Tableau V.6 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile B durant le stockage à 98°C

| temps (jours) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
|---------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| huile B (témoin) | 0.2256 | 0.4512 | 0.4512 | 0.4512 | 0.4512 |
| huile B (200ppm polyphénols extraits) | 0.2256 | 0.4512 | 0.564 | 0.564 | 0.7896 |
| huile B (400ppm polyphénols extraits) | 0.2256 | 0.4512 | 0.4512 | 0.4512 | 0.7896 |
| huile B (400 ppm acide tannique) | 0.2256 | 0.4512 | 0.6768 | 0.6768 | 1.5792 |

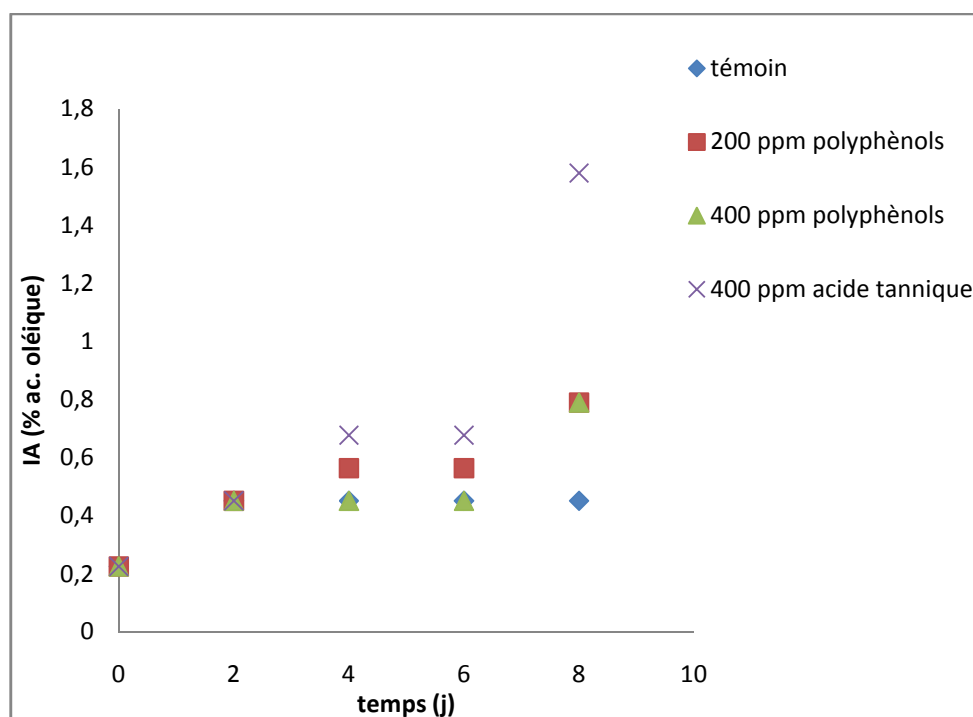
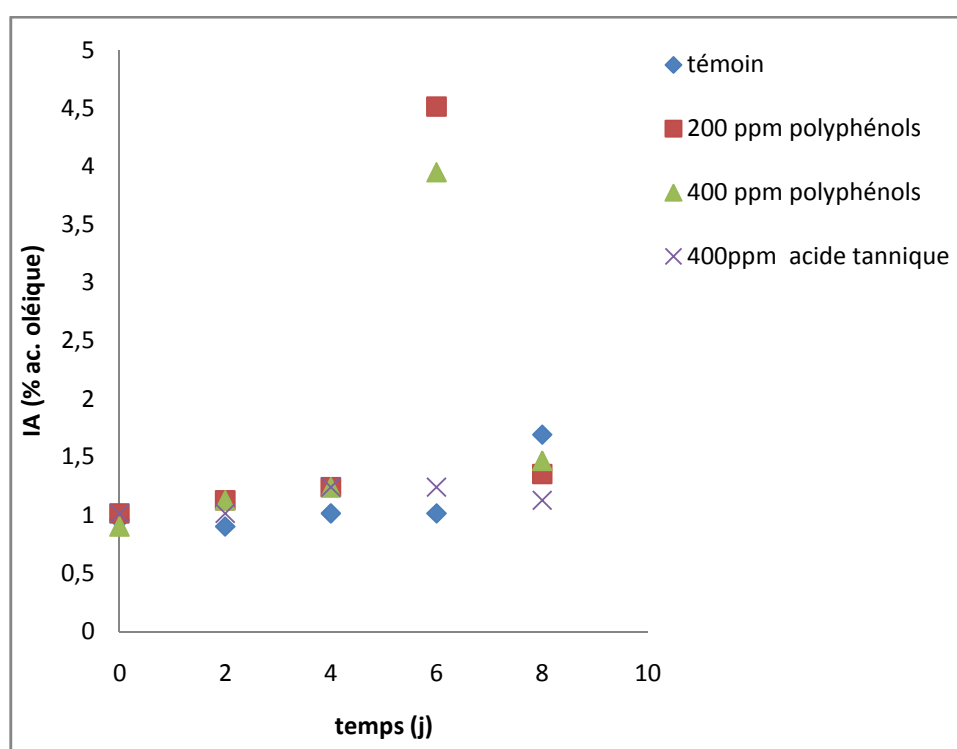
**Figure V.5** : évolution de l'indice d'acidité de l'huile B durant le stockage à 98°C

Tableau V.7 : évolution de l'indice d'acidité de l'huile C durant le stockage à 98°C

| temps (jours) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
|---------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| huile C (témoin) | 0.9588 | 0.9024 | 1.0152 | 1.0152 | 1.692 |
| huile C (200ppm polyphénols extraits) | 1.0152 | 1.128 | 1.2408 | 4.512 | 1.3536 |
| huile C (400ppm polyphénols extraits) | 0.9024 | 1.128 | 1.2408 | 3.948 | 1.4664 |
| huile C (400 ppm acide tannique) | 1.0152 | 1.0152 | 1.2408 | 1.2408 | 1.128 |

**Figure V.6** : évolution de l'indice d'acidité de l'huile C durant le stockage à 98°C

III.2.1 Discussion des résultats obtenus

Les tableaux V.5, V.6 et V.7 montrent que l'ajout de l'acide tannique et polyphénols augmente l'indice d'acidité car les polyphénols contiennent des acides.

Remarque

Vu les faibles quantités des produits disponibles, chaque mesure n'a été effectuée qu'une seule fois. L'erreur expérimentale n'a pas été évaluée; certaines variations peuvent être dues à des erreurs expérimentales.

IV. Conclusion

En analysant les résultats d'indice de peroxyde et d'indice d'acidité trouvés précédemment, nous constatant que les polyphénols extraits n'ont pas d'effet antioxydant sur les huiles utilisées, cela est peut être du à la durée du stockage insuffisante ou à la nature des polyphénols extraits.

Nous suggérons de ne pas s'intéresser qu'au rendement de l'extraction en polyphénols, mais aussi à la qualité de ces derniers du point de vu pouvoir antioxydant.

Ce travail a porté sur l'extraction des polyphénols du grignon d'olive et l'évaluation de leur effet antioxydants dans trois huiles végétales.

L'extraction a été faite par plusieurs solvants eau-acétone, eau-méthanol et eau-éthanol, les rendements obtenus ne varient pas trop avec ces solvants, nous avons donc choisi de travailler avec le solvant eau-acétone (25/75) v/v, nous avons recherché les conditions opératoires optimales à l'extraction pour cela nous avons procédé à une série d'expérience où nous avons fait varier les paramètres opératoires pour le choix du point central, nous avons élaboré par la suite une planification factorielle des expériences. Le meilleur rendement obtenu est de 12.65% avec les conditions opératoires suivantes (température=45°C, hydromodule = 40ml/g et une granulométrie $\leq 0.295\text{mm}$).

Nous avons essayé d'optimiser l'extraction par analyse des résultats par le logiciel STATGRAPHICS, le modèle mathématique obtenu est valable mais ne permet pas le calcul de l'optimum car il est du premier ordre, il faut donc à l'avenir tester d'autres modèles.

Nous avons donc utilisé les polyphénols du meilleur rendement obtenu pour la valorisation.

L'étude de la cinétique de l'extraction des polyphénols montre que le temps d'équilibre est fonction de la température, en effet à une température de 45°C l'équilibre était atteint à 120mn d'extraction, par contre à 55°C on observe un rendement élevé à 90mn qui diminue par la suite, et qui serait dû à la transformation des polyphénols sous l'effet de la température.

Par la suite, nous avons voulu valoriser les polyphénols extraits comme antioxydants dans trois huiles végétales, deux concentrations de polyphénols extraits ont été préparés (200ppm et 400 ppm) et ajoutés aux trois huiles utilisées, l'évaluation de l'oxydation au cours du stockage dans l'étuve à 98°C est faite par mesure de l'indice de peroxyde et de l'indice d'acidité.

Nous avons constaté que ces polyphénols extraits ne jouent pas de rôle d'antioxydant sur les huiles utilisées, cela est peut être du à la nature des polyphénols extraits ou à la durée insuffisante de stockage.

Cette étude, loin d'être achevée a permis d'approcher les conditions opératoires de l'extraction des polyphénols du grignon d'olive et d'essayer d'utiliser ces polyphénols comme antioxydants dans les huiles végétales.

En outre, ce travail ouvre la voie à des futures recherches, dans le domaine de l'extraction des polyphénols, leurs utilisations dans le domaine de l'agroalimentaire en vue de la valorisation du grignon d'olive.

- [1]. **Fiorentino, A., Gentili, A., Isidori, M., Monaco, P., Nardelli, A., Parrella, A. et Temussi, F.** « Environmental effects caused by olive mill wastewaters: toxicity comparison of low-molecular-weight phenol components ». *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 51, pp.1005-1009. (2003)
- [2]. **Visioli, F., Romani, A., Mulinacci, N., Zarini, S., Conte, D., Vincieri, F. et Galli, C.** « Antioxidants and other biological activities of olive mill waste waters ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, pp. 3397-3401. (1999).
- [3]. **Mulinacci, N., Romani, A., Galardi, C., Pinelli, P., Giaccherini, C. et Vincieri,** «Polyphenolic content in olive oil waste waters and related olive samples». *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 49, pp. 3509-3514. (2001).
- [4]. **A. NEFZAOUI** . «valorisation des sous produits de l'olivier »,LABORATOIRE DE NUTRITION ANIMALE INRA DE TUNISIE, 1991.
- [5]. **IBOUKHOULEF HAMIDA** , «influence du carbonate du sodium anhydre sur l'extraction de l'huile à partir du grignon d'olive », mémoire de magister, Université mouloud Mammeri Tizi -Ouzou
- [6]. [http://: www.fao.org](http://www.fao.org)
- [7]. **Samira ETAHIRI et Jamal AMINE**, «production des déchets organiques biodégradables par l'industrie agroalimentaire au maroc» , mai 2006
- [8]. **Dr Ahmed TRIGUI**, «Etude en vue de l'élaboration d'un plan d'action pour l'utilisation énergétique des sous produits de l'oliveraie tunisienne », Décembre 2008.
- [9]. **R. Derriche , K.S. Berrahmoune**, Valorisation of olive oil cake by extraction of hemicelluloses, *Journal of Food Engineering* 78 (2007) 1149–1154.
- [10]. **J BRUNETON** « pharmacognesie, phytochimie, plante médicinales » ed médicales internationale, 1999
- [11]. **E HASLAM** « pratical polyphenolic :from structure to molecular recognition and physiological function»Cambridge university press,UK, 1998
- [12]. **A .E.HAGERMAN** : «tannin handbook. Department of chemistry and biochemistry», Miami university. 2001

- [13]. **R DUVAL**. « Dictionnaire de la chimie et ses applications», 3 ed , paris,1978
- [14]. **J ADRIAN** . «dictionnaire de biochimie alimentaire et de nutrition». Paris ,1985
- [15]. **JEAN- JACQUES MARCHEIX** . « les composés phénoliques des végétaux
- [16]. **K.WINNACKER**, « chimie organique », traité de chimie appliqué, ed EYROLLES, 1969
- [17] .**M. PARIS , M ,HURABIELLE** . « abrégé de matières médicale (pharmacognosie) »
Faculté de pharmacie chatenay- malabry. Ed , MASSON 1981
- [18]. <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.html>
- [19]. **J.D. REED, P.J. HORVATH, P.J VAN SOEST, M.S. ALLEN**. « Gravimetric determination of soluble phenolics including tannins from leaves by precipitation with trivalent ytterbium ». journal of the science of food and agriculture, 36:255-261,198
- [21]. www.lavoisier.fr
- [20].**K.T. CHUNG, J.Y.WONG,C. LWELY,WENHUNGAND**. «tannins and human health» Critical reviews in food science and nutrition Vol.38.n°6, 1998
- [22]. **Ribéreau-Gayon** «Les composés phénoliques des végétaux». Editions Dunod, Paris 254 pp 1968
- [23]. **J. LEYBROOS et P. FREMEAUX**. «Extraction solide-liquide ». Technique de l'ingénieur. Paris. J 2780, 1990.
- [24]. **P. TRAMBOUZ et J.P. WAUQUIER**. « Le développement des procédés de raffinage et pétrochimie ». Ed technip, 1975
- [25]. **I. JULIEN et G. GAVEND**. « Le cuir origine et fabrication ». Centre technique de cuir, 1980
- [26]. **B. MONTIES**. « Les polyphénols végétaux ». Ed Gauthier Villars, Paris, 1980
- [27]: **M. PARIS, M. HURABIELLE**. « Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) ». Faculté de Pharmacie Chatenay-Malabry. Ed, MASSON 1981

[28]: **G. SRISUWAN**. « Extraction solide-liquide en colonne puisée à disque et couronnes : Modélisation et application au cas des tanins ». Thèse doctorat. INP, Toulouse.1988

[29]: **D.K. SALUNKHE, S.J. JADHAV, S.S. KADAM, J.K. CHAVAN**. « Chemical, biochemical, and biological significance of polyphénols in cereals and legumes ». Critical reviews in food science and nutrition, Vol. 17, n°3, 1986.

[30]. **G. A. Akowuah, A. Mariam, J.H. Chin**, «the effect of extraction temperature on total phenols and antioxidant activity of gynura procumbens leaf», School of Pharmacy, University College Sedaya International, Malaysia ,mars 2009

[31] : **S.L. LOUCIF**. « Extraction des tanins d'écorce d'Alep ». Thèse de magistère. Ecole Nationale Polytechnique, 2002

[32] :**D.H STRUMEYER ET M.J. MALIN**. « condensed tannins in grain sorghum : isolation, fractionation, and characterization» journal of agriculture and food chemistry, vol.23.n°5, 1975

[33] **R.JULKUNEN-TIITO**. «Phenolic constituents in the leaves of northern willows. Method for analysis of certain phenols». journal of agriculture and food chemistry, vol 33, 1985

[34].**R.MEDDOUR** , « régénération naturelle de cedrus atlantica et de divers pins après incendie dans l'arboretum de Meurdja » . thèse de magistère, INA,1992

[35].**R.KUMAR ET T.HORIGOME**. « fractionation , characterization, and protein precipitating capacity of the condensed tannins from Robinia pseudo acacia L.leaves. » journal of the agriculture and food chemistry Vol. 34.487-489, 1986.

[36]. **J.L PEUCH, F.FEULLAT, J.R MSEDAL, C.PUECH**. «extraction of ellagitannins from oak wood of model casks ». Vitis. Vol.35,n°4, 1996.

[37]. **H.P.S MAKKAR, M. BLUMMEL, N.K.BOROWY AND K.BECKER**. « isolation of tannins from leaves of some trees and shrubs and their properties » journal of the agriculture and food chemistry Vol. 42.731-734, 1994.

[38].Rapport ministériel. Etat, conservation et gestion des écosystèmes forestiers, steppique et sahariens en Algérie . ministère de l'agriculture et de la pêche. 1997.

[39].**B.I.GINER-CHAVEZ ,P.J. VAN SOEST, J.B ROBERTSON, C. LASCANO, J.D REED et A.N. PELL.** « a method for isolation condensed tannins from crud plant extracts with trivalent Yetterbium » journal of the science of food and agriculture, Vol. 74, 359-368, 1997

[40].**A.CARMAN,D.S.SEIDI,W.G.JAFFE.** « comparaison of extraction methods and assay. Procedure for the determination of the apparent tannin content of common beans» journal of the science of food and agriculture, Vol. 56, N°3, 1991

[41].**H.WANG, K.HELLIWELL, X. XON .** «isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC» food chemistry. » Vol, 68, N°1,2000.

[42]. **G. SRIPAD, V. PRAKASH and M. S. NARASINGA RAO,** Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents, Protein Technology Discipline, Central Food Technological Research Institute, 16 December 1981.

[43]. **Naima DOHOU, Khalid YAMNI, Najib GMIRA & Lalla Mina IDRISSE HASSANI** , étude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro marocaine, *thymelaea Lythroides*, Málaga, 2004

[44]. **John Shi , Jianmei Yu, Joseph Pohorly, J. Christopher Young , Mike Bryan and Ying Wu,** « Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution», Food, Agriculture & Environment Vol.1(2) : 42-47. 2003.

[45]. **DIMITRIS P. MAKRIS AND PANAGIOTIS KEFALAS,** « Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a Source of Polyphenolic Antioxidant », *Food Technol. Biotechnol.* 42 (2) 105–108 (2004)

[46]. http://www.labo-nutrinov.com/data/files/BIBFILE_FILE_KTHH8f0.pdf

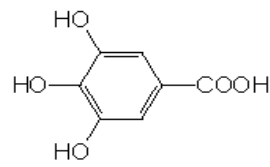
[47]www.wipo.org

[48]. **Mlle Denise NASSIF,** «Valorisation des polyphénols extraits des margines en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales», Mémoire De Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) , L'Institut de Recherches Agronomiques Libanais (IRAL), Septembre 2004

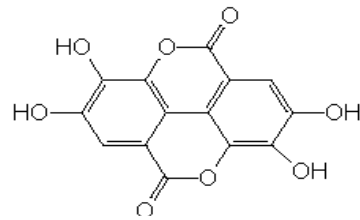
[49] Site web: http://fr.wikipedia.org/wiki/Appareil_de_Dean_Stark

[50] Site web : <http://www.faidherbe.org/site/cours/dupuis/alcools.htm> (image)

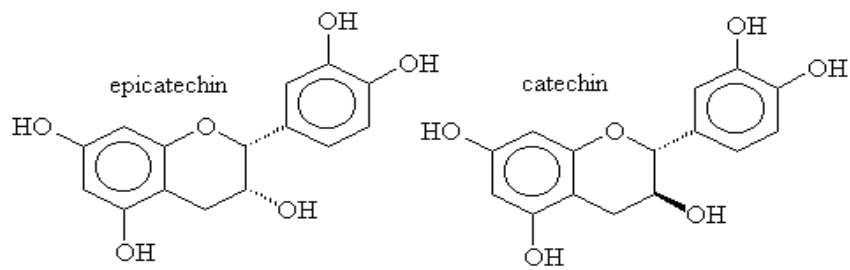
Annexe 1 : structure de quelques molécules qui forment les tanins



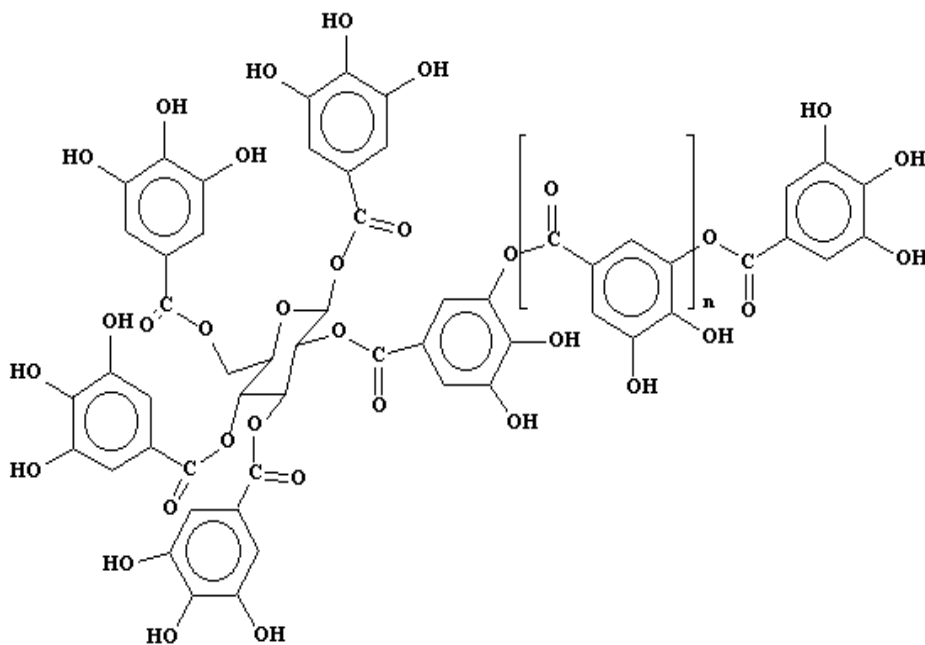
Acide gallique



Acide ellagique



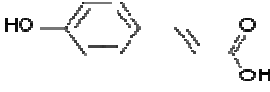
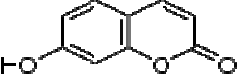
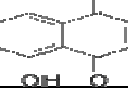
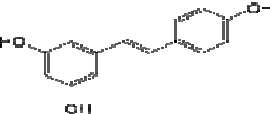
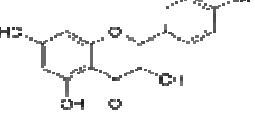
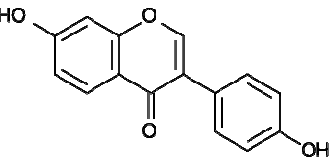
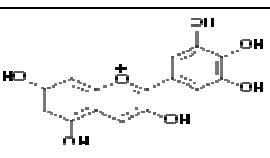



Flavane-3-ols (tanin condensés)



gallotannin

Annexe 2 : structure et origine de quelques polyphénols

| Classe | Exemple | Formule | Origine |
|---------------------------|--------------------------|--|---------------------------|
| Phénols simples | Hydroquinone |  | Busserole |
| Acides hydroxybenzoïques | acide p-hydroxybenzoïque |  | Epices, fraises |
| Acides hydroxycinnamiques | acide p-coumarique |  | Tomates, ail |
| Coumarines | Ombelliférone |  | Carottes, coriandre |
| Naphtoquinones | Juglone |  | Noix |
| Stilbénoides | trans-resvératrol |  | Raisin |
| Flavonoïdes | Kaempférol |  | Fraises |
| Isoflavonoïdes | Daidzéine |  | Graines de soja |
| Anthocyanes | Delphinidol |  | Raisin Cabernet-Sauvignon |
| Lignanes | Entérodiol |  | Bactéries intestinales |

Annexe 3 : taux d'humidité

L'appareil de Dean Stark est un montage de verrerie de laboratoire utilisé en chimie des synthèses pour extraire l'eau (ou parfois d'autres liquides) du milieu réactionnel. Il est utilisé en association avec un réfrigérant à eau et un chauffe-ballon afin d'éliminer l'eau produite par une réaction chimique s'effectuant en chauffage à reflux.

Au cours de la réaction, des vapeurs contenant le solvant et l'espèce à extraire montent jusqu'au condenseur et, une fois liquéfiées, tombent dans le cylindre gradué. A l'intérieur de celui-ci les liquides non-miscibles se séparent en phases. Lorsque la phase supérieure (moins dense) (dans notre cas le xylène) atteint le niveau du bras, elle coule dans celui-ci et retourne dans le ballon réacteur, alors que la phase inférieure reste dans le cylindre (dans notre cas l'eau).

On laisse que les phases se séparent bien ensuite on lit sur les graduations le volume qui correspond au volume d'eau contenu dans la matière végétale.

On lit la température à laquelle la lecture était faite et on prend la densité de l'eau à cette température :

Le calcul se fera ainsi : $H = \frac{V_{eau}}{m} * d_{eau}^T$

m : masse de la matière végétale mise dans le ballon [49]

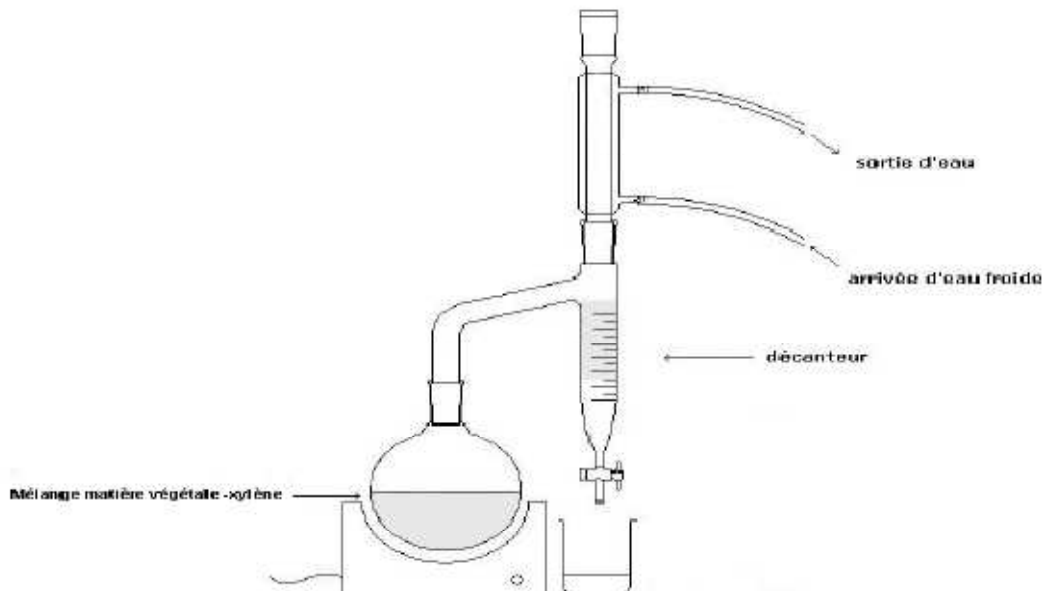
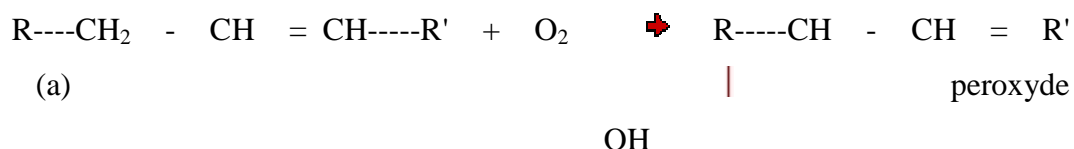


Figure annexe : Montage de Dean et Stark [50]

Annexe 4

L'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (encore appelé indice de Léa) est recherché pour évaluer l'état de conservation d'une matière grasse au cours du stockage. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant (UV, eau, enzyme, trace de métaux,...). Cette oxydation appelée *autooxydation* ou *rancissement aldéhydique* conduit dans un premier temps à la formation de *peroxydes* (ou hydroperoxydes) par fixation d'une mole d'oxygène sur le carbone situé en position α par rapport à une liaison éthylénique des acides gras insaturés constitutifs du glycéride.



Principe : La première étape de cette oxydation peut-être suivie par la recherche et le dosage des peroxydes formés. Ces composés en présence d'iodure de potassium en milieu acide libèrent l'iode qui est ensuite dosée par une solution de thiosulfate de titre connu T.

C'est la quantité de produit présent dans l'échantillon exprimée en milléquivalents d'oxygène actif par Kg de corps gras.

- **Mode opératoire [49]**

5g d'huile sont mis en solution dans un mélange de 25 mL acide acétique/chloroforme (3/2 v : v) et 1 mL d'une solution saturée d'iodure de potassium. Après réaction pendant 5 min. à l'obscurité, 75 mL d'eau distillée sont ajoutés et l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium 0,1 N de en présence d'empois d'amidon comme indicateur. Un essai témoin (sans matières grasses) est réalisé dans les mêmes conditions.

L'indice de peroxyde IP est déterminé selon la formule

$$IP = \frac{(n - n') * N * 1000}{m}$$

IP : Indice de peroxyde exprimé en milliéquivalents de peroxydes par Kg de matières grasses.

m : Prise d'essai en grammes.

N : Normalité de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

n : Nombre de ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ versés au titrage.

n' : Nombre de ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utilisés pour le blanc.

L'indice d'acidité [49]

L'indice d'acide IA représente la masse de potasse (KOH), exprimée en milligrammes (mg), nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans 1 gramme de matière grasse.

Le principe est celui d'un dosage acido-basique. C'est une réaction de neutralisation dont le schéma réactionnel est le suivant :



C'est le pourcentage d'acide gras libre, exprimé selon la nature du corps gras en acide oléique, palmitique ou laurique.

• Mode opératoire

Après dissolution de 5 g d'huile dans 50 mL d'éthanol 95⁰, les acides gras présents sont titrés à l'aide d'une solution de NaOH (0,1N) en présence de phénophtaléine. Un essai témoin (sans matières grasses) a été exécuté dans les mêmes conditions.

L'acidité, désignée par le pourcentage en acide oléique, est déterminée selon la formule :

$$A\% = \frac{V * N * P}{10 * m}$$

V : nombre de mL de la solution NaOH.

m : prise d'essai en grammes.

N : normalité de la solution NaOH.

P: poids moléculaire adopté pour l'expression de l'acidité avec M acide oléique = 282g/mole.