



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : biochimie

## Thème

**Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne de  
quelques produits oléicoles d'olivier.**

Présenté par : CHIBANE Khadidja  
HARADJ Lamia

Devant le jury :

**Président** : M<sup>me</sup>. FATMI Wided MCB (Univ de Mohamed El Bachir El Ibrahimi. BBA)  
**Encadrant** : M<sup>f</sup>. BELLIK Yuva MCA (Univ de Mohamed El Bachir El Ibrahimi. BBA)  
**Examineur** : M<sup>me</sup>. SOUAGUI Yasmine MCB (Univ de Mohamed El Bachir El Ibrahimi. BBA)

Année universitaire : 2017/2018

## ***Remerciements***

*Avant tout, nous remercions Dieu Allah le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances et à remercier :*

*Notre encadreur Mr BELLIK Yuva pour les orientations et les conseils qu'il n'a pas manqué de nous prodiguer durant la réalisation de ce travail, et pour sa patience et sa compréhension.*

*Nos remerciements s'adressent également à Mme. FATMI W. qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance et à Mme. SOUAGUI Y. qui a bien voulu accepter d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements chaleureux vont à Mr DAHOU Moutassem pour nous avoir épaulé moralement tous les jours dans la réalisation de l'expérimental.*

*Nous remercions particulièrement l'équipe du laboratoire de Biochimie, Microbiologie et Phytopathologie : Khalil, Wassima, Hayet et Afaf qui ont accepté de nous faire partager leur expérience pour ce travail.*

*En fin nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes parents*

*Mes grands-parents*

*Mes sœurs : Yasmina, Nawal et Siham*

*Mon frère : Ismail*

*Mon fiancé : Hamza*

*Mes nièces : Amira et Amina*

*Mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines*

*Lamia*

# *Dédicace*

*Je dédie se mémoire a :*

*Mes chers parents que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments pour leur patience, encouragement continu et leur soutien permanent tout au long de ma vie universitaire.*

*Mes chers amis : Messaouda; Randa; Nawel et Walid*

*pour leur encouragement*

*Et à toute ma famille et à tous ceux que j'aime*

*Khadidja*

## Résumé

L'objectif de la présente étude est de déterminer la teneur en composés phénoliques totaux et d'évaluer l'efficacité antiradicalaire et antimicrobienne des extraits phénoliques de l'huile d'olive vierge, l'huile d'olive extra vierge et les feuilles d'olivier.

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus ont montré que les feuilles d'olivier présentent la plus haute teneur en polyphénols suivi par l'huile d'olive vierge puis l'huile d'olive extra vierge.

L'activité antioxydante a été évaluée par le test au DPPH et a révélé que l'extrait méthanolique des feuilles d'olivier a une activité plus élevée que celles de l'huile d'olive vierge et extra vierge. Par ailleurs, l'effet scavenger est dose-dépendant. L'activité antimicrobienne a été déterminée selon la méthode de diffusion sur gélose vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* et de *Bacillus cereus*. Les résultats ont montré que seul l'extrait phénolique des feuilles d'olivier a été capable d'inhiber la croissance de *Bacillus cereus*.

Mots clés : Huile d'olive, Feuilles d'olivier, Activité antioxydante, Activité antimicrobienne.

## المخلص

المهدف من هذه الدراسة هو تحديد المحتوى الإجمالي للمركبات الفينولية و تقييم فعالية المستخلصات الفينولية لزيت الزيتون البكر, زيت الزيتون البكر الممتاز, و أوراق الزيتون ضد الأوكسدة و الميكروبات, و أيضا تقييم فعالية زيت الزيتون الخام ضد الميكروبات.

تم تحديد كمية المركبات الفينولية بواسطة Folin-ciocalteu و أظهرت النتائج أن أوراق الزيتون تحتوي على أعلى محتوى من عديدات الفينولات يتبع بزيت الزيتون البكر ثم زيت الزيتون البكر الممتاز.

تم تقييم النشاطية المضادة للأوكسدة بواسطة DPPH الذي كشف أن مستخلص أوراق الزيتون لديه نشاطية مضادة للأوكسدة أعلى من مستخلصات زيت الزيتون (البكر و البكر الممتاز), هذه النشاطية تزداد بتزايد تركيز المستخلصات. كما تمت دراسة النشاط ضد الميكروبي لهذه المستخلصات بواسطة الانتشار في الوسط الجيلوزي ضد *Fusarium oxysporum* و *Bacillus cereus* وأظهرت النتائج أن المستخلص الفينولي لأوراق الزيتون وحده الذي كان له القدرة على تثبيط نمو *Bacillus cereus*.

**الكلمات المفتاحية :** زيت الزيتون, أوراق الزيتون, النشاطية المضادة للأوكسدة, النشاطية المضادة للميكروبات.

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

## **Sommaire**

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>I.1. L'olivier</b> .....	02
I.1.1. Classification botanique .....	02
I.1.2. Distribution géographique.....	03
<b>I.2. Les feuilles d'olivier</b> .....	03
I.2.1. Composition chimique.....	03
<b>I.3. L'huile d'olive</b> .....	04
I.3.1. Les catégories des huiles d'olives.....	04
I.3.2. Composition de l'huile d'olive.....	04
I.3.2.1. Fraction saponifiable.....	04
I.3.2.2. Fraction insaponifiable.....	05
I.3.3. Caractéristiques physicochimiques .....	06
<b>I.4. Propriétés thérapeutiques des produits oléicoles</b>	
<b>I.4.1. Propriétés thérapeutiques de l'huile d'olive</b> .....	07
I.4.1.1. Effet anti-cancéreux.....	07
I.4.1.2. Effet cardio-protecteur.....	07
I.4.1.3.Effet sur la tension artérielle.....	07
I.4.1.4. Effet anti thrombotique.....	08
I.4.1.5. Propriétés antioxydantes.....	08
I.4.1.6. Propriétés antimicrobiennes.....	09
<b>I.4.2. Propriétés thérapeutiques des feuilles d'olivier</b>	
I.4.2.1.Tension artérielle .....	09
I.4.2.2. Diabète.....	10
I.4.2.3. Activité antioxydante .....	10
I.4.2.4. Activité antimicrobienne .....	10

I.4.2.5. Autres effets .....	10
<b>Chapitre II : Matériel et méthodes</b>	
<b>II.1. l'huile d'olive.....</b>	<b>11</b>
II.1.1. Extraction des polyphénols totaux de l'huile d'olive .....	11
<b>II.2. Feuilles d'olivier .....</b>	<b>12</b>
II.2.1. Préparation de la matière végétale.....	12
II.2.2. Extraction des polyphénols totaux des feuilles d'olivier .....	12
<b>II.3. Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>13</b>
<b>II.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>13</b>
II.4.1. Test de piégeage du radical DPPH .....	13
<b>II.5. Activité antimicrobienne.....</b>	<b>14</b>
II.5.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	14
II.6. Analyse statistique.....	16
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
III.1. Teneur en polyphénols totaux.....	17
III.2. Activité antioxydante.....	18
III.3. Activité antimicrobienne.....	21
<b>Conclusion.....</b>	<b>25</b>

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Classification botanique de l'espèce ( <i>Olea europaea</i> L).	2
II	Les fractions insaponifiables de l'huile d'olive et leurs caractéristiques biochimiques.	5
III	Données physico-chimiques des différentes classes d'huiles d'olives.	6
IV	IC <sub>50</sub> de l'activité antiradicalaire des extraits d'huiles d'olives, des feuilles d'olivier, et de l'acide ascorbique.	20
V	Diamètres des zones d'inhibition (mm) de <i>Bacillus cereus</i> et de <i>Fusarium oxysporum</i> en présence de différentes concentrations de l'extrait brut des feuilles d'olivier.	22

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	<i>Olea europaea</i> L.	2
2	Les olives.	2
3	Airs d'extension de l'olivier dans la région méditerranéenne.	3
4	Les catégories de l'huile d'olive.	4
5	Les composés phénoliques simples et complexes de l'huile d'olive.	9
6	Etapas d'extraction des polyphénols totaux de l'huile d'olive.	11
7	Séchage des feuilles.	12
8	Poudre fine des feuilles.	12
9	Extraction des polyphénols totaux des feuilles d'olivier.	12
10	Réduction du radical DPPH.	13
11	La teneur en composés phénoliques des extraits méthanoliques des huiles d'olives et des feuilles d'olivier.	17
12	Histogrammes montrant l'activité antiradicalaire des feuilles d'olivier (A), l'huile d'olive vierge (B), l'huile d'olive extra vierge (C) et l'acide ascorbique (D) en fonction de la concentration.	19
13	Zones d'inhibitions exercées par l'extrait phénolique des feuilles d'olivier sur <i>Bacillus cereus</i> .	22

## Liste des abréviations

<b>AO</b>	: acide oléique
<b>CMI</b>	: concentration minimale inhibitrice
<b>DPPH</b>	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
<b>IC<sub>50</sub></b>	: concentration inhibitrice médiane
<b>µg</b>	: microgramme
<b>mg EAG/kg</b>	: milligramme équivalent d'acide gallique /kilogramme
<b>P/v</b>	: poids / volume
<b>J-C</b>	: Jesus-Christ
<b>LDL</b>	: low density lipoprotein
<b>PDA</b>	: Potato dextrose agar
<b>I%</b>	: pourcentage d'inhibition
<b>r<sup>2</sup></b>	: coefficient de corrélation

# *Introduction*

### Introduction

Depuis les temps les plus anciens l'olivier constitue, pour les pays méditerranéens, un lien fort entre les individus, par ses vertus nutritionnelles et thérapeutiques et par les importants échanges commerciaux qui ont été générés par l'exploitation de ses fruits (**Lazzeri, 2007**). En effet, l'huile d'olive, principale produit d'olivier, et les feuilles d'olivier ont une histoire riche d'utilisation nutritionnelle, médicale et cérémonielle. Des recherches archéologiques ont révélé que, dès le IV millénaire avant J-C, l'huile d'olive était déjà extraite en Syrie (**Véronique, 2014**) et le premier rapport formel de l'usage médicinal des feuilles d'olivier date de 1854 et il a été signalé que l'extrait des feuilles d'olivier était efficace contre le paludisme et la fièvre (**Hanbury, 1854**). Plus récemment, l'avancée des connaissances scientifiques dans le domaine de la nutrition préventive a montré une relation entre la consommation de l'huile d'olive et la prévention de nombreuses maladies telles que les maladies cardiovasculaires et certains types de cancers. L'effet protecteur de l'huile d'olive dans le régime méditerranéen est attribué non seulement à sa forte teneur en acide gras monoinsaturés (**FDA, 2004**) mais aussi à la présence de composés mineurs, particulièrement les composés phénoliques qui possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques dues à leurs activités antioxydantes, antimicrobiennes, et anti-inflammatoires (**Owen, 2000**) Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches. Plusieurs études ont montré que les feuilles d'olivier possèdent d'important effets biologiques et parmi les composés majeurs des feuilles d'olivier, l'oleuropéine aux puissantes propriétés antiradicalaires et antimicrobiennes (**Djenane, 2012**).

L'objectif du présent travail vise à étudier les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'huile d'olive (vierge et extra-vierge) et des feuilles de l'olivier.

Trois chapitres composent ce mémoire. Le premier chapitre présente une recherche bibliographique dans laquelle on s'intéresse à l'olivier avec un accent sur la composition chimique, les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive et des feuilles d'olivier et leurs propriétés biologiques. Une présentation du matériel végétal et des techniques utilisées pour répondre à nos objectifs est présentée dans un deuxième chapitre. Le troisième chapitre présente les résultats générés et leur discussion. L'ensemble est terminé par une conclusion.

## I.1. L'olivier

L'olivier, (*Olea europaea* L.) fait partie de la famille des oléacées, cette famille comprend environ 30 genres avec 600 espèces qui sont distribués dans toute les régions tempérée et tropicale. L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen de 6 à 8 m de hauteur (Ghdira, 2008) à tronc tortueux, porte des feuilles opposées, lancéolées, coriaces et persistantes, vertes sur le dessus et argentées au-dessous (Figure 1). Les petites fleurs verdâtres donnent le fruit universellement connu, l'olive. Les olives sont des drupes à peau lisse, à enveloppe charnue renfermant un noyau très dur, osseux, qui contient une ou à deux graines. La forme de l'olive est ovoïde et typique. Sa couleur d'abord vertes, vire au bleu violacé (Gingon, 2010) (Figure 2).



Figure 1: *Olea europaea* L.



Figure 2: Les olives.

### I.1.1. Classification botanique

Le tableau I donne la classification botanique de l'olivier (Cronquist, 1981).

**Tableau I:** Classification botanique de l'espèce (*Olea europaea* L.).

Règne	Plantea
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Oleaceae
Genre	Olea
Espèce	<i>Olea europaea</i> L

### I.1.2. Distribution géographique

On estime qu'il y a environ 805 millions d'oliviers de part le monde, répartis sur 9.7 millions d'hectares dont 9 millions sont situés dans le bassin méditerranéen avec environ 750 millions d'arbres, Pour les botanistes, l'aire de répartition de l'olivier est synonyme de "région méditerranéenne" (Figure 3). L'olivier (*Olea europaea* L.) est cultivé depuis très longtemps autour de la méditerranée et de la mer noire surtout en: Espagne, Italie, Grèce, Turquie, France, Tunisie, Algérie et Croatie. 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).



Figure 3: Ais d'extension de l'olivier dans la région méditerranéenne (Ghdira, 2008).

## I.2. Les feuille d'olivier

Les feuilles réparties sur les rameaux ont une position opposée, elles sont de petites tailles de 3 à 8cm de long et de 1 à 2.5cm de large. La durée de vie moyenne des feuilles d'olivier étant de deux années et demi. La forme, la taille et les caractéristiques des feuilles d'olivier peuvent être déférentes selon les cultivars (Vila, 2003).

### I.2.1. Composition chimique

La composition chimique des feuilles d'olivier varie selon l'origine géographique, le nombre de branche de l'arbre, le climat et éventuellement la présence des moisissures. Elles sont riches essentiellement en triterpènes et en polyphénols (Molina, 2008). Cinq classes de polyphénols caractérisent les feuilles d'olivier, elles comprennent les oleuropéosides (oleuropéine et varbascoside), les flavones, les flavonoles, les flavanoles. Le composé majeur des feuilles d'olivier étant l'oleuropéine (Molina, 2008).

### I.3. L'huile d'olive

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (**Conseil oléicole internationale, 2009**).

#### I.3.1. Les catégories d'huiles d'olive

Il existe plusieurs types d'huiles d'olive, la figure 4 reprend les différentes catégories d'huiles d'olives et leurs acidités libres:

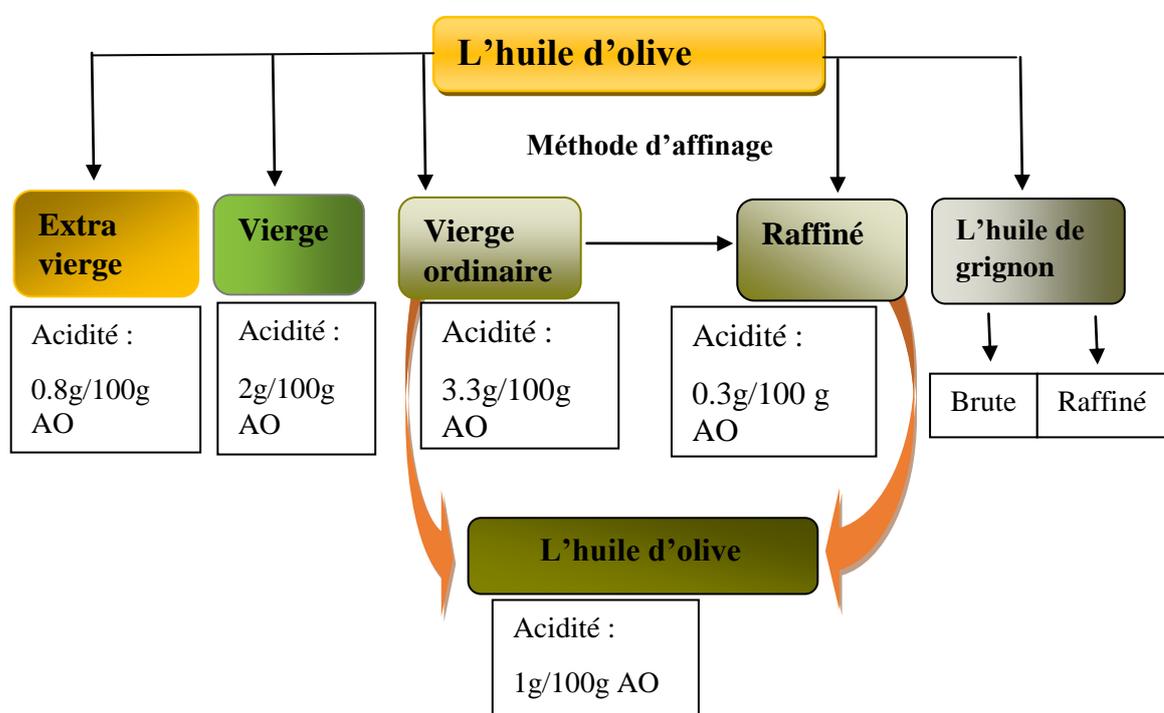


Figure 4: Les catégories de l'huile d'olive (**Codex alimentarius, 2003**).

#### I.3.2. Composition de l'huile d'olive

##### I.3.2.1. Fraction saponifiable

La fraction saponifiable représente 99 % de l'huile d'olive. Elle est composée essentiellement de triglycérides, d'esters de glycérol et d'acides gras. L'une des caractéristiques les plus importantes de l'huile d'olive est la présence d'une teneur élevée en acide oléique qui représente 60 à 80% des acides gras totaux et environ 90% d'acides gras monoinsaturés (**Uceda et Hermoso, 1998**). L'huile d'olive contient également des acides gras polyinsaturés tels que les acides linoléiques et linoléique représentant 5 à 8% d'acides gras totaux (**FAO, 1998**).

Comme pour les feuilles, la composition de l'huile d'olive en acides gras peut différer d'une variété à l'autre selon la zone de production, l'altitude, le climat, et le stade de maturité du fruit (Tsimidou, 2006).

### I.3.2.2. Fraction insaponifiable

L'huile d'olive renferme différents composés biologiques. Le tableau ci-dessous illustre les principaux composés de l'huile d'olive et leurs caractéristiques biochimiques.

**Tableau II** : Les fractions insaponifiables de l'huile d'olive et leurs caractéristiques biochimiques.

La fraction	Caractéristiques	Références
<b>Stérols</b>	- Composés tétracycliques comportant 27 à 29 atomes de carbone. - Présent sous forme libre et estérifiée (environ 10 à 40% des stérols totaux sont présents sous forme d'ester). Les stérols les plus fréquents dans l'huile d'olive sont le $\beta$ sitostérol (75% à 90%), le $\Delta$ -avenstérol (5 à 20%) et la campestérol (4%).	(Soulier, 1992 ; Ilto et al., 1981 ; Calapaj et al., 1993).
<b>Acides terpéniques</b>	- Composés biologiquement actifs et sont présents à l'état de trace dans l'huile d'olive.	(Caputo et al., 1974).
<b>Pigments</b>	- La couleur de l'huile d'olive est due à deux types de pigments naturels : la chlorophylle et les caroténoïdes.	(Minguer-Mosquera, 1997).
<b>Hydrocarbures</b>	- Deux hydrocarbures sont présents en quantité considérable dans l'huile d'olive, le squalène et le carotène.	(Tsimidou, 2006).
<b>Tocophérol</b>	- Le principal homologue de la vitamine E présent dans l'huile d'olive est l'alpha-tocophérol.	(Boskou, 2000).

<b>Les composés volatils</b>	- Sont de faible poids moléculaire (moins de 300 Da) et se vaporisent facilement à température ambiante. Les composés volatils dans l'huile d'olive sont principalement produits par l'oxydation des acides gras.	<b>(kalua, 2005).</b>
<b>Les composés phénoliques</b>	- Sont des composés mineurs par rapport aux acides gras qui représentent la très grande majorité de la composition de l'huile d'olive. - Ces composés jouent un rôle très important dans la caractérisation des huiles et pour leur intérêt nutritionnel.	<b>(Visioli, 1998).</b>

### 1.3.3. Caractéristique physicochimique de l'huile d'olive

Selon la norme du Conseil Oléicole International, la qualité des huiles d'olive est un ensemble de caractéristiques physico-chimiques permettant le classement des huiles en différentes catégories (**Codex alimentarius, 2003**). Le tableau ci-dessous représente les différentes caractéristiques physicochimiques des huiles d'olives.

**Tableau III :** Données physico-chimiques des différentes classes d'huiles d'olives (**Codex alimentarius, 2003**).

	Densité relative (à 20°C)	Acidité (% acide oléique)	Indice peroxyde (meq O2/kg)	Extinction spécifique à 270 nm $E_{1cm}^{1\%}$	Acides gras saturé en position 2 (%)
Huile d'olive vierge extra		<1	<20	<0,25	<1,5
Huile d'olive vierge		<2	<20	<0,3	<1,5
Huile d'olive vierge ordinaire	0,910	<3,3	<20	<0,3	<1,5
Huile d'olive raffinée	- 0,916	<0,3	<5	<1,1	<1,8
Huile d'olive		<1,5	<15	<0,9	-
Huile de grignon d'olive raffinée		<1,5	<5	<2,0	<2,2
Huile de grignon d'olive		<1,5	<15	<1,7	-

## I.4. Propriétés thérapeutiques des produits oléicoles

### I.4.1. Propriétés thérapeutiques de l'huile d'olive

Depuis très longtemps, l'huile d'olive est consommée pour sa valeur nutritionnelle ainsi que ses propriétés médicinales. Elle constitue une source importante de substances bioactives. Bien que cela varie fortement selon de nombreux facteurs (cultivar, indice de maturité, situation géographique, ...), les chercheurs et les nutritionnistes ont découvert que la consommation régulière d'huile d'olive réduisait les risques de cancers (Willett, 1999). Les constituants de la feuille de l'olivier, de l'olive et, surtout, de l'huile d'olive constituent un moyen de lutte efficace contre le vieillissement, l'hypertension artérielle, le diabète, le taux du mauvais cholestérol (LDL) dans le sang, le surpoids et d'autres pathologies (Covas, 2007)

#### I.4.1.1. Effet anti-cancéreux

Des études récentes montrent qu'un régime alimentaire contenant 15% d'huile d'olive réduit significativement la lésion cancéreuse au niveau du sein et du colon de rat (Moreno et al., 1994). Le squalène, un composant majeur de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive, serait lié à une faible incidence du cancer chez les populations de la région méditerranéenne (Fransisco, 2005).

#### I.4.1.2. Effet cardioprotecteur

L'huile d'olive est la principale source de graisse dans le régime alimentaire méditerranéen et est associée à une faible mortalité due aux maladies cardiovasculaires. Une étude hospitalière de cas témoins sur une population espagnole a montré qu'une consommation élevée d'huile d'olive diminue significativement le risque d'infarctus du myocarde (Fernandez, 2002).

#### I.4.1.3. Effet sur la tension artérielle

Chez les patients hypertendus, il a été démontré que l'huile d'olive était plus efficace pour réduire la pression artérielle systolique et diastolique (Perona, 2004). Les auteurs ont rapporté que seul un régime riche en huile d'olive induit une réduction significative de la pression artérielle, suggérant aussi que les composés mineurs de l'huile d'olive jouent un rôle dans le niveau de la pression artérielle (Ruiz-Gutiérrez, 1996).

Les activités vasodilatatrices potentielles des triterpénoides de l'huile d'olive, comme l'acide oléanolique et érythrodiol évoquant la vasorelaxation de l'endothélium dans l'aorte des rats était associée à la production endothéliale d'oxyde nitrique (**Ferrara, 2000**).

#### **I.4.1.4. Effet anti-thrombotique**

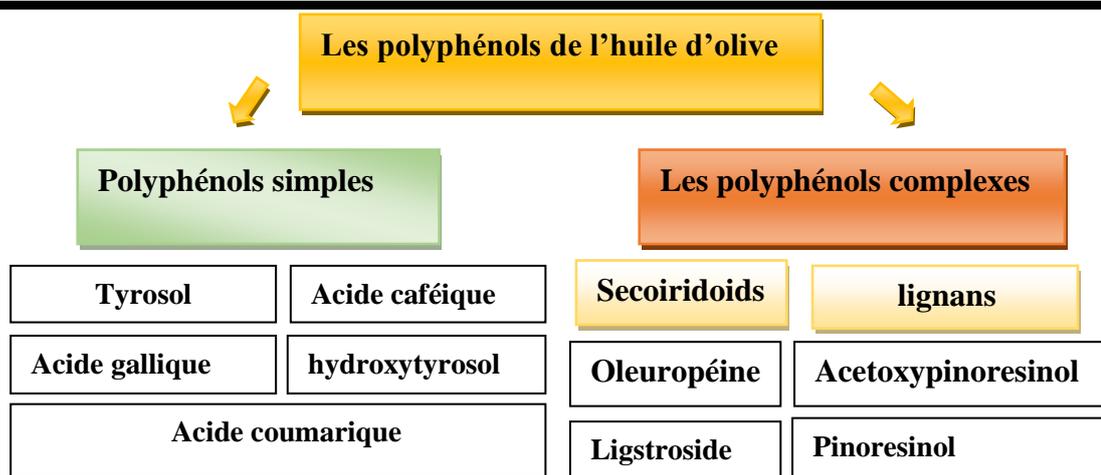
Des rats nourris avec un régime riche en huile d'olive ont montré :

- Une diminution significative de la thrombose d'aortes, une baisse de l'incidence de la thrombose veineuse et du temps de saignement prolongé en comparaison avec le groupe témoin nourri avec un régime normal (**Brzosko, 2002**).
- Une diminution de l'hyperactivité plaquettaire et de la thrombogénicité sous-endothéliale par rapport au groupe nourri par un régime normal (**De la Cruz, 2002**).

#### **I.4.1.5. Propriétés antioxydantes**

L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes (Figure 5) qui augmentent sa stabilité et lui confère des propriétés antioxydantes et modulent sa saveur (**Fedeli, 1977**). Les composés phénoliques contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à l'amertume de l'huile (**Brenes, 1999**).

L'activité antioxydante des composés phénoliques de l'huile d'olive est due en particulier à l'oleuropéine et à son sous-produit, l'hydroxytyrosol (**Aeschbach et al., 1994 ; Salami et al., 1995 ; Visioli et al., 1995 ; Aruoma et al., 1998**). Il a été démontré que l'hydroxytyrosol et les acides caféique et protocatéchique ont une importante activité protectrice (**Papadopoulos et Boskou, 1991**). L'activité antioxydante de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol a également été démontrée dans des modèles cellulaires et animaux (**Manna et al., 1997 ; Speroniet al., 1998**).



**Figure 5** : Les composés phénoliques simples et complexes de l'huile d'olive (Tripoli et al., 2005).

#### I .4.1.6. Propriétés antimicrobiennes

Les activités bactériostatiques et bactéricides de l'oleuropéine et les produits d'hydrolyse, l'hydroxytyrosol et le tyrosol, ont été étudiées et démontrées à l'égard des micro-organismes pathogènes (bactéries, champignons, virus et les protozoaires) (Hirschman, 1972 ; Federici et Bonghi, 1983 ; Bisignano et al., 1999). En effet, l'oleuropéine et le tyrosol sont capables d'inhiber le développement et la production d'entérotoxine B par *Staphylococcus aureus*, le développement de *Salmonel enteritidis* et la germination des spores de *Bacillus cereus* (Walter et al., 1973 ; Tassou et al., 1991 ; Tranter et al., 1993 ; Tassou et Nychas, 1995).

Le verbascoside est également très actif sur *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et d'autres espèces bactériennes. De plus, le verbascoside a une activité antivirale contre le virus syncytial, qui affecte le système respiratoire humain (Calis et al., 1988 ; Chenet al., 1998 ; Kernanet al., 1998).

### I.4.2. Propriétés thérapeutiques des feuilles d'olivier

#### I.4.2.1. Tension artérielle

L'administration par voie orale de l'extrait des feuilles d'olivier induit des effets positifs chez des patients hypertendus (Cherif, 1996). Une autre étude a montré que l'administration orale de l'extrait de feuilles d'olivier à différentes doses pendant 8 semaines au même temps qu'un inducteur d'hypertension induit un effet prophylactique dose-dépendant contre l'augmentation de la pression artérielle (100mg/kg) (Mohamed et al., 2002).

#### I.4.2.2. Diabète

Il a été démontré que l'extrait de feuilles d'olivier inhibe l'absorption post-prandiale du glucose, et augmente l'absorption périphérique du glucose chez des rats diabétiques (**Krakaya, 2009**).

Chez des patients traités avec l'extrait de feuille d'olivier, il a été constaté que la glycémie diminuait significativement après consommation du riz (**Komaki et al., 2003**).

#### I.4.2.3. Activité antioxydante

Les feuilles d'olivier possèdent la plus forte capacité à piéger les radicaux libres par rapport aux différentes composantes de l'arbre d'olivier. Les feuilles se caractérisent également par une forte teneur en substances actives, en particulier, l'oleuropéine (**Lee et al., 2009**).

#### I.4.2.4. Activité antimicrobienne

Les feuilles d'olivier sont très actives à l'égard des pathogènes d'origine alimentaire tels que *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* (**Techathuvanan et al., 2014**). De plus, l'extrait de feuille d'olivier améliore la qualité et la durée de conservation des produits carnés (**Hayes et al., 2010**).

#### I.4.2.5. Autre effets

Plusieurs études ont montré que les feuilles d'olivier ont des propriétés anti-VIH (**Lee-hung, 2003**), anti prolifératives, anti-apoptotiques (**Han et al., 2009**) et des effets favorables sur la leucémie humaine (**Abaza et al., 2006**).

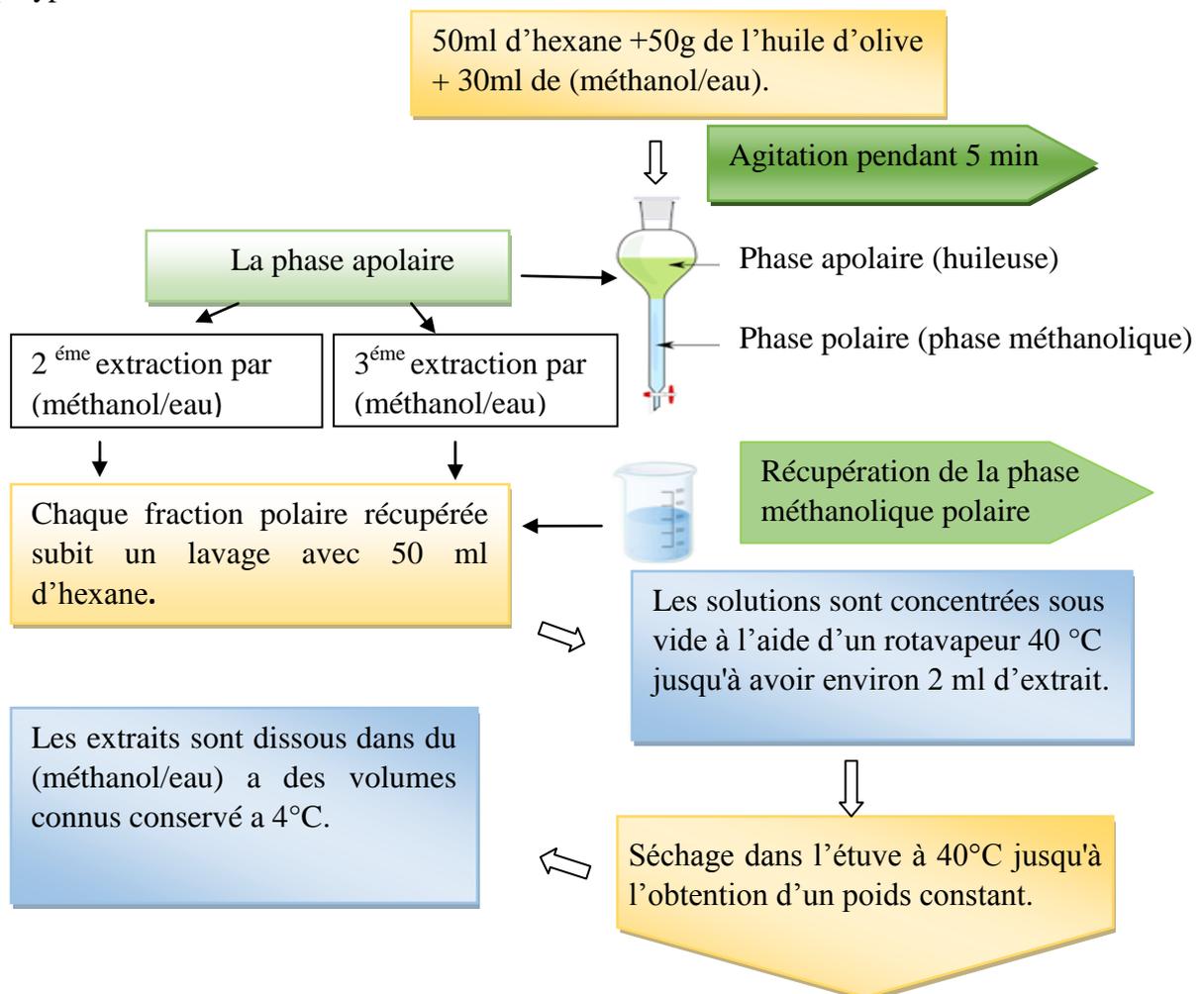
# ***Matériel et méthodes***

## II.1. L'huile d'olive

Deux échantillons d'huile d'olive de type vierge et extra vierge ont été utilisés dans cette étude. Les échantillons d'huile d'olive portant la marque commerciale "Numedia" sont fabriqués par l'huilerie d'Ouzellaguen, Ighzer Amokrane, Wilaya de Bejaia.

### II.1.1. Extraction des polyphénols totaux de l'huile d'olive

L'extraction des polyphénols totaux est réalisée selon le protocole proposé par **Tsimidou et al. (1991)**, il s'agit d'une extraction liquide. 50 g d'huile d'olive sont introduits dans une ampoule à décanter auxquels sont ajoutés 50 ml d'hexane, puis 30ml d'un mélange méthanol/eau distillée sont ajoutés. Après quelques minutes, le mélange se sépare sous forme de deux phases l'une est huileuse et l'autre est aqueuse, cette dernière représente l'extrait méthanolique riche en polyphénols. La figure 6 illustre les différentes étapes d'extraction des polyphénols.



**Figure 6** : Etapes d'extraction de l'extrait brut de l'huile d'olive (**Tsimidou et al., 1991**).

## II.2. Feuilles de l'olivier

### II.2.1. Préparation de la matière végétale

Les feuilles de l'olivier (Figure 7) sont récoltées durant le mois de Mai 2018 dans la région de Colla, commune Djafra, Wilaya de Bordj Bou Arreridj. Les feuilles sont séchées à l'ombre et à l'abri de la lumière pendant 10 jours puis réduites en poudre fine (Figure 8) à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre est conservée à l'abri de l'air, de l'humidité, et de la lumière dans des flacons en verre (Arab et al., 2013).



Figure 07 : Séchage des feuilles.



Figure 08 : Poudre fine des feuilles.

### II.2.2. Extraction des polyphénols totaux des feuilles de l'olivier

L'extraction des polyphénols totaux est réalisée selon le protocole décrit par Arab et al. (2013). Brièvement, 10 g de poudre des feuilles de l'olivier sont macérés dans 200 ml d'un mélange méthanol/eau (80/20) pendant 05 jours. Ensuite l'ensemble est agité puis filtré et séché au moyen d'un rotavapeur (Figure 9).

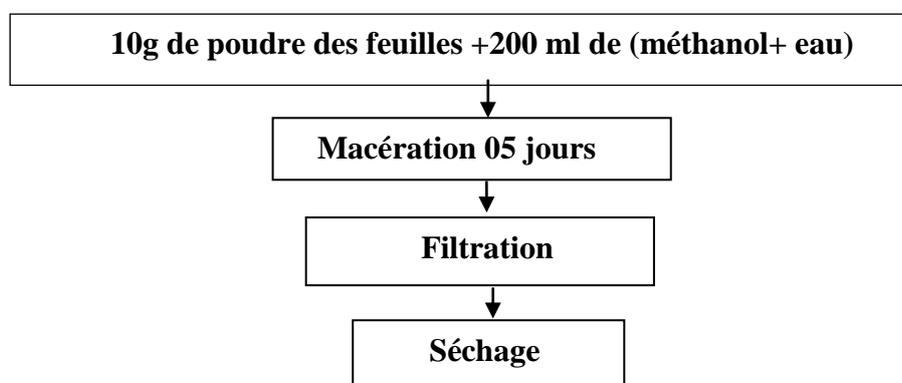


Figure 9 : Extraction des polyphénols totaux des feuilles d'olivier.

### II.3. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présente dans l'extrait (Li *et al.*, 2007).

- **Mode opératoire**

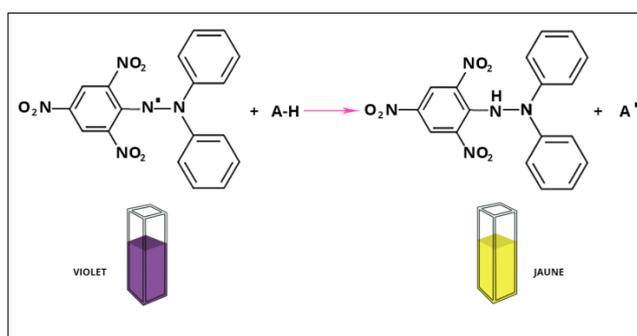
Les teneurs en polyphénols totaux des extraits des huiles d'olives et des feuilles de l'olivier ont été déterminées selon le protocole décrit par Chan *et al.* (2008) avec modifications. 200  $\mu$ l de chaque extrait sont ajoutés à 500  $\mu$ l du réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 5 min, 1500  $\mu$ l de  $Na_2CO_3$  (7.5%) sont ajoutés et les tubes sont incubés pendant 30 min. La lecture se fait à 765 nm. La réalisation de la gamme d'étalonnage a été faite de la même manière avec un standard, l'acide gallique (concentrations de 20 à 100  $\mu$ g/ml). La teneur en polyphénols totaux est donné en mg équivalent d'acide gallique /kg d'huile d'olive (mg EAG/Kg d'huile d'olive) pour l'huile d'olive et en mg EAG /Kg de poudre pour les feuilles d'olivier.

### II.4. Evaluation de l'activité antioxydante

#### II.4.1. Test de piégeage du radical DPPH

- **Principe**

Le DPPH est un radical libre de couleur violette et est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire (Figure 10).



**Figure 10** : Réduction du radical DPPH.

- **Mode opératoire**

Le test de DPPH a été réalisé selon le protocole de **Chang et al. (2005)**. Une série de concentration décroissante des extraits d'huiles d'olives et des feuilles de l'olivier est préparée dans le méthanol/eau (80/ 20). 1.5 ml de chaque dilution sont ajoutés à 500 µl de la solution du DPPH (0.04 mg/ml). Après une période de 30 min d'incubation à 25°C, l'absorbance est lue à 517 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme standard (0.5 à 10 µg/ml). L'inhibition du radical DPPH est représenté en pourcentage (I %), calculée selon la formule suivante:

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

Des courbes de concentration des extraits en fonction du pourcentage d'inhibition sont tracées à fin d'obtenir les IC<sub>50</sub>. L'IC<sub>50</sub> est défini comme la concentration en composés phénoliques (µg/ml) de l'extrait nécessaire pour réduire la concentration initiale de DPPH de 50%.

## II.5. Activité antimicrobienne

Les souches fongiques et bactériennes utilisées dans la présente étude sont le *Fusarium oxysporum* et *Bacillus cereus*.

### II.5.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

- **Principe**

La technique utilisée pour l'étude l'activité antimicrobienne est la technique de diffusion sur milieu gélosé en appliquant des disques stériles de papier Wattman (6 mm de diamètre) imbibés d'extrait sur tapis microbienne. Le diamètre d'inhibition autour de disque traduit l'activité antimicrobienne de l'extrait. Dans le cas de la méthode des puits, les disques imbibés sont remplacés par des puits remplis d'extraits (**Fauchère et al., 2002**).

- **Modes opératoires**
- **Méthode des disques**

Une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture bactérienne pure et jeune de 24 heures. Une opacité équivalente à une densité optique de 0.08–0.1 à 625 nm correspondant à 10<sup>8</sup> UFC /ml (units forming colony /ml). Des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive à raison de 20 ml par boîte sont inoculées; 3 gouttes de la suspension bactérienne sont déposées à la surface du milieu de culture puis étaler à l'aide d'un râteau

(pipette pasteur). Ensuite, on dépose 3 disques de papier filtre (Whatman) stériles de 6 mm de diamètre à la surface de chaque boîte, ces disques sont imbibés au préalable par 20 µl de différentes concentrations en huile brute solubilisée dans le tween 80 à 3 %. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées à diffuser et mises à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures. Après 24 heures d'incubation, une zone d'inhibition apparaît autour du disque si l'extrait inhibe le développement bactérien (Guinoiseau, 2010).

Pour l'étude anti-fongique à l'égard de *Fusarium oxysporum*, une suspension fongique est préparée à partir des cylindres d'agar prélevés d'une culture pure et jeune de 48 heures. La détermination de la densité optique de la suspension fongique est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde 630 nm dans le but de standardiser la suspension de spores à  $10^7$  spores/ml (Meriem, 2015). Des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA à raison de 20 ml par boîte sont inoculées ; 3 gouttes de la suspension fongique sont déposées à la surface du milieu de culture puis étalées à l'aide d'un râtelier. Ensuite, on dépose 3 disques de papier filtre (Whatman) stériles de 6 mm de diamètre à la surface de chaque boîte, ces disques sont imbibés au préalable par 20 µl de différentes concentrations en huile brute solubilisée dans le tween 80 à 3 %. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées à diffuser et mises à l'étuve à une température de 27°C pendant 48 heures. Après 48 heures d'incubation, une zone d'inhibition apparaît autour du disque si l'extrait inhibe le développement fongique.

## 2. Méthode des puits

A l'aide d'une pipette Pasteur, des puits ont été réalisés à la surface de chaque boîte contenant le milieu de cultureensemencé en nappe par les suspensions bactérienne et fongique. Chaque puits est rempli par 20 µl de gélose molle pour éviter la diffusion de l'extrait. Après refroidissement, chaque puits est rempli par 20 µl d'extrait méthanolique des huiles d'olive ou des feuilles d'olivier à différentes concentrations (1.5, 3, 6, 12 mg/ml et le DMSO comme témoin) puis incubé à 37°C pour *Bacillus cereus* et 27°C pour *Fusarium oxysporum*.

### II.6. Analyse statistique

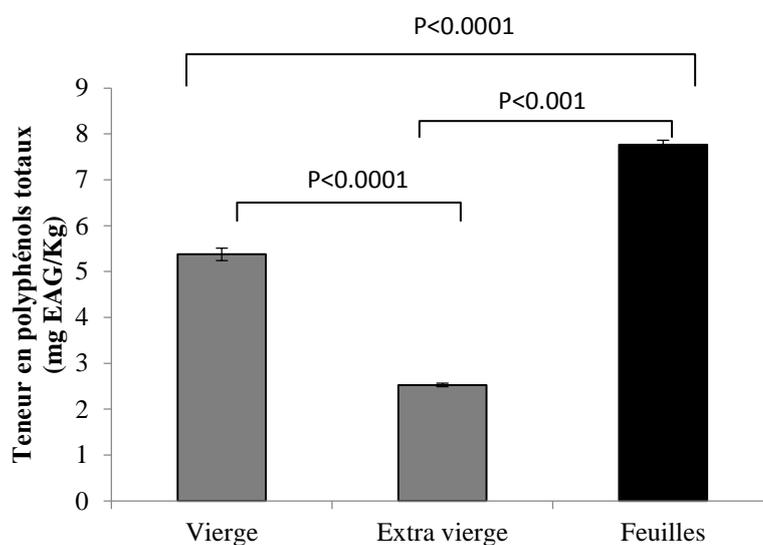
Toutes les expériences ont été réalisées au moins en trois répétitions. L'étude statistique est faite dans le but de comparer les moyennes des résultats obtenus par l'analyse

de la variance (ANOVA, test T) en utilisant le logiciel STATVIEW version 5.5. Le seuil de signification est pris à  $p < 0,05$ .

# ***Résultats et discussion***

### III.1. Teneur en polyphénols totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques montrent que la teneur moyenne de l'huile d'olive vierge en polyphénols est de  $5.375 \pm 0.134$  mg EAG/kg d'huile d'olive tandis que la teneur moyenne de l'huile d'olive extra vierge est de l'ordre de  $2.526 \pm 0.038$  mg EAG/kg d'huile d'olive. Les feuilles ont enregistré une teneur de  $7.765 \pm 0.096$  mg EAG/kg de poudre (Figure 11).



**Figure 11** : Teneur en composés phénoliques des extraits méthanoliques des huiles d'olive et des feuilles d'olivier.

D'après les résultats, les feuilles d'olivier présentent la plus forte teneur en composés phénoliques comparée à celles de l'huile d'olive vierge et l'huile d'olive extra vierge ( $P < 0.0001$ ). Cependant, l'huile d'olive vierge présente une différence hautement significative par rapport à l'huile d'olive extra vierge ( $P < 0.001$ ).

La présence des composés phénoliques dans l'huile d'olive a été mise en évidence pour la première fois par Cantarelli (1961). La teneur en composés phénoliques de l'huile d'olive peut être influencée par plusieurs facteurs : la maturation des olives, les variations saisonnières, la méthode d'extraction, la variété d'olivier, la zone géographique oléicole. Les huiles d'oliveraies situées en altitude se montrent plus riches en polyphénols totaux que celles des oliveraies des plaines. Aussi les conditions météorologiques engendrent des compositions

phénoliques très variables. De même, la teneur en polyphénols des feuilles d'olivier est liée au profil variétal et à la zone géographique (**Ranalli et al., 1999**).

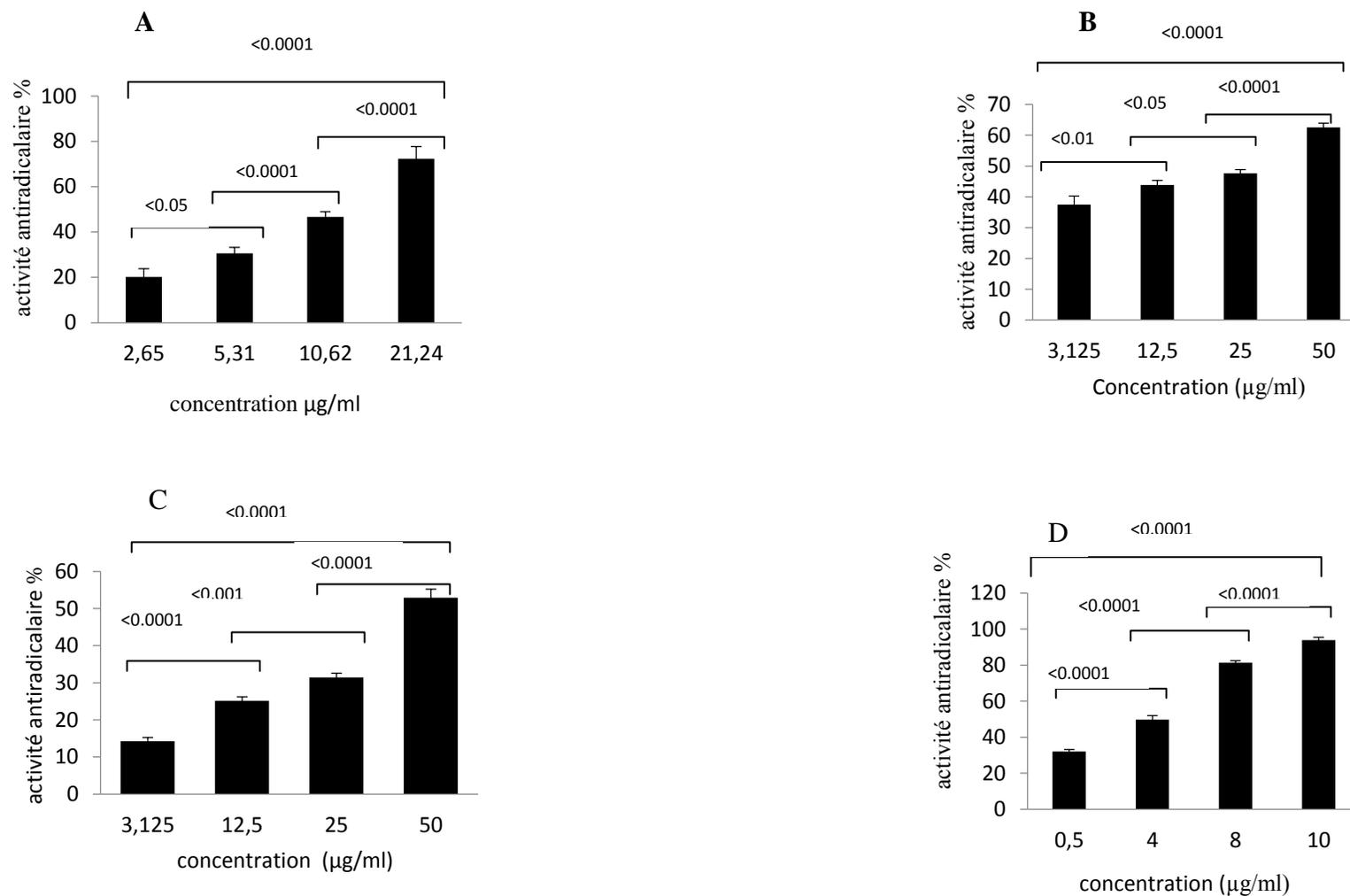
Les quantités des polyphénols présentes dans les huiles d'olives qui ont été rapportées dans la littérature sont très variables. Elles varient entre 0,8 à 1 mg/g dans l'étude faite par **Visioli et Galli. (1992)**, et entre 0,1 et 0,8 mg/g dans la recherche réalisée par **Maestro-Duran et al. (1994)**. **Montedero et al. (1992)** rapportent des valeurs supérieures à 0,5 mg/g. D'après **Owen et al. (2000)**, la teneur en polyphénols est de 0,232 mg/g pour l'huile d'olive extra vierge et de 0,062 mg/g pour l'huile raffinée. **Nakbi et al. (2010)** ont étudié une variété Tunisienne nommée Chemlali et ont rapporté une teneur moyenne de l'ordre de  $0,16 \pm 2.82$  mg EAG/g. Cependant, les teneurs obtenues dans la présente étude restent très faibles comparées à celles rapportées dans la littérature.

### III.2. Activité antioxydante

Il est clair que l'activité antioxydante des extraits de plantes est due à leurs propriétés oxydo-réductrices (redox) qui leur permet d'agir comme étant des donneurs d'hydrogènes et/ou d'électrons et donc de capteurs de radicaux libres.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive vierge et extra vierge ainsi que des feuilles d'olivier a été réalisée en utilisant le test de DPPH. Au fait, le radical DPPH est largement utilisé pour évaluer la capacité des composés antioxydants d'agir en tant que piègeurs de radical libre ou donateurs d'hydrogène (**Molyneux, 2004**).

La figure12 illustre les résultats de l'activité antiradicalaire exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH. L'effet scavenger augmente d'une façon très hautement significative en fonction de la concentration en extraits d'huiles d'olives, des feuilles d'olivier, et de la molécule standard (acide ascorbique) ( $p < 0.0001$ ). D'autres, en utilisant d'autres variétés d'huiles ont abouti à des résultats similaires, avec des effets en relation avec la concentration (**Visioli, 1998**).



**Figure 12 :** Histogrammes montrant l'activité antiradicalaire des feuilles d'olivier (A), l'huile d'olive vierge (B), l'huile d'olive extra vierge (C) et l'acide ascorbique (C) en fonction de la concentration. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type.

Pour des concentrations allant de 3.125 à 50  $\mu\text{g/ml}$ , l'effet scavenger de l'extrait méthanolique de l'huile d'olive vierge varie de  $37.47 \pm 2.72\%$  à  $62.52 \pm 1,41\%$  et de  $14.21 \pm 1.01\%$  à  $52.91 \pm 2.31\%$  pour l'extrait méthanolique de l'huile d'olive extra vierge alors que celui des feuilles d'olivier évolue de  $20.18 \pm 3.66\%$  à  $72.25 \pm 5.49\%$  pour des concentrations allant de 2.65 à 21.24  $\mu\text{g/ml}$ . L'activité antiradicalaire semble donc être sensiblement affectée par la concentration en extraits avec un très fort coefficient de corrélation (annexe) ( $r^2= 0,988$ ) pour l'huile d'olive vierge, l'huile d'olive extra vierge ( $r^2= 0.9894$ ) et les feuilles d'olivier ( $r^2= 0.9625$ ). Pour la molécule standard (acide ascorbique) l'effet scavenger varie de  $32.01 \pm 1.17$  à  $93.86 \pm 1.62$  pour des concentrations allant de 0.5 à 10  $\mu\text{g/ml}$  avec un coefficient de corrélation ( $r^2= 0.9746$ ).

Les effets scavenger observés se classent donc dans l'ordre décroissant suivant : acide ascorbique > feuilles d'olivier > huile d'olive vierge > huile d'olive extra vierge.

Les  $\text{IC}_{50}$  calculées sont rapportées dans le tableau IV. Dans le test au DPPH, une faible  $\text{IC}_{50}$  indique une meilleure capacité scavenger des radicaux libres (**Lim et Tee, 2007**). Les concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ ) requises pour la neutralisation de 50 % de la concentration du DPPH sont de:  $26.72 \pm 02.65$  pour l'huile d'olive vierge,  $46.68 \pm 2.08$  pour l'huile d'olive extra vierge,  $12.75 \pm 0.43$  pour les feuilles d'olivier, et  $3.49 \pm 0.01$  pour l'acide ascorbique.

**Tableau IV:**  $\text{IC}_{50}$  de l'activité antiradicalaire des extraits d'huiles d'olives, des feuilles d'olivier, et de l'acide ascorbique.

Echantillons	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Huile d'olive vierge	$26.71 \pm 2.65$
Huile d'olive extra vierge	$46.68 \pm 2.08$
Les feuilles d'olivier	$12.75 \pm 0.43$
Acide ascorbique	$3.49 \pm 0.01$

**Galvano et al. (2007)** ont rapporté une corrélation positive entre l'activité antioxydante de l'huile d'olive et sa teneur en composés phénoliques. Cette activité n'est pas attribuée seulement au facteur quantitative, cependant, la qualité du contenu phénolique joue un rôle déterminant de cette activité biologique (**Morello et al., 2004**).

Selon **Hayes et al. (2011)** l'activité antioxydante dépend généralement du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels au sein des noyaux aromatiques. L'activité antioxydante des extraits étudiés est sans doute liée à la présence de substances actives tels que l'oleuropéine, hydroxytyrosol, et l'acide lutéoline 7-Oglucoside riches en groupements hydroxyles. Malgré que l'huile d'olive vierge et extra vierge ont enregistré une faible activité antiradicalaire par rapport à l'acide ascorbique, l'huile d'olive reste très efficace par sa capacité de piéger les radicaux libre pour une durée allongée.

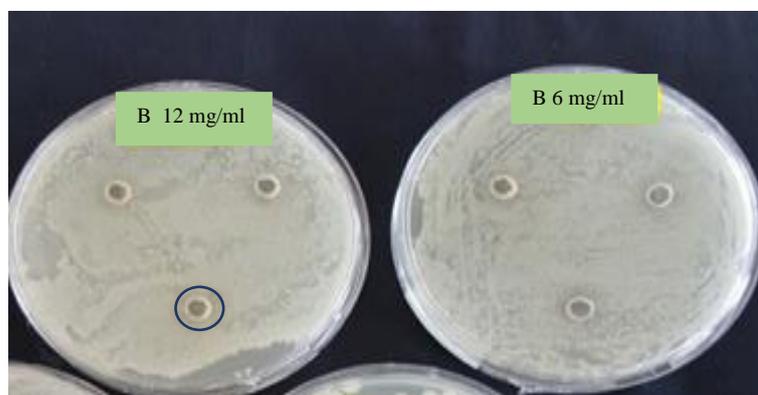
Dans une étude récente, l'activité antioxydante de l' $\alpha$ -tocophérol et des extraits phénoliques d'olives et d'huile d'olive a été comparée au cours du temps. Il a été démontré que dans les 15 premières minutes, l'activité de l' $\alpha$ -tocophérol était plus élevée mais rapidement arrêtée. L'extrait d'olives dénoyauté et d'huile d'olives continuaient à réduire plus lentement la concentration des radicaux libres lorsque, d'autre part, le temps de réaction a été prolongé à 60 minutes. Tous les extraits étaient beaucoup plus actifs que l' $\alpha$ -tocophérol. Au sixième jour, les extraits d'olives et d'huile d'olives ont continué à être plus efficaces que l' $\alpha$ -tocophérol (**Keceli& Gordon, 2001**).

Une autre étude a montré que l' $IC_{50}$  de l'extrait phénolique des feuilles d'olivier et de l'oleuropéine pure étaient de 1.5  $\mu\text{g/ml}$  et 1.19  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement, tandis que l'activité antioxydante de l'extrait après hydrolyse est significativement augmentée ( $IC_{50}=0.65 \mu\text{g/ml}$ ) suggérant que l'extrait contient une concentration élevée en hydroxytyrosole qui a été formé à partir de l'hydrolyse de l'oleuropéine (**Kiritsakis et al., 1998**).

### III.3. Activité antimicrobienne

Le problème de résistance et de multirésistance de certaines souches bactériennes à l'égard de certains médicaments conventionnels, les effets bénéfiques recherchés souvent contre balancés par de fréquents effets secondaires a incité les scientifiques vers d'autres alternatives thérapeutiques plus sûres et plus efficaces (**Rauter et al., 1989**). De nos jours, les métabolites secondaires font de plus en plus l'objet de nombreuses recherches scientifiques aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Dans la présente étude, l'action de l'huile d'olive vierge et extra vis-à-vis de la souche fongique *Fusarium oxysporum* et de la souche bactérienne *Bacillus cereus* a été étudiée, cependant, en dépit de leur potentiel antioxydant, les deux huiles n'ont pas montré d'effet inhibiteur à l'égard des deux souches microbiennes.

Dans le cas des feuilles d'olivier, l'extrait phénolique semble très actif sur *Bacillus cereus* à des concentrations de 6 mg/ml et 12 mg/ml avec des diamètres d'inhibition de 11 mm et 13 mm, respectivement (Figure13), et reste inactif à l'égard de *Fusarium oxysporum*.



**Figure 13:** Zones d'inhibition exercées par l'extrait phénolique des feuilles d'olivier sur *Bacillus cereus*.

Le tableau V reprend les résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de *Bacillus cereus* et de *Fusarium oxysporum* sous l'action de différentes concentrations de l'extrait brut des feuilles d'olivier.

**TableauV:** Diamètres des zones d'inhibition (mm) de *Bacillus cereus* et de *Fusarium oxysporum* en présence de différentes concentrations de l'extrait brut des feuilles d'olivier.

Concentration (mg/ml)	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
12	13 mm	0 mm
6	11 mm	0 mm
3	0 mm	0 mm
1,5	0 mm	0 mm

L'activité bactéricide de nombreux types d'huiles d'olive à l'égard de plusieurs microorganismes a été étudiée *in vitro*. Selon **Medina et al. (2007)** tous les types d'huiles d'olive étudiés ont un effet bactéricide par rapport aux autres huiles (maïs, tournesol, soja, colza et coton). Cet effet est encore plus élevé en utilisant l'huile d'olive vierge. **Zampa et al. (2006)** ont testé l'extrait phénolique d'huile d'olive sur quelques souches bactériennes *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bacteroides vulgatus* et *Clostridium*

*perfringens* et ont montré que l'extrait exerce une forte inhibition sur *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium adolescentis* et *Bacteroides vulgatus* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) à 0,5 µg/ml tandis que la souche de *Clostridium perfringens* a montré une sensibilité modérée à l'extrait phénolique avec une CMI à 50 µg/ml.

**Romeo et al. (2007)** ont rapporté que l'extrait phénolique de l'huile d'olive est bactéricide sur *Helicobacter pylori* à 380 µg/ml. L'hydroxytyrosol est hautement toxique sur *Pseudomonas syringae* et *Corynebacterium michiganense*, qui sont des phytopathogènes. Le tyrosol peut également agir comme une mycotoxine (**Venkatasubbaiah et Chilton, 1990**). Selon **Aziz et al. (1998)**, l'oleuropéine et d'autres composés phénoliques de l'huile d'olive (p-hydroxybenzoïque, vanillique et acides p-coumariques) inhibent complètement le développement de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*. Alors qu'un effet bactéricide de l'huile d'olive a été observé sur une large gamme de bactéries, aucun effet n'a été observé sur les levures (**Beuchat et Golden, 1989**). Cependant, l'oleuropéine a une influence, bien que légère, sur le retard du développement et la sporulation d'*Aspergillus parasiticus*. De plus, la production d'aflatoxine est considérablement réduite.

D'après Taguri et al. (2004), la sensibilité des bactéries aux polyphénols dépend de l'espèce bactérienne et de la structure en composés phénoliques.

L'absence d'effet antimicrobien des extraits d'huiles d'olives étudiés serait lié à leurs faibles teneurs en composés phénoliques. D'après **Brenes et al. (1999)**, en dépit, des différents travaux sur les composés phénoliques de l'huile d'olive et leurs propriétés biologiques, il existe encore une certaine confusion quant à leur présence et leur contenu dans les huiles d'olives. L'oleuropéine, le principal composé phénolique des fruits, est présente à une très faible quantité dans les huiles d'olive et il n'a pas été détecté dans de nombreux échantillons.

De nombreuses études confirment que les feuilles d'olivier possèdent une activité inhibitrice à l'égard des microorganismes pathogènes. **Pereira et al. (2007)** ont testé l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux des feuilles d'olivier sur les bactéries *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *B. cereus*, ainsi que des champignons *Candida albicans* et *Candida neoformans*, et ont révélé que les taux de croissance de *S. aureus* et d' *E. coli* diminuent en augmentant la concentration de l'extrait aqueux des feuilles. **Markinet al.**

(2003) ont également démontré l'effet bactéricide de l'extrait aqueux des feuilles d'olivier à une concentration de 0,6% (p/v) sur *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *K. pneumoniae* après 3h de contact. D'autre part, *B. Subtilis* n'a pas été inhibé qu'après avoir augmenté la concentration à 20% (p/v) probablement en raison de la capacité de formation de spores de cette espèce. D'autre part, **Korukluoglu et al. (2010)** ont montré l'effet du solvant d'extraction sur l'efficacité antimicrobienne. Ils ont signalé que le type de solvant affecte sensiblement la distribution et la concentration phénolique des extraits, ainsi que l'activité antimicrobienne. L'extraction par l'éthanol a montré une activité antimicrobienne plus élevée sur *E. coli* et *S. enteritidis*, et l'extraction par l'acétone a montré la plus haute efficacité antimicrobienne contre *S. thymimurium*.

# ***Conclusion***

## Conclusion

Les propriétés médicinales des produits oléicoles font l'objectif de nombreuses recherches scientifiques. Cette étude a consisté à évaluer la teneur en composés phénoliques ainsi que les propriétés antioxydante et antimicrobienne de trois extraits méthanoliques (l'huile d'olive vierge, l'huile d'olive extra vierge et les feuilles d'olivier).

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait méthanolique des feuilles d'olivier a une teneur élevée en polyphénols totaux par rapport aux autres extraits avec une valeur de  $7.765 \pm 0.096$  mg EAG/kg de poudre. Pour l'huile d'olive vierge et extra vierge les valeurs étaient de  $5.375 \pm 0.134$  mg EAG/kg et de  $2.526 \pm 0.038$  mg EAG/kg d'huile d'olive respectivement. Le test de DPPH a révélé que l'extrait des feuilles d'olivier a une activité antiradicalaire plus élevée que celles des huiles d'olive avec une  $IC_{50}$  de  $12.75 \pm 0.43$  %. Il a été également constaté que l'effet scavenger augmente significativement avec l'augmentation de la concentration de l'extrait ( $p < 0.0001$ ).

L'étude de l'activité antimicrobienne des différents extraits bruts vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* et de *Bacillus cereus* a montré que seul l'extrait phénolique des feuilles d'olivier est capable d'inhiber la croissance de *Bacillus cereus*.

Au terme de ce travail nous pouvons retenir que les produits oléicoles présentent une bonne source d'antioxydants naturels, cependant, leurs concentrations étant faible ce qui pourrait expliquer l'absence d'inhibition sur les germes étudiés.

# ***Références bibliographiques***

### Références bibliographiques

#### A

- Abaza L., Talorete T., Yamada P., Kurita Y., Zarrouk M. & Isoda H., 2006: Induction of Growth Inhibition and Deferetiation of Human leukemia HL-60 Cells by a Tunisian Gerboui olive leaf extract. *Biosci. Biotechnol.*
- Aeschbach R., Loliger J., Scott BC., Murcia A., Butler J., Halliwell B. & Aurome OI., 1994: Antioxidant actions of tymol.
- Arab Karim., BouchenakOuahiba. & Yahiaoui Karima., 2013: Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science* **09**, 159-166.
- Aruoma OI., Deiana M., Jenner A., Halliwell B., Harparkash K., Banni S., Corongiu FF., Dessi MA. & Aeschbach R., 1998: Effect of hydroxytyrosol found in extra virgin olive oil on DNA damage and on low density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**, 5181-5187.
- Aziz NH., Farag SE., Mousa LAA. & Abo Zaid MA., 1998: Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios* **93**, 43-54.

#### B

- Banni S., Corongiu FF., Dessi`MA. & Aeschbach R., 1998: Effect of hydroxytyrosol found in extra virgin olive oil on DNA damage and on low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**, 5181-5187.
- Beuchat LR. & Golden DA., 1989: Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technology* **43**, 134-142.
- Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N. & Saija A., 1999: On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **51**, 971-974.
- Boskou D., 2000: olive oil, *mediterranean diets*.
- Brenes M., García A., García P., Rios J. J. & Garrido., 1994: Phenolic compounds in Spanish olive oils. *J. Agric. Food Chem* **47**, 3535-3540.
- Brenes M., Garcia A., Garcia P., Rios JJ. & Garrido A., 1999: Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal Agricultural and Food Chemistry* **47**, 3535-3540.
- Brzosko S., De Curtis A., Murzilli S., de Gaetano G., Donati MB. & Iacoviello L. 2002: Effect of extra virgin olive oil on experimental thrombosis and primary hemostasis in rats. *NutrMetab CardiovascDis* **12**, 337-42.

#### C

- Calapaj R., Chiricosta S., Saija G. & al., 1993: Evaluation of Gas Chromatographic and Spectrophotometric Analytical Results to Check the Presence of Seed Oils in Olive Oil Samples. *Riv. Ital. Sost. Grasse* **70**, 585-594.
- Calis I., Saracoglu I., Zor M. & Alacam R., 1988: Antimicrobial activities of some phenylpropanoid glycosides isolated from *Scrophulariascopoli*. *Turk Tip EczacilikDergisi* **12**, 230-233.

- Caputo R., Mangoni L., Monaco P. & al., 1974:** Triterpenes in Husks of *Olea europaea*. *Phytochemistry*.
- Chan E.W.C., Lim Y.Y., Wong L.F., Lianto F.S., Wang S.K., Lim K.K., Joe C.E. & Lim T.Y., 2008:** antioxydante and thyrosinase inhibition properties of leaves and rhizome of ginger species. *Food Chemistry* **109**, 477-483.
- Chang H.C., Haung G.J., Agrawal D.C., Kuo C.L., Wu C.R. & Tsay H.S., 2007:** Antioxidant activities polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as "Gusuibu". *Botanical studies* **48**, 397-406.
- Chen J., Blanc P., Stoddart CA., Bogan M., Rozhon EJ., Parkinson N., Ye Z., Cooper R., Balick M., Nanakorn W., Kernan MR., Chen JL. & Ye ZJ., 1998:** New iridoids from the medicinal plant *Barleriaprionitis* with potent activity against respiratory syncytial virus. *Journal of Natural Products* **61**, 1295-1297.
- Cherif S., Rahal N., Haouala M. & al., 1996:** A clinical trial of a titrated olea extract in the treatment of essential arterial hypertension. *J.Pharm.*
- Chimactiv.Reductionde radical DPPH. [image en ligne]. <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>. 30/05/2018.
- Codex Alimentarius., 2003:** Standard for olive oils and olive pomace oils.
- Cronquis A., 1981:** An integrated system of classification of flowering plants. *Columbia Uni press*, New York.
- Covas Mar´ia-Isabel., 2007:** Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacological Research* **55**, 175-186.

### D

- De la Cruz JP., Villalobos MA., Carmona JA., Martín-Romero M., Smith-Agreda JM. & de la Cuesta FS., 2000:** Antithrombotic potential of olive oil administration in rabbits with elevated cholesterol. *ThrombRes* **100**, 305-15.
- Djenane Djamel., Yanguelajavier., Derrichefariza., Bouarablydia. & Roncales Pedro., 2012:** utilisation des composés de feuille d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technologie*, 53-61.

### E

- El S. & Karakya S., 2009:** Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutr. Rev* **67**, 632-638.

### F

- Fauchère JL. & Avrile JL., 2002:** Bactériologie générale et médicale. Ellipses editions Paris, 365.
- FDA., 2004:** allows qualified health claim to decrease risk of coronary heart disease. *Food and drug administration*, 04-100.
- Fedeli E., 1977:** Lipids of olives. *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids* **15**, 57-74.

**Federici F. & Bongi G., 1983:** Improved method for isolation of bacterial inhibitors from oleuropein hydrolysis. *Applied and Environmental Microbiology* **46**, 509-510.

**Fernandez-Jarne E., Martinez-Losa E., Prado-Santamaria M., Brugarolas-Brufau C., Serrano-Martinez M. & Martinez-Gonzalez MA., 2002:** Risk of first non-fatal myocardial infarction negatively associated with olive oil consumption: a case-control study in Spain. *Int J Epidemiol* **31**, 474-80.

**Ferrara LA., Raimondi AS., d'Episcopo L., Guida L., Dello RA. & Marotta T., 2000:** Olive oil and reduced need for antihypertensive medications. *Arch Intern Med* **160**, 837-42.

**Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 1998:** Dietary fats and oils in human nutrition. *Food and nutrition paper*.

**Francisco Perez-Jimenez., Gerardo Lina., Alvarez de Cienfuego. & Maurizio Battino., 2005:** International Conference on the healthy effect of virgin olive oil. *European Journal of Clinical Investigation* **35**, 421-424.

### G

**Galvano F., La Fauci L., Graziani G., Ferracane R., Masella R., Di Giacomo C., Scacco A., Scacco A., D'Archivio M., Vanella L., Galvano G., 2007:** Phenolic compounds and antioxidant activity of Italian extra virgin olive oil Moniliblei. *J.Med.Food* **10**, 650-656.

**Gaussorgues R., 2009 :** L'olivier et son pollen dans le bassin méditerranéen. Un risque allergique. *Revue Française d'allergologie*.

**Ghedira k., 2008:** l'olivier, *Phytothérapie* **6**, 83-89.

**Gigon F. & le jeune R., 2010:** huile d'olive, *oleaeuropaea* L. *Phytothérapie* **6**, 129-135.

**Guinoiseau Elodie., 2010:** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. doctorat Biochimie - Biologie moléculaire, UNIVERSITE DE CORSE-PASQUALE PAOLI, 119.

### H

**Han J., Talorete T., Yamada P. & Isoda H., 2009:** Antiproliferative and apoptotic effects of oleuropein and human breast cancer MCF-7 Cells. *Cytotechnology* **49**, 45-53.

**Hayes J. E., Stepanyan V., Allen P., O'Grady M. N. & Kerry J. P., 2010:** Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and self-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Sci* **84**, 613-620.

**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.

**Hirschman SZ., 1972:** Inactivation of DNA polymerases of murine leukaemia viruses by calcium elenolate. *Nature: New Biology* **238**, 277- 279.

**Hunbury D., 1854:** on the febrifuge properties of the olive (*oleaeuropea*, L.) pharmaceut. *J. provincial trans*, 353-354.

### I

**Itoh T., Yoshida k., Yatsu T., & al., 1981:** Triterpene Alcohols and Sterols of Spanish Olive Oil. *JAOCS* **58**, 545-550.

### K

**Kalua., 2005:** olive oil volatile compounds, flavour development and quality. *A critical review food chemistry* **86**,1391-1396.

**KarakyaS., El S. & 2009:** Olive tree (*Olea europaea* ) leaves : potential beneficial effects on human health. *Nutr. Rev* **67**, 632-638.

**Keceli T. & Gordon MH., 2001:** The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**, 1391-1396.

**Kernan MR., Amarquaye A., Chen J., Chan J., Sesin DF., Parkinson N.,Ye Z., Barrett M., Bales C., Stoddart CA., Sloan B., Blanc P., Limbach C., Mrisho S., Rozhon EJ., Chen JL. & Ye ZJ., 1998:** Antiviral phenylpropanoid glycosides from the medicinal plant *Markhamia lutea*. *Journal of Natural Products* **61**, 564-570.

**Kiritsaki A., Thomai T., Nanos D., polymnopoulos Z. &sfakiotaks E., 1998:** Effect of fruit storage conditions on olive oil quality. *Journal of the amirian oil chemists' society*.

**Komaki E., Yamaguchi S., Maru I. & al., 2003:** Identification of anti  $\alpha$ -amylase components from olive leaf extracts. *Food Sci technol Res* **9**, 35-39.

**Korukluoglu M., Sahan Y. & Yigit A., 2010:** ET Ozer; S Gucer. *Journal of Food Processing and Preservation* **34**, 383-396.

### L

**Lazzeri Yvette . & GilbertBenhayoun., 2007:**L'olivier en Méditerranée : du symbole à l'économie. Paris : L'Harmattan p137.

**Lee-Hung S., Zhang L., Huang P. & Chang Y., 2003:** Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Res commun* **307**, 1029-1037.

**Lee O.H., Lee B.Y., Lee J., Lee H.B., Son J.Y., Park C.S., Shetty K. & KimY.C., 2009:** Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresour. Technol* **100**, 6107-6113.

**Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. & Tian Y., 2007:** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry* **102**, 771-776.

**Lim Y., Lim T. & Tee J., 2007:** Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry* **103**, 1003-1008.

### M

**Maestro-Duran R., Leon-Cabello R., Ruiz-Gutierrez V., Fiestas P. & Vasquez-Roncera A., 1994:** Grassy Aceites **45**, 332.

**Manguer Mosquera., 1997 :** clorofilas y caroténoides en tecnología de alimentose villa spain. *secretariado de publicaciones de la Universidad de sevilla* **189**.

**Manna C., Galletti P., Cucciolla V., Moltedo O., Leone A. & Zappia V., 1997:** The protective effect of the olive oil polyphenol (3, 4-dihydroxyphenyl) ethanol counteracts reactive oxygen metabolite-induced cytotoxicity in Caco-2 cells. *Journal of Nutrition* **127**, 286- 292.

**Markin D., Duek L. & Berdicevsky I., 2003:** Antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses* **46**, 132-136.

**Martin-moreno JM., Willett Wc., Gorgojo L. & al., 1994:** Dietary fat, olive oil intake and breast cancer risk. *Int J Cancer* **58**, 774-780.

**Maurizio Battino., 2005:** International Conference on the healthy effect of virgin olive oil. *European Journal of Clinical Investigation* **35**, 421-424.

**Medina Eduardo., Brenes Manuel., Concepción Romero., DE Castro Antonio. & al., 2007:** Antimicrobial activity of olive oil. *Agro Food Industry Hi Tech*.

**Touaibia Meriem., 2015:** composition chimique et activité antifogique de l'huile essentielle de Myrtus communs L. sur milieu de laboratoire et sur fruits du fraisier. Revue "Nature & technologie, B- sience agronomique et biologique, 66-72.

**Mohamed T., khayyal Mona A., EL Ghazaly Dalal M., Abdallah Noha N., Nassar Samuel N. & Okpanyi Matthias–Heinrich kreuter., 2002:** Blood Pressure Lowering Effect of an Olive Leaf Extract (*Olea europaea*) in L-NAME Induced Hypertension in Rats. *Drug Res* **52**, 797-802.

**Molina-Alcaid E., Yanez-Ruiz DR., 2008:** Potentiel use of olive by products in ruminant feeding. review *Anin feed sci -technol* **147**, 247-264

**Molyneux Philip., 2004:** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J Sci Technol* **26**, 212-219.

**Montedoro G., Servili M., Baldioli M. & Miniati E., 1992:** Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. Their extraction, separation, and quantitative and semi quantitative evaluation by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**, 1571-1576.

**Morello JR., Motilva MJ., Tovar MJ. & Romero MP. 2004:** Changes in commercial virgin olive oil (cv. Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry* **85**, 357-364.

### N

**Nakbi A., Issaoui M., Dabbou S., KoubaaN., Echbili A., Hammami M. & Attia N., 2010:** Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oil. *Journal of Food Composition and Analysis* **23**, 711-715.

**Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive.,2009 :** Conseil oléicole international.

### O

**Owen R., Mier W., Giacosa A., Hull W., Spiegelhalder B. & Bartsch H., 2000:** phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and ontioxydant potential of total phenols, simple phenols, secoirdiods, lignans and squalene. *Food Chem Toxicol* **38**, 647-59.

### P

**Papadopoulos G. & Boskou D., 1991:** Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* **68**, 669-671.

**Pereira AP., Ferreira I., Marcelino F., Valentao P., Andrade B., Seabra R., Estevinho L., Bento A. & Pereira JA.,2007:** *Molecules* **12**, 1153-1162.

**Perona JS., Canizares J., Montero E., Sanchez-Dominguez JM., Catala A. & Ruiz-Gutierrez V., 2004:** Virgin olive oil reduces blood pressure in hypertensive elderly subjects. *Clin Nutr* **23**, 1113-21.

**Peroni E., Guerra MC., Minghetti A., Crespi-Perellino N., Pasini P., Piazza F. & Roda A., 1998:** Oleuropein evaluated in vitro and in vivo as an antioxidant. *Phytotherapy Research* **12**, 98-100.

### R

**Ranalli A., Ferrante M., DE Mattia G., Costantini N., 1999:** Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. *Journal of agricultural and food chemistry* **47**, 417-424.

**Rauter AP., Branco I., Tostao Z., Gonzalez AG. & Bermejo JB., 1989:** Flavonoids from *Artemisia campestris* subsp *Maritima*. *Phytochemistry* **28**, 2173-2175.

**Romero C., Medina E., Vargas J., Brenes M. & Castro D., 2007:** In vitro activity of olive oil polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Food Chem* **55**, 680-686.

**Ruiz-Gutierrez V., Muriana F., Guerrero A., Cert AM. & Villar J., 1996:** Plasma lipids, erythrocyte membrane lipids and blood pressure of hypertensive women after ingestion of dietary oleic acid from two different sources. *J Hypertens* **14**, 1483-90.

### S

**Salami M., Galli C., De Angelis L. & Visioli F., 1995:** Formation of F2-isoprostanes in oxidized low-density lipoprotein. Inhibitory effects of hydroxytyrosol. *Pharmacological Research* **31**, 275-279.

**Soulier J. & Farines M., 1992:** Manuel des corps gras. *Tec and Doc*.

**Speroni E., Guerra MC., Minghetti A., Crespi-Perellino N., Pasini P., Piazza F. & Roda A., 1998:** Oleuropein evaluated in vitro and in vivo as an antioxidant. *Phytotherapy Research* **12**, 98-100.

### T

**Taguri T., Tanaka T. & Kouno I. 2004:** Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* **27**, 1965-1969.

**Tassou CC. & Nychas GJE., 1994:** Inhibition of *Staphylococcus aureus* by olive phenolics in broth and in a model food system. *Journal of Food Protection* **57**, 120-124.

**Tassou CC. & Nychas GJE., 1995:** Inhibition of *Salmonella enteritidis* by oleuropein in broth and in a model food system. *Letters in Applied Microbiology* **20**, 120-124.

**Techathuvanan C., Reyes F., David J. R. & Davidson P. M., 2014:** Efficacy of commercial natural antimicrobials alone and in combinations against pathogenic and spoilage microorganisms. *J. Food Prot* **77**, 269-275.

**Tripoli E., Giammanco M., Tabacchi G. & Di Majo D., 2005:** The phenolic compounds of olive oil: Structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews* **18**, 98-112.

**Tranter HS., Tassou SC. & Nychas GJ., 1993:** The effect of the olive phenolic compound, oleuropein, on growth and enterotoxin B production by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Bacteriology* **74**, 253-259.

**Tsimidou M., George Papadopoulos. & Boskou Dimitrios., 1991:** phenolic compounds and stability of virgin olive oil-part I. *Food Chemistry* **45**,141-144.

**Tsimidou M., Blekas G. & Boskou Dimitrios., 2006:** olive oil composition. *Laboratory of Food Chemistry and Technology*.

### U

**Uceda M. & Hermoso M., 1998:** la calidad del aceite de oliva. *Elcultivo del olivo* **5**, 47-572.

### V

**Venkatasubbaiah P. & Chilton WS., 1990:** Phytotoxins of *Botryosphaeriaobtusa*. *Journal of Natural Products* **53**, 1628–1630.

**Véronique Coxam., Fabien Wauquier., CedricDarie., Mélanie Spilmont., Marie–Jeanne Davicco. & Yohann Wittrant., 2014:** huile d'olive et santé osseuse. *OCL* **21**, 511.

**Vila García., Auxi Soriano., Victorino Vega. & Fereres E., 2003:** Productivity of olive orchards in response to tree density. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*.

**Visioli F., Vinceri FF. & Galli C., 1995:** “Waste waters” from olive oil production are rich in natural antioxidants. *Experientia* **51**, 32–34.

**Visioli F. & Galli., 1998:** The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease. *Nutrition Reviews* **56**, 142-147.

### W

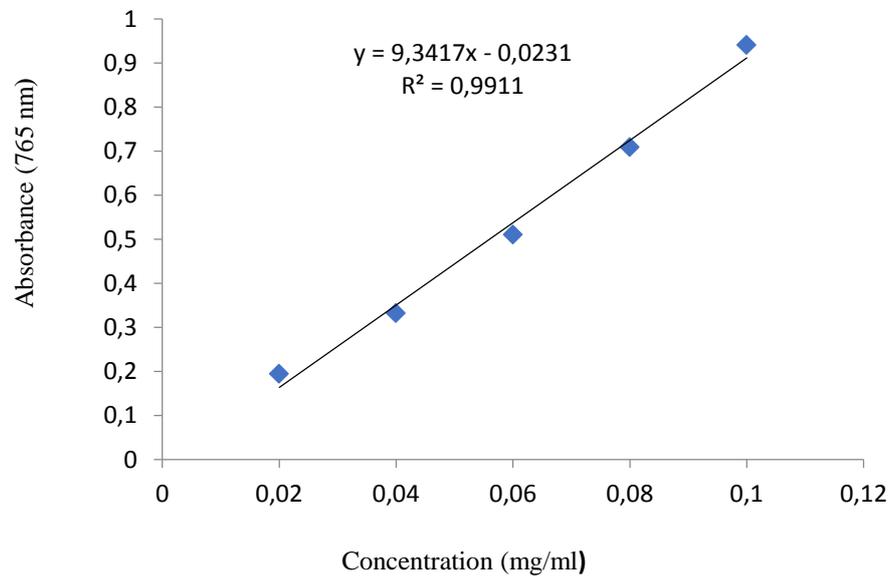
**Walter W., Flemming HP. & Etchells JL., 1973:** Preparation of antimicrobial compounds by hydrolysis of oleuropein from green olives. *Applied Microbiology* **26**, 773-776.

**Willett W., 1999:** Dietary fat and breast cancer. *Toxicol Sci* **52**, 127- 46.

### Z

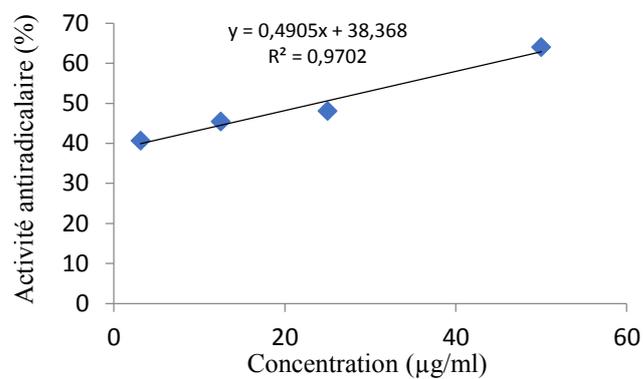
**Zampa A., Silvi S., Servili M., Montedoro G., Orpianesi C. & Crecí., 2006:** In vitro modulatory effects of colonic microflora by olive iridoids. *Microb. Ecol. Health Dis* **18**, 147-153.

# *Annexes*

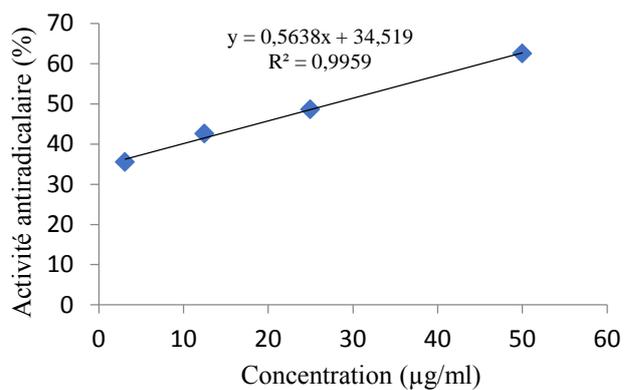
**Annexe 01:** Dosage des polyphénols totaux.**Figure 1** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

## Annexe 02: Activité antiradicalaire de l'huile d'olive vierge

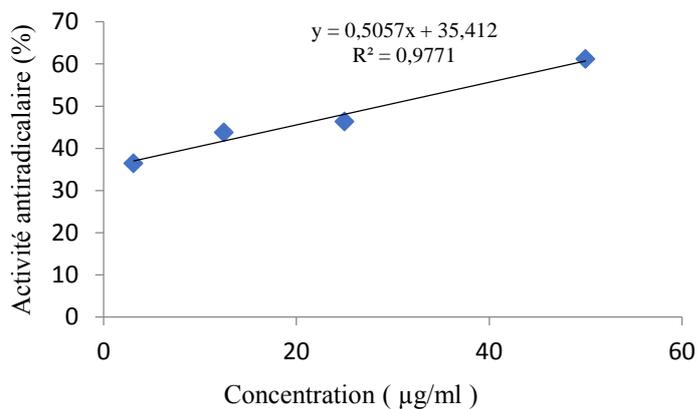
Test 1



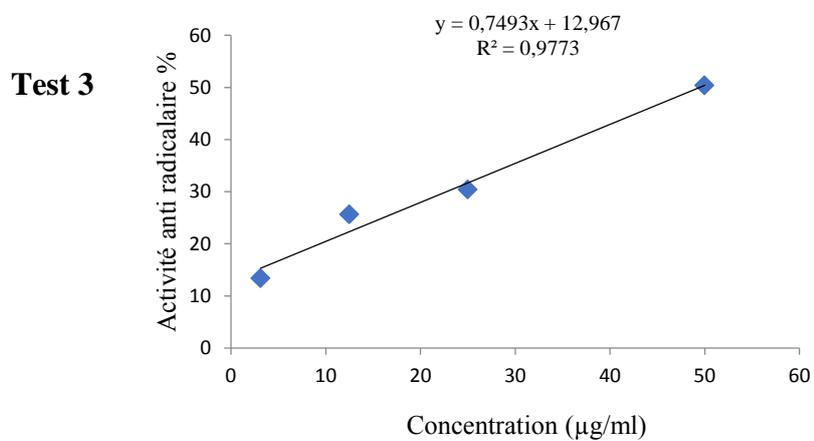
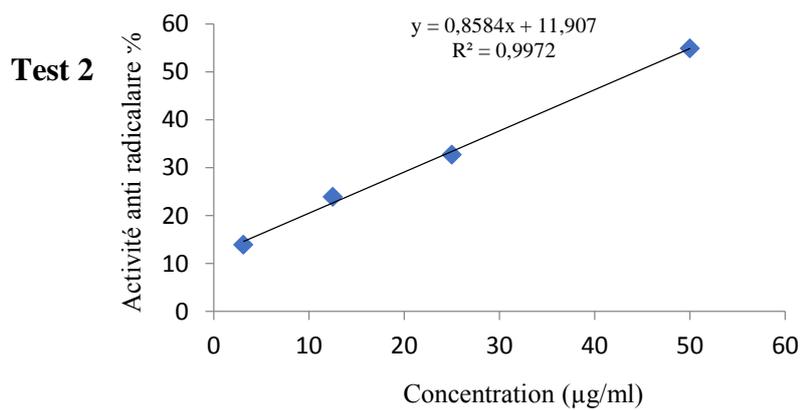
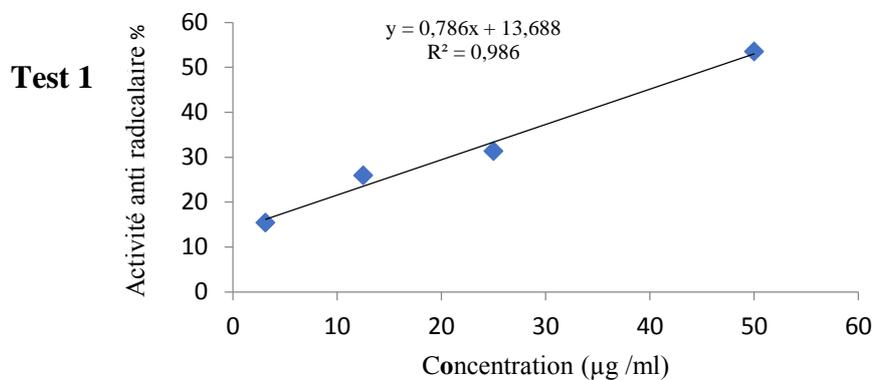
Test 2

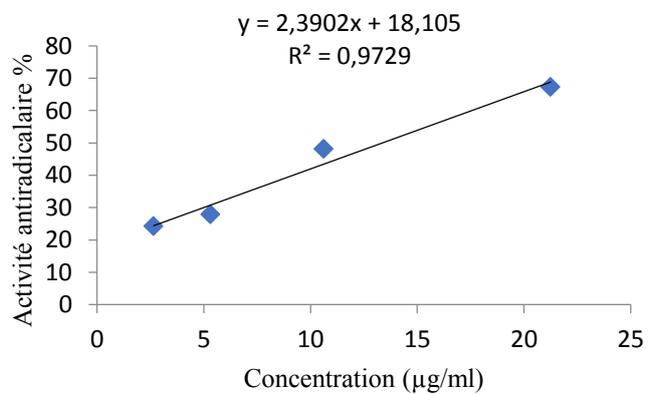
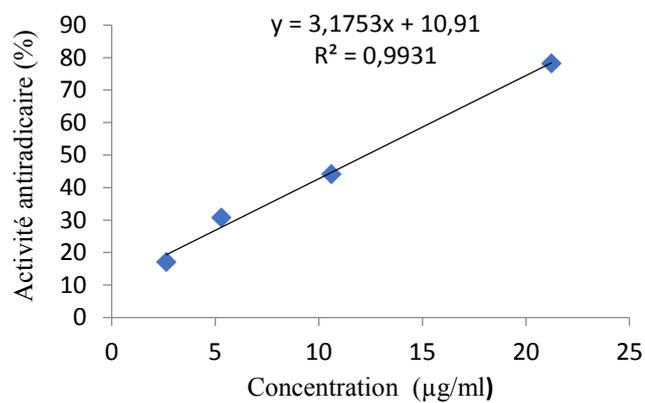
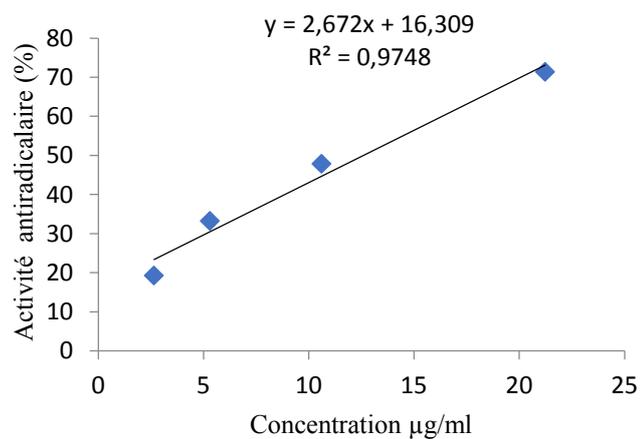


Test 3



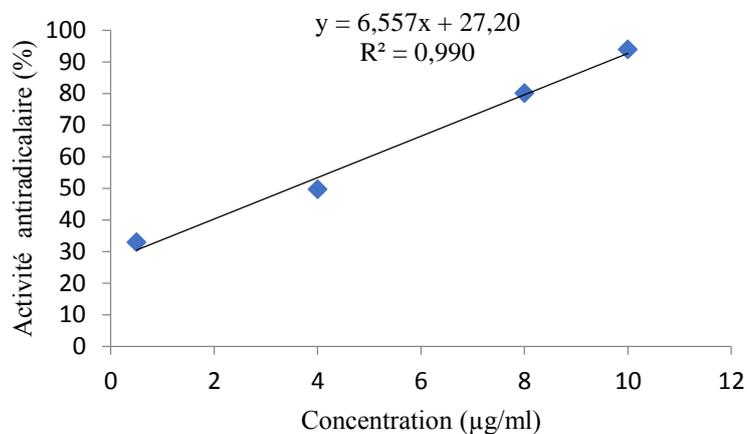
## Annexe 03 : Activité antiradicalaire de l'huile d'olive extra vierge



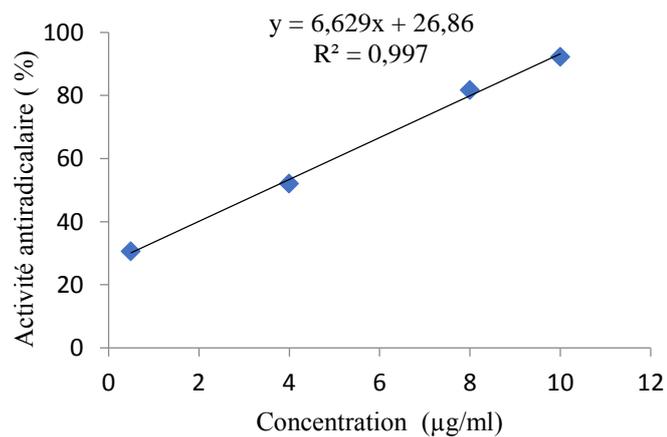
**Annexe 04** : Activité anti radicalaire des feuilles d'olivier.**Test 1****Test 2****Test 3**

## Annexe 05: Activité antiradicalaire de l'acide ascorbique

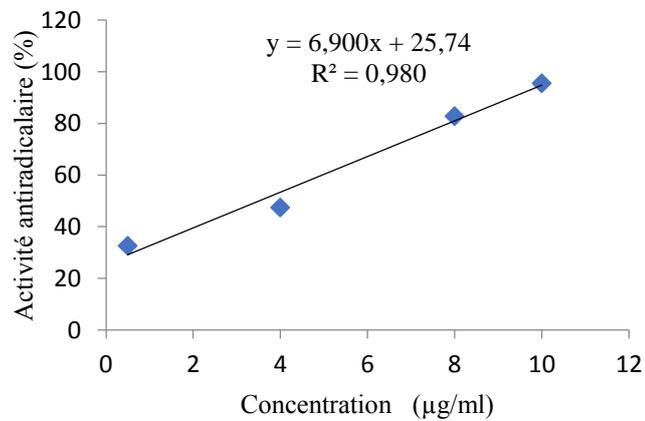
Test 1



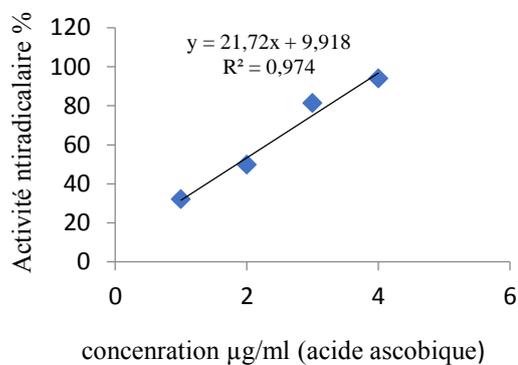
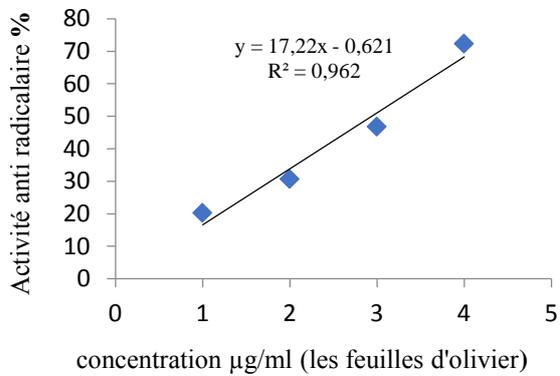
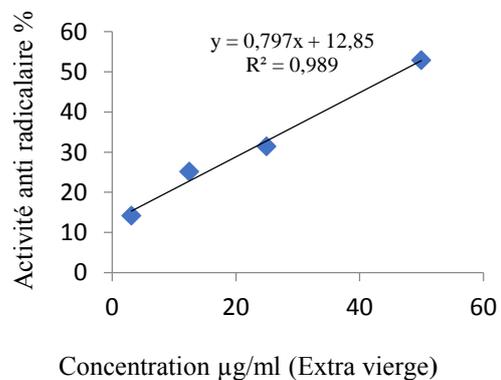
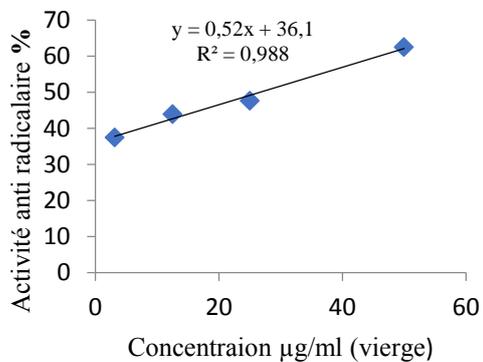
Test 2



Test 3



## Annexe 06 : Activité anti radicalaire (moyenne des tests)



## Annexe 07 : Analyse statistique

### Dosage des polyphénols

#### Tableau de moyennes pour Absorbance

Effet: Echantillon

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Extra vierge	3	1,066	,019	,011
Feuilles	3	1,356	,019	,011
Vierge	3	2,491	,067	,039

#### Test PLSD de Fisher pour Absorbance

Effet : Echantillon

Niveau de significativité: 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Extra vierge, Feuilles	-,290	,084	,0001	S
Extra vierge, Vierge	-1,425	,084	<,0001	S
Feuilles, Vierge	-1,135	,084	<,0001	S

### Analyse DPPH Huile vierge

#### Tableau de moyennes pour % Inhibition

Effet: Concentration

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
12,500	3	43,879	1,422	,821
25,000	3	47,646	1,176	,679
3,125	3	37,476	2,724	1,573
50,000	3	62,524	1,412	,815

#### Test PLSD de Fisher pour % Inhibition

Effet: Concentration

Niveau de significativité: 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
12,500, 25,000	-3,766	3,371	,0328	S
12,500, 3,125	6,403	3,371	,0023	S
12,500, 50,000	-18,644	3,371	<,0001	S
25,000, 3,125	10,169	3,371	,0001	S
25,000, 50,000	-14,878	3,371	<,0001	S
3,125, 50,000	-25,047	3,371	<,0001	S

### Analyse DPPH Huile Extra-vierge

#### Tableau de moyennes pour % Inhibition

Effet: Concentration

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
12,500	3	25,141	1,069	,617
25,000	3	31,450	1,142	,659
3,125	3	14,218	1,019	,588
50,000	3	52,919	2,312	1,335

#### Test PLSD de Fisher pour % Inhibition

Effet: Concentration

Niveau de significativité: 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
12,500, 25,000	-6,309	2,798	,0008	S
12,500, 3,125	10,923	2,798	<,0001	S
12,500, 50,000	-27,778	2,798	<,0001	S
25,000, 3,125	17,232	2,798	<,0001	S
25,000, 50,000	-21,469	2,798	<,0001	S
3,125, 50,000	-38,701	2,798	<,0001	S

### Analyse DPPH des Feuilles d'olivier

#### Tableau de moyennes pour % Inhibition

##### Effet : Concentration

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
10,62	3	46,687	2,247	1,297
2,65	3	20,186	3,661	2,114
21,24	3	72,257	5,494	3,172
5,31	3	30,642	2,641	1,525

#### Test PLSD de Fisher pour % Inhibition

##### Effet : Concentration

##### Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
10,62, 2,65	26,501	7,021	<,0001	S
10,62, 21,24	-25,569	7,021	<,0001	S
10,62, 5,31	16,046	7,021	,0008	S
2,65, 21,24	-52,070	7,021	<,0001	S
2,65, 5,31	-10,455	7,021	,0089	S
21,24, 5,31	41,615	7,021	<,0001	S

### Analyse DPPH Acide ascorbique

#### Tableau de moyennes pour % Inhibition

##### Effet: Concentration

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
0,5	3	32,011	1,179	,681
10	3	93,868	1,623	,937
4	3	49,684	2,301	1,328
8	3	81,515	1,362	,786

#### Test PLSD de Fisher pour % Inhibition

##### Effet: Concentration

##### Niveau de significativité: 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
0,5, 10	-61,858	3,147	<,0001	S
0,5, 4	-17,674	3,147	<,0001	S
0,5, 8	-49,504	3,147	<,0001	S
10, 4	44,184	3,147	<,0001	S
10, 8	12,353	3,147	<,0001	S
4, 8	-31,830	3,147	<,0001	S