REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTER DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme **Master**

En Biologie

Spécialité : Biotechnologie et microbiologie appliquée

Par

M^{elle} KHELIFI Yasmina

M^{elle} LADJELAT Zhor

Thème

Evaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes des huiles d'oléastre

Soutenue publiquement : 19 /06/2018.Devant le jury composé de :

Président	DOUAOUI Sana	M.A.A	Université de Médéa
Examinateur 1	BENNADJI Amine	M.A.A	Université de Médéa
Examinateur 2	BOUKHALFUON Leila	M.A.A	Université de Médéa
Promotrice	BOUMEDIENE Farida	M.A.A	Université de Médéa
Co-promoteur	BOUBAKRI KAMEL	M.A.A	Université de Médéa

Année universitaire : 2017/2018

REMERCIEMENTS

Nous remercions le bon dieu le tout puissant de nous avoir donné la force nécessaire et La patience qui nous a permet de mener à bien ce modeste travail.

Au moment où s'achève ce travail, permettez-nous de remercier du fond du Cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de thèse, nous ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.

En premier lieu, nous remercions nos parents qui nous ont accompagné durant toutes nos études .

Nos vifs remerciements vont à notre promotrice Mme BOUMEDIENE Farida, d'avoir bien voulu diriger ce travail, pour sa disponibilité, son assistance, ses conseils pertinents et ses recommandations continues pour nous.

Nous remercions l'ensemble des membres du jury, DAOUAOUI Sana, BENNADJI Amine, BOUKHALFOUN Leila d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous remercions en particulier Mr TAFAHI Djamel. pour son accueil au laboratoire d'hygiène et pour son aide précieuse.

Nous remercions, également Mme NAKABE Salma pour son aide et ses conseils.

Nous remercions également le Professeur, le responsable du laboratoire de à l'INRA d'Alger pour son aide à réaliser l'extraction de l'huile étudiée.

Nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux vont également à tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont attribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail et son bonheur

A ma chère maman pour son amour et sa tendresse qui m'a accompagnée durant toute ma vie

A mon cher papa, La présente étude n'aurait pas été possible sans son encouragement et son sacrifice.

A mes frères et mes sœurs pour leurs soutiens moraux le long de mes études

À ma grand-mère maternelle, à mes nièces et mes neveux et à mes belles sœurs et mes beaux frères

A mon binôme

Et à mes amies et à tous qui m'ont aidé de loin ou de près.

Yasmina

Dédicace

Je tiens de dédier ce modeste travail en premier et avant tous

À mes parents, pour leurs tendresses, leurs amours, leurs encouragements et leurs sacrifices, ma réussite est grâce à eux, et mon grand bonheur aujourd'hui c'est leurs présences avec moi.

A mes frères et mes sœurs qui ont été avec moi dans les bonnes et les mauvais moments, et je n'oublie jamais leurs encouragements qui m'ont poussé pour terminer ce travail.

A mon fiancé

A mes nièces, mes neveux, et à toute ma famille

A mon binôme, à mes amis et à tous les personnes que je connais

Zhor

RESUME

L'Olive sauvage (oléastre) a toujours été considéré comme porte greffe, existent en abondance en Algérie, comparant à l'olivier elle présente des différences morphologiques mais peuvent présenter des caractéristiques comparables concernant ; sa composition, activités biologiques et qualités nutritionnelles.

L'objectif de cette étude est l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne des huiles obtenus à partir des olives sauvage avec un comparaison à des huiles obtenus à partir des olives de variété cultivée (variété Bouchouk) ; de la région de Médéa, extraite par une oléo doseur.

La caractérisation pomologique des deux variétés étudiées a montré une différence entre les deux variété en terme de poids, largeur, longueur, taux d'humidité et de la teneur en huile.les caractéristiques chimiques sont conformes aux normes internationales, pour les deux huiles ; et elles permettent de classé l'huiles des deux variétés dans la catégorie d'huile de bonne qualité .

Les résultats de dosage de poly phénol ont montré l'existence d'une déférence en contenu de poly phénols entre les deux huiles.

L'activité antioxydant de ces huile a été évalué *in vitro* par les tests du DPPH ;

les résultats obtenus, il ressort que ces huiles ont une capacité de piéger le radical DPPH avec des CI50 de 84,13et 165.24 mg/ml pour l'huile d'oléastre et l'huile d'olive de variété Bouchouk, respectivement.

L'activité antimicrobienne des deux huiles a été également évaluée *in vitro* en utilisant la méthode aromatogramme et la methode micro atmosphère ; Les résultats obtenus par la méthode aromatogramme montrent une différence d'activité des huiles étudiées vis-à-vis les souches testées, l'activité antimicrobienne la plus importante a été observée à l'égard *Bacillus cureurs* , contrairement à *Klebsiella pneumoniae* , *Candida albicans* et *Aspergillus niger* qui présentent la résistance la plus élevée, concernent la méthode aromatogramme, les résultats obtenus montrent une absence d'activité des deux huiles vis-à-vis toute les souche testées .

Mots-clés : Huile d'oléastre, activité antimicrobienne, activités antioxydant, polyphénols

ABSTRACT

The wild olive (oleaster) has always been considered as a rootstock, exist in abundance in Algeria, comparing with the olive tree it presents morphological differences but can present comparable characteristics concerning; its composition, biological activities and nutritional qualities. The objective of this study is the evaluation of antioxidant and antimicrobial activities oils obtained from wild olives with a comparison to oils obtained from olives of cultivated variety (Bouchouk variety), from the region of Medea, extracted by an oil metering machine. The pomological characterization of the two varieties studied showed a difference between the two varieties in terms of weight, width, length, moisture content and oil content. The chemical characteristics are in accordance with international standards, for both oils; they make it possible to classify the oils of the two varieties in the category of oil of good quality.

The polyphenol assay results showed the existence of a polyphenol content deference between the two oils. The antioxidant activity of these oils was evaluated in vitro by the DPPH tests;

the results obtained, it appears that these oils have a capacity to trap the DPPH radical with IC50 of 84,13 and 165.24 mg / ml for the oleaster oil and olive oil of Bouchouk variety, respectively. The antimicrobial activity of both oils was also evaluated in vitro using the aromatogram method and the micro atmosphere method; The results obtained by the aromatogram method show a difference in activity of the oils studied against the strains tested, the most important antimicrobial activity was observed with regard to *Bacillus cureurs*, unlike *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* and *Aspergillus niger* which have the highest resistance, concern the aromatogram method, the results obtained show a lack of activity of the two oils against all strain tested.

Keywords: Oleaster oil, antimicrobial activity, antioxidant activities, polyphénols

ملخص

يوجد الزيتون البري بوفرة في الجزائر و يستعمل في اغلب الأحيان كجدر للتطعيم. مقارنة مع الزيتون المزروع هناك اختلافات مورفولوجية بينهما لكن يمكن أن يكون لديهما خصائص متشابهة من حيث التركيب ,النشاطات البيولوجية,و القيمة الغذائية.

تهدف هذه الدراسة إلى تقدير النشاطات المضادة للأكسدة والمضادة للمكروبات للزيت التي تم الحصول عليها من الزيتون البري مقارنتها مع الزيت التي تم الحصول عليها من الزيتون المزروع من صنف (Bouchouk) ،بمنطقة المدية, المستخرج بواسطة آلة عصر (oléo deseur) .

أظهرت الدراسة الوصفية **أن** هناك فرق بين الصنفين المدروسين من حيث الوزن، الطول، العرض, نسبة الرطوبة, محتوى الزيت.كما تبين لدينا أن الخصائص الكيمائية لكلا الزيتيين مطابقة للمعايير الدولية وبالتالي يمكننا تصنيفهما مع الزيوت ذات النوعية الجيدة.كما أظهرت نتائج معايرة **متعدد الفينول** وجود تباين بين الزيتيين في محتوى هدا الأخير.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذه الزيوت في المختبر باستعمال اختبارات DPPH,أثبتت النتائج المتحصل عليها أن هذه الزيوت لديها القدرة على التقاط الجدر الحر DPPH بIC_{50} تعادل 84.13 و 165.24ميليغرام/مل بالنسبة لزيت الزيتون البري وزيت الزيتون صنف (Bouchouk) على التوالي.

كما تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات لكل من الزيوت باستخدام طريقتين (micro atmosphére aromatogramme,)النتائج المتحصل عليها بطريقة (aromatogramme)بينت اختلاف في نشاط هذه الزيوت ضد الميكروبات المختبرة,البكتيريا الأكثر تأثيرا بنشاط هذه الزيوت هي (*Bacillus cureus*)على عكس (*Klebsiella pneumoniae*),(*Candida albicans*),(*Aspergillus niger*) التي قاومت نشاط هذه الزيوت.

و بالنسبة للطريقة الثانية (micro atmosphère) .بينت لنا النتائج المتحصل عليها عدم وجود تأثير لنشاط هذه الزيوت على كل الميكروبات المختبرة .

الكلمات المفتاحية : زيت الزيتون البري(oléastre). النشاط المضاد للميكروبات ، النشاط المضاد للأكسدة ،متعدد الفينول .

SOMMAIRE

	INTRODUCTION……..	**01**
I	**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**	
I-1	HUILES VEGETALES**…….**	**03**
I-1-1	Généralités **……**	**03**
I-1-2	Définition **……..**	**03**
I-1-3	Classification **……**	**03**
I-1-4	Les Composition d'une huile végétale **…….**	**04**
I-2	GENERALITE SUR L'OLEASTRE**…….**	**06**
I-2-1	définitions**……..**	**06**
I-2-2	distributions **……...**	**06**
I-2-3	Facteurs influençant la répartition **……**	**07**
I-2-3-1	le sol **……..**	**07**
I-2-3-2	le Climat **……...**	**08**
I-2-4	Aspect botanique **…….....**	**09**
I-2-4-1	Systématique **……**	**09**
I-2-4-2	Description botanique **…….....**	**10**
I-3	L'HUILE D'OLEASTRE**…….**	**12**
I-3-1	définition **……..**	**12**
I-3-2	Composition chimique d'huile d'oléastre **……**	**12**
I-3-2-1	Fraction saponifiable **……**	**12**
I-3-2-2	Fraction insaponifiable **……**	**14**
I-3-3	Activité antioxydante **……**	**15**
I-3-3-1	Les antioxydants **……...**	**15**
I-3-3-1-1	Les antioxydants primaires **……**	**15**
I-3-3-1-2	Les antioxydants secondaires **……**	**15**
I-3-3-2	Les Antioxydants d'origine de l'huile d'oléastre**.....**	**16**

I-3-4	Activité antimicrobienne **…….....**	**17**
I-3-4-1	Généralités **……**	**17**
I-3-4-2	Les principales substances antimicrobiennes **…….**	**17**
I-3-4-2-1	l'antibiotique **…….**	**18**
I-3-4-2-2	les composés d'huile d'oléastre **……**	**18**
I-3-4-3	Mécanismes d'action des substances antimicrobiennes **…….....**	**19**
I-3-4-4	Description des souches étudiées **……**	**19**
II	**PARTIE PRATIQUE**	
II-1	**Matériel et méthodes**	
II-1-1	Matériel végétal**……..**	**23**
II-1-2	Présentation de la zone d'étude**…….**	**23**
II-1-3	L'extraction d'huile**……**	**25**
II-1-4	Caractérisation pomologique des olives**……...**	**26**
II-1-5	Détermination de taux d'humidité ou teneur en eau**……..**	**26**
II-1-6	Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'huile**……...**	**27**
II-1-6-1	Indice d'acide**……**	**27**
II-1-6-2	Indice de saponification **……**	**28**
II-1-6-3	Indice de peroxyde**…….**	**29**
II-1-7	Dosages des phénols totaux**……...**	**31**
II-1-7-1	Extraction des composés phénolique**…….**	**31**
II-1-7-2	Dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin Ciocalteu**….**	**32**
II-1-8	Etude de l'activité antioxydante**…….**	**33**
II-1-9	Activité antimicrobienne **……..**	**35**
II-1-9-1	les souches testées**……..**	**35**
II-1-9-2	Matériel et produits utilisés**…….**	**35**
II-1-9-3	préparation de pré culture**……**	**35**
II-1-9-4	préparation de l'inoculum**……..**	**36**
II-1-9-5	Les méthodes d'activité antibactérienne**……...**	**36**
II-1-9-5-1	méthode Aromatogramme sur milieu solide**……**	**36**
II-1-9 -5-2	méthode Micro atmosphère**……**	**39**
II-1-10	la lecture de résultat**……..**	**40**

II-2	**RESULTATS ET DISCUSSION**	
II-2-1	Rendement en huile**…….....**	**42**
II-2-2	Etude pomologique des fruits**……**	**43**
II-2-3	Caractérisation physique des variétés d'olive**……**	**43**
II-2-4	Détermination de taux d'humidité ou teneur en eau**……..... …**	**44**
II-2-5	Caractérisation de l'huile d'oléastre et de l'huile d'olive cultivé**……**	**44**
II-2-5-1	Caractéristiques chimiques**……**	**45**
II-2-5-2	Phénols totaux**……**	**46**
II-2-6	Activité antioxydant de l'huile contre le radical DPPH**……**	**48**
II-2-7	Activité antimicrobiennes**……**	**50**
II-2-7-1	méthode aromatogramme**……**	**50**
II-2-7-1-1	Activités antibactériennes**……**	**50**
II-2-7-1-2	Activité antifongique**……**	**53**
II-2-7-2	Méthode micro atmosphère**…….....**	**56**
	CONCLUSION**……..**	**58**

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
I	Composition en acides gras de quelques huiles végétales exprimée en pourcentage	5
II	Composition de l'huile d'oléastre en acide gras comparée à l'huile d'olive cultivée	13
III	Teneur en antioxydants (mg/Kg d'huile) de l'huile d'oléastre comparée à l'huile d'olive cultivé	14
IV	les souches microbiennes	36
V	matérielles et produits	36
VI	les caractéristiques physiques des olives de deux variétés bouchouk et oléastre de Médéa.	43
VII	les résultats des caractères chimiques de l'huile de VO et VB	45
VIII	Variation de l'activité antibactérienne de variété VO en fonction de différentes concentrations	50
IX	Variation de l'activité antibactérienne de variété VB en fonction de différentes concentrations	51
X	Variation de l'activité antifongique de variété VB et VO en fonction de différentes concentrations	53
XI	l'activité antimicrobienne des deux variétés VB et VO en fonction de différentes volumes	56

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
1	Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen	7
2	Schéma de la taxonomie du genre *Olea* (Oleaceae) simplifiée et répartition géographique des taxons.	10
3	Forme des fruits, feuilles et inflorescence de l'oléastre (A) : inflorescence, (B) : feuilles, (C) : Fruits murs, (D) :l'arbre d'oléastre	11
4	les systèmes de défense contre les radicaux libres	16
5	Carte des zones d'échantillonnage.	23
6	le fruit et l'arbre d'oléastre de la commune de Benchicao	24
7	le fruit et l'arbre d'olive cultivé de la commune de Berrouaghia	24
8	image de l'oléo doseur	25
9	image de pieds-coulisse	26
10	détermination de l'indice d'acidité	28
11	détermination de l'indice de saponification	30
12	détermination de l'indice de peroxyde	31
13	l'extraits méthanolique des deux variétés Benchicao et Berrouaghia	33
14	le dosage des phénols totaux	34
15	série des dilutions des huiles avec le réactive de DPPH	35
16	l'ensemencement et dépôt des disques ; (A) –chargement de l'écouvillon, (B)-l'ensemencement, (C)-imprégnation des disques, (D)-dépôt des disques	38
17	préparation de la solution antimicrobienne ;(A)- l'antifongique, (B)- l'antibiotique, (C)-les deux solutions	39

18	**mode opératoire de la méthode Micro atmosphère (A) le dépôt des disques, (B) le chargement de micropipette par les huiles (C) le déchargement de s huiles dans les disques**	**41**
19	**Les huiles d'olive des deux variétés Oléastre et Bouchouk (cultivée)**	**42**
20	**les pourcentages de rendement en huile d'olive des deux variétés VO, VB**	**42**
21	**Taux d'humidité et de matière sèche des olives de variété Bouchouk et oléastre.**	**44**
22	**valeurs en polyphénols de l'extrait méthanolique de l'huile de VO et VB**	**47**
23	**Pourcentage d'inhibition pour l'huile de VO et l'huile de VB**	**48**
24	**Valeurs d'IC50 de l'huile de VB et VO**	**49**
25	**les résultats de l'effet de l'huile de VO sur la croissance de :A) : *B.cereus* .B) :*P. aeruginosa* .C) : *E*.coli.D) :*E. faecalis*.E) ; *S.aureus.*F) :*K. pneumoniae.* 1) :1000µg/ml.2) :500 µg/ml.3) :250 µg/ml.4):125 µg/ml**	**51**
26	**les résultats de l'effet de l'huile de VB sur la croissance de :A) : *B.cereus* . B) :*P.aeruginosa* .C) : *E*.coli.D) :*E. faecalis*.E) :*s.aureus.*F) :*K. pneumoniae.* Bn) . 1) :1000µg/ml.2) :500 µg/ml.3) :250 µg/ml.4):125 µg/ml**	**52**
27	**les résultats de l'effet de l'huile de VO sur la croissance de : A) :*Candida albicains* . B) : *Aspergillus niger***	**54**

28	**les résultats de l'effet de l'huile de VO sur la croissance A) : *Candida albicains* ; B) : *Aspergillus niger.***	**54**
29	**les résultats de la méthode micro atmosphère vis-a-vis *B.Ceureus* pour les deux variétés d'olive**	**57**

Liste des abréviations

AC : Acide

AG : Acide Gras.

AGMI : Acide gras monoinsaturés.

AGPI : Acide gras polyinsaturés.

AGS : Acide gras saturé.

ATCC : American Type Culture Collection

***B.ceureus* :** *Bacillus cereus*

CI50 : Concentration inhibitrice à 50%

COI : Conseil Oléicole International.

COX : Cyclooxygenase

D.O : Densité optique

DMSO : diméthyle sulfoxyde

DPPH : 2,2 diphényl-1- picrylhydrazil

***E.coli* :** *Escherichia coli*

E.faecalis: *Entérococcus faecalis*

FAO: Food and Agriculture Organization

H2O2 : Eau Oxygénée ou peroxyde d'hydrogene

H% : le pourcentage d'humidité

IA : indice d'acide

IS : indice de saponification

IP : indice de peroxyde

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

GSH: Reduced glutathione

GSSG: Glutathionedissulfide

LOO: linoléyldioléine

LDL : Low density lipoprotein ou lipoprotéine de basse densité

MS% : le pourcentage de matière sèche

mg : milligrame

ml : millilitre

nm : nanomètre

MH: Muller Hinton

OH •: Radical hydroxyle

O 2•*:* Anion superoxyde

OOO: Trioléine

O2: Dioxygène

***P.aeruginosa* :** *Pseudomonas aeruginosa*

POO: palmityldioléine

***K.pneumoniae*:** *Klebsiella pneumoniae*

ROO • : Radical peroxyde

R : les radicaux

***S.aureus* :** *Staphylococcus aureus*

SOD : Superoxyde dismutase

VB : Variété d'olive nommée Bouchouk

VO : Variété d'oléastre

%I : Pourcentage d'inhibition

INTRODUCTION

Introduction

Les huiles végétales vierges constituent une source importante de nutriments (présence d'acides gras essentiels, vitamines liposolubles, polyphénols, phytostérols…) qui leur confèrent un rôle particulier dans les régimes alimentaires des populations **(Lecerf, 2011).**

Parmi les huiles végétales alimentaires, l'huile d'olive occupe une place importante dans l'alimentation traditionnelle des pays méditerranéens. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable **(Boskou, 1996).**

Dans les quelques dernières décennies, il ya eu une augmentation significative de la consommation globale de l'huile d'olive, même dans les pays où elle n'est pas produite, comme le Canada et le Japon **(Mili, 2006).** Cela est dû en grande partie à ses effets nutritionnels et bénéfiques sur la santé qui ont été liées à leur compositions **(Lazzez *et al.*, 2008).**

Des études récentes ont montré que l'oléastre qui appartient à la végétation naturelle des aires méditerranéennes, produit une huile de haute qualité comparable à celle des variétés cultivées les plus connues en terme de stabilité, composition en acides gras et en insaponifiable essentiellement les tocophérols et les composés phénoliques **(Dabbou *et al.*, 2010 ; Hannachi *et al*., 2012) .** Cette huile est très rare en Algérie malgré la richesse du patrimoine forestier en oléastres; elle se vend quatre fois plus chère que l'huile d'olive **(Boualem, 2009).**

La richesse de l'huile d'olive en composés très variés, telle que les composés phénoliques (principalement l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine et le tyrosol), agissant comme antioxydants naturels **(Visioli *et al*., 2002)** ,qui piègent les radicaux libres et par conséquent protègent le corps humain **(Cicerale *et al*., 2009).**

En outre, beaucoup de travaux de recherche ont montré que les huiles d'olive ont une haute activité antimicrobienne contre un large spectre d'espèces pathogènes **(Medina *et al*., 2006; Karaosmanoglu *et al*., 2010)** grâce à leurs compositions qui inhibent ou ralentissent la croissance de plusieurs bactéries. La maîtrise des infections bactériennes devient complexe

du fait de l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques **(Bouzenoune *et al*., 2009)** pour cela le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ce phénomène.

En ce qui concerne l'huile de l'oléastre très peu d'informations sur sa composition et ses effets pharmacologiques potentiels sont connues ; trop peu de gens peuvent prétendre savoir que l'oléastre donne une huile appréciée notamment en pharmacologie (**Boualem, 2009),** mais jusqu'à présent mis à part quelques indications thérapeutiques avancées par quelques paysans algériens.

De nombreuses études ont été menées sur la caractérisation des principaux cultivars mais peu d'attention a été attribuée à l'étude de la composition, de la qualité et de l'effet thérapeutique de l'huile obtenue à partir de l'oléastre algérien seulement quelques études ont été entreprises en Algérie **(Belarbi et *al.*, 2011).**

Dans le but de valoriser les produits de nos terroirs délaissés, cette étude porte sur :
L'étude des caractéristiques physicochimiques et l'évaluation *in vitro* d'activité antioxydante et antimicrobienne d'une huile d'oléastre et d'une huile d'olive cultivée (wilaya de Médéa) extraite à l'aide d'un oléo doseur.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1-Les Huiles végétale

I-1-1.Généralités

L'huile est utilisée depuis des siècles, bien que les premières matières grasses utilisées par l'homme proviennent de la graisse fondue des animaux. La première utilisation de l'huile n'avait pas de vocations alimentaires, il s'agissait bien souvent de combustible servant à l'éclairage. L'huile est une matière grasse, onctueuse et épaisse, souvent liquide à température Ambiante. Une huile végétale renferme en général plus de 99 % de lipides, ni glucides, ni protides et très peu ou pas de cholestérol. Quelques vitamines et antioxydants liposolubles complètent le pourcentage restant (1%) **(Debruyne, 2001).**

Elles sont indispensables pour la santé car elles apportent les acides gras nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. De plus que leur goût et leur prix, les huiles végétales différent par leur composition, d'ou l'importance de bien choisir ses produits, surtout pour un usage quotidien **(Debruyne, 2001).**

I-1-2.Définition

Une huile végétale est un mélange à consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances majoritairement hydrophobes, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, non volatiles : on parle alors d' « huile fixe ou grasse » **(Karleskind , 1992 ; FAO, 1993).**

I-1-3.Classification

Les huiles végétales alimentaires sont subdivisées en deux classes : huile raffinée et huile vierge.

Les huiles raffinées sont obtenues par des procédés technologiques (raffinage) qui comprend les opérations suivantes : Démucilagination ou dégommage (élimination des mucilages) ; la neutralisation (élimination des acides gras libres) ; décoloration (élimination

des pigments et des colorants ; la désodorisation (élimination des produits odorants et volatils).

Les huiles vierges sont obtenues uniquement par des procédés mécaniques et physiques et qui n'ont subi aucun traitement chimique ni aucune opération de raffinage **(Gherib, 2015)**

I-1-4. Les Composition d'une huile végétale

Les huiles végétales sont des triglycérides (combinaison entre trois acides gras et une molécule de glycérol, dont la composition dépend de la nature de la plante, de ses conditions de culture, du sol et de la saison. Le mot « huile » se rapporte aux triglycérides qui se trouvent dans leur état liquide à température ambiante. Les paramètres qui différencient les huiles et affectent leurs propriétés physiques et chimiques sont le nombre de carbones qui composent les acides gras, le degré d'insaturation, la stéréochimie des doubles liaisons **(Aurélie, 2010).**

Les huiles végétales comestibles contiennent rarement des acides gras à chaînes ramifiées, ou avec un nombre impair de carbones mais contiennent des acides gras saturés et insaturés dont le nombre de carbone varie entre seize et vingt atomes, estérifiant des molécules de glycérol, formant ainsi les triacylglycérols. Le **Tableau I** montre la composition en acides gras de quelques huiles végétales.

Leur composition en triacylglycérols suivent généralement un modèle dans lequel les acides gras en position-2 de la molécule de glycérol sont insaturés, avec de l'acide linolénique, étant plus favorisé que l'acide linoléique et oléique ; alors que les saturés sont estérifiés en position -1 et -3. Des acides gras saturés sont trouvés en position-2, uniquement quand il y a une concentration globale très élevée en acides gras saturés dans le corps gras **(Kiritsakis et Christie, 2000).**

Les principaux triacylglycérols de l'huile d'olive sont POO (18,4 %), SOO (5,1 %), POL (5,9%), OOO (43,5 %), OOL (6,8 %) (P: acide palmitique; O: acide oléique; S: acide stéarique; L: acide linoléique) **(Fedeli, 1977).**

Tableau I : Composition en acides gras de quelques huiles végétales exprimée en pourcentage (Harwood et Aparicio, 2000).

AG		Huile d'olive	Huile de colza	Huile de noix de coco	Huile de Maïs	Huile de tournesol
Ac myristique	C14 :0	≤0,05	0,1-0,2	16,5- 20,8	0-0,3	0-0,1
Ac palmitique	C16 :0	7,5-20,0	3,0-5,0	8,2-10,2	9,1-16,8	5,5-7,2
Ac palmétoléique	C16 :1	0,3-3,5	0,2-0,6	/	0-0,3	0-0,3
Ac heptadécanoique	C17 :0	≤ 0,3	/	/	/	/
Ac heptadécénoique	C17:1	≤ 0,3	/	/	/	/
Ac stéarique	C18 :0	0,5-5,0	1,0-2,0	2,3-3,4	1,4-3,0	2,8-6,5
Ac oléique	C18 :1	55,0-83,0	52,0-67,0	4,3-8,1	20,0- 38,0	14,0-38,0
Ac linoléique	C18 :2	3,5-21,0	16,0-24,8	0,7-2,0	39,5-65,0	48,2-74,2
Ac linolénique	C18 :3	≤0,9	6,5-14,0	/	0,6-1,4	0-0,1
Ac arachidique	C20 :0	≤0,6	0,2-0,8	/	0,3-0,7	0,2-0,4
Ac eicosénoique	C20 :1	≤0,4	0,9-2,4	/	0,2-0,4	0-0,2
Ac béhénique	C22 :0	≤0,2	0,1-0,5	/	0-0,5	0,7-1,3
Ac lignocérique	C24 :0	≤0,2	0-0,2	/	0-0,3	0-0,4

Les huiles végétales constituent la meilleure source de vitamines, dont les formes les plus fréquemment rencontrées sont l'α- et le γ-tocophérols. L'α tocophérol est la forme prédominante dans l'huile d'olive dont la teneur varie de 1,2 à 43 mg/100g **(Kiritsakis et Markakis, 1987).**

Les caroténoïdes sont des pigments lipophiles, parmi lesquels particulièrement le β carotène ou vitamine A. Leur structure moléculaire leur confère dans certaines conditions (oxydation par photosensibilisation) un pouvoir antioxydant par désactivation de l'oxygène actif (forme singulet); ces pigments sont éliminés lors du raffinage **(Joffre, 2011).**

Les composés phénoliques présents notamment dans les huiles d'olive vierges (en particulier l'hydroxytyrosol « forme simple » et l'oleuropéine « forme condensée ») possèdent d'importantes propriétés anti-oxydantes. Les quantités présentes dans des huiles d'olive de différentes provenances dépendent du degré de maturité des olives et sont comprises entre 100 et 400 mg de tyrosol équivalent/kg d'huile (oleuropéine majoritaire) **(Joffre, 2011).**

Parmi les huiles végétales connues, l'huile de l'oléastre a été retenue pour cette étude.

I-2-Généralités sur l'oléastre

I-2-1-définitions

L'Oléastre est un arbre appartenant à la famille des oléacées. L'oléastre est un buisson épineux et à fruits ordinairement petits, il existe sous deux formes non distinguables morphologiquement, indigène et férale **(Besnard et Bervillé, 2000).** Cette espèce est bien adaptée aux conditions de stress hydrique, par conséquent elle est utilisée comme porte greffe et dans le reboisement des zones arides et semi-arides **(Caravaca et *al*, 2002).**

I-2-2-distributions

Pour les botanistes, l'aire de répartition de l'olivier est synonyme de "région méditerranéenne''. 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 (figure1).Aujourd'hui si l'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).**

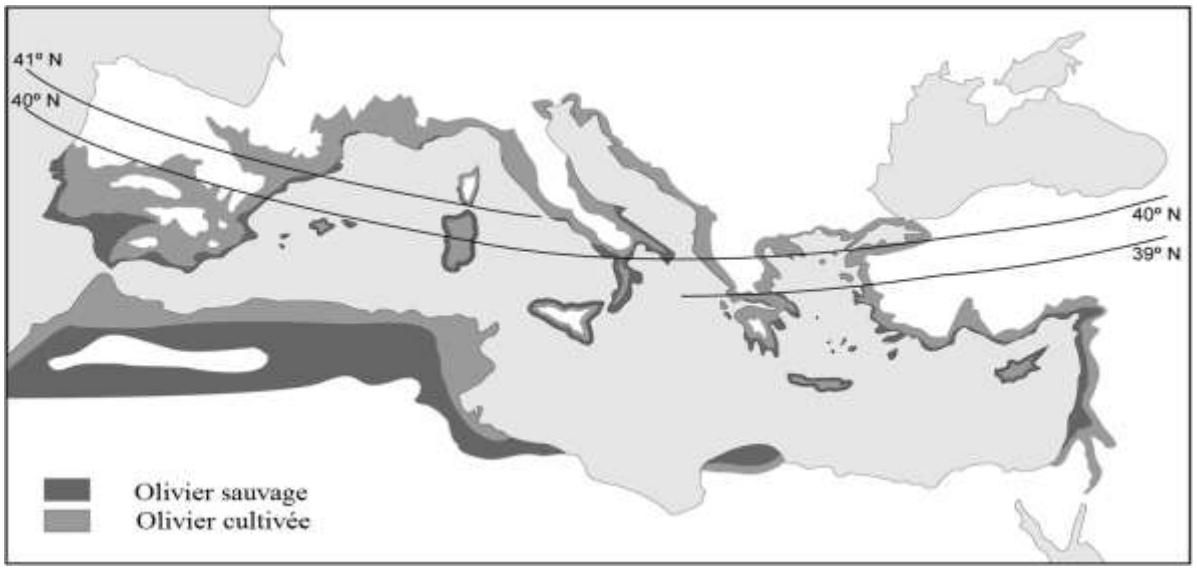


Figure 1: **Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen (Carrion, *et al.*, 2010).**

I-2-3-Facteurs influençant la répartition

I-2-3-1- le sol

Le choix du sol est, en général, très indifférent pour cet arbre ; puisqu'on le voit croître dans les terrains sablonneux, rocailleux, caillouteux, volcaniques **(L'Abbé ,1786)**

Néanmoins, pour obtenir une production optimale, le choix du terrain pour l'implantation d'un verger est déterminant.

Le sol doit être bien aéré pour permettre l'apport d'oxygène aux racines. L'oxygène est nécessaire à une bonne assimilation de l'eau et des éléments minéraux. Les sols filtrants, avec cailloux et graviers, seront donc préférés aux sols asphyxiants, comme les sols argileux **(Gheribe ,2015).**

L'olivier a une capacité d'adaptation ou sol qui est très grande, et donnée une huile plus délicate, plus fine que celle des oliviers plantés dans des sols fortement argileux, compact et humide. **(Loussert et brousse1978)** .

Les terrains humides sont à éviter. Un dicton dit : "l'olivier aime l'eau qui passe sur ses racines et déteste l'eau qui stagne." L'eau stagnante asphyxie le système racinaire et peut entraîner l'apparition de maladies et de parasites **(Argenson, 1999).**

Par ailleurs, l'olivier en zone aride se développera d'autant mieux que la densité de plantation sera faible (environ huit mètres entre chaque arbre). 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).**

I-2-3-2-le Climat

La majorité d'olivier dans le monde est présente dans les pays méditerranéens car le climat méditerranéen créé des conditions idéales pour la culture, elle se caractérisées par une grande luminosité, des étés chauds et secs, des automnes et printemps pluvieux, et des hivers doux **(Labdaoui ,2016).**

L'olivier est un arbre aime la lumière et la chaleur, supporte très bien les fortes températures, même en atmosphère sèche, et ne craint pas les insolations. De même il craint le froid, les températures négatives peuvent être dangereuses particulièrement si elles se produisent au moment de la floraison **(Hannachi *et al.*, 2007).**

L'hiver, les jeunes plants peuvent résister jusque -8 à -10 degrés Celsius, et jusque -12 à -14 degrés Celsius pour les oliviers les plus âgés. Les arbres peuvent supporter ces températures à condition que cette chute de température ne soit pas trop brutale, ni trop tardive. Car le gel peut entraîner une chute des feuilles, les brûler, ou encore faire éclater l'écorce des arbres **(Comte, 1990).**

I-2-4-Aspect botanique

I-2-4-1-Systématique

L'espèce *Olea europaea* L. a été nommée par le suédoise Linné en raison de son aire géographique. C'est l'unique espèce du bassin méditerranéen représentative du genre *Olea.* On distingue deux sous-espèces :

- *Olea europaea Sativa* (l'olivier cultivé) :

Il est constitué par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage ou par greffage.

- *Olea europaea sylvestris* (l'olivier sauvage ou oléastre)

qui se présente sous une forme spontanée comme un buisson épineux et à fruit ordinairement petit **(Boukhezna,2008)**

Taxonomie du genre *olea* : (Cronquist, 1981) (Figure2).

Embranchement : *Magnoliophyta*
Sous embranchement : *Magnoliophytina*
Classe : *Magnoliopsida*
Sous classe : *Asteridae*
Ordre : *Scrophulariales*
Famille : *Oleaceae*
Genre : *Olea* L.
Espèces : *Olea europaea L.*
Sous-espèces :
Olea europaea L. ssp. *Sativa* Hoffm. et Link (=*O. europaea L.* ssp. *Europaea*),*Olea europaea L.* ssp. *Oleaster* Hoffm.et Link (=*O. europaea L.* ssp. *sylvestris* Miller)

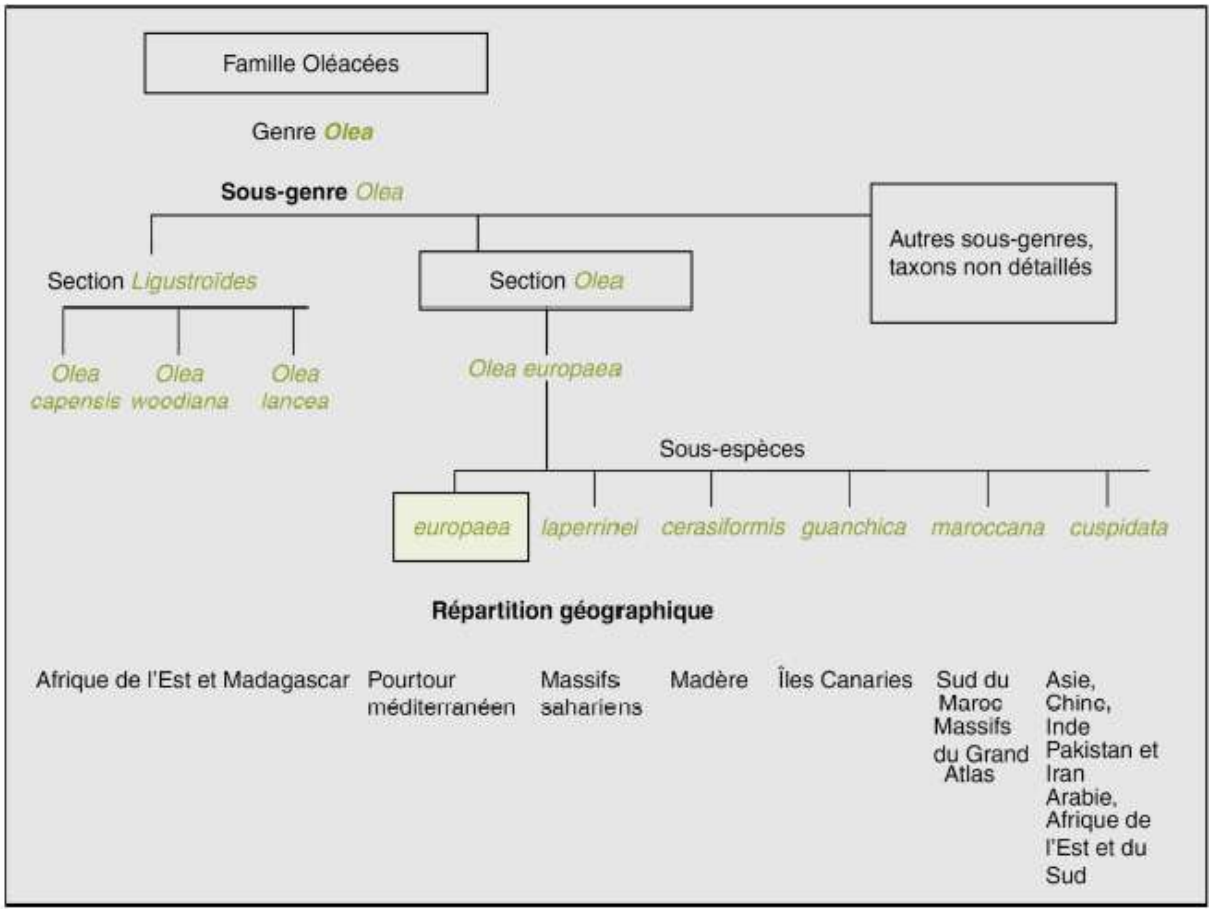


Figure 2: Schéma de la taxonomie du genre *Olea (Oleaceae)* simplifiée (Breton et *al,* 2006) et répartition géographique des taxons.

Nom vernaculaire

L'oléastre (olivier sauvage):

- *Azzemmour*, désigné sous cette appellation en Kabylie et dans le haut Atlas au Maroc **(Boudribila, 2004).**
- Arabe : *zebbouj*, berbère : *Azemmour*. **(Jacques-Meunié, 1982).**
- Arabe. : *zenbotidje*, berbère : *Tazebboujt* **(De Candolle, 1883).**
- *L'olivier greffé :* arabe : *zitoun*, berbère : *Tazemmourt* **(De Candolle, 1883).**

I-2-4-2-Description botanique

L'olivier sauvage est un arbrisseau toujours vert et vivace qui croît spontanément dans les bois méditerranéens. Ses rameaux sont épineux et de section presque carrée.

Les feuilles de l'olivier ne tombent jamais, (durée de vie, trois ans) leur situation sur le rameau est dite "opposée" ; elles sont simples, ovales, persistantes, el caractérisées par une couleur vert grisâtre à la face supérieure; blanc argenté à la face inférieure.

Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées **(Bruneton, 1999).**

Les fruits sont également plus petits, avec une faible épaisseur de pulpe, et ils donnent donc peu d'huile. De par sa faible hauteur, les fruits de l'oléastre sont facilement consommés par les animaux : la dissémination des noyaux est zoochore **(Comte, 1990).**

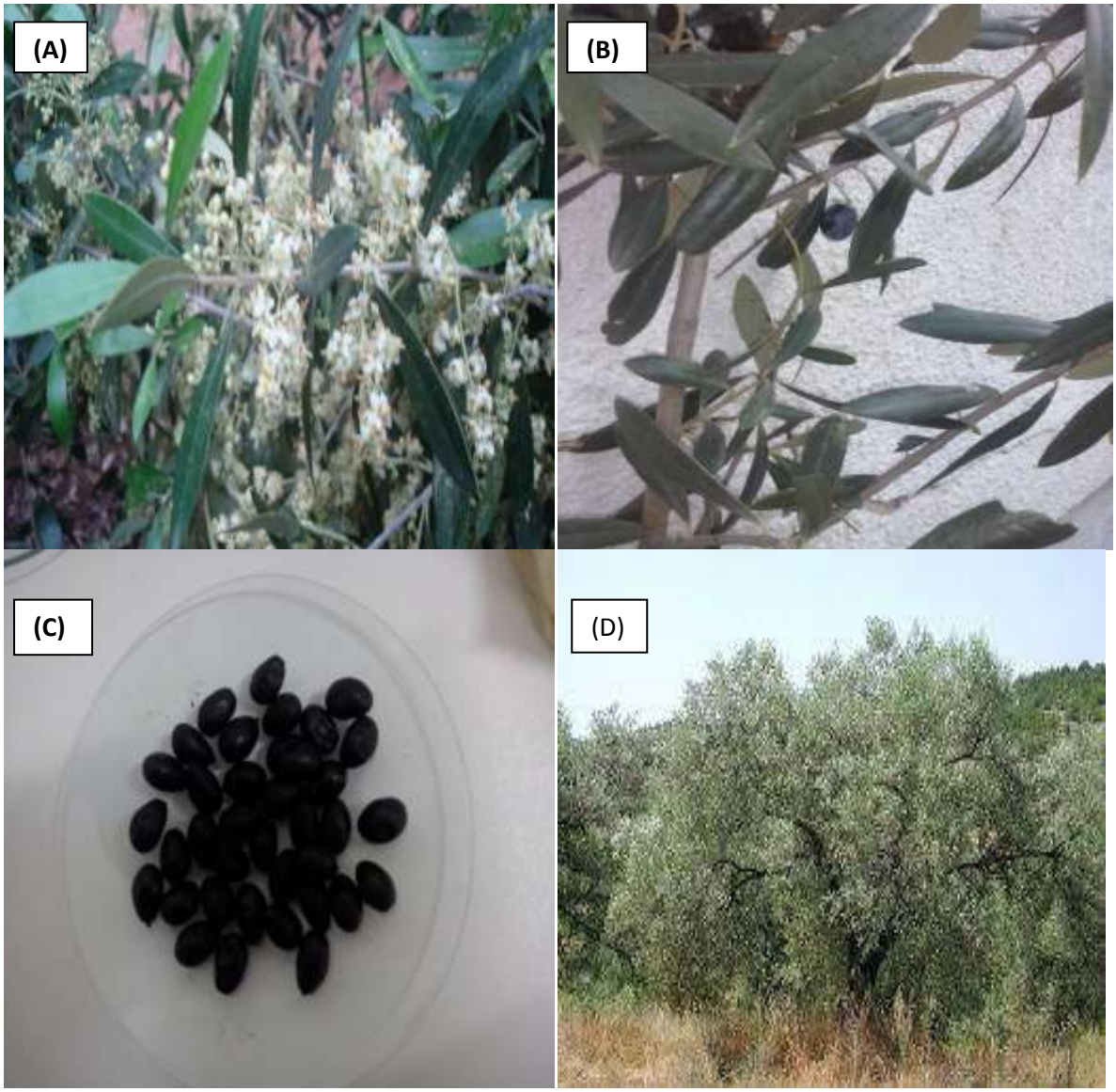


Figure 3: Formes des fruits, feuilles et inflorescence de l'oléastre (A) : inflorescence, (B) : feuilles, (C) : Fruits murs, (D) :l'arbre d'oléastre (Photos prise au mois de décembre 2017).

I-3- l'huile d'oléastre

I-3-1.définition

L'huile d'oléastre est une huile très fluide et fine. Son indice de viscosité est très en deçà de celui de l'huile d'olive domestique. Cette fluidité la rend très volatile et pénétrante.
L'huile d'oléastre n'est pas une huile de consommation comme l'huile d'olive que l'on utilise dans divers domaines. Elle reste toutefois comestible. Son utilisation concerne exclusivement la thérapie **(Sidi Mammar, 2012).**

I-3-2. Composition chimique d'huile d'oléastre

L'étude faite par **(Dabbou et *al*., 2011),** sur la comparaison de l'huile d'olive et celle d'oléastre, montre qu'elles sont étroitement apparentées. La composition en acides gras de ces deux huiles est qualitativement identique. En outre, l'oléastre s'avère intéressant parce qu'il produit une huile de bonne qualité en termes de composés mineurs (phénols et composés volatils) comparée à l'huile d'olive.

A l'égal de toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est composée d'une fraction saponifiable (les triglycérides) et d'une fraction insaponifiable (les constituants mineurs).

I-3-2-1. Fraction saponifiable

La fraction saponifiable, ou glycéridique, représente 99 % de l'huile d'olive. Elle est constituée principalement de triglycérides constitués de glycérol et d'acide gras.

- **Les acides gras**

Selon les variétés d'olives, mais également en fonction du climat, de la latitude et du degré de maturation des fruits au moment de la récolte, la composition des acides gras de l'huile sera différente (**Rayan, 1998**).

- **Acides gras saturés (AGS) :** l'huile d'olive comporte entre 8 et 25 % d'acides gras saturés, qui sont : L'acide palmitique (C16:0) et l'acide stéarique (C18 :0).
- **Acides gras monoinsaturés (AGMI)** : ils représentent 55 à 80 % de la teneur en lipides de l'huile d'olive, avec : L'acide oléique (C18:1 n-9) et l'acide palmitoléique (C16:1 n-7).
- **Acides gras polyinsaturés : (AGPI) :** ils représentent 4 à 22 % de la teneur en lipides de l'huile d'olive, et se répartissent en deux familles:

✓ la famille n-6 (ou oméga 6) : L'acide linoléique (C18:2 n-6).

- ✓ la famille n-3 (ou oméga 3) : L'acide α-linoléique (C18:3 n-3).

L'étude faite par **Dabbou et *al*. (2011),** sur la comparaison de la composition de l'huile d'olive et celle d'oléastre, montre qu'elles sont étroitement apparentées **(tableau II)** .La composition en acides gras de ces deux huiles est qualitativement identique. Selon certains auteurs **(Maestro et Borjas, 1990 et Boskou, 1996),** pour une meilleure conservation de la qualité du produit, il convient que les huiles d'olive ne contiennent pas plus de 10 % d'acide linoléique, car cet acide est le principal responsable du vieillissement chimique de l'huile.

Tableau II : Composition de l'huile d'oléastre en acide gras comparée à l'huile d'olive cultivée (Dabbou et *al*., 2011).

Acide gras	**Symboles**	**Oléastre (%)**	**Huile de variété cultivée (%)**
Acide palmitique	C16 :0	13,38	16,39
Acide palmitoléique	C16 :1	1,44	3,00
Acide heptadécanoïque	C17 :0	0,07	0,05
Acide heptadécénoïque	C17 :1	0,14	0,12
Acide stéarique	C18 :0	2,39	1,79
Acide oléique	C18 :1	66,27	66,92
Acide linoléique	C18 :2	13,78	10,38
Acide linolénique	C18 :3	0,64	0,73
Acide arachidique	C20 :0	1,12	0,29
Acide gadoléique	C20 :1	0,22	0,37
Acide béhénique	C22 :0	0,50	0,15
Acide lignocérique	C24 :0	0,10	0,10

- **Les triglycérides**

Les triglycérides sont le plus souvent hétérogènes, c'est-à-dire que le glycérol est estérifié par 2 ou 3 acides gras différents. Dans l'huile d'olive, les acides gras insaturés sont majoritairement estérifiés en position 2 du glycérol, alors que les AGS se retrouvent

préférentiellement sur les positions alcools externes du glycérol. Quant à l'acide oléique (AGMI), il se distribue équitablement entre les trois positions du glycérol, en privilégiant la position 2 **(Graille, 2003).**

Les huiles d'olive sont constituées d'une vingtaine de triglycérides dont trois sont majoritaires: OOO (trioléine, entre 40 et 60 %), POO (palmityldioléine, entre 10 et 20 %), LOO (linoléyldioléine, entre 10 et 20 %) (Avec O=acide oléique; L=acide linoléique; P=acide palmitique) **(Rayan, 1998 et Ollivier, 2005).**

I-3-2-2. Fraction insaponifiable

Les composés mineurs (alcools, composés polyphénoliques, la chlorophylle, caroténoïdes, stérols, tocophérols et les flavonoïdes) Certains de ces composés dont les tocophérols et les phénols, jouent un rôle important comme anti-oxydants naturels qui piègent les radicaux libres de l'oxygène et préservent la qualité et la stabilité de l'huile durant des périodes prolongées de conservation, ainsi ils contribuent à la qualité organoleptique comme le goût, la saveur et la valeur nutritive **(Doveri et Baldoni, 2007).**

Des études récentes ont montré que les olives contiennent des anti-oxydants en abondance (jusqu'à 16 g/kg), représentée par actéosides, hydroxytyrosol, tyrosol et les acides phénilpropioniques ainsi que d'autres composés réputés d'être des agents anticancéreux (par exemple le squalène et des terpénoïdes) **(Owen et *al*., 2004).**

Tableau III: Teneur en anti-oxydants (mg/Kg d'huile) de l'huile d'oléastre comparée à l'huile d'olive cultivé (Dabbou et *al*., 2011).

Antioxydants	L'huile d'olive cultivé	L'huile d'oléastre
α tocophérols	279,56 ± 1,51	312,95 ± 2,67
Chlorophylles	4,69 ± 0,16	10,00 ± 0,25
Carotènes	1,64 ± 0,03	3,92 ± 0,03
3,4-DHPEA-EA	272,53 ± 1,90	309,08 ± 0,87
Phénols totaux	825,42 ± 30,12	832,95 ± 12,69

I-3-3 Activité antioxydante

I-3-3-1 **Les antioxydants**

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable **(Favier, 2003).**

I-3-3-1-1.Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) **(Favier, 2006).** Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :

$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{superoxyde dismutase}} H_2O_2+O_2$

$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2O+O_2$

$H_2O_2+2GSH \xrightarrow{\text{glutathione peroxydase}} 2H_2O+GSSG$

De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique **(Dacosta, 2003).**

I-3-3-1-2.Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre **(Dacosta, 2003).**

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont était proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β-carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,…etc **(Kohen et Nyska,2002).**

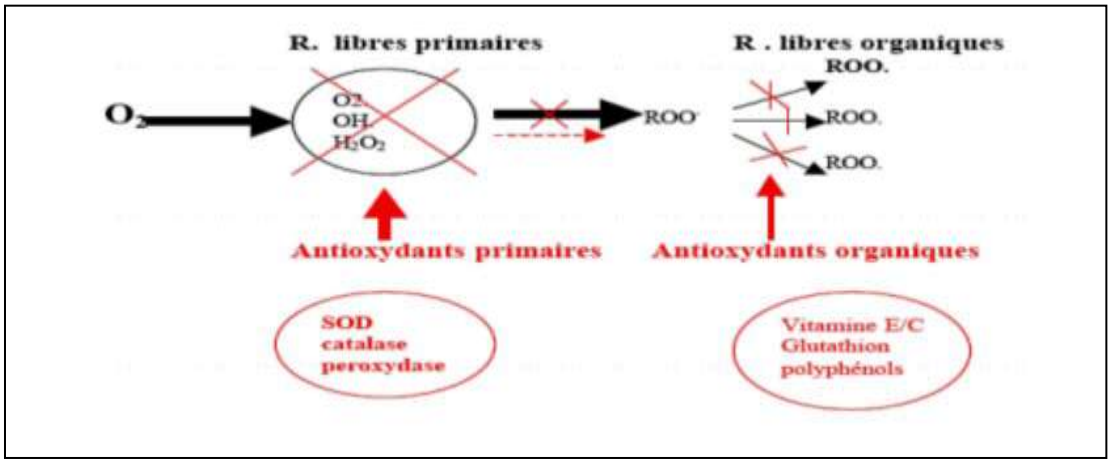


Figure 4 : les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska,2002) .

I-3-3-2. Les Antioxydants d'origine de l'huile d'oléastre

L'huile de l'oléastre est richesse en composés mineurs et notamment en antioxydants naturel (tocophérols, caroténoïdes, polyphénols).

- **Tocophérols (**La vitamine E)

La vitamine E est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tous en ralentissant le processus de vieillissement et la diminution de l'athérosclérose **(Maydani .2000).** Les données cliniques ont prouve que les patients d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la vitamine E **(Petroni et al ., 2002).**

La vitamine E constitue une arme efficace contre le cancer. Dans de nombreux modèles animales, il a été montré que la vitamine E protège contre les cancers de diverses localisations **(Shklar , 2000).**

- **les polyphénols**

Les polyphénols primaires sont l'oleuropéine, l' hydroxytyrosol ; ces composés sont des antioxydants puissants. (**Owen et *al*, 2000)** ont évalué le potentiel antioxydant de différents composés phénoliques de l'huile d'olive et ont observé qu'un grand nombre de ces composés

ont des propriétés antioxydantes : c'est le cas notamment de l'acide vanillique, l'acide gallique, l'acide caféique, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, du 1-acétoxypinorésinol et de l'oleuropéine **(Galli et Visioli, 1999).** Par ailleurs, des études ont montré que les phénols simples et les acides phénoliques et les flavonoïdes jouent un rôle capital dans l'élimination et le piégeage des radicaux libres, et permettent d'augmenter la résistance des LDL à l'oxydation et d'inhiber la peroxydation des lipides **(Decker, 1995, Visioli et al, 1995).**

- **Les caroténoïdes**

Les principaux caroténoïdes présents dans l'huile d'olive sont la lutéine, le β- carotène. Les caroténoïdes sont des antioxydants efficaces, cela est du à leur habilité à altérer l'espèce oxygéné radicalaire **(Morello *et al*., 2004).**

I-3-4.Activité antimicrobienne

I-3-4-1.Généralités

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Ils sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit ils déterminent une infection et donc pathogènes.

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes **(Billing et Sherman, 1998).**

I-3-4-2. Les principales substances antimicrobiennes

I-3-4-2-1.les antibiotique

Qui s'oppose à la vie, terme crée par Waksman. Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes **(Khiati, 1998),** dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme **(Garnier ,1992),** ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier **(Berche et Simonet ,1989),** mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales **(Leclerc ,1995).**

Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) **(Elghozi et Duval., 1992).**

I-3-4-2-2.les composés d'huile d'oléastre

- **Les polyphénols**

Les travaux de Tuck et son équipe attribuent aux hydroxytyrosol, tyrosol et à l'oleuropéine de puissantes propriétés antimicrobiennes **(Tuck et Hayball, 2002).** Ces composés agiraient sur certaines bactéries responsables de maladies infectieuses intestinales et respiratoires chez l'homme **(Bisignano et al, 2002).**

- **Les phytostérols**

Les phytostérols dont les plus importants sont le sitostérol, le campestérol et le stigmastérol représentent la partie la plus importante de la fraction insaponifiable des huiles. Les phytostérols peuvent avoir des activités anti-inflammatoire, antibactérienne, anti tumorale, antifongique et anticancéreuse **(COI, 2009).**

- **Les composés aromatiques**

La plupart de ces composés exerçaient une activité antimicrobienne **(Kohno *et al,* 1995)**. Cette protection antimicrobienne constitue un facteur supplémentaire susceptible de contribuer aux effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé **(Assman et Wahrburg)**.

I-3-4-3. Mécanismes d'action des substances antimicrobiennes

Les facteurs les plus importants de l'activité biologique dans composé donné sont ses propriétés physico-chimiques, sa structure chimique, arrangement stérique de ses atomes et la présence des parties bioactifs dans sa structure **(Betina ,1989)**.

Biochimiquement, les modes d'action des substances antimicrobiennes peuvent être divisé en quatre catégories **(Rily and Norred, 1996)**:

_ L'interaction avec l'ADN ;

_ L'inhibition des différentes étapes de la synthèse de protéines ;

_ Les effets sur les membranes cytoplasmiques ;

_ L'effet sur le métabolisme énergétique.

I-3-4-4.Description des souches étudiées

a- Escherichia coli

Escherichia coli est un bacille à gram négatif **(Patrick *et al* ., 1988),** de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm **(Steven *et al.,* 2004) .** Elles peuvent se multiplier à des températures comprises entre 4 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5 **(Brisaboiset*al*., 1997)**.

E.coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux**.** Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 par gramme de fécès (flore totale 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme) (**Paul, 2005).**

Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou

bien encore des méningites néo-natales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies **(Patrick et *al.*, 1988).**

b- Pseudomonas aeruginosa

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche .c'est une bactérie ubiquiste, saprophyte dans les eaux douces (eaux de piscines…) et marines, dans l'air, dans les sols humides ou sur les végétaux.

Elle est commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux, **(Camille, 2007).** Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3 ème rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1 er rang pour les infections pulmonaires basses et le 3 ème rang pour les infections urinaires **(Richard et Kiredjian., 1995).**

c-Klebsiella pneumoniae

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés. On distingue cependant plusieurs espèces mais *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine.

Connue autrefois sous le nom de pneumobacille de Friedlander, *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie commensale de l'intestin, des voies respiratoires et des animaux **(Drancourt2007).** Elle est un germe opportuniste, responsable d'infections diverses, infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère, principalement chez les malades immunodéprimés, cancéreux, brûlés, cirrhotiques, diabétiques, chez les vieillards, nourrissons, nouveau nés et prématurés **(Sahly *et al.*, 2004 ; Stone *et al.*, 2003).** Il est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales **(Chung *et al*, 1992 ; Podschun et Ullmann, 1998).**

d- Staphylococcus aureus

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, a sporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré **(Patrick et *al,* 1988).** *S. aureus* représente est la de méningite, ostéomyélite et la diarrhée **(Steven et *al,* 2004).**

e-Bacillus cereus

Les souches de *B.cereus* sont constituées de bacilles Gram positifs ou à Gram variable selon l'âge des cultures, aux extrémités arrondies, généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche d'une longueur supérieure à 3 µm et d'un diamètre moyen de 1.4 µm, possède une catalase, dépourvu d'une oxydase **(Rasko et al, 2005).** C'est une bactérie aéro-anaérobie. Sa température optimale de croissance est comprise entre 30°C et 37°C **(Larpent, 1998).** Certaines souches de *Bacillus cereus* peuvent croître à des températures de 4-8 °C et relativement plus rapide à 10 °C **(Choma *et al,* 2000).** D'autres souches sont capables de germer et de croître à des hautes températures de50-55 °C **(Nguyen *et al.*, 2003).** Son pH optimum est compris entre 6 et 9.5 et aucune croissance n'est obtenue à pH 4.5 **(Larpent, 1998).** elle est Capable de proliférer dans un large éventuel d'environnement (sol, l'eau, les produits alimentaires bruts et transformés).

Cette bactérie produit une toxine émétique et des entérotoxines qui causent plusieurs types d'infections chez l'homme dont la pneumonie et la méningite **(Droboiewski,1993).**

f-Entérococcus faecalis

*E. faecalis***,** du latin *faex* qui veut dire fèces, est une cocci à Gram positif non sporulante de 0,5–0,9 µm appartient à la famille des Enterococcaceae **(Portenier et al., 2003)**.C'est un germe anaérobie facultatif, immobile, oxydase et catalase négatives, à était identifiée pour la première fois par Schleifer et Kilpper–Bälz en 1884 sous le nom de *Streptococcus faecalis* **(Ludwig et al., 2009)**. C'est un pathogène opportuniste des voies gastro–intestinales et uro–génitales. **(Devriese et al., 2006)**. Considérée parmi les pathogènes nosocomiaux les plus communs, *E. faecalis* est actuellement responsable de plusieurs types

d'infections, à savoir urinaires, intra–abdominales, pneumonies, septicémies, endocardites et méningites **(Le blanc, 2006)**.

j- Candida albicans

Étant la plus fréquente commensale et la levure la plus pathogène dans la cavité buccale. **(Conti et Gaffen, 2010)**. De plus, des études ont montré que sa capacité à former un biofilm est un facteur clé pour accueillir l'invasion et la destruction des tissus (**Finkel et Mitchell, 2011)**.

C. albicans peut causer deux grands types d'infections chez les humains : les infections superficielles, telles que la candidose orale et vaginale, et les infections systémiques **(Calderone et Clancy, 2012)**.

h-Aspergillus niger

est un champignon filamenteux, de type moisissure, dont les colonies se présentent sous forme duveteuse. Il se développe sur les matières organiques en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. Ses spores sont ubiquitaires: on en trouve dans toutes les parties du mondes **(Denning,1998)**. *Aspergillus niger* est l'une des espèces les plus communes dans l'environnement (sol, plantes,aliments) et représente 5 % des isolats aspergillaires en laboratoire (**Desoubeaux et Chandeniere ,2010)**. Il s'agit du principal agent des otomycoses (affections de l'oreille dues à un champignon). Il est également responsable d'aspergillomes et est la troisième espèce retrouvée dans l'aspergillose invasive. Il est responsable de la dégradation de certains fruits et légumes.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

II-1-Matériel et méthodes

II-1-1- Matériel végétal

II-1-2-Présentation de la zone d'étude

Cette étude a porté sur une huile issue de l'oléastre *Olea europea var.oleaster* au niveau de la commune de Benchicao et huile d'olive cultivé *Olea europea var bouchouk* au niveau de la commune de Berrouaghia de wilaya de Médéa



Figure 5:Carte des zones d'échantillonnage.

Les échantillons d'olive utilisés dans cette étude ont été collectés durant le mois de décembre 2017.

La récolte a été réalisée à la main, ensuite les olives ont été immédiatement transportées à l'INRA (Berraki) afin d'être utilisés pour l'extraction d'huile.



Figure 6: le fruit et l'arbre d'oléastre de la commune de Benchicao



Figure 7: le fruit et l'arbre d'olive cultivé de la commune de Berrouaghia

II-1-3-L'extraction d'huile

Les échantillons de l'huile d'olive ont été obtenus en utilisant un oléo doseur de laboratoire d'INRA de Barraki de marque SPERMOLIV, constitué d'un broyeur, d'un malaxeur et d'une centrifugeuse. Les olives sont broyées, ensuite la pâte est malaxée pendant 20-30 minutes. Après une centrifugation verticale, les huiles sont collectées et mises à décantation. Les échantillons d'huiles sont conditionnés dans des flacons en verre fumé étiquetés. Ils sont conservés à 4°C en attendant d'être analysés.



1) Trémie pour le chargement des olives

2) Volant démarrage malaxage

3) Sortie de l'huile

4) débitmètre

Figure 8 : image d'un l'oléo doseur

II-1-4-Caractérisation pomologique des olives

L'étude des paramètres pomologiques des olives a été réalisée dans le but de la différentiation entre l'olive sauvage et l'olive cultivé de la wilaya de Médéa, elle consiste à la détermination des moyennes du poids, de largeur, de longueur et le taux d'humidité d'olive des deux variétés étudiés.

Des échantillons aléatoires de 30 fruits qui seront pesés pour déterminer le poids frais moyen du fruit, la largeur et les longueurs moyennes ont été réalisés à l'aide d'un pieds – coulisse



Figure9 : image de pieds-coulisse

II-1-5-Détermination de taux d'humidité ou teneur en eau

La méthode utilisée est connue sous le nom de dessiccation par évaporation ou méthode gravimétrique ou pondérale. Le procédé de dessiccation est réalisé à une température de 105°C ± 5°C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant **(Twidwell *et al.*, 2002).**

Mode opératoire

- Sécher des cupules vides à l'étuve durant 15 minutes a 105±5°C
- Laisser refroidir dans un dessiccateur ;
- Peser dans chaque cupule préalablement tarée 5 g d'échantillon et les placer dans l'étuve réglée à 105±5°C pendant 3 heures ;
- Retirer les cupules de l'étuve, et les placer dans le dessiccateur ;
- Peser les cupules après refroidissement. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 min).

- **Expression des résultats**

Le taux d'humidité est exprimé en (%) selon la formule suivante:

$$H\% = (P_1 - P_2) \times 10$$

P1: Poids de la plante fraiche (g)

P2:Poids de la plante après séchage(g)

H%: Taux d'humidité exprime en pourcentage

- **Détermination de la matière sèche**

$$MS\% = 100 - H\%$$

II-1-6 -Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'huile

II-1-6-1. Indice d'acide

- **Définition**

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme de corps gras **(Lion, 1955).**

- **Principe**

Il consiste à neutraliser les acides libres par une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium titrée.

•Mode opératoire

Pour chaque échantillon (VB, VO)

- Peser 2g d'huile dans un erlenmeyer ;
- Ajouter 75 ml d'éthanol à 96° ;
- Neutraliser en présence de quelques gouttes(4) de phénophtaléine à 1% ;
- Agiter énergiquement et titrer avec la solution d'hydroxyde potassium (la solution éthanolique titrée est à 0,1 N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante ;
- On note le volume de la solution éthanolique de KOH ajoutée.



Figure 10 : détermination de l'indice d'acidité

• Méthode de calcul

L'indice d'acide est calculé selon la formule suivant **(Wolff, 1968)**

IA= (56.11xNxV)/P (mg de KOH/g) d'huile

Où :

P : Masse (g) de la prise d'essai.

56,11: Masse molaire, exprimée en g/mole, d'hydroxyde de potassium.

V : Volume en ml de KOH (0,1 N) nécessaire au titrage.

N : Normalité de la solution de potasse (0,1)

II-1-6-2-Indice de saponification

- **Définition**

L'indice de saponification correspond au nombre de milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier les acides gras contenus dans un gramme de matière grasse. Cette valeur est d'autant plus élevée que les acides gras sont de faible poids moléculaire **(Lion, 1955).**

- **Principe**

Si l'on traite un ester par de la potasse suffisamment concentrée et chaude, on régénère suivant une réaction totale d'alcool et le sel de potassium de l'acide puis on donne naissance à l'ester.

$$A–R + KOH \longrightarrow A–K + R–OH$$

- **Mode opératoire**

Pour chaque échantillon (VB, VO)

- On introduit dans une fiole une prise d'essai de 2g d'huile et 25 ml de potasse alcoolique (0,5N). La solution obtenue est portée à ébullition au bain-marie pendant 30 mn ;
- Après on ajoute 3gouttes de phénolphtaléine, puis on effectue un titrage à chaud l'excès de potasse avec l'acide chlorhydrique (0,5N) jusqu'à ce qu'on obtient une décoloration ;
- réalise un essai à blanc dans les mêmes conditions **(ISO 3657: 1977).**



Figure 11 : détermination de l'indice de saponification

- **Méthode de calcul**

L'indice de saponification et donné par la formule établie ci-dessous **(Wolff, 1968)**

IS= (V0-V/P) xNx56.11 (mg KOH/g)

Ou :

V0 : volume en ml de HCl utilisé pour l'essai à blanc.

V : volume en ml de HCl utilisé pour l'échantillon à analyser.

P : prise d'essai en grammes

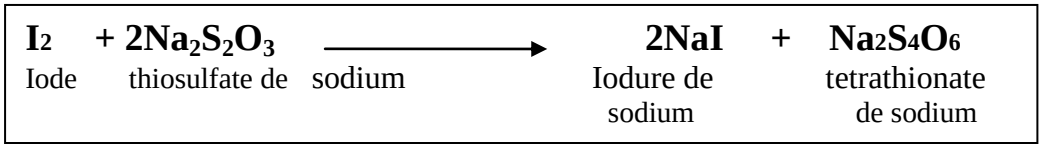
N : est la normalité de la solution du KOH à 0,5N.

56.11 est la masse molaire, exprimée en (g/mol) du KOH

II-1-6-3-Indice de peroxyde

- **Principe**

Il correspond à la quantité d'oxygène actif du peroxyde contenu dans une certaine masse de produit capable d'être libéré dans les conditions de l'expérience. Il est exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par Kg de matière grasse pouvant oxyder l'iodure de potassium en présence d'acide acétique et de chloroforme. L'iode libéré est titré en retour par une solution de thiosulfate de sodium, suivant la réaction :



•Mode opératoire

Pour chaque échantillon d'huile (VB, VO)

- une prise d'essai de 2g d'huile a été mise en solution dans 10 ml de chloroforme dans une fiole. 15 ml d'acide acétique et 1 ml d'iodure de potassium (solution aqueuse saturée) ont été rajoutés ;
- La fiole a été ensuite bouchée immédiatement et agitée vigoureusement pendant 1 minute, puis laissée à l'obscurité pendant 5 minutes à température ambiante ;
- 75 ml d'eau distillée ont été ajoutés au mélange ;
- Apres ajoutée quelque gouttes d'empois d'amidon (indicateur colorimétrique) ;
- L'iode libéré a été titré par une solution de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) à 0,01N ;
- Parallèlement, un essai à blanc a été effectué de la même façon **(CEE/2568/91).**



Figure 12 : détermination de l'indice de peroxyde

• Méthode de calcul

L'indice de peroxyde (IP) se détermine ainsi :

$$\mathbf{I_p = N\ (V - V_0)\ *1000\ /\ m\ (meq\ d'O_2/Kg)}$$

V_0 : volume en millilitre de thiosulfate de sodium nécessaire pour titrer le blanc.

V : volume en millilitre de thiosulfate de sodium nécessaire pour titrer l'essai.

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium (0,01 N).

m : masse en gramme de la prise d'essai.

II-1-7-Dosages des phénols totaux

- **Principe**

Ce dosage est basé sur le couplage du *Folin-Ciocalteu* avec les composants phénoliques du matériel végétal (dosage spectrophotométrique)

Cette méthode est basée sur la réduction en milieux alcalin de la mixture phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue.

Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon **(Georgé et *al*., 2005).**

II-1-7-1.Extraction des composés phénoliques

La méthode appliquée pour extraire les composés phénoliques est celle décrite par (**Ollivier et *al,* 2004).**

- **Mode opératoire**

Pour chaque échantillon d'huile (VO, VB)

- Dans un tube de centrifugeuse de 50 ml Une quantité de 10g d'huile a été pesée, puis ajoutée 10 ml de méthanol/eau (80/20) ;
- L'ensemble est vortexé pendant 10 minutes puis centrifugé pendant 15 minutes La phase méthanolique est récupérée et transférée dans une fiole jaugée de 50ml ; L'opération est reconduite 3 fois et on complète au trait de jauge avec la solution méthanol/eau (80/20).



Figure 13 : l'extraits méthanolique des deux variétés Benchicao et Berrouaghia

II-1-7-2. des polyphénols totaux par la méthode de Folin Ciocalteu

L'estimation de la teneur en composés phénoliques totaux est réalisée selon la méthode de (**Favati et *al.* 1994)**

- **Mode opératoire**

- Dans un flacon de 20 ml, un volume de 0,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu est ajouté à 2ml de l'extrait méthanolique ;

- Après 3 min, un volume de 4 ml d'une solution de carbonate de sodium (10%) est ajouté, puis ajusté avec de l'eau distillée Après 90 min à l'obscurité, la solution est centrifugée et l'absorbance est réalisée à 765nm ;

- Les concentrations en polyphénols exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique, sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage représenté dans la figure 01(annexe).

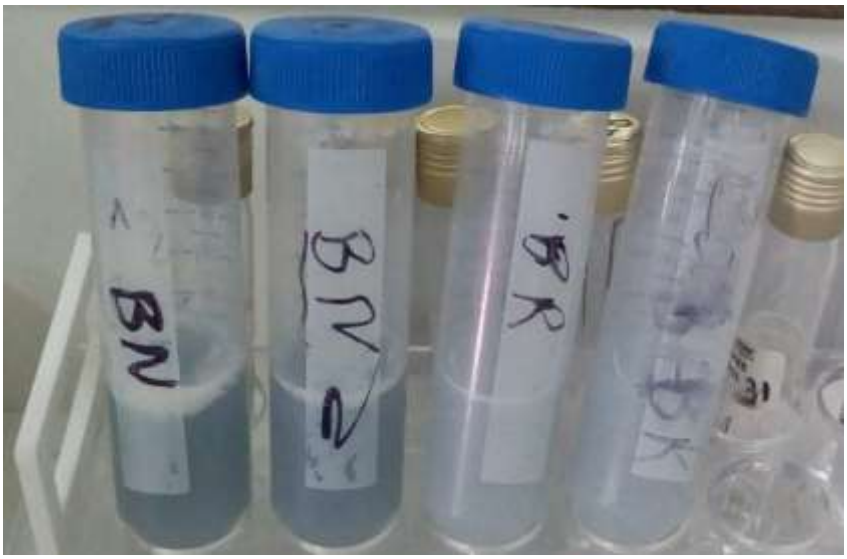


Figure 14 : le dosage des phénols totaux ; BN(Benchicao), BR(Berrouaghia)

II-1-8. Etude de l'activité antioxydante

- **Principe**

L'activité antioxydant a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH Cette méthode tire profit de la décoloration de la Solution contenant le radical DPPH lors de sa réduction par les antioxydants.

- **Mode opératoire**

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des huiles est déterminée selon le protocole décrit par **(Espin et *al.*, 2000).**

1-préparation de la solution de DPPH

- On peser 4 mg de DPPH (2,2-diphényl-1-pecrylhydrazyle) et dissoudre dans 100 ml de éthanol ; laissée à l'obscurité pendant 60 minute.

2- la réalisation d'activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH

- On prépare une série de solution d'huile diluée dans l'éthanol à différentes concentrations (0,0625- 1 g/ml).

- Prélever de chaque solution d'huile 0.1 ml, est additionné à un volume de 3ml de la solution DPPH (2,2-diphényl-1-pecrylhydrazyle) ;
- Le mélange est agité pendant 10 secondes au vortex e et laisser incuber à L'obscurité pendant 30 minutes ;
- Lire l'absorbance à 517 nm**.**



Figure 15 : la série des dilutions des huiles avec le réactif de DPPH

- **Méthode de calcul**

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé par la formule suivante

(%) d'inhibition du DPPH = (Ac – Ae / Ac) × 100

Ac : Absorbance du contrôle.

Ae : Absorbance de l'échantillon.

Les concentrations correspondant à 50% d'inhibition (EC_{50}) ont été déterminées à partir des graphiques de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration, puis comparées à celles de l'acide ascorbique, figure 04 (Annexe).

II-1-9.Activité antimicrobienne

II-1-9-1.les souches testées

Huit souches qui proviennent de l'American Type Culture Collection ATCC (tableau) sur les quelles nous avons testées l'activité antimicrobienne des huiles d'olive. Ils ont tous été fournis par le laboratoire d'hygiène de wilaya de Blida.

Tableau IV : les souches microbiennes

Les souches	Les Gram+	Les Gram-	Les champignons
Le nom et le code	*-Staphylococcus aureus* **ATCC 6538** *-Entérococcus faecalis* **ATCC 2035** *-Bacillus cereus* **ATCC 10876**	*-Escherichia Coli* **ATCC 25922** *-Pseudomonas aeruginosa* **ATCC 27853** *-Klebesilla pneumoniae* **ATCC 40352**	*- Aspergillus niger* **ATCC 10404** *-Candida albicans* **ATCC 24433**

II-1-9-2.Matériel et produits utilisés

- Tout le matériel est stérilisé à 120 pendant 20 min

Tableau V : **matériel et produits**

matériel	produits
- tubs à essai - disques wattman (8 mm de diamètre) - papier filtre	-milieux de culture (Muller-Hinton, sabauroud) -DMSO -l'antibiotique (gentamicine) -l'antifongique (fluconazol)

II-1-9-3.préparation de pré culture

On racle a l'aide d'une anse de platine quelques colonies à partir de chaque souche et ensemencer dans le Muller-Hinton pour les souches bactériennes, et dans le milieu sabauroud pour les souches fongique, puis incubée à 37c pendant 24h pour les bactéries et à 25c pendant 7j pour les champignons ,Figure 08 (annexe).

II-1-9-4.préparation de l'inoculum

A partir de culture nuit que nous avons déjà préparée, des suspensions microbiennes d'une densité optique équivalente à 0.5 Mc Farland ou à un DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm.

- A l'aide d'une anse de platine on racle une colonie bien isolée de chacune des souches ;
- Décharger l'anse dans 10 ml de l'eau physiologies stérile et homogénéisée ;
- Mesurée la densité optique (ajuster la suspension en ajoutant soit la culture s'il est trop faible, ou bien l'eau physiologique stérile s'il est trop fort).

II-1-9-5-Les méthodes d'activité antibactérienne

II-1-9-5-1-méthode Aromatogramme sur milieu solide

- **Définition**

L'aromatogramme est une méthode qui se réalise *in vitro*, basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Le contact se fait par l'intermédiaire du disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée des extraits de plante. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale **(Fauchère et Avril, 2002).**

- **Mode opératoire**

1-préparation des dilutions d'extraits d'olive

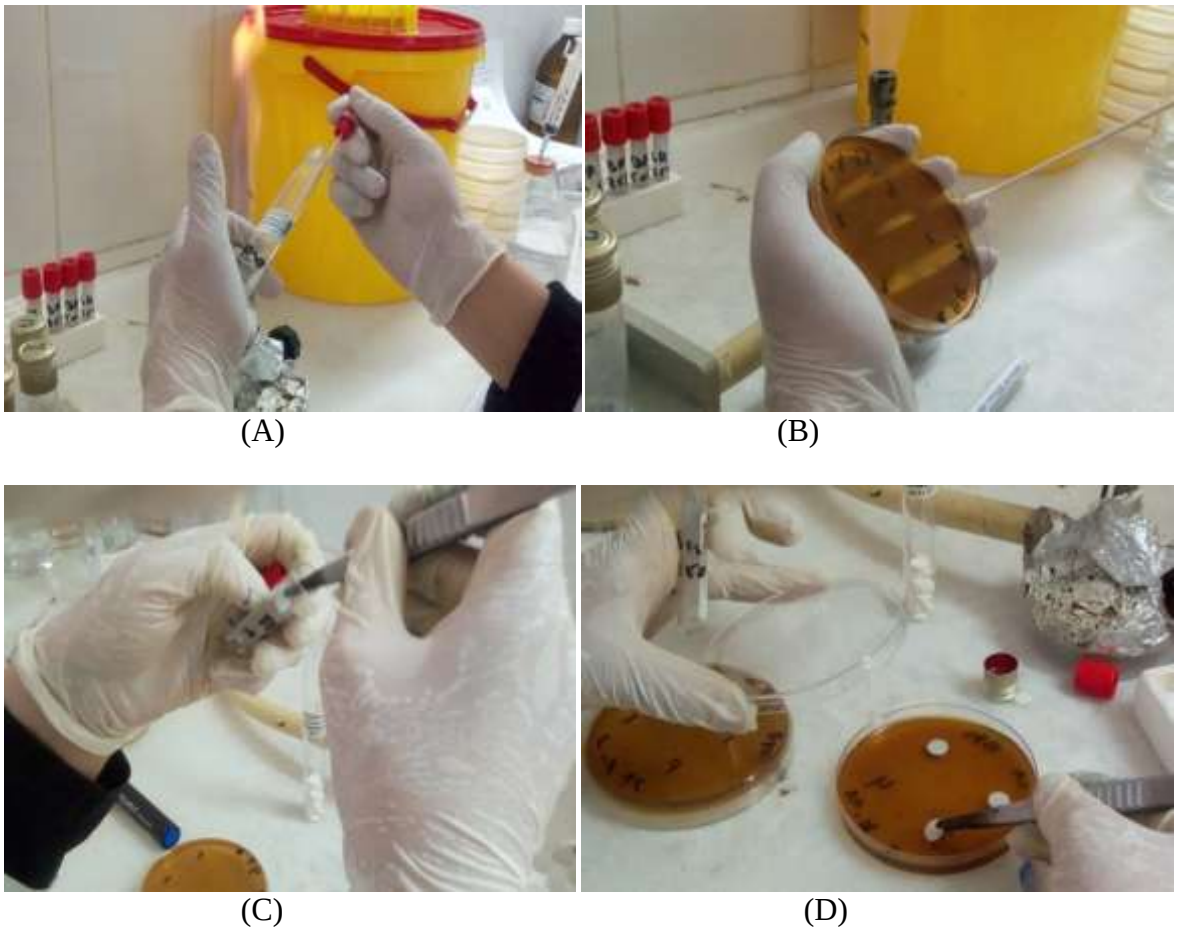
Les extraits d'olives VO, VB ont été dissoudre dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 1000 µg /ml

- dans un tube à sec mesurée 1000 µg d'huile de chaque variété ;
- désordre cette quantité dans un 1ml de DMSO (solution mère 1000 µg /ml);
- à partir de la solution mère prendre 0.5 ml et ajouter à 0.5 ml de DMSO (500 µg /ml) ;
- suivre la même procéder pour obtenir les concentrations suivant (250 µg /ml, 125 µg /ml).

2-Ensemencement et dépôt de disque

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur les boites Pétri coulée par Muller-Hinton pour les 6 bactéries et sabauroud pour les 2 champignons

- Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube ;
- L'écouvillon est Frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées, L'opération est répétée trois fois en tournant la boite de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée ;
- Les disques imprégnés dans les différant dilution d'huiles ;
- Les disques sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile (4 disques dans une boite et chaque disque contient un concentration différent de l'extrait).



(A) (B)

(C) (D)

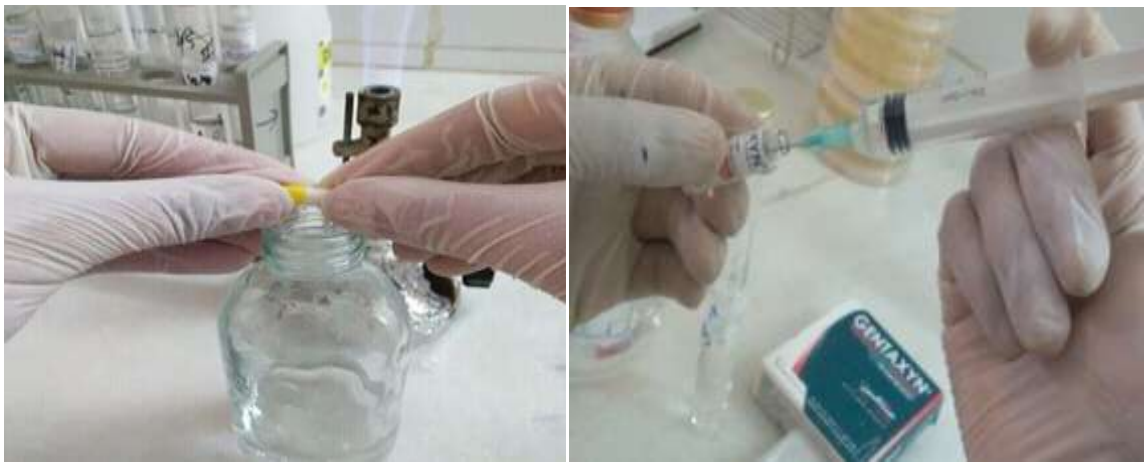
Figure 16 : l'ensemencement et dépôt des disques ; (A) –chargement de l'écouvillon, (B)-l'ensemencement, (C)-imprégnation des disques, (D)-dépôt des disques

3-le témoin positif et négatif

3-1-le témoin positif

Préparation de la solution d'antibiotique et d'antifongique

- On utilise l'antibiotique gentamicine de 800 mg de forme injectable, prendre 0.5 ml de se dernier a l'aide d'un seringue et complété avec 9.5 de l'eau physiologie stérile puis mélangée bien la solution ;
- On utilise l'antifongique fluconazol de 50mg de forme gélule, dissoudre une gélule dans un 50 ml de l'eau physiologie stérile puis homogénéiser.



(A) (B)



(C)

Figure 17 : préparation de la solution antimicrobienne ;(A)- l'antifongique, (B)- l'antibiotique, (C)-les deux solutions.

Le dépôt de disque

- On dépose les disques imprégnés dans la solution d'antibiotique dans les boites de pétré inoculée par les bactéries, et les disques imprégnés dans la solution d'antifongique dans les boites inoculées par les champignons.

3-2-le témoin négatif

- Imprégnée les disques dans le DMSO, et déposée dans les boites inoculée par les souches microbienne.

Finalement, les boites de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C pour les 6 souches bactérienne, et pendant 5à7joure pour les 2 souches fongiques.

II-1-9-5-2-méthode Micro atmosphère

- **Définition**

Dérivée de la méthode précédente le procédé est techniquement proche de celui des aromatogrammes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, le disque est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé **(Pibiri ,2006).**

Cette méthode est permet d'exploiter les propriétés de la phase volatile des huiles d'olives. Et de déterminer leur effet sur les souches testées.

- **Mode opératoire**

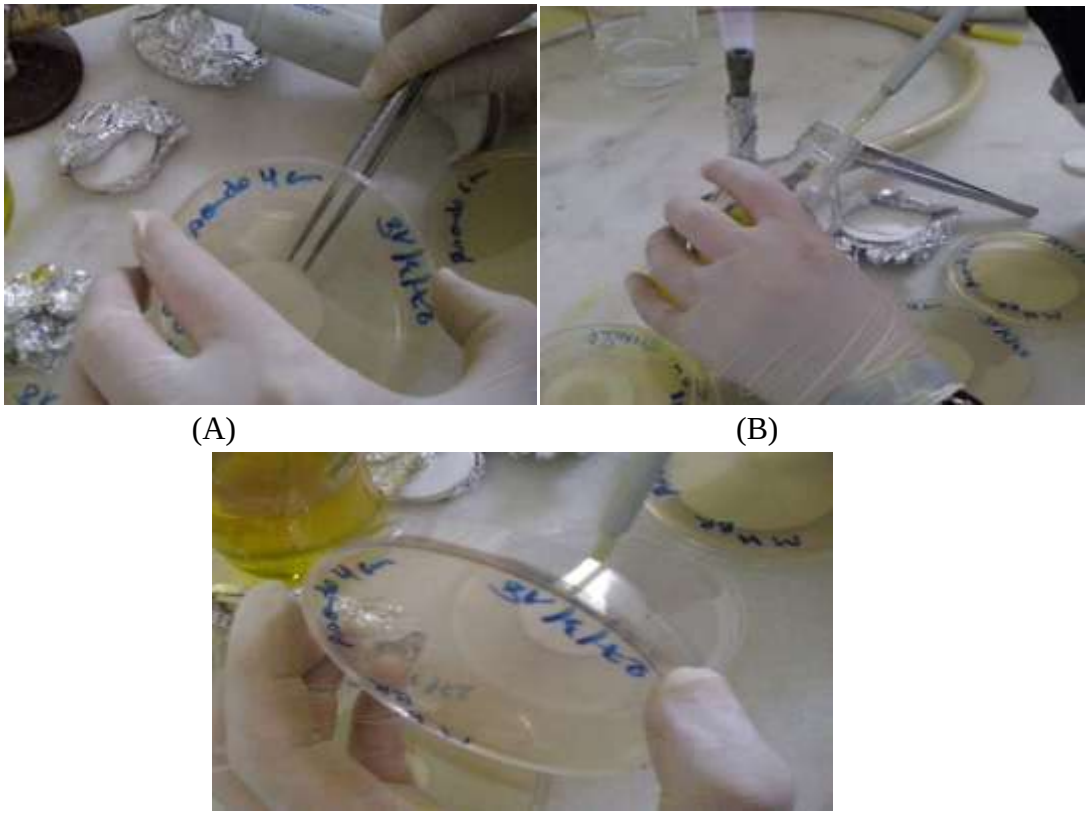
1-préparation des disques

À partir des papiers filtre on prépare des disques de 2 cm ,4cm et 8 cm de diamètre puis faire les stérilisée

.2- Ensemencement et dépôt de disque

- On dépose les disques préparer au centre du couvercle des boîtes de pétri contenant la gélose ensemencée par les souches microbienne ;

- A laide d'une micropipette prélever 20 µl ,40µl et 80µl de l'huile de chaque variétés et déchargée la micropipette au dessus des disques de 2cm, 4cm et 8 cm respectivement ;
- Laisser diffuser durant 1 heure, puis incubée les boites à 37c pendant 24 heures pour les bactéries et à 25c pendant 5 à 7 jours pour les champignons.



(A) (B)

(C)

Figure 18 : mode opératoire de la méthode Micro atmosphère (A) le dépôt des disques, (B) le chargement de micropipette par les huiles (C) le déchargement des huiles dans les disques

II-1-10.la lecture de résultat

La lecture a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions.

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre égal à 8 mm. La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible **(Duraffourd et *al.* 1990).**

RÉSULTATS ET DISCUSSION

II-2.Résultats et discussion

II-2-1.Rendement en huile

L'extraction des huiles des olives des deux variétés a permet d'obtenir un produit de couleur jaunâtre très clair pour la VB (variété cultivée Bouchouk) et peu turbide pour la VO (variété d'oléastre) **(figure19).**L'odeur des deux huiles obtenues est moindre. La moyenne du rendement en huile des deux variétés d'olive varie entre 52.13 % pour VB et 14.54 % de la VO **(figure 20).** Ainsi, il apparait que VB est plus riche en huile par rapport à la VO.



Figure19 : les huile d'olive des deux variétés Oléastre et Bouchouk (cultivée)

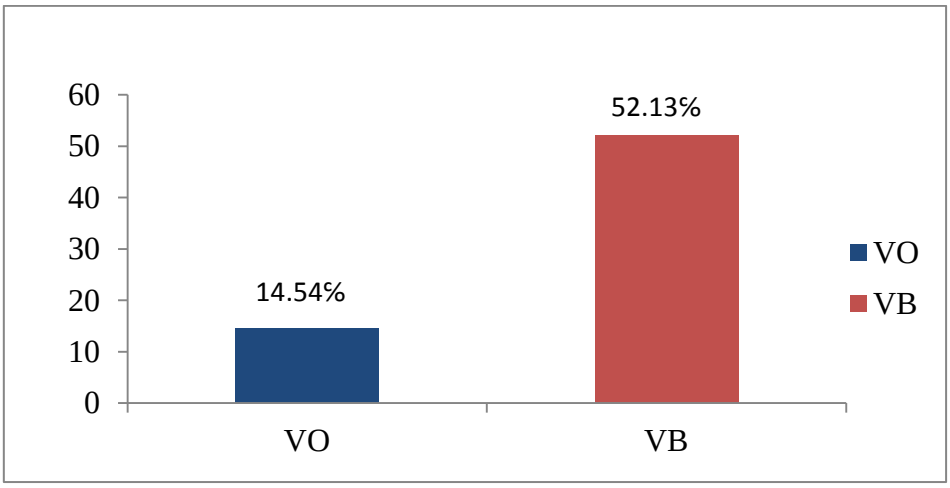


Figure 20 : les pourcentages de rendement en huile d'olive des deux variétés VO, VB

Le rendement en huile, exprimée en % du poids des fruits est de 14.54%pour les huiles d'oléastre ; cette valeur est proches à celle des fruits récoltés dans la région El-kala (16.5 %)

(Ghribe, 2015), est supérieure à des fruits récoltés dans la région de Tlemcen (7,32 %) **(Djeziri, 2012)** .Tandis que le rendement en huile de la variété Bouchouk est de 52.13 % ; cette valeur est inférieure à celle trouvée par **(Ryan, 1998), (**58%) sur des variétés italiennes.

D'après, (**Gigon et Le Jeune, 2010)** , les grandes fluctuations dans les rendements d'huile entre les variétés et même au facteurs sein de la même variété peuvent être expliquer par l'influence des facteur climatique, pédologique , le site géographique et du stade de maturation des fruits à la récolte.

De nombreuses études montrent qu'au cours de la période de maturité, le pourcentage de l'huile augmente radicalement au début du stade de maturation et baisse légèrement quand le fruit dépasse la maturité **(Salvador et *al*., 2001).**

II-2-2-Etude pomologique des fruits

II-2-3.Caractérisation physique des variétés d'olive

La caractérisation pomologique de l'olive est d'une grande importance pour l'identification des variétés .Les résultats de la caractérisation des deux variétés d'olive étudiées sont mentionnés dans le tableau VI.

Tableaux VI: les caractéristiques physiques des olives de deux variétés bouchouk et oléastre de Médéa.

Variété D'olive	Longueur (mm)	Largeur (mm)	Le poids (mg)	Forme	Couleur
Variété D'oléastre	13.88 ± 0.82	9.57±0.59	24.32±1.073	Ovoïde	Noire
Variété Bouchouk	23.12 ± 1.52	16.39 ±0.77	41.48±1.74	Ovoïde	Noire

Les deux variétés d'olive bouchouk (VB) et oléastre (VO) sont noirs et de forme ovoïde à maturité, avec une différence morphologique. L'olive de la variété d'oléastre est caractérisée par un poids de (24.32±1.073mg) inferieur à celui de la variété Bouchouk (41.48±1.74mg).Concernant la longueur, la VO a une longueur de (13.88 ± 0.82mm) inférieure à celle d'olive VB (23.12 ± 1.52mm), et la VB présente une largeur de (16.39 ±0.77mm) supérieure à la largeur de VO (9.57±0.59m). Ces différences entre le poids, la longueur et la largeur qui paraissent fortes entre les deux variétés d'olive.

D'après la classification de **Del Rio et Caballero (1998)**, la VB appartienne à la catégorie des variétés d'olive cultivé dont le fruit est de poids moyen entre 40 et 60 mg, et d'après **(Comte, 1990)**, notre variété d'oléastre appartienne à la catégorie des variétés d'olive sauvage dont le fruit est petit.

II-2-4. Détermination de taux d'humidité ou teneur en eau

Les taux d'humidité (H%) et de matière sèche (MS) sont calculés et rapportés dans l'histogramme ci-dessous **(figure21).**

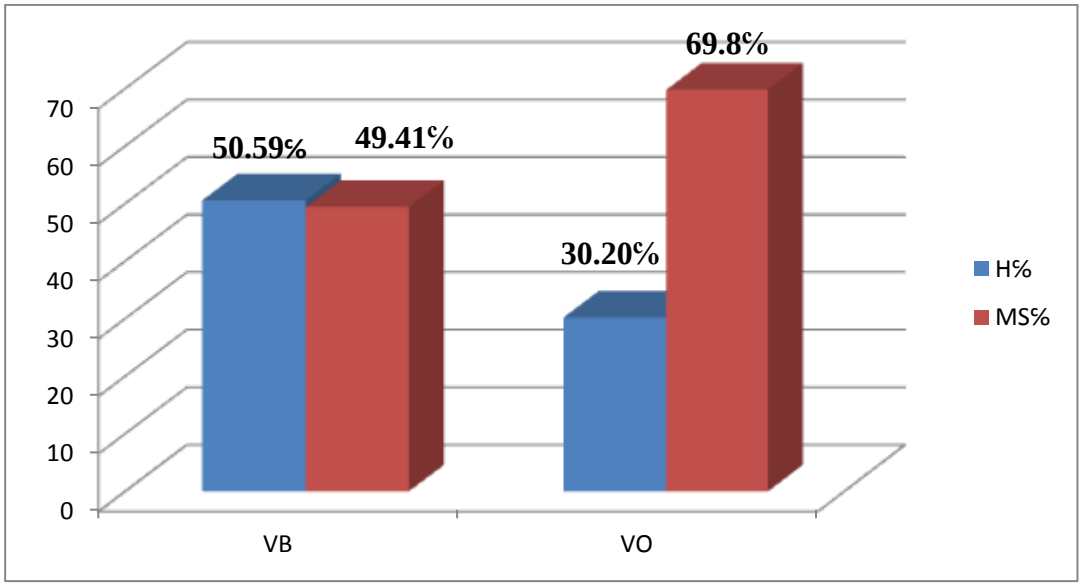


Figure 21 : Taux d'humidité et de matière sèche des olives de variété Bouchouk et oléastre

Au regard des résultats obtenus, il ressort que l'olive VO est caractérisée par un taux d'humidité moindre de l'ordre de (30.20±1.48%**),** et par conséquent un pourcentage de matière sèche MS% élevé (69.8±1.486%**),** tandis que l'olive VB est constitué presque de la moitié de son poids d'eau (50,59±1.323%) alors que l'autre moitié c'est de la matière sèche (49,41±1.323%).

Ces résultats pouvant être comparé avec des données de différent travaux sur, la caractérisation des olives selon leurs taux d'humidité, par exemple les olives de la Grèce présentent un taux d'humidité de 48%, inferieur a celui de VB et supérieure a celui de la VO **(Boskou *et al* ., 2006).**

II-2-5-Caractérisation de l'huile d'oléastre et de l'huile d'olive cultivé

II-2-5-1. Caractéristiques chimiques

Les résultats des analyses chimiques sont présentés dans le Tableau VII

Tableau VII : les résultats des caractères chimiques de l'huile de VO et VB

	Indices		**COI(2011)**	**CEE(2005)**	**Codex, FAO (2001)**
	Variété oléastre	**Variété bouchouk**			
Indice d'acidité **(mgde KOH/g d'huile)**	4.60±1.42	7.852±0.39	/	/	/
Acidité **(%)**	2.3±0.72	3.93±0.2	0.8-3.3	0.8-2.0	<1
Indice de saponification **(mg KOH/g)**	189.87±3.974	182.355±1.98	/	/	184-196
Indice de peroxyde (**meqO2 /Kg d'huile)**	14.25±1.06	9.75±1.76	≤20	≤20	<20

L'indice d'acide est un critère chimique de fraîcheur et de pureté de l'huile, il nous renseigne sur son degré d'altération **(Ollë, 2002)**. L'augmentation de l'indice d'acide est principalement due à l'activité enzymatique causée par les dommages tissulaires des fruits**(Boskou, 1996).** L'acidité permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique, des chaînes d'acides gras des triglycérides **(Abaza *et al*., 2002)**. Ceci est à l'origine d'acides gras libres et de glycérides partiels (mono et diglycérides).

Notre huile d'oléastre présente un indice d'acide de (4.60±1.42 mg KOH/g d'huile) et une acidité de 2.3±0.72 %, qui est proche des valeurs signalées par **Belarbi et *al*. (2011)** (4,84 mg KOH/g et 2,42%) et inferieure aux valeurs trouvée par **Djeziri. (2012)** (5.52 mg KOH/g et 2.76 %) ; le résultat obtenue d'acidité de cette huile est dans les normes du COI, Tandis que notre l'huile de variété bouchouk présent un indice d'acide de (7.852±0.39) et une acidité de 3.93±0.2 %.ce résultat et un peu supérieur à la norme de COI.

Les travaux de **Salvador et *al*. (2001)** et de **Rotondi et Magli (2004)** montrent que l'indice d'acide n'est pas influencé par le stade de maturation mais plutôt par les facteurs qui causent les dommages aux fruits (attaque des insectes ou systèmes impropres de récolte et le

stockage des olives).L'augmentation de l'acidité (qui est égale à l'indice d'acide divisé par 2) peut être probablement le résultat des conditions de stockage des olives **(Kiritsakis et Markakis, 1984).**

L'indice de saponification étant inversement proportionnel à la longueur de la chaîne ; plus la longueur de chaîne augmente, moins sera l'indice de saponification **(Harper, 1977)**. L'indice de saponification de l'huile d'oléastre étudiée est de (189.87±3.974 mg KOH/g), tandis que l'indice de saponification obtenu à partir de l'huile de variété Bouchouk est de (182.355±1.98 mg KOH/g) ; les deux résultats sont dans les normes de Codex, FAO et sont supérieure à celui obtenu par **(Belarbi et *al*., 2011)**, estimé à (162,9 mg KOH/g).;et inferieure à celui trouvée par **Djeziri (2012) (**192,64 mg KOH/g) sur les huiles d'oléastre .

L'indice de peroxyde est utilisé en tant que révélateur de la détérioration d'huile par oxydation **(Barone *et al.*, 1994)**. Il est également utilisé pour surveiller tout problème de production, qui se produit après la récolte et pendant le traitement (**Kiritsaki & Markakis, 1984).** L'indice peroxyde de variété d'oléastre est de (14.25±1.06 meqO2 /Kg d'huile), néanmoins l'indice de peroxyde de l'huile de variété bouchouk est (9.75±1.76 meqO2 /Kg d'huile) ; les deux valeur conforme aux exigences des normes commerciales COI ;CEE et Codex, FAO ces résultats sont proches de la valeur trouvée par **(Gherib , 2015)** (14,16 meqO2 /Kg d'huile) sur les huile d'oléastre ;mais elle reste supérieure à celle trouvée par **(Baccouri et *al.*, 2007)** avec un pourcentage de (2,4 à 7,66 méqO2/Kg d'huile), de cinq variétés d'oléastre tunisiennes, Ces résultats peuvent révéler l'importance des composés mineurs de l'huile d'olive vierge sur la stabilité oxydative **(Moussay *et al.*, 1995)** tel que les composés phénoliques qui sont des antioxydants puissants par leur effet de piégeage des radicaux libres ainsi que leur réaction avec l'oxygène singulet **(Visioli et Galli, 2002).**

Les principaux facteurs influençant les valeurs d'indice de peroxyde sont d'une part l'état sanitaire des olives, leurs conditions de transformation (transport, la récolte et le stockage), ainsi que le système d'extraction et d'autre part par l'humidité et les minéraux **(Benabdeljelil, 2003).**

II-2-5-2-Phénols totaux

Les polyphénols sont reconnus comme composés antioxydants, leur présence dans l'huile d'olive est liée à leurs propriétés générales, amélioration de la stabilité, valeur

nutritionnelle et propriétés sensoriels (**Servili et *al*, 2004)**, donc la détermination de la teneur en polyphénols de l'huile est une analyse d'extrême importance.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique/kg d'huile d'olive sont représentés dans la **figure 22.**

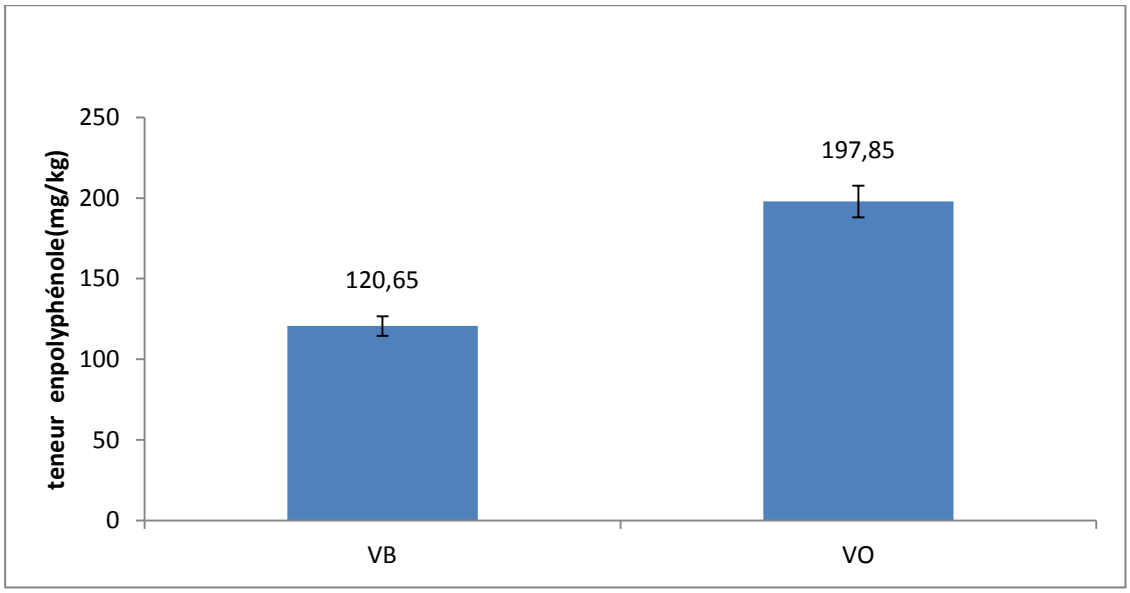


Figure22 : Les valeurs en polyphénols de l'extrait méthanolique de l'huile de VO et VB

Notre huile d'oléastre présente un taux de polyphénols estimé à (197.85±0.35 mg/kg) conformément aux résultats trouvaient par **Baccouri et *al*, (2008)** sur l'huile d'oléastre de Tunisie qui sont de (182 à 430 mg /kg), mais cette valeur est inférieure à ce qu'ont trouvé par **Belarbi et *al*. (2011)**, avec un taux de (420 mg/Kg) sur un échantillon d'oléastre à la région de Tlemcen. Par ailleurs, notre huile d'olive de VB présente un taux de polyphénols de (120.65 ±0.49mg/kg), qui est inférieur à celui trouvé par **Meftah *et al.* (2014)** sur les huiles de variétés marocaines (179,9 à 281,35 mg/Kg). **Dabbou et *al*. (2011)** rapportent que l'huile d'oléastre semble intéressante en termes de composés mineurs (polyphénols et composés volatils) comparée à l'huile d'olivier cultivé.

Les variations des teneurs en polyphénols, observées peuvent être dues à la différence de degré de maturité des olives avant trituration. Les travaux de **(Baccouri et *al*., 2007b et Rotondi et *al*., 2004)** montrent que les composés phénoliques diminuent à la fin de la maturation. Or, la récolte a été faite en plein maturation des fruits « Mois de décembre », ce

qui explique cette diminution en polyphénols, mais elle dépend aussi de la variété et de la zone géographique oléicole.

II-2-6. Activité antioxydant de l'huile contre le radical DPPH

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés dans la **Figure 23**. Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'huile de VO ou pour l'huile de VB.

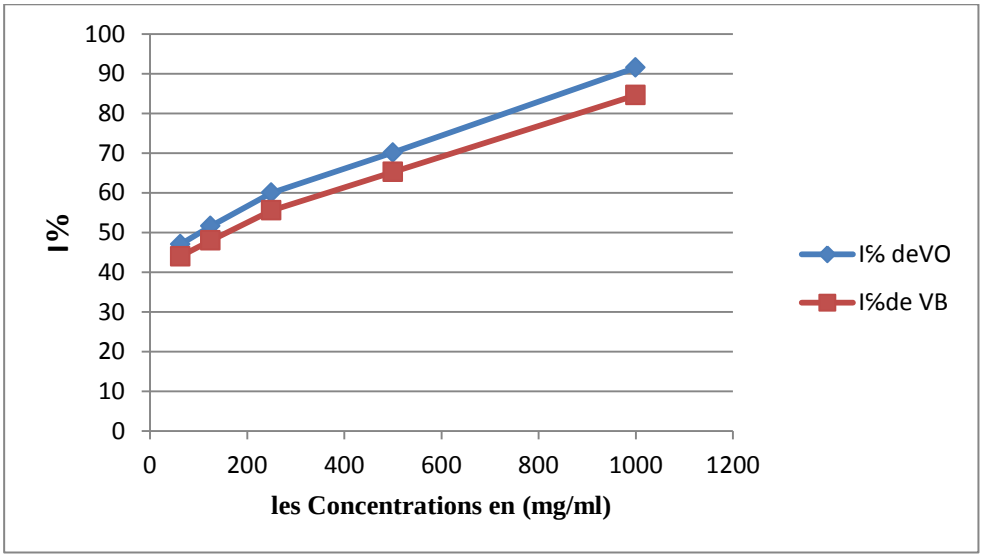
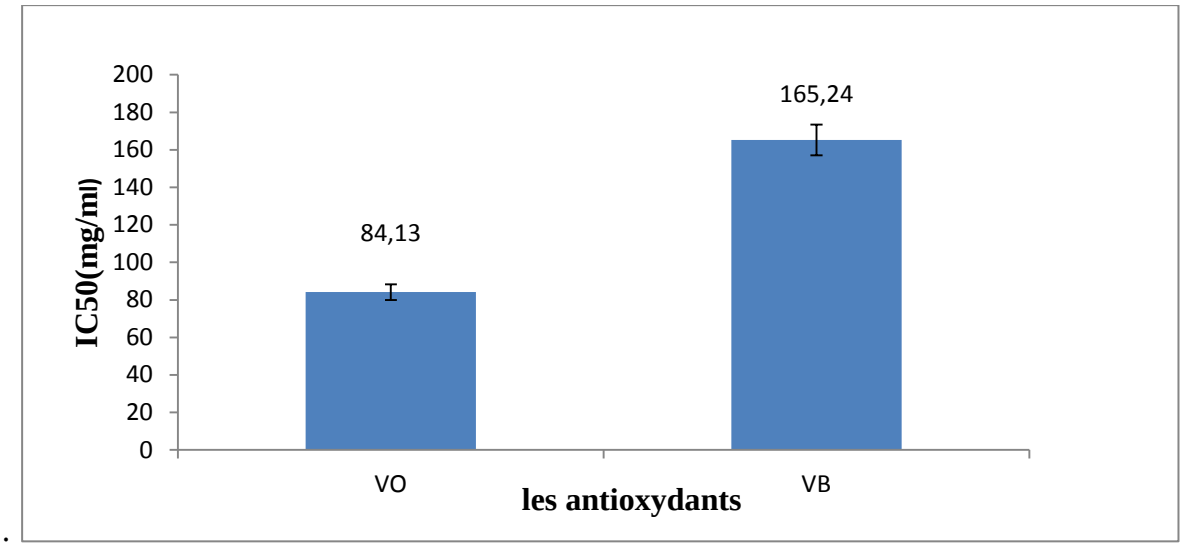


Figure 23 : **Pourcentage d'inhibition pour l'huile de VO et l'huile de VB**

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'huile de VO est supérieur à celui de l'huile de VB pour toutes les concentrations utilisées.

- **Détermination d'IC50**

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %.
Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande **(Barakat et Laib, 2011).** Les valeurs d'IC50 pour l'huile de VO et de VB sont indiquées dans la **Figure 24.**aprés détermination par les courbes de la variation de l'inhibition de DPPH en fonction des huiles .**figure 02 ,03** (annexe)



.

Figure 24: Valeurs d'IC50 de l'huile de VB et VO

L'huile de VO pouvait ramener le radical libre stable 2.2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de (84.13 mg/ml) montrant une activité antioxydante supérieure à celle de l'IC50 de VB estimée à (165.24mg/ml).

D'après **Gutfinger (1981) et Ben Youssef *et al.* (2010)** qui ont noté que les concentrations en polyphénols sont proportionnelles à la capacité antioxydante de l'huile d'olive. On dit que l'huile de la variété qui renferme la teneur en composés phénoliques la plus élevée présente l'activité antiradicalaire la plus importante.

D'après nos résultats l'huile de la variété oléastre a un taux de phénols de (197.85±0.35mg/kg) et une IC50 de (84.13 mg/ml), donc elle exerce une meilleure activité antioxydante par rapport à l'huile de variété Bouchouk, qui a un taux de phénols de (120.65 ±0.49 mg/kg) et une IC50 de (165.24mg/ml).

Selon la courbe de pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique **figure 04 (annexe)**, on trouve que l'IC 50 de ce dernier est de (0.26 mg/ml) ; donc on remarque que l'IC 50 de l'acide ascorbique est très faible par rapport à celle des deux huiles étudiées; il semble que l'activité antioxydante des deux huiles est moins efficace que celle de la vitamine C.

II-2-7. Activité antimicrobiennes

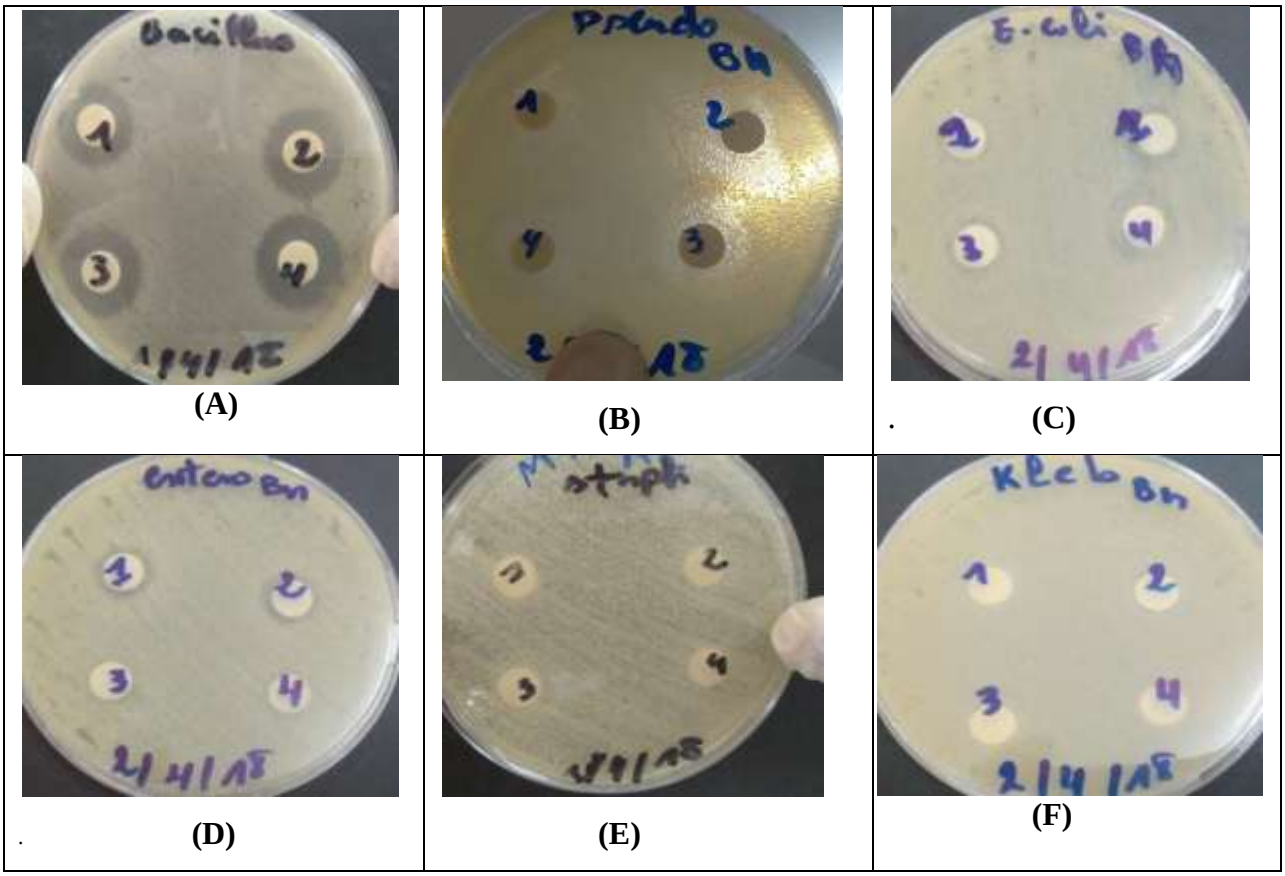
II-2-7-1. méthode aromatogramme

Les huile des deux variétés (VO, VB) à différentes concentrations (1000, 500, 250 et 125 µg/ml) ont été criblés pour leur activité antimicrobienne contre *B. ceureus* ATCC 10876 ; *S. aureus* ATCC 60538 et. *E, faecalis* ATCC 2035 (Gram-positif), *E. coli* ATCC 25922 ;*P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 40352 (Gram négatif) et *Candida albicains* ATCC 24433, *Aspergillus niger* ATCC 10404 suivant la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats obtenus sont regroupés sur **les tableaux VIII, IX, X**. et les résultats de témoin positive (Antibiotique, antifongique) ont été mentionnés dans le **Tableaux 08 et figures 06 ,07 (annexe).** Le solvant DMSO utilisés pour dissoudre les extraits, a été testé et les résultats mentionnés dans **le tableau 07 et figure 05 (annexe)**, ces résultats montrent que le solvant est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

II-2-7-1-1. Activités antibactériennes

Tableau VIII: Variation de l'activité antibactérienne de variété VO en fonction de différentes concentrations.

Les souches	les Diamètre des zones d'inhibition (mm) à différentes concentrations de l'huile d'oléastre			
	1000µg/ml	**500µg/ml**	**250 µg/ml**	**125 µg/ml**
B. ceureus	21±0.5	20±0.5	20±0.6	18±0.5
P. aeruginosa	18±0.5	16±0.436	16.96±0.208	16±0.6 24
E.coli	14±0.435	13±0.264	12±0.5	13±0.7
K. pneumoniae	8±0.0	8±0.0	8±0.0	8±0.0
S. aureus	8±0.0	8±0.0	8±0.0	8±0.0
E. faecalis	12±0.081	12.96±0.451	9±0.0	8±0.5



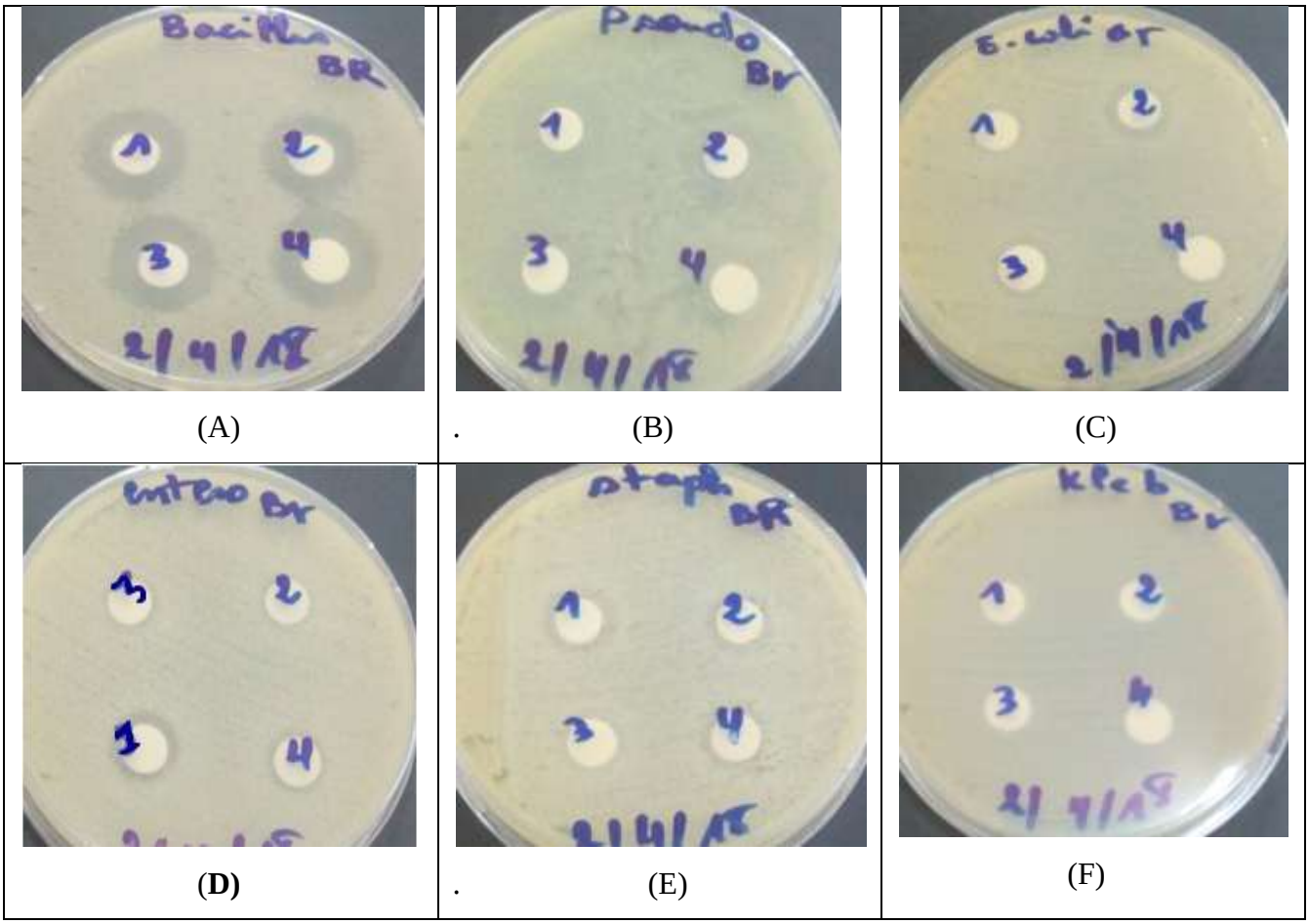
(A) **(B)** **(C)**

(D) **(E)** **(F)**

Figure25 : les résultats de l'effet de l'huile de VO sur la croissance de :A) : *B.cereus* .B) :*P. aeruginosa* .C) : *E*.coli.D) :*E. faecalis*.E) ; *S.aureus*.F) :*K. pneumoniae.* 1) :1000µg/ml.2) :500 µg/ml.3) :250 µg/ml.4):125 µg/ml.

Tableau IX : Variation de l'activité antibactérienne de variété VB en fonction de différentes concentrations.

Les souches	**Diamètre des zones d'inhibition (mm) à différentes concentration de l'huile de Bouchouk**			
	1000µg/ml	**500µg/ml**	**250 µg/ml**	**125 µg/ml**
B. ceureus	20±0.1	19±0.264	18±0.916	17.9±0.871
P. aeruginosa	16±0.624	15±0.85	15±0.435	14±0.173
E.coli	12±0.4	12±0.2	11±0.264	11±0.7
K. pneumoniae	8±0.0	8±0.0	8±0.0	8±0.0
S. aureus	13±0.6	12±0.3	10±0.458	12±0.436
E. faecalis	13±0.458	12±435	10±0.556	10±0.173



(A) . (B) (C)

(**D)** . (E) (F)

Figure26: les résultats de l'effet de l'huile de VB sur la croissance de :A) : *B.cereus* . B) :*P.aeruginosa* .C) : *E*.coli.D) :*E. faecalis*.E) :*s.aureus*.F) :*K. pneumoniae.* Bn) . 1) :1000µg/ml.2) :500 µg/ml.3) :250 µg/ml.4):125 µg/ml.

Les effets inhibiteurs de la croissance des germes sont manifestés par deux Huiles VO et VB à partir d'une concentration mère de 1000 µg/ml, sur 4 bactéries, *Bacillus ceureus*, *Pseudomonas aeruginosas*. *E.coli* , *Enterococus faecalis* ;et pour *Staphylococus aureus* , on observe les diamètres d'inhibition seulement dans la variété de VB. Par contre, aucun effet signalée sur *la souche Klebsilla pneumoniae* pour les deux huiles. Les diamètres d'inhibition sont en fonction de la dose déposée sur le disque.

Bacillus ceureus est la souche la plus sensible aux effets des deux huiles , pour une concentration de 1000µg/ml le diamètre d'inhibition atteindre à 21±0.5mm et 20±0.1mm pour les huiles VO et VB respectivement, suivie de *Pseudomonas aeruginosas* avec des diamètres de 18±0.5 mm et 16±0.624 mm, les valeurs de nos résultats sont supérieures aux valeurs trouvées par **Merah (2016) ,(***Bacillus* 17.10 mm **;** *Pseudomonas aeruginosas* 14.57mm) sur les huiles d'olive de deux variété Sigoise et Chemlal de la région de Mascara.

Escherichia Coli a une moyenne de sensibilité avec un diamètre de 14±0.435 mm pour l'huile de VO et une sensibilité limitée avec un diamètre de 12±0.4 mm pour la variété VB ,les deux zones d'inhibition sont inférieures aux zones marquées par **Merah,(2016)**, tandis que *Enterococus faecalis* a une sensibilité limitée avec une diamètre de12±0.081 mm pour VO et un diamètre de 13±0.458 pour VB.

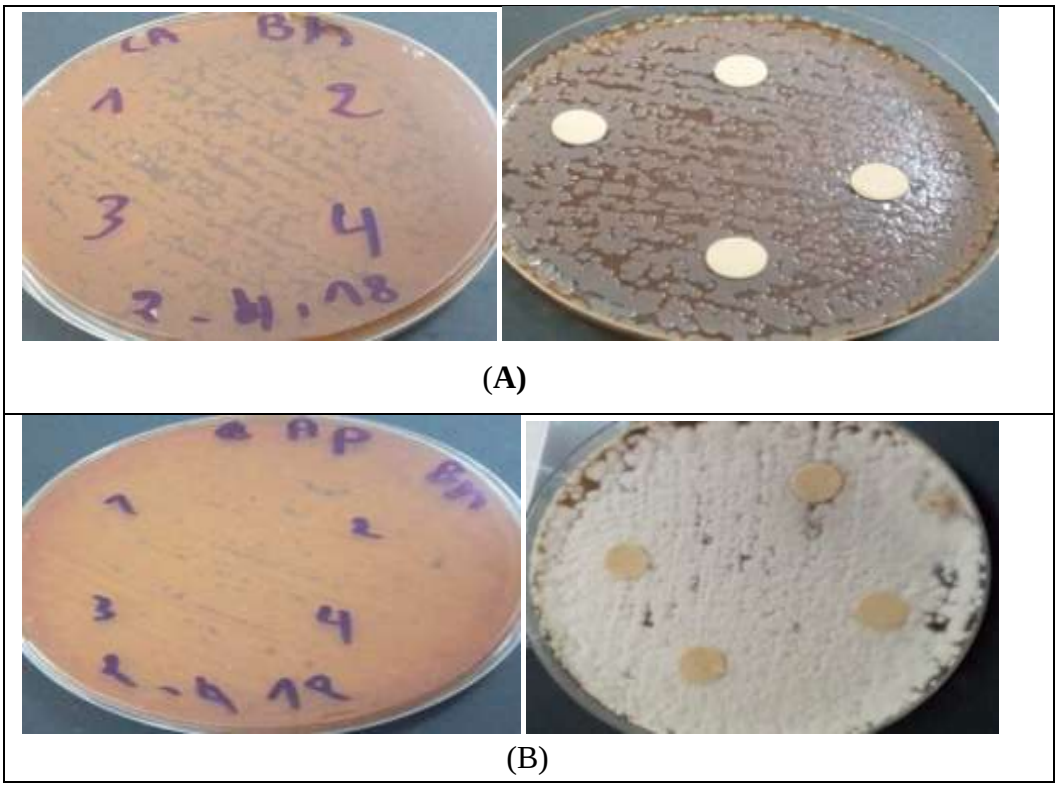
Ainsi, *Staphylococus aureus* a une sensibilité nulle (résistante) pour VO, et une sensibilité limitée avec un diamètre de 13±0.6 mm pour VB, ces résultats sont inférieurs aux résultats trouvés par **Laincer *et al.,*(2014) (**16mm) sur l'huile d'olive de variété Chemelal de la région de Bejaia.

Par ailleurs, *Klebsilla pneumoniae* a une sensibilité nulle (résistance plus élevée) pour les deux variétés d'huile, ces résultats sont identiques aux résultats trouvée par **Sait et Tamendjari, (2013)** sur l'huile d'oléastre, et sont en accord avec les résultats de **Laincer *et al.*,(2013)** sur l'huile d'olive de variété Bouchouk de la région de Bejaia.

II-2-7-1-2. Activité antifongique

Tableau X: Variation de l'activité antifongique de variété VB et VO en fonction de différentes concentrations

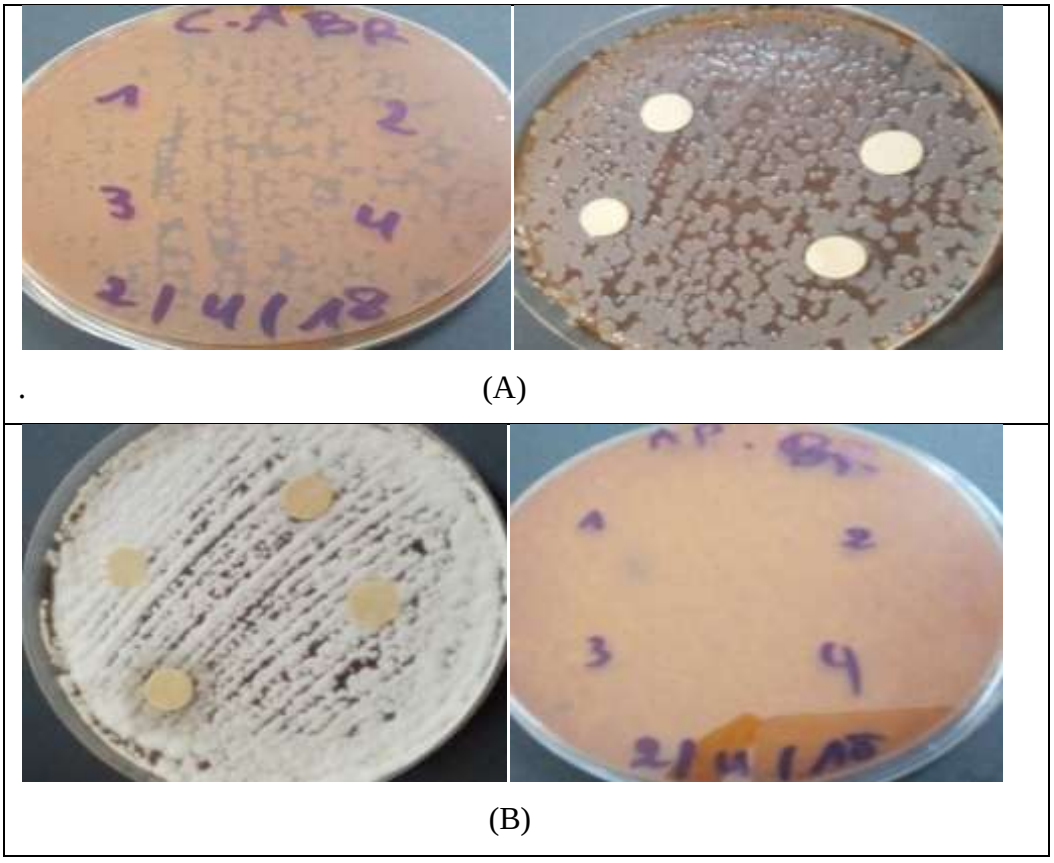
Les champignons	*Aspergillus niger*	*Candida albicains*
Les concentrations en (µg/ml) (VO)	Diamètre d'inhibition en mm	
1000	8±0.0	8±0.0
500	8±0.0	8±0.0
250	8±0.0	8±0.0
125	8±0.0	8±0.0
Les concentrations en (µg/ml) (VB)	Diamètre d'inhibition en mm	
1000	8±0.0	8±0.0
500	8±0.0	8±0.0
250	8±0.0	8±0.0
125	8±0.0	8±0.0



(**A**)

(B)

Figure27:les résultats de l'effet de l'huile de VO sur la croissance de : A) :*Candida albicains* . B) : *Aspergillus niger.*



. (A)

(B)

Figure28 : les résultats de l'effet de l'huile de VB sur la croissance de A) : *Candida albicains* ; B) : *Aspergillus niger.*

Les résultats de l'activité antifongique ont révélé l'inefficacité pour les deux huiles contre les deux champignons testés (*Aspergillus niger* et *Candida albicains)*, tandis que les recherches **de Madina *et al* (2006)** sur l'huile d'olive des deux variétés Espagnoles (*Arbequina* et *Picual*) montrent que les huiles d'olive ont une effet fongicide .

Dans une étude menée par **Keskin, (2012)** L'activité antimicrobienne de l'extrait des feuilles d'olive sur *C.albicans* est expliqué par la présence de certains composés volatiles tels que la Cyclotrisiloxane hexamethyl et cela peut être aussi expliqué l'activité de l'huile d'olive sur *C.albicans* d'où la supposition que nos huiles sont pauvre en composés volatiles.

D'après **(Sousa et *al*, 2006),** la variation de la sensibilité des microorganismes est expliquée par l'effet variétal ainsi que la nature et la proportion des composés de chaque huile.

Plusieurs études ont montré que les composés phénoliques ont une haute activité antimicrobienne à un large spectre pour les microbes pathogènes **(Medina et *al*., 2006 ; Karaosmanoglu et *al.*, 2010)**.

Selon **Cowan, (1999) et Athamena *et al.* (2010)** les polyphénols, tels que les tannins et les flavonoïdes sont des substances antibactériennes importantes, possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes.

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique, l'altération des fonctions de la membrane cytoplasmique, la séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien **(Jungkind, 1995).**

L'activité antimicrobienne ne dépend seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires **(Halmi, 2015)**.

Par ailleurs, la paroi des bactéries Gram+ est riche en protéines tandis que chez les souches Gram–, elle est surtout assemblée en lipopolysaccharides (LPS), La membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram+ sont moins protégées contre les agents antibactériens, le

peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 D **(Hogan et, Kolter . ,2002).**

II-2-7-2.Méthode micro atmosphère

L'activité antimicrobienne des composés volatile des huile d'olives (VO, VB) a été testée, par la méthode Micro atmosphère à différentes volumes (20, 40, 80 µl) contre *B. ceureus* ATCC 10876. *S. aureus* ATCC 60538. *E, faecalis* ATCC 2035, *E. coli* ATCC 25922 . *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 40352 ; *Candida albicains* ATCC 24433 et *Aspergillus niger* ATCC 10404. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le **tableau** (**XI**) et **figures 27/ 09, 10, 11, 12, 13, 14,15 (annexe)**

Tableau XI : l'activité antimicrobienne des deux variétés VB et VO en fonction de différentes volumes

Les souches	**Le volume de l'huile de (VO) en µl**			**Le volume de l'huile de (VB) en µl**		
	20	**40**	**80**	**20**	**40**	**80**
B. Ceureus	-	-	-	-	-	-
P. aeroginosa	-	-	-	-	-	-
E. Coli	-	-	-	-	-	-
K.Pneumoniae	-	-	-	-	-	-
S .aeureus	-	-	-	-	-	-
E. faecalis	-	-	-	-	-	-
Aspergillus niger	-	-	-	-	-	-
Candida albicains	-	-	-	-	-	-

(-) signifiée que il n'ya pas des halos d'inhibition

Huile De VB	 20µl	 40 µl	 . 80 µl
Huile De VO	 20 µl	 40 µl	 80 µl

Figure29 : les résultats de la méthode micro atmosphère vis-a-vis *B.Ceureus* pour les deux variétés d'olive.

Les résultats obtenus montrent que les vapeurs d'huiles d'olive des deux variétés n'exercent aucune activité inhibitrice à des doses (20, 40,80µl/boite) sur les souches testées par la méthode Micro atmosphère contrairement à la méthode d'aromatogramme.

D'après **Bougurra *et al* (2014)**, dans la méthode de diffusion les constituants actifs sont en contact directe avec les souches microbiennes, alors qu'avec la méthode Micro atmosphère Les molécules actifs ne sont pas en contact directe (état volatile).

Selon **(Boskou et *al.*, 2006 ; kalua et *al*, 2007)**,les composés aromatiques, qui sont responsables de l'arome délicat de l'huile d'olive, sont constitués d'un mélange de composés volatils : aldéhydes, alcools, esters, hydrocarbures, cétones. La plupart de ces composés exerçaient une activité antimicrobienne (**Kubo *et al.*, 1995)**.

À travers ces résultats, et la moindre d'arome de notre huile, on peut suggérer que notre huile est pauvre en composés aromatique.

CONCLUSION

Conclusion

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude des caractères pomologiques, des caractères chimiques, le contenu ou la teneur en polyphénols, ainsi que l'estimation *in vitro* des activités antioxydante et antimicrobienne d'huile d'oléastre de la commune de Benchicao avec une comparaison à l'huile d'olive de variétés bouchouk de la communes de Berrouaghia ;de la région de Médéa .

Les caractéristiques pomologiques des fruits d'olive montrent des différences entre les deux variétés étudiées de point de vue morphologique, pondéral, ainsi qu'en taux d'humidité et en rendement d'huile.

L'analyse physicochimique des deux huiles montre que les valeurs d'acidité (2.3±0.72%) indice de saponification (189.87±3.974 mg KOH/g) et indice de peroxyde (14.25±1.06 meqO2 /Kg d'huile) d'huile d'oléastre ;et les valeur de l'acidité (3.93±0.2 %) , d'indice de saponification (182.355±1.98 mg KOH/g) et d'indice de peroxyde (9.75±1.76 meqO2 /Kg d'huile) d'huile de variété Bouchouk sont dans les normes (COI, 2011 et codex ,2001**)** . L'huile d'oléastre étudiée présente un taux de polyphénols de (197.85±0.35 mg/kg).et l'huile de la variété Bouchouk possède un taux de polyphénols de (120.65 ±0.49mg/kg).

L'activité antioxydante des huiles étudiées a été évaluée *in vitro* par le test du DPPH•, qui affirme que ces huiles ont une capacité de piéger le radical DPPH• avec des concentrations inhibitrices responsables de 50% de l'activité antiradicalaire (CI50) de 84.13 et 165.24 mg/ml pour l'huile de la VO et l'huile de la VB respectivement, on peut conclure à la comparaison des IC50 des deux huiles que l'huile d'oléastre présent une meilleure activité antiradicalaire par rapport à l'huile d'olive de variété Bouchouk, et l'activité des deux huiles est moine efficaces que les antioxydants utilisés comme standards (acide ascorbique).

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, les deux huiles d'olives semblent avoir une activité anti- *Bacillus ceureus,* anti- *Pseudomonas aeruginosa,* anti *–Escherichia coli,* anti- *Entérococcus faecalis* ; et anti-*Staphylococcus aureus* seulement pour l'huile d'olive de variété Bouchouk.et n'avoir aucun effet antimicrobienne vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae*, *Aspergillus niger* et *Candida albicans,* par la méthode aromatogramme.et n'avoir aucun effet

antimicrobienne des deux huiles par la méthode micro atmosphère pour toutes les souches testées .

Les résultats de cette étude montrent que les deux huiles (huile d'olive, huile d'oléastre) sont intéressantes pour intérêts nutritionnelles et thérapeutiques, dans ce travail ne constituent qu'une première étape dans la valorisation d'olive algérienne, des essais complémentaires seront nécessaires.

RÉFÉRENCES

Argenson C., 1999. - L'olivier. -Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL), p : 204.

Aurélie B., 2010. Design de nouveaux syntones dérivés de l'acide oléique : application à la synthèse de polyuréthanes : thèse doctorat, université de Bordeux1, école doctorale des sciences chimiques.

Abaza L., Msallem M., Daoud D. et Zarrouk M., 2002. Caractérisation des huiles de sept Variétés d'olivier tunisiennes. John Libbey Eurotext, *OCL*, 9 (2): 174-9.

Assman G. & Wahrburg U.2002. -Effets des composants mineurs de l'huile d'olive sur la santé. *Librairie Médicale Européenne sur l'Huile d'Olive*, Fact Sheet 9. (www.food-info.net/fr/products/olive/olive05.htm).

Athamena S., **Chalghem I**., **Kassah-Laouar A**., **Laroui S**. et **Khebri S**., **2010.** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. Lebanese Science Journal, 11 : 69-81.

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.

Boudribila M., 2004. Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et organisation sociale. *AWAL*. 29: 17-31.

Breton C, Médail F, Pinatel C., Bervillé A, 2006. De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. Cahiers Agricultures. Vol. 15, n° 4, p : 329-336.

Bruneton J. ,1999. -Pharmacognosie - Phytochimie – Plantes médicinales. 3e edition. Ed. Technique & Documentation, Paris.

Boskou D. ,1996. Olive oil: chemistry and technology. Champaign Illinois. American Oil Chemists Society, 69:552-556.

Boualem B., 2009. -Bejaïa: L'olivier sauvage délaissé. *Revue de presse, Quotidien El Watan, Algérie*, 20/07/2009.

Bouzenoune F., Boudersa F., Bensaad A., Harkat F. and Siad N., 2009. Les infections urinaires à Ain M'lila (Algérie). Résistance aux antibiotiques des 239 souches isolées entre 2006 et 2007. *Médecine et maladies infectieuses*, 39: 142-143.

Belarbi M., Bendimered S. & Sour S., 2011. -Oleaster oil positively modulates plasma lipids in humans". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (16):8667-8669.

Boskou D., 1996. Olive Oil Quality in Boskou D. (Ed.) Olive Oil: Chemistry and Technology AOCS Press, Champaign, IL, USA, p: 101-120.

Belarbi M., Bendimered S. & Sour S., 2011. -Oleaster oil positively modulates plasma lipids in humans". *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 59 (16):8667-8669.

Barone E., Di Marco L., Motisi A. et Caruso T.,1994. The Sicilian olive germplasm and its characterization by using statistical methods. *Acta Horticulturae,* 356:66-69.

Baccouri B., Zarrouk W. & Krichene D., 2007. Influence of fruit ripening and Crop yield on chemical properties of virgin olive oils from seven selected Oleasters (*Olea europaea* L.). *Journal of Agrbiology*, 6 (3): 388-396.

Benabdeljelil. K.2003. L'utilisation de matière grasse dans l'alimentation avicole: caractéristique nutritionnelle et recommandation pratique, 6(2) :352-451

Berche P, Gaillard J-L, Simonet M. ,1989. Bactériologie: bactéries des infections humaines.Médecine-Sciences Flammarion,8(4) :142-321

Bisignano G, Tomaino A, lo Cascio R, & al.,2002. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal* of Pharmacy and Pharmacology, 31: 971-74.

Betina V.,1989. Bioactive molecules, Vol. 9: Mycotoxins - chemical, biological and environmental aspects Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands. *Biochem. Eng. Biotechnol. 69 : 1-39.*

Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M. L., Collette, C.,1997. Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz, 16(1) : 452-471.

Boskou, D., 2**006**.Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, **17 :** 505–512.

Boskou D, Bleks G. et Tsimidou M.,2**006**.olive oil composition, chemistry and technology, **17**, 505-512.

Baccouri B., Zarrouk W., Baccouri O., Guerfel M., Nouairi I., Krichene D., Daoud D., Zarrouk M., 2008. Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (Olea europaea L. subsp. Oleaster). GRASAS Y ACEITES. 59 (4), p: 346-351.

Ben Youssef N., Zarrouk W., Carrasco-Pancorbo A., Ouni Y., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A., Daoud D. et Zarrouk M., 2010. Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chétoui virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 199-204.

Barkat M,et Laib I.,2011. Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* .*Revue de génie industriel* **2011**, *6*, 46-54.

Bouguerra A ,Himed L ,Barakat M. ,2014.étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentislle extraite des écorces de citrus reticulate.natur.santé 03N01,32-39.

Billing J., Sherman PW.,1998. Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot.Q. Rev. Biol. 73: 3-49 .

Carrion,Y.,Ntinou, M.,Badal, E.,2010.*Olea europaea* L. in the North Mediterranean Basin during the Pleniglacialand the Early–Middle Holocene.*Quaternary Science Reviews*29 : 952–968.

Cronquist A., 1981. -An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York, USA. P: 1262.

Caravaca, F., Barea, J.M., Figueroa, D., Roldán, A., 2002. Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reafforestation with Olea europaea subsp. Sylvestris through changes in soil biological and physical parameters. *ELSEVIER*. 20, 107-118.

Comte H., 1990. -Le tour de l'olivier. Régine Vallée, 2ème ed, p : 116.

Cicerale S., Conlan X. A., Sinclair A. J. and Keast R. S. J. ,2009. Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(3): 218-236.

C.E.E. (2568/91). Communauté Économique Européenne. Règlement (CEE) N°2568/91 de la commission du juillet (1991).Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes : 27-30.

Conseil oléicole international. , 2009. COI/T.15/NC no 3/Rév. 4 (Novembre). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive.

Camille Delarras .,2007; microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, 476 page. (p 320,341, 296,248, 250, 358,359).

Chung, K.I., Lim, T.H., Koh, Y., Song, J., 1992. Nosocomial pneumonial in medico-surgical intensive care unit. *J Korean Med Sci*. 7: 241-251.

Choma, C., Guinebretière, M.H., Nguyen- The, C.,2000. Prevalence, characterization and growth of Bacillus cereus in commercial cooked chilled foods containing vegetables. J. Appl. Microbiol. 88, 617–625.

Conti H. R et Gaffen S. L. , **2010**. Host responses to *Candida albicans*: Th17 cells and mucosal candidiasis. Microbes and Infection, **12**(7), 518–527.

Calderone RA, Clancy CJ. , **2012.** *Candida* and Candidiasis: ASM Press, Washington, DC.

Cowan M. M. ,1999. Plants products as antimicrobial agents. Revu. Microbiologie clinique, **12** :564-582.

De Candolle A., 1883. Origines des plantes cultivées. Ed., Librairie Germer Bâillère, Paris.p : 372.

Decker EA.,1995. -The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as non essential dietary antioxidants. *Nutrition Reviews*, 53: 49- 58.

Debruyne I., 2001. Soja : transformation et aspects industriels. *Techniques de l'Ingénieur*, F6030: 1-12.

Dabbou S., Brahmi F., Taamalli A., Issaoui M., Ouni Y., Braham M., Zarrouk M. and Hammami M.,2010. Extra Virgin Olive Oil Components and Oxidative Stability from.Olives Grown in Tunisia. Journal of American Oil Chemist's Society. 87: 1199-1209.

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.

Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. ,1990 - Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.

Dabbou, S., Selvaggini, R., Urbani, S., Taticchi, A., Servili, M. ,2011. Comparison of the chemical composition and the organoleptic profile ofvirgin olive oil from two wild and two cultivated Tunisian Olea europaea. *Chemistry and Biodiversity*. 8, 189-202.

Doveri, S., Baldoni, L.,2007. Olive in Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Ed C. Kole. Volume 4: Fruits and Nuts, 253-264.

Dacosta, E. ,2**003**.Les phytonutriments bioactifs.Yves Dacosta (éd). Paris, p**317.**

Drancourt**, M. ,2007.** *Klebsiella pneumoniae.* In Freney J, Renaud F, Leclerecq R, Riegel P. Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA. pp. 1111-1114.

Droboiewski, F. ,1993. *Baeil/us cereus* and related species. *Clin. Microbiol. Rev.* 6: 324 -338.

Devriese L., Baele M. ,2006. The Genus *Enterococcus*: Taxonomy. The Prokaryotes. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.–H. etStackebrandt E. New York: USA, Springer**:** 163–174.

Desoubeaux G. et Chandenier J. ,2010 . Aspergillus et maladies aspergillaires. Feuillets de Biologi*e*, 51(293) :53–63.

Denning D.W. ,1998. Invasive aspergillosis. *Clinical Infectious Diseases*, 26 :781–805.

Espin J. C., Soler-Rivas C. and Wichers H. J., 2000. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48 : 648–656.

Elghozi J.L., Duval D. ,**1992**. Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p.

Fedeli E., 1977. Lipids of olives. In Progress Chemistry of Fats and Other Lipids, edited by R.T. Hilman, Academic Press, Oxford, 15: 57-74.

Fauchère, J.-L. et J.-L. Avril .,2002. "Bactériologie général et médicale" Ellipses Editions Paris. P 365.

Favati F., Caporale G. and Bertuccioli M., 1994. Rapid determination of phenol content in extra virgin olive oil. Grasas y Aceites. 45: 68-70.

Favier A. ,2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. pp: 108-115.

Favier A.,2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr*. 64: 390-396.

Finkel JS, Mitchell AP.,**2011.** Genetic control of *Candida albicans* biofilm developement. Nat Rev Microbiology, **9**,109-18; PMID: 21189476.

Jacques-Meunié D., 1982. Le Maroc saharien des origines à 1670, Klincksieck, Paris. 2vol. 990 p.

Joffre F., Brenne E. & Lacoste F., 2011 . Effect of the geographical production area of extra virgin olive oil on the polyphenol and CoQ10 contents. Communication par poster; Euro Fed Lipid Congress.

Hannachi H., Msallem M., Ben Elhadj S., El Gazzah M.,2007. Influence du site géographique sur les potentialités agronomiques et technologiques de l'olivier (Olea europaea L.) en Tunisie. Comptes Rendus Biologies, Volume 330, Issue 2, p 135-142**.**

Harwood J. & Aparicio R., 2000. Handbook of olive oil – Analysis and properties, An Aspen publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 1-513.

Hannachi H., Nasri N., Elfalleh W., Tlili N., Ferchichi A. and Msallem M.,2012. Fatty Acids, Sterols, Polyphenols and Chlorophylls of Olive Oils Obtained from Tunisian Wild Olive Trees (*Olea Europaea L. Var. Sylvestris*). International Journal of Food Properties, DOI: 10.1080/10942912.2011.584201.

Harper A.H., 1977. - Précis de Biochimie. Les Presses de l'Université de Laval, Québec, (4e Ed). p : 26.

Halmi S.,**2015**. Etude botanique et phytochimique : Approche biologiqueetpharmacologique *d'Opuntia ficus-indica*. Thèse de Doctorat en sciences. Université des frères Mentouri, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine, 183 p.

Hogan.D,koter.R.,2002.why are bacteria refractory to antimicrobials ,cur opis microbial,(5) 472-7.

Gaussorgues, R., 2009. L'olivier et son pollen dans le bassin méditerranéen. Un risque allergique ? *Revue française d'allergologie*, 49 : 2–6.

Georgé S., Brat P., Alter P. and Amiot J.M., 2**005**. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 1370-1373.

Gherib.A .,2015. Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait d'*Olea europea var.oleaster* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques.thése de doctora de l'UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA.

Graille J.,2003. -Lipides et corps gras alimentaires. Paris Technique et Documentation (2ème éd.), p: 469.

Galli C. & Visioli, F.,1999. - Antioxidant and other properties of phenolics in olives/olive oil typical compounds of the Mediterranean diet. *Lipids*, 34: S23-S26.

Garnier Delamare . ,1992. Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris

Gutfinger T.1981. Phenols in olive oils. Journal of American Oil Chemist's Society, 58: 966-998.

Gigon F. & Le Jeune R., 2010. - Huile d'olive, *Olea europaea* L. *Phytothérapie*, 8: 129-135.

Karleskind A., 1992. Manuel des Corps Gras, Tech. & Doc. Lavoisier, tome (I-II), pp: 768-1571**.**

Kiritsakis, A.K. & Christie W.W., 2000. Analysis of Edible Oils. In: Handbook of Olive Oil –Analysis and Properties – An Aspen Publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland,USA, 129-158.

Kiritsakis A. & Markakis P., 1987. Olive oil: a review. *Advances in Food Research*, 31: 453-482.

Karaosmanglu H., Soyer F.,Ozen B., Tokatli F. ,2010. Antimicrobial and antioxidant activities of turkish extra virgin olive oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58: 8238-8245.

Kiritsakis A. et Markakis. ,1984. Effect of olive collection regime on olive oil quality.*Journal of Science and Food Agricultural*, 35:677-680.

Kohen et Nyska., 2002.Anatomie.Tome 2, viscères. 2eme éd.Paris, Flammarion.Médecine-Sciences.

Khiati M .,1998. Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.

Karaosmanoglu, Ferda Soyer, Banu Ozen, and Figen Tokatli. ,2**010**. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Turkish Extra Virgin Olive Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 8238–8245.

Kalua C.M, Allen M.S, Bed good D.R., Bishop Ag., Prenzler P.D eT Robards K.,**2007.** .olive oil volatile compounds. Flavor development and quality: Acristal review. Food chemistry, **100**(1), 273-286.

Kohno Y., Egawa Y. & Itoh S., 1995. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. *Biochim. Biophys. Act*, 1256: 52-6.

LABDAOUI.DJ.,2016.impact socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huile d'olive à deux phase et possibilités de sa diffusion dans la région bouira (Algérie).thèse de doctorat de l'université Abdelhamide Ibn Badis – Mostaganem.

L'Abbé R. ,1786. cour complet d'agriculture –chapitre II du climat et du sol convenable a l'olivier.

LION PH., 1955. Travaux pratiques de chimie organique. Ed. Dunod, Paris.

Loussert ,R .Brousse,G. ,1978.L'olivier G.P.Maisonneuve et larousse .france.pp.1-127-164-283.

Lecerf J.-M., 2011. - Les huiles végétales : particularités et utilités : vegetable oils:particularities and usefulness. Médecine des Maladies Métaboliques, 5 :257-262.

Lazzez A., Perri E., Caravita M.A., Khlif M., Cossentini M.,2008. Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the Chemlali Variety. J. Agric. Food Chem. 56 (3), 982–988.

Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M.,1995. Microbiologie générale, la bactérie et le mondebactérien. Doin Editeurs, Paris.

Larpent, J.P.,1998. In Microbiologie alimentaire ; Tome I : Aspect Microbiologique de la sécurité et da la qualité des aliments. Bourgeois, CM., Mescle, JF. Et Zucca J., Coordonnateurs. Ed. Lavoisier, Collection sciences et techniques agroalimentaires. 272- 294.

Ludwig W., Schleifer K.–H. et William W.B.,2009. Enterococcaceae. Bergey's manual ofsystematic bacteriology. William W. B. Georgia: USA, Springer**:** 594–623.

Le–Blanc J.D.,2006. The Genus *Enterococcus*: Medical Importance. The prokaryotes. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.–H. etStackebrandt E. new York: USA, Springer**:** 175–204.

Laincer F, Laribi R, Tamendjari A, Arrar L., Rovellini P. Venturini S. ,**2014**. Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities.ISSN-L, 0017-3495.

Milli S.,2006. Olive oil marketing in non-traditional markets: prospects and strategies. New Medit. 5 (1), 27–37.

Medina E., De Castro A., Romero C. and Brenes M.,2006. Phenolic compounds in olive oil and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (14): 4954-4961.

Moussay I., Metzidakis I.et Gerardopoulos D.G .,1995. The affect of Field storage of koroneiki and mastoids olives on oil quality characteristics **.** La Rivista Italiana Delle Sostanze Crasse, vol LXXII.GIOGNO.

Maestro R. & Borjas R.,1990. -La calidad del aceite de oliva en relación con la composición y maduración de la aceituna . Grasas Aceites Journal, 41 :171-178.

Maydani M .,2000.vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients.Nutr Rev.58 ,278-281.

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

Maftah H., Latrach H., Hamadi F., Hanine H., ZahirAHI H., Ellouali M.,2014. Comparaison des caractéristiques physico chimiqus des huiles d'olives issus de différentes zones de la région Tadla Azilal (Maroc). Journal of Materiel and environnemental science 5(2) : 641-646.

Merah H.,2016. Activité antioxydante et antimicrobienne des fractions polyphénoliques d'olive local (*Olea europaea* L.).thèse de magister Université Mustapha Stambouli de MASCARA.

Medina E, de Castro A, Romero C.,**2006**. And Brenes, M. Comparison of the concentration of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. J. Agric. Food Chem, **54**, 4954-4961.

Nguyen-The, C., Carlin, F., 2003. Bacillus cereus et sécurité des aliments. Bull. Soc. Fr. Microbiol. 18, 104–112.

Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guérère M . and Artaud J., 2004. Analysede la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique (2ème Semestre). 965:169-196.

Ollë M. ,2002. Direction de la concurrence .de la consommation et de répression des fraudes interrégionales de Montpellier. Dossier P3325.Technique d'analyse. Vol papier n° :TA4.

Ollivier D., 2005. -Caractérisation sensorielle et chimique d'huiles d'olive vierges de cinq AOC françaises. *Le Nouvel Olivier*, 44:4-12.

.

Owen, R.W., Haubner, R., Wurtele, G., Hull, W.E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. ,2004. Olives and olive oil in cancer prevention.*Eur J Cancer Prev*. 13, 319-326. 192. Paris, p 156.

Owen R.W., Haubner R. & Wurtele G., 2000. - Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncology*, 1: 107–112.

Pibiri M-C. ,2006. Assainissement microbiologique de l'aire et des systémes de ventilation au moyen d'huiles essentielles .Thèse doctorat. 36-44.

Petroni, A., Blasevich, M., Salami, M.,1995.inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil.Thrombosis Research, 78:151-160.

Patrick B., Jean L., and Michel S.,1988. Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.

Patrick B., Jean L., and Michel S.,1988. Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.

Paul, S. ,2005. Bactériologie.6ed.Dunod.Paris. 515 p.

Portenier I., Waltimo T.M.T. et Haapasalo M.,2003. "*Enterococcus faecalis***:** the root canal survivor and 'star' in post–treatment disease." Endodontic Topics 6(1): 135–159.

Rotondi A., Bendini A., Cerretani L., Mari M., Lercker G., Gallina Toschi T., 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, p: 3649-3654

Rayan D., Robards K. & Lavee S. ,1998. -Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72:23-33.

Rily R.T. and Norred W.P.,1996. Mechanisms of mycotoxicity. In: The Mycota, Vol. VI (edited by Howard,D.H. and Miller, J.D.), *Springer Verlag, Berlin, Germany*.

Richard, J ., & Braquehaye, C.,1995. Origine et nature des bactéries coliformes du laitcru. In Colloque Société française de microbiologie. Sci. Aliments. 5 (5), 21-24.

Rasko, D.A., Altherr, M.R., Han, C.S. et Ravel, J., 2005. Genomic of *Bacillus cereus* group of organisms. FEMS Microbiology Reviews. 29: 303-329.

Salvador M.D., Aranda F., Fregapane G., 2001. Influence of fruit ripening on cornicabra virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. Food Chem. 73, p: 45-5.

Sidi Mammar Mohamed.,2012. Procédé de fabrication d'une huile thérapeutique dérivée de l'oléastre qu'est la forme sauvage de l'olivier. *INAPI*. 110528.

Schuller P.,1990. Natural antioxidants exploited commercially. In: Food antioxidants. Hudson B. J. F. Ed : Elsevier Science Publishers, London, pp: 99-170.

Steven. P., Rachel. C., Martha. E., Paul. H., Jane. S., and Peter W.J.,2004. Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. pp71-132.

Sahly, H., Ancken, H., Benedi, V.J., Forestier, C.,2004. Impairement of Respiratory Burst in polymorphonuclear Leukocytes by Extended-Spectrum Beta-lactamase-Producing Strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 23: 20-26.

Servilli M., Selvaggini R. & Esposto S., 2004. - Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: Agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography*, 1054: 113-127.

Sait. S., et Tamenjari .A. ,2013. pouvoire antibacterien et effet therapeutique des huiles d'olives sauvages de la region de bejaia**.** Journées nationales de microbiologie .

Souse A, Ferreira I ,Calhelha R, Andrad P, Valentao P, Seabra R, Estevinho L., Bentoa A.,Pereira J.A.,**2006**. Phénolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives'alcaparra. Bioorganic et medicinal Chemestry, **14**, 8533-8538.

Tuck K.L. & Hayball P.J.,2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 6306-44.

Visiolli F., Poli A., and Galli C.,2002. Antioxydand and other biological activities of phenols from olives and olive oil. Medicinal Research Reviews, 22 (1) :65-75.

Visioli F.et Galli C.,2002. Biological properties of olive oil phytochemicals. Chem Rev Food Sci Nutr ,42. (3): 209-221.

Visioli F., Bellomo G. & Montedoro G.,1995.Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. .*Atherosclerosis*, 117: 25-32.

WOLFF J. P., 1968. Manuel d'analyses des corps gras. Ed. Aznuiay, Paris.

ANNEXES

Tableau01 : Les caractères pomologiques des olives de variété bouchouk

	Longueur (mm)	Largeur (mm)	Couleur	Forme
1	21.706	15.860	Noire	Ovoïde
2	24.020	16.168	Noire	Ovoïde
3	23.972	16.403	Noire	Ovoïde
4	25.432	18.712	Noire	Ovoïde
5	23.022	16.110	Noire	Ovoïde
6	25.971	16.562	Noire	Ovoïde
7	24.937	16.889	Noire	Ovoïde
8	22.955	16.423	Noire	Ovoïde
9	23.073	15.331	Noire	Ovoïde
10	20.900	15.702	Noire	Ovoïde
11	25.223	16.169	Noire	Ovoïde
12	23.986	17.176	Noire	Ovoïde
13	20.176	16.337	Noire	Ovoïde
14	23.690	16.914	Noire	Ovoïde
15	25.220	17.513	Noire	Ovoïde
16	23.105	15.962	Noire	Ovoïde
17	21.059	15.520	Noire	Ovoïde
18	22.922	16.891	Noire	Ovoïde
19	24.302	16.486	Noire	Ovoïde
20	24.357	16.016	Noire	Ovoïde
21	22.325	15.007	Noire	Ovoïde
22	21.615	15.456	Noire	Ovoïde
23	20.068	16.350	Noire	Ovoïde
24	23.437	15.688	Noire	Ovoïde
25	23.669	17.372	Noire	Ovoïde
26	22.365	16.517	Noire	Ovoïde
27	22.572	15.739	Noire	Ovoïde
28	22.810	15.621	Noire	Ovoïde
29	22.576	16.713	Noire	Ovoïde
30	22.361	16.534	Noire	Ovoïde

Tableaux02 : les caractères pomologiques des olives de variété d'oléastre

	Longueur (mm)	Largeur (mm)	Couleur	Forme
1	12.926	9.485	Noire	Ovoïde
2	13.779	8.934	Noire	Ovoïde
3	12.132	8.922	Noire	Ovoïde
4	13.720	9.309	Noire	Ovoïde
5	14.485	9.381	Noire	Ovoïde
6	13.104	8.634	Noire	Ovoïde
7	15.015	10.111	Noire	Ovoïde
8	14.881	10.054	Noire	Ovoïde
9	13.387	8.928	Noire	Ovoïde
10	13.362	9.741	Noire	Ovoïde
11	13.201	9.494	Noire	Ovoïde
12	13.769	10.379	Noire	Ovoïde
13	14.381	9.588	Noire	Ovoïde
14	14.887	9.529	Noire	Ovoïde
15	14.984	9.885	Noire	Ovoïde
16	14.132	9.404	Noire	Ovoïde
17	14.024	9.142	Noire	Ovoïde
18	14.780	9.345	Noire	Ovoïde
19	14.483	10.320	Noire	Ovoïde
20	14.722	10.282	Noire	Ovoïde
21	14.088	9.876	Noire	Ovoïde
22	15.621	11.437	Noire	Ovoïde
23	13.435	9.801	Noire	Ovoïde
24	13.901	9.900	Noire	Ovoïde
25	14.011	9.101	Noire	Ovoïde
26	13.121	9.008	Noire	Ovoïde
27	13.025	8.537	Noire	Ovoïde
28	12.886	9.793	Noire	Ovoïde
29	13.692	9.650	Noire	Ovoïde
30	13.228	9.357	Noire	Ovoïde

Fonctionnement SPERMOLIVA

1) Brancher la fiche électrique à l'alimentation monophase -220V

2) Brancher l'arrivée d'eau au point 5

3) Vérifier que le levier 7 est complètement en dehors

4) Activer l'interrupteur VERT20

5) Positionner l'interrupteur sur 1 (vite) et attendre jusqu'à quand la machine arrive au nombre maximum des tours

6) Peser 10Kg d'olive et verser donc lentement les olives dans la trémie 1 .interrompre l'alimentation des olives à la sortie d'un peu d'eau de la sortie huile 4.cela aussi dans le cas ou les 10 Kg ne seraient pas encore tous chargés

cette opération de broyage va se réaliser dans les 5 minutes

7) Tourner l'interrupteur sur 2 (lent)

8) Attendre que le décanteur tourne lentement

9) Actionner lentement en sens horaire le volant 7 jusqu'à fin de course (ou presque)

10) L'opération de malaxage va donc débuter, opération qui doit se passer dans les 20-30 minutes environ

11) Relâcher complètement en sens, anti-horaire le volant vers l'extérieur .positionner donc l'interrupteur sur 1 (vite)

Manuel des instructions moulin à huile SPERMOLIVA

Tableau 03 : Le poids de 30 échantillons des variétés d'olive

Les variétés des olives	Le poids de 30 échantillons en mg		
Bouchouk	43.288	41.358	39.819
Oléastre	25.527	23.473	23.961

Tableau04 :les résultats de taux d'humidité et de matière sèche

Les variétés des olives	H°/o			MS°/o		
Bouchouk	50.2	51.3	50.27	49.8	48.7	49.73
Oléastre	31.84	28.94	29.82	68.16	71.06	70.18

Courbe d'étalonnage de dosage des polyphénols totaux

Préparation de l'étalon

Pour chaque série de détermination, une gamme d'étalonnage est nécessaire, une solution mère (SM) de l'acide gallique de concentration 100ug / ml .

A partir de cette solution mère préparer des dilutions de différentes concentrations : 80ug/ml, 70ug/ml, 60ug/ml, 50ug/ml e, 40ug/ml.30ug/ml et 20ug/ml.

- Prendre 2ml de chaque concentration et ajouter 0.5ml du réactif de *Folin Ciocalteu.*
- Laisser réagir pendant 3 minutes.
- Après, ajouter 4ml de solution aqueuse de carbonate de sodium à 10%.
- Vortexer le mélange et laisser incuber à l'obscurité pendant 90 minutes .
- Lire l'absorbance à 765nm.

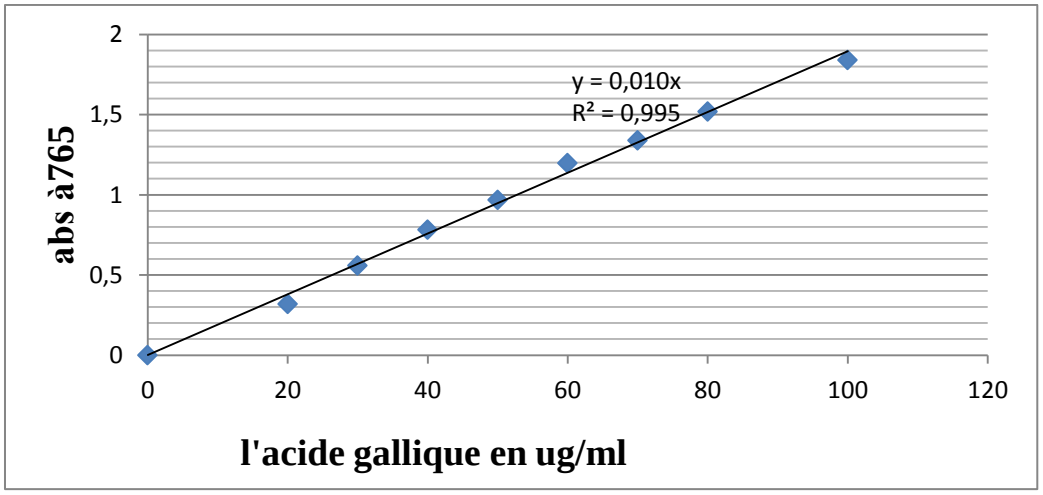


Figure 01 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux.

Tableau05 : les résultats de l'activité antioxydant de l'huile d'oléastre

Les concentrations en mg /ml	1000	500	250	125	62.5
La DO	0.085	0.299	0.399	0.473	0.529
0/0 d'inhibition	91.5	70.11	60	51.6	47.01
IC 50	84.13				

Tableau06 : les résultats de l'activité antioxydant de l'huile d'olive de variété bouchouk

Les concentrations en mg/ml	1000	500	250	125	62.5
DO	0.154	0.347	0.444	0.519	0.558
0/0 d'inhibition	84.57	65.22	55.54	48	44
IC 50	165.24				

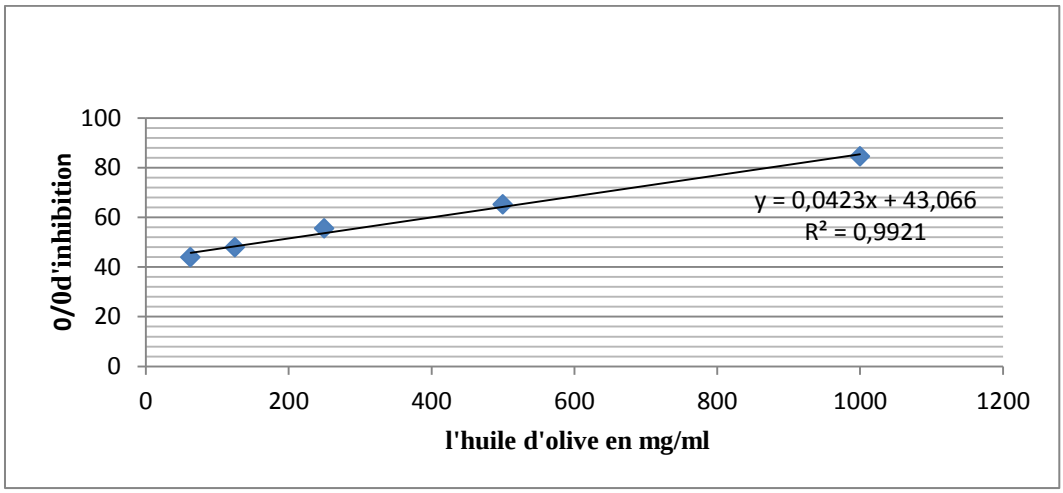


Figure 02 : Variation de l'inhibition de DPPH en fonction de concentration de l'huile d'olive de variété bouchouk

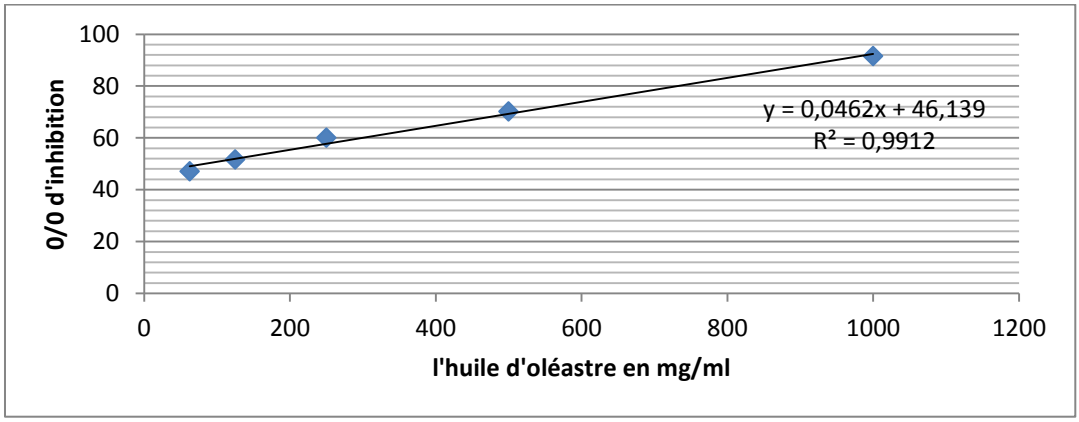


Figure 03 : Variation de l'inhibition de DPPH en fonction de concentration de l'huile de variété d'oléastre.

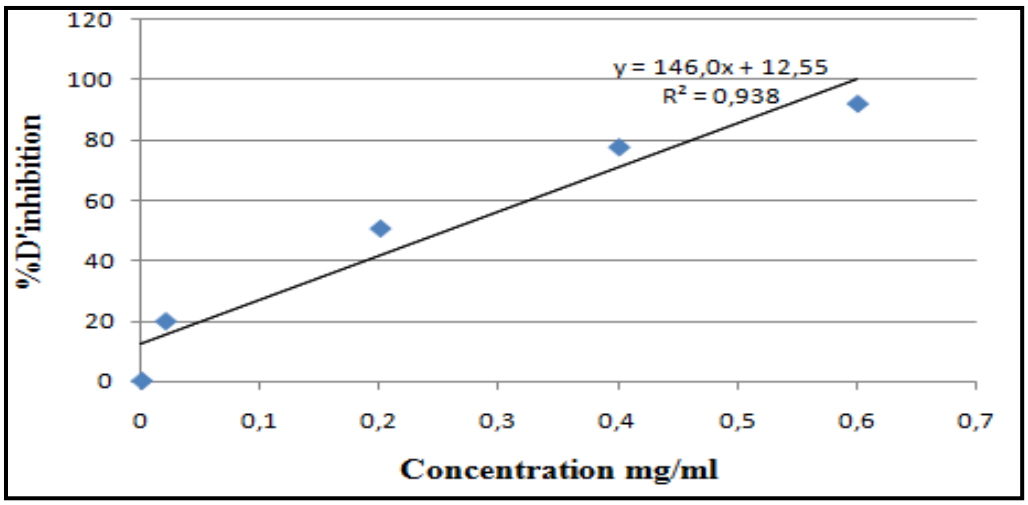
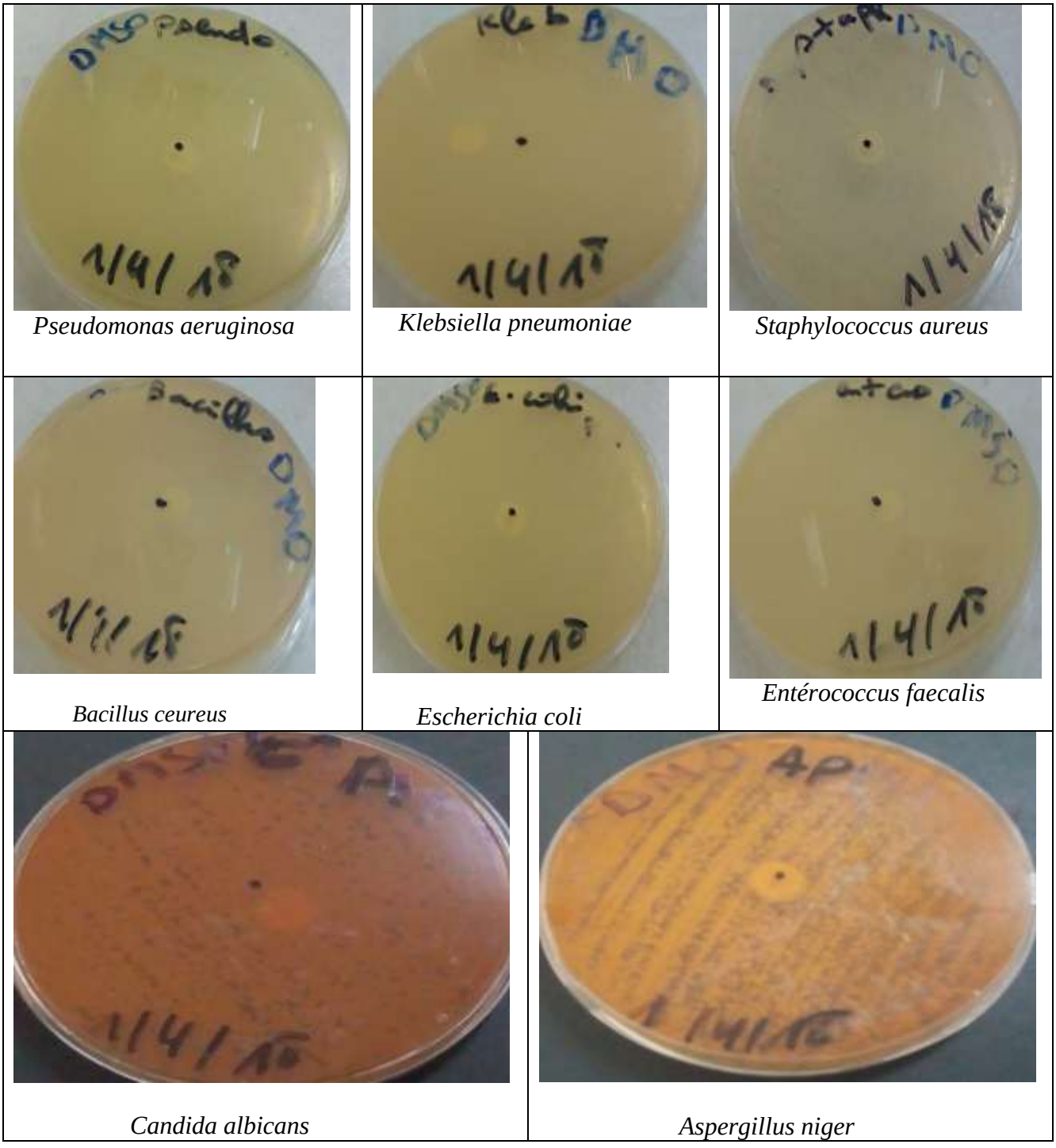


Figure 04 : **Variation de l'inhibition de DPPH en fonction de concentration de la l'acide ascorbique**

Les Annexe des résultats de témoin négative DMSO



Pseudomonas aeruginosa | *Klebsiella pneumoniae* | *Staphylococcus aureus*

Bacillus ceureus | *Escherichia coli* | *Entérococcus faecalis*

Candida albicans | *Aspergillus niger*

Figure05: test préliminaire de DMSO



Entérococcus faecalis

Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa



Klebsiella pneumoniae

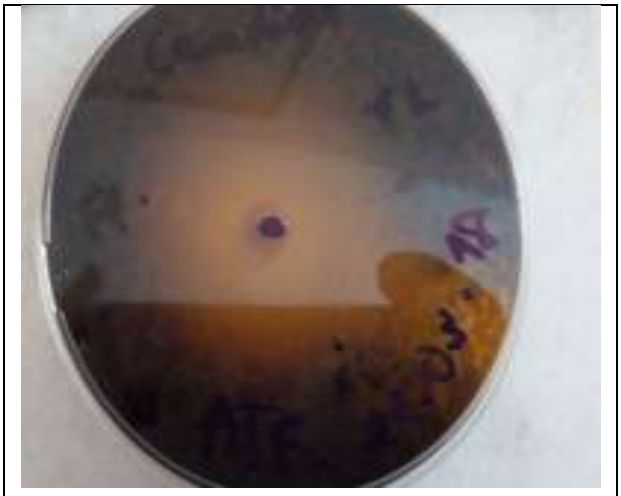


Staphylococcus aureus



Bacillus ceureus

Figure06: teste préliminaire de témoin positive de l'antibiotique gentamycine



Candida albicans

Figure07: teste préliminaire de témoin positive de l'antifongique

Tableau07 :les résultats de témoin négatif

Les Souches	*B. ceureus*	*P. aeruginosa*	*E. coli*	*K. pneumoniae*	*S aureus*	*E. faecalis*	*Candida Albicans*	*Aspergillus Niger*
Diamètre d'inhibition en(mm)	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) absence de la zone d'inhibition

Tableau08 :les résultats de témoin positif

Souche bactérienne	*B. ceureus*	*P. aeruginosa*	*E. Coli*	*K. pneumoniae*	*S. aureus*	*E. faecalis*	*Candida albicans*	*Aspergillus Niger*
Diamètre d'inhibition en (mm)	35	35.5	29	25	48	28	26	22

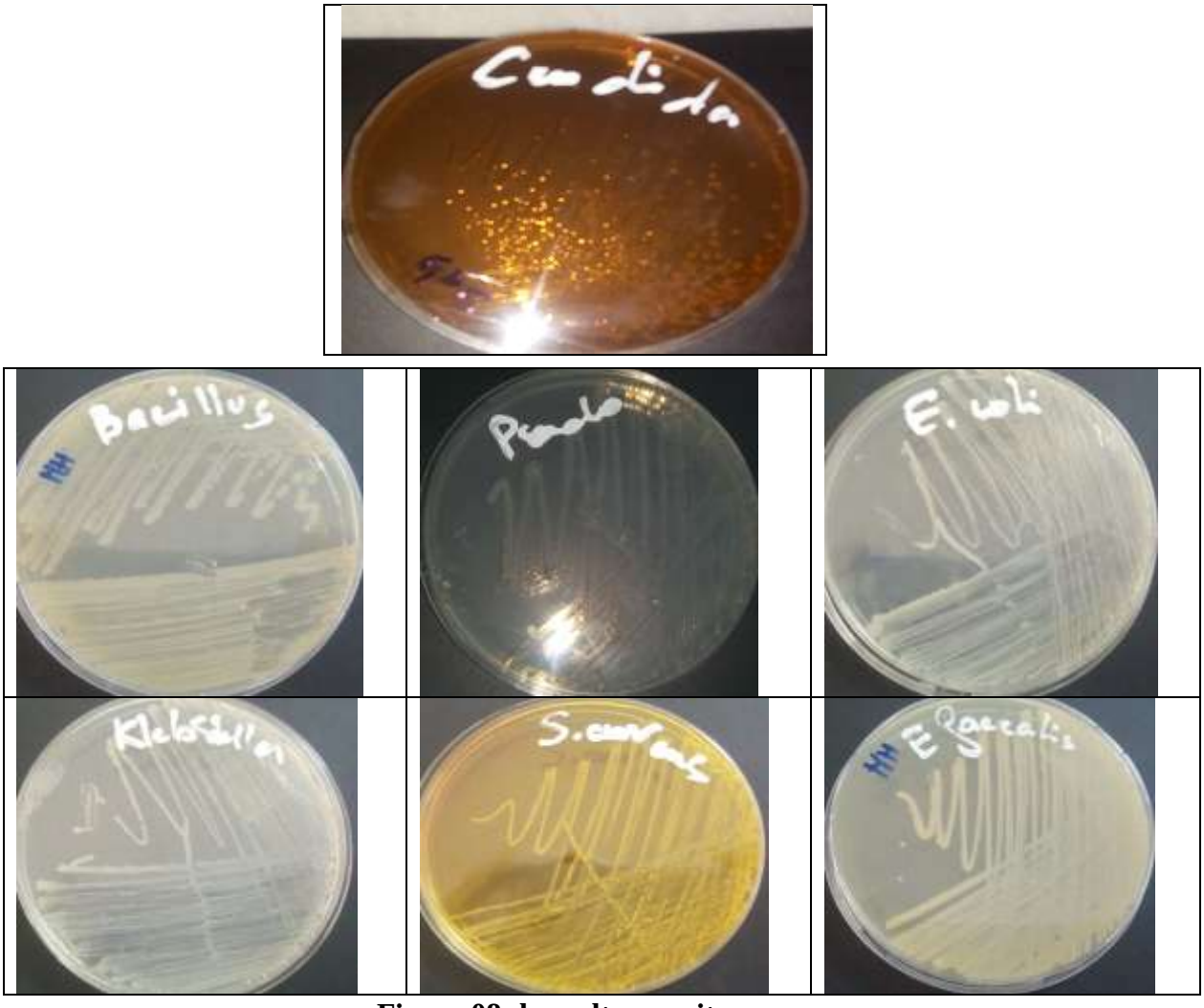


Figure 08 :les culture nuit

Les Annexe des résultats de l'activité antimicrobienne par la méthode micro atmosphère

l'huile Olive			
L'huile d'oléastre			

Figure 09. Les résultats expérimentaux obtenues vis-à-vis des *Pseudomonas aeruginosa*

l'huile Olive			
L'huile d'oléastre			

Figure10 : Les résultats obtenues vis-à-vis *Escherichia coli*

L'huile Olive			
L'huile d'oléastre			

Figure 11 : Les résultats obtenues vis-à-vis *Enterococus faecalis*

L'huile Olive			
L'huile d'oléastre			

Figure 12 :. Les résultats obtenues vis-à-vis des *Klebsilla pneumoniae*

L'huile Olive			
L'huile d'oléastre			

Figure13 : Les résultats obtenues vis-à-vis des *Staphylococcus aureus*

L'huile Olive			
L'huile d'oléastre			

Figure 14 : Les résultats obtenues vis-à-vis *Candida albicans*

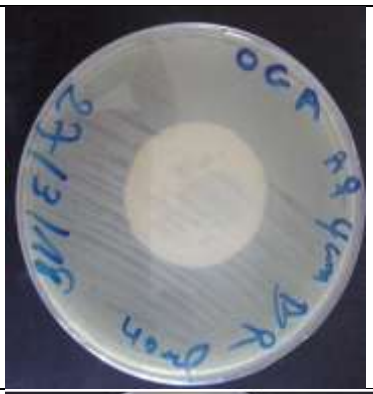
L'huile Olive			
L'huile d'oléastre			

Figure 15 :les résultats obtenues vis-à-vis *Aspergillus niger*