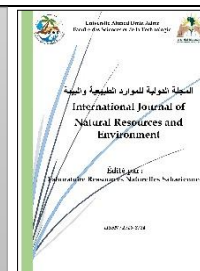




International Journal of Natural Resources and Environment

Journal home page: <https://ijnre.univ-adrar.dz>
ISSN 2710-8724



I
J
N
R
E

Étude quantitative et activité antioxydante des molécules bioactives des effluents issues de l'extraction de l'huile d'olive

Zakia Gueboudji^{1,2*}, Kenza Kadi^{1,2}, Kamel Nagaz³

¹Laboratoire de Biotechnologie, Eau, Environnement et Santé, Université Abbès Laghrour, Khenchela, Algérie.

²Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abbès Laghrour, Khenchela, Algérie.

³Laboratoire de Culture des Terres Arides et Oasis, IRA, Médenine, Tunisie.

* Corresponding author: gueboudji.zakia@gmail.com (Z. Gueboudji)

Article details: Received: 30 September 2021, Revised: 05 November 2021, Accepted: 01 December 2021

Résumé:

La production de l'huile d'olive est une activité très répandue dans le bassin méditerranéen. Les margines, sous-produits de l'extraction de l'huile d'olive, causent de graves problèmes environnementaux à son élimination, et des efforts considérables ont été déployés pour trouver des solutions rentables pour sa gestion. Malgré leurs effets polluant, elles sont une source très riche d'antioxydants naturels qui ont un intérêt croissant dû à leurs rôles protecteurs contre la détérioration oxydative et les processus pathologiques médiatisés au stress oxydant. Le présent travail a porté sur l'étude quantitative et l'évaluation de l'activité antioxydante des polyphénols des margines issues de l'extraction à froid de l'huile d'olive à Khenchela, est de l'Algérie. L'étude quantitative a été déterminée par la spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique. L'activité antioxydante a été évaluée par les trois tests DPPH, ABTS et FRAP, en comparant aux normes de l'acide ascorbique. Les valeurs obtenues des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins totaux étaient successivement (641.17 ± 118.91 EAG/ml), (20.52 ± 1.60 EQ/ml) et (90.47 ± 21.34 EAC/ml). Les résultats obtenus des tests DPPH, ABTS et FRAP ont été successivement les suivants : (IC₅₀ : 168.57 ± 0.82 µg/ml) (IC₅₀ : 235.17 ± 63.77 µg/ml) et (IC₅₀ : 282.60 ± 1.41 µg/ml). La récupération des polyphénols des margines aurait un double intérêt : d'une part, valoriser ces bio-phénols comme antioxydants naturels pour les utiliser dans le domaine agro-alimentaire, les cosmétiques ou la pharmacologie et d'autre part, résoudre un problème environnemental majeur.

Mots clés : Activité antioxydante, étude quantitative, margines, molécules bioactives, huile d'olive.

Abstract:

The production of olive oil is a widespread activity in the Mediterranean basin. Olive oil mill wastewaters (OMW), by-products of olive oil extraction, cause serious environmental problems when it is disposed of, and considerable efforts have been made to find cost-effective solutions for its management. Despite their polluting effects, they are a very rich source of natural antioxidants that have a growing interest due to their protective roles against oxidative deterioration and pathological processes mediated to oxidative stress. This work focused on the quantitative study and the evaluation of the antioxidant activity of polyphenols in OMW from the cold extraction of olive oil in Khenchela, eastern Algeria. The quantitative study was determined by spectrophotometry using the colorimetric method. Antioxidant activity was evaluated by the DPPH, ABTS and FRAP tests, comparing to ascorbic acid standards. The values obtained from total polyphenols, flavonoids and tannins were successively (641.17 ± 118.91 GAE/ml), (20.52 ± 1.60 QE/ml) and (90.47 ± 21.34 CAE/ml). The results obtained from the DPPH tests, ABTS and FRAP were successively: (IC₅₀: 168.57 ± 0.82 g/ml) (IC₅₀: 235.17 ± 63.77 g/ml) and (IC₅₀: 282.60 ± 1.41 g/ml). The recovery of polyphenols from OMW would have a dual interest: on the one hand, to value these bio-phenols as natural antioxidants for use in the agri-food field, cosmetics or pharmacology and on the other hand, to solve a major environmental problem.

Keywords: Antioxidant activity, quantitative study, olive oil mill wastewater, bioactive molecules, olive oil.

1. Introduction

Ces dernières années, l'intérêt pour les antioxydants naturels, par rapport à leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté de façon spectaculaire. Des recherches scientifiques ont été développées dans diverses disciplines pour extraire, déterminer et quantifier ces composés à partir de plusieurs substances naturelles (Huang et al., 2005 ; Cortés et al., 2019) parce que l'utilisation de molécules antioxydantes synthétiques en raison de risques toxiques potentiels et de leur rôle en tant qu'antioxydants naturels suscite un intérêt accru pour la prévention et le traitement du cancer, des infections cardiovasculaires et des maladies neurologiques (Cory et al., 2018). Il est également utilisé comme additifs dans les industries agricoles, les produits pharmaceutiques et les cosmétiques (Cortés et al., 2019). En fait, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui sont de plus en plus importants, en particulier grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (Dong et al., 2020). Les margines sont le déchet liquide de l'industrie oléicole. Elles sont une émulsion stable composée d'eaux de végétation des olives, de l'eau de transformation, de la pulpe d'olive et de l'huile (Genç et al., 2020). Cette émulsion contient des graisses, des sucres, des phosphates, des phénols et des métaux et se caractérise également par des valeurs élevées d'acidité, de charge organique, de teneur en solides (Ochando-Pulido et al., 2018 ; Garcia et Hodaifa, 2017). Elles causent de graves problèmes environnementaux à son élimination, et des efforts considérables ont été déployés pour trouver des solutions rentables pour sa gestion (Gueboudji et al., 2021c).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et la valorisation des substances bioactives telles que les substances naturelles douées d'activité antioxydante qui présentent un intérêt dans le domaine de la bio pharmacologie. L'objectif principal de ce travail est porté sur l'étude quantitative et l'évaluation de l'activité antioxydante des polyphénols des margines provenant de l'extraction à froid de l'huile d'olive.

2. Matériels et méthodes

2.1. Echantillonnage

Les échantillons des margines ont été prélevés à partir d'une unité moderne d'extraction à froid de l'huile d'olive située à Baghai wilaya de Khenchela, dans l'est de l'Algérie, en Février 2019. Tous résultats de cette étude ont été exprimés en termes de moyenne de trois essais $\pm$ l'écart type.

2.2. Caractéristiques physicochimiques

Le pH et la conductivité électrique (CE) ont été directement mesurés dans les échantillons. La matière sèche (MS), l'humidité (H%), le solide total en suspension (STS%), la demande biologique en oxygène (DBO₅) et la demande chimique en oxygène (DCO) ont été réalisés selon les méthodes standard (APHA, 2005).

2.3. Extraction et dosage des composés phénoliques des margines

2.3.1. Méthode d'extraction des polyphénols

L'extraction des composés phénoliques des margines a été faite par la méthode de macération, selon la méthode décrite par Gueboudji et al. (2021d), en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction.

2.3.2. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée à la suite de la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Kahkonen et al. (1999), les résultats ont été exprimés sous forme de microgrammes d'équivalent acide gallique par millilitre ($\mu\text{g EAG/mL}$).

2.3.3. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification de la teneur totale en flavonoïdes a été effectuée par la méthode de Kim et al. (2003) et les résultats ont été exprimés sous forme de microgrammes d'équivalent quercétine par millilitre ($\mu\text{g EQ/mL}$).

2.3.4. Dosage des tanins totaux

La quantification de la teneur totale en tanins a été effectuée par la méthode décrite par Hagerman (2002), les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent acide catéchique par millilitre ($\mu\text{g EAC/mL}$).

2.4. Détermination de l'activité antioxydante

2.4.1. Test du radical libre DPPH

L'activité antioxydante a été évaluée suivant la méthode de Brand-Williams et al. (1995), utilisant le DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Les résultats ont été donnés comme concentration d'inhibition de 50% (IC_{50}) et comparés aux normes antioxydantes de l'acide ascorbique.

2.4.2. Activité de scavenging de radicaux libres ABTS+

L'activité de scavenging d'ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) a été déterminée selon la méthode décrite par Arnao et al. (2001). Les résultats ont été donnés comme concentration d'inhibition de 50% (IC_{50}) et comparés aux normes antioxydantes de l'acide ascorbique.

2.4.3. Pouvoir antioxydant réducteur du fer FRAP

L'activité du FRAP (ion ferrique réduisant le pouvoir antioxydant) a été évaluée selon la méthode de Kocak et al. (2016). Les résultats ont été donnés comme concentration d'inhibition de 50% (IC_{50}) et comparés aux normes antioxydantes de l'acide ascorbique.

3. Résultats et Discussions

3.1. Propriétés physicochimiques

Les résultats des analyses physicochimiques sont consignés dans le Tableau 1.

Les valeurs obtenus montrent que les margines étudiées sont des effluents liquides acides avec une valeur de pH (4.74 ± 0.02), de conductivité électrique élevée ($\text{CE} = 13.34 \pm 0.03 \text{ mS/cm}$), et de matière sèche ($157.57 \pm 0.67 \text{ g/L}$) et humidité ($84.24 \pm 0.07\%$). Elles se caractérisent par des valeurs élevées de charge organique exprimées en termes de DCO ($206 \pm 12.17 \text{ g d' O}_2/\text{L}$) et de BOD₅ ($69.18 \pm 6.42 \text{ g d' O}_2/\text{L}$), et de teneur en solide totale en suspension ($\text{STS}\% = 0.93 \pm 0.01$). Les résultats obtenus sont en concordance avec ceux déterminés par (Gueboudji et al., 2021a ; Gueboudji et al., 2021b ; Kadi et al., 2020).

Tableau 1. Caractéristiques physicochimiques des margines étudiées.

Paramètres	Valeurs
pH	4.74 ± 0.02
CE (mS/cm)	13.34 ± 0.03
STS%	0.93 ± 0.01
H%	84.24 ± 0.07
MS (g/l)	157.57 ± 0.67
DCO (g d'O ₂ /l)	206 ± 12.17
DBO ₅ (g d'O ₂ /l)	69.18 ± 6.42

3.2. Contenu des polyphénols, flavonoïdes et tannins totaux

Les résultats de dosage des composés phénoliques sont illustrés dans le Tableau 2.

D'après les résultats obtenus, les margines de cette étude sont caractérisées par la richesse en composés phénoliques. La teneur des polyphénols totaux enregistrée pour ces margines étudiées est de l'ordre de $(641.17 \pm 118.91 \text{ EAG/mL})$, pour les flavonoïdes $(20.52 \pm 1.60 \text{ EQ/mL})$ et $(90.47 \pm 21.34 \text{ EAC/mL})$ pour les tanins totaux. Selon les recherches consacrées sur le contenu phénolique des margines. En se basant sur les récentes études du contenu phénolique des margines, les résultats obtenus sont inférieurs à ceux obtenus par (Gueboudji et al., 2021b) et de celui trouvé par (Kadi et al., 2020).

Tableau 2. Composés phénoliques des margines.

Composés phénoliques	Valeurs
Polyphénols totaux	$641.17 \pm 118.91 \text{ (EAG/ml)}$
Flavonoïdes	$20.52 \pm 1.60 \text{ (EQ/ml)}$
Tanins totaux	$90.47 \pm 21.34 \text{ (EAC/ml)}$

3.3. Activité anti-oxydante

Les résultats des tests DPPH, ABTS et FRAP des polyphénols des margines sont illustrés dans la Figure 1. Les résultats obtenus pour le test DPPH ($168.57 \pm 0.82 \mu\text{g/mL}$) est inférieur de celle de l'acide ascorbique ($174.69 \pm 4.84 \mu\text{g/mL}$), par contre, pour les deux autres tests ABTS et FRAP, la concentration inhibitrice de l'acide ascorbique ($154.76 \pm 51.16 \mu\text{g/ml}$) et ($232.15 \pm 28.95 \mu\text{g/mL}$), elle est supérieure à celles de l'ABTS ($235.17 \pm 63.77 \mu\text{g/mL}$) et le FRAP ($282.60 \pm 1.41 \mu\text{g/mL}$).

Dans la littérature l'activité anti-oxydante in vitro des extraits naturels a été largement discutée. Ces méthodes impliquent la présence d'espèces oxydantes comme les radicaux libres ou les complexes métalliques oxydés en présence d'un extrait qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux.

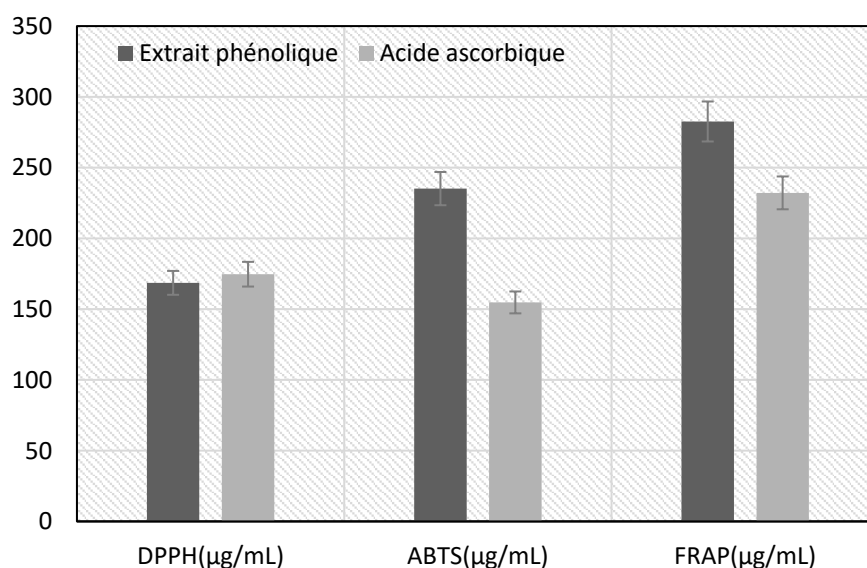


Fig.1. Activité antioxydante des polyphénols des margines étudiées.

4. Conclusion

L'étude de l'activité antioxydante des extraits issus des margines, selon les trois tests DPPH, ABTS et FRAP a montré que l'extrait phénolique des margines possède une activité antioxydante modérée. Cet extrait pourrait constituer une alternative à certains additifs synthétiques. Il est donc très probable qu'elles contiennent des composés qui, une fois purifiés, peuvent présenter une activité comparable à celle de l'acide ascorbique. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants. La récupération des polyphénols des margines aurait un double intérêt : d'une part, valoriser ces bio-phénols comme antioxydants naturels pour les utiliser dans le domaine agro-alimentaire, les cosmétiques ou la pharmacologie et d'autre part, résoudre un problème environnemental majeur.

Références

- APHA**, (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st Ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA.
- Arnao M., Cano A., Acosta M.**, (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem.*, vol. 73, pp. 239–244.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.**, (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss u-Technol.*, vol. 28, pp. 25-30.
- Cortés A., Moreira M.T., Feijoo G.**, (2019). Integrated evaluation of wine lees valorization to produce value-added products, *Waste Manag.*, vol. 95, pp. 70–77.
- Cory H., Passarelli S., Szeto J., Tamez M., Mattei J.**, (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: a mini-review, *Front. Nutr.*, vol. 5, pp. 1–9.
- Dong, R., Liu, S., Zheng, Y., Zhang, X., He, Z., Wang, Z., Wang Y, Xie J, Chen Y, Yu, Q.**, (2020). Release and metabolism of bound polyphenols from carrot dietary fiber and their potential activity under in vitro digestion and colonic fermentation. *Food & Funct.*, vol. 7, pp. 1-14.
- Garcia C.A., Hodaifa G.**, (2017). Real olive oil mill wastewater treatment by photo-Fenton system using artificial ultraviolet light lamps, *J. Cleaner Prod.*, pp. 162-743.
- Genç N., Durna E., Kayapinar Cigün H.K.**, (2020). Response surface modeling and optimization of microwave-activated persulfate oxidation of olive oil mill wastewater. *Clean (Weinh)*, vol. 48, pp. 1-11.
- Gueboudji Z., Bagues M., Kadi K., Nagaz K., Addad, D.**, (2021c). Effect of storage time on the biodegradability of olive oil mill wastewater from the cold extraction of olive oil system. *The EuroBiotech Journal*, 5(3), 142-154.
- Gueboudji Z., Kadi K., Nagaz K.**, (2021b). Extraction and quantification of polyphenols of olive oil mill wastewater from the cold extraction of olive oil in the region of Khenchela-Algeria. *Genetic And Biodiversity Journal GABJ*, vol.5, no.2, pp. 1-8.
- Gueboudji Z., Kadi K., Nagaz K., Addad D., Secrafi M., Ben Yahya L., Lachehib, B.**, (2021a). Phenolic compounds and biological activities of phenolic extract of olive oil mill wastewater issue from the cold extraction of olive oil from Khenchela (Algeria). *Research Square*, 1-19.
- Gueboudji Z., Kadi K., Nagaz, K.**, (2021d). Evaluation of the Anticoagulant effect of phenolic extracts of two olive mill by-products: olive mill wastewater and olive mill pomace. *European Journal Of Science And Technology EJOSAT*, (28), 826-830.

- Hagerman A.E.**, (2002). Tannin Handbook. Miami University, Oxford OH 45056.
- Huang D., Ou B., Prior R.L.**, (2005) The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, pp. 1841-1856.
- Kadi K., Mrah R., Hamli S., Lekmine S., Dib D., Addad D., Boukeria S., Gueboudji Z., Hafsaoui I.**, (2020). Evaluation of the anticoagulant activity of margins from olives extraction in the Khenchela region. *J Fundam Appl Sci.*, vol. 12, no. 2, pp. 634-649. doi: 10.4314/jfas.v12i2.8.
- Kahkonen M.P., Hopia A.I., Rauha J.P., Pihlaja K., Kujala T.S., Heinonen M.**, (1999). Antioxidants Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, no. 10, pp. 3954-3962. <https://doi.org/10.1021/jf990146l>.
- Kim D.O., Chun Y., Kim H., Moon C., Lee**, (2003). Quantification of phenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, pp. 6509-6515.
- Kocak M.S., Sarikurkcü C., Cengiz M., Kocak S., Uren M.C., Tepe B.**, (2016). *Salvia cadmica*: phenolic composition and biological activity. *Ind. Crops Prod.*, vol. 85, pp. 204-212.
- Ochando-Pulido M., Martinez-Ferez A.**, (2018). Operation setup of a nanofiltration membrane unit for purification of two-phase olives and olive oil washing wastewaters. *Sci. Total Environ.*, pp. 612-758.