

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE BLIDA 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Mémoire

Présenté Pour l'obtention du Diplôme de Master en Biotechnologie.

Option : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et des Produits Naturels.

Thème :

**Evaluation des activités antimicrobienne et antioxydant
des extraits de feuilles et des fruits de l'olivier
(*Olea europea*) cultivé et sauvage.**

Présenté par : ***KHAOUS IMENE.***

Devant le jury composé de:

Mme GHANAI. R	M.A.A	Presidente	U.S.D.B
Mme OUTTAR. S	M.C.B	Examinatrice	Département B.P.O Blida 1.
Mme BELGUENDOZ. R	M.C.B	Promotrice	U.S.D.B

Année universitaire:2015-2016

Résumé

Ce travail a porté sur l'extraction des polyphénols des feuilles et fruits d'*Olea europea* L. récoltées à Cap Djanet, la wilaya de Boumérdes au mois Décembre, afin de déterminer la teneur en composé phénoliques et, l'évaluation de leurs effets thérapeutiques (l'activité antioxydant, et antimicrobienne).

Au cours de notre travail nous avons utilisé pour l'extraction la technique de macération dans le méthanol pendant 15 jours à 4°C, avec une agitation d'une demi-heure chaque jours.

Les teneurs les plus élevées ont été enregistrées chez l'extrait aqueux de fruits sauvages avec (0,57 EAG/g), suivi par l'extrait des feuilles sauvage avec (0,47 EAG/g) et l'extrait de fruits cultivé avec (0,44 EAG/g). Cependant, l'extrait des feuilles cultivé a montré une teneur plus faible de (0,28 EAG/g).

D'après les résultats de la technique du piégeage du radical libre DPPH, l'*Olea europaea* L. a montré une bonne activité avec les quatre extraits, en particulier, l'extrait polyphénolique des feuilles de l'olivier sauvage qui a présenté une CI_{50} inférieure à 0.5mg/ml.

Toutes les souches testées bactériennes et fongiques sont apparues sensibles, très sensibles ou extrêmement sensible au contact des différents extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. (Feuilles et fruits).

Mots clés : *Olea europea* L., fruits et feuilles, polyphénols totaux, extrait aqueux, activité antioxydant, activité antimicrobienne.

Abstract

This work focused on the extraction of polyphenols and leaves of *Olea europea* L. fruits harvested Cap Djanet, Boumerdes in the month of December, to determine the phenolic compound content and assessing their effects therapeutic (antioxidant activity and antimicrobial). At the heart of our work we used for extraction maceration technique in methanol for 15 days at 4°C, with a stirring half an hour each day.

The highest levels were recorded was in the aqueous extract of wild fruits with (0.57 EAG / g), followed by the extract of wild leaves with (EAG 0.47 / g) and the extract of cultivated fruits with (0.44 EAG / g). However, the extract of the leaves grown showed a lower grade (0.28 EAG / g).

The results of the technique of trapping the free radical DPPH, *Olea europaea* L. showed good activity with the four extracts, in particular, the polyphenolic extract of the leaves of the wild olive which presented an IC₅₀ less than 0.5 mg/ml.

All bacterial and fungal strains tested appeared sensitive, very sensitive and extremely sensitive to touch deferent polyphenolic extracts of *Olea europaea* L. (leaves and fruits).

Keywords: *Olea europea* L., fruits and leaves, total polyphenols, water extract, antioxidant activity, antimicrobial activity.

ملخص

ركز هذا العمل على استخراج مادة البوليفينول لأوراق و فواكه صنفين من الزيتون(البري و المزروع) المجنية بكاب جنات ولاية بومرداس في شهر ديسمبر، لتحديد المحتوى الفينولي المجمع وتقييم الآثار العلاجية(النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للجراثيم).

في صميم عملنا استخدمنا لاستخراج تقنية النقع في الميثانول لمدة 15 يوما في 4 درجات مئوية، مع التحريك مدة نصف ساعة كل يوم. وسجلت أعلى مستويات البوليفينول في المستخلص المائي للفواكه البرية(0.57 م ح ك/غ)، يليه مستخلص الأوراق البرية(0.47 م ح ك/غ) ثم مستخلص فواكه الزيتون المزروع(0.44 م ح ك/غ) بينما مستخلص الأوراق البرية أعطى أقل مستوى(0.28 م ح ك/غ)

وأظهرت نتائج تقنية محاصرة الجذور الحرة أن الزيتون أظهر نشاط جيد مع المستخلصات الأربعة، وعلى وجه الخصوص، مستخلص الأوراق البرية الذي أعطى تركيز تثبيطه للنصف 05مغ/مل

أظهرت جميع السلالات البكتيرية والفطرية اختبار حساسة، حساسة جدا وحساسة للغاية للمس مختلف مستخلصات البوليفينول خاصة الأوراق و الفواكه البرية .

كلمات البحث: صنفين من الزيتون، الفواكه والأوراق، إجمالي البوليفينول، المستخلص المائي، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للجراثيم.

Liste d'abréviation

EAG: Equivalent d'Acide Gallique.

UV: Ultra-violet.

A. niger : *Aspergillus niger*.

C. albicans : *Candida albicans*.

E. coli : *Escherichia coli*.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

S. Pneumoniae : *Streptococcus pneumoniae*.

S. typhi : *Salmonella typhi*.

ZI : Zone d'inhibition.

µl : Microlitre.

En : English.

Es : Espagnole.

It : Italie.

Ar : Arabe.

Afidol : Association Française Interprofessionnelle De l'Olive.

< : Inferieur.

ATCC : American Type Culture Collection.

Liste des figures

Figure 1 : Section transversale et composition physique et chimique de l'olive.	03
Figure 2 : Présentation des deux variétés d'olivier étudié : Olivier cultivé (<i>Olea europaea sativa</i>) et Olivier sauvage (<i>Olea europaea sylvestris</i>).	06
Figure 3 : Arbéquina et Cailletier commerciales.	07
Figure 4: Le cycle de vie de l'olivier.	08
Figure 5: Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin Méditerranéen.	09
Figure 6: La production mondiale d'olive (2006-2007).	10
Figure 7: Effets biologiques des polyphénols.	22
Figure 8 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.	23
Figure 9 : Structure de la paroi bactérienne.	26
Figure 10: Situation géographique du site d'échantillonnage.	29
Figure 11: Schéma de Protocole d'extraction des polyphénols.	35
Figure 12: La solution de DPPH et La forme réduite du DPPH dans les tubes.	39
Figure 13 : Principe de la méthode de diffusion par disque.	41
Figure 14: Protocole expérimental de l'activité antimicrobienne.	42
Figure 15: Teneur en eau et en matière sèche des feuilles d' <i>Olea europaea sativa</i> .	43
Figure 16: Teneur en eau et en matière sèche des fruits d' <i>Olea europaea sativa</i> .	43
Figure 17: Teneur en eau et en matière sèche des feuilles d' <i>Olea europaea sylvestris</i> .	43
Figure 18: Teneur en eau et en matière sèche des fruits d' <i>Olea europaea sylvestris</i> .	44
Figure 19: Présentation du rendement des polyphénols totaux chez les deux espèces d'olivier.	44
Figure 20: La courbe d'étalonnage de l'acide Gallique.	45
Figure 21: Présentation de la variation des teneurs en polyphénols totaux chez les feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L. [EAG/g].	45
Figure 22: Pourcentage d'inhibition de l'extrait de feuilles d'oliviers cultivé et l'acide ascorbique.	46
Figure 23: Pourcentage d'inhibition de l'extrait de fruits d'oliviers cultivé et	46

l'acide ascorbique.	
Figure 24: Pourcentage d'inhibition de l'extrait de feuilles d'oliviers sauvage et l'acide ascorbique.	47
Figure 25: Pourcentage d'inhibition de l'extrait de fruits d'oliviers sauvage et l'acide ascorbique.	47
Figure 26: Sensibilités observées chez <i>Escherichia coli</i> vis-à-vis les extraits polyphénolique.	48
Figure 27: Sensibilités observées chez <i>Salmonella typhi</i> vis-à-vis les extraits polyphénolique.	48
Figure 28: Sensibilités observées chez <i>Proteus sp</i> vis-à-vis les extraits polyphénolique.	49
Figure 29: Sensibilités observées chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis les extraits polyphénolique	49
Figure 30: Sensibilités observées chez <i>Streptococcus pneumonia</i> vis-à-vis les extraits polyphénolique.	50
Figure 31: Sensibilités observées chez <i>Aspergillus niger</i> vis-à-vis les extraits polyphénolique.	50
Figure 32: Sensibilités observées chez <i>Candida albicans</i> vis-à-vis les extraits polyphénolique.	51
Figure 33 : Analyse de la variance par le test GLM sur le rendement des extraits de feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L.	51
Figure 34 : Analyse de la variance par le test GLM sur les teneurs en polyphénols totaux des extraits de feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L.	52
Figure 35 : Analyse de la variance par le test GLM sur l'activité antioxydant des extraits de feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L.	52
Figure 36 : Analyse de la variance par le test GLM sur l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L.	53

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les noms vernaculaires d' <i>Olea europaea</i> L.	04
Tableau 2 : Apport nutritionnel moyen de 100 g d'olive noir.	11
Tableau 3 : Les principales maladies de l'olivier.	12
Tableau 4 : Une revue bibliographique sur les utilisations des feuilles d'olivier.	13
Tableau 5 : Classification des familles des composés phénoliques.	17
Tableau 6 : Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme.	21
Tableau 7 : Les différentes souches utilisées dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne.	31
Tableau 8 : Analyse de la variance par le test GLM sur le rendement des extraits de feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L.	Annexe 3
Tableau 9 : Analyse de la variance par le test GLM sur les teneurs en polyphénols totaux des extraits de feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L.	Annexe 3
Tableau 10 : Analyse de la variance par le test GLM sur l'activité antioxydant des extraits de feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L.	Annexe 3
Tableau 11 : Analyse de la variance par le test GLM sur l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles et fruits d' <i>Olea europaea</i> L.	Annexe 3

Table des matières

Résumé.

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Glossaires.

Introduction.....1

Partie bibliographique

Chapitre I : Olivier « *Olea europaea* L.»

1. Historique.....	2
2. Généralité et caractéristique.....	2
3. Systématique.....	4
4. Variétés.....	4
4.1 L'olivier sauvage ou oléastre.....	4
4.1.1 Description botanique.....	5
4.2 L'olivier cultivé.....	5
4.2.1 Description botanique.....	6
5. Taxonomie et origine génétique.....	7
6. Cycle de développement de l'olivier.....	7
7. Distribution géographique.....	9
7.1 Dans notre pays.....	9
7.2 Facteurs influençant la répartition.....	10
7.2.1 Le climat.....	10
7.2.2 Le sol.....	10
8. Production algérienne et mondiale de l'olivier.....	10
9. Variétés d'oliviers cultivé en Algérie.....	10
10. La valeur nutritionnelle.....	11
11. Les maladies de l'olivier.....	12

12. Utilisation des feuilles et fruits d'olivier.....	13
---	----

Chapitre II : Les polyphénols

1. Généralités sur les polyphénols.....	15
2. Principales classes des composés phénoliques.....	15
2.1. Acides phénoliques.....	15
2.2. Lignanes.....	16
2.3. Stilbènes.....	16
2.4. Flavonoïdes.....	16
2.5. Les tanins.....	16
3. Facteurs de variabilité de la teneur en polyphénols.....	18
3.1. Effet des facteurs externes.....	18
3.1.1. Lumière.....	18
3.1.2. Température.....	18
3.1.3. Microorganismes pathogènes.....	18
3.1.4. Traitements appliqués par l'homme.....	18
3.2. Stade physiologique.....	19
3.3. Effet de l'espèce et de la variété.....	19
4. Localisation des Polyphénols dans les plantes.....	19
5. Rôle et intérêt des composés phénoliques.....	20
5.1. Rôle physiologique.....	20
5.2. Rôle technologique.....	20
5.3. Rôle biologique et thérapeutique chez l'Homme.....	20
5.4. Dans la régénération des sols pollués.....	22
6. L'activité antioxydant.....	22
6.1. Production endogène et l'origine des radicaux libres.....	22
6.2. Réaction de l'organisme vis-à-vis des radicaux libres.....	23
6.3. Les antioxydants.....	24
6.4. Définition des radicaux libres.....	24
6.5. Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	24
6.6. Les sources d'antioxydants.....	24
6.6.1 Les médicaments.....	24
6.6.2 L'alimentation.....	25

7. L'activité antimicrobienne.....	26
7.1. Les bactéries.....	26
7.2. Les champignon.....	27
7.3. Les levures.....	27
8. Les principales substances antimicrobiennes.....	27
8.1. Les antibiotiques.....	27
8.2. Les composés phénoliques.....	27

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Présentation du site d'étude.....	29
2. Matériel.....	30
2.1. Matériel biologique.....	30
2.1.1. Matériel végétal.....	30
2.1.2. Matériel microbiologique.....	30
2.2. Matériel non biologique.....	33
3. Méthodes de travail.....	33
3.1. Préparation de la poudre végétale	33
3.2. Méthode d'extraction et dosage des polyphénols.....	33
3.2.1. Extraction.....	33
3.2.2. Purification.....	34
3.3. Détermination de la teneur en eau des échantillons.....	36
3.4. Détermination du Rendement en polyphénols totaux.....	36
3.5. Dosages des phénols totaux.....	36
3.6. Evaluation de l'activité antioxydants des extraits polyphénoliques.....	37
3.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits.....	39

Chapitre IV : Résultat et discussion

1. Résultats.....	43
1.1. Teneur en eau.....	43
1.2. Détermination du rendement des extraits en polyphénols.....	44

1.3. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	44
1.4. L'activité anti-oxydante par le Piégeage du radical libre DPPH.....	45
1.4.1. Détermination de CI50.....	47
1.5. Les résultats de l'activité antimicrobienne.....	48
1.6 L'analyse statistique par le test GLM.....	51
2. Discussion.....	53
Conclusion.....	58
Référence bibliographique.	
Annexe.	

Au cours de cette dernière décennie, énormément de travaux de caractérisation et valorisation des composés phénoliques sont réalisés sur les olives et leurs dérivés (Biekas et *al.*, 2002; Briante et *al.*, 2002; De Marco et *al.*, 2007; Malik et Bradford, 2006 ; Romero et *al.*, 2004) mais aussi sur les feuilles d'olivier (Japon et *al.*, 2006), à cause de leurs déférent activité et leurs application dans plusieurs domaine telle que le pharmaceutique (extraction de l'oleuropéine) et le cosmétique (formulation photo protectrice) (Skerget et *al.*, 2005).

En Algérie, l'olivier est largement exploité par les populations locales, en terme de l'huile d'olive et d'olive de table, mais les propriétés médicinales des feuilles sont méconnues de la majorité de la population surtout celles de l'oliviers sauvages qui est utilisé uniquement comme porte greffe ou pour l'alimentation animale (Malik et Bradford, 2006).

Dans le cadre de la valorisation d'*Olea europea* Algérien, cultivés et sauvages, et afin d'informer les populations locales et de former les étudiants sur l'importance des feuilles et fruits dans la phyto-thérapeutique, à travers un programme de recherche portant sur la thématique de l'utilisation des extraits polyphénoliques développées au laboratoire de recherche de Biotechnologies des Plantes Aromatiques et Médicinales (BPAM) d'université de Blida 1, dont nous avons mené ce travail durant trois années successives. Dans ce cadre plusieurs travaux ont abouti à montrer l'importance des polyphénols aussi bien de par leur quantité que de par l'importance de leurs propriétés biologiques, activité antimicrobienne, activité antioxydant, anti-inflammatoire, notamment l'activité hypo-glycémiant (Lami, 2013; Daya, 2014 ; Ibrir, 2015).

Ce présent travail a pour objectifs de compléter les études accomplies, par l'étude de la variation de la teneur en polyphénols et l'activité antioxydant et antimicrobienne des polyphénols présents dans les extraits méthanoliques des feuilles et fruits d'*Olea europea* L.

Pour cela, et dans un premier temps, le travail sera principalement axé sur une recherche bibliographique sur l'historique, la description botanique, la taxonomie, et les intérêts biologiques de l'olivier, de ces extraits de polyphénols et leurs activités biologiques.

En deuxième partie, la présentation du matériel et les méthodes de travail utilisés dans l'extraction des polyphénols totaux et l'évaluation de deux activités biologiques :

- L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydant des extraits polyphénolique par le test DPPH.
- L'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis sept souches microbienne (Cinqe bactérie, un champignon, et une levure).

Et en troisième partie, nous présentons les résultats obtenus suivis par discussions, une conclusion et perspectives.

1. Historique

L'olivier est cultivé depuis le IV^e millénaire avant JC en Afrique du Nord, en Phénicie et en Syrie. Il s'est diffusé ensuite dans d'autres territoires de méditerranée orientale (Palestine, Égypte, Chypre) (Brothwell, 1969), grâce aux échanges commerciaux des Phéniciens. Les Grecs ont aussi participé à l'extension de l'aire oléicole avec leurs colonies d'Émilie et de Provence. L'olivier se répand donc au gré des grandes vagues de civilisation. Les Romains ont permis ensuite, une grande extension des oliveraies et d'échanges d'huile d'olive fait apparaître une 1^{ère} spécialisation oléicole dans certaines provinces comme la Bétique (Andalousie) (Mahbouli, 1974).

A l'olivier est attachée une image forte, celle de paysages méditerranéens, cet arbre accompagne les mythes fondateurs des cultures méditerranéennes, bible, coran, grands textes classiques grecs, arbres des dieux symbole de force et de longévité de paix (Breton et al., 2006).

2. Généralité et caractéristique

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen connu chez les Phéniciens depuis la haute antiquité ; il est désigné par le mot *Zeitoun* et se caractérise par un fruit, l'olive dont l'huile tirée de ce fruit appelé « Zit » qui est un composant essentiel du régime méditerranéen. Ces deux mots sont couramment employés dans le vocabulaire Amazigh (Boudribila, 2004).

L'olivier, était et il est toujours principalement cultivé pour ses olives bien qu'il a aujourd'hui intégrées le statut d'arbre d'ornement. C'est un arbre moyennement trapu (moyenne de 2m) qui peut pour certain sujet atteindre les 15 mètres de hauteur (Wagner, 1999).

L'olivier peut vivre plus de 1000 ans, son tronc tourmenté et noueux porte à sa base de nombreux rejets dans sa condition mi-sauvage. Le bois d'olivier est brun clair veiné de marbrures sombres, il est apprécié par les ébénistes et les sculpteurs.

Les feuilles de l'olivier sont persistantes, avec une durée de vie de trois ans (Metzidatis, 1997). En cas de sécheresse, les feuilles sont capables de perdre jusqu'à 60 % de leur eau, de réduire fortement la photosynthèse et de fermer les stomates permettant les échanges gazeux pour réduire les pertes en eau par évapotranspiration, permettant ainsi la survie de l'arbre au détriment de la production fructi-florale (Ben Ahmed et al., 2007).

Pour le système racinaire, il s'adapte à la structure des sols, il reste à une profondeur de 500 à 700 cm et se localise principalement sous le tronc, mais ces racines forment une couche ligneuse très importante, dans laquelle s'accumulent des réserves (Lousert et Brousse, 1978).

Le fruit est constitué de trois parties :

- La peau (Epicarpe): qui est recouverte d'une matière cireuse imperméable à l'eau (la pruine).le changement de couleur est due à une oxydation effectuée par des phénol-oxydases.
- Pulpe (Mésocarpe): charnue et riche en matière grasse stockée durant la lipogénèse.
- Paroi de noyau (Endocarpe).

Le noyau (amandon) est très dur, osseux, contient une graine, rarement deux (Afidol, 2007).

La section transversale couplée à la composition physique et chimique est rapportées dans la figure 1.

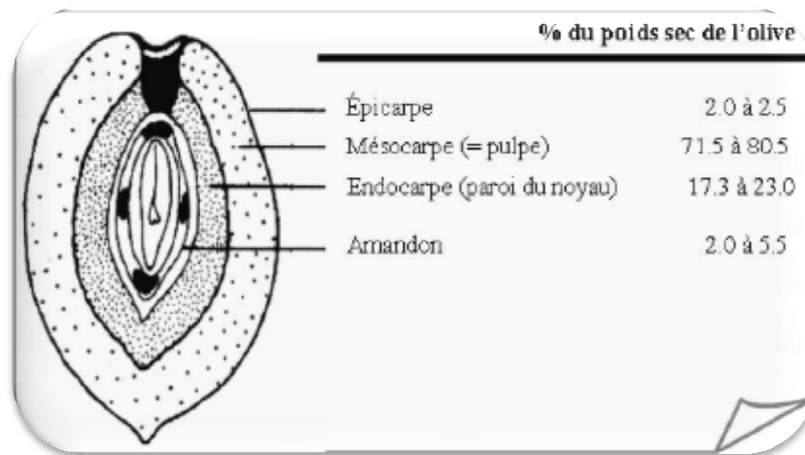


Figure 1: Section transversale (Bianchi, 1999), composition physique et chimique de l'olive (Nefzaoui, 1991).

3. Systématique

La classification d' *Olea europea L.* selon Ghedira (2008) est la suivante :

- Règne : *Plantae*.
- Division : *Magnoliophyta*.
- Classe : *Magnoliopsida*.
- Sous classe : *Asteridae*.
- Ordre : *Scrophulariales*.
- Famille : *Oleaceae*.
- Genre : *Olea L.*
- Espèce : *Olea europea L.*
- Sous-espèces : - *Olea europaea Sativa*.
- *Olea europaea Sylvestris*.

-Noms communs de l'olive : **en**: *olive*, **es** : *olivo*, **it** : *olivo*, **ar** : *Zaitoune* الزيتون

-Noms vernaculaires

Tableau 1 : Les noms vernaculaires d' *Olea europaea L.* (Boudribila, 2004).

Oliviers sauvages (<i>sylvestris</i>)		Oliviers cultivés (<i>sativa</i>)	
Arabe	Berbère	Arabe	Berbère
zebbouj	Azemmour	Zitoun.	Tazemmourt.
zenbotidje	Tazebboujt		
Azzemmour : désigné sous cette appellation en Kabylie et dans le haut Atlas au Maroc.			

4. Variétés

L'olivier appartient à famille des Oléacées, qui comprend des espèces étendues comme le *Jasminum* (jasmin), le *Ligustrum* (henné), et l'*Olea* (olivier). Le genre *Oléa* comprend 30 espèces différentes, distribuées dans le monde entier, parmi lesquelles on trouve *Oléa europea L.* avec ses deux sous espèces, l'olivier cultivé ou olivier commun (*Olea europaea sativa*) et l'olivier sauvage ou oléastre (*Olea europaea sylvestris*) (Civantos, 1998).

4.1 L'olivier sauvage ou oléastre

La présence de l'olivier sauvage remonte aux alentours de 6000 av. JC, en Asie mineure. Est un arbrisseau épineux toujours vert et vivace qui croît spontanément dans les bois méditerranéens. Ses rameaux sont épineux et de section presque carrée (Besnard et Bervillé, 2000). C'est une plante oléagineuse ; on peut extraire à partir de son fruit, une huile qui

présente des vertus thérapeutiques diverses très fluide et fine avec un indice de viscosité très inférieur à celui de l'huile d'olive cultivé. Cette fluidité la rend très volatile et pénétrante lors des massages (Besnard et Berville, 2005).

Battandier et Trabut (1888), rapporte que l'oléastre d'Algérie comme spontané pousse naturellement sur le pourtour de la méditerranée et participe à la constitution du fourré littorale. Les populations d'oliviers sauvages sont distribuées dans différents environnements, avec des altitudes différentes et des sols qui peuvent être une source très importante de sa résistance aux stress abiotiques tels que la sécheresse, le sel, le vent et la baisse de température (Aranda et *al.*, 2011).

4.1.1 Description botanique

- **Feuilles**

Elles sont simples, ovales, persistantes et opposées ; elles sont blanc argenté à la face inférieure, vert grisâtre à la face supérieure. Elles sont plus petites que celles de l'olivier cultivé.

- **Fleurs**

Elles sont petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées.

- **Fruits**

Ils sont ordinairement petits appelés « Drupes », ovoïdes, vertes puis noires à maturité, à noyau dur fusiforme, avec une faible épaisseur de pulpe, donc ils donnent peu d'huile (Fig.2) (Bruneton, 1999 et Ghedira, 2008).

4.2 L'olivier cultivé

Est constitué par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage ou greffage et non connus à l'état sauvage. Les oliviers sont maintenus à une hauteur de trois à sept mètres afin de faciliter leur entretien et la récolte des fruits (Ben Ahmed et *al.*, 2007).

L'olivier cultivé a été dérivé de la domestication de l'olivier sauvage ou l'oléastre, car ils sont semblables à la forme sauvage (Zohary, 1973).

4.2.1 Description botanique

- **Feuilles**

Dur et ayant une forme allongées, leur situation sur le rameau est dite "opposée", le pétiole est court enroulé sur les bords. La face supérieure des feuilles est luisante vert foncée, tandis que la face inférieure présente un aspect argenté dû à la pruine (Metzidatis ,1997).

- **Fleurs**

Elles sont blanches et odorantes avec un calice, deux étamines, une corolle à quatre pétales ovales, et un ovaire qui porte un style assez épais et terminé par un stigmate (Aerts, 2006).

Elles sont déposées en grappes sur une longue tige. L'olivier produit deux sortes de fleurs, une parfaite qui contient les deux sexes mâle et femelle et une staminée (Bernie et *al.*, 2006).

- **Fruits**

Le fruit est une drupe avec une pulpe charnue riche en matière grasse. D'abord vert, il devient noir à maturité complète et donne une huile recherchée« l'huile d'olive » et aussi les olives de table (Fig.2) (Bernie et *al.*, 2006).

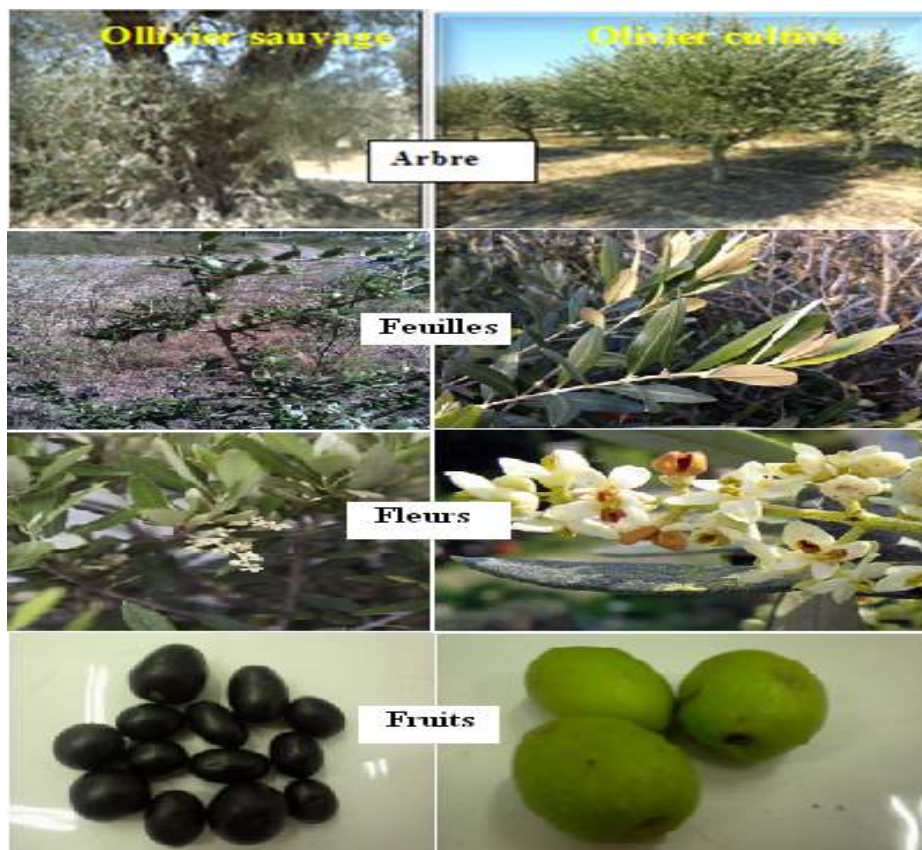


Figure 2: Présentation des deux espèces d'olivier étudié : Olivier cultivé (*Olea europea sativa*) et Olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*).

5. Taxonomie et origine génétique

L'olivier appartient à la famille des Oleacées, genre *Olea*, le nombre chromosomique de $2n= 46$ chromosomes. L'origine génétique de l'olivier est jusqu'à présent mal connue, l'oléastre a toujours été considéré comme l'ancêtre de l'olivier cultivé, les relations entre ce dernier et l'oléastre sont discutées depuis l'Antique, ils sont considérés comme très proche botaniquement, les botanistes en ont fait deux sous espèce de la même espèce *Olea europaea L.* (Terral et al., 2004). Breton et al., (2006) vue que l'olivier cultivé et l'oléastre sont génétiquement très proches.

L'olivier cultivé peut s'échapper des cultures et revenir à un état apparemment sauvage. Dans la plupart des pays, certains cultivars portent des fruits de petite taille, comme, «Arbequina» en Espagne, ou «Cailletier» en France (Fig. 3) (Breton et al., 2008).



Figure 3: Arbéquina et Cailletier commerciales (Breton et al., 2008).

6. Cycle de développement de l'olivier

Après le repos hivernal de Novembre à Février, la végétation démarre à partir de Mars à Avril, les pousses terminales s'allongent, les bourgeons axillaires se développent après s'être différenciés en boutons floraux ou en yeux à bois, les bourgeons végétatifs débourent vers la fin du mois de Mars un peu après les bourgeons floraux, la floraison se déroule entre Mai et Juin, l'endocarpe (noyau) se scarifie en Juillet - Août. La pousse de printemps la plus importante dans la croissance annuelle, dure jusqu'à mi-juillet environ, une deuxième pousse peut avoir lieu entre septembre et mi-octobre, si les conditions le permettent (Argenson et al., 1999). Toutes les étapes de cycle de vie sont représentées dans la figure 4.

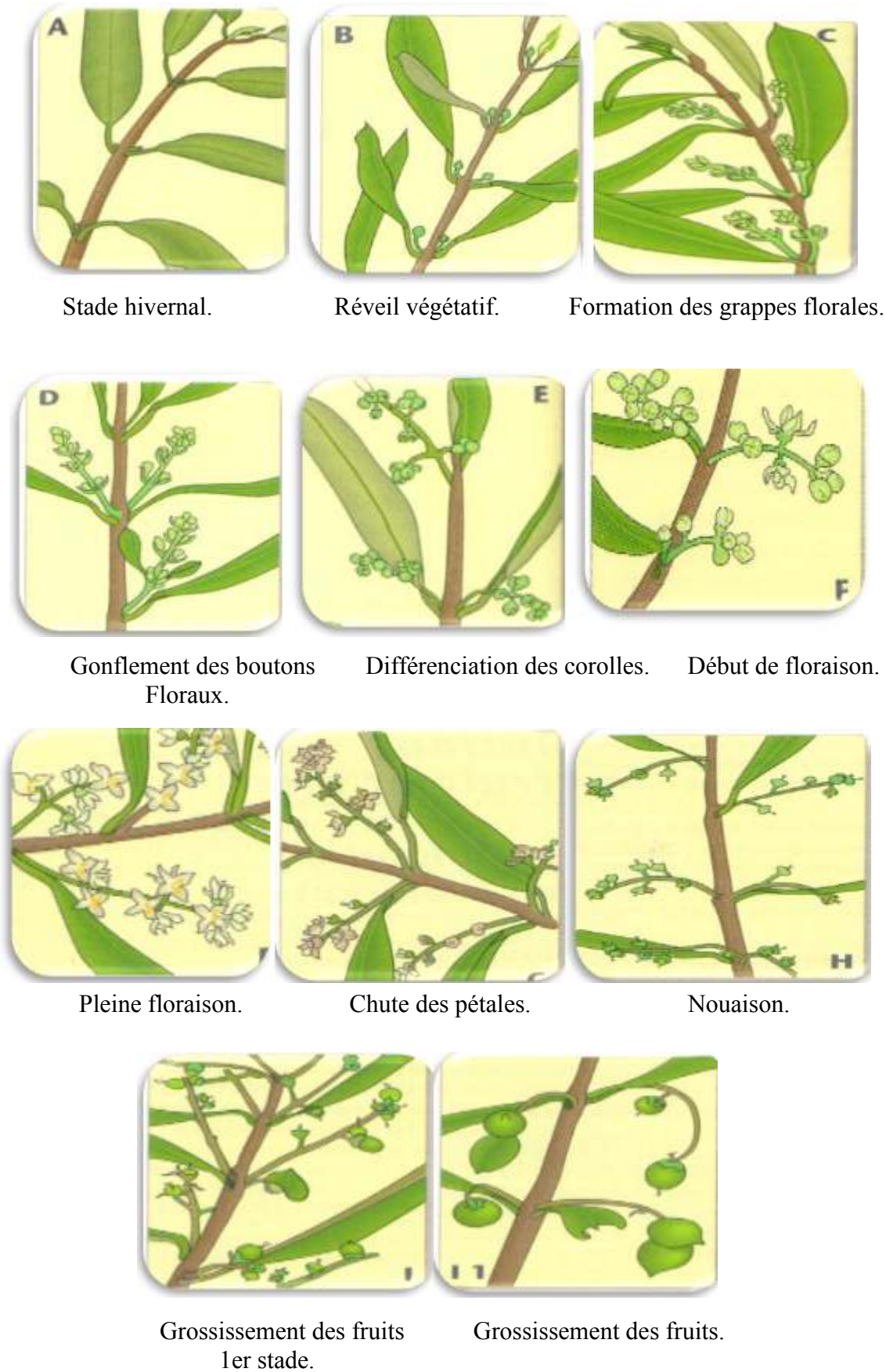


Figure 4 : Le cycle de vie de l'olivier (Argenson et al ; 1999).

7. Distribution géographique

L'aire de répartition de l'olivier forme une bande étroite et relativement régulière de long des rivages Nord et Est de la méditerranée et autour de la mer Noire, surtout en Egypte, en Tunisie, en Algérie, au Maroc, en Espagne, en Italie, en Grèce, en Turquie, en France, en Croatie et à l'archipel des Iles Canaries (Verdier, 2003).

On trouve 97% des 850 millions d'oliviers, qui couvrent une superficie de 9500000 hectares, dans le monde poussent en région méditerranéenne, qui reste une zone privilégiée par rapport au reste du monde pour la culture de l'olivier grâce à son climat adéquat tant au niveau de la température mais aussi au niveau de l'hydrométrie (Ghedira, 2008). Aujourd'hui on trouve des plantations en Californie, Australie, Afrique du Sud. Cette répartition géographique est influencée par des facteurs climatiques et pédologiques (Gaussorgues, 2009 ; Carrion, et *al.*, 2010).

Les populations d'oliviers sauvages sont limitées à quelques secteurs isolés des forêts natales de la Méditerranée (Fig.5), où le pollen peut être distribué par le vent et les oiseaux (Lumaret et *al.*, 2004).

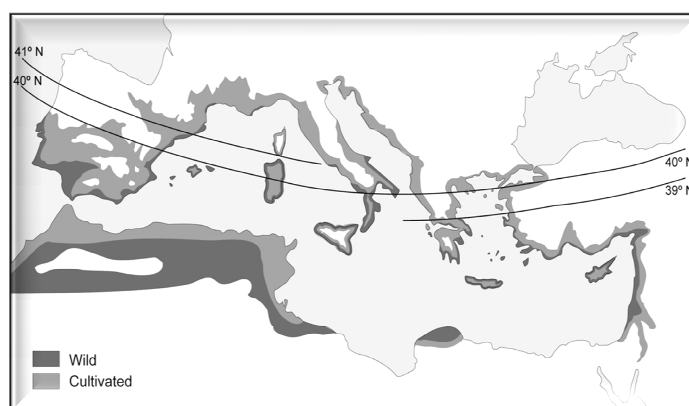


Figure 5: Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin Méditerranéen (Carrion, et *al.*, 2010).

7.1 Dans notre pays

L'olivier algérien se répartit sur trois zones oléicoles importantes :

- La zone de la région Ouest : représente 31400 hectares répartis entre 5 wilayas : Tlemcen, Ain-Temouchent, Mascara, Sidi-Bel-Abbès et Relizane.
- La zone de la région Centrale : représente 57.5 du verger oléicole national, répartis entre 6 wilayas : Ain-Defla, Blida, Boumerdés, Tizi-Ouzou, Bouira et Bejaia.
- La zone de la région Est : représente 26.1 du patrimoine national, et répartis entre 4 wilayas : Jijel, Skikda, Mila et Guelma (Bouchefra et Idoui, 2012).

7.2. Facteurs influençant la répartition

7.2.1 Le climat

La culture de l'olivier se calque sur les données climatiques méditerranéennes, caractérisées par une grande luminosité, des étés chauds et secs, des automnes et printemps pluvieux, et des hivers doux.

7.2.2 Le sol

Le sol doit être bien aéré pour permettre l'apport d'oxygène aux racines, les sols filtrants, avec cailloux et graviers, seront donc préférés aux sols asphyxiants.

Il est donc indispensable, avant toute plantation, de procéder à une étude de la topographie, du profil du terrain et à une analyse physico-chimique du sol (Argenson, 1999).

8. Production Algérienne et mondiale de l'olivier

L'Algérie se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Tunisie qui sont, par ordre d'importance, les plus gros producteurs au monde d'huile d'olive (Djeziri, 2012).

La figure 6 montre la production mondiale d'olive dans la période 2006-2007.

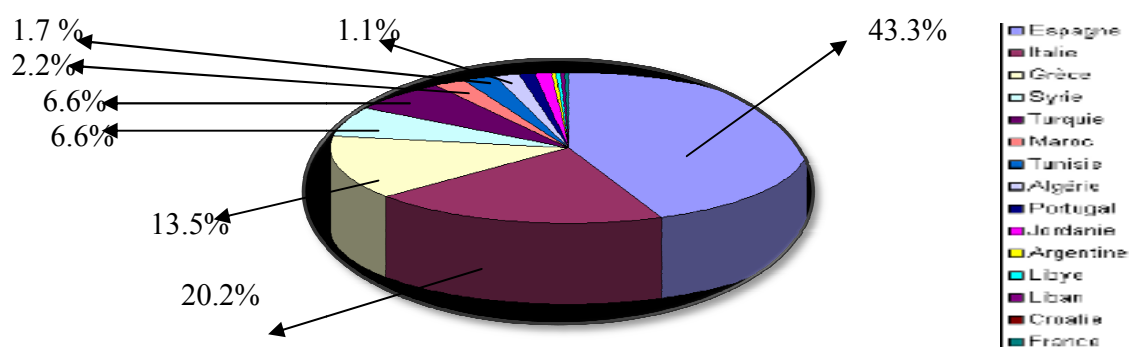


Figure 6 : La production mondiale d'olive (2006-2007) (Djeziri, 2012).

9. Variétés d'oliviers cultivé en Algérie

- Variété « Siguoise » :

Olive de Tlemcen appelée aussi olive du Tell ou Picholine Marocaine. On la rencontre de Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen. Cette variété est utilisée principalement pour la production d'olives de table en vert ou en noir et également appréciée pour la production d'huile.

- Variété « Sévillane » ou Gordal :

D'origine Hispanique, se localise dans les plaines de littorales Oranaises. Cette variété présente de très gros fruits, utilisée uniquement pour la production d'olives de table en vert.

- Variété « Rougette » de la Mitidja:

Fréquente dans la plaine de la Mitidja et sur le piémont de l'Atlas, c'est une variété à huile.

- Variété « Chemlal » :

Sans doute la plus réputée en Algérie, c'est une olive à huile. Son aire de distribution va de l'Atlas Blidéen jusqu'aux Bibans et le Guergour.

- Variété « Limli » :

C'est la variété des versants montagneux de la basse vallée de la Soummam jusqu'à la mer, c'est une bonne variété à huile.

- Variété «Blanquette» :

Se localise a Guelma, c'est des variétés à huile qui coexistent en mélange dans les régions de l'Est du pays (Besnard et Berville, 2005).

10. La valeur nutritionnelle

Actuellement il y a plus de variétés d'olives cultivées pour la consommation de table vert ou noir, et surtout pour son huile riche en acides gras insaturés. Les feuilles d'olivier ont des propriétés hypotensives, vasodilatatrices, hypoglycémiantes et d'autres utilisations médicinales (Meslaycet 2007). A part les valeurs médicinales, l'olive contient d'autres éléments comme on le voit dans le Tableau 2 :

Tableau 2 : Apport nutritionnel moyen de 100 g d'olive noir (Simpson et Orgozaly, 2001).

L'élément	La concentration
Eau	77%
Calories	103 calories
Protéines	0.9 g
Acides Gras	11 g
Carbohydrates	0
Vitamine A	180 mg
Vitamines C	0

11. Les maladies de l'olivier

Tableau 3 : Les principales maladies de l'olivier (Argenson et *al.*, 1999).

Les maladies	La cause	Les symptômes et dégâts
Noire et évitable fumagine (<i>Capnodium oleaginum.</i>)	La fumagine. (complexe des champignons)	-L'ensemble de végétales recouvert d'une sorte de poussières noire. -La fonction de chlorophyllienne des feuilles peut être stoppée.
Œil de paon. (<i>Cycloconium oleaginum.</i>)	Entraînées par le vent et la pluie, les conidies (organes microscopiques qui permettent la diffusion de la maladie) émettent des zoospores qui provoquent la maladie.	-La défoliation peut compromettre non seulement la récolte de l'année mais également la vie de l'arbre. -Provoque la chute des feuilles. -Provoque la chute des fruits.
Cochenille noire. (<i>Saissetia oleae</i> Bern.)	Forte population de Cochenilles.	-Affaiblit l'arbre.
La Teigne de l'olivier. (<i>Prays oleae</i> Bern.)	La teigne.	-La consommation des organes floraux rend toute la fécondation impossible Pour les fruits les dégâts se manifestent par deux chutes successives. Alors la teigne provoque 30-40% des pertes d'olive.
La mouche de l'olivier. (<i>Bactrocera oleae</i> Gmel.)	La mouche de l'olivier.	-Perte de récolte par la chute des fruits -Diminution du rendement en huile et détérioration de la qualité de l'huile par augmentation de son acidité.

12. Utilisation des feuilles et fruits d'olivier

Tableau 4 : Une revue bibliographique sur les utilisations des feuilles d'olivier.

Domaine	Applications	références
Alimentation Animal.	-Utilisation dans l'alimentation des moutons et chèvres. -Utilisation dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes.	- Martin-Garcia et <i>al.</i> , 2003. - Botsoglou et <i>al.</i> , 2010. - Govaris et <i>al.</i> , 2010.
Thérapeutique.	-Consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier qui est bénéfique pour la santé.	- Giao et <i>al.</i> , 2007.
Pharmaceutique	-Extraction des composés phénoliques, notamment l'oleuropéine. -Extraction des composés phénoliques. -Extraction de l'oleuropéine et production d'hydroxytyrosol. -Extraction des composés triterpéniques. -Extraction de tocophérol. -Extraction de flavonoïdes. -Extraction de stérols et alcools gras. -Extraction de mannitol.	- Japan-Lujian et <i>al.</i> , 2006. - Lee et <i>al.</i> , 2009. - Altiok et <i>al.</i> , 2008. - Mylonaki et <i>al.</i> , 2008. - Haoyuan, 2006 (brevet). - Ziqi et <i>al.</i> , 2007 (brevet). - Leslie, 1999 (brevet). - Bouaziz et Sayadi, 2003. - Sanchez-Avila et <i>al.</i> , 2009. - Somova et <i>al.</i> , 2003. -Orozco-Solano et <i>al.</i> , 2010. - Ghoreishi et <i>al.</i> , 2009.

Cosmétique	<ul style="list-style-type: none"> -Utilisation dans la formulation des produits cosmétiques. -Formulation photo protectrice. -Formulation à destination cosmétique et/ou diététique contenant un mélange de lycopène et d'extrait de feuille d'olivier : Utilisation de l'extrait pour améliorer la solubilisation de lycopène. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tadashi, 2006. - Thomas <i>et al.</i>, 2006. - Pinnell-Sheldon et Omar Mostafa, 2004.
Industrie Alimentaire	<ul style="list-style-type: none"> -Ajout à la viande hachée bovine. -Enrichir l'olive de table. -Stabilisation de l'huile de tournesol. -Utilisation dans la formulation de boisson de santé pour consommation humaine. -Formulation d'une tisane. -Séchage et broyage et utilisation comme ingrédient dans la formulation d'aliments. 	<ul style="list-style-type: none"> - Hayes <i>et al.</i>, 2009. - Lalas <i>et al.</i>, 2011. - Farag <i>et al.</i>, 2007.
Biochimie	<ul style="list-style-type: none"> Utilisation d'une hydroperoxydase des feuilles d'olivier pour la synthèse de note verte. Biosynthèse de nanoparticules d'or. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ben Akacha et Gargouri, 2009. - Khalil <i>et al.</i>, 2010.
Sidérurgie	Inhibition de corrosion acide de l'acier.	- El-Etre <i>et al.</i> , 2007.
Dépollution	Utilisation comme sorbant pour enlever le cadmium de milieu aqueux.	- Hamdaoui, 2009.

1. Généralités sur les polyphénols

Le terme polyphénol a été introduit en 1980, en remplacement au terme ancien de tanin végétal et a été défini comme suit: composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes et la gélatine (Cowan, 1999).

La désignation générale «composés phénoliques» concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005).

Ce sont des métabolites secondaires des plantes (Garcia-Salas et *al.*, 2010), élaborés par la voie de shikimate et regroupent un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point en commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH libres ou engagés avec un glucide (tableau 5) (Charpentier et Boizot, 2006).

On les retrouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, et ils font donc partie intégrante de notre alimentation (Bravo, 1998).

Ces phytonutriments sont responsables de la pigmentation (teinte des feuilles, couleur des fruits et des fleurs) (Serrano et *al.*, 2010), et jouent également un rôle dans la croissance, la reproduction et la protection des plantes contre les agressions pathogènes (Drewnoski et *al.*, 2000; Zem et Fernandez, 2005).

2. Principales classes des composés phénoliques

Les auteurs soutiennent que plusieurs milliers de polyphénols ont été déjà identifiés et que plusieurs centaines sont présentes dans les parties comestibles des aliments (Beta et *al.*, 2005) (Tableau 5). Les catégories des polyphénols les plus courantes et qui forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes sont :

2.1. Acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3)

Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Psotová et *al.*, 2003). Parmi les acides phénoliques, figurent l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide férulique et l'acide gallique (Hale, 2003). Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets antioxydants, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible et sont considérés, généralement, non toxiques (Psotová et *al.*, 2003).

2.2. Lignanes (C6-C3)₂

Les graines de lin sont une source alimentaire importante de lignanes, bien que ces composés se retrouvent également en quantités moindres dans plusieurs autres céréales, les légumineuses, les lentilles, et l'haricot blanc (Charles et Benbrook, 2005).

2.3. Stilbènes (C6-C2-C6)

Ne se retrouvent qu'en petites quantités dans l'alimentation humaine. Dans cette catégorie, le resvératrol est le polyphénol le plus couramment étudié (Manach et *al.*, 2004), et synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes, la stilbène oxydase et les peroxydases (Perret, 2001).

Contrairement aux flavonoïdes, les Stilbènes sont peu répandus chez les végétaux; le raisin et le vin rouge constituent l'apport alimentaire le plus important de ceux-ci (Krisa et *al.*, 1997).

2.4. Flavonoïdes (C6-C3-C6)

La majorité des flavonoïdes ont une structure chimique semblable: deux anneaux aromatiques liés par trois atomes de carbone qui forment un composé hétérocyclique oxygéné.

Les flavonoïdes se divisent en six sous-catégories : les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanols (catéchines et proanthocyanidines), les flavanones et les anthocyanidines (Charles et Benbrook, 2005).

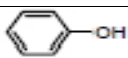
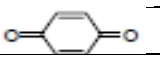
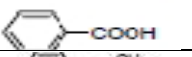
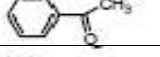
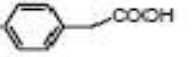
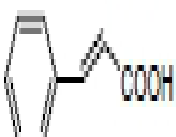
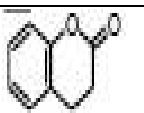
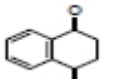
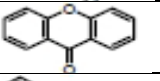
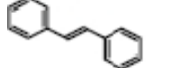
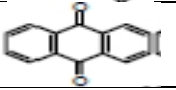
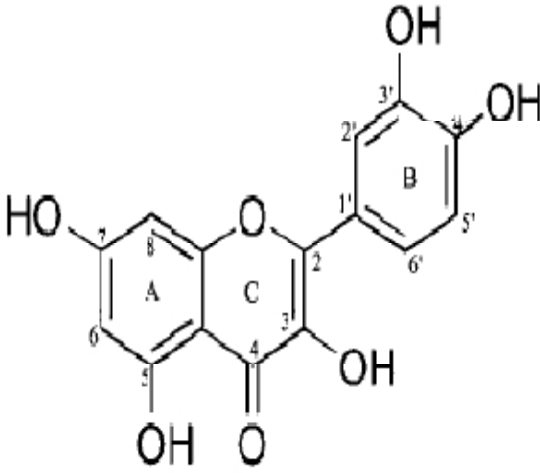
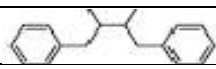
2.5. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et les solvants polaires. On les trouve dans nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres, les fruits (raisin, datte, café, cacao...) et les feuilles de thé (Hagerman, 2002).

Les tanins ont la propriété de tanner la peau, c'est à dire de la rendre imputrescible ; cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) (Ghestem et *al.*, 2001).

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

Tableau 5 : Classification des familles des composés phénoliques (Garcia-Salas et al., 2010).

Nombre de carbone.	Classe.	Structure chimique.	Sources.
C6	Phénols simples.		Céréales, abricot, banane, chou-fleur.
	Benzoquinones.		
C6-C1	Acide benzoïque.		
C6-C2	Acétophénones.		
	Acide phénylacétique.		
C6-C3	Acide Cinnamique.		Carotte, tomate, céréales, aubergine.
	Coumarines.		Carotte, céleri, citron, persil.
C6-C4	Naphthoquinones.		Abricot.
C6-C1-C6	Xanthones.		Mangue.
C6-C2-C6	Stilbènes.		Raisin.
	Anthraquinones.		
C6-C3-C6	Flavonoïdes.		Largement Distribués.
(C6-C3)2	Lignanes.		Seigle, blé.
(C6-C1) n	Tanins hydrolysables.	Polymère hétérogène. Composé d'acides phénoliques et de sucres simples.	Grenade, framboise.
(C6-C3) n	Lignines.	Polymère aromatique. Fortement réticulé.	

3. Facteurs de variabilité de la teneur en polyphénols

3.1. Effet des facteurs externes

Le métabolisme phénolique est particulièrement sensible à l'action des facteurs externes comme la lumière, la température, les microorganismes pathogènes et les traitements appliqués par l'homme (Dinelli *et al.*, 2006).

3.1.1. Lumière

L'importance de la lumière (spectre visible mais aussi UV contenus dans le rayonnement solaire) sur l'accumulation des anthocyanes se résume par l'intervention de deux paramètres: d'une part l'intensité du flux lumineux et d'autre part la nature des radiations constitutives. Elle agit directement, par l'intermédiaire des radiations bleues et rouges et du pigment végétale phytochrome sur l'activation du promoteur des gènes phénylalanine ammonia lyase (*PAL*), ce qui se traduit alors par la transcription des ARNm puis la formation de la protéine enzymatique (enzyme du métabolisme) (Hahlbrock *et al.*, 1995).

3.1.2. Température

La température est également un facteur de régulation de l'expression du métabolisme phénolique, souvent en interaction avec la lumière. Ainsi, un abaissement de la température associé à un traitement lumineux adéquat induit fréquemment une accumulation des anthocyanes. Là encore, la régulation pourrait intervenir au niveau de *PAL* elle-même, des inhibiteurs de l'enzyme pouvant être mis en place sous l'effet des températures élevées.

Des perturbations du métabolisme phénolique peuvent quelques fois apparaître à la suite des traitements d'organes végétaux au froid, conduisant alors à des brunissements (Rhodes *et al.*, 1981).

3.1.3. Microorganismes pathogènes

La contamination du végétal par des microorganismes pathogènes entraîne également une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, correspondant à la mise en place des mécanismes de défense de la plante (Dixon et Paiva, 1995).

3.1.4. Traitements appliqués par l'homme

Certains traitements (application de fertilisants, irradiations, etc.) peuvent moduler la teneur de la plante en composés phénoliques, soit au cours de la croissance, ou bien au cours de la conservation des organes végétaux. Les conséquences sont souvent prévisibles car la réponse peut être très variable d'une espèce à l'autre et en fonction des doses appliquées et des durées de traitements. De profondes modifications de l'équipement phénolique

interviennent également lorsque les organes végétaux sont soumis à des procédés technologiques destinés à les transformer (blanchiment, cuisson, etc.) (Macheix et *al.*, 2005).

3.2. Stade physiologique

Les teneurs en composés phénoliques des organes végétaux sont également variables en fonction du stade physiologique. A l'exception des anthocyanes, la concentration en composés phénoliques se décroît au cours de la croissance et de la maturation. Chaque groupe de composés phénoliques peut évoluer au cours de la croissance selon une cinétique qui lui est propre, ce qui conduit alors à des proportions variables des différents composés en fonction du stade physiologique atteint (Macheix et *al.*, 2005).

3.3. Effet de l'espèce et de la variété

L'expression du métabolisme phénolique dans la plante est la traduction du patrimoine génétique propre à chaque espèce. La nature et la teneur en composés phénoliques accumulés sont donc d'abord une caractéristique de l'espèce végétale considérée. En effet, il est possible de caractériser les différentes variétés d'espèces par une véritable empreinte phénolique qui peut être utilisée pour la certification de variétés nouvelles obtenues par hybridation. Ces mêmes s'approches peuvent permettre de déceler certaines fraudes dans des produits de l'agroalimentaire (Fleuriet et Macheix, 2003).

A l'intérieur d'une même espèce végétale, on peut également constater des différences très importantes entre les diverses variétés ou cultivars, quelquefois plus importantes qu'entre les espèces elles-mêmes (Macheix et *al.*, 2005).

4. Localisation des Polyphénols dans les plantes

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales. Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Au niveau tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique. Au sein des mêmes feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme. Au niveau de la plante entière, il faut noter que certains composés ne sont accumulés que dans des organes bien définis (Bénard, 2009).

5. Rôle et intérêt des composés phénoliques

5.1. Rôle physiologique

Des travaux plus anciens (Alibert *et al.*, 1977, cité par Bahorun, 1997) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

Les composés phénoliques participent aux mécanismes d'inhibition tégumentaire: au moment de la germination, l'oxydation des phénols capte une partie de l'oxygène nécessaire à la reprise de l'activité respiratoire de l'embryon ce qui retarde la sortie de la plantule (Guignard, 1996).

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction (Maillard, 1996).

Les flavonoïdes montrent des propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance (Marfak, 2003). La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Bate Smith, 1973, cité par Aron, 2007).

5.2. Rôle technologique

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la qualité organoleptique des fruits et légumes, utilisés frais ou après transformation industrielle. (Perret, 2001).

Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. Certains flavonoïdes participent à la coloration des fruits mûrs. Ils confèrent aux fruits et légumes leurs teintes rouges ou bleutées (Marfak, 2003).

Ils déterminent également la saveur des fruits : les tanins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs, (Dubois *et al.*, 1977, cité par Bahorun, 1997).

5.3. Rôle biologique et thérapeutique chez l'Homme

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies (Fig.7), quelques exemples de ces composés et leurs activités biologiques sont récapitulés dans le tableau N°6.

Tableau 6: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme.

Polyphénols	Activités biologiques	Auteurs
Acides Phénols. (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, anti-ulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydants.	-Sannomiya <i>et al.</i> , 2005. -Gurbuz I., Yesilada E., Ito S., 2009.
Coumarines.	Protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, anti parasitaires analgésiques et anti-œdémateuses.	-Ito <i>et al.</i> , 2005. -Smyth T; Ramachandran V. N.; Smyth W. F., 2009.
Flavonoïdes.	Anti-tumorales, antiparasitaires, vaso, dilatoires, antibactériennes, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydants, anti-atherogéniques, antithrombotique, anti-allergique.	-Wollgast J., Anklam E., 2000. -Hitara <i>et al.</i> ,2009. -Tripoli <i>et al.</i> ,2007. -Shon <i>et al.</i> ,2004.
Anthocyanes.	Protectrices capillaro-veineux, antioxydant.	-Bruneton J, 1993.
Proanthocyanidines.	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, antitumorales, antifongiques, anti-inflammatoires.	-Masquelier J, Dumon M et Dumas J, 1979.
Tannins galliques et catéchiques.	Antioxydants.	-Okamura <i>et al.</i> ,1993. -Kubata <i>et al.</i> ,2005.
Lignanes. Saponines. Phytostérols.	Anti-inflammatoires, analgésiques antitumorale, anticancérigène,... Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons.	-Kim <i>et al.</i> , 2009. -Nebeling L., 2002.

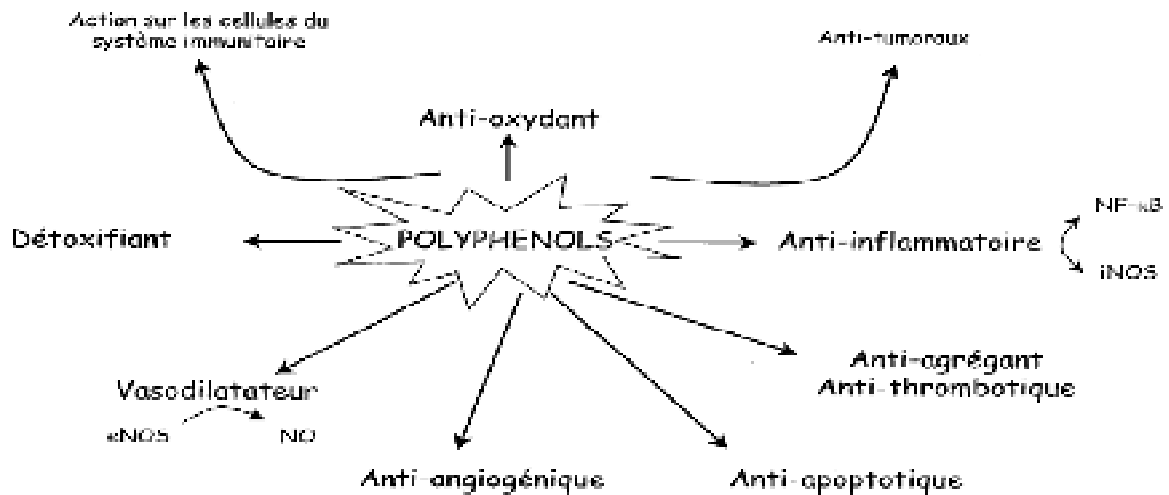


Figure 7 : Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

5.4. Dans la régénération des sols pollués

Ce processus était ignoré jusqu'à tout récemment et il consiste en la biotransformation des matières organiques dans le sol où la lignine du type Syringyl (un des milliers de composés phénoliques) joue un rôle essentiel, tout comme un grand nombre d'autres composés phénoliques. Cette biotransformation n'est que le début d'un long processus lié à la transformation des sols, ce qui est la régulation de la vie des sols, par un contrôle de la mise en disponibilité des nutriments. Elle influence directement la résistance à l'érosion, stimule, protège à la fois différentes phases de la vie animale, bactérienne, fongique qui sont les principales responsables de la pédogenèse. C'est ainsi que le sol demeure stable et fertile. La biotransformation des tissus organiques est responsable du maintien de la biodiversité et de la structure physique du sol. Ces caractéristiques biologiques régissent la disponibilité de l'azote et du phosphore (Lemieux et Germain, 2002).

6. L'activité antioxydant

6.1. Production endogène et l'origine des radicaux libres

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes. En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons UV, des radiations ionisantes et de métaux de transition (Ekoumou, 2003). Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène singulet O_2 , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , les peroxydes alkyles $ROOH$, le radical superoxyde O_2 , les radicaux

hydroxyles HO, peroxydes ROO et alkoxydes RO (Cavin, 1999). Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines (Fig.9) (Ahamet, 2003).

Les rayonnements UV sont capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres.

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (Mohammedi, 2005).

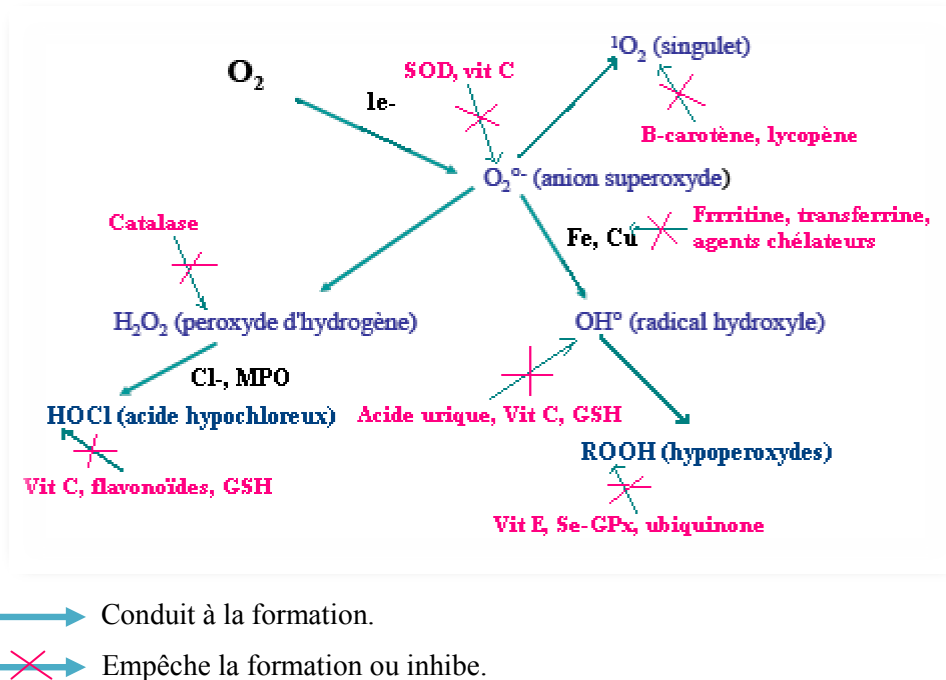


Figure 8 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail et *al.*,2002).

6.2. Réaction de l'organisme vis-à-vis des radicaux libres

L'organisme se défend contre les radicaux par le biais d'enzymes qui les neutralisent comme les superoxydes dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase.

Cependant, lorsque la quantité de radicaux libres est trop importante, les cellules n'arrivent pas toujours à produire suffisamment d'antioxydants. IL semble ainsi que les formes réactives de l' O_2 soient en partie à l'origine de nombreuses maladies comme Alzheimer, Parkinson, l'athérosclérose, la polyarthrite chronique, le mongolisme ou encore le cancer (Müller, 1992; Aouissa, 2002).

6.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des produits naturels ou synthétiques entraînant la neutralisation des radicaux libres qui sont les vecteurs du stress oxydatif lui-même responsable de la détérioration et du vieillissement cellulaire.

Les antioxydants se définissent comme étant des produits chimiques qui, plus spécifiquement, retardent la détérioration, la rancidité ou la décoloration causée par l'oxydation (Diallo, 2005).

6.4. Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, contenant un ou plusieurs électron(s) libre(s) non apparié(s) sur leurs couches externes (Dykes et Rooney, 2006). Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique. Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical (Koechlin, 2006).

Du fait de leur caractère très électrophile, les espèces radicalaires vont tenter de rattraper leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron (Dykes et Rooney, 2006). L'espèce agressée devient à son tour radicalaire initiant de cette façon un processus de réaction en chaîne qui se caractérise par trois étapes ; (i) initiation, (ii) propagation et (iii) terminaison provoquant enfin une perturbation de la cellule vivante (Koechlin, 2006).

6.5. Mécanisme d'action d'un antioxydant

D'après Halliwell (1996), les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre :

- Le piégeage direct des ROS.
- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ROS.

6.6. Les sources d'antioxydants

Les antioxydants sont d'origine médicamenteuse et alimentaire.

6.6.1. Les médicaments

Actuellement, plusieurs agents thérapeutiques notamment les antihypertensifs, les bêta bloquants, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, ont été évalués pour leurs propriétés antioxydants. On cite les exemples :

-Le Probucol agit comme un antioxydant en supprimant l'oxydation des lipoprotéines de basse densité.

-La N-acétylcystéine agirait de manière significative dans la régénération d'un antioxydant connu: legluthation (Calvin, 2001).

6.6.2. L'alimentation

• Les antioxydants naturels

De nombreuses molécules possédant des propriétés antioxydants ont été isolées du monde végétale particulièrement le resvératrol (raisin), les polyphénols du Ginkgo, l'épicatéchine du thé vert, du vin rouge, l'hydroxytyrosol de l'huile d'olive (Hennebelle et *al.*, 2004).

Les fruits et les légumes composants notre alimentation sont généralement riches en antioxydants naturels tels que :

- **La vitamine E** : (tocophérol) prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est retrouvée dans les huiles végétales, dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Aouissa, 2002).

- **Le β - carotène** : possède, outre l'activité provitaminique A, la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est présent dans les légumes verts, les épinards, les carottes, la papaye et d'autres fruits jaunes.

-**La vitamine C** : est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Elle est présente dans les légumes, le chou, le persil, les agrumes, le kiwi (Sies et Stahl, 1995).

-**Le sélénium** : est un antioxydant essentiel. Il agirait comme une coenzyme pour la glutathion Peroxydase, enzyme antioxydant capable de réduire les lipides oxydés des membranes cellulaires. On le trouve dans la viande, le poisson, et les céréales (Aouissa, 2002).

- **Les composés phénoliques** : ils ont été décrits au tableau 5.

• Les antioxydants de synthèse

Ce sont des produits utilisés dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments :

- Butylhydroxytoluène (BHT).

- Butylhydroxyanisole (BHA).

7. L'activité antimicrobienne

7.1. Les bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisés par une absence de noyau et d'organites. La plupart des bactéries possèdent une paroi glucidique, le peptidoglycane.

Il existe cependant de nombreuses espèces pathogènes à l'origine de beaucoup de maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis, la tuberculose...etc (Nauciel, 2000).

On distingue les bactéries par quelques propriétés morphologiques comme la forme des cellules, la structure de l'enveloppe autour de la cellule et leurs propriétés métaboliques et génétiques.

Les cellules bactériennes présente différentes formes dont les plus courantes sont la coque (par exemple : streptocoque) et le bacille (ou bâton). La cellule bactérienne est limitée par une membrane cytoplasmique et par une enveloppe de structure variable selon les espèces.

La nature chimique de cette enveloppe permet de classer les bactéries en deux groupes, Gram+ et Gram-, à l'aide d'une coloration simple.

Selon les espèces, les bactéries sont aérobies ou anaérobies et ceci d'une manière stricte ou facultative. Les aérobies ont besoin d'oxygène pour vivre. Les anaérobies sont détruits par l'oxygène, ils ne peuvent vivre qu'en absence d'oxygène et pour les anaérobies facultatifs, l'oxygène n'a pas d'influence sur leur vie (Fig.9) (Nout et al, 2003).

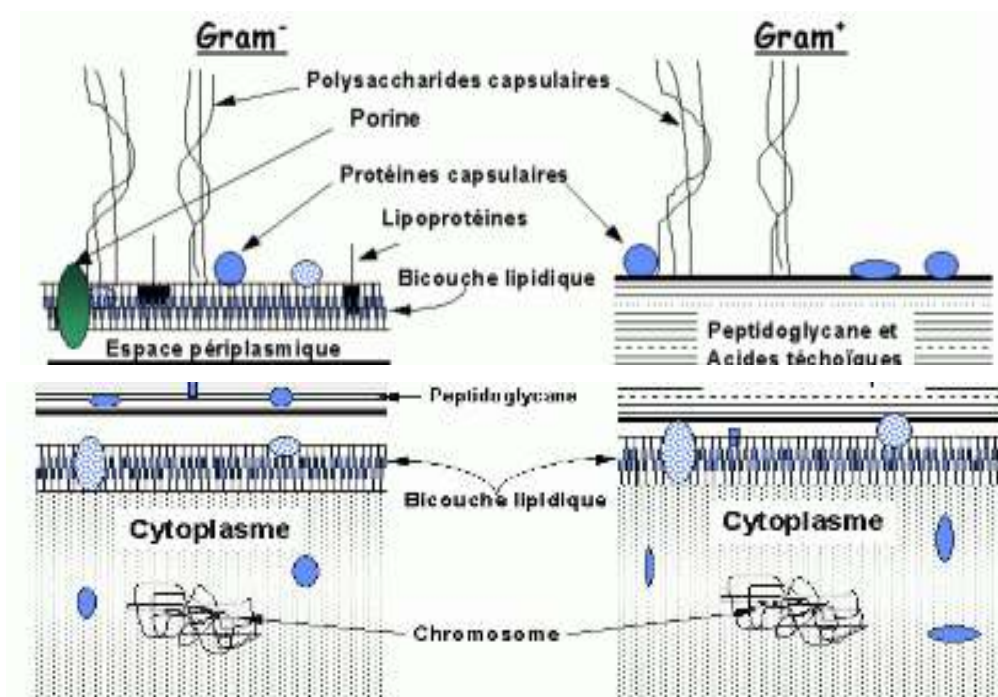


Figure 9 : Structure de la paroi bactérienne (Corvec, 2009).

7.2. Les champignon

Les champignons appartiennent au règne *Fungi* ou *Mycota*. Ce sont des organismes hétérotrophes par rapport au carbone : ils se nourrissent en extrayant de leur environnement des composés organiques déjà constitués. Ils ne possèdent pas de racine ni de feuille, et leur appareil végétatif appelé mycélium peut être unicellulaire dans le cas des levures, ou pluricellulaire dans le cas de champignons filamenteux. Les champignons présentent une reproduction sexuée, asexuée ou éventuellement para-sexuée.

Les infections fongiques représentent un des plus graves problèmes de santé publique dans le monde. Les mycoses peuvent apparaître sous la forme d'une simple infection superficielle jusqu'à former des lésions systémiques graves et débilitantes, associées à des taux de mortalité élevés (Hay, 2006 ; Lupi et al., 2005).

7.3. Les levures

Les levures ne sont pas classifiées comme les bactéries, mais selon l'assimilation et la fermentation des *saccharides*. Beaucoup d'espèces de levure ont un pouvoir caractéristique de fermentation, exemple de levure : *Saccharomyces*, *Candida*. La plupart des levures se multiplient par bourgeonnement (Nout et al, 2003).

8. Les principales substances antimicrobiennes

8.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne et Dellamonica, 1995).

8.2. Les composés phénoliques

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été concentrées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet et certain est démontré par des nombreuses recherches expérimentales.

Des flavonoïdes isolés des fruits de *Termina liabellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été montré comme possédant l'activité contre le microbe pathogène *Candida albicans* (Wächter et al., 1999). Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia girdaldi* ont été rapportés montrer une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus* une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseurs (Valsaraj et al., 1997).

Notre travail est subdivisé en deux parties :

La 1^{ère} partie, consacrée l'extraction des polyphénols, réalisée au laboratoire de recherche de biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales du département de biotechnologies, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1.

La 2^{ème} partie porte sur deux activités biologiques des extraits polyphénoliques :

- L'activité antioxydant réalisée au laboratoire de recherche des plantes aromatiques, médicinales du département de biotechnologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1.
- L'activité antimicrobienne réalisée au laboratoire central de microbiologie de l'hôpital FARES YAHIA de Koléa.

1. Présentation du site d'étude : (origine de la plante)

Les échantillons des feuilles et fruits d'olivier (cultivé et sauvage) utilisés dans cette étude ont été collectés au niveau de Cap Djanet, wilaya de Boumerdès (Fig.10) connue pour sa vocation oléicole.

Cette région est caractérisée par un climat méditerranéen (hivers froids et humides et été chauds et sec). La pluviométrie est irrégulière et varie entre 500 et 1 300 mm/année.

La Wilaya dispose d'un potentiel en sols d'une grande valeur agronomique, Ils se caractérisent par une texture fine et par leur aptitude à la pratique d'une agriculture intensive.

Au plan géographique, la Wilaya de Boumerdès est limitée :

- au Nord, par la mer Méditerranée.
- à l'Est, par la wilaya de Tizi-Ouzou.
- au Sud-est, par la wilaya de Bouira.
- au Sud- Ouest, par la wilaya de Blida.
- à l'Ouest, par la wilaya d'Alger.

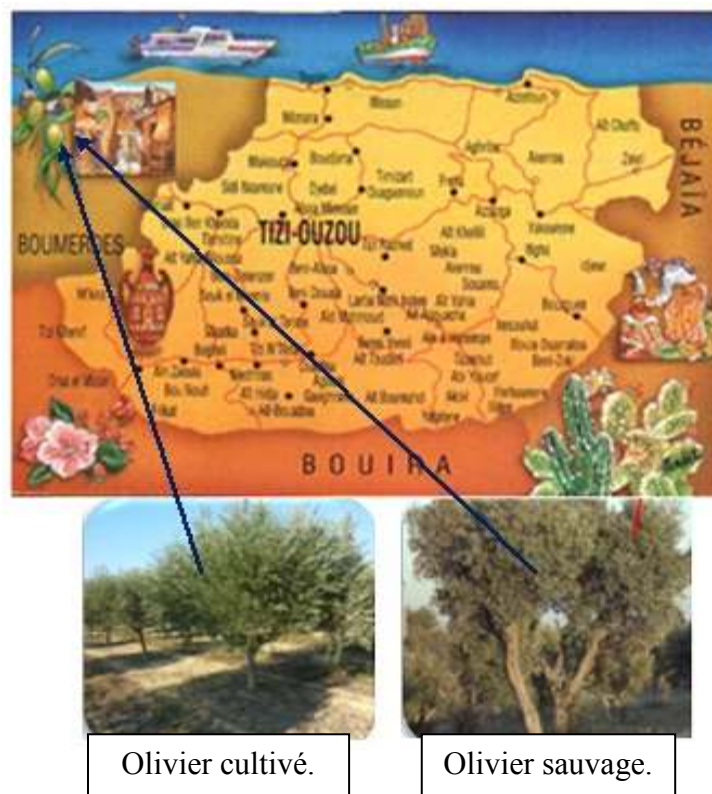


Figure 10: Situation géographique du site d'échantillonnage.

2. Matériel

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Matériel végétal

L'étude a été effectuée sur deux espèces d'olivier:

- Les fruits et les feuilles d'olive cultivé, (*Olea europaea sativa*).
- Les fruits et les feuilles d'olive sauvage, (*Olea europaea sylvestris*).

- **La récolte**

La récolte des échantillons était effectuée le 3 Décembre 2015 à 10 h du matin, juste après évaporation de la rosée. La température était ce jour la comprise entre 13°C et 16°C.

Deux Kg de chaque échantillon ont été cueillis, pesé aux champs, ensuite mis dans des sacs en papier étiquetés et ramenés au laboratoire.

- **Séchages**

Dans le laboratoire, les fruits des deux espèces ont été mis dans l'étuve à 60 C° pour séchage jusqu'à la stabilisation de leur poids.

Les feuilles ont été nettoyées et étalées sur du papier et séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière et d'humidité. Ils sont retournés de temps en temps afin d'éviter tout risque de contamination par les champignons, sous température ambiante pendant 23 jours afin de préserver les substances active des feuilles.

2.1.2. Matériel microbiologique

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques des échantillons obtenus, on a utilisées sept souches, et des antibiotique de référence, ils sont citées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7 : Les différentes souches utilisées dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Microorganismes testés.	Gram.	Références.	Antibiotique de référence.
Bactéries.	Gram +	<i>Streptococcus pneumoniae.</i> ATCC 49619.	Céfoxitine.
	Gram -	<i>Escherichia coli.</i> ATCC 25922.	Ampicilline.
	Gram -	<i>Salmonella typhi.</i> Souche Clinique.	Céfoxitine.
	Gram -	<i>Proteus sp.</i> Souche Clinique.	Gentamicine.
	Gram -	<i>Pseudomonas aeruginosa.</i> ATCC 27853.	Fosfomycine.
Champignons.		<i>Aspergillus niger.</i> Isolée de l'aire.	
Levure.		<i>Candida albicans.</i> ATCC 10231.	

1. *Streptococcus pneumoniae*

Le pneumocoque est une bactérie qui colonise fréquemment les voies respiratoire de l'homme, et souvent présent à l'état commensal dans les voies aériennes supérieures (rhinopharynx) de l'homme (Nauciel, 2001). Les pneumocoques sous microscope optique sont des cocci à Gram positif immobiles, avec une forme en flamme de bougie (Niepceron, 2012).

2. *Escherichia coli*

E. coli est une bactérie qui fait partie de la flore microbienne du côlon chez l'homme « bacille à côlon », sa présence dans l'eau et le sol est un indicateur de contamination fécale (Leminor et Viron, 1990). La plupart de ses souches poussent rapidement (18 à 24 heures) sur les milieux ordinaires comme la gélose nutritive ; sur cette dernière, les colonies mesurent environ 2 à 3 mm de diamètre, elles sont arrondies, à contour régulier, incolores ou grisâtres et grasses (Joly et Reynaud, 2003).

3. *Salmonella typhi*

Les *salmonelles* sont des bactéries aéro-anaérobies facultatif essentiellement des parasites intestinaux d'animaux vertébrés, y compris l'homme. On peut retrouver les *Salmonelles* dans les produits animaux comme le lait, la viande, les œufs...etc.

Salmonella typhi cultive facilement sur milieu ordinaire, après incubation 18-24h les colonies ont un diamètre de 3 à 4 mm, non sporulé et non capsulé.

Cette espèce provoque les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes qui sont des infections septicémiques strictement humaines dues à un nombre très limité de sérotype de *Salmonelles*: *S. typhi*, *S. paratyphi* (Aubry et al., 2003).

4. *Proteus sp*

Actuellement, le genre *Proteus* rassemble donc cinq espèces : *Proteus hauseri*, *Proteus mirabilis*, *Proteus myxofaciens*, *Proteus penneri* et *Proteus vulgaris*.

Les *Proteus* sont très répandus dans la nature : on les rencontre dans les eaux usées, le sol, sur les légumes, dans la flore de putréfaction des matières organiques animale. Ils végètent en saprophytes sur la peau et les muqueuses. Les *Proteus sp* sont des bacilles à Gram négatif, ils sont des pathogènes opportunistes notamment chez les individus hospitalisés, immunodéprimés, cathétérismes ou présentant des anomalies des voies urinaire (Euzéby, 2000).

5. *Pseudomonas aeruginosa*

C'est une bactérie qui vit normalement à l'état saprophytique dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. La bactérie peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchique, responsable d'infection cutanées (impétigo, furoncles), et d'infection divers (Nauciel et Vildé, 2005).

6. *Aspergillus niger*

Le genre *Aspergillus* sont des champignons filamenteux ramifiés, de 7-10 µm de diamètre (John, 2002) comprend plus de 185 espèce ; les *Aspergillus* ont été jusqu'au aujourd'hui signalés comme agents les plus causales des infections opportunistes chez l'homme (Patron, 2006). La transmission à l'individu et à l'animal s'effectue par inhalation des spores ou par ingestion des champignons (Goubau, 2000).

7. *Candida albicans*

Les *Candidas* sont des levures opportunistes qui ne deviennent pathogènes que dans certaines conditions comme par exemple un état immunitaire affaibli. Ils ont comme beaucoup de levures,

des propriétés fermentaires, et se retrouvent sur les fruits, le sol, mais aussi sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux (Bouchet et *al.*, 2005). Leur colonies sont grandes, rond, de couleur blanche ou crème, elles poussent bien sur milieu de Sabouraud (Chacou et Bassou, 2007).

2.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé renferme l'appareillage, la verrerie, les réactifs et solution, présentés en (annexe 1).

3. Méthodes de travail

3.1. Préparation de la poudre végétale

Après le séchage de notre échantillons, nous l'avons directement réduit en poudre à l'aide d'un broyeur électrique de cuisine à double hélice de type « Moulinex ». Les poudres des feuilles obtenue est tamisée pour homogénéisation et augmentation de la surface d'échange entre le solide et le solvant d'extraction qui facilite l'entraînement des molécules de l'intérieur vers l'extérieur des tissus cellulaires végétaux.

Pour les poudre des fruits, le séchage est fait sur du papier absorbant pendant deux jours pour absorber l'excès des huiles, ensuite les tamisée. Les poudres récupérées sont conservée dans des flacons en verre opaque et dans le frigidaire, afin de protéger les molécules de se dégrader par la lumière et les fortes températures en attendant leur utilisation.

3.2. Méthode d'extraction et dosage des polyphénols :

3.2.1. Extraction :

L'extraction a été effectuée selon la méthode établie par Boumaza (2009), dont le volume du solvant et la quantité de la poudre ont été choisis selon nos besoins.

Au laboratoire, 30g de poudre de chaque échantillon sont pesée et mélangés dans un Erlenmeyer avec 200 ml de méthanol pure, laissé macérer pendant 15jours dans le réfrigérateur à 4°C avec une agitation d'une demi-heure chaque jours, suivi de double filtrations avec un papier

wattman n°1 afin de récupérer le solvant renfermant les polyphénols. Ce dernier est par la suite évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide sous une température de 40°C. Les extraits secs obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement de l'extraction et récupéré par 10 ml de méthanol pure pour les utiliser dans les tests de l'activité biologique (Fig.11).

3.2.2. Purification :

Pour purifié notre polyphénols de la chlorophylle et des lipides, nous avons ajouté 10 ml d'hexane, mélangé et versé dans des Ampoule a décantée, laissé jusqu'à l'apparition de deux phases (au max 20 min). La phase aqueuse est récupérée et évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide sous une température de 40°C. L'extrait sec et pure est récupéré dans 10 ml de méthanol, et conservé dans des bouteilles stériles à 4°C jusqu'à son utilisation.

Pour les échantillons de fruits, la même étape est réalisée une fois, mais pour les échantillons des feuilles, cette étape est réalisée deux fois, pour éliminer la chlorophylle (Fig.11).

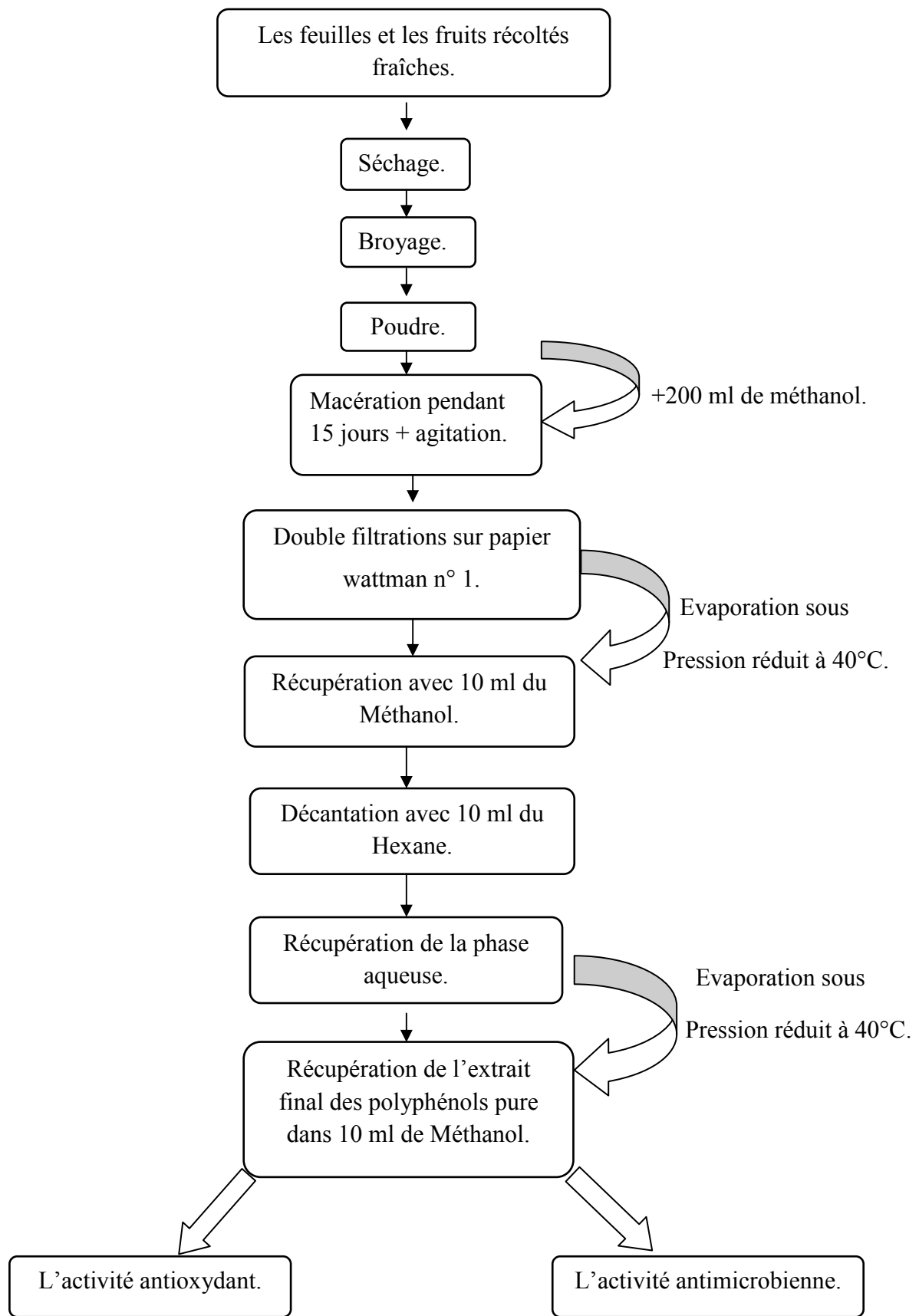


Figure 11: Schéma de Protocole d'extraction des polyphénols (Boumaza 2009). (Modifier)

3.3. Détermination de la teneur en eau des échantillons

La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation, et elle est calculée par la formule décrite par Bouterfas et *al.*, (2013).

En prend le poids des échantillons juste après la récolte et aussi juste après le séchage et la stabilisation de leur poids, ensuit en calcule la teneur en eau selon la règle suivante :

$$T = (PF - PS) \times 100 / PF.$$

T : Teneur en eau (%).

PF : Poids frais (g).

PS : Poids sec (g).

$$\text{La matière sèche (MS) \%} = 100 - T\%.$$

3.4. Détermination du Rendement en polyphénols totaux

Le calcule du rendement des extraits en polyphénols totaux a été déterminé par la formule décrite par Mahmoudi et *al.*, (2013):

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) 100.$$

R : Le rendement en %.

M_{ext}: La masse de l'extrait après évaporation en mg.

M_{éch}: La masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

3.5. Dosages des phénols totaux

Pour effectuer le dosage, nous avons utilisé la méthode de Singleton et *al.*, (1999) rapportée par Hammoudi et *al.*, (2012), en utilisons le réactif de Folin-Ciocalteu.

Cette méthode est choisie pour les raisons suivantes :

- c'est une méthode bien standardisée, elle répond aux critères de faisabilité et de reproductibilité.
- la disponibilité du réactif de Folin (Huang, 2005).

- **Le Principe**

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune qui est réduit lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) (Collin et Crouzet, 2011).

L'absorption est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux (Charpentier et Boizot, 2006).

On fait des dilutions appropriées pour les extraits des polyphénols pures, avant de passer au dosage. Ce dernier basé sur le couplage du Folin-Ciocalteu avec les composants phénoliques du matériel végétal, et la lecture a été effectuée par un spectrophotomètre à UV visible.

- **Mode opératoire**

- Un polyphénol témoin : l'acide Gallique pour la réalisation d'une gamme d'étalonnage en milieu aqueux. A partir d'une solution mère aqueuse préparée d'acide gallique de concentration massique 1g/l, des solutions filles sont préparées à des concentrations de 0.2 ; 0.3 ; 0.4 ; 0.5; 0.6; 0.7; 0.8 g/l.

- Les échantillons des polyphénols : 50 µl de chaque solution des extraits phénoliques, sont introduits dans des tubes à essais, 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et 1 ml d'eau distillée sont ajoutés. Après 10 minutes, on ajoute 500 µl ml de carbonate de sodium à 20% (m/v). Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante.

L'absorbance de tous les extraits a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible Shimadzu 1601, à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc.

Le dosage des composés phénoliques contenus dans nos extraits est répété deux fois.

3.6. Evaluation de l'activité antioxydants des extraits polyphénoliques

Pour étudier l'activité antioxydants des différents extraits, nous avons opté pour la méthode de Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) qui utilise le DPPH comme

un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm.

- **Le principe**

Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydants afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphénylpicrylhydrazine : de couleur jaune) (Fig.12) n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance. Dont l'intensité de la couleur jaune est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez, 2002).

- **Mode opératoire**

Selon le protocole décrit par Mansouri et *al.*, (2005) La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de Méthanol pure.

Déférent concentrations des extraits sont préparées de 0.5 ; 1 ; 3 ; 5 ; 7 ; 10 et 15 mg/ml.

25 µl des solutions d'extraits sont ajoutés à 975 µl DPPH, le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant 25 µl de la solution de DPPH et 975 µl du Méthanol est mesurée à 517 nm.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide Ascorbique, Défèrent concentrations sont préparées allant de 0.3 jusqu'à 3 mg/ml dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm.

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité antioxydant} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) \times 100}{\text{Abs contrôle}}$$

Les valeurs des concentrations responsables à 50% d'inhibition du radical DPPH (IC₅₀) ont été déterminées graphiquement.



Figure 12 : La solution de DPPH ; La forme réduite du DPPH dans les tubes.

3.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

- **Le Principe**

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Benjeleli et *al.*, 1986).

- **Mode opératoire**

1. Repiquage des souches

En vue d'obtenir des cultures jeunes, les souches conservées ont été repiquées par la méthode des stries dans la gélose nutritive pour les bactéries sauf *S.pneumoniae* ou nous utilisons une gélose au sang frais. La gélose Sabouraud est utilisée pour les champignons et les levures, puis incubées, (24h à 37°C /Bactéries et 48h à 25°C /Levures et 3 à 5 jours à 25°C /champignons) afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

2. Préparation des disques

Les disques de papier Wattman n°1 de 6 mm de diamètre, stérilisés auparavant dans l'autoclave (120°C pendant 20min), imbibés par les solutions des polyphénols. Des disques imbibés par des antibiotiques de référence sont utilisés comme contrôle positif pour les bactéries.

3. Préparation de milieu de culture

Après la fonte de gélose par autoclave à 120 °C pendant 15 à 20 min, nous avons coulé aseptiquement une couche de 4 mm d'épaisseur dans des boîtes de pétri en plastique stérile et rondes, de 90 mm de diamètre, ces dernières doivent être séchées durant 30 minutes à une température ambiante, au laboratoire, avant leur emploi.

(Gélose nutritive pour les bactéries sauf *S.pneumoniae* on utilise gélose nutritive au sang frais ; gélose Sabouraud pour les champignons et les levures).

4. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

- Détacher l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile 0.9%, pour avoir une solution de 0.5 Mac Farland, correspondante à 10^6 UFC /ml.

- Bien homogénéiser la suspension (agitation manuelle).

- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

5. L'ensemencement

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne, l'essorer en le pressant fortement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. Cette opération a été répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

6. Imprégnation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre sont imbibés d'extraits de polyphénols pure à raison de 20 µl par disques. A l'aide d'une pince stérile déposer et presser légèrement les disques chargé sur la surface gélosée dans la boîte de pétri, une fois appliqué les disques ne doit pas être déplacé.

7. Incubation

Incubation des souches dans l'étuve est à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, à 25°C pendant 48 heures pour les levures et 25°C pendant 4 jours pour les champignons (Rahal, 2005).

Toute cette manipulation doit être réalisée près de bec bunsen pour éviter les contaminations.

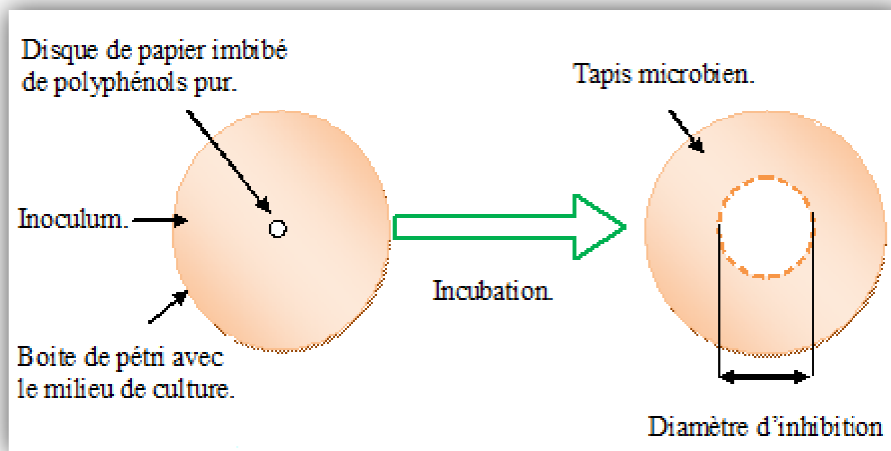
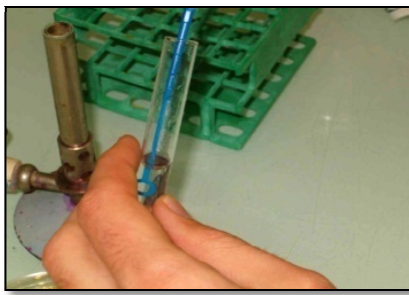


Figure13: Principe de la méthode de diffusion par disque.

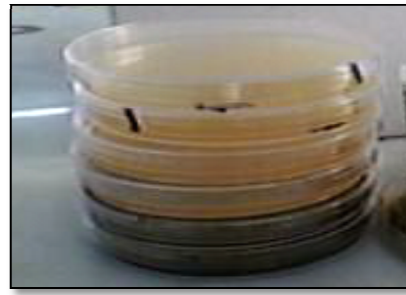
8. La lecture des résultats

Elle se fait par la mesure précise du diamètre de la zone d'inhibition (diamètre de disque inclus), à l'aide d'un pied à coulisse qui permet de classer l'activité antimicrobienne des polyphénols dans l'une des catégories ci-dessous (Ponce et *al.*, 2003).

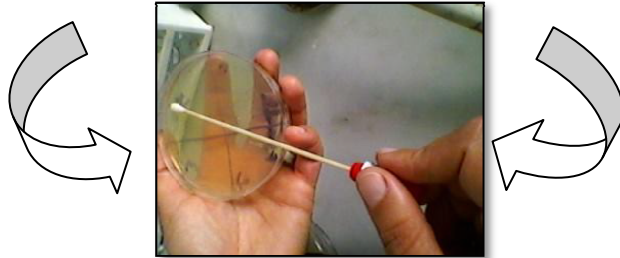
- Non sensible (résistante) —————→ d < 8mm.
- Sensible (+) —————→ d entre 9 et 14 mm.
- Très sensible (++) —————→ d entre 15 et 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) —————→ d >20 mm.



Préparation de l'inoculum.



Préparation des milieux de culture.



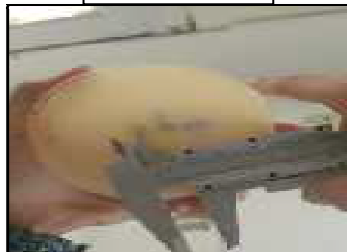
Ensemencement sur la gélose.



Placé les disques imprégnés par l'extrait à testée.



Incubation.



Lecture à l'aide d'un pied à coulisse.

Figure 14 : Protocol expérimental de l'activité antimicrobien (Benjeleli et *al.*, 1986).

1. Résultats

1.1. Teneur en eau

Les résultats obtenus de la teneur en eau sont présentés dans les figures 15, 16, 17 et 18.

Le taux d'humidité des feuilles d'oliviers cultivés est important (56%) avec un taux de matière sèche de 44%. Cela signifie que, plus de la moitié de ses feuilles est constituée par l'eau (Fig.15).

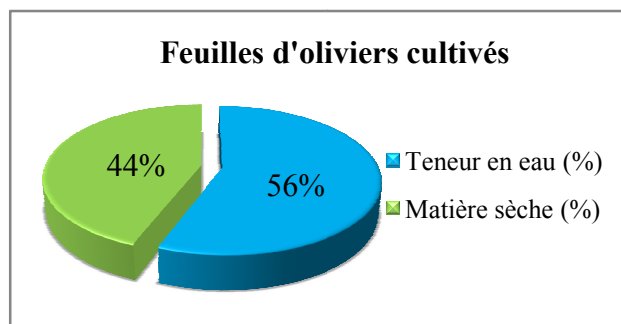


Figure 15: Teneur en eau et en matière sèche des feuilles d'*Olea europaea sativa*.

Les résultats des fruits d'oliviers cultivés ont révélé un taux d'humidité de 37% et de matière sèche de 63%. Cela signifie que l'eau représente plus que le quart de ses fruits (Fig.16).

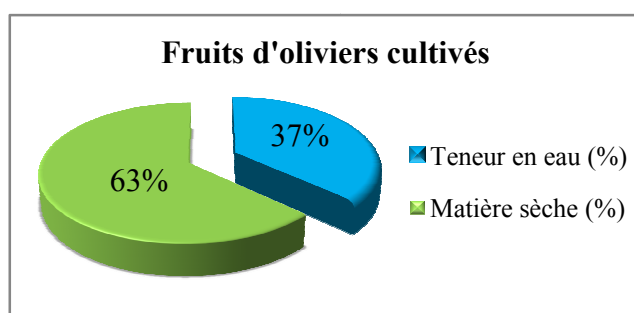


Figure 16: Teneur en eau et en matière sèche des fruits d'*Olea europaea sativa*.

Les résultats des feuilles d'oliviers sauvages ont révélé un taux d'humidité important de 53%, et de la matière sèche de 47%. Cela signifie que plus de la moitié de ses feuilles est constituée par l'eau (Fig.17)

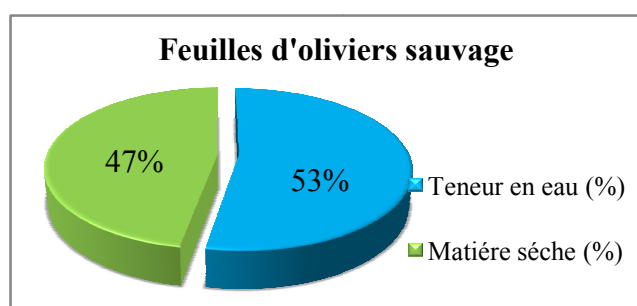


Figure 17: Teneur en eau et en matière sèche des feuilles d'*Olea europaea sylvestris*.

Les résultats des fruits d'oliviers sauvages ont révélé un taux d'humidité de 31%, et de 69% de matière sèche. Cela signifie que l'eau représente le quart de ses fruits (Fig.18).

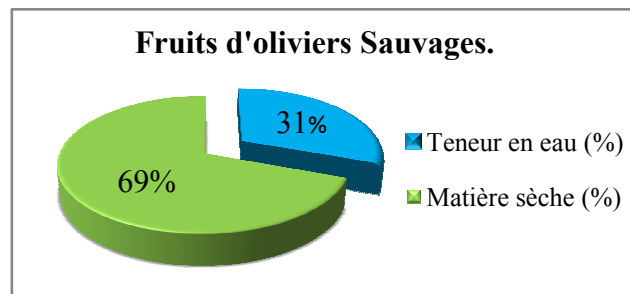


Figure 18: Teneur en eau et en matière sèche des fruits d'*Olea europaea sylvestris*.

1.2. Détermination du rendement des extraits en polyphénols

Le meilleur rendement est obtenu par l'échantillon de fruits d'olivier sauvage (33,33 %), suivi de celui des feuilles d'oliviers cultivés (27,50 %) et, celui des fruits cultivés qui représente (24,15 %). Le rendement le plus faible est obtenu par l'échantillon des feuilles d'olivier sauvage (16,33 %) (Fig. 19).

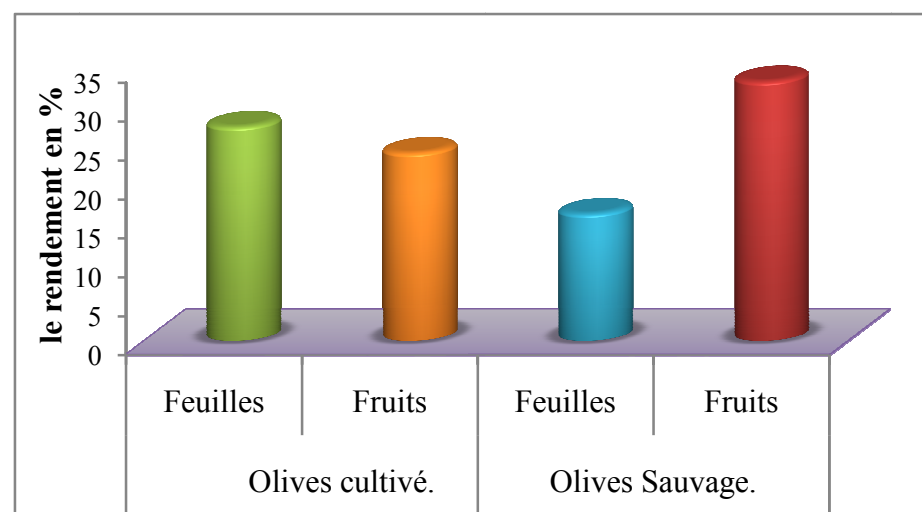


Figure 19: Présentation du rendement des polyphénols totaux chez les deux espèces d'oliviers.

1.3. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

En se basant sur les valeurs d'absorbance des divers extraits ayant réagi avec le réactif de Folin-Ciocalteu et, la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Fig.20), on a pu déterminer la teneur en polyphénols totaux des extraits ; Les résultats sont représentés dans la figure 21.

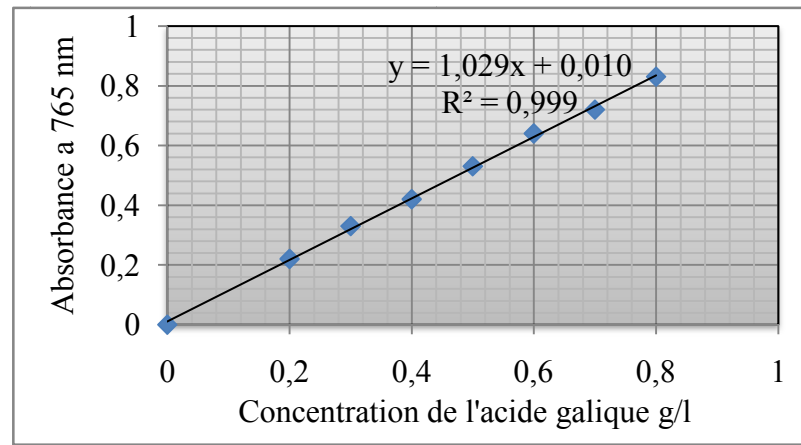


Figure 20 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les teneurs les plus élevées ont été enregistrées chez l'extrait de fruits sauvages avec (0,57 EAG/g), suivi par l'extrait des feuilles sauvage avec (0,47 EAG/g) et l'extrait de fruits cultivé avec (0,44 EAG/g). Cependant, l'extrait des feuilles cultivé a montré une teneur plus faible de (0,28 EAG/g) (Fig. 21).

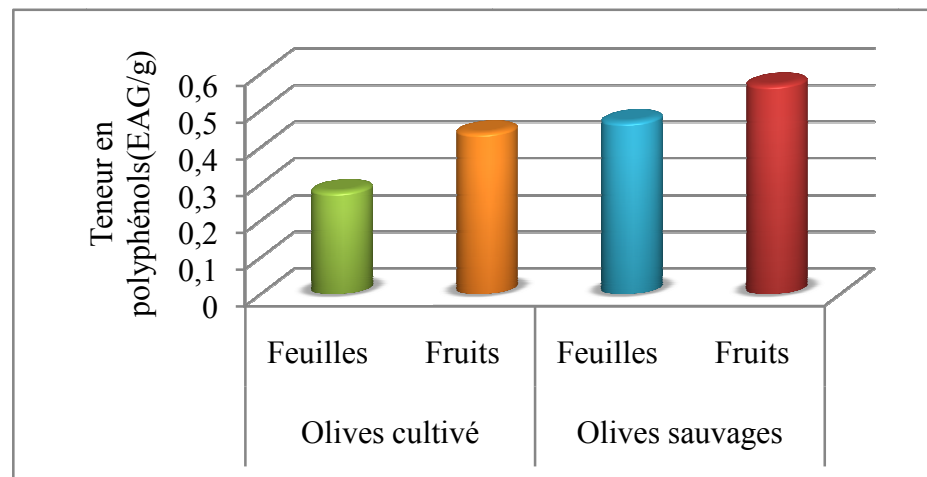


Figure 21 : Présentation de la variation des teneurs en polyphénols totaux chez les feuilles et fruits d'*Olea europaea* L.[EAG/g].

1.4. L'activité anti-oxydante par le Piégeage du radical libre DPPH

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH et en fonction des concentrations des extraits.

L'extrait de feuilles d'oliviers sauvages est une activité antioxydant la plus élevée (fig.24), par ce que leur activité est presque la même que de l'acide ascorbique, a la première concentration on a une inhibition de 71% ensuite cette dernière continue à augmenter et a la deuxième concentration on a une augmentation rapide et stabilisation a une inhibition complétée (100%).

L'extrait des fruits d'oliviers sauvages (Fig.25) a une inhibition de 53% a la première concentration ensuite l'inhibition continue à augmenter et a la concentration de 5mg/ml on remarque une augmentation rapide jusqu'à (97%). L'extrait de fruits d'oliviers cultivés (Fig.23) a une inhibition de 40% a la première concentration ensuite l'inhibition continue à augmenter et a la concentration de 5mg/ml on remarque une augmentation rapide jusqu'à (94%). Cependant, l'extrait des feuilles d'oliviers cultivés a montré une activité antioxydant plus faible (Fig.22), par ce qu'ils a une inhibition de 33% à la première concentration ensuite l'inhibition continue à augmenter et à la concentration de 5 mg/ml on remarque une augmentation rapide jusqu'à (92%).

Quand la concentration des polyphénols augmentent dans le milieu réactionnel, le pourcentage d'inhibition augmente proportionnellement jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'inhibition presque totale du DPPH présent dans ce milieu.

Les résultats de l'activité antioxydant ont montré que tous les extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. ont un pouvoir anti radicalaire vis à vis de DPPH avec un effet très proche de celui de l'acide ascorbique (vitamine C).

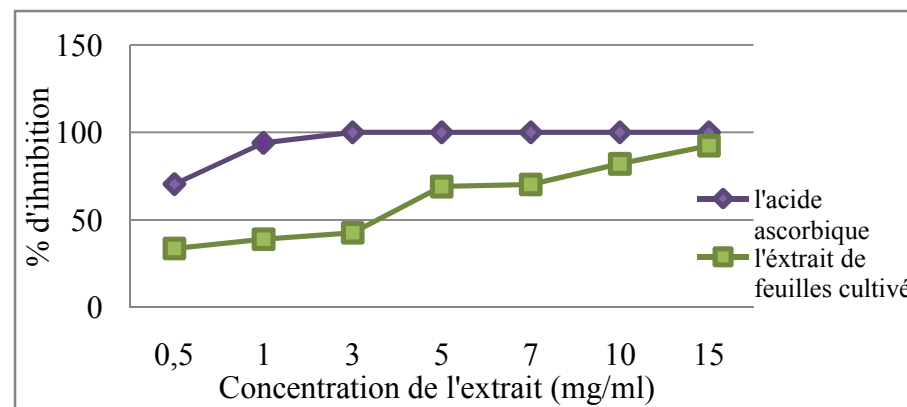


Figure 22: Pourcentage d'inhibition de l'extrait de feuilles d'oliviers cultivés et l'acide ascorbique.

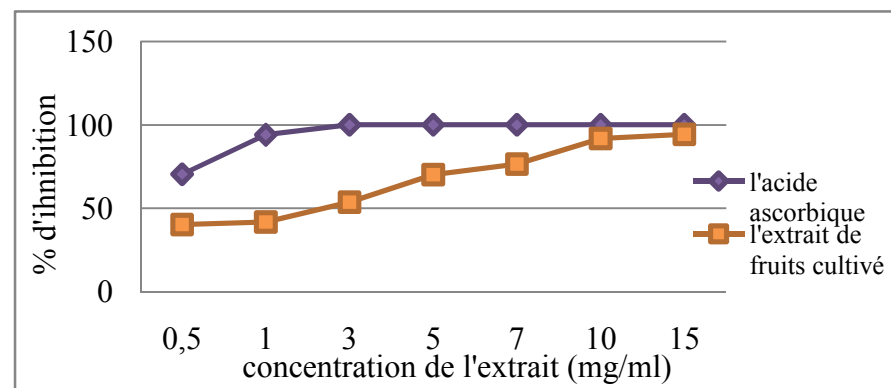


Figure 23: Pourcentage d'inhibition de l'extrait de fruits d'oliviers cultivés et l'acide ascorbique.

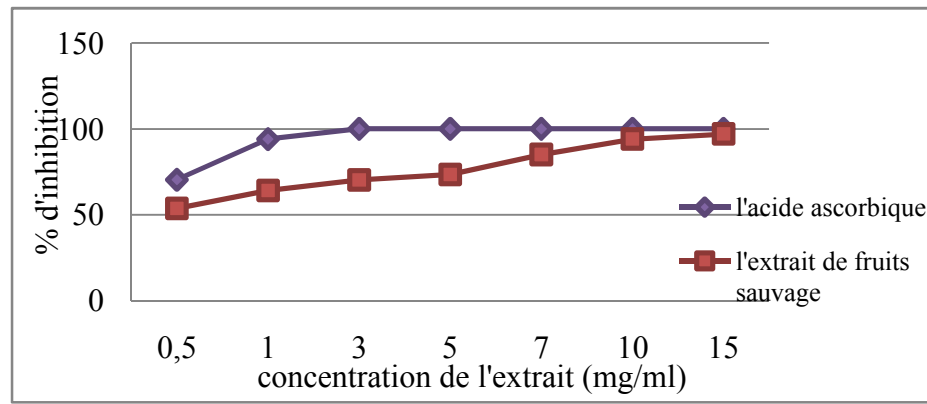


Figure 24 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait de feuilles d'oliviers sauvages et l'acide ascorbique.

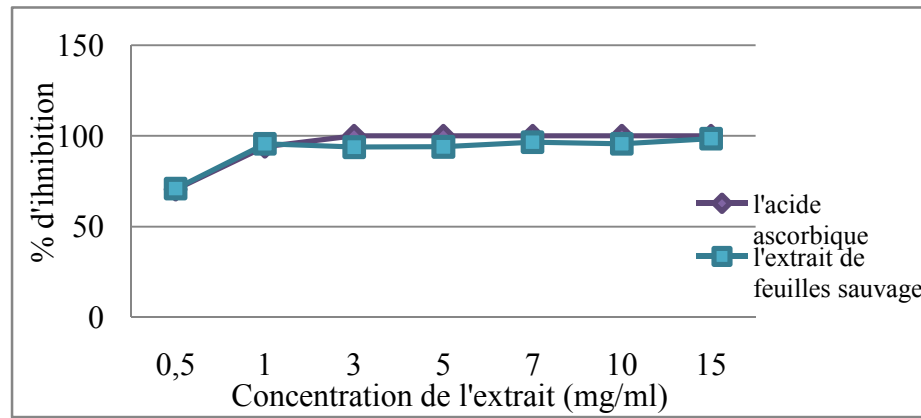


Figure 25 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait de fruits d'oliviers sauvages et l'acide ascorbique.

1.4.1. Détermination de CI50

Toutes les CI50 sont calculés à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition des extraits et de control positif (l'acide ascorbique) en fonction de la concentration des différents composés à tester.

1.5. Les résultats de l'activité antimicrobienne

Cette étude est basée sur la mesure de diamètre des zones d'inhibitions entourant les disques imprégnés par les extraits polyphénoliques.

Les extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. présente une activité inhibitrice vis-à-vis de la bactérie *Escherichia coli*, avec une inhibition extrêmement sensible (20 mm) par les extraits des fruits sauvages, et une inhibition très sensible par les extraits des feuilles et fruits cultivés et aussi des feuilles sauvage avec une zone d'inhibition de 18mm, 19mm, et 18 mm respectivement (Fig.26).

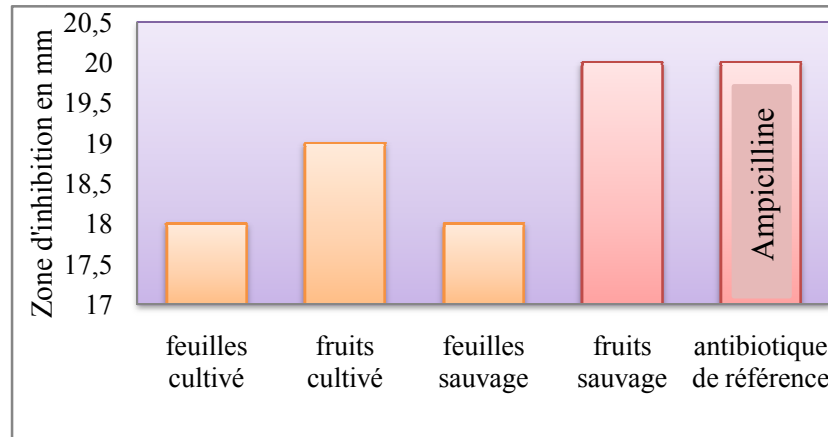


Figure 26 : Sensibilités observées chez *Escherichia coli* vis-à-vis les extraits polyphénoliques.

Les extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. présente une activité inhibitrice vis-à-vis de la bactérie *Salmonella typhi*; une inhibition très sensible pour les feuilles et fruits sauvages et aussi les feuilles cultivés avec une zone d'inhibition de 18mm, 17mm et 16 mm respectivement, et une inhibition sensible pour les fruits cultivé avec une zone d'inhibition de 14 mm (Fig.27).

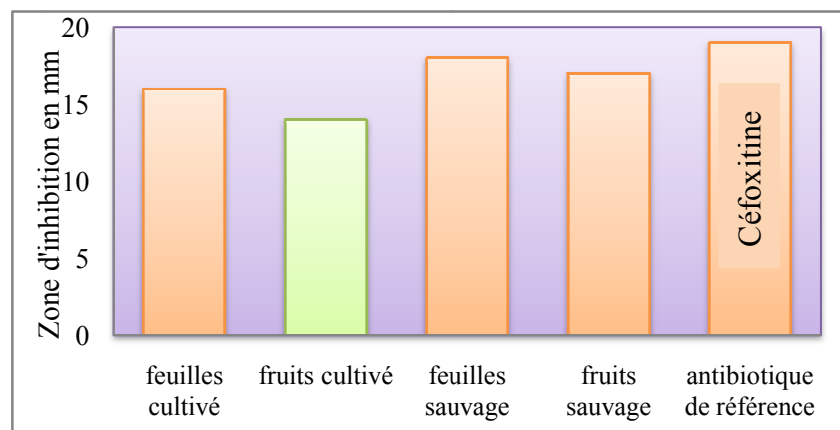


Figure 27: Sensibilités observées chez *Salmonella typhi* vis-à-vis des extraits polyphénoliques.

Les extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. présentent une activité inhibitrice vis-à-vis de la bactérie *Proteus sp*; une inhibition très sensible pour les feuilles sauvages avec une zone d'inhibition de 15mm, et une inhibition sensible pour les feuilles et fruits d'oliviers cultivés et aussi les fruits d'oliviers sauvages avec une zone d'inhibition de 9 mm, 11 mm, et 13 mm respectivement (Fig.28).

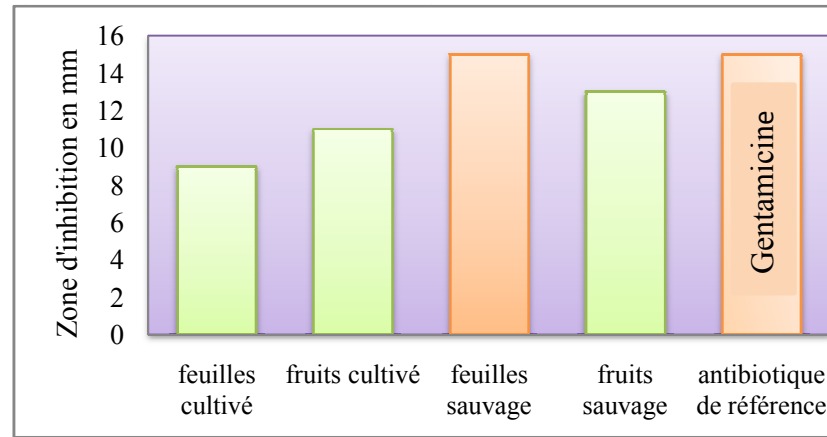


Figure 28: Sensibilités observées chez *Proteus sp* vis-à-vis les extraits polyphénoliques.

Les extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. présentent une activité inhibitrice vis-à-vis de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*; une inhibition très sensible pour les quatre extraits avec une zone d'inhibition de 16mm, 16 mm, 17mm, 19 mm respectivement (Fig.29).

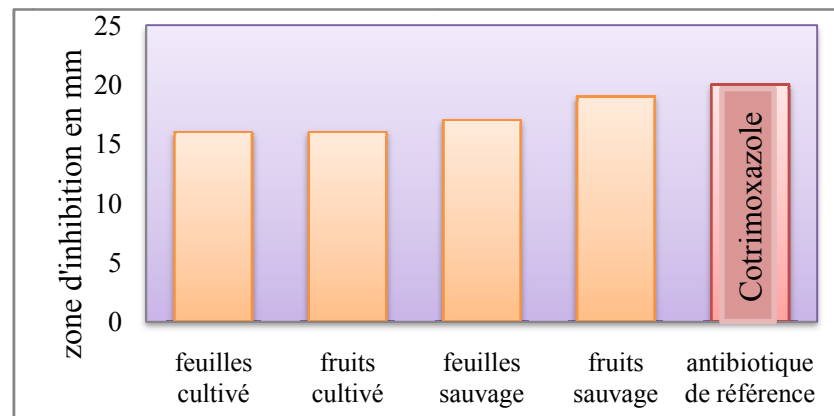


Figure 29: Sensibilités observées chez *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis les extraits polyphénoliques.

Les extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. présentent une activité inhibitrice vis-à-vis de la bactérie *Streptococcus pneumonia*; une inhibition extrêmement sensible pour les feuilles et les fruits d'oliviers sauvages avec une zone d'inhibition de 21mm, et une inhibition très sensible pour les feuilles et fruits d'oliviers cultivés avec une zone d'inhibition de 19 mm et 16 mm respectivement (Fig.30)

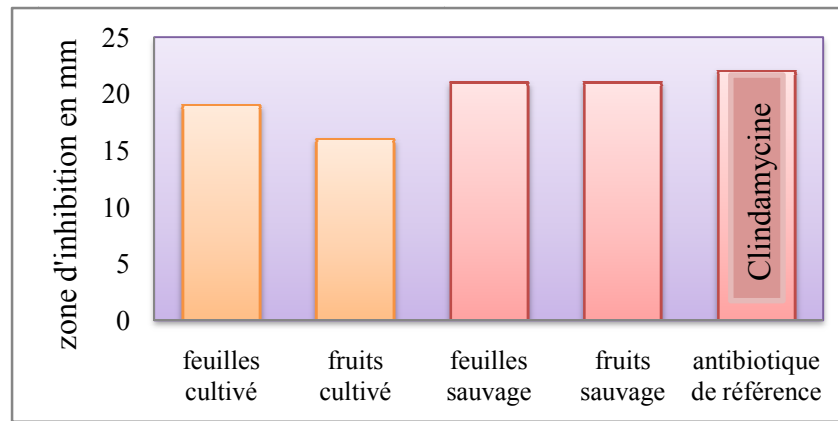


Figure 30: Sensibilités observées chez *Streptococcus pneumoniae* vis-à-vis les extraits polyphénoliques.

Les extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. présente une activité inhibitrice vis-à-vis le champignon *Aspergillus niger*; une inhibition extrêmement sensible pour les feuilles et fruits d'oliviers sauvages et aussi les feuilles cultivés avec une zone d'inhibition de 21mm, 22 mm, et 20 mm respectivement, et une inhibition sensible pour les fruits d'oliviers cultivé avec une zone d'inhibition de 14 mm (Fig. 31).

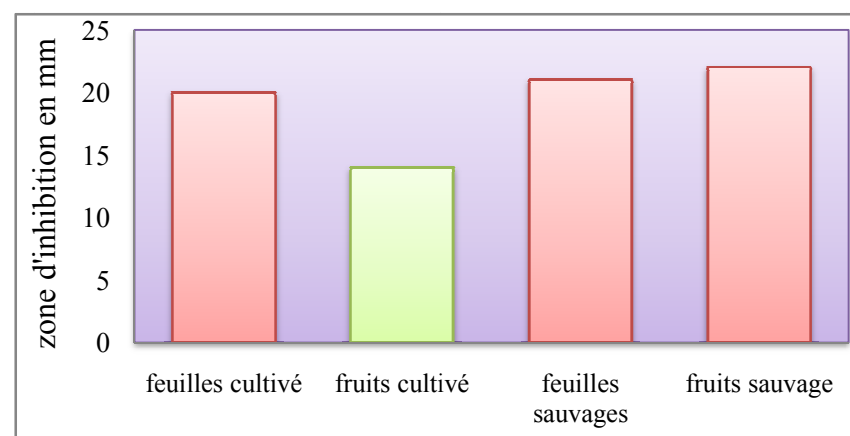


Figure 31: Sensibilités observées chez *Aspergillus niger* vis-à-vis les extraits polyphénoliques.

Les extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. présentent une activité inhibitrice vis-à-vis de la levure *Candida albicans*; une inhibition extrêmement sensible pour les feuilles et fruits d'oliviers sauvages avec une zone d'inhibition de 21 mm et 20 mm, et une inhibition sensible pour les feuilles et fruits d'oliviers cultivé avec une zone d'inhibition de 16 mm et 17 mm respectivement (Fig.32)

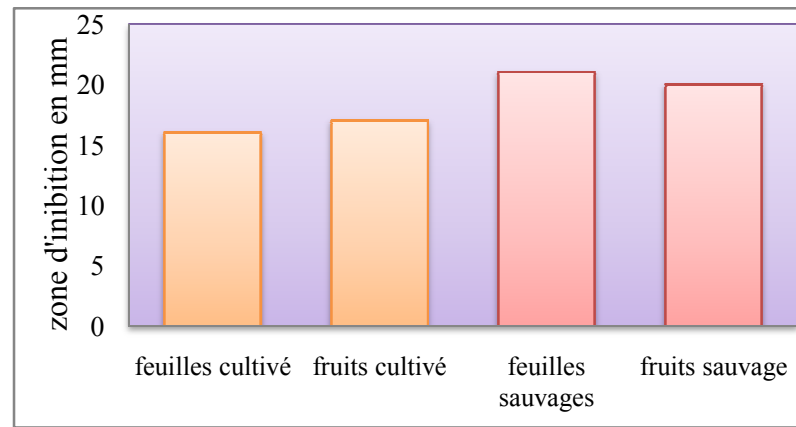


Figure 32: Sensibilités observées chez *Candida albicans* vis-à-vis les extraits polyphénoliques.

1.6 L'analyse statistique par le test GLM

Cette analyse permet de mettre en évidence l'effet de chaque facteur (arbre, organe) à part sur le rendement, la teneur en polyphénols, l'activité antioxydant, et le diamètre de zone d'inhibition.

A. Le rendement

L'analyse de la variance montre que, il n'ya pas de différence significative entre le rendement en polyphénols des feuilles et fruits d'olivier cultivé et sauvage ($p= 0,938$ arbre et $p=0,624$ organe) (Fig.33 ; tab.8, annexe 3).

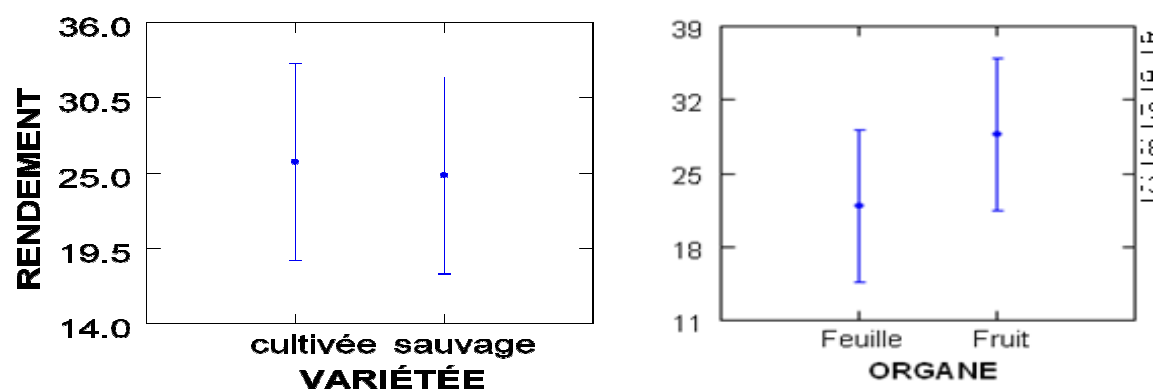


Figure 33 : Analyse de la variance par le test GLM sur le rendement des extraits de feuilles et fruits d'*Olea europaea* L.

B. La teneur en polyphénols totaux

L'analyse de la variance montre que, il n'ya pas de différence significative entre les teneurs en polyphénols des feuilles et fruits d'oliviers cultivés et sauvages ($p= 0,687$ arbre et $p=0,289$ organe) (Fig.34 ; tab 9, annexe 3).

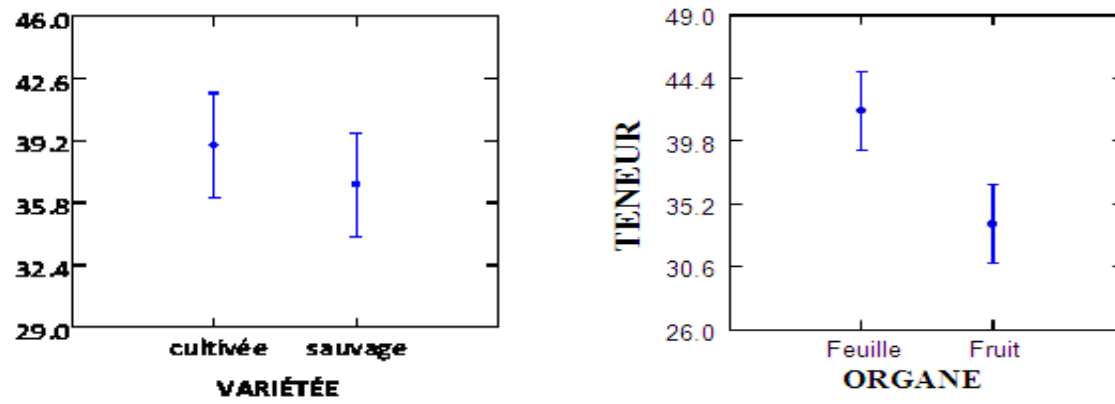


Figure 34 : Analyse de la variance par le test GLM sur les teneurs en polyphénols totaux des extraits de feuilles et fruits d'*Olea europaea* L.

C. L'activité antioxydant

L'analyse de la variance montre que, entre l'activité antioxydant des extraits polyphénoliques issus des organes feuilles et fruits des arbres cultivés et sauvages, aucune différence significative ($p= 0,154$ arbre et $p=0,326$ organe) (Fig.35 ; tab 10, annexe 3).

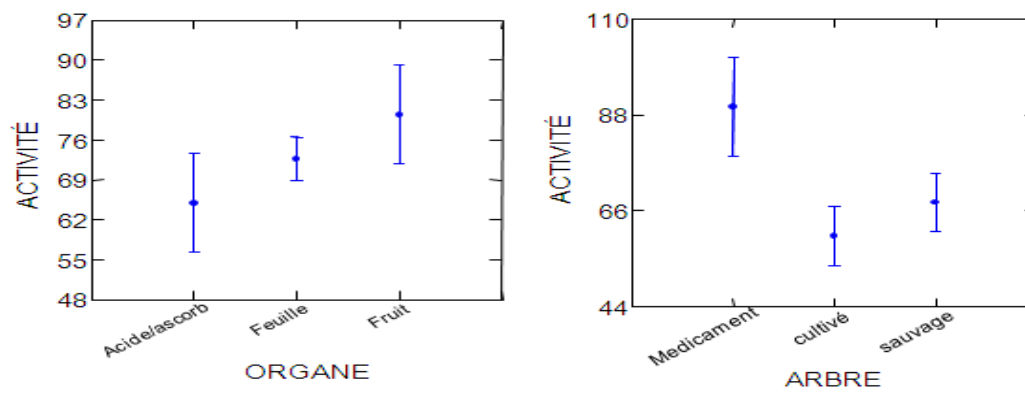


Figure 35 : Analyse de la variance par le test GLM sur l'activité antioxydant des extraits de feuilles et fruits d'*Olea europaea* L.

D. L'activité antimicrobienne

L'analyse de la variance montre que, le facteur arbre cultivé ou sauvage et le facteur type de microorganismes ont un effet hautement significatif sur la variation de l'activité antimicrobienne ($p= 0,000$, $p>5\%$), par contre le facteur organe (feuilles et fruits) n'a aucun effet significatif ($p=0,425$; $p>5\%$) (Fig.37 ; tab 11, annexe 3).

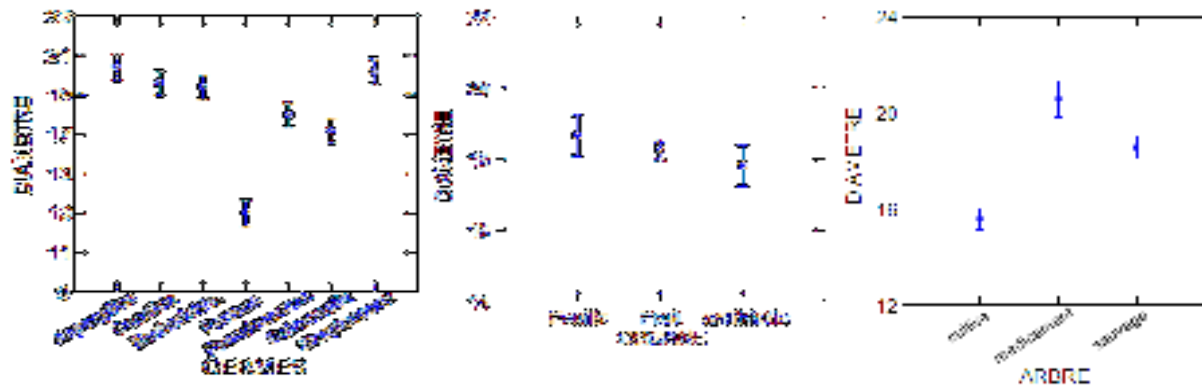


Figure 37 : Analyse de la variance par le test GLM sur l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles et fruits d'*Olea europaea* L.

2. Discussion

Les feuilles d'*Olea europaea* L. ont montré une teneur en eau (cultivé 56%, sauvage 53%), qui représente plus de la moitié de leur poids, elle est supérieure à celle des fruits (37% chez l'olivier cultivé et 31% chez l'olivier sauvage).

Ces résultats pouvant être comparé avec des données dans le même contexte. Le taux d'humidité des olives de la Grèce présentent un taux d'humidité de 48% (Boskou et *al.*, 2006), supérieur à celui de nos fruits cultivé. Les olives de table du Portugal «Var. Alcaparras» sont caractérisées par une teneur très élevée en eau entre 70-72% (Sousa et *al.*, 2011 ; Malheiro et *al.*, 2012), cette teneur représente presque le double de la teneur que nous avons obtenu (37%).

Donc, d'après cette comparaison, nos résultats sont meilleurs, et nos olives d'*Olea europaea* L. cultivés sont de meilleures qualités que ceux de la Grèce et le Portugal. Car, le taux d'humidité élevé constitue un problème majeur au sein du secteur oléicole lors de l'extraction d'huile, les eaux résiduelles de végétation de l'olive (marges ou déchets liquide de l'huilerie d'olive) sont considérés comme polluants pour l'environnement et leur évacuation est coûteuse (Nefzaoui, 1991 ; Sayadi, et *al.*, 2008).

Selon Paris et Moyse (1971), l'environnement, la localisation géographique, le stade de maturité et la période de récolte sont des paramètres qui influent sur la teneur en eau des différentes parties de la plante. En effet, la teneur en eau de nos fruits d'oliviers cultivés récoltés au mois de Décembre est faible (37%), et celle des feuilles cultivés est forte (56%) par rapport à celles rapporté par ce même auteur (40 à 45% et 40 à 51% respectivement).

Cette déférence aux résultats sont due au patrimoine génétique et le site géographique (Cimato, 1990 ; Ben Temmine et *al.*, 2006). Chaque individu, dans son milieu, exprime différemment ses potentialités génétiques ce qui se traduit par une importante variabilité intra-variétale (Hannachi et *al.*, 2008).

A la lumière des résultats de rendement en polyphénols il ressort que les deux sous espèce Algériens d'*Olea europaea* L. ont un bon rendement, surtout les fruits sauvages (33.33%), donc en remarque que les fruits sauvages ont un rendement élevé par rapport aux fruits cultivés (24.15%), et les feuilles cultivés (27.50%) ont un rendement meilleur par rapport aux feuilles sauvages (16.33%).

Les résultats du rendement sont meilleur par rapport aux ceux qui sont obtenus par Boudhioua et *al.*, (2008) qui ont étudié l'effet de la variété d'oliviers sur les polyphénols, et qui se situe à 24% et 19% pour les feuilles et fruits cultivés respectivement.

La présence des polyphénols a été mise en évidence dans les feuilles et fruits de l'olivier par plusieurs auteurs (Dekanski et *al.*, 2009 ; Nahal et *al.*, 2012 ; Bsançon et *al.*, 2000 ; Brahmi et *al.*, 2013). Ce qui concorde avec nos résultats où, nous avons pu prouver la présence des polyphénols dans les fruits et feuilles de deux sous espèce d'*Olea europaea* L.

La différence des résultats marqués en rendement, est due au facteur région, période d'échantillonnage, la partie de la plante utilisée. D'autres facteurs sont signalés par Fabbri et *al.*, (2008) tel que la nature de sol, le climat et la période de l'année qui peuvent caractériser la composition chimique d'une plante. Elle peut être liée aussi aux conditions opératoires incluant la méthode d'extraction et les caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés, notamment leur polarité (Schultz et Ambroscheit, 1989), la température d'extraction, l'agitation et la structure de la matière solide (Dibert, 1989; Leybros et Frémeaux 1990).

D'après les résultats des teneurs en polyphénols totaux, il ressort que les deux sous espèce Algériens d'*Olea europaea* L. sont riches en polyphénols. En effet, ils possèdent des teneurs de l'ordre de 0.57 EAG/g, 0.47 EAG /g, 0.44 EAG/g et 0.28 EAG/g pour les fruits et feuilles d'oliviers sauvages, les fruits et feuilles d'oliviers cultivés respectivement. Donc parmi les quatre extraits, celui de fruits sauvages contient une grande teneur en polyphénols.

Plusieurs études se sont intéressées à la quantification des polyphénols dans les extraits d'olive du nord -ouest (Var. Sigoise) dont le contenu varie entre 0.30 EAG/g et 0.40 EAG/g (Benlarbi, 2004). Une étude similaire réalisée par (Bisset, 2011) a montré que trois variétés d'olive de l'Est Algérien (Batna) possèdent un contenu en polyphénols de 0.41 EAG/g; 0.39 EAG/g et 0.40 EAG /g des variétés Chemlal, Farhi, et Beskri respectivement. Par ailleurs, les variétés d'olive de Grèce et du Portugal sont

caractérisées par des teneurs en polyphénols variant dans un intervalle de 0.20-0.35 EAG/g (Boskou et *al.*, 2006). Mais nos résultats restent meilleures par rapport à ceux issus de tous ces travaux, alors que notre récolte des échantillons des feuilles et fruits d'oliviers (*Olea europaea* L.) a été faite au mois de Décembre. Ce qui confirme que le maximum des polyphénols totaux a été obtenu dans la phase terminale de la croissance de l'olivier c'est-à-dire ce mois-ci, montrant ainsi la richesse de notre variété en polyphénols totaux.

Le profil polyphénolique des oliviers peut varier sous l'influence des divers facteurs parmi lesquels la variété, le climat, le degré de maturation (l'olive vert possède plus de polyphénols que l'olive noire) (Ryan et *al.*, 1999 ; Benlarbi, 2004), la zone géographique oléicole (Baccouri et *al.*, 2007 ; Rotondi et *al.*, 2004), la température et le solvant d'extraction (la température abaissée et le solvant constitué de méthanol pure permet d'obtenir un grand teneur en polyphénols) (Sousa et *al.*, 2008 ; Conde, et *al.*, 2009).

Au regard de ces données, les extraits d'oliviers cultivé et sauvage peuvent être considérées comme très riches en polyphénols et constituant une source prometteuse en composés bioactives bénéfiques à la santé humaine.

Une CI_{50} faible représente l'activité anti-radicalaire la plus élevée (Molyneux, 2004). D'après les résultats de la technique du piégeage du radical libre DPPH, l'*Olea europaea* L. a montré une bonne activité avec les quatre extraits, en particulier, l'extrait polyphénolique des feuilles d'oliviers sauvages qui a présenté une CI_{50} inférieure à 0.5 mg/ml suivi par l'extrait de fruits sauvages avec une CI_{50} de 0.49 mg/ml. Cette différence pourrait être attribuée aux concentrations des composés extraits par les solvants (Lafka et *al.*, 2013) ou à la présence des groupements hydroxyle dans leur structure comme l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et l'acide lutéoline-7-O-glucoside (Hayes et *al.*, 2011). Bensallah et *al.*, (2012) ont étudié l'activité antioxydante des feuilles d'une variété de l'olivier cultivés de la région Chemlali en Tunisie, ils ont obtenu une CI_{50} de 3.8 mg/ml en utilisant l'eau/éthanol (30/70) (v/v) comme solvant d'extraction. En comparaison avec celles que nous avons obtenues, ce résultat reste plus faible, en raison du solvant utilisé, le méthanol au lieu de l'éthanol, et le facteur région.

Pour les résultats obtenus des extraits des fruits et feuilles d'oliviers sauvages, sont largement meilleure par rapport à ceux des feuilles et fruits d'oliviers cultivés. Ceci montre que l'olivier sauvage pourrait être une nouvelle source d'antioxydants naturels. Selon Hayes et *al.*, (2011), l'activité antioxydante dépend généralement du nombre et la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels, qui sont des facteurs déterminants de leur piégeage des radicaux libres.

Toutes les souches testées bactériennes et fongiques sont apparues sensibles, très sensibles ou extrêmement sensible au contact des déférents extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. (Feuilles et fruits).

L'extrait de fruits d'oliviers sauvages à concentration de 10^5 µg/ml est montré le même effet antibactérien que l'antibiotique de référence (Ampicilline) a concentration de 8 µg/ml vis-à-vis *E. coli* avec une zone d'inhibition de 20 mm.

L'extrait de feuilles d'oliviers sauvages [5.10^5 µg/ml] est montré un bonne effet antibactérien vis-à-vis *Salmonella typhi* par rapport aux autres extraits polyphénoliques testé sur la même souche dans les mêmes conditions avec une zone d'inhibition de 18 mm, cet effet est proche de celle de l'antibiotique Céfoxitine (19 mm), qui est utilisé à une concentration de 8 µg/ml.

L'extrait de feuilles d'oliviers sauvages [5.10^5 µg/ml] a montré le même effet antibactérien que l'antibiotique Gentamicine [1 µg/ml] vis-à-vis de *Proteus sp* avec une zone d'inhibition de 15 mm, mais les autres extraits ont un effet moindre.

L'extrait de fruits d'oliviers sauvages [10^5 µg/ml] a montré un bon effet antibactérien vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* par rapport aux autres extraits polyphénoliques testé sur la même souche et dans les mêmes conditions avec une zone d'inhibition de 19 mm, cet effet est proche de celle de l'antibiotique Fosfomycine (20 mm), qui est utilisé à une concentration de 8 µg/ml.

Les extraits de feuilles et fruits d'oliviers sauvages [5.10^5 µg/ml] [10^5 µg/ml] respectivement ont montré le même effet antibactérien que l'antibiotique Céfoxitine [3 µg/ml] vis-à-vis *Streptococcus pneumonia* avec une zone d'inhibition de 21 mm, mais les autres extraits ont un effet moindre.

L'extrait de fruits d'oliviers sauvages [10^5 µg/ml] est montré une forte activité antifongique vis-à-vis *Aspergillus niger* avec une zone d'inhibition de 22 mm, les extraits des feuilles sauvages et cultivés aussi ont une bonne activité antifongique avec une zone d'inhibition de 21 mm et 20 mm respectivement.

Candida albicans est extrêmement sensibles vis-à-vis les feuilles et fruits d'oliviers sauvages avec une zone d'inhibition de 21 mm et 20 mm respectivement.

Donc les extraits des feuilles et fruits d'oliviers sauvages ont l'activité antimicrobienne la plus forte, et ce sont des traitement phyto-thérapeutique très prometteux ; ces résultats sont en conformité avec ceux d'Ollivier et *al.*, (2004). Chebaibi et *al.*, (2007), signale que les feuilles d'*Olea europea* L. possèdent des composés ayant des propriétés antimicrobiennes importantes, sur plusieurs espèces dont *Staphylococcus*

aureus et *Pseudomonas aeruginosa*. Selon Brahma et al., (2013), l'hydrolyse d'oleuropeine donne une aglycone connu comme agent antimicrobien.

Les études du pouvoir inhibiteur des polyphénols sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés phénolique d'*Olea europea* L.(l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine, le tyrosol) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (Ulanowska et al., 2007). L'extrait aqueux des feuilles d'*Olea europaea* L. a montré également son efficacité sur *Staphylococcus aureus* et sur d'autres souches bactérienne (Nahal et al., 2012 ; et Djennane et al., 2012).

D'après Wagner et Bladt (1996), Shon et al.,(2004), l'activité d'une substance végétale dépend aussi de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction, la concentration en principe actifs et le choix du solvant selon sa polarité, qui donnent des extraits différents (Klervi, 2005).

Les analyse statistique montrent que les médicaments sont les meilleure parce qu'elles donnent des grands diamètres de zone d'inhibition à des concentrations moindres, suivis parles extraits d'olivier sauvages, ensuit l'olivier cultivé, selon nos résultats.

Selon l'analyse statistique, la croissance d'*Aspergillus niger*, de *Candida albicans*, d'*Escherichia. Coli* et de *Streptococcus pneumonia* forment des grandes zones d'inhibitions. Par contre *Proteus sp.*forme une petite zone d'inhibition, par ce que cette bactérie est résistante au plusieurs antibiotique (Euzéby, 2000).

L'étude que nous avons menée rentre dans le but de mettre en évidence les vertus des plantes médicinales les très répondues en Algérie et de donner plus d'importance à la phytothérapie, notamment les extraits aqueux des feuilles et fruits d'*Olea europea* L.

Nous nous sommes intéressés dans notre travail à étudier la richesse des feuilles et fruits d'oliviers cultivés et sauvages en polyphénols totaux, et leurs l'activité antioxydant et antimicrobienne.

A partir des résultats obtenus, nous concluons que les deux sous espèce Algériens d'*Olea europaea* L. ont un bon rendement, surtout les fruits sauvages (33.33%), et que les fruits sauvages ont un rendement élevé par rapport aux fruits cultivés (24.15%), et les feuilles cultivés (27.50%) ont un rendement meilleur par rapport aux feuilles sauvages (16.33%).

Concernant les résultats des teneurs en polyphénols totaux, il ressort que les deux sous espèce Algériens d'*Olea europaea* L. sont riches en polyphénols. En effet, ils possèdent des teneurs de l'ordre de 0.57 EAG/g, 0.47 EAG /g ,0.44 EAG/g et 0.28 EAG/g pour les fruits et feuilles d'oliviers sauvages, les fruits et feuilles d'oliviers cultivés respectivement. Donc parmi les quatre extraits, celui de fruits sauvages contient une grande teneur en polyphénols.

Pour les activités biologiques, d'après les résultats de la technique du piégeage du radical libre DPPH, l'*Olea europaea* L. a montré une bonne activité antioxydant avec les quatre extraits, en particulier, l'extrait polyphénolique des feuilles d'oliviers sauvages qui a présenté une CI_{50} inférieure à 0.5mg/ml. Et ces résultats montrent aussi que les quatre extraits ont un pouvoir anti radicalaire vis à vis de DPPH avec un effet très proche de celui de l'acide ascorbique (vitamine C).

Par ailleurs pour l'activité antimicrobienne, toutes les souches testées bactériennes et fongiques sont apparues sensibles, très sensibles ou extrêmement sensible au contact des différents extraits polyphénoliques d'*Olea europaea* L. (Feuilles et fruits).

Comme perspectives, et en vue de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait nécessaire également de faire d'autres analyses telles que l'HPLC pour déterminer les composés majoritaires de nos extraits ; Envisager d'autres souches pour confirmer l'activité antimicrobienne de nos extraits ; Evaluer d'autres activités comme antidiabétiques, anti-inflammatoire...etc. Aussi des études *in vivo* seront souhaitables pour déterminer les

tissus et organes cibles, et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire ; Et à la fin de faire une évaluation toxicologique, et développement d'un médicament à base des extraits issus des feuilles et fruits d'olivier sauvage et cultivé.

Glossaire

Anthocyane : Composé hétérocyclique oxygéné lié à deux noyaux benzéniques.

Antibiotique : Une molécule qui bloque ou détruit une bactérie est dite antibiotique.

Diurétique : Substance qui augmente la production d'urine.

Antiseptique : Agent d'un médicament propre à prévenir les infections.

Souche : Ensemble d'individus issus de repiquage successif d'une colonie microbienne.

Tonique : Qui stimule l'activité de l'organisme. Relatif au tonus musculaire. Qui donne de la force, de l'énergie, qui stimule le corps ou l'esprit.

Anti-inflammatoire : Réaction pour maintenir l'intégrité de l'organisme contre les attaques Extérieures.

IC 50: La concentration minimale de l'extrait (antioxydant) qui inhibe 50% du radical libre.

-A-

- 1- Aerts, R.2006. Effects of pioneer shrubs on the recruitment of the fleshy-fruited tree *Olea europaea ssp. Cuspidate* in Afromontane savanna. *Applied Vegetation Science* 9, 2006;117-126.
- 2- Ahamet S., 2003. Etudes phytochimiques et des activités biologiques de (*Balanites aegyptica*) (Balanitaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 117 p.
- 3- Altiook, E., Baycin, D., Bayraktar, O., Ulku, S., 2008. Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea L.*) by adsorption on silk fibroin. *Sep. Purif. Technol.*, 62(2), 342-348.
- 4- Aouissa I .W. R., 2002. Etude des activités biologiques et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de (*mangifera indica L.*) (anacardiaceae). Thèse de doctorat .Université de Bamako.127 p.
- 5- Aranda, S., Montes-Borrego, M., Jiménez-Díaz, R.M., Landa, B.B. Microbial communities associated with the root system of wild olives (*Olea europaea L.subsp europaea var. sylvestris*) are good reservoirs of bacteria with antagonistic potential against *Verticillium dahliae*. *Plant Soil* 343, 2011; 329–345.
- 6- Argenson C., 1999. - L'olivier. -Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL), p : 204.
- 7- Aron P. M., 2007. Composition of Flavonoid Phenolic Polymers Isolated from red wine during maceration and significance of flavan-3-ols in foods pertaining to biological activity. Thèse master.Oregon State University, 194p.
- 8- Aubry T., Walter B., Almeida M. et Neves M.-J. 2003 - Solutrean Laurel Leafs Points Production and Raw Material Procurement during the Last Glacial Maximum in Southern Europe: Two examples from Central France and Portugal. In: From "Coups de Poing" to Clovis: Multiple Approaches to Bifaces Variability. Annual Congress 2000, Philadelphia. M. Soressi and H. Dibble EDS. pp. 165-182.

-B-

- 9- Baccouri B., Zarrouk W., Krichene D., Nouairi I., Ben Youssef N., Daoud D., Zarrouk M, 2007.Influence of fruit ripening and Crop yield on chemical properties of virgin olive oils from seven selected Oleasters (*Olea europaea L.*). *J. Agro.* 6 (3); 388-396.

- 10-** Bahorun, T. 1997. Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne.une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritiias*,p83-94.
- 11-** Bate-Smith EC 1973. Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency. *Phytochemistry* 12:907-912
- 12-** Battandier & Trabut, 1888. Flore d'Algérie. (2^{ème} ed.).A. Jordan, Alger.
- 13-** Ben Ahmed C., Ben Rouina B., Boukhris M.2007. Effects of water deficit on olive trees cv.*Chemlali* under field conditions in arid region in Tunisia.*Sci.Hortic.*, 113:267-277.
- 14-** Ben Akacha, N., Gargouri, M., 2009. Enzymatic synthesis of green notes with hydroperoxide-lyase from olive leaves and alcohol-dehydrogenase from yeast in liquid /gas reactor. *Process Biochemistry*, 44 (10), 1122-1127.
- 15-** Ben Salah Myriam, Abdelmelek Hafedh and Abderraba Manef. 2012. Study of Phenolic Composition and Biological Activities Assessment of Olive Leaves from different Varieties Grown in Tunisia. *Medicinal chemistry*; 2-5.
- 16-** Ben Temime, S., Campeol, E., Cioni, P. L., Daoud, D., Zarrouk, M. 2006. Volatile compounds from Chetoui olive oil and variations induced by growing area. *Food Chemistry*, 99 : 315–325.
- 17-** Benjilali B., Tantaoui-Elaraki A., Ismaïl-Alaoui M. et Ayadi A., 1986 : Méthode d'étude des propriétés antiseptique des huiles essentielles par contact direct en milieux gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*. 20, 155-167. Thèse de Magister en pharmacie. Univ de Constantine.
- 18-** Benlarbi, F. 2004.Caractérisation des lipides et des phénols de quelques groupes d'oliviers d'Algérie.Mémoire de magister.Laboratoire des sciences fondamentales. Université de Laghouat, p 70-86-88.
- 19-** Bergogne-Berezin E and Dellamonica P., 1995. Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris, p. 486.
- 20-** Bernie G, Forrester S, Grey D., 2006. Botanica. Encyclopedie de botanique et d'horticulture plus de 1000 plants de monde entière .édition place victores 1020 P.

- 21-** Besançon P, Debosque S, Delpeuch F , Descomps B, Gerber M , Leger C L , Padilla M et Puygrenier M. 2000. Alimentation méditerranéenne et santé:actualités et perspectives, Edition John Libby Eurotext. Paris. P 177.
- 22-** 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 Série III*, 323: 173-81.
- 23-** Besnard G., Breton C. & Baradat P., 2001. -Cultivar identification in the olive (*Olea europaea* L.) based on RAPDS. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126: 668-75.
- 24-** Besnard G. & Berville A., 2005. -Les Origines de l'Olivier (*Olea europaea* L.) et des oléastres. Ed. AITAE, AEP.
- 25-** Beta T., Nam S., Dexter J-E. et Sapirstein H-D., 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82(4): 90-393.
- 26-** Bénard, C. 2009. Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat : Université de Nancy.
- 27-** Bianchi,G. 1999.Extraction systems and olive oil. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides OCL*, 6 (1) :49-45.
- 28-** Bisset, S. 2011. Activités antioxydante et inhibitrice vis-à-vis de l'élastase d'extrait des polyphénols d'olive (*Olea europaea* L.).Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas Sétif.
- 29-** Blekas G., Psomiadou E., Tsimidou M. et Boskou D. 2002. On the importance of total polar phenols to monitor the stability of Greek virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(6): 340-346.
- 30-** Boskou,D., Blekas, G.,Tsimidou, M. 2006.Olive oil composition.Dans D.Boskou (Ed.),Olive oil, chemistry and technology (2nd edition). *Champaign Illinois: American oil chemists society*, pp : 41-72.
- 31-** Botsoglou E, Govaris A, Christaki E, Botsoglou N. 2010. Effect of dietary olive leaves and/or "a-tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry*; 121(1):17-22.

- 32-** Bouaziz, M., Sayadi, S., 2003. Hight yield extraction of oleuropein from chemlali olives and leaves and bioconversion to hydroxytyrosol. *Polyphénols actualités*, 23, 11-15.
- 33-** Bouchefra A. et Idoui T., 2012. -Effet nutritionnel de l'huile d'olive vierge «variété Sigoise» sur les performances de croissance, les lipides plasmatiques et la flore endogène du rat Wistar. *Les technologies de laboratoire*, 7(26) :20-26.
- 34-** Bouchet P., Guignard J-L., Pouchus Y-F., Villard J., 2005 : Les champignons « Mycologie fondamentale et appliqué », 2ème édition, Ed : Masson, Paris, pp 63-110.
- 35-** Boudhioua N., Ben Slimen I., Bahloul N. et Kechaou N. 2008. Etude du séchage par infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne. *Revue des Energies Renouvelables SMSTS'Alger* :111-116.
- 36-** Boudribila M., 2004. Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et organisation sociale. *AWAL*. 29: 17-31.
- 37-** Boumaza A., 2009. Effet de l'extrait méthanolique de (*zygophyllum cornutum*) contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Thèse magister en biologie cellulaire et moléculaire. Université de Constantine. 125 P.
- 38-** Bouterfas K., Mehdadi Z., Latrech A., Hazen Z., ET Bouredja N., 2013. Quantification de quelque polyphénols de (*Marrubium vulgare* L). du mont de Tessala (Algérie occidental) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire vol.8, N°31 PP 34-41*.
- 39-** Brahmi F., Mechri B., Phibi M., Hammani M. 2013. Variation in phenolic compounds an antiradical xavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. *Industrial Crops and Products* 49: PP.256 -264
- 40-** Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 56 (11): 317-333.
- 41-** Breton C., Besnard G. & Bervillé A., 2006. - Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. In: *Documenting Domestication: new genetic and archaeological paradigms*. Berkeley: University of California Press (Zeder MA., Decker- W. D., Bradley D. & Smith B., eds). p:47.

- 42- Breton Catherine, Pinatel Christian, Médail Frédéric, Bonhomme François, Berville André., 2008. Comparison between classical and Bayesian methods to investigate the history of olive cultivars using SSR-polymorphisms; 524-200.
- 43- Briante R., Patumi M., Limongelli S., Febbraio F., Vaccaro C., Di Salle A., La Cara F. and Nucci R. 2002. Changes in phenolic and enzymatic activities content during fruit ripening in two Italian cultivars of *Olea europaea* L. *Plant Science* 162: 791–798.
- 44- Brothwel L, Don H and Patricia T., 1969. “Food and antiquity” 153-157, Edition Frederick A, Praeger.
- 45- Bruneton J, 1993. Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier. 278 - 279p.
- 46- Bruneton J, 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. (3e édition). France : Technique et Documentation – Lavoisier.

-C-

- 47- Calvin A., 2001. Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydants et antiradicalaires. (*Tinospora crispa*), (*Merremia emarginata*) et (*Orophea enne-andra*). Thèse de doctorat. Université de Lausanne, 243p.
- 48- Carrion, Y., Ntinou, M., Badal, E. 2010. (*Olea europaea* L). in the North Mediterranean Basin during the Pleniglacial and the Early–Middle Holocene. *Quaternary Science Reviews* 29: 952–968.
- 49- Chacou M. et Bassou K., 2007 : Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenus par extraction de la menthe verte : (*Mentha spicata* L.) de la région de Ouargla sur quelques genres pathogènes : *E.coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*. Mémoire de des microbiologie, Univ Kasdi Merbah Ourgla, pp 14-27.
- 50- Charles M. et Benbrook P-D., 2005. Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l’agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l’état des connaissances scientifiques. *The Organic Center*: 10.
- 51- Charpentier J-P. et Boizot N., 2006. Méthode rapide d’évaluation du contenu en composés

phénoliques des organes d'un arbre forestier. Amélioration génétique et physiologie forestières. *INRA*: 79-82.

52- Chebaibi F., Filali I., Lhlou A., Chahlaoui H., et L'kassmi, 2007. Journée scientifique « ressources naturelles et antibiothérapie ». Etude de l'activité antimicrobienne des feuilles de l'olivier (*olea europea* L.). Faculté des sciences Knitra.

53- Cimato, A. 1990. Effect of agronomic factors on virgin olive oil quality. *Olivae*, 31: 20-31.

54- Civantos. L. 1998. L'olivier l'huile l'olive. COI, Madrid, pp 19-22.

55- Collin S. et Crouzet J., 2011. Polyphénols et procédés. Edition Lavoisier. ISBN : 978-2-7430-1338-7 P 338.

56- Conde, E., Cara, C., Moure, A., Ruiz, E., Castro, E., Dominguez, H. 2009. Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*, 114: 806-812.

57- Corvec S., 2009 : Anatomie fonctionnelle bactérienne. La paroi bactérienne. Laboratoire de Bactériologie. UFR de médecine, pp 32.

58- Cowan M-M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4): 564-582.

-D-

59- De Marco E., Savarese M., Paduano A., Sacchi R. 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chem*, 104: 858-867.

60- Dekanski D., Janicijevic-Hudomal S., Tadic V., Markovic G., Arsic I., Mitrovic D. M. 2009. Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. *J. Serb. Chem. Soc.* 74, 367-377

61- Diallo A M., 2005. Etude des Plantes médicinales de Niafunké (Région de Tombouctou), phyto-chimie et Pharmacologie de (*Maerua crassifolia*) Forsk (Capparidacée). Thèse de doctorat. Bamako, 140 p.

62- Dibert, K. 1989. Contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile et de l'acide chlorogénique du café vert. Lyon, Claude Bernard Lyon I.

63- Dinelli G., Bonetti A., Minelli M., Marotti I., Catizone P. et Mazzanti A., 2006. Content of flavonols in italian bean (*Phaseolus vulgaris L.*) ecotypes. *Food Chemistry* (99): 105-114.

64- Dixon R-A. et Paiva N-L., 1995. Stress induced phenylpropanoid metabolism, *Plant cell* (7): 1085-1097.

65- Djennane D., Yanguela J., Derriche F., Buarab L., et Roncales P., 2012. Utilisation des composé des feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraiche de dinde. *Nature & Technologie*, n°7, PP. 53-61.

66- Djeziri F., 2012. -Etude de l'activite hypolipidemiante de l'huile d'*olea europaea* var *oleaster* chez le rat « wistar ». Thèse de doctorat. Université Abou-Bekr Belkaïd de Tlemcen.

67- Drewnowski A. et Gomez-Carneros C., 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *American Journal of Clinical Nutrition* (72): 1424-1435.

68- Dubois GE, Grosby GA and Saffron P., 1977. Non nutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones. *Science*, 195: 397 - 399.

69- Dykes L., Rooney LW., 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal Sciences* 44: 236 - 241.

-E-

70- Ekoumou C., 2003. Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse doctorat. Université de Bamako: 168.

71- El-Etre, A.Y., 2007. Inhibition of acid corrosion of carbon steel using aqueous extract of olive leaves. *Journal of Colloid and Interface Science*, 314, 578-583.

72- Euzeby JP. 2000 *Yersinia enterocolitica*. In : *Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire*. [<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/garde.html>].

-F-

- 73-** Fabbri A., Galaverna G., Ganino T., 2008. Polyphenol composition of olive leaves with regard to cultivar, time of collection and shoot type. *In proceedings of the 14th International Symposium on Olive Growing. ISHS Acta Horticulturae 791.*
- 74-** Farag, R.S., Mahmoud, E.A., Basuny, A.M., 2007, Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science & Technology*, 42, 107-115.
- 75-** Fleuriet A. et Macheix J-J., 2003. Phenolics acids in fruits and vegetables. *Marcel Dekker*, New York: 1-41.
- 76-** Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* p 121-216.

-G-

- 77-** Gaussorgues, R., 2009. L'olivier et son pollen dans le bassin méditerranéen. *Revue française d'allergologie*, 49 : 2-6.
- 78-** Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A., 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and Vegetable samples. *Molecules* (15): 8813-8826.
- 79-** Ghedira K. L'olivier. *Phytothérapie*. 6, 2008 ; 83-89.
- 80-** Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A. M., 2001. Le préparateur en pharmacie. Ed. Médicales Internationales. Paris, p 108-119.
- 81-** Ghoreishi, S.M., Gholami Shahrestani, R., 2009. Subcritical water extraction of mannitol from olive leaves. *Journal of Food Engineering*, 93 (4), 474-481.
- 82-** Giao, M.S., Gonzalez-Sanjose, M.L., Rivero-Perez, M.D., Pereira, C.I., Pintado, M.E., Malcata, F.X., 2007. Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of Science Food & Agriculture*, 87, 2638-2647.

83- Goubau P., 2000: Repères en microbiologie, Ed : Garant, ISBN: 90-441-1002-0, p 249, 391.

84- Govaris, A., Botsoglou, E., Moulas, A., Botsoglou, N., 2010. Effect of dietary olive leaves and rosemary on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast during refrigerated storage. *South African Journal of Animal Science*, 40 (2), 145-155.

85- Guignard J.L. 1996. Abrégé de biochimie végétale, Ed. *Masson*, Paris, 160 p.

86- Gurbuz I., Yesilada E., Ito S., 2009. An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from (*Equisetum palustre* L). *Journal of Ethnopharmacology* 121: 360 -365.

-H-

87- Hagerman A.E., 2002. Tannin Handbook. 2eme édition. Miami University. Oxford, USA, 116 p.

88- Hahlbrock K., Scheel D., Logemann E., Nurnberger T., Parniske M., Reinold S., Sacks W-R. et Schmelzer E., 1995. Oligopeptide elicitor-mediated defense gene activation in cultured parsley cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 4150-4157.

89- Hale A-L., 2003. Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis. *Office of Graduate Studies of Texas A&M University. Genetics*: 260 P.

90- Halliwell, B., 1996. Antioxydants in human health and disease. *Annu. Res. Nutr.*, 16: 33-50.

91- Hamdaoui, O., 2009. Removal of cadmium from aqueous medium under ultrasound assistance using olive leaves as sorbent. *Chemical Engineering and Processing*, 48, 1157-1166.

92- Hannachi Hédia, Breton Catherine, Msallem Monji, Salem Ben El Hadj Salem Ben, El Gazzah Mohamed, Bervillé André., 2008. Differences between native and introduced olive cultivars as revealed by morphology of drupes, oil composition and SSR polymorphisms: A case study in Tunisia, *Scientia Horticulturae* 116; 280–290.

93- Haoyuan, S., 2006. Method for preparing olive leaf extract. Patent written in Chinese: CN 1002- 4178 20050303.p:6.

94- Hay, R. J., 2006. Fungal infections. *Clinics in Dermatology* 24, 201-212.

95- Hayes, J.E., Stepanyan, V., Allen, P., O’Grady, M.N., O’Brien, N.M., Kerry, J.P. 2009.

96- Hayes J.E., Allen P, Brunton N., O’Grady M.N., Kerry J.P., 2011. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry* 126; 948–955.

97- Hennebelle T.; Sahpaz S. ; Bailleul F., 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

98- Hitara T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M., Hongo D., 2009. Identification and physiological evaluation of the components from *Citrus* fruits as potential drugs for anti-obesity and anticancer. *Bioorganic & Medical Chemistry* 17: 25-28.

-I-

99- Ito C., Itoigawa M., Onoda S., Hosokawa A., Ruabgrunsi N., Okuda T., Tokuda H., Nishino H. Furukawa H., 2005. Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their anti-tumor promoting effect. *Phytochemistry* 66: 567 -572.

-J-

100- Japon-Lujan, R., Luque de Castro, M.D., 2006. Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*, 1136, 185-191.

101- John Spicer W., 2002 : *Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie*, Ed : Flammarion, ISBN : 2-257-10409-9, 122p.

102- Joly B., Reynaud A., 2003. *Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic*. Ed: TEC and DOC. Paris. p: 356-366-369.

-K-

103- Khalil, M.M.H., Ismail, E.H., El-Magdoub, F., 2010. Biosynthesis of nanoparticles using olive leaf extract. *Arabian Journal of Chemistry*, doi:10.1016/j.arabjc.2010.11.011 (article in press).

104- Kim J Y., Lim H J., Lee D Y., Kim D H., Jeon R., Ryu J H., 2009. In vitro anti inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargessii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19: 937 -940.

105- Klervi LL., 2005. Connaissance chimio-taxonomique du genre -170- Turbinaria et étude des composés de défense de différents espèces de *Sargassacées* des Iles Salmon (Pacific sud), 210.

106- Koechlin-Ramonatxo, C., 2006, Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or in other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. 20:165-177.

107- Krisa S., waffo teguo P., Decendit A., Deffieux G., Huguet F., Fauconneau B., Mérillon J M., 1997. Production, purification et activité biologique des picéides(stilbènes) extraits de cultures cellulaires de (*vitis vinifera* L). *Bull. Soc. Pharm.*, 136: 7-18.

108- Kubata BK., Nagamune K., Murakami N, Merkel P., Kabututua Z., Martin SK., Kalulug TM., Mustakuk H., Hoshida M., Ohnishi-kameyama M., Kinoshita T., Duszenko M., Uradea Y., 2005. *Kola acuminata* proanthocyanidins: a class of anti-trypanosomal compounds effective against trypanosome brucei. *International Journal for Parasitology* 35: 91- 103.

-L-

109- Lafka Theodora-Ioanna, Lazou Andriana E, Sinanoglou Vassilia J and Lazos Evangelos S. 2013. Phenolic extracts from wild olive Leaves and their potential as edible oils antioxidants. *Food*, 2; 18-31.

110- Lalas, S., Athanasiadis, V., Gortzi, O., Bounitsi, M., Giovanoudis, I., Tsaknis, J., Bogiatzis, F., 2011. Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves. *Food Chemistry*, 127(4), 1521-1525.

111- Lee, O.H., Lee, B.Y., Lee, J., Lee, H.B., Son, J.Y., Park, C.S., Shetty, K., Kim, Y.C., 2009. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, 100, 6107-6113.

112- Lemieux G., Germain D., 2002. Le Bois Rameal Fragmenté: la clé de la fertilité durable du sol. Ed. Groupe de coordination sur les bois Rameaux, Université Laval.

113- Leminor L., Viron M., 1990. Bactériologie médicale. Ed : 2ème édition. Flammarion médecine science. Paris: 245 p.

114- Leslie, N., 1999. Method for producing extract of olive leaves and extract produced there by. WIPO Patent Application WO/1999/038383.

115- Leybros J. et Fremeaux P., 1990. Extraction solide-liquide, aspect théorique. *Techniques de l'ingénieur J 2780* pp 7-8.

116- Loussert R, et Brousse G, 1978 «l'olivier» collection technique agricoles et productions méditerranéenne Paris, 465.

117- Lumaret, R., Ouazzani, N., Michaud, H., Vivier, G., Deguilloux, M.F., Di Giusto, F., 2004. Allozyme variation of oleaster populations wild olive tree *Olea europaea* L. in the Mediterranean Basin. *Heredity* 92; 343–351.

-M-

118- Macheix J-J., Fleuriet A. et Sarni Manchado., 2005. Les composés phénoliques dans la plante : structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: les polyphénols en agroalimentaire, Cheynier V., Sarni Manchado P. *Lavoisier*, Paris: 510 P.

119- Mahbouli A, 1974. «L'économie oléicole dans le méditerranéen-Options méditerranéennes» 24 ,39-34-1974 et 12 é congrès international des industries agricoles et alimentaires-Athènes

120- Mahmoudi S, Khali M et Mahmoud N., 2013. Etudes de l'extraction des composés phénolique de différente partie de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus* L.) « nature et technologie » B- science Agronomie et biologique n°9 Pp 35-40.

121- Maillard R., L'olivier, INVUFLEC, 1975.

- 122-** Maillard M. N., 1996. Antioxydant activity of barely and Malt; relationship with phenolic content, Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris, 148p.
- 123-** Malheiro, R.,Casal, S.,Sousa, A., de Pinho, P., Peres, A. M., Dias, L. G., Bento, A., Pereira, J.A. 2012. Effect of Cultivar on Sensory Characteristics, Chemical Composition, and Nutritional Value of Stoned Green Table Olives. *Food and bioprocess technology*, 5 (5) : 1733-1742.
- 124-** Malik, N.S.A., Bradford, J.M., 2006. Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in “Arbequina” olives. *Sci. Hort.* 110 (3),274–278.
- 125-** Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. et Jimenez L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American. Journal Clin Nutr.* 79(5): 727-747.
- 126-** Marfak. A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges, 220 p.
- 127-** Martin-Garcia, A.I., Moumen, A., Yáñez Ruiz, D.R., Molina Alcaide, E., 2003. Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 107, 61-74.
- 128-** Martin S; Andriantsitohaina R. 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie.* 51(6):304-315.
- 129-** Masquelier J, Dumon M et Dumas J, 1979. Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique* 1, 101-104 p.
- 130-** Meslaycet MF., 2007. Herbiere méditerranées .Edt .Edisud, p 9.
- 131-** Metzidatis I T, 1997. Proceedings of the third international symposium on Olive growing: Volume 1. *Acta Horticulture* no 474, Crete, Chania & Greece.
- 132-** Mohammedi Z. 2005, Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région du Tlemcen, Thèse de magistère, Université-Abou Bakr Belkaid-Tlemcen.

133- Molyneux P, 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26, 211–219.

134- Muller K, 1992. Freie Radikale Bedeutung in pathophysiologie And therapie. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 132 : 1473-1482.

135- Mylonaki, S., Kiassos, E., Makris, D.P., Kefalas, P., 2008. Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Anal. Bioanal. Chem.*, 392(5), 977-985.

-N-

136- Nahal Boudierba N., Kadi H., Moghtet S., Meddah B. et Moussaoui A., 2012. Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Olea Europaea* L. Leaves from Algeria. *The Open Conference Proceedings Journal*, 2012, 3, pp 66-69.

137- Nauciel C, 2000 : Bactériologie médicale, Édition : Masson S.A, Paris, P 275, ISBN : 2-294-00428-0.

138- Nauciel C, 2001 : Bactériologie médicale connaissances et pratique, édition : Masson, ISBN: 2-294-00428-0, 276p.

139- Nauciel et Vilde J., 2005 : Bactériologie médicale 2ème édition, Masson, Paris, ISBN, p 2-194.

140- Nebeling L., 2002. Phytochemicals, the color of a Healthy Diet. *Health Promotion Research Branch National Cancer Institute*, Maryland.

141- Nefzaoui A. 1991. Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Optiom Méditerranéennes*, 16.

142- Niepceron E, 2012 : Module Bactériologie Etude des bactéries non exigeantes *Streptococcus pneumoniae* FAM-2 FICHE-4 ©Fondation Mérieux.

143- Nout R., Hounhouigan J., Van Boekel T., 2003 : Les aliments « Transformation, Conservation et Qualité », ISBN : 90-5782-124-9, 268 p.

-O-

144- Okamura H, Mimura A, Yakou Y, Niwano M, Takahara Y, 1993. Antioxidant activity of tannins and flavonoids in (*Eucalyptus rostrata*). *Phytochemistry* 33: 557-561.

145- Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guère, M., Artaud, J. 2004. Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. *Annales des falsification, de l'expertise chimique et toxicologique, 2ème Semestre*, 965 : 169-196.

146- Orozco-Solano, M., Ruiz-Jiménez, J., Luque de Castro, M.D., 2010. Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217, 1227-1235.

-P-

147- Paris R., Moysse H., 1971 : Matière médicinale, Tome 1-3, Ed : MASSON, volume : 416, pp 29-31.

148- Patton D.D. 2006: *Aspergillus*, Health Implication & Recommendations for Public Health Food Safety, Internet Journal of Food Safety, Vol.8, p. 19-23. Copyright© 2004, Food Safety Information Publishing.

149- Perret C. 2001. Analyse de tannins inhibiteurs de stilbène oxydase produite par *Brytis cinerea*. Thèse de Doctorat. Université de Neuchâtel.

150- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O., 2002, Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16: 233-239.

151- Pinnell-Sheldon, R., Omar Mostafa, M., 2004. Topical composition comprising olive leaf extract. United States Patent 6743449. The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat Science*, 83 (2), 201-208.

152- Ponce AG, Fritz R, Del Valle C et Roura SI., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LW u. Technol*. Vol. 36. p. 679-684.

153- Psotová J., Lasovský J. et Vičar J., 2003. Metal-Chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. *Biomed.* 147(2):147-153.

-R-

154- Rahal K, 2005. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. Selon les recommandations de l'OMS. 4em édition. Institut pasteur. Algérie. P 94.

155- Rhodes M-J-C., Woollorton L-S-C., Hill A-C., 1981. Changes in phenolic metabolism in fruit and vegetable tissues under stress. *Academic Press*, Londres: 193-220.

156- Romero D, Pérez-García A, Rivera ME, Cazorla FM, de Vicente A, 2004. Isolation and evaluation of antagonistic bacteria towards the cucurbit powdery mildew fungus *Podosphaera fusca*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64, 263–9.

157- Rotondi, A., A. Bendini, L. Cerretani, M. Mari, G. Lercker and T.G. Toschi, 2004. Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of cv. Nostrana di Brisighella extra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 3649–3654

154- Ryan, D., Robards, K., Lavee, S. 1999. Changes in phenolic content of olive during maturation. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 265–274.

-S-

158- Sánchez-Ávila, N., Priego-Capote, F., Ruiz-Jiménez, J., Luque de Castro, M.D., 2009. Fast and selective determination of triterpenic compounds in olive leaves by liquid chromatography–tandem mass spectrometry with multiple reactions monitoring after microwave-assisted extraction. *Talanta*, 78, 40-48.

159- Sannomiya M., Fonseca V B., Da silva M A., Rocha LRM. Dos Santos L C, Hiruma-Lima C A., Britoc A R M S, Vilegas W., 2005. Flavonoids and antiulcerogenic activity from (*Byrsonima crassa*) leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 97: 1- 6.

160- Sayadi, S., Bouaziz, M., Hammami, H., Bouallagui, Z., Jemai, H. 2008. Production of antioxidants from olive processing by-products. *E. J. EAF. Chemistry*, 78: 3231-3236.

161- Serrano M., Zapata P-J., Castillo S., Guillén F., Martínez-Romero D. et Valero D., 2010. Antioxidant and nutritive constituents during sweet pepper development and ripening are enhanced by nitrophenolate treatments. *Food Chemistry*. 118: 497-503.

162- Shon H Y, Son K H, Kwon C S, Kang S S. , 2004. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plants: (*Morus alba*) *Echinosophara koreesis Nakai*. *Phytomedecine* 11: 666 - 672.

163- Sies H., Stahl W., 1995. Vitamins E and C, β -carotene and other carotenoids as antioxidant. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62:1315

164- Simpson BB, Ogorzaly MM., 2001. Economic Botany: Plants in our world. 3^{ème} édition. Mc Graw-Hill Inc., New York. 60-62, 237-238.

165- Singleton V.L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 299, 152-178.

166- Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A.R., Simonie M., Knez Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem*, 89: 191-198.

167- Smyth T; Ramachandran V. N.; Smyth W. F., 2009. A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents* 33: 421 - 426.

168- Somova, L.I., Shode, F.O., Ramnanan, P., Nadar, A., 2003. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from (*Olea europaea* L.), subspecies africana leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2-3), 299-305.

169- Sousa M J, Ardo Y and McSweeney P L H., 2001. Advances in the study of proteolysis in cheese during ripening. *International Dairy Journal* 11 327–345.

170- Sousa, A.,Ferreira, I.C.F.R.,Barros, L.,Bento, A.,Pereira,A., 2008.Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “alcaparras”. *Learning with Technologies*, 41: 739-745.

-T-

171-Tadashi, U., 2006. Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese. Application: JP 2006191845 A 20060727, 7 pp.

172- Terral JF, Alonso N , Capdevila RBI et *al.*, 2004. Historical biogeography of olive domestication (*Olea europea .L*) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archeological material .J Biogeor ;31:63-77.

173- Thomas, D., Anemone, T., Marianne, W-L., Armin, W., 2006. Cosmetic and dermatological composition for the treatment of aging or photodamaged skin. Patent written in German. EP 2005- 20052 20050915, 40 p.

174- Tripoli E., Guardia M L Giammanco S. Di Majo D. Giammanco M., 2007. Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: *Food chemistry* 104: 466 - 479.

-U-

175- Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak bkiewicz., Banecka J. and W Âgrzyn G., 2007. Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62: 132-135.

-V-

176- Valsaraj R., Pushpangadan P., Smitt U. W., Adsersen A., Christensen S. r. B. g., Sittie A., Nyman U., Nielsen C. and Olsen C. E., 1997. New Anti-HIV-1, Antimalarial, and Antifungal Compounds from (*Terminalia bellerica*). *J. Nat. Prod*; 60: 739-742.

177- Verdier, E., 2003. L'Huile d'olive.

-W-

178- Wächter G. A., Hoffmann J. J., Furbacher T., Blake M. E. and Timmermann B. N., 1999. Antibacterial and antifungal flavanones from (*Eysenhardtia texana*). *Phytochem.*; 52: 1469-1471.

179- Wagner H., Blatt S., 1996. Plant drug analysis a thin layer chromatography atlas, second edition, Springer, Berlin, p384.

180- Wagner, W.L., Herbst, D.R.,Sohmer, S.H., 1999.*Manual of the Flowering Plants of Hawai'i*. 2 vols. Bishop Museum Special Publication 83, *University of Hawai'i and Bishop Museum Press*, 4:1-9.

181- Winkelhausen E., Pospiech R., Laufenberg G. 2005. Antifungal Activity of Phenolic Compounds Extracted From Dried Olive Pomace. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia*, 24 (1): 41-46.

182- Wollgast J., Anklam E., 2000. Review on polyphenols in (*Theobroma*) cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423 - 447.

-Z-

183- Zem T-L. et Fernandez M-L., 2005. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *The Journal of Nutrition*. 135: 2291-2294.

184- Ziqi, Y., Kai, W., Xiaoyong, B., Jun, F., 2007. Method for preparing (*Olea europaea* L.) leaf extract. Patent written in Chinese. CN 101049328 A 20071010. 6 p.

185- Zohary D., 1973. Domestication of plants in the Old World. The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. Clarendon Press, Oxford.

Référence électronique

1-www.un.org

<http://www.un.org/french/aboutun/flag/>

2-www.AFIDOL.org

<http://www.afidol.org/content/view/4/8>

Annexe 1

Matériel utilisé au cours de notre expérimentation :

- **Appareillage:**

- Balance électronique.
- Étuve.
- Rota vapeur.
- Broyeur électrique.
- Spectrophotomètre UV-visible.
- Réfrigérateur.
- Agitateur magnétique.
- Bec Bunsen.
- Autoclave.
- Micropipette.

- **Verreries et autre :**

- Bécher 50ml.
- Ballon (250 ml ,500 ml).
- Éprouvettes (25 ml, 50 ml, 100 ml et 500 ml).
- Flacons en verre opaque.
- Entonnoir en verre.
- Cuvette de Spectrophotomètre en verre.
- Ampoules à décanter.
- Erlenmeyer.
- Tubes à essai stériles.
- Boîtes de pétré.
- Disques en papier Wattman de 6 mm.
- Ecouillons.
- Pied à coulisse.
- Papier Wattman n°1.
- Papier aluminium.
- Papier absorbant.
- Para film.
- Epanoff.

- Pipette pasteur.
- Anse de platine.
- Portoirs pour les tubes.
- Pince de laboratoire.
- Pissette.
- Spatule.

- **Réactifs et solution :**

- Méthanol.
- Hexane.
- Folin Ciocalteu.
- Acide ascorbique.
- Acide gallique.
- Carbonate de sodium.
- DPPH.
- L'eau distillée.
- Gélose nutritive.
- Gélose au sang frais.
- Gélose Sabouraud.

Annexe 2

Composition des milieux de culture

- **Gélose nutritive : formule g/l**

- Extrait de viande de bœuf.....	1g
- Extrait de levure.....	2g
- Peptone.....	5g
- Chlorure de sodium.....	5g
- Agar.....	15g

pH=7.3

- **Gélose au sang frais : formule g/l**

- Infusion de cœur et de muscle.....	375g
- Bothicone.....	10g
- Chlorure de sodium	5g
- Agar.....	15g

pH =8.3

- **Milieu sabouraud (S) : formule g/l**

- Peptone.....	10g
- Glucose.....	20g
- Agar.....	15g
- Eau distillé.....	1000ml

PH=6