الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Ahmed Zabana de Relizane

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nutrition

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Spécialité : Agro-alimentaire et contrôle de qualité

Intitulé

# Extraction, caractérisation et valorisation des pigments chlorophylliens à partir des feuilles *d'Olea europaea* (Olivier) pour des applications agroalimentaires

Présenté par :

- BENYAHIA Aya
- MANKHOUR Marwa

Devant les membres de jury :

| | | |
|---|---|---|
| **Président :** | Dr SAIBI Amina | MCB (Université de Relizane ) |
| **Encadrant :** | Dr HADRI Zouheyr | MCA (Université de Relizane) |
| **Coencadrant :** | Dr BOUKHENNOUFA Asma | MCA (Université de Relizane ) |
| **Examinateur :** | Dr FERRAG Dalila | MCB (Université de Relizane ) |

**Année Universitaire : 2025/2026**

# Remerciements

Nous remercions en premier lieu ALLAH le Tout-Puissant de nous avoir accordé la santé, la volonté et le courage nécessaires pour accomplir ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Nos sincères et respectueux remerciements s'adressent particulièrement à notre encadrant,

**Monsieur HADRI Zouheyr**, pour son suivi rigoureux, ses précieux conseils, sa disponibilité et son soutien permanent tout au long de cette étude. Son expérience et ses orientations nous ont été d'une aide inestimable.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à notre Co-encadrante,

**Madame BOUKHENNOUFA Asma**, pour son accompagnement, ses conseils méthodologiques, sa patience ainsi que ses encouragements continus durant l'élaboration de ce mémoire.

Nous exprimons notre profond respect et notre reconnaissance à

**Madame SAIBI Amina**, Présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider notre soutenance.

Nos sincères remerciements vont également à

**Madame FERRAG Dalila**, examinatrice du jury, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour l'intérêt accordé à notre étude.

Nous remercions aussi chaleureusement

**Youcef et Abdelkader,** ingénieurs de laboratoire de notre université, pour leur aide précieuse, leur disponibilité et leur soutien durant toute la période de notre stage.

Nous adressons également nos remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation universitaire et à l'enrichissement de nos connaissances tout au long de notre parcours académique.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à nos familles, nos amis ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont soutenues et encouragées durant la réalisation de ce travail.

**Merci à tous.**

# Dédicaces

Je dédie ce travail avec une immense gratitude et un profond amour :

**À mes très chers parents,**

pour leur amour infini, leurs sacrifices, leur soutien et leurs prières qui m'ont accompagnée tout au long de mon parcours. Que Dieu les protège et leur accorde santé et bonheur.

**À mon frère et à mes sœurs,**

pour leur affection, leurs encouragements et leur présence dans les moments difficiles comme dans les moments de joie.

**À moi-même,**

pour tous les efforts, la patience et la persévérance fournis afin d'arriver à ce jour.

**À ma chère binôme,**

avec qui j'ai partagé ce travail, les efforts, le stress et les beaux souvenirs. Merci pour ta coopération et ton soutien.

**À mon fiancé,**

pour sa patience, son encouragement et sa présence précieuse à mes côtés.

**À ma nièce(RAHAF) et mon neveu(KAYES),**

sources de joie et de bonheur dans ma vie.

**À toutes mes amies,**

pour leur soutien, leurs conseils et les merveilleux moments passés ensemble.

**Enfin**, à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail,

je leur adresse mes sincères remerciements.

BENYAHIA AYA

# Dédicaces

Je dédie cet humble travail avec grand Amour, sincérité et fierté :

**À ma chère mère,**

pour qui aucun mot ne peut vraiment suffire, lumière de mes yeux et réconfort de mes jours, merci pour tes prières incessantes, ton don sans limites, et pour avoir toujours été présente à chaque étape de ma vie. Que Dieu te garde comme une bénédiction qui ne s'éteint jamais

**À mon cher père,**

le pilier qui ne faiblit jamais et la force de ma vie, merci pour tous tes sacrifices, ton soutien et ton amour silencieux ,Que Dieu te protège et t'accorde une longue vie remplie de bonheur

**À mes chères sœurs st mon cher frère**

compagnons de mes jours et soutien de ma vie, merci pour votre présence , pour chaque moment de soutien, de joie et de partage.

**À ma grand-mère**

Que Dieu prolonge ta vie .

**À ma chère binôme,**

merci pour tous les moments de travail, de soutien et de complicité partagés ensemble. Ta présence a rendu ce parcours plus beau et plus facile. Je te souhaite beaucoup de réussite et de bonheur pour la suite

**À mon cher fiancé**

merci pour ta présence constante à mes côtés et pour ton soutien qui me donne de la force à chaque étape.

**À mes chers amis,**

merci pour chaque beau moment que nous avons partagé, et pour chaque soutien et sourire qui ont rendu mon chemin plus facile. Votre présence a été une bénédiction qui a illuminé mes journées et embelli mes souvenirs.

A tous ceux qui me connaissent de loin ou de près .

*MANKHOUR MARWA*

# Table des matières

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Résumé**

**Introduction…….. 1**

**- Synthèse bibliographique -**

**Chapitre I - *Olea europaea***

**I.1. Définition…….3**

**I.2. Historique……... 3**

**I.3. Description botanique…….... 4**

**I.4. Formes de l'olivier…….....5**

I.4.1. L'olivier sauvage …….....5

I.4.2. L'olivier cultivé…….....5

**I.5. Classification systématique de l'olivier…… 5**

**I.6. Morphologie de l'olivier…….6**

**I.7 Physiologie de l'olivier……6**

**I.8. Feuilles d'olivier……..6**

**I.9. La composition chimique des feuilles d'olivier……7**

**I.10. Cycle végétatif……...7**

**I.11. Répartition de l'olivier dans le monde……8**

**Chapitre II - Pigments chlorophylliens**

**II.1. Définition…… 10**

**II.2. Rôle de la couleur dans les aliments……. 11**

**II.3. Classification des pigments……... 12**

II.3.1. Pigments naturels……...12

II.3.2. Pigments synthétiques…….....12

**II.4. Effets des colorants sur la santé et l'environnement…….. 13**

**II.5. Avantages des colorants naturels…….. 13**

**II.6. Inconvénients des colorants synthétiques…… 14**

**II.7. Marché mondial des colorants naturels…….. 14**

**II.8. Définition des pigments chlorophylliens…….. 15**

**II.9. Composition et structure de la chlorophylle…… 16**

**II.10.Rôle de la chlorophylle……. 17**

**Chapitre III - Utilisations des pigments**

**III.1. Domaine d'application……. 19**

**III.2. Classification……. 19**

III.2.1. Classification technologique…….19

III.2.2. Classification chimique…….21

III.2.3. Classification des colorants selon leurs utilisations……..22

**II.3. Autres classifications…….. 24**

**- Partie expérimentale -**

**Chapitre IV - Matériel et méthodes**

**IV.1. Objectifs…… 25**

**IV.2. Matériel végétal…… 26**

**IV.3. Caractérisation biochimique de la plante……... 26**

IV.3.1 Teneur en eau…….....26

IV.3.2 Teneur en matière minérale……27

**IV.4. Préparation de la matière végétale……. 27**

**IV.5 Extraction des pigments chlorophylliens……. 27**

IV.5.1. Principe……. 27

IV.5.2 Mode opératoire……. 28

**IV.6 Identification par CCM……..... 28**

IV.6.1. Principe……. 28

IV.6.2 Mode opératoire……. 29

**IV.7. Séparation et dosage des pigments……. .29**

IV.7.1. Séparation……29

IV.7.2. Dosage des pigments chlorophylliens……..…30

IV.7.3. Vérification de la stabilité de la Chlorophylle a et b……...…30

**IV.8.Stérilisation des pigments……...30**

**IV.9. Préparation de spaghetti……31**
IV.9.1. Hydratation/malaxage……...…31
IV.9.2. Pétrissage……...32
IV.9.3. Laminage……...…32
IV.9.4. Séchage……..32
**IV.10 Appréciation de la qualité de la pâte……...32**
IV.10.1 Qualité culinaire……...…32
IV.10.1.1 Temps optimal de cuisson (TOC)…….....33
IV.10.1.2 Indice de Gonflement (IG)……33
IV.10.2 Qualité technologique et chimique……...33
IV.10.2.1 Epaisseur……...33
**IV.11. Test de stabilité des pates……..…33**
IV.11.1. Physicochimique……..33
IV.11.1.1. Teneur en humidité……33
IV.11.2 Microbiologique……...34
IV.11.2.1. Préparation des dilutions décimales……..34
IV.11.2.2. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)……....34
IV.11.2.2.1 Principe……...……34
IV.11.2.2.2 Mode opératoire……..34
IV.11.2.3 Dénombrement des levures et des moisissures……..34
IV.11.2.3.1 Principe……34
IV.11.2.3.2 Mode opératoire……...……35
**IV.12. Détermination de la durée de vie des pâtes alimentaires……..35**
**IV.13.Etude statistique……36**

**Chapitre V - Résultats et discussion**

**V.1. Caractérisation biochimique des feuilles d'*Olea europaea*……..…37**
**V.2. Identification de pigments par CCM……..…38**
**V.3.Séparation et dosage de la chlorophylle a et b……...39**
**V.4. Vérification de la stabilité de la Chlorophylle a et b……41**
**V.5. Préparation de spaghetti……42**

**V.6. Appréciation de la qualité de la pâte……..42**

**V.7. Test de stabilité ……43**

V.7.1. Analyse physique……43

V.1.7.1. Teneur en humidité……43

V.7. 2 Microbiologique……44

**V.1.8 Détermination de la durée de vie des pâtes alimentaires……...45**

**Conclusion générale……46**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

# Liste des figures

**Figure (01):** Des plantes d'olivier cultivées……..4

**Figure (02):** Cycle annuel de l'olivier……...8

**Figure (03):** Répartition de la plante dans le monde……..9

**Figure (04):** Les catégories des pigments issus des végétaux……..10

**Figure (05):** Classification des pigments naturels…….……...12

**Figure (06):** Marché en pourcentage des colorants alimentaires……15

**Figure (07):** Observation sous Microscope de la chlorophylle……16

**Figure (08):** Acide orange……..……..22

**Figure (09):** Schéma récapitulatif du protocole expérimental…….……....25

**Figure (10):** Feuilles d'*Olea europaea*…….26

**Figure (11):** Aspect de l'extrait obtenu……..28

**Figure (12):** Analyse de l'extrait par CCM……..29

**Figure (13):** Stérilisation par rayon X…… ….31

**Figure (14):** Migration de l'extrait sur plaque CCM……39

**Figure (15):** Séparation des pigments chlorophylliens……40

**Figure (16):** Aspect de Spaghetti préparé……42

**Figure (17):** Taux d'humidité et MS des spaghettis…….44

**Figure (18):** Mise en évidence de la présence des levures et des moisissures dans les spaghettis……...44

# Liste des tableaux

**Tableau (01):** Classification technologique des colorants…….....21

**Tableau (02):** Ingrédients de spaghetti préparé……31

**Tableau (03):** Caractérisation biochimique des feuilles d'*Olea europaea*……..37

**Tableau (04):** Résultats du dosage des pigments chlorophylliens……...40

**Tableau (05):** Test de la stabilité de la chlorophylle a et b……..41

**Tableau (06):** Détermination de la qualité de spaghetti…….....42

# Liste des abréviations

| | |
|---|---|
| **CCM** | Chromatographie sur Couche Mince |
| **Ch** | Chlorophylle |
| **Ch a** | Chlorophylle a |
| **Ch b** | Chlorophylle b |
| **UFC** | Unité Formant Colonie |
| **DL** | Durée Limite |
| **DLC** | Durée Limite de Consommation |
| **FTAM** | Flore Totale Aérobie Mésophile |
| **g** | Gramme |
| **LHC** | Light Harvesting Complex (Complexe Collecteur de Lumière) |
| **mL** | Millilitre |
| **MO** | Matière Organique |
| **MS** | Matière Sèche |
| **NF** | Norme Française |
| **pH** | Potentiel Hydrogène |
| **PSI** | Photosystème I |
| **PSII** | Photosystème II |
| **R (%)** | Rendement d'extraction |
| **RF** | Rapport frontal |
| **TLC** | Thin Layer Chromatography (Chromatographie sur Couche Mince) |
| **UFC/g** | Unité Formant Colonie par gramme |
| **UV** | Ultraviolet |
| **°C** | Degré Celsius |
| **E1** | Spaghetti enrichi en chlorophylle – échantillon 1 |
| **E2** | Échantillon 2 |
| **E3** | Échantillon 3 |

## Résumé/Abstract /ملخص


## Résumé

Le présent travail porte sur la valorisation des feuilles d'*Olea europaea* (olivier) par l'extraction de pigments naturels chlorophylliens et leur incorporation dans des pâtes alimentaires artisanales de type spaghetti. L'étude a débuté par une caractérisation biochimique des feuilles, incluant la détermination de la teneur en eau, de la teneur en cendres, l'extraction de la chlorophylle, sa caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM), ainsi que l'évaluation de sa stabilité thermique. L'extrait chlorophyllien obtenu a ensuite été incorporé dans une formulation de spaghetti, dont la qualité technologique et culinaire a été évaluée à travers la détermination du temps optimal de cuisson, de l'indice de gonflement et de l'épaisseur. Des analyses microbiologiques ont également été réalisées afin de rechercher les levures, les moisissures et la flore totale aérobie mésophile.

Les résultats ont révélé une teneur en eau de 56,29 ± 2,27 % et une teneur en cendres de 4,83 ± 1,44 % pour les feuilles d'olivier. La présence majoritaire de bandes vertes sur la plaque de CCM confirme la richesse de l'extrait en pigments chlorophylliens, avec un rendement global d'extraction de 0,06 % en chlorophylles a et b. Les chlorophylles extraites ont montré une bonne stabilité thermique entre 25 et 60 °C, sans dégradation significative.

L'évaluation de la qualité culinaire des spaghettis enrichis en chlorophylle (E1) a mis en évidence un temps optimal de cuisson de 7 minutes, inférieur à celui des échantillons commerciaux SIM (10 minutes) et Safina (11 minutes). L'échantillon E1 a également présenté le temps le plus court pour la disparition de la ligne blanche centrale, indiquant une cuisson plus rapide. La teneur en humidité des spaghettis variait entre 10 % (E3) et 14,16 % (E1). Sur le plan microbiologique, l'échantillon E1 a présenté une charge de $2{,}4 \times 10^4$ UFC/g en levures et moisissures, contre $4{,}7 \times 10^5$ UFC/g pour E2 et $1{,}9 \times 10^4$ UFC/g pour E3. Les tests de stabilité ont permis d'estimer une durée limite de consommation de 8,16 mois.

Cette étude met en évidence le potentiel des feuilles d'*Olea europaea* comme source naturelle de pigments valorisables dans l'élaboration d'aliments fonctionnels, offrant ainsi une approche innovante de valorisation des sous-produits agricoles en réponse aux attentes croissantes des consommateurs en matière de santé et de durabilité environnementale.



**Mots-clés :** *Olea europaea*, chlorophylles, extraction, pâtes alimentaires, valorisation, colorants naturels.

## Résumé/Abstract /ملخص


## Abstract

This study focuses on the valorization of *Olea europaea* (olive) leaves through the extraction of natural chlorophyll pigments and their incorporation into artisanal pasta, specifically spaghetti. The research began with a biochemical characterization of the leaves, including determination of moisture content, ash content, chlorophyll extraction, characterization by thin-layer chromatography (TLC), and evaluation of thermal stability. The obtained chlorophyll extract was then incorporated into a spaghetti formulation, whose technological and culinary quality was assessed through determination of optimal cooking time, swelling index, and thickness. Microbiological analyses were also performed to detect yeasts, molds, and total aerobic mesophilic flora.

The results revealed a moisture content of 56.29 ± 2.27% and an ash content of 4.83 ± 1.44% in olive leaves. The predominance of green bands on the TLC plate confirmed the richness of the extract in chlorophyll pigments, with an overall extraction yield of 0.06% for chlorophylls a and b. The extracted chlorophylls exhibited good thermal stability between 25 and 60 °C, without significant degradation.

Culinary quality evaluation of the chlorophyll-enriched spaghetti (E1) showed an optimal cooking time of 7 minutes, shorter than that of the commercial samples SIM (10 minutes) and Safina (11 minutes). E1 also had the shortest time for the disappearance of the central white line, indicating faster cooking. Moisture content of the spaghetti samples ranged from 10% (E3) to 14.16% (E1). Microbiologically, sample E1 had a yeast and mold count of $2.4 \times 10^4$ CFU/g, compared to $4.7 \times 10^5$ CFU/g for E2 and $1.9 \times 10^4$ CFU/g for E3. Shelf-life tests estimated a consumption limit of 8.16 months.

This study highlights the potential of *Olea europaea* leaves as a natural source of pigments for functional food development, providing an innovative approach to valorizing agricultural by-products in response to growing consumer demands for health and environmental sustainability.



**Keywords :** *Olea europaea*, Chlorophylls, Extraction, Pasta, Valorisation, Natural colorants.

**الملخص**

تركز هذه الدراسة على الاستفادة من أوراق شجرة الزيتون (*Olea europaea*) من خلال استخراج أصباغ الكلوروفيل الطبيعية ودمجها في المعكرونة الحرفية، وبالتحديد السباغيتي. بدأت الدراسة بتوصيف كيميائي حيوي للأوراق، بما في ذلك تحديد محتوى الماء، محتوى الرماد، استخراج الكلوروفيل، التوصيف باستخدام تقنية اللطاخة الرقيقة (TLC) ، وكذلك تقييم الاستقرار الحراري. ثم تم دمج المستخلص الكلوروفيلي في تركيبة السباغيتي، وتم تقييم جودة المنتج التقنية والطهوية من خلال تحديد وقت الطهي الأمثل، مؤشر التورم، والسمك. كما أُجريت تحليلات ميكروبيولوجية للكشف عن الخمائر، العفن، والفلورا الهوائية المتوسطة.

أظهرت النتائج أن محتوى الماء في أوراق الزيتون بلغ 56.29 ± 2.27٪، ومحتوى الرماد 4.83 ± 1.44٪. كما أكدت الأشرطة الخضراء السائدة على لوحة TLC غنى المستخلص بأصباغ الكلوروفيل، مع معدل استخراج إجمالي بلغ 0.06٪ لكل من الكلوروفيل a و .b أظهرت الكلوروفيلات المستخلصة استقرارًا حراريًا جيدًا بين 25 و 60 درجة مئوية دون تحلل ملحوظ.

أظهر تقييم الجودة الطهوية للسباغيتي المدعمة بالكلوروفيل (E1) وقت طهي أمثل يبلغ 7 دقائق، وهو أقل من العينات التجارية (10 SIM دقائق) و (11 Safina دقيقة). كما كان لعينة E1 أقصر وقت لاختفاء الخط الأبيض المركزي، مما يشير إلى سرعة الطهي. تراوحت محتويات الرطوبة في عينات السباغيتي بين 10٪ (E3)و 14.16٪ .(E1)ميكروبيولوجيًا، سجلت العينة E1 عدد خمائر وعفن $2.4 \times 10^4$ وحدة تكوين مستعمرات/غ، مقابل $4.7 \times 10^5$ وحدة/غ للعينة E2 و$1.9 \times 10^4$ وحدة/غ للعينة .E3 وقدرت اختبارات الاستقرار مدة صالحة للاستهلاك تبلغ 8.16 أشهر.

تسلط هذه الدراسة الضوء على إمكانات أوراق الزيتون كمصدر طبيعي للأصباغ القابلة للاستخدام في تطوير الأغذية الوظيفية، مما يوفر نهجًا مبتكرًا لاستثمار المنتجات الثانوية الزراعية استجابةً للطلب المتزايد من المستهلكين على الصحة والاستدامة البيئية.

**الكلمات المفتاحية**: *Olea europaea* ، الكلوروفيل، استخلاص، عجائن غذائية، تثمين، ملونات طبيعية

# Introduction générale

# Introduction générale

Au cours des dernières décennies, l'oléiculture et l'oléologie ont connu une évolution considérable. Cette progression a particulièrement conduit à des changements significatifs à tous les échelons de la chaîne de production oléicole **(Roussos et *al*., 2009).** L'*Olea europaea* L, communément connu sous le nom d'olivier, figure parmi les arbres fruitiers les plus significatifs dans les nations méditerranéennes. L'olive, l'huile d'olive et les feuilles d'olivier possèdent une histoire nutritionnelle et médicinale riche **(Ghanbari et *al*., 2012),** ce qui rend leurs recherches particulièrement captivantes dans les secteurs de la santé et de l'industrie agroalimentaire **(Aouidi, 2012).**

La culture de l'olive (*Olea europaea, L.)* est exercée depuis l'époque préhistorique. En outre, on la retrouve fréquemment dans les régions arides et semi-arides du bassin méditerranéen **(Vacheron, 2013).** Dans ce cadre, *Angles (2012)* a perçu l'olivier, symbole de la Méditerranée, comme un composant essentiel des paysages méditerranéens. Il est possible que cette culture trouve ses origines soit au Moyen-Orient, soit en Asie mineure **(Candolle, 1883; Lavee, 1992).** Près de 98% des plantations d'oliviers se situent dans la zone méditerranéenne.

L'oléiculture et la production d'huile d'olive constituent des activités agricoles et économiques cruciales pour les nations méditerranéennes. Selon *Donoso-Bravo et al. (2016),* plus de 65% des terres mondiales dédiées à la culture des oliviers se trouvent en Europe, tandis que *Valta et al. (2015)* indiquent que cette région produit 72% des olives mondiales. Les pays principaux de production à l'échelle mondiale incluent l'Espagne, l'Italie et la Grèce, tandis que la Turquie, le Maroc, la Tunisie et la Syrie suivent dans une mesure moins importante **(Rahmani et Zrira, 2017).** La culture et l'exploitation des oliviers sont influencées par divers éléments, tels que la fertilité du sol, l'accès à l'irrigation et les conditions météorologiques.

Les pigments sont des molécules essentielles pour conférer de la couleur aux objets qui les contiennent. Grâce à leur aptitude à réfléchir certaines longueurs d'onde de la lumière tout en absorbant d'autres. En effet, ils sont à l'origine de la belle teinte verte des feuilles, du brillant orange des carottes et du rouge vif des tomates. Ces pigments sont présents dans toutes les plantes, qui en ont besoin pour se prémunir contre le soleil, attirer des animaux et des insectes pour la dispersion de leurs graines, et aussi pour réaliser la photosynthèse avec succès. Ce mécanisme essentiel leur donne la capacité de générer leur propre alimentation en

utilisant l'énergie solaire. On distingue trois types majeurs de pigments dans les plantes : les chlorophylles, les caroténoïdes et les flavonoïdes **(Davies, 2004).**

Les pigments naturels autorisés issus de plantes ont plusieurs désavantages, tels que leur instabilité face à la lumière, à la chaleur ou à un pH défavorable, leur faible solubilité dans l'eau et leur disponibilité limitée tout au long de l'année. Cependant, les pigments générés par des méthodes microbiologiques offrent une option alternative aux pigments synthétiques qui pourraient être toxiques. Ils bénéficient de la profusion, de la sûreté d'emploi, de la simplicité et de la promptitude du développement du microorganisme producteur sur un substrat économique, ainsi que de la biodégradabilité **(Cho et *al*., 2002).**

La couleur recèle d'immenses possibilités commerciales dans les domaines de l'alimentation, de l'agriculture, de la cosmétique, du textile, de la pharmacie et des nutraceutiques **(Grewal et *al*., 2022).** Toutefois, l'utilisation non régulée de colorants synthétiques dans le secteur industriel peut entraîner des dangers significatifs pour la santé humaine et constituer une source de pollution environnementale. Par conséquent, il y a un intérêt global pour l'élaboration de méthodes de production de pigments à partir de ressources naturelles **(Unagul et *al*., 2005),** en particulier, les plantes et les micro-organismes **(Mizukami et *al*., 1978 ; Papageorgiou et *al*., 1979).**

L'objectif principal de ce travail est d'extraire des pigments naturels, en particulier à partir de l'olivier, et d'étudier leur potentiel d'incorporation dans les aliments en tant qu'alternatives aux pigments synthétiques. Cette approche s'inscrit dans une perspective de valorisation des ressources naturelles et de développement de produits alimentaires plus sains et respectueux de la santé du consommateur.

Le présent mémoire est structuré en deux parties complémentaires. La première partie, théorique, est consacrée à des généralités sur l'olivier, les pigments naturels ainsi que les aliments enrichis en pigments. La seconde partie, pratique, porte sur les résultats expérimentaux obtenus, suivis d'une discussion approfondie, et se conclut par une conclusion générale ainsi que les références bibliographiques.

# Synthèse bibliographique

# Chapitre I - *Olea europaea*

## I.1. Définition

L'Oléastre est un arbre qui fait partie de la famille des Oléacées. L'Oléastre est un arbuste épineux dont les fruits sont généralement de petite taille. Il se présente sous deux formes morphologiquement indistinguables : indigène et férale **(Besnard et Bervillé, 2000).**

Il s'agit d'une plante Oléagineuse dont le fruit permet l'extraction d'une huile aux multiples propriétés médicinales. L'Oléastre est présent dans la région méditerranéenne. On désigne ses fruits sous le terme de « DRUPES » **(Sidi Mammar, 2011).**

L'olivier, symbole de longévité, d'espoir et de paix, a suivi l'évolution de la civilisation méditerranéenne. Il existe des preuves de l'existence de l'olivier qui remontent même avant l'avènement de l'écriture. Selon la mythologie grecque, l'olivier est issu de la bataille pour la domination en Attique entre Poséidon, le dieu des océans, et Athéna, la déesse de la raison. L'olivier a toujours été cultivé pour son huile, qui trouve son utilité dans la cuisine, la médecine, la cosmétique et la parfumerie **(IESV, 2012 ; Özcan & Matthäus, 2017).**

## I.2. Historique

L'olivier sauvage est présent depuis environ 6000 avant J.-C. en Asie Mineure, tandis que sa culture ne semble avoir émergé qu'aux alentours de 3000 avant J.-C. en Palestine, en Syrie et en Phénicie (Figure 2). Des fouilles réalisées à l'ancien port d'Ougarit en Syrie ont mis au jour d'importantes quantités d'amphores contenant probablement de l'huile destinée aux échanges méditerranéens **(De Barry, 1999 ; Besnart, 2005).**

L'olivier a principalement connu son développement en Grèce, notamment à travers l'Anatolie, avant de se propager vers la Crète et l'Égypte, puis sur l'ensemble du bassin méditerranéen. C'est en 600 avant J.C. que les Grecs ont introduit la culture de l'olivier en Corse, en Sardaigne, en Sicile et dans l'ensemble de l'Italie, ainsi qu'en Gaule.

L'olivier, connu depuis la Haute Antiquité chez les Phéniciens, était appelé zeitoun, tandis que l'huile extraite de ce fruit était désignée sous le nom de zit. *Boudribila (2004)* note que ces deux termes sont fréquemment utilisés dans le lexique Amazigh.

## I.3. Description botanique

L'olivier est un buisson capable de grandir jusqu'à 10 mètres (Fig.1). On trouve cette plante dans l'ensemble de la région méditerranéenne, où sa culture y est très répandue, à une altitude n'excédant pas 800 mètres. Son tronc, dont l'écorce arbore une teinte grise, présente une caractéristique d'aspect tortueux. Ses feuilles, disposées de manière opposée, durable et de forme lancéolée, présentent une couleur vert cendré sur leur face supérieure et un blanc argenté doux au toucher sur leur face inférieure. Les fleurs blanches s'agencent en grappes à l'emplacement des feuilles, produisant un fruit couramment appelé olive. Ce dernier est une drupe ellipsoïde verte qui devient noire lorsqu'elle est mûre. En thérapeutique, on utilise les feuilles **(Ghedira, 2008).**

Il possède un tronc tortueux et une écorce brune fissurée, le rendant très ramifié. Ses feuilles, qui restent présentes en hiver, sont disposées oppositement, de forme ovale et allongée, fixées par un pétiole court. Elles sont coriaces, sans divisions et légèrement enroulées sur les bords. Leur couleur dominante est un vert foncé brillant sur le dessus et un vert pâle argenté avec une nervure centrale proéminente sur le dessous. Ses fleurs de printemps, rassemblées en grappes compactes, possèdent un calice et deux étamines, une corolle à quatre pétales ovales et un ovaire arrondi. Les olives, initialement vertes, se transforment en noires lorsqu'elles atteignent leur pleine maturité.



**Figure 1.** Des plantes d'olivier cultivées **(Jean, 2015).**

## I.4. Formes de l'olivier

### I.4.1. L'olivier sauvage

C'est un arbre extrêmement ramifié et épineux, avec des branches de forme quadrangulaire et de très petites feuilles. Ses fruits sont de petite taille et génèrent peu d'huile. Cette espèce est parfaitement adaptée aux conditions de sécheresse, c'est pourquoi elle est employée comme support pour la greffe et dans le processus de reforestation des régions arides et semi-arides. Plus robuste, elle supporte mieux les variations extrêmes de température. La durabilité et les caractéristiques de son bois dépassent celles de l'olivier cultivé. Selon *Maillard (1975),* sa racine pivotante s'enfonce profondément pour trouver la nourriture.

### I.4.2. L'olivier cultivé

Il comprend de nombreuses variétés améliorées, présentant une diversité phénotypique significative et produisant un contenu en huile assez variable selon la variété choisie. On estime actuellement qu'il y a plus de 2000 variétés d'oliviers recensées à travers le monde. Selon leur utilisation prévue, les fruits de cet arbre ont été catégorisés en variétés d'olives de table, en variétés d'olives destinées à la production d'huile ou en variétés dites à deux fins **(Loussert et *al.*, 1978).**

## I.5. Classification systématique de l'olivier

L'olivier fait partie de la famille des Oléacées, et le genre qui le définit est Olea. Ce dernier regroupe 30 espèces distinctes telles que le troène, le lilas, le frêne et le forsythia. L'oléastre est constamment perçu comme le précurseur de l'olivier cultivé **(Breton et *al*., 2006).**

Selon Breton (2006), la classification botanique de l'olivier se présente comme suit :

- Embranchement : Magnoliophyta
- Sous embranchement : Magnoliophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Sousclasse : Asteridae
- Ordre : Scrophulariales
- Famille : Oleaceae
- Genre : Olea
- Espèces : Olea europaea L.

L'espèce ***Olea europaea L*** se subdivise en fonction de la forme des feuilles et des fruits en deux sous-espèces:

-*Olea europaea* sylvestris : L'olivier sauvage ou oléastre poussant spontanément dans la garrigue.
-*Olea europaea* sativa : L'olivier cultivé qui possède de nombreuses espèces.

## I.6. Morphologie de l'olivier

Sa structure de racines très fournie lui confère une forte fixation dans le sol, ce qui lui permet de résister à des phénomènes tels que les vents, la sécheresse ou l'érosion. Parfois, il comporte d'importants renflements qui agissent comme des réserves, lui donnant la capacité de résister aux fluctuations climatiques **(Breton et *al*., 2006).**

Son système aérien est composé :

- ✓ Un tronc plus ou moins haut de (50 centimètres à un mètre) chez les arbres taillés et cultivés pour que le ramassage soit plus aisé.
- ✓ Branches principales au nombre de 3 à 8 : celles-ci donnent sa forme à l'arbre.
- ✓ Branches secondaires.
- ✓ Rameaux porteurs qui assurent la fructification de l'année en cours .
- ✓ Bourgeons ou rejets ou éclats qui se développent à partir du collet et qui peuvent donner un nouvel arbre .

## I.7. Physiologie de l'olivier

Jusqu'à fin juin, le jeune fruit continue de multiplier ses cellules, moment où le noyau commence à se solidifier. Le fruit poursuit ainsi sa croissance jusqu'à la véraison (c'est-à-dire le changement de couleur par la biosynthèse des pigments). De début juillet jusqu'à la récolte, généralement autour de novembre ou décembre, le fruit subit des modifications biochimiques qui favorisent la production de l'huile à maturité **(Breton et *al*., 2006).**

## I.8. Feuilles d'olivier

Dans le secteur de l'huile d'olive, on trouve différents résidus parmi lesquels les feuilles d'olivier constituent approximativement 10% du poids global des olives cueillies **(Bouaziz et *al*., 2008).** Cette quantité connaît une augmentation significative durant les périodes de moisson et lors des cycles réguliers de coupe des arbres **(Cör Andrejč et *al*. 2022 ; Palmeri et *al,* 2022).**

Pendant la collecte, certaines feuilles se mélangent aux olives et sont ensuite sélectionnées dans les vergers et les moulins à huile. Ces dernières contribuent de manière significative à la biomasse produite. De plus, les oliviers subissent une taille drastique tous les deux ans, qui est

suivie d'une taille moins sévère l'année suivante, générant jusqu'à 25 kg de feuilles et de branches par arbre **(Nefzaoui, 1991).**

En dépit de cette profusion, l'emploi industriel des feuilles d'olivier reste restreint. Une grande portion est laissée à l'extérieur ou incinérée, engendrant des risques pour l'environnement et mettant en évidence le besoin d'examiner de nouvelles techniques de valorisation (Saeed et al., 2024). À l'heure actuelle, l'utilisation principale des feuilles d'olivier se fait dans la nourriture pour animaux **(Ferlisi et a*l.*, 2023).**

De plus, on commence à utiliser des extraits et des poudres de feuilles d'olivier en tant qu'adjuvants alimentaires, même si leurs caractéristiques biochimiques demeurent encore peu exploitées **(Palmeri et *al*., 2022 ; Ranalli et *al*., 2006).** Du fait de leur richesse en composés bioactifs, notamment les phénols, ces extraits attirent de plus en plus d'attention dans les secteurs de l'alimentation, des cosmétiques et de la pharmacie.

## I.9. La composition chimique des feuilles d'olivier

La composition chimique des feuilles d'olivier fluctue selon plusieurs paramètres (type de variété, conditions météorologiques, période de cueillette, ancienneté des plantations, etc.). **(Khelouf et *al.*,2023).**

Les protéines, les lipides, les monomères et polymères phénoliques, ainsi que principalement les polysaccharides (celluloses, hémicelluloses), constituent la matière organique. Selon *Chaouch et al. (2019),* le taux de protéines dans les feuilles d'olivier est faible.

## I.10. Cycle végétatif

La longévité exceptionnelle de l'olivier est bien connue, et il n'est pas rare d'observer des arbres qui ont plusieurs milliers d'années. Toutefois, d'un point de vue agricole, il faut nous focaliser sur la période allant de sa naissance à la réduction significative de sa production (Fig.2).

Donc, en fonction de sa productivité, la vie de l'olivier peut être segmentée en trois étapes :

- **Étape juvénile :** de 1 à 7 ans (sans production).
- **Étape de production :** de 7 à 150 ans.
- **Étape sénile :** après les 150 ans (production basse) **(AOP, 2010).**

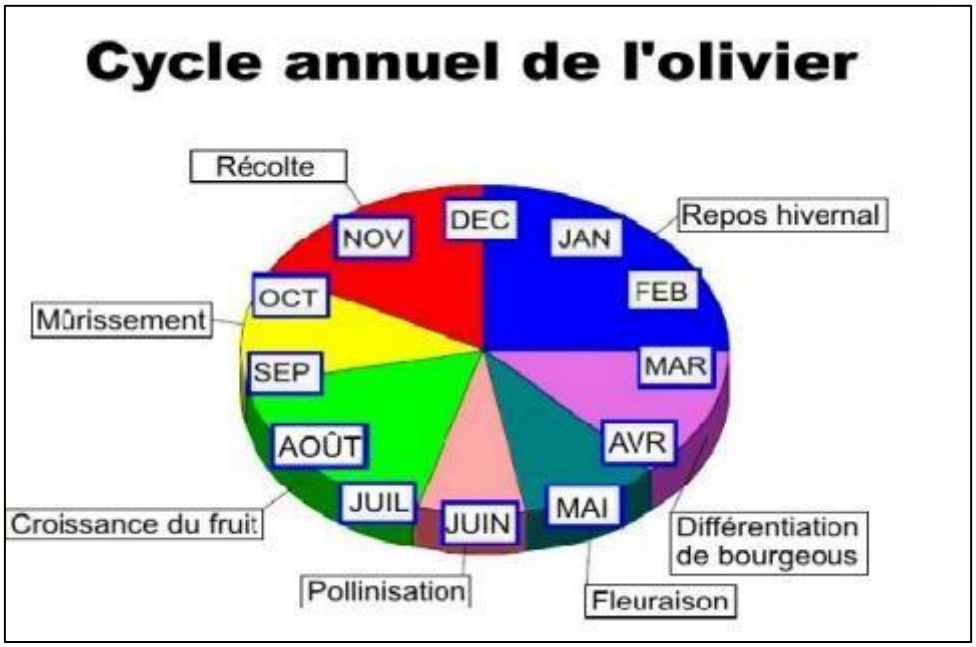



**Figure 2.** Cycle annuel de l'olivier **(AOP, 2010).**

## I.11. Répartition de l'olivier dans le monde

On estime qu'il y a 784 millions d'oliviers à travers le monde, dont 754,2 millions dans la région méditerranéenne. L'Europe abrite donc 66% des oliviers mondiaux. En 2012, l'UE recensait approximativement 4,65 millions d'hectares dédiés à la culture de l'olivier. L'Espagne en détient 53%, tandis que l'Italie en possède 24%. La Grèce et le Portugal viennent ensuite avec respectivement 15% et 7%. Quant à la France, la Croatie, Chypre et la Slovénie réunies, elles représentent globalement 1% de la superficie totale des plantations d'oliviers. La majorité des régions productrices d'olives en Europe sont anciennes. Près de 2,7 millions d'hectares ont au moins 50 ans, près de 1,5 million d'hectares ont entre 12 et 49 ans, 313 000 ha sont âgés de 5 à 11 ans et environ 130 000 ha ont moins de 5 ans (Fig.3) **(Eurostat, 2016).**

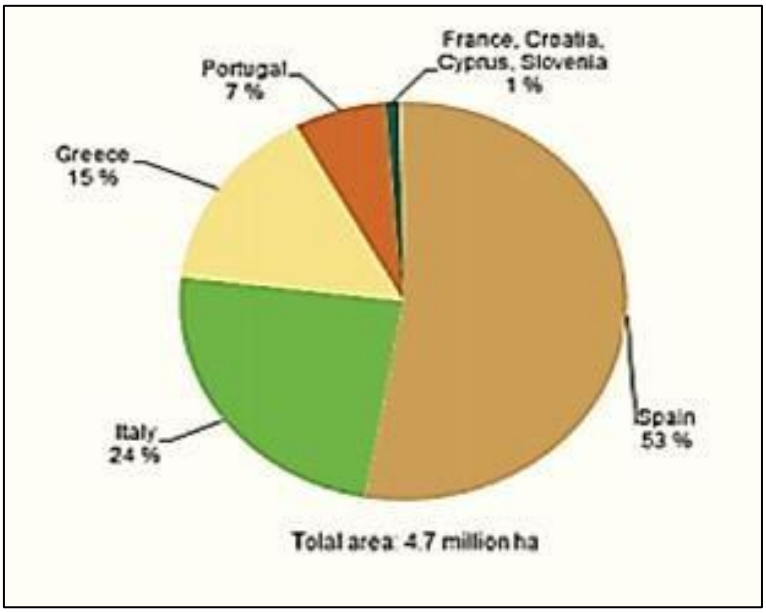



**Figure 3.** Répartition de la plante dans le monde **(Eurostat, 2016).**

Le verger oléicole mondial est réparti de manière inégale entre les différentes régions. L'Asie méditerranéenne représente 17 % de la superficie Oléicole mondiale, la Turquie étant le principal producteur avec près de 83 millions d'oliviers. En Syrie, la culture de l'olivier connaît une forte expansion et couvre environ 405 000 hectares, soit près de 46 millions d'arbres concentrés principalement dans le Sud-Ouest. Au Liban, les oliveraies sont localisées surtout dans la région du Koura et au sud de Beyrouth. L'Afrique du Nord regroupe quant à elle 14 % du patrimoine Oléicole mondial. Avec plus de 55 millions d'arbres répartis sur 1,4 million d'hectares, la Tunisie domine largement ce secteur dans la région et dispose d'une vaste monoculture couvrant près de 800 000 hectares.

En 2014, elle occupait le deuxième rang mondial des producteurs d'huile d'olive après l'Espagne **(Nicole, 2015)**. Au Maroc, la culture de l'olivier est en pleine expansion et se concentre principalement dans les provinces du Sud (31 %), du Rif (28 %) et du Centre (22 %). En Algérie, deux systèmes coexistent : une oléiculture traditionnelle en Kabylie (55 %) et une oléiculture moderne d'origine européenne dans la région d'Oran (20 %) **(Agroconsult, 2008)**.

# Chapitre II - Pigments chlorophylliens

## II.1. Définition

Les pigments sont, entre autres, des composés générés par des êtres vivants, dont la nuance est le produit de l'absorption spécifique du colorant adapté à certaines branches industrielles. Selon *Ullmann (1985),* ils se manifestent dans les granules au sein des cellules ou sur les membranes cellulaires sous forme de dépôts dans les tissus, ou encore en suspension. Ils peuvent être de nature organique ou inorganique. Ils entraînent des fluctuations de la lumière réfléchie ou transmise par le biais de l'absorption sélective à une longueur d'onde spécifique. On appelle « Pigment » toute matière composée de particules fines presque insolubles dans le milieu où elle est appliquée, et qui est utilisée pour ses caractéristiques colorantes, protectrices ou magnétiques **(Ullmann, 1985).**

Un pigment ou une teinture est une substance qui capte de manière sélective l'énergie électromagnétique dans la zone du spectre visible ou en UV proche **(Jacquot et *al*., 2011).** Les atomes qui se trouvent dans un état excité retournent à leur état fondamental soit par réémission de lumière, soit par dissipation d'énergie thermique ou chimique. Selon *Hendry (1996),* les pigments biologiques naturels sont produits et stockés dans des cellules actives, ou bien sont libérés par ces cellules vivantes (Fig. 4).

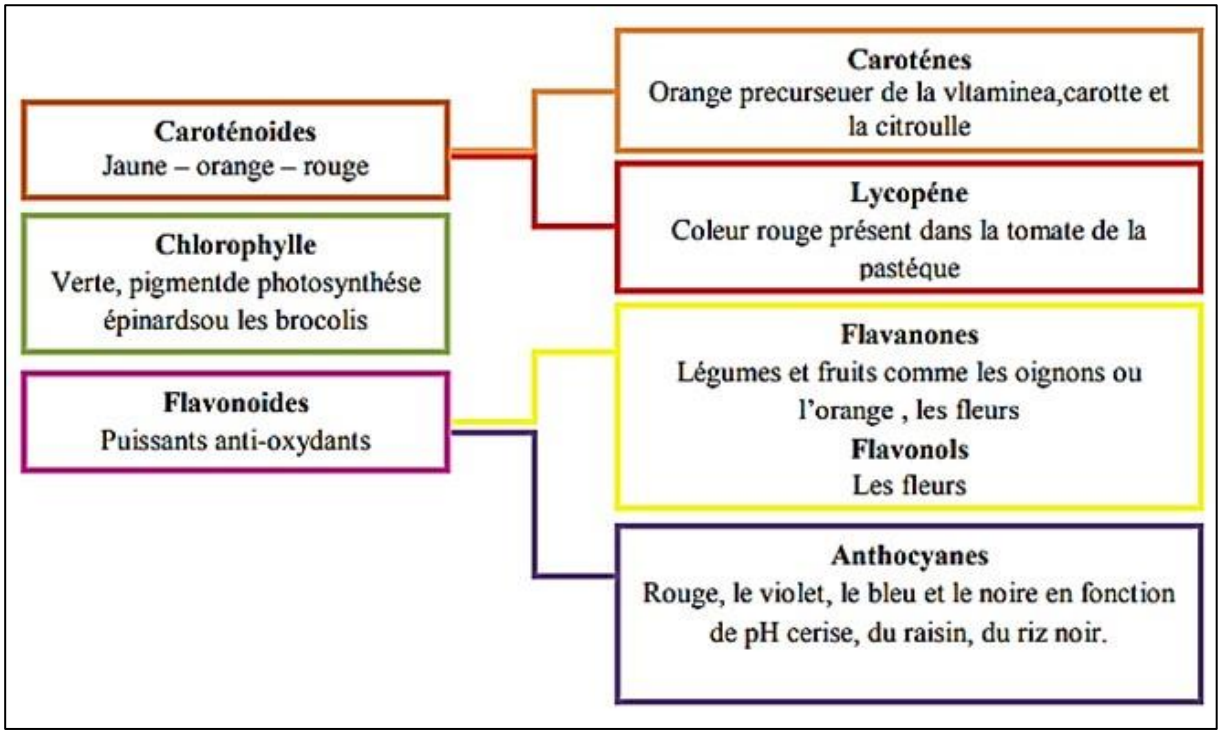



**Figure 4.** Les catégories des pigments issus des végétaux **(Davies, 2004).**

## II.2. Rôle de la couleur dans les aliments

L'industrie agro-alimentaire utilise des colorants pour donner un aspect plus attrayant à certains de ses produits. Effectivement, la couleur joue un rôle crucial dans notre perception des aliments et contribue à nos critères pour évaluer leur qualité. Les industries incorporent des colorants dans leurs produits afin que leur apparence soit conforme aux attentes du consommateur. L'homme a toujours teint ses plats culinaires, influencé par le lien entre la couleur et l'aspect appétissant d'un aliment. Donc, les épices telles que le safran, le curry ou le curcuma ne se contentent pas d'apporter de la saveur, elles jouent également un rôle esthétique **(Adeinat, 2018).**

Plusieurs essais ont prouvé l'importance de la couleur dans notre appréciation des aliments. Quand les aliments sont teintés de manière à ce que la couleur et le goût s'harmonisent, cela peut aussi influencer la perception de certaines senteurs ou de certaines saveurs. Ainsi, on peut observer des liaisons entre la teinte et le goût comme : rouge : saveur forte, rose : sucré et suave, jaune : piquant et acide, orangé : poivré et épicé, vert : salé et aigre **(Burnham 1963; Cavassilas, 2012).**

À l'heure actuelle, le domaine des teintures représente un secteur crucial de la chimie contemporaine. Au cours des dernières décennies, l'industrie alimentaire à l'échelle mondiale a de plus en plus recours à des colorants naturels ou synthétiques, notamment pour les conserves, les sucreries et les boissons. Cela s'étend également à la charcuterie, aux fruits et légumes, aux matières grasses (comme l'huile, le beurre et le fromage) ainsi qu'au sucre. Toutefois, même si la couleur des fruits et légumes peut changer au cours de la saison et que le processus de transformation peut entraîner une décoloration, les producteurs alimentaires ont l'obligation d'assurer une consistance dans l'apparence du produit d'une semaine à l'autre. Pour le producteur, l'uniformité des couleurs est perçue comme un témoignage visuel de la rigoureuse constance du processus de production. Il existe plusieurs raisons pour lesquelles des couleurs peuvent être ajoutées aux aliments, comme le résume **(Hendry, 1996).**

- Afin d'intensifier les teintes déjà existantes dans les aliments, mais qui ne correspondent pas tout à fait aux attentes du consommateur.
- Dans le but de garantir la consistance de la couleur des aliments de lot en lot.
- Pour rétablir l'aspect initial des aliments dont la couleur a été altérée par le traitement.
- Pour colorer certains produits tels que les bonbons, les glaces et les boissons gazeuses, qui seraient autrement transparents.

## II.3. Classification des pigments

Les pigments sont catégorisés en fonction de leur composition chimique, en pigments organiques et inorganiques, ou selon leur provenance, en pigments naturels et synthétiques.

### II.3.1. Pigments naturels

Les pigments bio-pigments, organiques ou naturels présentent une composition chimique complexe. Des végétaux, des animaux, des micro-organismes et des microalgues sont capables de les synthétiser. Les molécules produites se classent majoritairement en caroténoïdes, mélanines, flavines et phycocyanine. La stabilité des pigments dépend de la température, du niveau d'acidité, de la lumière, de l'oxygène, de l'humidité et du temps. En revanche, les pigments fabriqués par les micro-organismes sont hydrosolubles et peuvent interagir avec les éléments d'un environnement, comme les protéines, les acides aminés et les acides nucléiques **(Duffosé et *al*., 2005).** On peut classer les bio-pigments selon leurs similarités structurelles et leur occurrence dans la nature. La figure 5 illustre quelques exemples de bio-pigments.

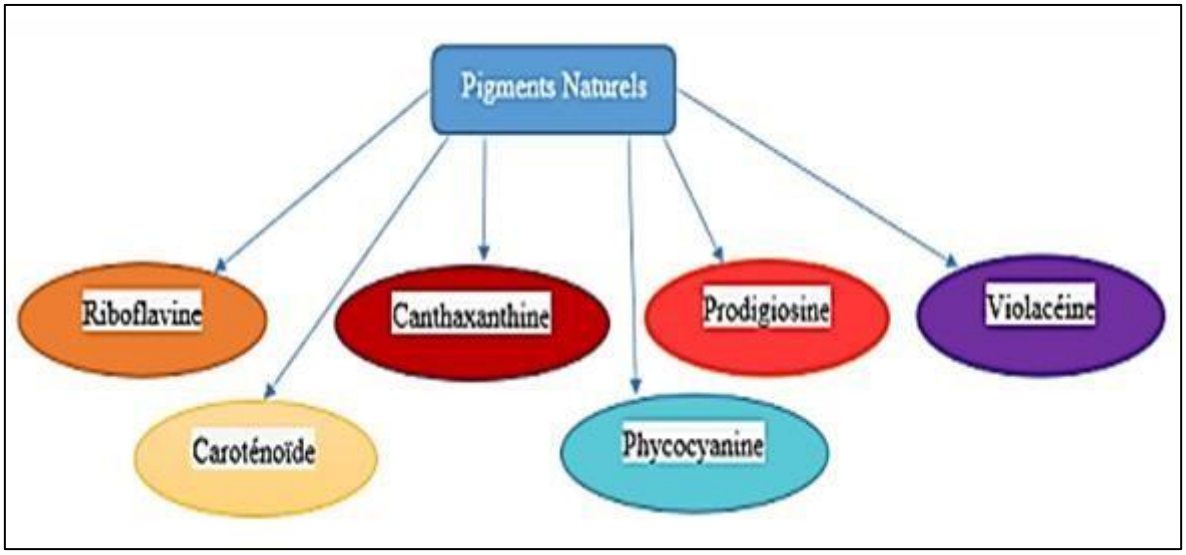



**Figure 5.** Classification des pigments naturels **(Singh, 2017)**

### II.3.2. Pigments synthétiques

Les colorants artificiels les plus couramment employés sont des composés azoïques, provenant de la dérivation de certains acides aminés aromatiques. Selon *Novotny (2006),* ces pigments sont employés dans les secteurs du textile, de l'alimentation, des cosmétiques, des peintures et de l'encre. Ces substances peuvent être toxiques pour les environnements aquatiques. Toutefois, il n'y a pas encore de réglementation fixant une concentration maximale autorisée dans l'eau **(Ribeiro et Umbuzeiro, 2014).**

Toutefois, leur déploiement à l'échelle internationale a connu une baisse en raison de leur caractère potentiellement cancérigène pour la peau et des allergies multiples qui y sont associées **(Franciscon et *al.,* 2012).**

## II.4. Effets des colorants sur la santé et l'environnement

Du point de vue sanitaire et économique, les colorants naturels offrent une multitude d'avantages par rapport aux colorants synthétiques. Ils sont écologiques, sans pollution, sûrs, non cancérigènes et inoffensifs. À l'inverse des pigments synthétiques qui peuvent déclencher des allergies, comme des éruptions cutanées ou de sévères réactions respiratoires, nommées « sensibilisation respiratoire », lors de leur manipulation **(Duran et *al*., 2002).**

De ce fait, l'emploi de substances chimiques fortes dans un environnement de travail humide peut également entraîner une dermatite. On soupçonne quelques colorants synthétiques à base de benzidine d'être responsables du cancer de la vessie chez l'homme **(Ozaki et *al*., 2002).** Toutefois, les pigments naturels peuvent être récupérés et réutilisés après leur utilisation, offrant des bénéfices en matière de gestion des déchets et garantissant une sécurité absolue au travail, puisqu'ils permettent la création d'une vaste palette de couleurs.

## II.5. Avantages des colorants naturels

Même si de nombreux articles et études scientifiques soulignent les impacts délétères des colorants alimentaires sur la santé humaine, certains d'entre eux sont jugés avantageux pour la santé humaine dans une certaine mesure. Nous soulignons, par exemple, que les composés naturels sont optimaux pour les avantages qu'ils peuvent offrir à l'organisme, par exemple :

-La curcumine, un colorant naturel, a des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes tout en diminuant le risque de cancer **(Belhadj, 2014)**

-La riboflavine, un colorant naturel, offre plusieurs bienfaits pour la santé et possède des vertus antioxydantes **(Belhadj, 2014)**

-Les colorants naturels agissent comme des antioxydants, qui, une fois assimilés par le corps, contribuent à la protection et à la régénération des cellules abîmées. Les antioxydants ont prouvé leur aptitude à bloquer l'oxydation de l'ADN, qui serait la source des cancers (**Belhadj, 2014).**

## II.6. Inconvénients des colorants synthétiques

L'ingestion de colorants synthétiques n'a pas systématiquement des effets néfastes sur la santé. Cependant, chez certaines personnes sensibles, elle peut provoquer des réactions d'intolérance ou des allergies. Des études ont également montré que certains colorants peuvent présenter des effets mutagènes et génotoxiques, susceptibles d'augmenter le risque de développer certains cancers, notamment au niveau de la thyroïde, des glandes surrénales et des reins. Ces effets restent rares et sont généralement observés lors d'une consommation excessive et prolongée de ces substances **(Belhadj, 2014).**

On soupçonne que ces colorants peuvent contenir des substances cancérigènes et seraient impliqués dans ce syndrome d'hyperactivité. Autrement dit, les réactions aux intolérances liées aux colorants alimentaires présentent généralement des caractéristiques distinctes. Voici la liste la plus couramment observée :

- Effet sur le système nerveux central Interférence de type neurotransmission Énergie GABA : surproduction d'acétylcholine (qui est un élément de neurotransmetteur) ou présence d'amines biogènes.
- Agissant sur le système nerveux périphérique, certains éléments comme l'Amarante et la Tartrazine ont un effet stimulant et provoquent des anomalies au niveau des récepteurs neuronaux.
- Blocage ou insuffisance de certaines enzymes.
- Accroissement de la perméabilité intestinale (Belhadj, 2014).

## II.7. Marché mondial des colorants naturels

L'internationalisation de la vente de produits naturels en est à un stade d'expansion remarquable. Cela est attribué à la croissance anticipée des marchés, prévue au-delà de 4 milliards de dollars américains uniquement pour les États-Unis en 2000, ainsi qu'à l'apparition de nouvelles catégories de substances naturelles qui transforment rapidement et radicalement la conception de la santé et des maladies **(Downham et Collins, 2000).**

Par conséquent, une estimation judicieuse pourrait évaluer la somme à 940 millions de dollars, pouvant être divisée comme indiqué dans la figure 6.

On a récemment observé une expansion significative dans le domaine des colorants naturels, grâce à l'amélioration de leur stabilité. De plus, les industries alimentaires s'efforcent de satisfaire la demande croissante des consommateurs qui affirment que « le naturel est

meilleur ». Néanmoins, le prix des teintures naturelles dépasse celui des teintures synthétiques de nuances similaires. Néanmoins, la production à grande échelle de colorants naturels d'origine microbienne pourrait permettre de surmonter cet obstacle et de diminuer considérablement le coût de production par rapport à une demande croissante **(Babitha, 2009).**

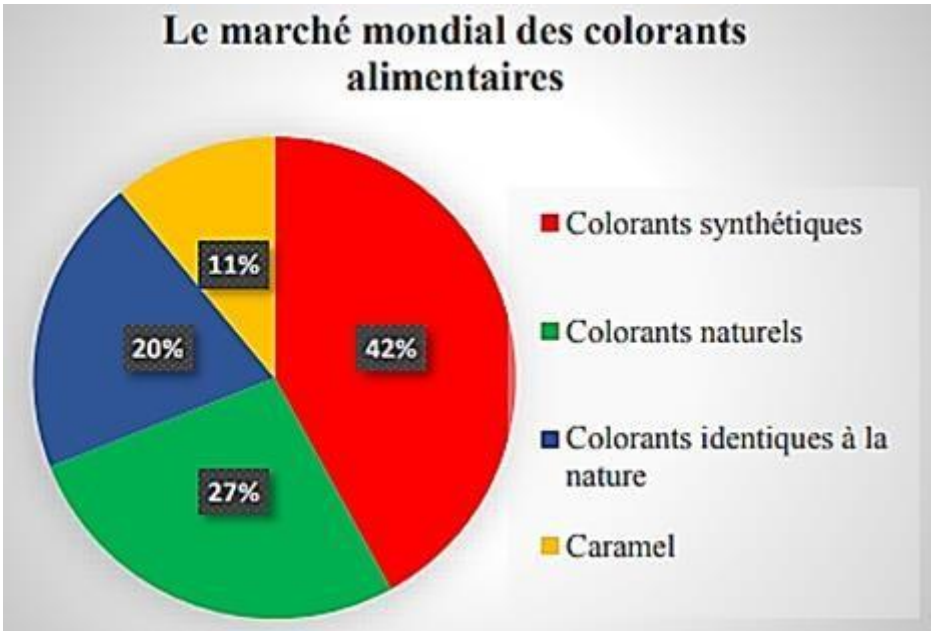



**Figure 6.** Marché en pourcentage des colorants alimentaires **(Babitha, 2009).**

## II.8. Définition des pigments chlorophylliens

La chlorophylle, terme inventé par *Pelletier et Caventou* en 1818 pour décrire la substance verte présente dans les feuilles, représente la catégorie de pigments photorécepteurs les plus répandus et essentiels sur notre planète. Elle est non seulement le cœur de la photosynthèse, mais elle confère également leur couleur verte aux micro-algues. Plus important encore, elle est essentielle pour la capture de l'énergie lumineuse et sa transformation en énergie chimique. Ce processus de bioconversion, qui se déroule dans les thylakoïdes des chloroplastes (Fig.7), est à la base de la productivité primaire des écosystèmes aquatiques et constitue la source d'énergie indirecte pour presque toutes les formes de vie.

La chlorophylle (Ch) fonctionne à la fois comme un récepteur de photons et comme un centre de réaction qui initie la chaîne de transferts d'électrons **(Li et Chen, 2015).** Parmi les microorganismes photosynthétiques, la Chlorella se démarque par une concentration particulièrement riche en chlorophylle, avec des variétés comme la « Chlorella Flamant vert » qui excède 5% en poids sec, ce qui la distingue en tant que source favorisée par ce pigment. Il

convient de mentionner que cette abondance de pigments est propre à la chlorophylle, car à l'inverse de la Spirulina, une cyanobactérie qui stocke la phycocyanine, La Chlorella ne produit pas ce pigment bleu-vert **(Françoise, 2008).**

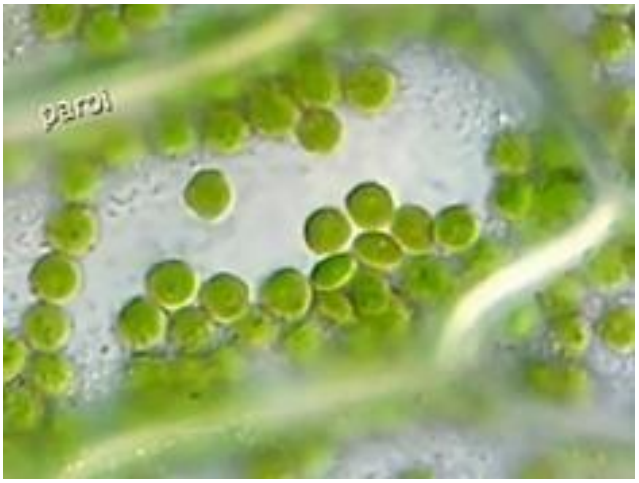


**Figure 7.** Observation sous Microscope de la chlorophylle **(Françoise, 2008).**

## II.9. Composition et structure de la chlorophylle

Les chlorophylles, pigments cruciaux et dominants du processus photosynthétique, sont des chromophores complexes qui se caractérisent par un noyau cyclique tétrapyrrolique coordonné à un atome central de magnésium par le biais de liaisons covalentes. Cette structure est essentielle à leur activité photophysique **(Lehninger, 1987).** Leurs propriétés spectrales variées sont influencées par les substituants latéraux attachés à ce cadre tétrapyrrolique, ce qui ajuste leur pouvoir d'absorption dans le spectre visible (400-700 nm) et définit des longueurs d'onde spécifiques d'absorption (λmax) **(Jeffrey et Wright, 2005; Scheer, 2006).**

La chlorophylle a est généralement reconnue comme le pigment actif, étant donné qu'elle joue un rôle direct dans la capture et la transformation de l'énergie lumineuse au sein des centres réactionnels. Les autres formes de chlorophylle, comme la chlorophylle b, C1, C2, C3, d et f, fonctionnent en tant que pigments accessoires. Elles augmentent le spectre d'absorption et transmettent efficacement l'énergie lumineuse vers les centres réactionnels de la chlorophylle a **(Scheer, 2006).** Ces pigments se caractérisent par des changements structurels distincts, tels que la présence d'un groupe formyle en C3 pour la Chb, l'absence de chaîne phytile dans les ChC, ou des substitutions particulières (par exemple, formyle en C3 pour Chd et en C2 pour Chf) qui autorisent certaines chlorophylles à capter des photons dans l'infrarouge proche **(Miyashita et *al*., 1996 ; Larkum et *al.*, 1994 ; Chen et *al*., 2010, 2012).**

*In vivo,* ces pigments sont étroitement liés à des protéines formant des complexes d'antenne et des centres réactionnels (PSI/PSII), ce qui optimise le transfert d'énergie et d'électrons. De même, les caroténoïdes associés ont un rôle crucial de protection contre la lumière en dissipant l'énergie lumineuse excessive, prévenant ainsi les dommages causés par la photo-oxydation **(Angerhofer et *al*., 1998 ; Markwell et *al.*, 1979).**

## II.10.Rôle de la chlorophylle

La chlorophylle, pigment essentiel chez les organismes phototrophes comme les plantes vertes et les algues, joue un rôle central dans la photosynthèse, un processus indispensable qui soutient la chaîne alimentaire de la biosphère. Elle a pour rôle principal de capter l'énergie lumineuse et de la transformer en énergie chimique. De manière plus précise, la chlorophylle capte l'énergie photonique qui, par la suite, sert à déclencher la photolyse des molécules d'eau. Cela produit la capacité réductrice (NADPH) et l'Adénosine Triphosphate (ATP), indispensables pour l'intégration du carbone lors des réactions biochimiques suivantes du cycle de Calvin **(Kouril et *al*., 2005).**

Si toutes les molécules de chlorophylle présentes dans les complexes de collecte de lumière (LHCs) captent l'énergie électromagnétique à des longueurs d'onde déterminées, seule une partie d'entre elles, située dans les centres réactionnels, réussit à la transformer en énergie chimique. La chlorophylle joue le rôle de pigment principal, transmettant l'énergie qu'elle capte à des pigments accessoires comme les caroténoïdes et la lutéine, qui à leur tour diffusent cette énergie vers les centres réactionnels pour transformer le dioxyde de carbone et l'eau en matière organique.

De plus, certaines recherches indiquent que la chlorophylle pourrait aussi jouer un rôle d'intermédiaire dans la biosynthèse d'autres pigments tels que les caroténoïdes **(Herrin et *al*., 1992).**

Outre son rôle biologique initial, l'interaction particulière de la chlorophylle avec le spectre visible du rayonnement électromagnétique lui confère une importance particulière pour diverses applications technologiques et spectroscopiques **(Chen et *al*., 2016).** Cette caractéristique a été mise en œuvre, entre autres, dans la création d'un biocapteur fluorescent à base de chlorophylle pour mesurer la viabilité des cellules micro-algales présentes dans l'eau de ballast des navires **(Wang et *al*., 2013),** ou lors du développement de biocapteurs tissulaires qui

fixent des algues photosynthétiques telles que Chlorellavulgaris et la cyanobactérie Nostoc commune sur des filtres **(Sanders et *al*., 2001).**

# Chapitre III - Utilisations des pigments

## III.1. Domaine d'application

Les principaux domaines d'application des colorants, y compris sous forme de pigments

- textiles : 60%
- documents : 10%
- Plastiques et élastomères : 10%
- Cuirs et fourrures : 3%
- Les autres applications liées aux denrées alimentaires, au bois, à la photographie, à la peinture en bâtiment, etc.

Les colorants ont de multiples applications dans divers secteurs, dont voici quelques exemples importants :

- Pigments (secteur des plastiques).
- Encre et papier (secteur de l'impression).
- Additifs colorants (secteur agroalimentaire).
- Pigments pour les peintures, matériaux de construction et céramiques, relevant du secteur de la construction.
- Teintes pour cheveux (secteur des cosmétiques).
- Additifs colorants et agents de conservation (secteur pharmaceutique).
- Combustibles et huiles (secteur automobile, etc.…).
- Colorants textiles destinés à l'habillement, à la décoration, à la construction, au transport, ainsi qu'à un usage médical, etc. **(ARAR, 2016).**

## III.2. Classification

### III.2.1. Classification technologique

La classification des colorants offre à l'utilisateur une connaissance des secteurs d'application ainsi que des caractéristiques de ces derniers (capacité de dissolution, compatibilité avec certains types de fibres ou matériaux, type de fixation…). Le tableau 01 répertorie les classes d'application des colorants les plus importantes, leurs caractéristiques et leurs usages **(Renathmane, 2005).**

**Tableau 01.** Classification technologique des colorants.

| Classe de colorants | Caractéristiques | Utilisations |
|---|---|---|
| Colorants acides métallifères ou non | / | Soie, laine, poils (mohair, cachemire…) |
| Colorants à base de composants azoïques | Fabrication d'un colorant solide avec fixation dans la fibre solide | Cellulosiques |
| Colorants basiques | / | Acryliques |
| Colorants développeurs | / | Coloration capillaire |
| Colorants dispersés | Très peu solubles dans l'eau | Polyester<br>Acétate, triacétate de cellulose<br>Polyamides<br>Acryliques<br>PVC<br>Jamais sur les fibres naturelles |
| Agents fluorescents | Colorants blancs avec pouvoir fluorescent qui donnent un aspect plus blanc | Toutes fibres |
| Colorants alimentaires | / | Coloration des aliments |
| Colorants formés in situ | / | / |
| Mordant (au chrome) | Nécessité d'un traitement associé avec un sel métallique pour former une combinaison solide | Laine Polyamides |
| Colorants naturels | Extraits de sources naturelles réelles végétales ou animales | / |
| Colorants réactifs | Liaisons covalente avec les fibres<br>Propriétés de brillance et de très bonne tenue au lavage | Cellulosiques coton, lin, laine, soie<br>Certains polyamides |
| Colorants réducteurs | Servent à décolorer par destruction des colorants | / |

| | | |
|---|---|---|
| Colorants de soufre | / | Cellulosique |
| Colorants de cuve | Colorants insolubles appliqués sous forme soluble réduite puis réoxydés en forme insoluble après absorption par les fibres | Cellulosiques |
| Colorants directs : substantifs | Application directe sur les fibres dans les bains neutres ou alcalins grande réversibilité | Cellulosiques Soie |
| Base d'oxydation | / | Coloration capillaire |
| Colorants solubles dans les solvants | / | Matière plastique |
| Pigments | Insolubles dans l'eau (contrairement aux colorants) : colorations sans opération chimiques de teinture | Toutes fibres textiles<br>plastiques<br>Encres<br>Peintures |

### III.2.2. Classification chimique

Les colorants sont aussi classifiés dans l'index des couleurs basé sur leur formule chimique. On identifie 10 catégories distinctes.

-Colorants nitro (CI 10300-10999), pour quelques-uns d'entre eux, la diphénylamine constitue l'élément structurel de base.

-Très utilisés, ils sont dérivés du triphénylméthane (CI 42000-44999).

-Xanthène et ses dérivés (CI 46000-46999), incluant la fluorescencéine et l'éosine (utilisées en médecine).

-Composés dérivés de l'acridine (CI 46000-46999). Auparavant, ces composés étaient employés en tant qu'antiseptiques.

-Dérivés de la quinoléine (utilisés principalement dans les produits cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires).

-Azines (CI de 50000 à 50999).

-Colorants à base d'anthraquinone (CI 58000-72999). Il s'agit de la seconde catégorie de colorants textiles la plus couramment utilisée (juste après les colorants azoïques). Ils constituent entre 20 et 25% du marché des teintures pour textiles.

-Colorants de teinte indigo (CI 73000-73999). Ils sont employés pour colorer les textiles et on les désigne aussi sous le nom de « pigments de cuve » (ou vat pigments).

-Phtalocyanines (CI 74000-74999). Ils sont la source de divers pigments bleus et verts, utilisés dans le secteur industriel pour produire des encres et colorer des fibres textiles.

-Bases d'oxydation : Ce sont des composés aromatiques qui servent d'intermédiaires dans le processus de colorations permanentes des cheveux. Ils constituent les agents de coloration capillaire les plus puissants utilisés par les coiffeurs.

### III.2.3. Classification des colorants selon leurs utilisations

**-**Les colorants à mordant, qui sont solubles, nécessitent un processus de mordançage pour se fixer sur les fibres textiles grâce à des oxydes de certains métaux (Al, Fe, Co et Cr). Le chrome est le métal le plus couramment employé, d'où leur désignation de « colorants chromatables ». Par exemple, ils créent également des complexes avec les ions métalliques via la présence de groupes hydroxyles à proximité (**Nigam et *al*.,2001).**

Les colorants acides ont la capacité de colorer certaines fibres (telles que les polyamides) dans un bain acide. Ils sont constitués de chromophores et de groupes sulfonates, ce qui les rend solubles dans l'eau. Cette catégorie de pigments revêt une grande importance pour les variations de nuances. L'exemple de ce colorant est présenté dans la figure 08.

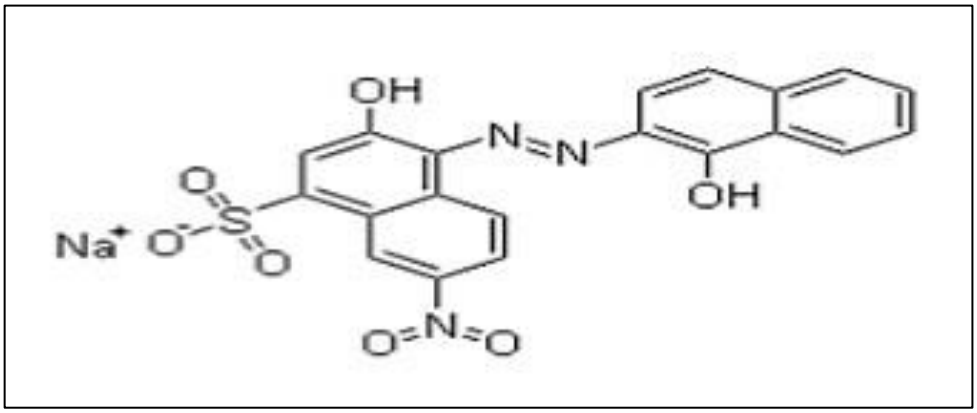



**Figure 8.** Structure chimique de l' acide orange (**Nigam et *al*.,2001).**

**-**Les teintures directes sont des colorants qui se dissolvent et sont utilisés dans le processus de teinture. Ils présentent une forte affinité pour les fibres cellulosiques en raison de leur structure linéaire et de la disposition coplanaire des noyaux aromatiques. De plus, ils permettent d'obtenir une large palette de couleurs. Cependant, ils affichent une solidité faible.

Les colorants cationiques (ou basiques) se distinguent par une forte adhérence des couleurs. Cependant, ils ne supportent pas bien l'exposition à la lumière, donc il est impossible de les utiliser pour colorer les fibres naturelles. Les colorants alcalins produisent des nuances très durables sur les fibres synthétiques, comme les fibres acryliques par exemple. La structure du bleu de méthylène, un colorant basique, est illustrée par la figure 04.

Les colorants azoïques insaponifiables, fabriqués à partir des réactions de diazotationcouplage. On les emplois dans la teinturerie pour colorer les fibres de cellulose. Ces colorants produisent des nuances éclatantes, la figure 05 illustre un exemple de colorant azoïque **(Walsh, 1980).**

Les additifs de couleur, en particulier les colorants azoïques, sont largement employés dans la composition des produits alimentaires. Vu leur effet toxique et les risques qu'ils peuvent entrainer chez les êtres humains, les autorités concernées se sont attachées à gérer leur utilisation et les ont classifiés.

La classification la plus ancienne de ces colorants remonte à 1924 avec le C.X-Rose Colour Index, suivie par celle de *shültz* en 1931. À l'heure actuelle, les nations européennes ont intégré les colorants dans la classification globale des additifs. Ils sont numérotés de 100 à 199 et sont précédés des deux lettres CE (par exemple, CE.100 à 193).

Leur utilisation touche les domaines tels que **(Lederer, 1986)** :

- La confiserie pour les bonbons, dragées, pâtes de fruits.
- Les liqueurs telles que les liqueurs vertes, mauves, roses, etc…
- La pâtisserie tant pour les gâteaux et les tartes que pour les biscuits secs.
- La siroperie et la limonaderie.
- La fromagerie, le beurre et la margarine (coloration en jaune).

Les figures 06 et 07 représentent les structures chimiques de deux colorants alimentaires, le vert acide brillant (E.142) et le bleu de patente V (E.131).

## III.3. Autres classifications

La mauvéine est le tout premier colorant de synthèse. Il a été utilisé sur du coton et de la soie, son appellation tirée de sa teinte. Par la suite, de nombreux autres colorants ont été élaborés et ont reçu des appellations inspirées de plantes (comme l'Amarante, la fuchsine, la garance, la mauvéine, etc.), de minéraux (tels que le vert de malachite ou l'auramine, entre autres) et finalement en fonction de leurs structures chimiques (par exemple, le bleu de méthylène ou le violet de méthylène). On peut classer les colorants selon leur teinte, leur marque, leur méthode d'application et un code. Ce code inclut des lettres et des chiffres, par exemple B représente bleuâtre, R pour rougeâtre, Y, G ou J pour jaunâtre. **(Kebish ,1996, Walsh, 1980).**

# Partie expérimentale

# Chapitre IV - Matériel et méthodes

## IV.1. Objectifs

La présente recherche vise à extraire des pigments chlorophylliens naturels alternatifs aux pigments synthétiques pour des fins agroalimentaires. Dans cette optique, notre choix s'est porté sur les feuilles d'*Olea europaea* afin de préparer des pâtes alimentaires colorées. Cette approche constitue également une valorisation des parties non comestibles de cette plante.

Cette étude a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Relizane, durant la période allant de 16 Février 2026 à 03 Mai 2026.

Le protocole expérimental s'articule autour de plusieurs axes :
– Caractérisation biochimique de la plante
– Préparation de la matière végétale
– Extraction et caractérisation des pigments chlorophylliens
– Préparation de pâtes alimentaires colorée

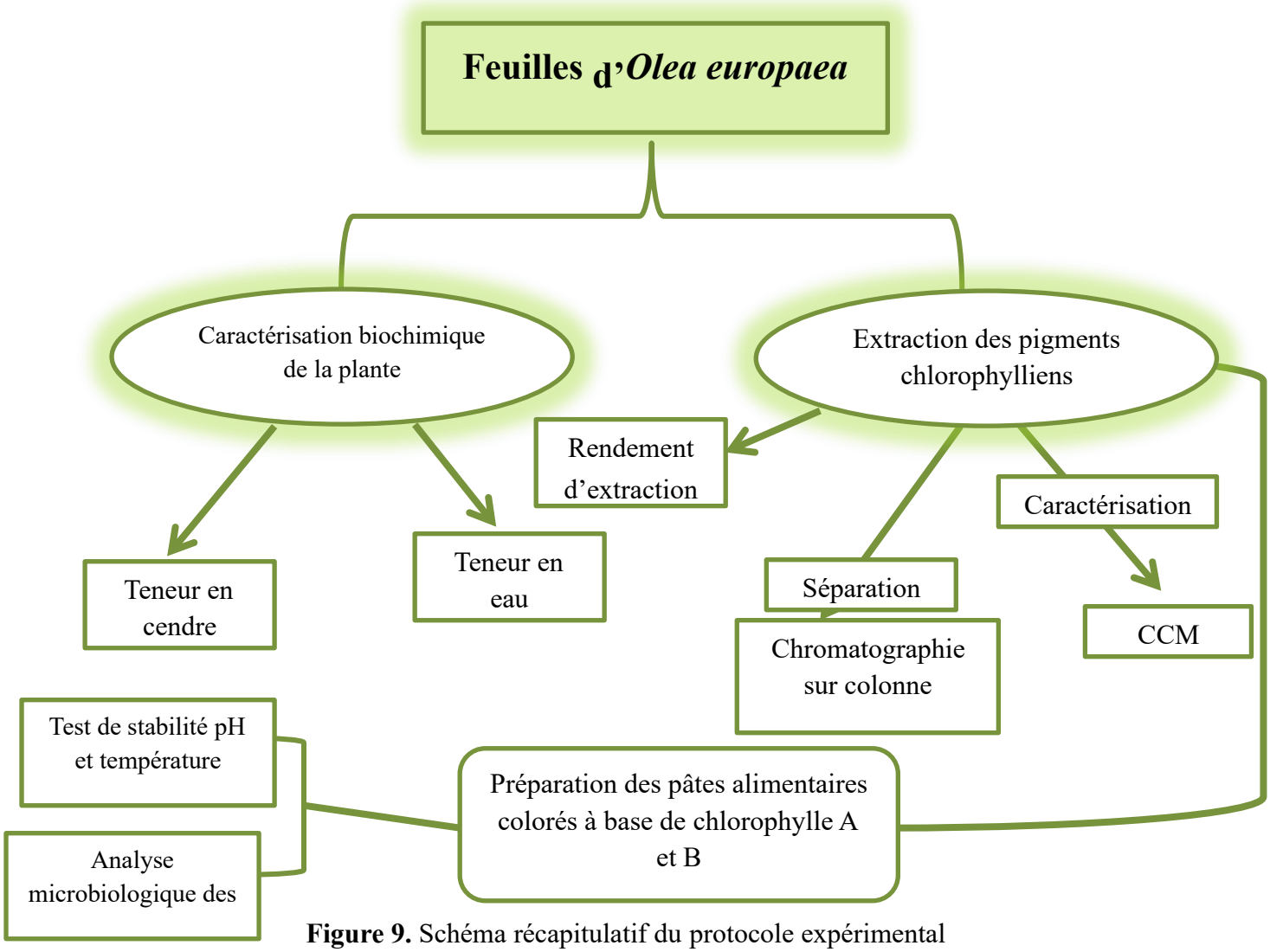



**Figure 9.** Schéma récapitulatif du protocole expérimental

## IV.2. Matériel végétal

Les feuilles d'*Olea europaea* ont été récoltées au mois de (Février2026) dans la région de (EL Hmadna, Relizane), puis acheminées au laboratoire dans un sac en plastique propre (Fig 10).



**Figure 10.** Feuilles d'*Olea europaea*

La plante a été authentifiée, d'une part, par un botaniste de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et, d'autre part, par comparaison de ses caractères morphologiques avec ceux décrits dans la littérature.

## IV.3. Caractérisation biochimique de la plante

### IV.3.1 Teneur en eau

La teneur en eau est déterminée après une élimination totale de toute trace d'eau présente dans un matériel végétal, après une dessiccation dans une étuve isotherme réglée à 103± 2°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant de l'échantillon **(Audigie, 1978).** Des capsules vides sont séchées à l'étuve réglée à 103± 2°C pendant 15 min et laissées refroidir dans un dessiccateur. Un poids de 2 g est placé dans une capsule puis l'ensemble est mis dans une étuve réglée à la même température pendant 3 heures. Ensuite les capsules sont retirées de l'étuve et laissées refroidir dans un dessiccateur. Après refroidissement les capsules sont pesées. Ces dernières sont remises à l'étuve puis pesées encore une fois. L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La teneur en eau ou d'humidité (H) est calculée selon l'équation suivante :

$$\% \mathbf{H} = \frac{(\mathbf{M1} - \mathbf{M2})}{\mathbf{p}} \mathbf{x\ 100}$$

M1 : masse initiale en g (Capsule + matière fraiche) avant dessiccation

M2 : masse finale en g (Capsule + matière sèche) après dessiccation

P : poids de la prise d'essai

Donc le taux de la matière sèche (MS) est conclu selon la relation suivante :

$$\mathbf{MS\ \% = 100 - H\%}$$

### IV.3.2 Teneur en matière minérale

Selon la norme **(**NF V05-113,1972**),** la détermination de la teneur en cendre est basée sur l'incinération de toute matière organique contenue dans un matériel végétal sous l'effet d'une haute température qui est de 550±15°C. Une quantité de 2 g de chaque poudre pulvérisée de la plante est mise dans une capsule préalablement tarée. Ensuite l'ensemble est introduit dans un four à moufle réglé à une température égale à 550±25°C pendant 5 à 6 h jusqu'au changement de couleur de la poudre incinéré au grise claire ou blanchâtre. Après refroidissement les capsules sont retirées et leurs poids sont mesurés à nouveau. Le pourcentage de la matière organique (MO) est calculé selon l'équation suivante :

$$\mathbf{MO\%} = \frac{(\boldsymbol{M1} - \boldsymbol{M2})}{\mathbf{P}} \times \mathbf{100}$$

M1 : masse initiale en g (Capsule + matière sèche) avant incinération

M2 : masse finale en g (Capsule + cendre) après incinération

P : poids de la prise d'essai

Donc la teneur en cendre est calculée selon la relation suivante :

$$\mathbf{\%\ de\ cendre = 100 - \%MO}$$

## IV.4. Préparation de la matière végétale

Les feuilles saines d'*Olea europaea* sont lavées soigneusement à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les impuretés, puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière, ou à l'étuve à basse température (≤ 40 °C). Après séchage, les feuilles sont finement broyées à l'aide d'un mortier ( ).

## IV.5 Extraction des pigments chlorophylliens

### IV.5.1. Principe

Les feuilles de la plante sont mises en contact avec de l'éthanol absolu qui va les léser mécaniquement et va détruire les membranes des cellules dans le but d'en extraire les organites (les lipides et les lipoprotéines sont solubles dans l'éthanol). Le broyat ainsi obtenu est filtré et

la chlorophylle est extraite grâce au dichlorométhane, solvant d'extraction. Après une seconde filtration, le filtrat est chauffé afin de garder uniquement les pigments de la chlorophylle.

### IV.5.2 Mode opératoire

Une quantité de 10 g de feuilles est hachée à l'aide d'un mortier, puis 10 mL d'éthanol absolu sont ajoutés au broyat. Le mélange est filtré dans un Erlenmeyer à l'aide de coton cardé. La pulpe récupérée est ensuite placée dans un bécher, à laquelle on ajoute 12 mL de dichlorométhane. L'ensemble est agité pendant deux minutes, puis soumis à une seconde filtration. Le filtrat obtenu est récupéré et soumis à une évaporation au bain-marie réglé à 95 °C. Des pigments chlorophylliens purs et colorés sont ainsi obtenus au fond de l'Erlenmeyer (Fig.11), puis redissous dans quelques millilitres d'un mélange de solvants polaire/apolaire (9:1) (Annexe 1). Le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$R\ (\%) = \frac{masse\ de\ l'extrait\ obtenu\ (m)}{masse\ de\ la\ plante\ utilisée\ (p)}\ x\ 100$$

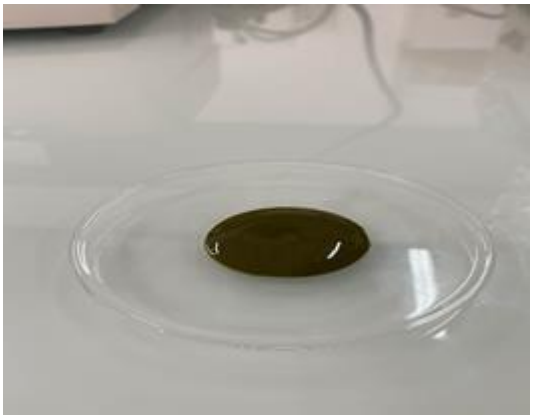


**Figure 11.** Aspect de l'extrait obtenu

## IV.6 Identification par CCM

### IV.6.1. Principe

La chromatographie sur couche mince permet une séparation des pigments dans un but d'analyse. La phase fixe est composée d'une couche solide sur laquelle est déposé un gel de silice servant de support et la phase liquide est constituée d'un éluant qui sépare les différents pigments. Plusieurs gouttes de solution de chlorophylle sont déposées sur la phase fixe à l'aide d'un capillaire pour former une tâche. La plaque de silice est mise en contact avec la phase liquide qui va migrer et entrainer les pigments de la chlorophylle par capillarité. Une fois que

la migration est terminée, on obtient plusieurs tâches colorées sur la plaque de silice correspondantes aux différents composants de la chlorophylle.

### IV.6.2 Mode opératoire

Une plaque de silice d'environ 15 cm de longueur et 4 cm de largeur a été découpée. Une ligne de dépôt a été tracée à 1 cm du bord inférieur de la plaque, sur laquelle une goutte de chlorophylle extraite a été déposée. La goutte a été séchée à l'aide d'un sèche-cheveux, et cette opération a été répétée six fois afin d'obtenir une tache verte bien visible. L'éluant a été préparé dans un volume total de 10 mL, composé de 40 % de solvant apolaire (éther de pétrole) et de 60 % de solvant polaire (éther diéthylique). Ce mélange a été versé dans une cuve de chromatographie, puis la plaque y a été introduite. L'ensemble a été couvert et maintenu à l'obscurité pendant environ une heure, jusqu'à ce que l'éluant atteigne le front supérieur de la plaque (Fg.12).

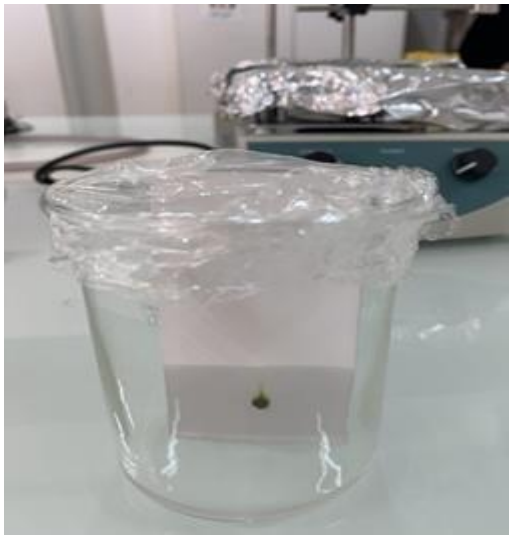


**Figure 12**. Analyse de l'extrait par CCM

## IV.7. Séparation et dosage des pigments

### IV.7.1. Séparation

Les pigments chlorophylliens ont été séparés à partir de l'extrait brut selon une méthode d'extraction liquide–liquide inspirée de Lichtenthaler (1987). Un volume de 5 mL de l'extrait végétal filtré a été introduit dans un tube à essai, puis mélangé à 10 mL d'hexane et à 5 mL d'eau distillée. Après une agitation douce pendant 1 à 2 minutes, le mélange a été laissé au repos

pendant 5 à 10 minutes afin de permettre la décantation et la formation de deux phases distinctes. La phase organique supérieure, caractérisée par une coloration vert foncé intense, contenait les pigments chlorophylliens et les caroténoïdes, tandis que la phase inférieure renfermait principalement les composés polaires. La phase supérieure a ensuite été récupérée et utilisée pour les analyses chromatographiques ultérieures.

### IV.7.2. Dosage des pigments chlorophylliens

Après 48h, la densité optique est mesurée aux longueurs d'ondes 663nm et 645nm correspondant respectivement aux chlorophylles (a) et (b). Les résultats sont exprimés en mg/g de MF et les concentrations en chlorophylle (a) et (b) sont déterminées à l'aide des équations suivantes :

-Chl. (a) mg/g MF = [12,7*DO (663)-2,69*DO (645)]*0,1

-Chl.(b) mg/g MF =[22,9*DO(645) - 4,69*DO(663)]*0,1

-Chl. Total mg/g MF = 7.5*DO(663) + 18.71*DO(645)

### IV.7.3. Vérification de la stabilité de la Chlorophylle a et b

Après extraction, les chlorophylles a et b sont présentes sous forme de mélange. Celuici est divisé en trois fractions, incubées respectivement à 25 °C, 40 °C et 60 °C, pendant 24h à l'abri de la lumière. Les absorbances sont ensuite mesurées à 663 nm et 645 nm, et les concentrations de la chlorophylle a et de la chlorophylle b sont calculées à l'aide des formules suivantes :

$$\text{Chl a} = 12{,}7A_{663} - 2{,}69A_{645}$$

$$\text{Chl b} = 22{,}9A_{645} - 4{,}68A_{663}$$

## IV.8.Stérilisation des pigments

Après vérification de sa stabilité, l'extrait chlorophyllien a été soumis à une irradiation par rayons X à l'aide d'un système de radiographie Siemens, modèle *Multix / X-ray Tube Systems*, au sein du service de radiologie de l'Hôpital Ahmed Boudiaf de Relizane. L'irradiation a été maintenue pendant une durée totale plus de 10 heures dans des conditions contrôlées, afin d'assurer la stérilisation de l'extrait tout en préservant ses propriétés physicochimiques. Cette

étape avait pour objectif d'éliminer les éventuels contaminants microbiens sans recourir à un traitement thermique susceptible d'altérer les pigments chlorophylliens (Fig.13).



**Figure 13.** Stérilisation par rayon X.

## IV.9. Préparation de spaghetti

Les composants de la pâte sont regroupés dans le tableau (2), en parallèle une pâte à base de colorant synthétique est préparée dans les mêmes conditions.

**Tableau 2.** Ingrédients de spaghetti préparé

| Ingrédients | Quantité (g) |
|---|---|
| **Eau** | 15 |
| **Semoule** | 50 |
| **Extrait chlorophylliens** | 3,89 |

Les étapes de préparation se divisent en quatre grandes étapes : Hydratation et malaxage de la semoule, mise en forme (par laminage), séchage et cuisson (Annexe 2).

### IV.9.1. Hydratation/malaxage

Dans un récipient, une masse de 50 g de semoule supérieure extra fine a été mélangée avec 15 mL d'eau distillée légèrement froide pour éviter l'agglomération de la semoule. Le mélange est ensuite mis en repos sous plastique afin d'éviter son séchage pendant 50min environ, ce temps est nécessaire pour une bonne hydratation de la semoule.

### IV.9.2. Pétrissage

Après le repos, le pétrissage manuel pendant 5min donne une pâte homogène, lisse et souple. Le mélange est entassé dans le pétrin pour un deuxième pétrissage pour une durée de 8 min. Après un repos de 50min, on découpe cette pâte en petites boulettes qui ont été étalée à l'aide d'un rouleau à pâtisserie.

### IV.9.3. Laminage

Le laminage des boulettes de pâte en feuilles mince est effectué à l'aide d'une machine à pâte, on applique deux passages sur deux laminoirs différents (progressivement par l'écartement 6). Les pâtes sont ainsi disposée pour un pré-séchage à l'air ambiant sur un plan de travail et recouvertes par un tissu propre spécialisé pour les pâtes. Les feuilles laminées sont ensuite découpées avec un emporte-pièce attaché au laminoir consacré à la fabrication des pâtes traditionnelles de type « spaghetti ».

### IV.9.4. Séchage

Les pâtes obtenues sont séchées, sur des tissus propres à une température ambiante dans une chambre bien aérée, jusqu'à l'obtention d'un produit cassant entre les doigts. Les

échantillons sont ensuite stockés dans des récipients en verre à l'abri de l'humidité et à température ambiante.

## IV.10 Appréciation de la qualité de la pâte

Les propriétés qui définissent la qualité des pâtes alimentaires sont déterminées à travers, leur comportement durant et après la cuisson (Gonflement et pertes de matières) (Annexe 3), leur valeur nutritionnelle et leur qualité sensorielle **(Feillet, 2000 ; Abecassis, 2011; Nasehi et al., 2011).**

### IV.10.1 Qualité culinaire

La qualité culinaire des pâtes fabriquées dans notre étude a été appréciée par la détermination du Temps Optimum de Cuisson (TOC), de l'épaisseur, du gonflement des pâtes, de la consistance et de leurs pertes au cours de la cuisson (Degré de Délitescence).

#### IV.10.1.1 Temps optimal de cuisson (TOC)

Un échantillon de pâte est plongé dans l'eau distillée préalablement chauffée jusqu'à ébullition sans addition du sel et sans stopper l'ébullition. Toutes les 15s, un brin de Spaghetti est prélevé puis immédiatement écrasé entre deux plaques de verre. Le temps optimal de cuisson correspond au temps nécessaire pour la disparition de la partie blanche centrale **(Marti et *al*., 2013).**

#### IV.10.1.2 Indice de Gonflement (IG)

Le gonflement est défini comme étant le gain de poids des pâtes pendant la cuisson et indique la quantité d'eau absorbée. Ceci est donc un indice sur la capacité de l'absorption d'eau de la pâte alimentaire **(Marti et *al*., 2013).** Un échantillon de 10 g de pates est cuit dans 100 ml d'eau distillé préalablement chauffée jusqu'à ébullition au temps optimal de cuisson. Les pâtes cuites sont égouttées puis pesées. L'Indice de Gonflement (IG) est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\textbf{IG}\ (\text{g pour 100g de pate sèche}) = \frac{(\text{poids de la pâte cuite- poids de la pâte non cuite}) \times 100}{\text{Poids de la pâte non cuite}}$$

### IV.10.2 Qualité technologique et chimique

#### IV.10.2.1 Epaisseur

Ce paramètre permet de détecter les malformations et les irrégularités dans la fabrication de la pâte dont on sélectionne quelques brins au hasard et on a mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (appareil de mesure directe, entièrement en acier inoxydable).

## IV.11. Test de stabilité des pates

### IV.11.1. Physicochimique

#### IV.11.1.1. Teneur en humidité

La mesure se fait par séchage à 130 °C par une étuve selon le principe thermogravimétrique à pression atmosphérique. La perte de masse observée est équivalente à la quantité d'eau présente dans le produit.

### IV.11.2 Microbiologique

Les microorganismes contaminent de nombreux produits alimentaires et peuvent constituer un grave danger sur leur qualité et leur conservation **(Giraud, 2012).** L'objectif principal du contrôle microbiologique de la préparation alimentaire est de révéler la présence éventuelle des microorganismes indésirables, et ceci dans le but d'assurer une meilleure qualité du produit fini.

### IV.11.2.1. Préparation des dilutions décimales [J.O n° 38 du 22/06/2014]

Une quantité de 25g de pates est placée dans un flacon stérile contenant 225 ml de diluant (eau physiologique), puis un volume de 1ml est introduit aseptiquement dans 9 ml du même diluant à l'aide d'une pipette pasteur stérile, la méthode est refaite de la même façon pour obtenir les dilutions $10^{-2}$ et $10^{-3}$.

### IV.11.2.2. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

#### IV.11.2.2.1 Principe

L'ensemble des micro-organismes capables de se reproduire dans l'air à une température moyenne, notamment entre 25 et 40°C, constitue la flore mésophile aérobie totale. Ils peuvent être des micro-organismes nuisibles ou de dégradation.

#### IV.10.2.2.2 Mode opératoire

Basé sur des dilutions décimales de $10^{-3}$ à $10^{-1}$. Un volume de 1 ml est transféré de manière aseptique dans une boîte de Pétri, puis complété par 20 ml de gélose PCA (Annexe 04) fondue. Le mélange est effectué par des mouvements en forme de 8. Après avoir été solidifiées, les boîtes sont placées en incubation à une température de 30°C pendant une durée de 72 heures. Les germes totaux apparaissent en masse sous une forme lenticulaire.

### IV.10.2.3 Dénombrement des levures et des moisissures

#### IV.11.2.3.1 Principe

Le développement des levures dans les produits alimentaires cause l'altération de leurs qualités marchandes, par formation de trouble et apparition d'odeur désagréable. L'altération provoquée par les moisissures conduit à une modification de la qualité nutritionnelle et de la qualité organoleptique. Certaines moisissures arrivent même à produire des toxines **(Ould el Hadj et *al.*, 2001).**

#### IV.11.2.3.2 Mode opératoire

Après avoir versé le milieu PDA (Annexe 4) dans les boites de Pétri, un volume de 100 µL des dilutions $10^{-1}$ et $10^{-2}$ de pâtes alimentaires et formulée est placé puis étalé sur la surface solidifiée. Les boites sont ensuite incubées en position renversée 25°C pendant 72h, les colonies de levures se présentent sous formes arrondies, lisses à contours réguliers et parfois pigmentées (couleur jaune, orange ou blanche) alors que les moisissures se présentent sous forme de colonies plus ou moins grandes comparativement aux colonies de levures. La lecture se fait sur des boites contenant de 10 à 100 colonies.

## IV.12. Détermination de la durée de vie des pâtes alimentaires

La durée de vie théorique des pâtes alimentaires a été estimée à l'aide d'un modèle multiplicatif tenant compte de plusieurs facteurs influençant leur stabilité au cours du stockage. La durée de vie (DL) a été calculée selon l'équation suivante :

$$DL = DL_{ref} \times FT \times FH \times FC = DL_{ref} \times \frac{Q10^{\frac{Tref-T}{10}}}{aw} \frac{aw\ ref}{} \times FC$$

**DLref:** 24 mois

**Facteur température (FT) :** Basé sur le Q10, Pour pâtes sèches : Q10≈2

$$F_T = Q10^{\frac{Tref-T}{10}}$$

**-Facteur humidité (FH) :** Souvent exprimé empiriquement (valeurs ≤ 1 si humidité élevée)

$$FH = \frac{HR\ ref}{HR} \quad \text{ou} \quad FH = \frac{aw\ ref}{aw}$$

**Facteur cuisson / procédé FC** : Ce facteur tient compte de :

Séchage optimal : FC= 1

Séchage modéré : FC = 0,8

Pates aux œufs : FC = 0,6- 0,8

Séchage haute température : FC = 1,1

## IV.13.Etude statistique

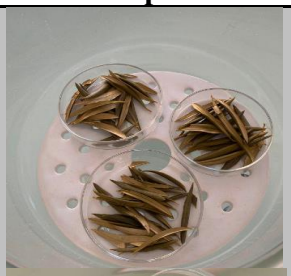
Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata, et les résultats sont exprimés sous la forme de la moyenne ± écart-type (moyenne ± ET). La comparaison des résultats obtenus pour les pâtes élaborées avec ceux des marques commerciales a été effectuée à l'aide d'une analyse de variance à un facteur (ANOVA). Toute valeur de p inférieure à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative.

# Chapitre V - Résultats et discussion

## V.1. Caractérisation biochimique des feuilles d'*Olea europaea*

Le tableau suivant regroupe la caractérisation biochimique de la plante utilisée.

**Tableau 3.** Caractérisation biochimique des feuilles d'*Olea europaea*

| Paramètres biochimiques | Feuilles d'*Olea europaea* | Aspect |
|---|---|---|
| **Teneur en eau (%)** | 56,29 ± 2,27 |  |
| **Teneur en matière sèche (%)** | 43,71 ± 2,27 | |
| **Teneur en cendre (%)** | 4,83 ± 1,44 |  |
| **Teneur en matière organique (%)** | 95,17 ± 1,44 | |
| **Rendement (%)** | 3,27 ± 1,84 |  |

D'après les résultats présentés dans le tableau, les feuilles *d'Olea europaea* présentent une teneur en eau de 56,29 ± 2,27 % et une teneur en matière sèche de 43,71 ± 2,27 %. Ces valeurs indiquent que l'eau constitue la fraction majoritaire de la masse des feuilles fraîches, tandis que la matière sèche représente une proportion importante de leur composition. Cette répartition traduit une teneur en humidité modérée, compatible avec l'état physiologique normal des feuilles et favorable à leur conservation après séchage, qui permet de réduire significativement leur teneur en eau et de stabiliser les constituants bioactifs.

Ces valeurs sont relativement proches de la composition moyenne citée dans la littérature, qui établit l'humidité à environ 49,8 % **(Boudhrioua et *al*., 2009).** La légère différence observée (une humidité un peu élevée dans l'échantillon expérimental) peut s'expliquer par des facteurs tels que la variété d'olive, les conditions climatiques lors de la récolte ou l'âge des arbres **(Niaounakis et Halvadakis, 2006).**

Les résultats de l'analyse minérale montrent que les feuilles *d'Olea europaea* contiennent 4,83 ± 1,44 % de cendres totales, tandis que la matière organique représente 95,17 ± 1,44 % de leur composition. La fraction cendreuse correspond à l'ensemble des résidus minéraux non volatils (calcium, potassium, magnésium, phosphore et autres oligoéléments) obtenus après incinération complète de la matière végétale.

La valeur de cendre est en parfaite adéquation avec la littérature qui rapporte une moyenne de 4,5 % de minéraux **(Boudhrioua et *al.*, 2009).** De même, la teneur en matière organique calculée à 95,17 % se situe dans la fourchette haute des données bibliographiques, lesquelles précisent que la matière organique dans les feuilles d'olivier varie généralement entre 76,4 et 92,7 g / 100 g de matière sèche **(Niaounakis et Halvadakis, 2006).** Cette richesse en matière organique confirme la présence importante de glucides, de protéines et de lipides caractéristiques de cette espèce.

Après évaporation du solvant, l'extrait végétal obtenu présente une couleur vert foncé confirmant la présence de pigments avec un rendement égal à 3,27 ± 1,84. Le rendement observé ici pour l'extrait sec de chlorophylle est spécifique à la fraction pigmentaire.

En revanche, le rendement moyen de 35,392 % rapporté dans la littérature pour les extraits de feuilles d'olivier est nettement supérieur à la valeur de 30,55 % obtenue par Acila (2018). Cette divergence souligne l'influence critique de la méthode d'extraction, de la nature du solvant et des caractéristiques génétiques de la plante sur l'efficacité du processus.

## V.2. Identification de pigments par CCM

L'analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) de l'extrait chlorophyllien a permis de mettre en évidence plusieurs pigments (Fig.14). Après migration de l'extrait chlorophyllien sur plaque de silice, quatre taches colorées ont été observées à différentes distances. Les valeurs des rapports frontaux (Rf) obtenues sont :

-Rf ≈ 0,96 (tache jaune-orange) : correspond aux carotènes, notamment le β-carotène. Ces pigments sont très apolaires, présentent une forte affinité pour la phase mobile et migrent donc presque jusqu'au front du solvant.

-Rf ≈ 0,65 (tache vert bleuâtre) : attribuée à la chlorophylle a, moins polaire que la chlorophylle b en raison de la présence d'un groupement méthyle (-$CH_3$) à la place d'un groupement formyle (-CHO).

-Rf ≈ 0,50 (tache vert jaunâtre) : correspond à la chlorophylle b, plus polaire que la chlorophylle a, ce qui explique sa migration plus faible.

-Rf ≈ 0,20 (tache jaune pâle proche du point de dépôt) : peut être attribuée aux xanthophylles, pigments oxygénés plus polaires que les carotènes. Selon le système éluant utilisé, ces composés migrent généralement moins loin.



**Figure 14.** Migration de l'extrait sur plaque CCM

La prédominance des bandes de couleur verte, associée à leur intensité marquée, indique que l'extrait est particulièrement riche en pigments chlorophylliens. Ces résultats confirment que les feuilles d'*Olea europaea* constituent une source importante de chlorophylles, molécules essentielles à la photosynthèse et reconnues pour leurs propriétés biologiques.

Il est à noter que plusieurs méthodes ont été développées pour la séparation des pigments photosynthétiques, notamment la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie sur papier (CP) et la chromatographie sur couche mince (CCM), ainsi que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) **(Lichtenthaler et Hartmut, 1987).**

## V.3.Séparation et dosage de la chlorophylle a et b

Un rendement de 0,06 % a été constaté après séparation de la chlorophylle a et b de l'extrait brut des feuilles d'olivier (Fig.15).

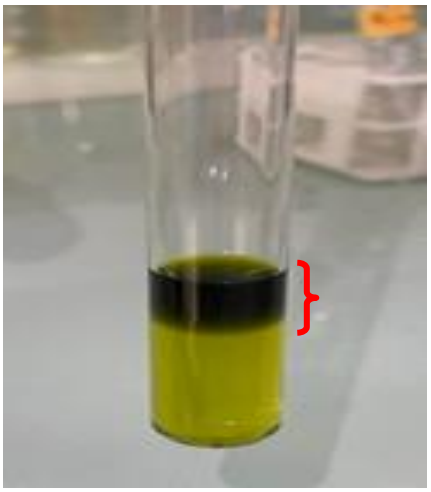


**Figure 15.** Séparation des pigments chlorophylliens

Cette séparation démontre que les pigments chlorophylliens ont une forte affinité pour le solvant organique en raison de leur caractère majoritairement lipophile. La concentration intense de la couleur verte dans la phase supérieure confirme que l'extrait brut est riche en chlorophylles.

Après avoir, dosé les pigments par spectrophotomètre, les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 4.** Résultats du dosage des pigments chlorophylliens

| | **Chlorophylle a** | | **Chlorophylle b** | | **Total** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Concentration (mg/g) de MF | Rendement (%) | Concentration (mg/g) de MF | Rendement (%) | Concentration (mg/g) de MF | Rendement (%) |
| **Extrait** | 0,43 ± 0,01 | 0,043 | 0,17 ±0,006 | 0,017 | 0,6 | 0,06 ± 0,04 |

Les résultats du tableau montrent que la chlorophylle a (0,43 mg/g MF ; 0,043 %) est nettement plus abondante que la chlorophylle b (0,17 mg/g MF ; 0,017 %). Cette différence est classique chez les végétaux, car la chlorophylle a est le pigment principal directement impliqué dans la phase photochimique de la photosynthèse, tandis que la chlorophylle b joue un rôle accessoire d'antenne collectrice de lumière. En revanche, la chlorophylle totale (0,6 mg/g MF ; 0,06 %) reflète une teneur globale relativement modérée en pigments chlorophylliens dans l'extrait analysé. Le rendement global reste faible, ce qui peut

s'expliquer par l'efficacité limitée du procédé d'extraction, la nature du solvant utilisé, ou encore l'état physiologique du matériel végétal.

Nos résultats sont en accord avec les travaux antérieurs, qui indiquent que les deux chlorophylles sont des composants essentiels des membranes photosynthétiques et qu'elles se présentent généralement dans un rapport chlorophylle a/chlorophylle b d'environ 3/1 **(Lichtenthaler, 1977**).

En effet, une teneur en chlorophylles (a + b) de 7,74 µg/g a été enregistrée chez la variété de blé Boussalem, tandis que la variété Chen's présente la valeur la plus faible avec 3,06 µg/g. Cette comparaison met en évidence une variabilité importante des teneurs en chlorophylles selon les variétés, les conditions de culture et les facteurs environnementaux **(Khouildi, 2020)**.

## V.4. Vérification de la stabilité de la Chlorophylle a et b

Les absorbances des pigments ont été lues à différentes températures, les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 5.** Test de la stabilité de la chlorophylle a et b

| Températures | Chlorophylle a (mg/g) | Chlorophylle b (mg/g) |
|---|---|---|
| **25°C** | 0,438 | 0,161 |
| **40°C** | 0,420 | 0,165 |
| **60°C** | 0,420 | 0,166 |

Globalement, ces résultats montrent que les chlorophylles étudiées présentent une bonne stabilité thermique entre 25°C et 60°C, sans dégradation importante. La chlorophylle b apparaît légèrement plus stable que la chlorophylle a, tandis que cette dernière tend à se stabiliser après une légère diminution initiale.

Pareillement, La dégradation de la chlorophylle dans le jus de brocoli s'est produite à des températures supérieures à 60 °C. L'analyse chimique a montré que la dégradation de la chlorophylle a et b en phéophytine a et b, respectivement, suit une cinétique d'ordre 1 et que la chlorophylle a est plus sensible à la chaleur que la chlorophylle b **(Weemaes et *al.*, 1999)**. Nos résultats confirment que la chlorophylle a est plus sensible à la température que la chlorophylle b.

## V.5. Préparation de spaghetti

À l'issue des étapes d'hydratation, de pétrissage et de laminage, la pâte obtenue est homogène, lisse et souple, et présente une couleur vert olive après le pétrissage manuel. Cependant, après séchage, elle devient cassante au toucher, ce qui indique une élimination suffisante de l'eau, accompagnée d'une légère diminution de la couleur verte (Fig.16).



**Figure 16.** Aspect de Spaghetti préparé

## V.6. Appréciation de la qualité de la pâte

Trois échantillons ont été analysés, **(E1 :** Spaghetti préparé à base de pigments chlorophylliens), **(E2 :** Spaghetti de la marque Sim) et **(E3 :** Spaghetti de la marque Safina).

**Tableau 6.** Détermination de la qualité de spaghetti

| | **Qualité culinaire** | | **Qualité technologique (Epaisseur en mm)** |
|---|---|---|---|
| | **Temps optimal de cuisson en min (TOC)** | **Indice de Gonflement en % (IG)** | |
| **E1** | 7 ±1.0[a] | 195,8 ± 5,6 [a] | 1,8 ± 0,5 [a] |
| **E2** | 10 ± 3.1 [a] | 161,4 ± 2,3 [a] | 1,6 ± 1,2 [a] |
| **E3** | 11 ± 3.0 [a] | 162,5 ± 1,9 [a] | 1,3 ± 0,8 [a] |

Le temps nécessaire pour la disparition de la ligne blanche centrale lors de l'écrasement entre deux plaques de verre était le plus petit dans l'échantillon E1 comparativement aux autres (E2 et E3). Le spaghetti Naturel (E1) présente l'indice de gonflement le plus élevé (195,8), ce qui indique une plus grande capacité d'absorption d'eau par rapport aux marques commerciales SIM et Safina. Aucune différence significative n'a été constatée.

L'étude de la qualité culinaire de nos spaghettis (E1) met en évidence un temps optimal de cuisson (TOC) de 7 minutes, nettement inférieur à celui des marques commerciales SIM (10 min) et Safina (11 min). Cette rapidité de cuisson s'accompagne d'un indice de gonflement (IG) particulièrement élevé de 195,8 %, surpassant les standards de 160 à 180 g d'eau pour 100 g de pâtes mentionnés par Boudreau et Ménard (1992). Cette forte capacitée d'absorption d'eau témoigne d'une gélatinisation efficace de l'amidon, processus essentiel pour rendre le produit digestible. Cependant, selon Abecassis (2011), la qualité culinaire globale ne se limite pas au gonflement mais intègre également les propriétés viscoélastiques et la fermeté après cuisson. Bien que nos résultats indiquent une grande capacité d'hydratation, la texture finale doit répondre au critère "al dente", où les pâtes résistent légèrement sous la dent. Comme le soulignent Boudreau et Ménard (1992), cette fermeté dépend de la teneur en protéines et de la qualité du réseau de gluten, qui garantit la conservation de la forme et de l'élasticité du produit même lorsque le temps de cuisson optimal est légèrement dépassé.

## V.7. Test de stabilité

### V.7.1. Analyse physique

#### V.1.7.1. Teneur en humidité

Les résultats des analyses effectuées sur les trois échantillons révèlent des variations notables du taux d'humidité et de la matière sèche (MS). L'échantillon E1 présente le taux d'humidité le plus élevé avec 14,16 % (MS de 85,84 %). Il est suivi par l'échantillon E2 avec un taux de 12,66 % (MS de 87,34 %). Enfin, l'échantillon E3 est le plus sec des trois, affichant un taux d'humidité de 10 % pour une matière sèche de 90 % (Fig. 17).

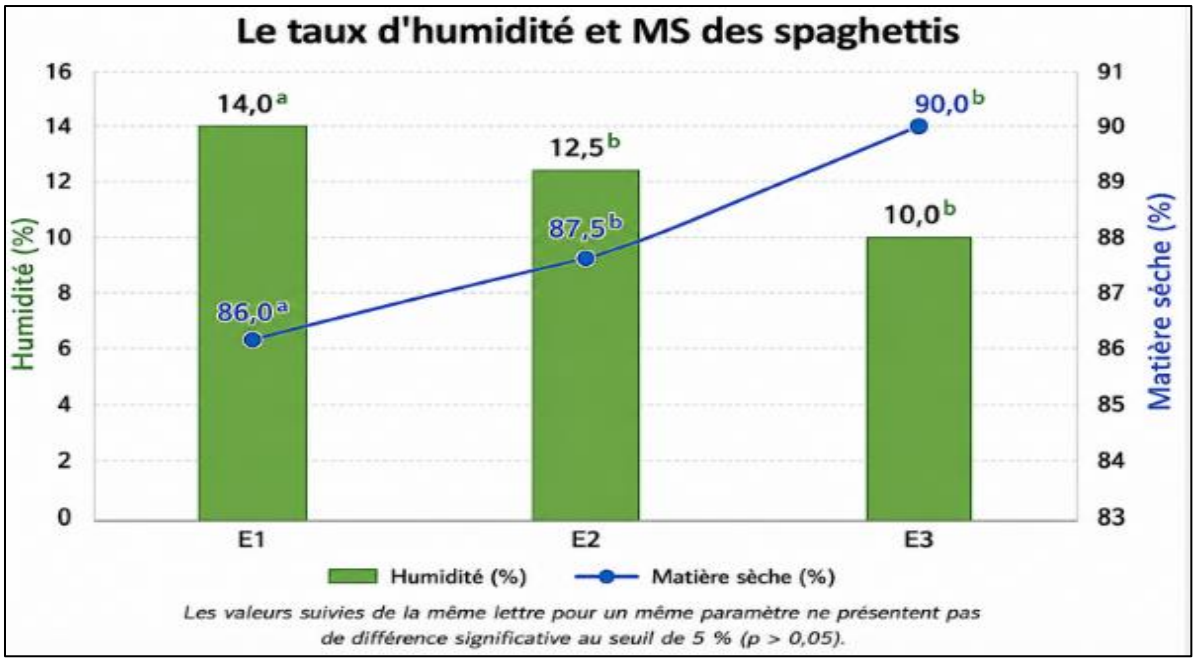



**Figure 17.** Taux d'humidité et MS des spaghettis

L'analyse de la teneur en humidité de spaghetti révèle une hétérogénéité marquée entre les trois échantillons, avec des valeurs allant de 10 % (E3) à 14,16 % (E1). Ces résultats montrent que seul l'échantillon E3 présente une teneur en eau inférieure au seuil critique de 12,5 % établi par Kent et Evers (1994), valeur au-delà de laquelle les pâtes sèches s'exposent à des risques d'altération par les moisissures et les micro-organismes.

### V.7. 2 Microbiologique

Les résultats des analyses microbiologiques pour le dénombrement des levures et moisissures révèlent une présence fongique variable selon les échantillons de pâtes alimentaires (Fig.18). L'échantillon E1 affiche une charge de ($2,4*10^4$ UFC/g), tandis que l'échantillon E2 présente une différence significative de concentration ($4,7*10^5$ UFC/g). Enfin, l'échantillon E3 enregistre la charge la plus faible avec une valeur de ($1,9*10^4$ UFC/g).




**Figure 18.** Mise en évidence de la présence des levures et des moisissures dans les spaghettis.

L'évaluation de la qualité microbiologique des spaghettis révèle une absence totale de la FTAM dans l'ensemble des échantillons (E1, E2 et E3). Cette absence de germes indicateurs témoigne d'une excellente hygiène globale durant le processus de fabrication et d'une charge microbienne initiale très faible.

En se référant aux critères microbiologiques définis par le Journal Officiel de la République Algérienne (JORA, 2017) pour le couscous et les pâtes alimentaires, les limites fixées pour les levures et moisissures sont comprises entre une valeur seuil (m) de $10^4$ et une limite d'acceptabilité (M) de $10^5$ UFC/g. Si les échantillons E1 et E3 se situent dans une zone de qualité acceptable, la concentration plus élevée observée dans l'échantillon E2 pourrait être corrélée à son taux d'humidité plus important, bien que l'absence de flore pathogène confirme la sécurité sanitaire du produit.

## V.1.8 Détermination de la durée de vie des pâtes alimentaires

Les tests de stabilité effectués sur les échantillons de spaghetti ont permis de déterminer une Durée Limite de Consommation (DLC) de 8,16 mois. Ce résultat quantifie la période durant laquelle le produit conserve l'intégralité de ses propriétés physico-chimiques et microbiologiques après son conditionnement. Cette valeur de 8,16 mois confirme la conformité du processus de séchage et valide la stabilité du produit fini pour une conservation à température ambiante.

Par ailleurs, il est important de souligner que la formulation de notre spaghetti se distingue par l'absence totale de conservateurs synthétiques, s'appuyant uniquement sur l'ajout de sel en tant qu'agent de conservation naturel. Bien que la durée de vie de nos échantillons ait été estimée à 8,16 mois, cette valeur reste inférieure à la Durée Limite de Consommation (DLC) de référence des spaghettis industriels, qui s'élève généralement à 24 mois. Cet écart s'explique par le caractère artisanal du produit et l'absence d'additifs chimiques. Néanmoins, l'absence de la FTAM et le respect des critères du JORA (2017) confirment qu'une conservation naturelle, associée à une maîtrise de l'activité de l'eau, est suffisante pour garantir la sécurité sanitaire et la stabilité microbiologique du produit sur une période satisfaisante.

# Conclusion générale

# Conclusion générale

Cette étude a permis de valider la faisabilité technique et l'intérêt nutritionnel de la valorisation des feuilles d'olivier comme source de pigments naturels pour l'agroalimentaire. Les analyses biochimiques confirment que cette matière première, issue du patrimoine oléicole local, constitue une ressource précieuse par sa richesse en matière organique. Le processus d'extraction mis en œuvre a permis d'isoler un concentré pigmentaire dont la diversité a été confirmée par chromatographie, révélant la présence conjointe de chlorophylles et de caroténoïdes.

L'incorporation de ces extraits dans la fabrication de spaghettis artisanaux démontre que ces pigments naturels agissent non seulement comme des agents colorants efficaces, mais qu'ils influencent également de manière positive les propriétés culinaires du produit. Les tests de cuisson ont mis en évidence une excellente capacité d'absorption d'eau et une tenue structurelle remarquable, surpassant sur certains aspects les standards des produits commerciaux. Cette interaction entre l'extrait végétal et la matrice de la pâte suggère une amélioration de la qualité technologique globale de l'aliment.

Sur le plan de la sécurité sanitaire, les analyses microbiologiques approfondies garantissent la fiabilité du protocole de transformation et l'hygiène rigoureuse appliquée durant l'expérimentation. Bien que la conservation repose exclusivement sur des méthodes naturelles, la stabilité du produit est assurée sur une période significative, confirmant qu'une maîtrise de l'activité de l'eau et l'absence d'additifs synthétiques sont compatibles avec les exigences de sécurité alimentaire.

Enfin, ce travail s'inscrit dans une démarche d'innovation durable et de "clean label", prouvant qu'il est possible de substituer les additifs chimiques par des alternatives naturelles sans compromettre la qualité ni la sécurité. Cette recherche ouvre la voie à de nouvelles stratégies de valorisation des sous-produits agricoles pour le développement d'aliments fonctionnels plus sains, répondant ainsi aux préoccupations actuelles des consommateurs en matière de santé publique et de respect de l'environnement.

# Références bibliographiques

# Références bibliographiques

## -A-


- **Abecassis, J.** ***(2011).*** *Innovations pour améliorer la qualité des productions et des produits céréaliers*. UMR-IATE Ingénierie des Agropolymères et Technologies Émergentes INRA, CIRAD, SUPAGRO, UM II*, Montpellier, France.*
- **Angles, S.** ***(2012).*** *L'olivier et les territoires méditerranéens. Dans C. Breton & A. Bervillé (Coords.),* L'histoire de l'olivier *(pp. 195–211).*
- **Anonyme II.** ***(2012).*** FLAMANT VERT - Mentions légales*. Réalisation CHL2p. Bourges.*
- **Aouidi, F.** ***(2012).*** Étude de la valorisation des feuilles d'Olivier (Olea Europaea) dans l'industrie Agro-alimentaire *(Thèse de doctorat). Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie, Tunisie.*
- **Arar, S.** ***(2016).*** Adsorption du colorant jaune d'alizarine sur différents biomatériaux *(Mémoire de master). Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, Algérie.*
- **Breton, C., Médail, F., Pinatel, C., & Bervillé, A.** ***(2006).*** *De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'* Olea europaea *L. dans le bassin méditerranéen.* Cahiers Agricultures*,* 15*(4).*


## -B-


- **Babitha, S.** ***(2009).*** *Microbial pigments. Dans* Biotechnology for agro-industrial residues utilisation *(pp. 147–162). Springer.*
- **Belhadj, F.** ***(2015).*** Caractérisation et étude des colorants alimentaires *(Mémoire de master). Université Abd El-Hamid Ibn Badis Mostaganem, Algérie.*
- **Bentekaya, I., & Hassouna, M.** ***(2007).*** *Effets des chlorophylles, du bêta-carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne.* Institut National Agronomique de Tunisie (INAT)*, 14.*
- **Besnard, G., & Bervillé, A.** ***(2000).*** *Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea europaea *L. subsp.* europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms*. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*,* 323*(2), 173–181.*
- **Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., & Sayadi, S.** ***(2008).*** *Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves.* Food Chemistry*,* 108*(1), 253–262. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.074*
- **Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, L., & Kechaou, N.** ***(2009)****. Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves.* Industrial Crops and Products*,* 29*(2), 412–419.*
- **Boudreau, A., & Ménard, G.** ***(1992).*** Le blé : éléments fondamentaux et transformation*. Presses de l'Université Laval.*
- **Boudribila, M.** ***(2004).*** *Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et organisation sociale.* AWAL*,* 29*, 17–31.*

# Références bibliographiques


- **Burnham, R. W. (1963).** Color, a guide to basic facts and concepts. University of Michigan: Wiley.

**-C-**

- **Cavassilas, M. *(2012)***. *Clés et codes du packaging. Dans S. P. Lavoisier (Éd.)*.
- **Chaouali, A., Bargougui, L., Chaleb, M., Ben Amar, F., & Mekki, A. *(2019).*** *Ecophysiological responses of olive trees (*Olea europaea *L.) hybrid varieties in soil amended with olive mill waste waters.* Eurostat*,* 2*(3).*
- **Chen, Y. C., Chen, Q. S., & Fan, X. D. *(2016).*** *Optofluidic chlorophyll lasers.* Lab on a Chip*,* 16*, 2228–2235.*
- **Cho, Y. J., Park, J. P., Hwang, H. J., Kim, S. W., Choi, J. W., & Yun, J. W. *(2002).*** *Production of red pigment by submerged culture of* Paecilomyces sinclairii. Letters in Applied Microbiology*,* 35*, 195–202.*
- **Cho, Y. J., Hwang, H. J., Kim, S. W., Song, C., & Yun, J. W. *(2002).*** *Effect of carbon source and aeration rate on broth rheology and fungal morphology during red pigment production by* Paecilomyces sinclairii *in a batch bioreactor.* Journal of Biotechnology*,* 95*, 13–23.*
- **Cör Andrejč, D., Butinar, B., Knez, Ž., Tomažič, K., & Knez Marevci, M. *(2022).*** *The effect of drying methods and extraction techniques on oleuropein content in olive leaves.* Plants*,* 11*(7), 865. https://doi.org/10.3390/plants11070865*

**-D-**

- **De Barry, N. *(1999)***. L'Abécédaire de l'huile d'olive*. Éditions Flammarion.*
- **Downham, A., & Collins, P. *(2000).*** *Coloring our foods in the last and next millennium.* International Journal of Food Science & Technology*,* 35*, 5–22.*
- **Dufossé, L., & De Echanove, M. C. *(2005).*** *The last step in the biosynthesis of aryl carotenoids in the cheese ripening bacteria* Brevibacterium linens *ATCC 9175 involves a cytochrome P450-dependent monooxygenase.* Food Research International*,* 38*, 967–973.*
- **Duran, N., Teixeira, M. F. S., DeConti, R., & Esposito, E. *(2002).*** *Ecological-friendly pigments from fungi.* Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,* 42*, 53–66.*

**-F-**

- **Feillet, P. *(2000).*** Le grain de blé, composition et utilisation*. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).*
- **Ferlisi, F., Tang, J., Cappelli, K., & Trabalza-Marinucci, M. *(2023).*** *Dietary supplementation with olive oil co-products rich in polyphenols: A novel nutraceutical approach in monogastric animal nutrition.* Frontiers in Veterinary Science*,* 10*. https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1272274*
- **Franciscon, E., Grossman, M. J., Paschoal, J. A. R., Reyes, F. G. R., & Durrant, L. R. *(2012).*** *Decolorization and biodegradation of reactive sulfonated azo dyes by a newly isolated* Brevibacterium *sp. strain VN-15.* SpringerPlus*,* 1*, 1–37.*

**-G-**

# Références bibliographiques


- **Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A. H., & Saari, N. *(2012).*** *Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea *L.) – A review.* International Journal of Molecular Sciences*,* 13*, 3291–3340.*
- **Ghedira, K. *(2008).*** *L'olivier.* Phytothérapie*, 83–89. https://doi.org/10.1007/s10298-008-0294-2*
- **Grewal, J., Wolnycewicz, M., Pyter, W., Joshi, N., Drewniak, L., & Pranaw, K. *(2022).*** *Colorful treasure from agro-industrial wastes: A sustainable chassis for microbial pigment production.* Frontiers in Microbiology*,* 13*, Article 832918. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.832918*
- **Guiraud, J. P. *(2012).*** Microbiologie alimentaire*.*

**-H-**

- **Hendry, B. S. *(1996).*** *Natural food colours. Dans G. A. F. Hendry & J. D. Houghton (Éds.),* Natural Food Colorants *(pp. 40–79). Springer.*
- **Herrin, D. L., Battey, J. F., Greer, K., & Schmidt, W. T. *(1992).*** *Regulation of chlorophyll apoprotein expression and accumulation: Requirements for carotenoids and chlorophyll.* Journal of Biological Chemistry*,* 267*, 8260–8269.*

**-I-**

- **IESV. *(2012).*** L'olivier (Olea europaea L)*.*

**-J-**

- **Jacquot, M., Voilley, A., & Fagot, P. *(2011).*** La couleur des aliments, de la théorie à la pratique*. Tec & Doc Lavoisier.*

**-K-**

- **Davies, K. M. *(2004).*** Plant pigments and their manipulation*. Blackwell.*
- **Kebich, O. *(1996).*** Biodégradabilité, adsorbabilité et échange de quelques colorants cationiques présents dans les effluents liquides de la teinturerie de l'unité couvertex de Ain Djasseur *(Thèse de Magister). Université Mentouri Constantine.*
- **Kent, N. L., & Evers, A. D. *(1994).*** Technology of cereals *(4e éd.). Elsevier Science Inc.*
- **Khelouf, I., Karoui, I. J., Lakoud, A., Hammami, M., & Abderrabba, M. *(2023).*** *Comparative chemical composition and antioxidant activity of olive leaves* Olea europaea *L. of Tunisian and Algerian varieties.* Heliyon*,* 9*(12). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22217*
- **Khouildi, S. *(2020).*** Étude comparative biochimique et physiologique de six variétés de blé dur Triticum durum Desf. en conditions sahariennes *(Mémoire de master). Université de Ouargla, Algérie.*
- **Koaril, R., Zygadla, A., Artesi, A. A., de Wit, C. D., Dekker, J. P., Jensen, P. E., Scheller, H. V., & Boekema, E. J. *(2005).*** *Structural characterization of a complex of photosystem I and light-harvesting complex II of* Arabidopsis thaliana*.* Biochemistry*,* 44*, 10935–10940.*

**-L-**

# Références bibliographiques


- **Lavee, S.** ***(1997).*** *Biologie et physiologie de l'olivier. Dans* Encyclopédie Mondiale de l'Olivier *(pp. 61–110). Éditions COI.*
- **Lederer, J.** ***(1986).*** Encyclopédie de l'hygiène alimentaire (Tome IV). *Éditions Nauwelaerts.*
- **Li, H., & Chen, F.** ***(2015).*** *Chlorophyll metabolism and photosynthesis.* Functional Plant Biology*,* 42*(6), 493–501.*
- **Lichtenthaler, H. K.** ***(1977).*** *Lipids and lipid polymers in higher plants. Dans M. Tevini & H. K. Lichtenthaler (Éds.). Springer-Verlag.*
- **Lichtenthaler, H. K.** ***(1987).*** *Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes.* Methods in Enzymology*,* 148*, 350–382.*
- **Louis, J.** ***(1998).*** Les pâtes alimentaires : de l'épi à l'assiette*. Fissonrouche.*
- **Loussert, R., & Brousse, G.** ***(1978).*** L'olivier : techniques agricoles et production méditerranéennes*. Éditions Maisonneuve et Larose.*

**-M-**

- **Maillard, R.** ***(1975)****.* L'olivier, institut de vulgarisation pour les fruits, légumes et champignons*.*
- **Marti, A., Caramanico, R., Bottega, G., & Pagani, A.** ***(2013).*** *Cooking behavior of rice pasta: Effect of thermal treatments and extrusion conditions.* Food Science and Technology*,* 54*, 229–235.*
- **Mizukami, H., Konoshima, M., & Tabata, M.** ***(1978).*** *Variation in pigment production in* Lithospermum erythrorhizon *callus cultures.* Phytochemistry*,* 17*, 95–97.*

**-N-**

- **Nasehi, B., Mortazavi, S. A., Razavi, S. M. A., Nasiri Mahallati, M., & Karim, R.** ***(2009).*** *Optimization of the extrusion conditions and formulation of spaghetti enriched with full-fat soy flour based on the cooking and color quality.* International Journal of Food Sciences and Nutrition*,* 60*, 205–214.*
- **Nefzaoui, A.** ***(1991).*** *Valorisation des sous-produits de l'olivier.* CIHEAM*,* 108*, 101–108.*
- **Niaounakis, M., & Halvadakis, C. P.** ***(2006).*** Olive Processing Waste Management*. Elsevier.*
- **Nicole, W.** ***(2016).*** *Europe's olive trees are dying. Here's why you should care.* Agroconsult (2008). L'olivier dans le monde*. La méditerranée, édition du temps, pp. 113–128.*
- **Nigam, P., Robinson, T., McMullan, G., & Marchant, R.** ***(2001).*** *Remediation of dyes in textile effluent: A critical review on current treatment technologies with a proposed alternative.* Bioresource Technology*,* 77*, 247–255.*

**-O-**

- **Ould El Hadj, M. O., Sebihi, A. H., & Siboukeur, O.** ***(2001).*** *Qualité hygiénique et caractéristiques physico-chimiques du vinaigre traditionnel de quelques variétés de*

# Références bibliographiques

*dattes de la cuvette de Ouargla.* Revue des Énergies Renouvelables : Production et Valorisation de la Biomasse*,* 6*, 87–92.*

- **Ozaki, A., Kitano, M., Furusawa, N., Yamaguchi, H., Kuroda, K., & Endo, G. *(2002).*** *Genotoxicity of gardenia yellow and its components.* Food and Chemical Toxicology*,* 40*, 1603–1610.*
- **Özcan, M. M., & Matthäus, B. *(2017)***. *A review: Benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea *L.) leaves.* European Food Research and Technology*,* 243*(1), 89–99. https://doi.org/10.1007/s00217-016-2726-9*

**-P-**

- **Palmeri, R., Siracusa, L., Carrubba, M., Parafati, L., Proetto, I., Pesce, F., & Fallico, B. *(2022).*** *Olive leaves, a promising byproduct of olive oil industry: Assessment of metabolic profiles and antioxidant capacity as a function of cultivar and seasonal change.* Agronomy*,* 12*(9), 2007. https://doi.org/10.3390/agronomy12092007*
- **Papageorgiou, V. P., Winkler, A., Sagredos, A. N., & Digenis, G. A. *(1979).*** *Studies on the relationship of structure to antimicrobial properties of naphthoquinones and other constituents of Alkanna tinctoria.* Planta Medica*,* 35*, 56–60.*

**-R-**

- **Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Di Febo, M., Marchegiani, D., & Di Fonzo, V. *(2006).*** *Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leave (*Olea europaea *L.).* Journal of Agricultural and Food Chemistry*,* 54*(2), 434–440. https://doi.org/10.1021/jf051647b*
- **Renathmane, M. *(2005).*** Mémoire de Magister*. Université Mentouri Constantine.*
- **Ribeiro, A. R., & Umbuzeiro, G. A. *(2014).*** *Effects of a textile azo dye on mortality, regeneration, and reproductive performance of the planarian,* Girardia tigrina*.* Environmental Science and Pollution Research*,* 26*, 1–8.*
- **Roussos, S., Perraud, I., Lakhtar, H., Aouidi, F., Labrousse, Y., Belkacem, N., Macarie, H., & Artaud, J. *(2009).*** *Valorisation biotechnologique des sous-produits de l'olivier par fermentation en milieu solide.* Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*,* 293*, 812–C3.*

**-S-**

- **Saeedi, M. K., Shekzadi, L., Zakra, N., Anjum, S., Huma, Z., & Rehman, K. U. *(2024).*** *Extraction and characterization of natural antioxidants from olive leaves powder.* Diet Factor (Journal of Nutritional and Food Sciences)*, 40–44. https://doi.org/10.54393/df.v5i01.127*
- **Sanders, C. A., Rodriguez, M., & Greenbaum, E. *(2001).*** *Stand-off tissue-based biosensors for the detection of chemical warfare agents using photosynthetic fluorescence induction.* Biosensors and Bioelectronics*,* 16*, 439–446.*
- **Singh, O. V. *(Éd.). (2017).*** Bio-pigmentation and Biotechnological Implementations*. Wiley.*

# Références bibliographiques


**-U-**

- **Ullmann, F.** ***(1985).*** Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry *(2e éd.). VCH Weinheim.*
- **Unagul, P., Wongsa, P., Kittakoop, P., Intamas, S., SrikitiKulchai, P., & Tanticharoen, M.** ***(2005).*** *Production of red pigments by the insect pathogenic fungus* Cordyceps unilateralis *BCC 1869.* Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*,* 32*, 135–140.*

**-V-**

- **Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moënne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dye, F., & Prigent-Combaret, C.** ***(2013).*** *Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning.* Frontiers in Plant Science*,* 4*, 356. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356*

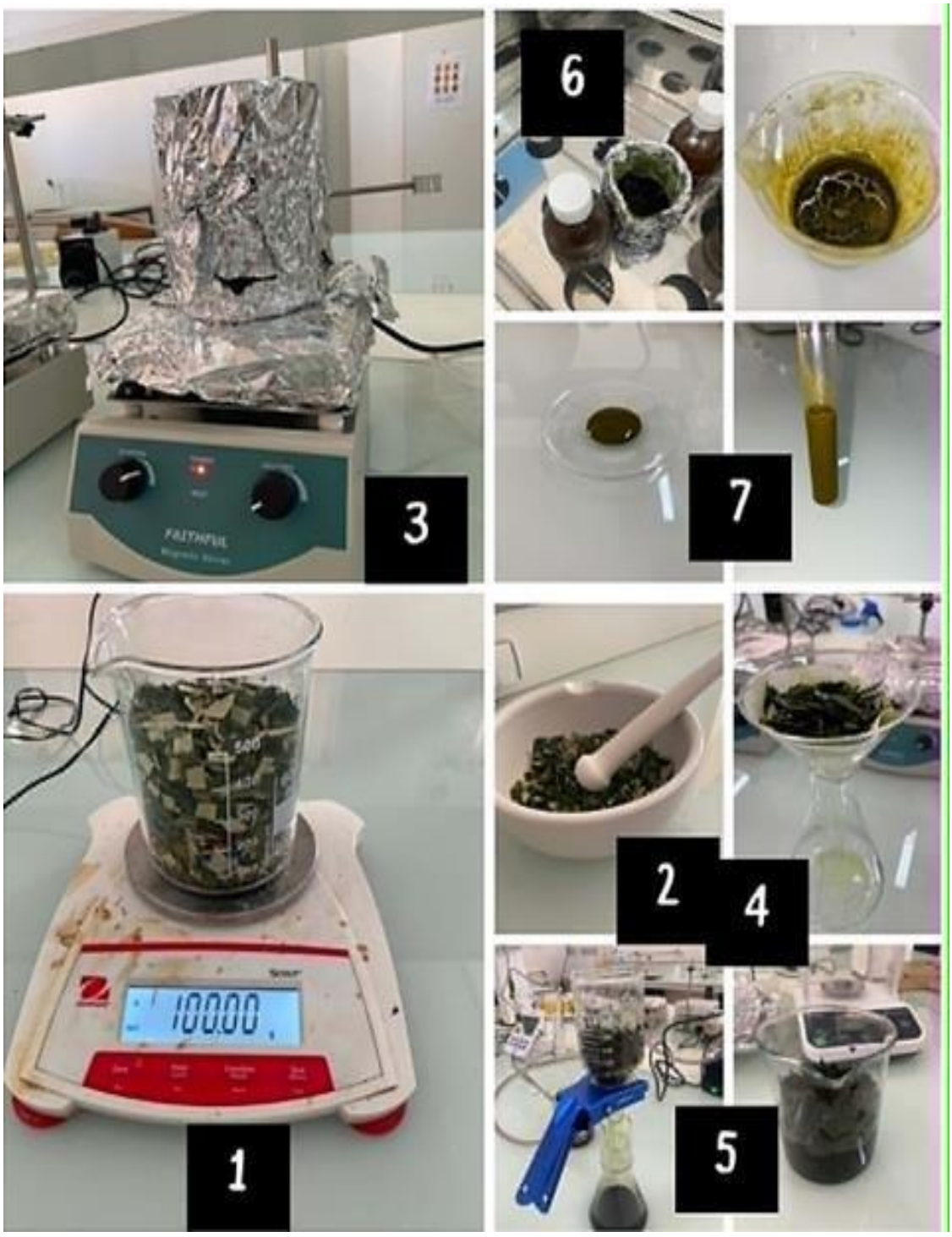
**-W-**

- **Walsh, G. E., Bahner, L. H., & Horning, W. B.** ***(1980).*** *Toxicity of textile mill effluents to freshwater and estuarine algae, crustaceans and fishes.* Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*,* 21*, 169–179.*
- **Wang, J. S., Sun, J. Y., Song, Y. X., Xu, Y. Y., Pan, X. X., Sun, Y. Q., & Li, D. Q.** ***(2013).*** *A label-free microfluidic biosensor for activity detection of single microalgae cells based on chlorophyll fluorescence.* Sensors*,* 13*, 16075–16089.*
- **Weemaes, C. A., Ooms, V., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E.** ***(1999).*** *Kinetics of chlorophyll degradation and color loss in heated broccoli juice.* Journal of Agricultural and Food Chemistry*,* 47*(6), 2404–2409.*

# Annexes

**Annexes**

# Annexe 1 : Etapes d'extraction des pigments chlorophylliens



**Annexes**

**Annexe 2 : Etapes de préparation de spaghetti contenant les pigments chlorophylliens**



# Annexes

## Annexe 3 : Appréciation de la qualité de spaghetti






# Annexes

**Annexe 04.** Milieux de culture pour les analyses microbiologiques.

**1. Gélose PCA (plate count agar)**

| **Constituants** | **Quantité en g/l** |
|---|---|
| Tryptone | 5 |
| Extrait de levure | 2,5 |
| Glucose | 1 |
| Agar (Gélose) | 15 |
| Dissoudre 17,5g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20 min à 121°C. | |

**2. PDA (Potato Dextrose Agar)**

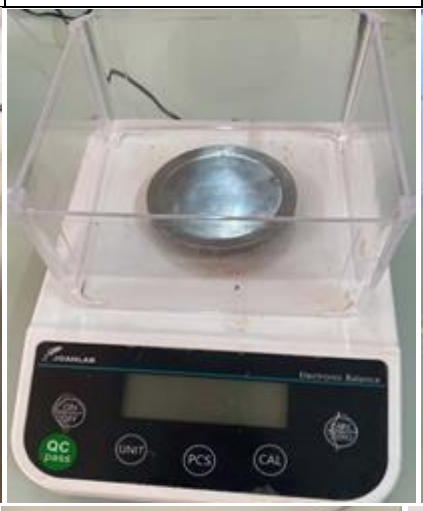
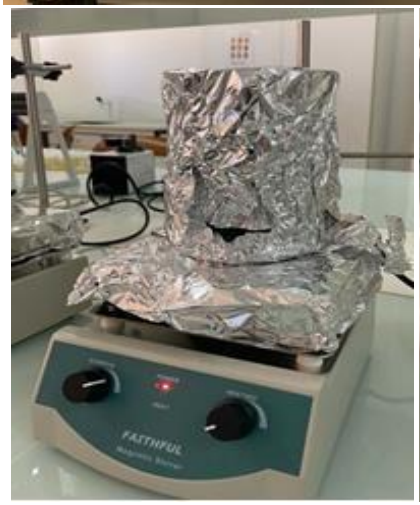
| **Constituants** | **Quantité en g/l** |
|---|---|
| Infusion de pomme de terre | 200 |
| Glucose | 20 |
| Agar (Gélose) | 15 |
| Dissoudre 39g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20 min à 121°C | |

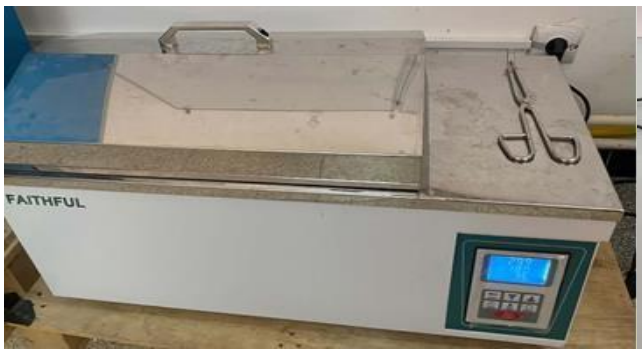
**3. Eau physiologique**

| **Constituants** | **Quantité en g/l** |
|---|---|
| Chlorure de sodium | 9 |
| Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 20 min à 121°C. | |

**Annexes**

## Annexe 5 : Appareils et verrerie

| Incubateur | Balance | Dessiccateur |
|---|---|---|
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Agitateur magnétique** | **Mortier** | **Bec Bunsen** |

| Bain marie | Vortex |
|---|---|
|  |  |