



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Meriem GHELLOUJ
Le : mercredi 10 juillet 2019

Thème

Etude des Caractéristiques Physico-chimiques de deux variétés de l'huile d'olive (Chemlal et Tabelout) Issue de la région de Biskra et l'évaluation de ses effets sur l'activité antibactériennes

Jury :

Mlle. Hanane ACHOUR	MAB	Université de Biskra	Président
Mme. Imen MERZOUGUI	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Soulef KRIKER	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

En premier lieu, je remercie Allah pour tous les biens qu'il m'a procurés et parmi eux l'achèvement de ce travail.

Je remercie vivement mon encadreur Mme " Imene MERZOUGUI" maitre assistante à la faculté de science de la nature et de la vie université Mohamed Khider Biskra, pour les orientations et les conseils qu'il n'a pas manqués de me prodiguer durant la réalisation de ce travail, pour sa patience et sa compréhension.

Mes remerciements à monsieur Dr. Tarek BENMEDDOUR, chef de la filière des sciences biologiques, pour avoir accepté d'orienter mon travail.

Je remercie également les membres du jury, pour avoir donnée de leur temps et de leur énergie afin de suivre les étapes de mon travail.

Mes profonds remerciements vont également à l'institut technique du développement de l'agronomie saharienne annexe El-Outaya (ITDAS) pour leur générosité a donné les échantillons d'huile d'olive de ma recherche. Et je remercie également le directeur de la moulin moderne d'olive – Biskra.

Comme, je remercie les membres de travailleurs de laboratoire de la faculté pour leur soutien et leur patience, mention spéciale Mme Moufida TIBERMASINE.

Je ne saurai remercier assez mon mari qui m'a été d'une grande aide sur tous les plans et particulièrement sa mère et son père de m'encourager tous au long de ces années.

Mes remerciements vont particulièrement à : ma fille Yasmine, mes parents, Mes frères et sœurs et à toute ma famille pour m'encourager tout au long de ces années.

Je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Table des matières

Remerciements	
Table des matières	
Liste des Tableaux	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
Partie Bibliographique	
Chapitre 1 :L'olivier et l'huile d'olive	
1.1. Généralités sur l'olivier	3
1.1.1. Classification botanique de l'olivier	3
1.1.2. La distribution	3
1.1.3. Principales variétés d'oliviers en Algérie	4
1.1.4. L'olive	6
1.2. Huile d'olive.....	6
1.2.1. Composition chimique de l'huile d'olive.....	6
1.2.1.1. Fractions saponifiables	6
a. Les acides gras	6
b. Les triglycérides	7
1.2.1.2. Fractions insaponifiables	7
a. Les stérols	7
b. Les tocophérols (Vitamine E).....	7
c. Les pigments colorants	8
d. Les composés phénoliques	8
e. Autre composés mineurs.....	8

Chapitre 2 :Les effets bénéfiques de l’huile d’olive	
2.1. L’effet d’huile d’olive sur la santé	9
2.1.1. L’huile d’olive et les maladies cardio-vasculaires.....	9
2.1.2. L’huile d’olive et le diabète sucré.....	9
2.1.3. Autres effets	10
2.2. L’effet antibactérienne d’huile d’olive	10
2.2.1. L’effet antibactérienne des composés phénoliques.....	10
Partie Expérimentale	
Chapitre 3 :Matériel et méthodes	
3.1. Matériel végétal	12
3.1.1. Présentation de la zone d’étude	12
3.1.2. Description des cultivars.....	12
3.1.3. Etude phytochimique de fruit.....	14
A. Tanins	14
B. Alcaloïdes	14
C. Flavonoïdes.....	14
D. Saponosides	14
E. Terpènes et Stérols.....	15
F. Anthocyanes.....	15
3.2. Techniques d'analyse	15
3.2.1. La méthode d'extraction de l'huile d'olive.....	15
A. Lavage	15
B. Broyage.....	15
C. Malaxage	16
D. Décantation.....	16
3.2.2. Rendement en huile d'olive	16
3.3. Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive	17

3.3.1. L'humidité (la teneur en eau) H%	17
3.3.2. Dosage de l'acidité libre	18
3.3.3. Indice de peroxyde	19
3.3.4. Etat d'oxydation des huiles - Extinction spécifique	20
3.4. Dosage des phénols totaux.....	20
3.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles d'olives.....	22
3.5.1. Souches bactériennes utilisées	22
3.5.2. Standardisation de l'inoculum	22
3.5.3. Diffusion sur milieu gélosé (contact indirect)	22
3.5.3.1. Principe.....	22
3.5.3.2. Expression des résultats	23
3.5.4. Technique de contact direct sur milieu gélosé.....	24
3.5.4.1. Principe.....	24
a. Préparations des dilutions de la suspension bactérienne	24
b. Préparations des émulsions de l'huile d'olive	25
Chapitre 4 :Résultats et discussion.....	
4.1. Etude phytochimique des fruits	26
Tanins.....	27
Alcaloïdes	27
Flavonoïdes	27
Saponosides.....	27
Terpènes et Stérols.....	28
Anthocyanes.....	28
4.2. Technique d'analyse.....	28
4.2.1. Teneur en huile d'olive.....	29
4.3. Analyse des caractéristiques physicochimiques des huiles d'olive	29
4.3.1. L'humidité (%)	29

4.3.2. Acidité (%).....	30
4.3.3. Indice de peroxyde (IP).....	30
4.3.4. Extinction spécifique (Détermination de l'absorbance spécifique aux rayonnements ultraviolets)	31
4.4. Dosage des phénols totaux	32
4.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles d'olives	32
4.5.1 Méthode de diffusion sur milieu gélosé (contact indirect)	33
4.5.2. Technique de contact direct sur milieu gélosé.....	34
Conclusion.....	37
Références bibliographiques	38
Annexe	
Résumés.....	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Orientations variétales de l'olivier en Algérie (COI) 2015.....	5
Tableau 2. Caractéristiques des variétés d'olives étudiées.....	13
Tableau 3. Les propriétés d'échantillonnage.....	13
Tableau 4. Résultats de l'étude phytochimique des fruits d'olive.....	26
Tableau 5. Résultats de l'analyse physicochimique des huiles d'olives.....	31
Tableau 6. L'effet inhibiteur des huiles d'olives sur les souches bactériennes testées.....	33
Annexe 1	
Tableau 7. Composition en acide gras d'une huile d'olive.....	

Liste des Figures

Figure 1. Répartition de la superficie d'olivier.....	4
Figure 2. Carte de la zone d'échantillonnage.....	12

Annexe 2

Figure 6. Lavage (photo originale)	
Figure 7. Broyage, Malaxage (photo originale)	
Figure 8. Broyage, Malaxage (photo originale)	
Figure 9. Centrifugeuse (photo originale)	
Figure 10. Filtration de l'huile (photo originale)	

Annexe 3

Figure 11. Résultat de l'étude phytochimique de la variété chemlal	
Figure 12. Résultat de l'étude phytochimique de la variété tabelout	

Liste des abréviations

°C : degré Celsius

AG : Acide gras

AGI : acides gras insaturé

AGMI : acides gras monoinsaturé

AGPI : acides gras polyinsaturé

C : Carbone

CCE : Commission des Communautés Européennes

CEE : Communauté Economique Européenne

COI : Conseil Oléicole International

H₂SO₄ : Acide sulfurique

ha : hectare

Hcl : chlorhydrique

HgCl₂ : Chlorure de mercure

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

KI : Iodure de potassium

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium

T° : Température

TG : triglycérides

UV : Ultraviolet

ω : Oméga

ITDAS : institut technique du développement de l'agronomie saharienne

Introduction

La propagation des maladies et la détérioration de la santé humaine dans le monde au cours des dernières ces années en raison d'une alimentation artificielle et déséquilibrée inciteront les scientifiques à travailler dans de nombreuses recherches pour réduire le problème.

Le régime alimentaire méditerranéen est associé avec une faible incidence de maladies cardiovasculaires, d'athérosclérose, de maladies neurodégénératives et de certains types de cancer. Les bienfaits sur la santé de ce régime ont été partiellement associés à la consommation de l'huile d'olive vierge par les populations méditerranéennes (Cicerale *et al.*,2010).

L'huile d'olive est un aliment naturelle équilibré en sa composition chimique est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (Boskou, 2006). Les effets bénéfiques de l'huile d'olives vierge ont été attribués à sa teneur élevée en acides gras monoinsaturés, particulièrement l'acide oléique, et ses composés mineurs tels que les composés phénoliques, les tocophérols et les caroténoïdes (Visioli et Galli, 1998).

Donc est une huile Gourmet, très agréable pour la cuisine, un ingrédient excellent et inégalable pour une alimentation saine ou un plan de perte de poids, car elle inhibe l'accumulation de matière adipeuse dans la zone abdominale (Benlemlih et Ghanam, 2012).

Au cours de ces dernières années, l'intérêt porté sur les composés phénoliques de l'huile d'olive a augmenté à cause de leurs activités biologiques potentielles, jouant ainsi un rôle important dans la santé humaine (Laribi, 2015). Ils constituent une large classe de métabolites secondaires, qui sont des dérivés d'oleuropéine et de ligstroside (Bravo, 1998 ; Ryan *et al.*, 2002). Ils contribuent aussi à la flaveur, à la stabilité et à la valeur nutritionnelle de l'huile (Perrin,1992).

Grace a la résistante des bactéries aux grande nombre des antibiotiques qui devient un problème majeur des infections bactériennes, (De nombreux cas de bactéries multirésistantes sont rapportés en Algérie (Bouzenoune *et al.*, 2009)), un développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour la lutter contre ce phénomène.

Plusieurs études ont démontré que les polyphénols de l'huile d'olive ont une haute activité antimicrobienne contre un large spectre d'espèces pathogènes (Medina *et al.*, 2006 ; Karaosmanoglu *et al.*, 2010).

L'objectif général de ce travail consiste à une étude des caractéristiques physicochimique de deux variétés de l'huile d'olive pour déterminer ces qualités, et une évaluation de l'activité antibactérienne de ces huiles vis à vis trois bactéries pathogènes.

Cette recherche est subdivisée en deux parties : une synthèse bibliographique et une étude expérimentale.

La partie bibliographique comporte deux chapitres :

Le premier chapitre est une petite généralité sur l'olivier et la composition chimique de l'huile d'olive. Le deuxième chapitre cite les effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé.

La partie expérimentale, est une étude basée sur deux variétés d'huile d'olive : premièrement une caractérisation sur des paramètres de qualité tels que (l'acidité, l'indice de peroxyde et de l'extinction dans l'UV), deuxièmement une évaluation de l'activité antibactérienne contre les souches pathogènes suivant (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*).

Partie

Bibliographique

Chapitre 1

L'olivier et l'huile d'olive

1.1. Généralités sur l'olivier

L'olivier a été cité dans des livres à plusieurs reprises. Dans le coran, l'olive a été mentionné six fois dans différents endroits parmi lesquels un versé coranique cité au début de la sourate de « Al-tine » (Labdaoui,2017).

L'olivier est un arbre auquel le climat méditerranéen convient parfaitement : hivers doux, automnes au printemps pluvieux, étés chauds et secs, une grande luminosité. Il lui faut une moyenne annuelle de température comprise entre 13 et 22 °C. Le cycle végétal de l'arbre manifeste après le repos hivernal (de novembre à février), En mai juin, c'est la floraison. Le noyau du fruit se durcit en juillet-août et atteint sa taille normale en octobre. La maturation est alors plus en moins rapide suivant les variétés. Un arbre produit en moyenne 15 à 50 kg d'olives, il peut donner 3 à 10 Litre d'huile d'olive selon les variétés. (Dupont F *et al.*,2007)

1.1.1. Classification botanique de l'olivier

Selon Henry (2003) l'olivier appartient à :

L'Embranchement : phanérogames

Le sous-embranchement : Angiospermes

La classe : Dicotylédones

La sous-classe : Asteridae

L'ordre : Srophulariales

La famille : Oleaceae

Le genre : *Olea*

L'espèce : *Olea europaea L.*

Deux sous-espèces : -l'olivier cultivé : *Olea europaea L.* variété sativa.

-L'olivier sauvage, encore appelé oléastre : *Olea europaea L.* Variété oléastre.

1.1.2. La distribution

D'après les statistiques du Conseil Oléicole International COI (2005), sur les quelques 750 millions d'oliviers plantés par le monde (sur 8,7 millions d'ha), un peu plus de 700 millions (sur 8,4 millions d'ha) sont dans des pays répartis autour de bassin méditerranéen. Les pays de la Communauté Economique Européenne (CEE), sont largement majoritaires : Espagne 167 millions, Italie 125, Grèce 120, Portugal 50 et la France 5 millions.

Au niveau national, la surface oléicole actuelle de l'Algérie est de 207 822 ha, avec 20.500.000 arbres comptés, dont un peu plus de 16 millions en production. Cette surface est répartie notamment sur les zones Est et Centre-Est du pays en particulier Béjaia, Tizi Ouzou, Bouira, Bordj Bou Arreridj, Sétif et Jijel, qui représentent ensemble à elles seules près des 2/3 de la superficie totale (figure 1), qui est divisée comme suit : au centre : 112.921ha ; à l'Est : 58.764ha ; à l'Ouest : 35.192ha ; et au Sud : 945ha (Kerboua, 2003).

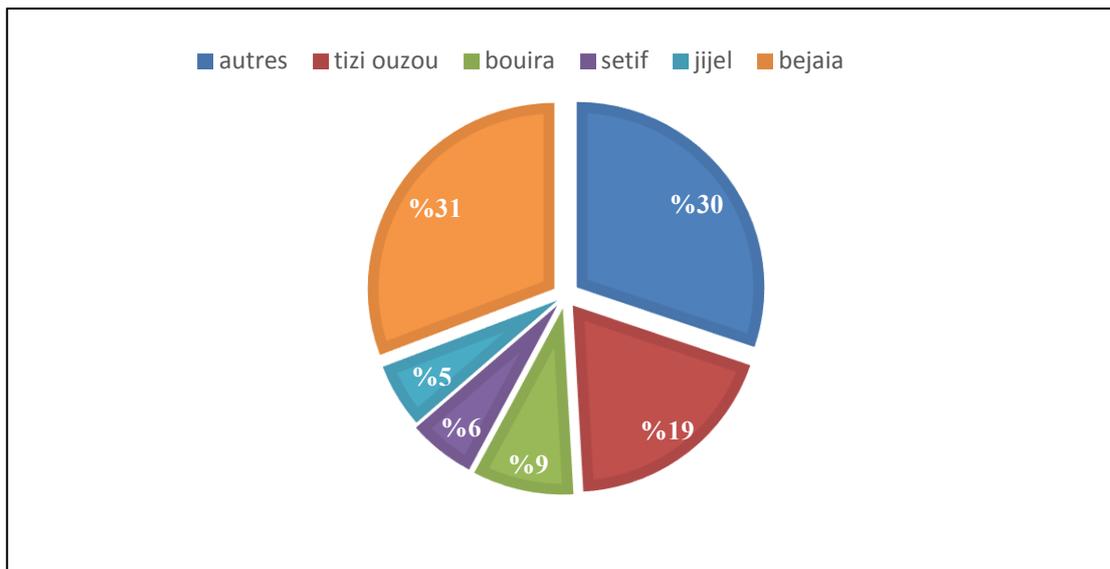


Figure 1: Répartition de la superficie d'olivier (Benabid, 2009)

1.1.3. Principales variétés d'oliviers en Algérie

Les principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie sont présentées dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Orientations variétales de l'olivier en Algérie COI (2015)

Variétés	Aire de culture	Importance	Destination	Observations
Ségoise	Ouest Algérien (Oranie, Tlemce)	25%	Table+Huile	Très estimée pour la conservation et l'huilerie, rendement élevé en huile,
Cornicabra	Ouest Algérien (Oranie, Tlemce)	5%	Table+Huile	Originaire d'Espagne
Sevillanece	Ouest Algérien (Plaine d'Oran)	3%	Table	Très intéressante par le gros calibre des fruits
Chemlal	Centre Algerien Kabylie	10%	Huile	Huile très appréciée. Résiste en culture sèche.
Azeradj	Centre Algerien	15%	Table+Huile	-
Bouchouk la Fayette	Centre Algerien	2%	Table+Huile	Intéressante pour la région de Bougaâ
Boukhenfas	Centre Algerien	2%	Huile	Donne les meilleurs résultats à la station de Sidi-Aich
Limli	Est Algérien	8%	Huile	Variété conseillée dans la région de jijel à Sidi-Aich
Blanquette	Est Algérien	20% du verger	Table+Huile	-
Rougette	Est Algérien	12%	Huile	-
Neb Djmel	Sud Est Algérien	5%	Table+Huile	Variété des régions présaharienne
Frontoio	Centre et Est	1%	Huile	Variété italienne
Coratina	Centre et Est	1%	Huile	Variété italienne très rigoureuse et très productive
Longue de Miliana	Centre et Est	5%	Table+Huile	Très localisée dans la région de Miliana
Ronde de Miliana	Centre et Est	5%	Table+Huile	Très localisée dans la région de Miliana
Picholine Marocaine	Ouest du pays	30%	Huile	Très commune avec la Sigoise (même caractère)
Ascolana	Ouest	-	Table	
Bouricha	Est Algérien (Collo-Oued El Kebir)	5 à 6%	Table	Cultivée dans les régions à forte pluviométrie

NB : On représente dans ce tableau, seulement les variétés les plus importantes. Il existe plusieurs variétés. Cependant, une même variété peut avoir différentes dénominations suivant les régions.

1.1.4. L'olive

L'olive est une drupe de fruit à pulpe charnue qui contient un noyau unique (Civantos, 1998). Elle se compose de trois parties : le noyau (ou endocarpe), la pulpe (mésocarpe) et la cuticule (épicarpe) de dimensions (1 et 4 cm de longueur) et de formes (ellipsoïdal à globulaire) très variables, dont le poids varie entre 1 et 6g.

1.2. Huile d'olive

Selon le COI l'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea L*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification.

1.2.1. Composition chimique de l'huile d'olive

L'huile d'olive est un système chimique complexe constitué de plus de 250 composés. La composition de l'huile d'olive dépend de la variété du fruit, de la région de culture et des conditions climatiques. (Angerosa *et al.*, 2004 ; Kiritsakis, 1993).

Les composés peuvent être classés en deux grands groupes :

- Les fractions saponifiables (triglycérides, acides gras, de 99% de l'huile) (Ruiz *et al.*, 2000).
- Les substances insaponifiables (de 1 à 2% de l'huile) (Servili *et al.*, 2004).

1.2.1.1. Fractions saponifiables

a. Les acides gras

Les acides gras présents dans l'huile d'olive se trouvent sous forme d'ester de glycérol ou sous forme libre. Ce sont des monoacides linéaires à nombre pairs (majoritaires) et impairs d'atomes de carbone dont le nombre varie de 14 à 24. Soit saturée (14%) soit mono (72%) ou polyinsaturée (14%) (norme européenne).

Les acides gras sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle. Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison carbone-carbone, dans ce cas les acides gras sont dits « saturés ».

Elle peut également contenir une double liaison (Acides Gras Monoinsaturés (AGMI) ou plusieurs doubles liaisons (Acides Gras Polyinsaturés AGPI).

Dans l'huile d'olive on trouve de l'acide linoléique (oméga 6) et de l'acide alpha linoléique (oméga 3).

Ces acides gras sont dits « essentiels » car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'homme et doivent donc être apportés par l'alimentation.

La composition en acide gras d'une huile d'olive avec des normes telles que celle du Codex Alimentaires en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras. (Annexe1) Tableau 7.

b. Les triglycérides

Les substances saponifiables sont constituées majoritairement 98 à 99% de triglycérides. Les triglycérides sont les véritables constituants des huiles d'olive vierge. Ils proviennent de l'estérification des trois fonctions alcools du glycérol par des acides gras. La présence d'une part des différents acides gras et d'autre part des trois possibilités d'estérification sur le glycérol conduit à un grand nombre de combinaisons possibles pour les triglycérides de l'huile d'olive.

1.2.1.2. Fractions insaponifiables

Les substances insaponifiables indiquent l'ensemble des constituants (naturels) qui ne réagissent pas avec un hydroxyde alcalin pour donner des savons et qui, après saponification restent solubles dans des solvants classiques des corps gras (hydrocarbures saturés, éthers diéthylique ou diisopropylique, solvants chlorés, etc.). Ces substances représentent de 1 à 2% de l'huile et constituent un mélange complexe de composés appartenant à des familles chimiques diverses : Les stérols ; Les tocophérols (vitamine E) ; Les pigments colorants (Les chlorophylles et carotènes) ; Les composés phénoliques, et d'autres composés mineurs telle que : Les hydrocarbures, les alcools tri terpéniques et les phospholipides.

a. Les stérols

Les stérols végétaux appelés phytostérols occupent la plus grande partie de la matière insaponifiable des huiles constituants non glycéridique, ils représentent en poids environ 50% de l'insaponifiable.

Trois principaux stérols dans les huiles d'olive : le β - sitostérol, le campestérol et le stigmastérol. (Bentemime *et al.*, 2008).

b. Les tocophérols (Vitamine E)

Les tocophérols se présentent sous quatre formes (α , β , γ et δ), l' α tocophérol, doté de la plus forte activité antioxydante, représentent plus de 95 % des tocophérols totaux (Ryan *et al.*, 1998).

Les teneurs en tocophérols, généralement rapportées pour une huile d'olive d'une bonne qualité, varient de 100 à 300 mg/Kg (Perrin, 1992). Ces teneurs varient en fonction de plusieurs facteurs dont la variété de l'olive et sa maturité ainsi que les conditions et la durée de la conservation de l'huile (Assmann et Wahrburg, 1999).

c. Les pigments colorants

Les pigments colorants donnent sa belle couleur jaune ou verte. Ce sont principalement la chlorophylle pour la couleur verte et le carotène pour la couleur jaune. Leur proportion dépend beaucoup de la maturité des olives (Charles et Guy, 2008).

d. Les composés phénoliques

L'une des caractéristiques les plus importantes de l'huile d'olive est sa richesse en composés phénoliques. Elle renferme plus de 30 composés phénoliques (Visioli et Galli, 1994).

Ce sont des substances naturelles qui confèrent à l'huile d'olive des propriétés organoleptiques et contribuent à la bonne stabilité de l'huile à l'auto-oxydation (Perrin, 1992).

Les composés phénoliques de l'huile d'olive sont originaires du fruit. Les principaux composés sont l'oleuropéine, la diméthyloléuropeine, ligstroside et la verbascoside.

e. Autre composés mineurs

Il existe dans l'huile d'olive d'autres composés mineurs qui revêtent un intérêt biologique, nutritionnel et ceux qui, contribuent à la caractérisation et l'identification variétale notamment:

❖ Les hydrocarbures

Responsables de la couleur bleue spécifique aux huiles d'olives notamment le squalène ($C_{30}H_{50}$) qui peut représenter entre 32 à 50% de la totalité de l'insaponifiable (COI, 2015).

❖ Les alcools triterpéniques

L'huile d'olive contient de nombreux alcools (Stérols, méthylstérols, alcools triterpéniques, alcools aliphatiques, etc.) mais en très petites quantités, (100 à 300 mg/100g). Aissaoui Y, 2016).

❖ Les phospholipides

Présent en quantité peu élevées ils sont représentés par la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine (Uzzan, 1992).

Chapitre 2

Les effets bénéfiques de l'huile d'olive

2. Les effets bénéfiques de l'huile d'olive

L'huile d'olive vierge extra est une huile d'olive de grande qualité et sans doute la plus saine des matières grasses. Un processus de pression ou centrifugation, à basse température, extrait le jus d'olives d'excellente qualité immédiatement après la récolte. La teneur en acides gras libres, exprimée en acide oléique doit être de 0,8% ou inférieure afin d'obtenir la classification de « Vierge Extra ». C'est pourquoi ses qualités odorantes et sapides en font une Huile d'Olive Gourmet, très agréable pour la cuisine, un ingrédient excellent et inégalable pour une alimentation saine ou un plan de perte de poids, car elle inhibe l'accumulation de matière adipeuse dans la zone abdominale (Benlemlih et Ghanm, 2012).

2.1. L'effet d'huile d'olive sur la santé

Bien que l'huile d'olive ait été un ingrédient de base dans l'alimentation méditerranéenne pendant des milliers d'années, ce n'est que récemment que les vertus médicinales de l'huile d'olive sont vraiment reconnues (Weil, 2005).

2.1.1. L'huile d'olive et les maladies cardio-vasculaires

Cet effet protecteur de l'huile d'olive est attribué à sa composition particulière en acides gras, avec un taux équilibré entre acides gras saturés et insaturés et une teneur importante en acide oléique monoinsaturé qui possède la propriété d'élever le bon cholestérol HDL et de prévenir la dangereuse oxydation des LDL (Mensink *et al.*, 2003). D'autre part, à la différence des huiles de graines, l'huile d'olive est un pur jus de fruit, très riche en polyphénols, qui protègent nos cellules de l'oxydation. (Alonso *et al.*, 2006).

L'huile d'olive conserve ses propriétés antioxydantes lorsqu'elle est cuisinée, jusqu'à 200 C° pendant 3 heures (elle ne s'oxyde pas à la friture), alors qu'on recommande de ne pas chauffer les huiles de graines (comme le tournesol ou le soja) au-delà de 160 C°.

2.1.2. L'huile d'olive et le diabète sucré

Un régime alimentaire riche en huile d'olive ne constituerait pas seulement une bonne alternative au traitement du diabète sucré mais permettrait également de prévenir ou de retarder l'apparition de la maladie (Dupin et Cuq, 1992).

Chez des diabétiques, la consommation d'huile d'olive diminue le besoin d'injections d'insuline (Covas *et al.*, 2009).

2.1.3. Autres effets

De plus, un certain nombre d'études ont montré que l'huile d'olive était favorable pour aurait un effet protecteur contre le cancer du sein, du pancréas et du colon grâce a sa composition en acide oléique qui présente une activité anti- tumoral importante (Bennani, 2007).

De plus, un certain nombre d'études ont montré que l'huile d'olive est à plusieurs autres bénéfiques pour la santé (Terdazi *et al.*, 2010).

2.2. L'effet antibactérienne d'huile d'olive

Une étude est effectuée sur l'activité antibactérienne des huiles végétales (huile de tournesol, huile de maïs, huile de coton, huile d'olive), a montré qu'aucune des huiles végétales comestibles étudiées avait cette capacité, sauf les huiles d'olive issues de fruits, et ces résultats ont conduit à penser que les différentes composantes de l'huile d'olive, autre que les acides gras ont été responsables de l'activité antibactérienne. Bien qu'il ait été rapporté que les acides gras possèdent une activité antimicrobienne, le fait que seule l'huile d'olive présente cette activité a suggéré que les composants mineurs de l'huile devraient être impliqués dans cette propriété biologique (Medina *et al.*, 2006).

2.2.1. L'effet antibactérienne des composés phénoliques

Plusieurs études attestent du rôle incontestable des composés phénoliques de l'huile d'olive dans l'inhibition d'innombrables des bactéries pathogènes. Ils sont considérés comme étant des agents antibactériens prometteurs pour le traitement des infections des systèmes gastro-intestinaux ou du système respiratoire (Brenes *et al.*, 2000 ; Romero *et al.*, 2007).

Bisignano *et al* (1999) ont rapporté l'effet inhibiteur de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol sur cinq souches bactériennes de référence (*Haemophilus influenzae* ATCC 9006, *Moraxella catarrhalis* ATCC 8176, *Salmonella typhi* ATCC 6539, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et sur quarante-quatre souches cliniques.

L'étude menée par Romero *et al* (2007), portant sur cinq variétés d'huiles d'olive espagnoles a révélé une activité bactéricide sur huit souches d'*Helicobacter pylori*, connu comme étant la principale cause l'ulcéré gastro-duodéal. Cette activité est liée aux secoiridoïdes aglycones en particulier la forme aldéhydique de ligstroside aglycone, qui a la particularité de résister à l'acidité gastrique pendant plusieurs heures.

D'après Cowan (1999) et Friedman *et al* (2003), les polyphénols fortement hydroxylés présentent un potentiel important en tant qu'agents antibactériens. Bien que les effets antibactériens des composés phénoliques soient bien établis, leur mécanisme d'action n'est pas encore élucidé, plusieurs hypothèses ont été proposées afin d'éclaircir leur activité (Boskou, 2009).

Il a été démontré que le mécanisme de toxicité s'effectue, soit par la privation des ions métalliques (fer, magnésium), soit par des interactions non spécifiques tel que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires (les adhésines), afin d'inactiver l'adhésion des microorganismes ou bien les enzymes, telle que les enzymes hydrolytiques (protéases et carboxylases) ou autres interactions pour inactiver des transporteurs protéiques membranaires ou découplage des réactions énergétiques, ce qui conduit à la dénaturation de la membrane cytoplasmique entraînant une fuite des constituants cellulaires (Cowan, 1999 ; Zaidi *et al.*, 2008).

Grâce à un modèle de membranes bactériennes artificielles, Casas-Sanchez *et al.* (2007) ont montré que l'oleuropéine s'intercale entre les phospholipides membranaires et provoque la déstabilisation de la membrane cytoplasmique ce qui peut avoir comme conséquence une fuite des constituants cellulaires (phosphate, calcium) qui ont un rôle dans le maintien et l'équilibre des réserves énergétiques et du pH intracellulaire. Cette perte conduit à la baisse de synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéines).

L'action des composés phénoliques sur la bactérie se fait selon les trois étapes qui suivent (Bruneton, 1999), après son adsorption à la surface de la bactérie :

- Saturation des sites de la paroi cellulaire ;
- Saturation des sites de la membrane cytoplasmique ;
- Pénétration dans le cytoplasme.

Partie Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. Matériel végétal

3.1.1. Présentation de la zone d'étude

Cette étude a porté sur deux huiles issues de deux variétés d'oliviers de sud Est algérien dans la région l'Outaya wilaya de Biskra (figure 1).

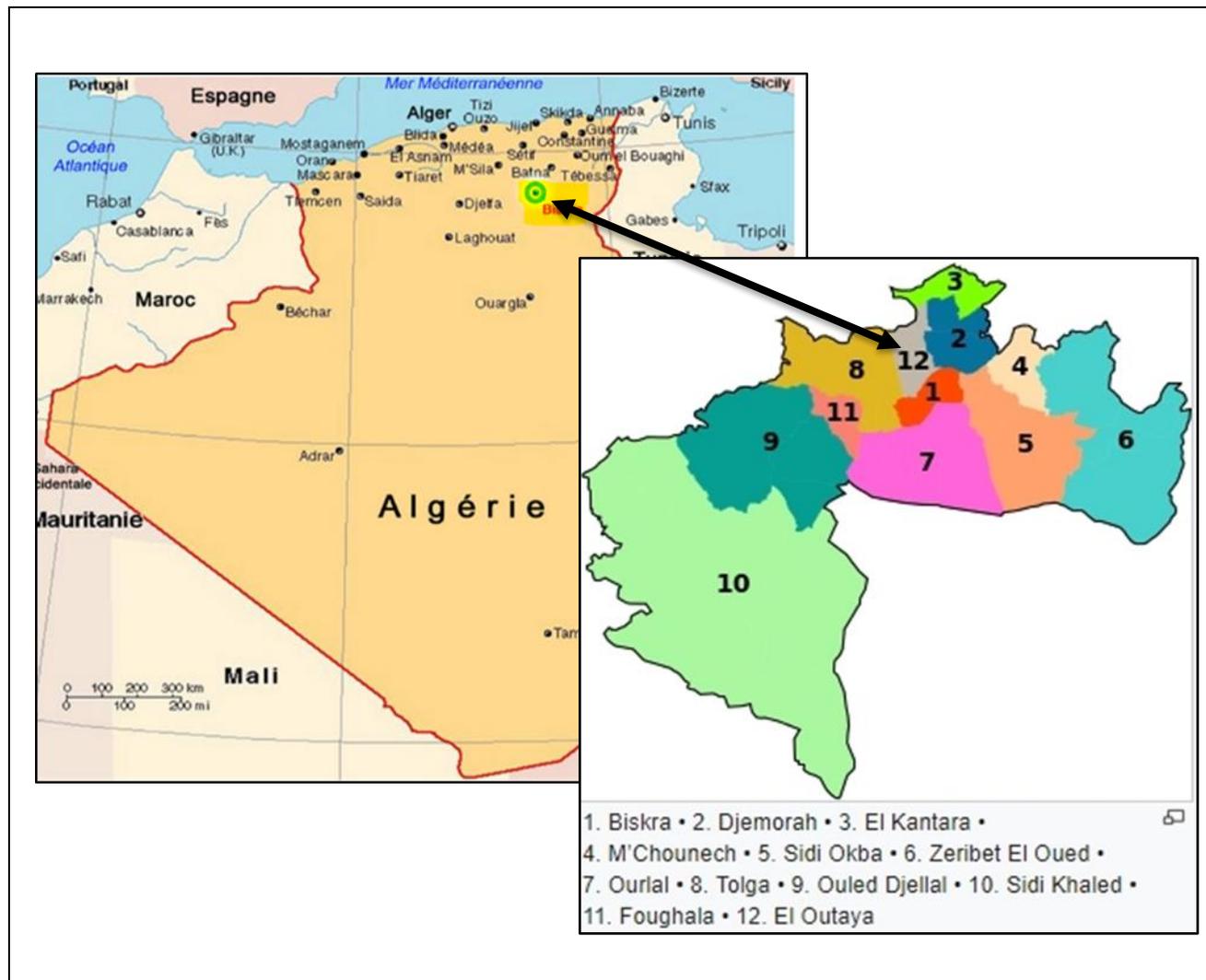


Figure 2:carte de la zone d'échantillonnage

Les échantillons d'olive sont collectés à l'institut technique du développement de l'agronomie saharienne annexe El-Outaya (ITDAS) localisée dans une région oléicole (El-Outaya) wilaya de Biskra.

3.1.2. Description des cultivars

Les olives ayant objet de l'étude ont été récoltées sur des arbres en pleine production. Les échantillons d'olives étudiés et leurs caractéristiques sont illustrés dans le tableau 2 :

Tableau 2 : caractéristiques des variétés d'olives étudiées

<p style="text-align: center;">❖ Tabelout</p> <p>Origine : Zone de montagneuse du golf de Bejaia (Algérie)</p> <p>Utilisation : Huile</p> <p>Rendement : élevé (20 à 24%)</p>	
<p style="text-align: center;">❖ Chemlal</p> <p>Origine : Centre Algérien Kabylie</p> <p>Utilisation : Huile</p> <p>Rendement : élevé (18 à 24%)</p>	

Les informations concernant la date de récolte, la nature de fruit et leur mode d'extraction ont été répertoriées dans le tableau 3.

Tableau 3: Les propriétés d'échantillonnage

Mode de cueillette	Nature	Date de récolte	Durée de stockage	Date de trituration	Système d'extraction
À la main (Un peigne manuel)	Séché et Extraction Sans cuisson	Début de décembre	5 jours	20 décembre	Méthode continu

3.1.3. Etude phytochimique de fruit

Le but de cette étude est de mettre en évidence les principaux métabolites secondaires des fruits broyés et séchés. Deux modes de préparation ont été adoptés selon le type de groupe recherchés :

Préparation de la poudre : les fruites d'olives ont été broyées à l'aide du moulin de café (mortier), la pâte obtenue est séchée à l'étuve à 90°C.

Préparation d'un infusé (à 10%) : 10g de fruits broyés séché dans 100 ml d'eau bouillante, on filtre après 15mn (Gherib,2015)

A. Tanins

Nous avons pris 05ml de l'infusé, nous avons ajouté goutte à goutte 1ml d'une solution de Chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 1% : l'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des Tanins cathéchiques, bleu noirâtre, Tanins galliques.

Aux 30ml de l'infusé, nous avons ajouté 15ml de réactif de Stiasny (Formol à 30% + Hcl Concentré 3-1 V/V), après chauffage de 30mn au bain-marie, l'observation d'un précipité orange indique la présence des tannins cathéchiques (Solfo, 1973).

B. Alcaloïdes

Nous avons mélangé 5g de la poudre séchée avec 50ml d'Hcl à 1% dans un bécher. Après macération, nous avons filtré le mélange à l'aide d'un papier filtre et additionné au filtrat quelques gouttes de réactif de Mayer (1,36g de $HgCl_2$ +5g de KI dissout dans 100ml d' H_2O distillée), l'apparition d'un précipité blanc indique leur présence (Bouquet, 1972).

C. Flavonoïdes

Nous avons macéré 10g de la poudre pulvérisée dans 150ml d'Hcl à 1% pendant 24h, après filtration nous avons procédé au test suivant :

10ml du filtrat après l'avoir rendu basique par l'ajout du NH_4OH , après 3h, l'apparition d'une couleur jaune clair dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes (Okmu, 2005).

D. Saponosides

Nous avons pris 5g de la poudre dans 80ml d'eau distillée puis on a mis le mélange dans un bécher sur une plaque chauffante jusqu'à l'ébullition, après on a laissé le filtrat refroidir,

quelques ml du filtrat sont mis dans un tube à essai puis agité. L'apparition d'une mousse qui dure quelques instants indique la présence des saponosides (Karumi *et al.*, 2004).

E. Terpènes et Stéroïdes

Nous avons macéré 5g de poudre dans 20ml d'éther de pétrole, après avoir filtré et évaporé la phase organique dans un bain de sable à T 90°C, le résidu est dissout dans 0,5ml d'acide acétique, en ajoutant 1ml d'H₂SO₄ concentré, dans la zone de contact entre les deux liquides un cercle violé ou marron indique la présence des stéroïdes et Terpènes (Dohou *et al.*, 2003).

F. Anthocyanes

La recherche repose sur le changement de couleur de l'infusé à 10% avec le changement du PH :

On ajoute quelques gouttes d'Hcl pur à l'infusé puis on observe le changement de la couleur, ensuite on rajoute quelques gouttes de l'NH₄OH, le changement de la couleur indique la présence d'anthocyanes (Harbone, 1967).

3.2. Techniques d'analyse

3.2.1. La méthode d'extraction de l'huile d'olive

L'extraction de l'huile d'olive a été réalisée par une méthode moderne dans le moulin moderne d'olive – Biskra. L'huile est obtenue par système d'extraction à trois phases qui comporte quatre étapes :

A. Lavage

Au plus tôt après la cueillette, les olives destinées à la fabrication de l'huile sont débarrassés de toutes impuretés qu'elles soient d'origine végétale (les brindilles et les feuilles) ou poussières, pierres et d'autres matières solides. Ces impuretés peuvent augmenter le taux d'acidité des huiles et à en déprécier leurs qualités organoleptiques (odeur, saveur). Puis lavées l'eau froide.

B. Broyage

Cette opération a pour but de libération de l'huile des tissus végétaux par le broyage des olives immédiatement (pour éviter toute oxydation) avec les noyaux, qui contiennent un antioxydant, comme conservateur naturel. Le broyeur métallique à dilacéré les cellules de la pulpe et écrasé de l'amande, donc la libération d'huile la cavité centrale (vacuole). Avec

formation de gouttes aux dimensions plus grandes qui permettent sa séparation des autres phases.

C. Malaxage

Le broyage ne suffit pas à briser la totalité des vacuoles contenant l'huile. Pour libérer le maximum d'huile, un malaxage (à l'aide d'un malaxeur) est appliqué à la pâte jusqu'à l'obtention d'une pâte onctueuse pour faciliter l'extraction. On 'ajout d'eau tiède pour favoriser l'agrégation des gouttelettes d'huiles de manière à en former de plus grosse. Le broyage et le malaxage permettent d'obtenir une pâte qui contient de la matière solide (débris des noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires, ...) et du fluide (huile et l'eau de végétation).

D. Décantation

La décantation se fait dans un décanteur centrifuge dans lequel les différents composants de la pâte se séparent en fonction de leur densité. L'huile, plus légère que la phase aqueuse (les margines) et les matières solides (grignons), se recueille séparément à des autres éléments. La phase supérieure constituée d'huile est récupérée dans un flacon.

Les figures de différentes étapes d'extraction sont incluses dans l'annexe 2.

3.2.2. Rendement en huile d'olive

Dans cette étude on a utilisé la méthode par Soxhlet (ISO 659, 1988).

L'échantillon à analyser (la pâte) subit d'un séchage à l'étuve à 40 °C pendant 14 h afin d'éliminer les traces d'eau.

Principe

L'extraction de l'huile d'olive est réalisée dans un appareil approprié de type Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant organique. Après l'élimination du solvant d'extraction, l'extrait obtenu représente la matière grasse contenue dans la prise d'essai.

Mode opératoire

Un ballon, préalablement séché dans une étuve, est pesé : c'est (mi).

10 g de l'échantillon à analyser sont placés dans une cartouche à extraction.

La cartouche contenant la prise d'essai est placée dans l'appareil à extraction, puis la quantité nécessaire du solvant est versée dans le ballon (250 ml).

Le ballon est adapté à l'appareil à extraction sur un chauffe-ballon réglé à une température voisine à l'ébullition du solvant, soit 60°C et le chauffage est conduit dans des conditions telles que le débit du reflux soit d'au moins 3 gouttes par seconde (ébullition modérée, non tumultueuse).

Après 6 heures d'extraction, passer le ballon au rota vapeur, dans le but d'éliminer le solvant d'extraction ; ensuite, le ballon est chauffé à l'étuve (60°C / 30-60 mn) pour chasser les dernières traces du solvant.

Laisser refroidir et peser le ballon + huile extraite : c'est (mf).

Expression des résultats

Le rendement en huile est exprimé en pourcentage de masse du produit ;

Il est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Rendement en huile \%} = \frac{(mf-mi)}{me} \times 100$$

mf: la masse finale du ballon

mi: la masse du ballon vide

me: la masse initiale de l'échantillon à analyser.

3.3. Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive

Les huiles d'olive obtenues à partir des deux variétés, ont subi des analyses physicochimiques suivantes :

3.3.1. L'humidité (la teneur en eau) H%

L'humidité est la quantité d'eau contenue dans un échantillon quelconque et qui disparaît sous l'effet du chauffage, elle est quantifiée en masse perdue d'huile par dessiccateur à l'étuve dans des conditions déterminées (un séchage isotherme à une température de 103°C ± 2°C) (ISO 662, 1998).

Principe

Le taux d'humidité est calculé à partir de la différence de poids d'une prise d'essai avant et Après séchage à l'étuve à une température de 103°C ± 2°C pendant 3 heures.

Mode opératoire

Peser le cristalliseur vide (M0)

Prise d'essai de 10g de l'échantillon (M1)

Soumettre à l'étuve, le cristalliseur contenant l'huile à une température de 103°C
Pendant 3 heures

Reprendre le cristalliseur et le refroidir dans un dessiccateur

Procéder à une dernière pesée (M2)

Expression des résultats

$$\text{Humidité (\%)} = \frac{M1 - (M2 - M0)}{M1} \times 100$$

M0 : Masse du cristalliseur vide en grammes

M1 : Masse de la prise d'essai en grammes

M2 : Masse du cristalliseur contenant l'échantillon après chauffage en grammes

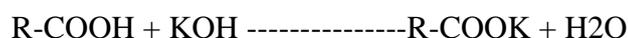
3.3.2. Dosage de l'acidité libre

L'acidité est la teneur de l'huile d'olive en acides gras libres résultant de l'hydrolyse des triglycérides et exprimée conventionnellement en acide oléique (g/100g d'huile).

L'acidité est mesurée selon la norme (ISO 660, 2003).

L'indice d'acide : correspond au nombre de milligrammes de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres dans un gramme de corps gras.

La méthode consiste à doser les acides gras libres par une solution titrée de potasse.



Mode opératoire

Remplir la burette gradué avec la solution d'hydroxyde de potasse (0.5 mol.L-1)

Peser environ 10g d'huile d'olive dans un erlenmeyer

Ajouter 50ml du mélange éthanol-éther éthylique

Ajouter quelques gouttes de phénol phtaléine

Mettre l'erlenmeyer sur l'agitateur magnétique

Versé progressivement d'hydroxyde de potassium

La fin du dosage est marquée par l'apparition d'une couleur légèrement rose.

L'indice d'acide en mg de KOH /g d'huile est calculé selon la formule suivant :

$$\text{Indice d'acide} = \frac{56.1 \times V \times N}{Pr}$$

$$\text{L'acidité \%} = \frac{V \times M \times N}{10 \times Pr}$$

V : Volume en millilitres de solution titrée de KOH

N : normalité exacte de la solution titrée de KOH

M : masse moléculaire de l'acide oléique adaptée par l'expression 282,5 (huile d'olive)

Pr : prise d'essai en gramme

56,1 : Equivalant gramme de potasse

3.3.3. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans 1 kilogramme de produit et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. En effet, cet indice nous permet d'évaluer l'état de fraîcheur de l'huile.

Principe

Repose sur le titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. L'indice de peroxyde est mesurée selon la norme (ISO 3960, 2001).

Mode opératoire

1g d'huile d'olive pesés dans une fiole et mélangés avec 10ml de chloroforme ; le tout est agité

15ml d'acide acétique glacial ainsi que 1ml d'Iodure de potassium (3g.ml^{-1}) sont ajoutés

Le mélange est agité pendant 1mn et laissé reposer pendant 5mn à l'abri de la lumière et à une température de 15 à 25°C

75ml d'eau distillée sont additionnés suivi d'un titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à 0,01N en agitant vigoureusement et en employant la solution d'amidon (1g/100ml) comme indicateur jusqu'à disparation de la couleur bleu

Un essai à blanc est effectué simultanément.

L'indice de peroxyde en milliéquivalent d'O₂/kg est calculé selon l'équation :

$$\text{Indice de peroxyde} = \frac{(V-V_0) \times 1000 \times T}{M}$$

T : titre ou normalité de la solution de thiosulfate de sodium (Na₂ S₂ O₃)

Vo : volume de thiosulfate versé dans le blanc (en ml)

V : volume de thiosulfate versé dans la prise d'essai (en ml)

M : la prise d'essai en grammes

3.3.4. Etat d'oxydation des huiles - Extinction spécifique

Tous les corps gras naturels contiennent de l'acide linoléique en quantité plus ou moins importante. L'oxydation d'un corps gras conduit à la formation d'hydropéroxydes linoléique qui absorbent la lumière ultraviolette au voisinage de 266 nm. Si l'oxydation se poursuit, il se forme des produits secondaires d'oxydation, en particulier les hydroperoxydes et les cétones insaturées qui absorbent la lumière à 232 et 270 nm.

Mode opératoire

Une prise de 0,25 grammes de l'huile et dissoute dans 25 ml de cyclohexane

L'absorbance de la solution de matière grasse est mesurée dans une cuve de quartz par rapport à celle du solvant utilisé à l'aide d'un spectrophotomètre U.V / Visible à longueur d'onde spécifiques de 232 et 270 nm.

L'extinction à 232 et 270 nm d'un corps gras brut peut être considérée comme une image de son état d'oxydation, plus l'huile est peroxydée et plus l'extinction à 232 et 270 nm est forte, plus elle est riche en produits secondaires d'oxydation en particulier des hydroperoxydes, des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent la lumière à 232 et 270 nm. (Gharby *et al.*, 2011).

3.4. Dosage des phénols totaux

L'analyse des composés phénoliques dans l'huile présente un grand intérêt étant donné, d'une part, leur rôle d'antioxydant naturels et, d'autre part, leur contribution à la saveur de l'huile. Le dosage quantitatif des composés phénoliques a été effectué en utilisant le réactif de Folin- Ciocalteu.

L'analyse des composés phénoliques dans l'huile présente un grand intérêt étant donné, d'une part, leur rôle d'antioxydant naturels et, d'autre part, leur contribution à la saveur de l'huile. Le dosage quantitatif des composés phénoliques a été effectué en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif employé est un mélange de phosphomolybdate et de tungstate de sodium qui est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'extraction et le dosage des phénols sont effectués comme suit :

Selon Benrachou (2013), une prise de 30 grammes d'huile filtrée sur Na_2CO_4 est dissoute dans 30 ml de méthanol, le mélange est homogénéisé à l'Ultraturrax 10 000 tours pendant 30 minutes, puis centrifugé à 3500 tours pendant 10 minutes.

La phase supérieure est récupérée dans un ballon de 100 ml et la phase inférieure est transvasée dans une ampoule à décanter à laquelle sera ajoutée 30 ml de méthanol ; le mélange est agité pendant 3 minutes puis centrifugé. On répète l'opération 3 fois. A la fin de l'extraction, les 3 phases récupérées sont évaporées grâce à un rota vapeur, à une température de 40°C , puis mis au congélateur (-22°C) pendant 12 heures.

On prend 0,2 ml de la solution méthanolique à laquelle on ajoute 5 ml de l'eau distillée et 0,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 mn, on ajoute 3 ml de solution saturée de Na_2CO_3 avec un même volume d'eau distillée, agiter et laisser reposer pendant 30 min.

A la température ambiante, l'intensité de la coloration évolue lentement avec le temps. C'est pour cette raison qu'on laisse le mélange reposer, jusqu'à ce que l'oxydation de tous les composés phénoliques soit complété. On mesure ensuite l'absorbance à la longueur d'onde de 725 nm.

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques, exprimée en acide caféique, La quantité en polyphénols totaux est exprimés en ppm (mg/kg) exprimés en acide caféique) selon la formule suivante :

$$\text{Polyphénols en ppm (mg kg)} = A_{725} \times (V_e 0.2) \times (1000 P_e) \times 0.06$$

A_{725} : Absorbance à 725 nm.

V_e : volume de l'extrait de la solution méthanolique.

Pe : prise d'essai de l'échantillon en gramme.

0,06 : coefficient déduit par la méthode exprimé en acide caféique.

3.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles d'olives

Les techniques utilisées pour étudier l'effet des huiles des deux variétés d'olives sont celles de la diffusion des disques sur gélose (contact indirect) et des dilutions sur milieu solide (contact direct).

3.5.1. Souches bactériennes utilisées

Les souches qui ont été testées pour déceler l'activité antibactérienne des huiles d'olives sont des souches cliniques fournies par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Hakim Saâdan, Biskra.

Deux souches à Gram négatif : *Escherichia coli* 4367 ; et *Pseudomonas aeruginosa*

Une souche à Gram positif : *Staphylococcus aureus*

3.5.2. Standardisation de l'inoculum

Il a bien été établi que la taille de l'inoculum bactérien est susceptible de modifier largement les résultats des tests de détermination de la sensibilité in vitro pour de nombreux antibiotiques et chez de nombreuses espèces bactériennes (Garrabé *et al.*, 1998). C'est pour cela que la standardisation de l'inoculum bactérien est un facteur qui contribue de façon essentielle à la qualité des résultats de l'antibiogramme.

Les trois souches bactériennes purifiées sont mises en culture séparément à 37°C/24 heures sur un bouillon nutritif puis ensemencées sur une gélose nutritive à 37°C/24h.

L'étape suivante vise à préparer l'inoculum en prélevant une à deux colonies et les suspendre dans 9 ml d'eau physiologique stérile (9 g NaCl/l).

La densité de l'inoculum est fixée entre 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm correspondant au standard 0,5-McFarland équivalent à 10⁸UFC/ml. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture si la DO est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte (Aboun *et al.*, 2001).

3.5.3. Diffusion sur milieu gélosé (contact indirect)

3.5.3.1. Principe

L'activité antibactérienne des huiles d'olives a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé « aromatoگرامme », suit le même principe de l'antibiogramme décrit par Kirby-

Bauer (1960) et standardisée par le comité national des normes pour laboratoires cliniques (Prescott et al., 2003 ; NCCLS, 2003).

Elle est basée sur la diffusion des substances à tester imprégnées sur des disques en papier qui doivent être déposés à la surface d'un milieu solide ensemencé (Rey, 2010).

- **Mode opératoire**

Le protocole suivi pour réaliser cet aromatogramme est rapporté par plusieurs auteurs (Bisignano *et al.*, 1999; Canadanovic-Brunet *et al.*, 2008; Kappel *et al.*, 2008):

Après 15 mn de la standardisation de l'inoculum bactérien de trois souches à tester au standard 0,5-Mc Farland équivalent à 10^8 UFC/ml.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne sert à ensemencer sur un milieu gélosé Mueller-Hinton coulées dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, avec une épaisseur d'au moins 4 mm.

Des disques de papier wattman stérile de 6 mm de diamètre sont disposés à distance égale les uns des autres et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose. Une légère pression sera exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence.

Chaque disque est imprégné à l'aide d'une pipette Eppendorf d'un volume de 10 μ l de l'huile pure et d'une série de dilutions d'huile préparé dans le DMSO (1/2, 1/4, 1/8, 1/16) correspondant respectivement à 0,5, 0,25, 0,12, 0.06 mg/ml). Sachant que la concentration de la solution mère de l'huile est des 1 mg/ml.

Des disques imprégnés de 10 μ l de DMSO, sont utilisés comme témoin négatif. D'autres disques contenant de l'antibiotique de référence (témoin positif) prêtes à la comparaison avec les résultats de l'huile testée.

Toutes les boîtes préparées ont été incubé pendant 24h à 37°C.

3.5.3.2. Expression des résultats

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminée par les différentes concentrations des différentes huiles autour des disques.

L'activité antibactérienne est considérée comme positive à partir d'un diamètre supérieur à 6 mm (Parck *et al.*, 2006 ; Nath *et al.*, 2008 ; Rahmoun, 2009). Ce produit peut avoir :

Très forte activité : diamètre ≥ 30 mm

Forte activité : diamètre 21-29 mm

Moyenne activité : diamètre 16-20 mm

Faible activité : diamètre 11-15mm

Petite ou pas d'activité : diamètre ≤ 10 mm

Pour obtenir des résultats reproductibles, il faut respecter la règle des trois fois 15minutes établie par EUCAST 2010 :

L'inoculum préparé précédemment doit être ensemencé en moins de 15 mn.

Lorsque les boites de pétri sont ensemencées, il faut appliquer les disques dans un délai maximum de 15 mn.

Lorsque les disques sont déposés, l'incubation est réalisée dans un délai maximum de 15 mn.

3.5.4. Technique de contact direct sur milieu gélosé

3.5.4.1. Principe

Cette méthode consiste à disperser l'huile à des concentrations variables dans le milieu de culture gélosé avant sa solidification (Benjilali *et al.*, 1986).

Les huiles d'olives ont été utilisées sous forme d'émulsions avec le milieu de culture Mueller-Hinton. L'ensemencement a été réalisé en masse à partir de la dilution 10^{-6} de la suspension bactérienne (suspension mère) à 0.5 Mac Farland de chaque souche testée.

Mode opératoire

a. Préparations des dilutions de la suspension bactérienne

Après 15 mn de la standardisation de l'inoculum bactérien de trois souches a testé au standard 0,5-McFarland équivalent à 10^8 UFC/ml.

Des dilutions de la suspension mère sont préparées jusqu'à 10^{-6} avec l'eau physiologique stérile de chaque souche bactérienne testée.

A partir de la dilution 10^{-6} de chaque souche testé, 1ml est déposé dans les boites pétrie stérile marqué (souche bactérienne ; la date et la variété de l'huile d'olive testé).

b. Préparations des émulsions de l'huile d'olive

Deux dilutions des deux variétés de l'huile d'olive (chemelal,tabelout) avec le milieu de culture M-H stérile sont préparés : (1/4, 1/20), dont :

La dilution 1/4 : 1 volume de l'huile d'olive avec 3 volumes de M-H.

La dilution 1/20 :1 volume de l'huile d'olive avec 19 volumes de M-H.

On a agité progressivement sans formation du mousses. Après refroidissement, on a coulé l'émulsion sur les boîtes contenant 1ml de la dilution 10^{-6} . D'autres boîtes sont préparées comme un témoin de chaque souche ne contient que la suspension avec le milieu M-H (sans huile). En homogénéiser avec des mouvements circulaires (en dessinant des 8 sur la paillasse).

Laisser refroidir la gélose sans la bouger puis incuber les boîtesensemencées à $37C^{\circ}$ pendant 24 heures.

Dénombrement des colonies bactériennes.

Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1. Etude phytochimique des fruits

Les résultats de l'étude phytochimiques des deux variétés de fruit d'olive sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 4) :

Les figures des résultats de l'étude phytochimique des deux variétés sont incluses dans l'annexe 3

Tableau 4 : Résultats de l'étude phytochimique des fruits d'olive

Substance	Les cultivars	Presence dans le fruit
Tannins galliques	Tabelout	-
	Chemlal	
Tannins catéchiques	Tabelout	+
	Chemlal	
Alcaloïdes	Tabelout	+
	Chemlal	
Anthocyanes	Tabelout	+
	Chemlal	
Flavonoïdes	Tabelout	+
	Chemlal	
Saponosides	Tabelout	-
	Chemlal	
Terpènes et Stérols	Tabelout	+
	Chemlal	

(+) : absence

(-) : présence

Tanins

L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques (tableau 3) ; Pour le test de confirmation des tanins catéchiques on a obtenu un résultat positif c.à.d. il y'a des tannins catéchiques (un précipité orange) et il y'a pas des tanins galliques dans le fruit d'olive de deux variétés.

Les tanins sont des polyphénols qui ont un effet antioxydant fondamental ; des propriétés antitumorales, antivirales et antibactériennes (Takuo, 2005).

Alcaloïdes

La présence du précipité blanc faible dans les deux échantillons indique la présence des alcaloïdes dans les fruites de l'olive (tableau 3). Ces principes actifs sont connus par ses effets toxiques à certaines doses (Hartmann et Witte, 1995). Et ils ont autre effet bénéfique telle que leur utilisation à plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme (McCalley (2002), Stöckigt et al. (2002)) : Antitumoraux, Antalgiques (morphine), Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine.

Flavonoïdes

L'apparition de deux phases du fond vers le bas du tubes (marron foncé, jaune) montre que les fruits de l'olive contiennent les Flavonoïdes.

Ces principes sont des composés polyphénoliques qui sont abondants dans les végétaux et les fruits (Babu *et al.*, 2013), ils peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé en raison de leur propriétés antioxydantes et leur rôle inhibiteur à divers stades de développement de la tumeur, représentent un système de défense contre les micro-organismes pathogènes, antiparasitaires, antibactérienne. (Sohn *et al.*, 2004), l'apport de flavonoïdes diminue le risque des maladies cardiovasculaires (Hollman *et al.*, 1999 ; Kyungmi et Susan, 2008), et en plus ils ont un effet anti-diabétique (Babu *et al.*, 2013).

Saponosides

Après la macération de fruit on a obtenu un résultat négatif des Saponosides grâce à l'absence de la mousse dans le filtrat, donc l'absence des Saponosides dans les fruits.

Actuellement, les recherches montrent que les saponosides isolés à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, possèdent des propriétés antibactérienne et antifongique (Bouhadjera, 2005).

Terpènes et Stérols

L'apparition d'un cercle violet entre deux phases noire et orangé montre la présence de ces groupes chimiques dans les fruits d'olive, la majorité des composés terpéniques sont des métabolites secondaires sans fonction directe dans la croissance des végétaux, sont responsables de la couleur et l'odeur des plantes et des épices (piments, curies). Les stérols sont connus à avoir une efficacité à baisser le cholestérol (Shaghghi *et al.*, 2014).

Les terpénoïdes sont connus comme doués de propriétés antifongiques et antibactériennes. Le mécanisme des terpénoïdes n'est pas bien connu mais, il pourrait induire une destruction de la membrane du microorganisme par une action lipophile (Cowan, 1999).

Anthocyanes

Après l'ajout de l'HCl il y'a l'apparition d'une couleur rouge foncé et lorsque on rajoute la base on remarque une couleur noire dans la partie supérieure du tube, qui montre la présence des anthocyanes dans les fruits, ces derniers sont des composés importants dans les tissus des fruits responsable à la couleur des plantes (Patel et Dinesh, 2013), en plus ils ont un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires et le Cancer (Sun, 2009).

En conclusion, d'après ces résultats d'étude phytochimique des fruits on peut mettre en évidence leur richesse en certains principes bioactifs (métabolites secondaires), qu'ils ont des effets bénéfiques sur la santé tels que : antioxydants, anti-tumoral, antibactérienne et prévention des maladies cardiovasculaires (MCV).

4.2. Technique d'analyse

Deux méthodes ont été adoptées pour l'extraction des lipides totaux à partir des olives.

La première méthode emploie un appareil Soxhlet. L'huile est extraite à l'aide de l'hexane porté à une température voisine de celle de l'ébullition du solvant, soit 60 °C environ, et la masse d'huile est déterminée par double pesée. Cette technique est utilisée pour donner une estimation exacte de la teneur en huile des olives.

La deuxième méthode à été réalisée par une méthode moderne dans le moulin moderne d'olive -biskra-. L'huile est extraite par système d'extraction à trois phases : broyage, malaxage et décantation.

Les résultats obtenus de l'analyse des deux variétés de l'huile d'olive sont présentés dans le Tableau 5 :

4.2.1. Teneur en huile d'olive

La teneur en huile est l'un des paramètres les plus importants à déterminer, elle permet d'évaluer la quantité (le rendement) de matière grasse entre les variétés des fruits de l'Olivier (un effet variétal) donc ne constitue pas un critère de détermination de la qualité de l'huile mais c'est surtout un critère à envisager lors d'une sélection variétale.

Les résultats obtenus montrent que les fruits des variétés chemlal, tabelout sont relativement plus riches en huile avec une teneur élevée de 50.3%,48.2% respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celle obtenus par Benaziza et Semad (2016) (tabelout 28.92%), supérieures aussi à celle obtenu par (Benrachou., (2013) (Bouricha 16.77%, Limli 17.06%, Blanquette 14.98%).

Gigon et jeune (2010) affirment que la teneur en huile et en différents constituants de l'huile varient en fonction du terroir, des pratiques agronomiques locales, de la variété et du stade de maturation des fruits a la récolte. De nombreuses études montrent qu'au cours 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).

4.3. Analyse des caractéristiques physicochimiques des huiles d'olive

4.3.1. L'humidité (%)

Les résultats obtenus d'humidités pour la variété tabelout étudiées est conforme aux normes établies par le comité oléicole international (COI, 2015) ($\leq 0.2\%$), mais pour la variété chemlal est légèrement supérieure aux normes.

La variété chemlal se distingue par leur teneur en humidité légèrement élevées de 0.3% , suivie par la variété tabelout avec un teneur spécifique 0.2 % , cet résultat est supérieur à celle trouvée par Benaziza et Semad (2016) (tabelout 0.11%), (Frantoïo 0.16%), (Manzanilla 0.18%) (Abani 0.10%), (Ferkani 0.03%), (Rougette 0.08%).

Le pourcentage d'humidité dans une huile nous informe du risque d'une hydrolyse des triglycérides (altération hydrolytique) qui conduit à la libération d'acides gras libres dix fois plus sensibles à l'oxydation que lorsqu'ils sont sous forme liés. Plus le taux d'humidité est élevé, plus ce risque est important. (Bensalem,2015).

Les taux de l'humidité varient d'un échantillon à un autre, ceci est due probablement au procédé artisanal d'extraction, dans lequel l'utilisation de l'eau diffère d'un individu à un autre et non d'une région à une autre. (Bensalem,2015).

4.3.2. Acidité (%)

L'Acidité libre permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique, des chaînes d'acides gras des triglycérides (Abaza *et al.*, 2002).

Les valeurs d'acidité enregistrées chez les variétés étudiées sont ≤ 2 , ce qui correspond selon le COI (2015) aux huiles d'olive vierge, qui correspondent aux (tabelout 1.55%, chemlal 1.41%), les deux variétés ont une acidité libre voisine, ces valeurs sont supérieures à celle trouvée par Benaziza et Semad (2016), (tabelout 0.25%), L'acidité est plus faible par rapport aux variétés étudiées.

D'après Karleskind et Wolff (1992), un corps gras est à l'abri de l'altération par hydrolyse, si son acidité est $\leq 0,1$ %.

Selon Grati (2007) l'acidité est un paramètre de critère de qualité de l'huile d'olive et ne devrait guère dépasser 0,3% lorsque l'huile est obtenue à partir d'olives récoltées à la main et transformées rapidement avec peu ou sans temps de stockage et à un stade de maturité approprié (pas très avancé).

4.3.3. Indice de peroxyde (IP)

L'Indice de Peroxyde, nous révèle les premiers degrés d'oxydation de l'huile caractérisés par la présence de peroxydes ou hydro-péroxydes (Bensalem, 2015).

Les résultats obtenus pour les deux variétés étudiées montrent des valeurs inférieures à (20 meq d'O₂/kg), limite fixée par le COI (2015), une valeur de (5.82 meq d'O₂/kg) pour la variété tabelout qui est inférieure à la valeur de la variété chemlal (3.27 meq d'O₂/kg), et les deux sont inférieurs à ceux rapportés par Benaziza et Semad (2016) (tabelout 6.8 meq d'O₂/kg), les autres variétés comprises entre un minimum de 5,42 meq d'O₂/kg enregistrée pour la variété Rougette et un maximum de 7,63 meq d'O₂/kg pour la variété Abani.

Cet indice nous informe sur les conditions de conservation, des méthodes d'extraction, et nous aide à apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative du produit (Tchiegang *et al.*, 2004 ; Marmesat *et al.*, 2009), accélérée par la présence d'oxygène, la température et certains catalyseurs. Ces facteurs agissent sur les doubles liaisons des acides gras insaturés pour former des peroxydes et des hydro peroxydes (Cimato, 1990).

4.3.4. Extinction spécifique (Détermination de l'absorbance spécifique aux rayonnements ultraviolets)

La détermination de l'extinction à 232 nm à 270 nm est un paramètre de confirmation d'oxydation des huiles après l'indice de peroxyde.

L'extinction à 232 nm et 270 nm montre une richesse en produits d'oxydation secondaires tels que : les hydro peroxydes et les cétones (Arbi Nehdi, 2013). Les résultats obtenus sont inférieurs aux limites établies par le COI (2015) pour une huile d'olive vierge, (chemlal 2.03; 0.15) ; (tabelout 2.04 ; 0.18) aux longueurs d'onde 232nm ,270nm respectivement.

Selon la norme COI (2015), Ces valeurs indiquent que les huiles d'olives étudiées ne contiennent que peu de produits secondaires d'auto oxydation.

Le tableau suivant résume les résultats de l'analyse des caractéristiques physicochimiques des huiles d'olive.

Tableau 5 :Résultats de l'analyse physicochimique des huiles d'olives:

Variétés Caractéristiques	Tabelout	Chemlal	COI (2015)
Teneur en huile (%)	48.2	50.3	-
Humidité (%)	0.2	0.3	≤ 0.2
Acidité (%)	1.55	1.41	≤ 2
Indice de peroxyde (meq d'O₂/ kg d'huile)	3.27	5.82	≤ 20
Extinction à 232 nm	2.04	2.03	≤ 2.60
à 270 nm	0.18	0.15	≤ 0.25

4.4. Dosage des phénols totaux

Les résultats obtenus pour nos échantillons (tabelout ; chemlal) indiquent des taux faibles en phénols totaux (48.35 ppm, 42.20 ppm) respectivement, valeur inférieures à celle trouvée par Benaziza et Semad (2016) sur des échantillons de la même région (L'Outaya) avec un taux de 489,60 ppm pour la variété tabelout, Les autres variétés présentent des teneurs comprises entre 116,50 et 241,33 ppm. ces variations des teneurs en polyphénols, observées peuvent être dues à la différence de degré de maturité des olives avant trituration (Gherib, 2015).

Selon Denis (2002), La teneur en composés phénoliques des huiles d'olive vierges dépend :

De la variété de l'olive

Du degré de maturité des olives (la teneur baisse avec la sur-maturation des olives)

Du niveau d'infestation des olives par la mouche *Dacus oleae*

Du climat

De la qualité du sol

Du procédé d'extraction utilisé pour séparer la phase huileuse de la phase aqueuse

Des conditions de conservation de l'huile...

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), passent dans l'huile lors de son extraction, parmi ses composés on a les orthodiphénols (comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine) (Gherib, 2015).

Selon (Brenes *et al.*, 2006 ; Romero *et al.*, 2007), les composés phénoliques considérés comme étant des agents antibactériens prometteurs pour le traitement des infections des systèmes gastro-intestinaux ou du système respiratoire.

4.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles d'olives

Ce travail avait pour but de démontrer si l'huile d'olive a un pouvoir antibactérien sur les souches bactériennes pathogènes, pour cela, nous avons choisi deux méthodes pour évaluer l'activité biologique de l'huile.

4.5.1 Méthode de diffusion sur milieu gélosé (contact indirect)

Cette méthode consistait à mesurer la sensibilité des bactéries à l'huile pure et l'huile diluée dans le DMSO ; c'est la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Mueller-Hinton).

L'activité antibactériennes de nos huiles est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les huiles à tester vis -à-vis les 3 germes choisis (Tableaux 6).

Après 24 h d'incubation à 37 °C, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous. Les valeurs 1/2, 1/4, 1/8, et 1/16 correspondant aux différentes dilutions de concentration initial (SM) du l'huile dans le DMSO qui est 1mg/1ml.

Tableau 6 : L'effet inhibiteur des huiles d'olives sur les souches bactériennes testées.

Dilutions Souches	Huiles pure	Solutions mère	1/2	1/4	1/6	1/8	1/16	DMSO (-)	ANT (+)
<i>E. coli</i> (chemlel)	7.5	9	9	10	6	7.5	7.5	0	16.5
<i>E. coli</i> (tabelout)	7	8.5	9	9.5	5	7	6.5	0	16.5
<i>S.aureus</i> (chemlal)	7	7.5	8	8	7	7	7	0	14
<i>S.aureus</i> (tabelout)	7	7.5	8	8.5	7	7	6.5	0	14
<i>P.aeruginosa</i> (chemlal)	7.5	9	9.5	9.5	8	8	8.5	0	-
<i>P.aeruginosa</i> (tabelout)	7	8.5	9	9	8	8	8.5	0	-

Remarque ; les diamètres d'inhibition sont en mm (millimètre).

La mesure de diamètre de la zone d'inhibition par les 2 huiles, a révélé que :

- l'absence d'une activité pour les disques témoins négatifs, indique que le DMSO n'a aucun effet sur les souches bactériennes testées.

- Une forte activité pour les disques témoins positif, avec des zones d'inhibition de 16.5 mm et 14 mm pour les souches *E. Coli* et *S. aureus*, respectivement.

-Les deux huiles possèdent un pouvoir inhibiteur faible, les zones d'inhibition détectés sont inférieures à 10 mm de diamètre et parfois aucune zone n'est visible.

Ces résultats est due probablement selon Sévenet et Tortora (1994) au problème de diffusion des huiles dans le milieu de culture ; et par conséquent le calcul des diamètres d'inhibition sera erroné.

Pour cela, la recherche de l'activité antibactérienne avec cette méthode est insuffisante, il faut cependant utiliser la technique de l'incorporation de l'huile dans le milieu gélosé coulé en boîtes.

4.5.2. Technique de contact direct sur milieu gélosé

Cette méthode a été utilisée pour la confirmation des premiers résultats et d'essayer de chercher s'il y'a activité à une certaine concentration.

Après avoir mélangé l'huile d'olive avec le milieu de culture à deux concentrations (1/4,1/20), l'ensemencement a été effectuée en masse suivi par une incubation à 37°C pendant 24 h. Un dénombrement des colonies bactériennes de chaque souche dans chaque variété et dans les deux dilutions a été effectué avec un compteur de colonies.

On obtient des nombres des colonies indénombrables supérieurs à 300 colonies dans le témoin de chaque souche, avec diminution de ce nombre observé dans les deux variétés de l'huile d'olive avec les deux dilutions (1/4,1/20),

On observe que la dilution 1/4 est la dilution qui inhibent un nombre important des colonies par rapport la dilution 1/20 (la dilution 1/4 est la plus concentré que la dilution 1/20).

On observe que la souche *E. coli* est la souche la plus sensible aux deux variétés des huiles (un nombre important d'inhibition des colonies dans la dilution 1/4,1/20) par rapport les autres souches testées, ce qui est confirmé par Karaosmanoglu *et al.* (2010), qui ont rapporté une inhibition totale d'*E. coli* en utilisant une variété turque d'huile d'olive extra vierge.

Ces résultats présentent la réponse des bactéries en présence des deux variétés des huiles d'olives qui a une activité antibactérienne sur les trois souches testé ; et qui sont confirmé par Laincer (2017) : les variétés tabelout, chemelal inhibent 10^6 au bout d'une 1 heure d'incubation ; chez les souches : *E.coli* ; *S. aureus* ; *P. aerugenosa* .

Une étude menée par Medina *et al.* (2006), ils ont montré que les huiles d'olive extra vierge de deux variétés Espagnol (Picual et Arbequina) semble avoir un effet bactéricide vis-à-vis de la souche *S. aureus*, ce qui est en accord avec nos résultats.

Les propriétés antimicrobiennes de l'huile d'olive ont été démontré par plusieurs études (Tunçel *et al.*, 1993 ; Medina *et al.*, 2006 ; Brenes *et al.*, 2007). Dans notre travail, l'activité est détectée pour les deux échantillons vis-à-vis les souches testées.

La sensibilité des souches aux différents composés présents dans ces huiles à savoir : les acides gras (Andrew *et al.*, 2003), composés phénoliques (Karaosmanoglu *et al.*, 2010) composés volatils (Carvalho et Caramujo., 2008).

Les principaux composés de l'huile d'olive sont l'acide oléique mono insaturé (72%) et l'acide linoléique (21%) (Carvalho et Caramujo, 2008). D'après Kabara *et al.* (1972), le nombre de doubles liaisons et leur position de chaîne peuvent contribuer à un taux d'inhibition. En outre, Ouattara *et al.* (1997) et Zheng *et al.* (2005), ont montré que l'acide linoléique (C18 :2) possède une meilleure activité inhibitrice par rapport à l'acide oléique (C18 :1), acides gras saturés et acide gras insaturés, généralement les huiles des variétés algériennes sont caractérisées par le taux le plus élevé en acide oléique (>60%) et l'acide linoléique (>8%) (Laribi *et al.*, 2011) ce qui peut contribuer à l'activité antibactérienne de nos échantillons.

Les bactéries Gram positif sont particulièrement sensibles aux activités antibactériennes des acides gras par rapport aux bactéries Gram négatif, (Bergsson *et al.*, 2002). En effet, Dilika *et al.* (2000) révèlent que l'acide linoléique et l'acide oleique possèdent une activité antibactérienne élevée vis-à-vis les bactéries Gram positif. Contrairement à nos résultats on retrouve que la souche *E. coli* est une bactérie à Gram négatif est plus sensible par rapport les autres souches testées, ce qui est on accord avec les résultats de Karaosmanoglu *et al.* (2010), ont rapporté une inhibition totale d'*E. coli* en utilisant une variété turque d'huile d'olive extra vierge.

Contrairement aux résultats de Medina *et al.* (2006), qui ont travaillé sur les différents types de l'huile y compris l'huile d'olive. Aucune distinction de l'activité antibactérienne par rapport les bactéries de Gram.

L'activité antibactérienne de l'huile peut être également liée aux composés phénoliques (Medina *et al.*, 2006 ; Brenes *et al.*, 2007 ; Romero *et al.*, 2007 ; Karaosmanoglu *et al.*, 2010., Laribi,2015), la composition des huiles en polyphénols pourrait contribuer à l'activité observée,

(Bisignano *et al.* 1999 ; Tuck et Hayball. 2002 et Cicerale *et al.* 2011), ont démontré que l'effet inhibiteur de l'hydroxytyrosol contre des souches à Gram positif et à Gram négatif.

Baranowski et Nagel (1982) et Karaosmanoglu *et al.* (2010), ont constaté que l'acide caféique possède une activité antibactérienne. Aziz et ses collaborateurs, (1998), ont également rapporté que les acides caféiques, p - benzoïque, vanillique, inhibent la croissance d'*Escherichia coli*, cela pourrait expliquer en partie l'activité de nos échantillons vis-à-vis *E.coli*, les flavonoïdes et plus exactement la lutéoline, exercent aussi un pouvoir antibactérien intéressant (Xu et Lee, 2001 ; Karaosmanoglu *et al.*, 2010) .

D'autres composés de l'huile d'olive montrent également une activité antibactérienne parmi ces composés les aldéhydes. En effet une étude réalisée par Carvalho et Caramujo (2008) à montre que les aldéhydes saturés et insaturés de l'huile d'olive (hexanal, le nonanal, (E)-2-hexenal, (E)-2-heptenal, (E)-2-octenal et (E)-2-nonenal) sont efficaces contre les souches à Gram positif et à Gram négatif.

L'activité antibactérienne testée peut également résulter d'une synergie entre les composés présents dans l'huile d'olive. Il est probable que l'augmentation de l'activité soit due à une modification des propriétés de la substance responsable de l'activité en présence d'autres composés d'huile (Pereira et al., 2007), aboutissant à une combinaison de deux composants actifs (majeur ou mineur) agissant en synergie (Pereira et al.,2007).

On peut conclure que les huiles d'olive de nos échantillons de deux variétés (tabelout, chemlal) ont un effet inhibiteur vis-à-vis les trois souches bactériennes testé.

Conclusion

L'huile d'olive est le produit méditerranéen par excellence. Elle est la principale source de matières grasses et d'autres composés chimiques mineurs qui sont connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine.

Ce travail permet d'évaluer les caractéristiques physico-chimiques de deux variétés, introduites dans la région de L'Outaya Biskra (sud-est d'Algérie).

Les résultats d'analyses physicochimique effectués sur les deux échantillons d'huile d'olive rejoignent les normes fixées par le COI relative à la catégorie des huiles d'olive vierge : un rendement élevé d'huile attend 50.3% pour la variété chemlal.

Les pourcentages d'acidité sont inférieurs ou égale ≤ 2 permettent de les classer dans la catégorie des huiles d'olive vierge (tabelout 1.55% ; chemlal 1.41%), et l'indice de peroxyde inférieures aux norme (≤ 20).

On obtient des taux faibles en phénols totaux (tabelout 48.35 ppm et chemlal 42.20 ppm) ces variations des teneurs en polyphénols peuvent être dues à la différence de degré de maturité des olives avant trituration.

Pour les résultats de l'évaluation du pouvoir antibactérien sur les souches pathogènes on constate que les trois souches testées sont sensibles aux deux variétés d'huile d'olive, qui est confirmé par plusieurs études.

Ces résultats restent partiels et d'autres travaux sont nécessaire ; soit une étude sur d'autres variétés avec une détermination de la teneur en acide gras présent dans l'huile d'olive.

Faire des études pour tester le pouvoir antibactérien, antifongique sur d'autres souches soit de l'huile pure ou testé leurs polyphénols.

Références bibliographiques

Abaza L, Msallem M. & Daoud D., 2002. -Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes, *Oléagineux Corps Gras Lipides*, Vol. 9, N°2, pp. 174-179.

About A., Aoun L., Bendimerad K., Boukerrou A., Kechich S., 2001. AntibioGramme en médecine vétérinaire. Standardisation de l'aromatogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. Algérie édition.

Aissaoui Y. 2016. Détermination des principes nutritionnels et fonctionnels de l'huile d'olive de la région ouest d'Algérie. Effets immunomodulateur et anti-inflammatoire chez le rat Wistar. Thèse de doctorat en sciences, université djillali liabes Sidi bel abbes, 186p

Alonso A, Ruiz-Gutierrez V. (2006) Monounsaturated fatty acids, olive oil and blood pressure, epidemiological, clinical and experimental evidence. *Public Health Nutr* 9 : 251- 257.

Andrewes P., Busch J., De Joode T., Groenewegen A. and Alexander H. 2003. Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside aglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1415-1420.

Angerosa F., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposto S., Montedoro G.F. 2004. Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *J. Chromatogr. A* 1054, pp. 17-31.

Antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .54, 4954-4961.

Assmann G. and Wahrburg U. (1999). Effets des composants mineurs de l'huile d'olive sur la santé. Institut de recherche sur l'athérosclérose, Université de Mûnstre, Allemagne, 1-8.

Aziz N.H., Farag S. E., Mousa L.A et Abo-Zaid M.A . (1998). Comparative antibacterial and antimicrobial effects of some phenolics compounds. *Microbios*. 93, 43-54.

Babu P.V.A., Liu D., Gilbert E.R. 2013. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24:1777–1789.

Baranowski J.D et Nagel C.W. (1982). Inhibition of *Pseudomonas fluorescens* by hydroxycinnamic acids and their alkyl esters. *Journal of Food Science* .47, 1587–1589.

Benabid H. 2009. Caractérisation de l'huile d'olive algérienne apports des méthodes chimiométriques. thèse de doctorat en sciences, université mentouri de constantine, p.139.

Benaziza A., Semad D. 2016. Oleiculture : Caractérisation De Six Variétés D'olives Introduites Dans Le Sud – Est Algerien: pp. 542-551.

Bendahou M., Benyoucef M., Benkada D., Soussa Elisa M.B.D., Galvao E.L., Marque M.M.O., Muselli A., Desjobert J.M., Bernardini A.F., Costa J. (2007). Influence of the processus extraction on essential oil of *Origanum glandulosum*. *Journal of applied sciences* 7(8): 1152-1157.

Bendjelali B., Tantaoui E.A., EsmailiAlaoui M. (1986). Méthodes d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes Médicinales et Phytothérapie* 20: 155-167.

Benlemlih M., Ghanam J. (2012) Polyphénols d'huile d'olive, trésors santé! Polyphénols aux actions antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, anti-vieillessement et protectrices cardio-vasculaires © marco pietteur, éditeur 130p.

Benmeddour T., Laouer H., Benabdi A.A., BRAHIMI S., évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de trois espèces du genre *Allium* : *A. cepa*, *fistulosum* et *sativum* cultivées dans le périmètre agricole de Doussen (wilaya de Biskra) .pp.09-14

Benmeddour, T., Laouar, H., benabdi, A. A., et al. Evaluation of antibacterial and antifungal activity of extracts from three species of the genus *Allium*: *A. cepa*, *fistulosum* and *sativum* grown in agricultural area of Doussen (wilaya de Biskra). *Courrier du Savoir*, 2015, vol. 19, p. 09-14.

Bennani H. 2007. Quel impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate, *Sciences* (7) p.2.

Benrachou N. 2013. Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, pp. 60-63.

Bensalem Gh. 2015. l'huile de lentisque (*Pistacia Lentiscus* L) dans l'est algérien : caractéristique physico chimique et composition en acides gras. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme Magister en Sciences Alimentaires, option de Technologies Alimentaires, Université Constantine 1, p. 80.

Bentemim S., Manai H., Methnni K. 2008. Sterolic composition of Chetoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chemistry* (10): 366-374.

Bergsson G., Steingrímsson O., H Thormar. (2002). Bactericidal effects of fatty acids And monoglycerides on *helicobacter pylori*. *International journal of antimicrobial agents*, 20(4) : 258–262.

Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccelle N. and Saija A. (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol, *Journal of Pharmacy*

Boskou D., Blekas G. and Tsimidou M. (2006). Olive oil composition In *olive oil: Chemistry and Technology*, Boskou, D., Ed. The American Oil Chemists' Society Press, pp 41-72.

Boskou D. 2009. Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil in *Olive oil: minor constituents and Health*. Ed. CRC press. pp 11-44.

Bouhadjera K. 2005. Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* et *Aristida pungens*. Thèse de Doctorat, université Abou bekr belkaid, Tlemcen (Algérie).

Bouquet A. 1972. Plante médicinale de Congo Brazzaville Ed : O.R.S.T.O.M., PP. 76 78.

Bouzenoune F., Boudersa F., Bensaad A., Harkat F. and Siad N. (2009). Les infections

Bravo L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56: 317-333.

Brenes M., Hidalgo F., Garcia A. (2000) Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, Two New Phenolic Compounds Identified in Olive Oil. *JAOCS* 77:715-720.

Brenes M., Medina E., Romero C et De Castro A. (2006). Antimicrobial activity of olive oil. *Agro Food industry hi-tech*. 18 (4), 6-8.

C.O.I. 2005. Norme commerciale applicable à l'huile d'Olive et à l'huile de grignons d'olive. COI /T. 15/NC n°2/Rev.10.

Canadanovic ., Brunet J ., Cetkovic G ., Djilas S ., Tumbas V ., Bogdanovic G ., Mandic A., Markov S ., Cvetkovic D et Canadanovic V. (2008). Radical scavenging, antibacterial, and Antiproliferative activities of *Melissa officinalis* L. Extracts. *Journal of Medicinal Food*. 11(1), 133-143.

Carvalho C. C. C. R ., et Caramujo M. J. (2008). Ancient procedures for the high-tech World: health benefits and antimicrobial compounds from the Mediterranean Empires. *The Open Biotechnology Journal* . 2, 235-246.

Casas-Sanchez J., Alsina M.A., Herrlein M.K. and Mestres C. 2007. Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. *Colloid & Polymer Science*, 285:1351-1360.

Charbonnier A. (1996) L'huile d'olive. Aliment-Santé-Coeur-Vaisseaux-Os-Digestion Editions Frison-Roche , 282p.

Charles Guy (2008) Asthme allergiques chez l'enfant et l'adolescent. Masson, Paris, 213.

Cicerale S., Lucas L. J and Keast R. S. J. (2010). Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. International Journal of Molecular Science, 11: 458-479.

Cicerale S., Lucas L.J et Keast R.S.J. (2011). Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. Current Opinion in Biotechnology.23, 1-7.

Cimaio A. 1990. La qualité de l'huile d'olive et facteurs agronomiques. Olivae, (31), Pp. 20-31.

Civantos L. 1998. The olive tree, the oil, the olive. International olive oil council, Espagne: 57p.

Conseil Oléicole International. 2015. COI/T.15 /NC n°3/Rév.8 Février 2015. Norme commerciale applicable aux huiles d'olives et huiles de grignons d'olives.

Covas M.I., De la Torre K. (2009) Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated by olive oil phenolic compounds in humans. Free Radic Biol Med, February 15; 40: P 608-16.

Cowan M. M.1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews,12(4): 564-582.

Denis O., Estelle B., Christian P., Sylvie S., Michel G., Jacques A.2002. Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges.p :2

Dilika F ., Bremner P.D et Meyer J.J.M . (2000). Antibacterial activity of linoleic and oleic acids isolated from *Helichrysum pedunculatum*: a plant used during circumcision rites. Fitoterapia. 71, 450-452.

Dohou N., Yamni K., Tahrouch S. 2003. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroides*. Bullin de la société de pharmacie, 142:61-78.

Dupin H., Cuq J. L. (1992) Alimentation et nutrition humaines. Éd: ESF, Paris, 887-900
Meta-analysis of 60 Controlled Trials. Am J Clin Nutr. 77: 1146-1155.

Dupont F., Guignard J.L., botanique systématique moléculaire, Edition ElsevierMasson.14e édition révisée, page 285, 2007.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST, 2010. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. www.eucast.org

Evangelisti F. Zunin P. Dacus olea infestation and its consequences on the phenolic compounds in virgin olive oil. Riv. Ital. Sostanze Grasse (1984), 71,507-511.

Faizi, S., Khan, R. A., Azher, S., Khan, S. A., Tauseef, S., & Ahmad, A. (2003). New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*. *Planta medica*, 69(04), 350-355.

Friedman M., Henika P.R. and Mandrell R.E. 2003. Antibacterial activities of phenolic benzaldehydes and benzoic acids against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enteric*. *Journal of Food Protection*, 66(10): 1811-1821.

Furneri P.M., Piperno A., Saija A. and Bisignano G. (2004). Antimicrobial activity of hydroxytyrosol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(12): 4892-4894.

Garrabé E., Cavallo J. D., Fabre R et Hernandez E. (1998). Antibiogramme par diffusion engélose : essai de standardisation de l'inoculum par la méthode « Presto ABG ® ». *Revue Française des Laboratoires*. 307, 65-69.

Gharby S., Harhar H., Kartah B., El Monfalouti H., Haddad A., Charrouf Z. 2011. Analyse chimique et sensorielle de l'huile d'argane. *Les technologies de laboratoire* 6 (22):23-28.

Gherib A. 2015. Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait d'*Olea europaea* var. *oleaster* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba .

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

Grati Kamoun N. 2007. Etude de la diversité génétique de l'olivier en Tunisie, Approche pomologique, chimique et moléculaire. Thèse de doctorat en sciences biologique, Institut de l'olivier, Faculté des sciences de Sfax, Université de Sfax. Pp. 68-70.

Harbone J.B. 1967. *Comparative biochemistry of flavonoids*, New York: Academic Press, p.1-130.

Haroun Y (2009) *Les miracles du Coran*, ED : IQRA, Paris, P410.

Hartmann T., Witte. L. 1995. Alkaloids: Chemical and biological perspectives, Ed.S.W.Pelletier 1995, 9(4), p.155.

Henry S. 2003. L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Thèse. université Henri-Poincaré-Nancy.pp. 9 -13.

Hollman P. C. H., Katan M. B. 1999. Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 37:937-942.

Isignano G., Tomaino A., Cascio R.L., Crisafi G., Uccella N .and Saija A .1999. On the In-vitro Antimicrobial Activity of Oleuropein and Hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and . Pharmacology*, 51: 971-974.

ISO 3960. 2001. Corps gras d'origines animale et végétale, détermination de L'indice de peroxyde.

ISO 659 – 1988 (E). Graines oléagineuses-détermination de la teneur en huile. Organisation internationale de normalisation.

ISO 660. 2003. Corps gras d'origines animale et végétale, détermination de L'indice d'acide et de l'acidité.

ISO 662. 1998. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles.

Kabara J. J ., S wieczkowski D. M ., Conley A. J et Truant J. P. (1972). Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrobial agents and chemotherapy* . 2(1), 23-28.

Kappel V., Costa GM., Scola G., Silva F.A., Landell M.F., Valente P., Souza D., Vanz D., Reginatto F et Moreira C.F.G. (2008). Phenolic content and antioxidant and antimicrobial Properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. *pendulum* at different maturity stages. *Journal of Medicinal Food*. 11(2), 267-274.

Karaosmanoglu H., Soyer F., Ozen B., et Tokatli F. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of Turkish extra virgin olive oils. *Journal of agricultural and food chemistry*.58 (14),8238-8245.

Karleskind A. et Wolff J.P. (1992). Manuel des corps gras. Ed : Tech et Doc. 1579p.

Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugbuaja V.O. 2004. Identification of active principes of *M.balsamina* (balsam Apple) leaf extract . *Journal of Medical Sciences* 4(3): 179-182.

Kataja. T. M., Sundell J.R. 2008. Effect of alpha-Tocopherol and beta-carotene supplementation on the incidence of type 2 diabetes., *Diabetologia*. Jan; 51(1): 47-53.

Kerboua M. 2003 .la production et la consommation d'huile d'olive à l'horizon 2010. *Olievea* 99, pp 56-58.

Kiritsakis A.K. 1993. La chimie de l'arôme de l'huile d'olive. *Olivae*, 45(2): 28-33. Ruiz-Gutierrez V., Juan M. E, Cert A., Planas J. M. (2000) Determination of hydroxytyrosol in plasma by HPLC. *Analytical Chemistry*. 72: 4458–4461.

Kyungmi M., Susan E. 2008. Flavonoïd effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology*, 46:96–104.

L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussnetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. *Phytomedicine* 11, 666–672

Labdaoui D.2017.impact socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases et possibilité de sa diffusion dans la région de Bouira (Algérie) Thèse de magistère, université de Mostghanem161p

Laincer .F.2017. Caractérisation et évaluation des activités biologiques de l'huile d'olive de variétés algériennes cultivées dans la région de Bejaia. Thèse de doctorat en sciences, université de Béjaia.

Laincer. F., R. Laribia., A. Tamendjaria., L. Arrarb., P. Rovellinic et S. Venturinic (2014). Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities ISSN-L: 0017-3495

Laribi R, Les composés phénoliques de quelques variétés de l'huile d'olive Algérienne : identification et propriétés, Thèse de doctorat, université de Bejaia, 2015.

Laribi R., Laincer F., Tamendjari A., Rovellini P., Venturini S., Keciri S et Arrar L. (2011). Caractérisation de dix variétés d'huile d'olive algérienne, étude du profil en composés phénoliques par HPLC. *La rivista italiana delle sostanze grasse*. 88, 161-171.

Marmesat S., Morales A., Velasco J., Ruiz-Méndez M. V. et Dobarganes M. C. (2009). Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation. *Grasas y Aceites*, (60) 2, 155-160.

McCalley, D. V. (2002). Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques. *Journal of chromatography A*, 967(1), 1-19.

Medina E., De Castro A., Romero C., et Brenes M. (2006). Comparison of the Concentrations of Phenolic Compounds in Olive Oils and Other Plant Oils: Correlation with Antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .54, 4954-4961.

Medina E., De Castro A., Romero C., et 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.

Medina E., Romero C., Brenes M., et de Castro A. (2007). Antimicrobial activity of olive oil, vinegar and various beverages against foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*. 70,1194-1199

Mensink R.P., Zock P.L., Kester A.D. (2003) Effects of Dietary Fatty Acids and Carbohydrates on the Ratio of Serum Total to HDL Cholesterol and on Serum Lipids and Apolipoproteins: A Meta-analysis of 60 Controlled Trials. *Am J Clin Nutr*. 77: 1146-1155.

Mohammedi Z., 2013 ; Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie, Thèse de Doctorat en Biologie, Univ. de Tlemcen. p:24-25

N. Ghedadba ., L. Hambaba ., A. Ayachi ., M. C. Aberkane ., H. Bousselsela ., S. M. Oueld-Mokhtar. 2015. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé .*Phytotherapie* :1-12.

Nath M., Sulaxna, Song X., Eng G., Kumar A., 2008. Synthesis and spectral studies of organotin (IV) 4-amino-3-alkyl-1,2,4-triazole-5-thionates: In vitro anti-microbial activity. *Spectrochimica Acta Part; A*; 70; 766-774.

Nehdi, I. A. (2013). *Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* seed oil: Chemical composition, physicochemical characteristics, and utilizations. *Industrial Crops and Products*, 41, 381-385.

Okmu D.E. 2005. Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *International Journal of Molecular Advance Sciences*.1(14): 375-381.

Ouattara B., Simard R. E., Holley R.A., P Piette G. J et Bégin v. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37:155–162.

Patel K., Achint J., Dinesh K. 2013. Medicinal significance, pharmacological activities, and analytical aspects of anthocyanidins 'delphinidin: A concise report. *Journal of Acute Disease*, pp. 169-178.

Pereira J. A., Andrade P. B., Seabra R. M. et Oliveira M. B. P.P. (2007) b. Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal oliveoils. *Food Chemistry*, 102: 976–983.

Perrin J.L. (1992). Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et recherche*, 4 : 25-31.

Perrin J.L. (1992). Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et recherche*, 4 : 25-31.

Ponce A.G., Fritz R., Delvalle C. et Roura S.I. (2003).Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft and Technologic* 36: 679-684.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., Bacq Colberg C-M., Dusart J., 2003. *Microbiologie*. 5e ed. De Boeck&Larcier s.a.: p 809.

Rahmoun M. N., 2009. Essai de tests biologiques (antibactériens/ antifongiques) de produits dérivés de la lawsone. Mémoire de magister, Université Abou-bakr Belkaïd, Tlemcen. p 36-40.

Rey J.F.G.S., 2010. Détermination des valeurs critiques pour l'antibiogramme vétérinaire par une approche de type Monte Carlo. Thèse (pour l'obtention du diplôme docteur vétérinaire). Université de Toulouse, France. p 16.

Romero C., Medina E., Vargas J., Brenes M. and De Castro A. 2007. In vitro activity of olive polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3): 680-686

Ruiz L.F., Rodriguez A.G. O., Fernandez M.H., Marquez A. J., Pozo P. L. D., Bernardino J. M., Ayuso T. R. and Ojeda M. U.1999. *Consejería de Agricultura y pesca*.2eme Ed. *Informaciones técnicas comunidad europea*. pp. 17-44

Ryan D., Antolovich M., Prenzler P., Robards K. and Lavee S. (2002). Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Horticulturae*, 92: 147-176.

Ryan D., Robardas K. and Lavee S. (1998). Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72 : 26-38.

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 Chemistry*, 73: 45-53.

Servilli M., Selvaggini R., Esposito 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.

Sévenet T., Tortora C. 1994. *Plantes, molécules et médicaments*. Nathan, CNRS Editions Paris, 119 p.

Shaghghi M.A., Harding S.V., Jones P.J.H. 2014. Water dispersible plant sterol formulation shows improved effect on lipid profile compared to plant sterol esters. *Journal of functional foods*, 6:280 –289.

Sheludko, Y., Gerasimenko, I., Kolshorn, H., & Stöckigt, J. (2002). New alkaloids of the sarpagine group from *Rauvolfia serpentina* hairy root culture. *Journal of natural products*, 65(7), 1006-1010.

Sohn, H. Y., Son, K. H., Kwon, C. S., Kwon, G. S., & Kang, S. S. (2004). Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. *Phytomedicine*, 11(7-8), 666-672.

Solfo R. 1973. Etude d'une plante médicinale *Malgach Baxus madagascariensis* Bail et ses variétés Ed : O.R.S.T.O.M, PP. 123-124.

Sun J., Yao J., Shaoxi H. S. 2009, Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanins extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.) A.C. Smith. *Food Chemistry*, 117:276–281.

Takuo O. 2005. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants, *Phytochemistry*, 66:2012–2031.

Tchiégang, C., Aissatou, K. (2004). Données ethno nutritionnelles et caractéristiques physico-chimiques des légumes-feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Tropicicultura*, 22(1), 11-18.

Terdazi W., Ait Yacine Z., Oussama A. 2010. Etude comparative de la stabilité de l'huile d'olive de la Picholine marocaine et de l'Arbéquine. *Olivae*, N° 113 pp. 22- 26

Tuck K.L et Hayball P.J. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13(11) : 636-644.

Tunçel G. and Nergiz C. (1993). Antimicrobial effect of some olive phenols in a laboratory medium. *Letters in Applied Microbiology*, 17: 300-302.

Uzzan A. 1992. Huile d'olive. In: Manuel des corps gras. Tome I.EI. Tec et Doc Lavoisier. Pp. 763-768.

Visioli F. and Galli C. (1998). Olive oil phenols and their potential effects on human health. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 4292-4296.

Weil A (2005) *Healthy Aging: A lifelong guide to your physical and spiritual well-being*. Éditions Knopf. New York, P 1-5.

Xu H-X., Lee S.F. 2001. Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria, *Phytotherapy Research*, 15: 39-43.

Zaidi- Yahiaoui R., Zaidi F .et Ait Bessai A .2008. Influence of gallic and tannic acids on enzymatic activity and growth of *Pectobacterium chrysanthemi* (*Dickeya chrysanthemi* bv *chrysanthemi*). *African Journal of Biotechnology*, 7:482-486.

Zheng C.J., Yoo J.S., Leeb T.G., Choc H.Y., Kim Y.H et Kima W.G. (2005). Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS Letters*, 579:5157–5162.

Annexe

Annexe 1

Tableau 7: Composition en acide gras d'une huile d'olive

Acides gras	Formule brute	Olivier et al(2003) (%)	Codex alimentarius (2003) (%)
Acide myristique	C ₁₄ :0	Traces	< 0,1
Acide palmitique	C ₁₆ :0	7,5-15,6	7,5-20
Acide palmitoléique	C ₁₆ :1 ω7	0,3-1,9	0,3-3,5
Acide margarique	C ₁₇ :0	< 0,3	< 0,5
Acide margaroléique	C ₁₇ :1 ω8	< 0,5	< 0,6
Acide stéarique	C ₁₈ :0	1,4-3,4	0,5-5
Acide oléique	C ₁₈ :1 ω9	60,9 - 82,1	55-83
Acide vaccinique	C ₁₈ :1 ω7	0,7-3,6	-
Acide linoléique	C ₁₈ :2 ω6	4,5-16,1	3,5-21
Acide α-linolénique	C ₁₈ :3 ω3	0,4-1,2	< 1,5
Acide arachidonique	C ₂₀ :0	0,3-0,5	< 0,8
Acide gadoléique	C ₂₀ :1 ω9	0,2-0,5	-
Acide béhénique	C ₂₂ :0	< 0,2	< 0,2
Acide lignocérique	C ₂₄ :0	< 0,1	< 1

Annexe 2

Les figures de différentes étapes d'extraction :



Figure 6 :Lavage (photo originale)



Figure 7: Malaxage Broyage (photo originale)



Figure 8: Broyage, Malaxage (photo originale)



Figure 9: Centrifigeuse (photo originale)



Figure 10 : Filtration d'huile (photo originale)

Annexe 3



Figure 11 : Résultats de l'étude phytochimique (v.chemelal)



Figure 12: Résultats de l'étude phytochimique (v.tabelout)

ملخص

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي النباتي، والخصائص الفيزيائية والكيميائية وتحديد كمية المركبات الفينولية من الزيوت، وكذلك تقييم القدرة المضادة ضد ثلاث سلالات بكتيرية ممرضة، وجود مواد فعالة مثل: التانينات، القلويدات، الأنتوسيانين والفلافونويدات، بالإضافة الى معدل الحموضة (1.41% للصنف شمال)، (1.55% للصنف تابلوت)، أيضا بالنسبة لمؤشر البيروكسيد المقدر ب (3.27/5.28)، مردود الزيت قيمته مقدر ب (48.8%/50.3%) للصنفين شمال وتابلوت على التوالي بالنسبة لكمية البوليفينول الكلي هي (48.35\42.20). يظهر تقييم القدرة المضادة للبكتيريا أن السلالات التي تم اختبارها حساسة لهذين النوعين.

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون، أصناف، الخصائص الفيزيوكيميائية، النشاط البكتيري، بوليفينول.

Résumés

Les résultats de l'analyse phytochimique, Les caractéristiques physico-chimiques et le dosage des composés phénolique d'huiles, ainsi que l'évaluation de pouvoir antibactérien vis à vis trois souches pathogènes ont montré l'existence des substances bioactives tels que : les tannins cathéchiques, les alcaloïdes, les anthocyanes et les flavonoïdes, ainsi que des teneurs en acidité de : (1.41% pour la variété chemlal, 1.55% pour la variété tabelout), l'indice de peroxyde avec des valeurs de : (5.82/ 3.27meq d'O₂/ kg d'huile) pour les deux variétés respectivement, un rendement de (50.3%, 48.2%) pour chemlal et tabelout. Les polyphénols totaux avec des valeurs (42.20 ppm, 48.35 ppm) pour chemlal et tabelout. L'évaluation du pouvoir antibactérien à montre que les souches testées sont sensibles à ces deux variétés.

Mots clés : Huile d'olive, Variétés, Caractéristiques physicochimiques, pouvoir antibactérienne, polyphénols.

Abstract

The results of the phytochemical analysis, the physicochemical characteristics and the determination of the phenolic compounds of oils, as well as the evaluation of antibacterial power vis-à-vis three pathogenic strains showed the existence of the bioactive substances such as: the tannins cathechics, alkaloids, anthocyanins and flavonoids, as well as acidity contents of: (1.41% for the chemlal variety, 1.55% for the tabelout variety), the peroxide value with values of: (5.82 / 3.27meq of O₂ / kg of oil) for the two varieties respectively, a yield of (50.3%, 48.2%) for chemlal and tabelout. Total polyphenols with values (42.20 ppm, 48.35 ppm) for chemlal and tabelout. The evaluation of the antibacterial power shows that the strains tested are sensitive to these two varieties.

Key words: Olive oil, Varieties, Physicochemical characteristics, antibacterial power, polyphenols.