



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université El chahid Hamma Lakhdar – El-Oued –
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie cellulaire et moléculaire



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention de diplôme de Master académique en science biologique

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Evaluation de quelques activités biologique de l'olivier
(Olea europaea)

Présenté par :

M^{elle} Bessaci Amna

M^{elle} Sareg Romaiassa

Soutenue le : 06/06/2024

Devant de jury composé de :

Président :	Djahra Ali Boutlelis	MCA
Examineur :	Khelef Yahia	MCB
Promotrice :	Boukhari Dalale	MAA

2023/2024



Remerciements

Nos sincères remerciements s'adressent

*À notre promotrice, madame **Boukhari dalale**, d'avoir
accepté de diriger ce travail*

*Aux membres du jury **Dr. Djahra Ali Boutlelis** et **Dr. Khelef
Yahia**, d'avoir évalué et critiquer ce travail.*

*Bien sûr, je n'oublierai pas de remercier tous toutes l'équipe
de laboratoire pour son généreux aide, particulièrement Sana.*

*Madame **Bouchra, Latifa, et Afaf** et tout le personnel du
laboratoire de département de biologie pour leur sollicitude,
encouragements et gentillesse.*



إهداء



((وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)):

الى الله قبل كل شيء الحمد لله لك كما ينبغي لوجهك وعظيم سلطانك.

من قال انا لها "نالها" لم تكن الرحلة قصيرة ولا ينبغي لها ان تكون لم يكن الحلم قريبا ولا الطريق كان محفوفًا بالتسهيلات لكني فعلتها و نلتها.

أهدي و بكل حب بحث تخرجي :

الى نفسي القوية التي تحملت كل العثرات و اكلت رغم الصعوبات.

ابي يا خير عون كان لي عند المحن الى الجدار الذي استند عليه في تعبتي وحزني الى الكتف الذي اضع عليه اثقالي الى عزيزي وحببي الذي احبه بقدر هذا العالم الى جنة الدنيا والآخرة ابي حبيبي (جموعي بالاساسي).

الى من تملك جنة تحت القدم الى ملاكي الطاهر وقوتي بعد الله داعمتي الاولى والابدية امي الغالية (بدره).

الى سندي المعنوي طيلة هذه الفترة الصعبة خطيبي (عمار).

الى من قال فيهم (سَنَسُدُّ عَضُدَكَ بِأَخِيكَ):

الى من تقاسمت معهم الأيام بحلوها ومرها منذ طفولتي (اخوتي و اخواتي) ادامهم الله.

إلى من رافقتني في دربي ومشوار بحثي هذا صديقتي الغالية رميصاء.

:الى صديقاتي التي تقاسمت معهم سنوات الدراسة و ابعدتني عنهم الايام

سميرة ،ندى،منى.

امنة



اهداء

بداية أشكر الله خالقنا الذي منحني القوة والإرادة والشجاعة لإنجاز هذا العمل المتواضع.

أهدي بكل حب مذكرة تخرجي إلى نفسي العظيمة التي تحملت كل العثرات وأكملت رغم الصعوبات . إلى أعظم أشخاص وأعز الناس على روعي ، داعمي الأول وسندي وملاذي بعد الله ، وفخري واعتزازي أبي الغالي حسين ، وأمي الغالية سعيدة .

إلى من أكرمني الله بوجودهم في حياتي، إلى إخواني وأخواتي الذين ساندوني في طريق بحثي. إلى من رافقتني في طريق النجاح في رحلتنا العلمية شريكتي أمنة. إلى أصدقائي الذي فرقنا المسافات وبقوا في قلبي (حفيظة ، بثينة، أمنة،جهينة) وكل أصدقائي في الدراسة، ثم إلى أي طالب يسعى بعلمه لخدمة الإسلام والمسلمين بكل ما وهبه الله له من علم ومعرفة. إلى أساتذتي بلا استثناء.

وأخيراً إلى كل من ساعدني وكان له دور بشكل مباشر أو غير مباشر في إنجاز هذه الدراسة، سائلاً الله أن يجزي الجميع خير الجزاء في الدنيا والآخرة.

رميصاء



Résumé

L'olivier est considéré comme un des arbres qui font l'objet de nombreuses expériences et études en raison de ses propriétés médicinales, pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires, notamment parce que ses feuilles contiennent des propriétés bénéfiques pour la santé humaine. Dans la présente étude on a réalisé une extraction des métabolites secondaires à partir des en utilisant l'eau distillée une fois et un mélange eau/méthanol une autre 30/70 v/v. Nous avons obtenu un rendement de 20.9 % pour l'extrait méthanolique et 10.095 % pour l'extrait aqueux. L'examen phytochimique qualitatif réalisé sur les extraits a montré la présence des flavonoïdes, des tanins et des poly phénols dans les deux, tandis que l'extrait aqueux contient des saponines et l'extrait méthanolique contient les terpenoïdes. L'analyse quantitative des poly phénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés des extraits a indiqué des teneurs importants dans les deux extraits. L'extrait méthanolique est plus riche en poly phénols totaux ($99,96 \pm 0.007 \text{ mg/gMS}$), suivi de l'extrait aqueux ($62,69 \pm 0.092 \text{ mg/g MS}$). L'extrait aqueux est le plus riche en flavonoïdes ($30,43 \pm 0.002 \text{ mg/g MS}$), suivi de l'extrait méthanolique ($23,37 \pm 0.001 \text{ mg/gMS}$). Tandis que les teneurs en tanin condensée sont proche avec ($1.47 \pm 0.003 \text{ mg/g MS}$) et ($1.5 \pm 0.003 \text{ mg/g MS}$) dans l'extraits méthanolique et aqueux successivement. Le pouvoir antioxydant a été évalué par réduction du fer (FRAP). L'activité antioxydant a ensuite été comparée à celle de l'acide ascorbique. L'extrait méthanolique a montré l'activité antioxydant la plus élevée, surpassant l'extrait aqueux et l'acide ascorbique. De plus, l'extrait méthanolique a montré une activité inhibitrice significative contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. En revanche, l'extrait aqueux n'a montré aucune activité inhibitrice contre ces bactéries, mais il a montré une activité antibactérienne plus élevée contre *Pseudomonas aeruginosa*. Aucun des extraits à différentes concentrations, n'a montré d'activité inhibitrice contre le *Candida albicans*.

Mots clés : Olivier, extraction, métabolites secondaires, effet biologique.

المخلص

تعتبر شجرة الزيتون من أشهر الأشجار التي خضعت للعديد من التجارب والدراسات نظرا لخصائصها الطبية والصيدلانية والتجميلية والغذائية، بفضل احتواء أوراقه على خصائص مفيدة لصحة الإنسان. قمنا في دراستنا هاته باستخلاص المركبات الثانوية من أوراق الزيتون باستعمال الماء المقطر مرة وخليط الماء/الميثانول (70/30 حجم/حجم) مرة أخرى. تحصلنا على مردود (20.9%) للمستخلص الكحولي و(10.095%) للمستخلص المائي أظهر الفحص الكيميائي النباتي النوعي الذي تم إجراؤه على المستخلصات المتحصل عليها وجود مركبات الفلافونويد والتانينات والبوليفينولي المستخلصين، بينما ينفرد المستخلص المائي بالسابونينوالمستخلص الكحولي بالتاربيينويد. في حين لاحظنا غياب القلويدات في كلا المستخلصين. أظهر التحليل الكمي للبوليفينول الكلي والفلافونويدات الكلية والتانينات المكثفة للمستخلصات محتويات كبيرة. من إجمالي البوليفينول وجد أن المستخلص الميثانولي هو الأغنى في إجمالي البوليفينول $99.96 \pm 0.007 \text{mg/gMS}$ ، يليه المستخلص المائي $62.690.092 \text{ mg/gMS} \pm$. وجد أن المستخلص المائي هو الأكثر ثراءً بالفلافونويدات $\pm 30.430.002 \text{mg/gMS}$ ، يليه المستخلص الميثانولي $\pm 23.37 0.001 \text{mg/gMS}$. والتانينات المكثفة وجدنا قيم متقاربة في المستخلصين حيث المستخلص الميثانولي $\pm 1.470.003 \text{ mg/gMS}$ والمستخلص المائي $\pm 1.560.003 \text{mg/gMS}$. تم تقييم قوة مضادات الأكسدة عن طريق اختزال الحديد (FRAP). ثم تمت مقارنة النشاط المضاد للأكسدة مع حمض الأسكوربيك، بين مستخلصات أوراق الزيتون، أظهر مستخلص الماء الميثانول أعلى نشاط مضاد للأكسدة، متجاوزا المستخلص المائي وحمض الأسكوربيك. بالإضافة إلى ذلك، أظهر المستخلص الميثانولي نشاطا مثبطا كبيرا. ضد *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* . في المقابل، لم يظهر المستخلص المائي أي نشاط تثبيطي ضد هذه البكتيريا، لكنه أظهر نشاط مضاد للبكتيريا أعلى ضد *Pseudomonas aeruginosa* . لم يظهر أي من المستخلصين بتركيزات مختلفة نشاط مثبط ضد *Candida Albicans* .

الكلمات المفتاحية: شجرة الزيتون، المركبات الثانوية، الاستخلاص ، التأثير البيولوجي .

Abstract

The olive tree is considered one of the most famous trees that had been the subject of many experiments and studies due to its medicinal, pharmaceutical, cosmetic, and food properties because its leaves contain beneficial properties for human health. The olive leaves were subjected to extraction in distilled water and a water/ methanol mixture (30/70 v/v). The extraction yields were 20.9% for the methanolic extract and 10.095% for the water extract. Qualitative phytochemical examination relised on these extracts revealed the presence of flavonoids, tannins, and polyphonols. The aqueous extract is characterized by the presence of saponins. While, the terpenoids where present in the methanolic extract. On another hand the alkaloids were absent in both extracts. Quantitative analysis of total polyphenols, total flavonoids and condensed tannins of the extracts indicated that the methanolic extract was found to be the richest in total polyphenols ($99.96 \pm 0.007\text{mg/ gMS}$). While the aqueous extract contains($62.69 \pm 0.092\text{mg/ gMS}$). The aqueous extract was found to be the richest in flavonoids ($30.43 \pm 0.002\text{mg/ gMS}$), followed by the methanolic extract ($23.37 \pm 0.001\text{mg/ gMS}$). The tannins were present in similar quantities for both extract; ($1.47 \pm 0.003\text{mg/gMS}$) and ($1.56 \pm 0.003\text{mg/gMS}$) for methanolic and aqueous extracts successively. The antioxidant activity was evaluated by iron reduction (FRAP). The antioxidant activity was then compared with that of ascorbic acid. Among the olive leaf extracts, the methanolic extract showed the highest antioxidant activity, surpassing the aqueous extract and ascorbic acid. The methanolic extract showed important inhibitory activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. In contrast, the aqueous extract showed no inhibitory activity against these bacteria, but it showed higherantibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. None of the methanolic and aqueous extracts, at different concentrations, showed inhibitory activity against *Candida albicane*.

Key words:

Olive tree, extraction, secondary metabolits, effet biologique.

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Principaux radicaux libres et leurs structures chimiques	10
Tableau 02	Structure des squelettes des poly-phénols.	19
Tableau 03	Résultats obtenues pur chaque extraits.	35
Tableau 04	Résultats des tests phytochimiques.	36
Tableau 05	Résultats des tests antibactériens de l'extrait aqueux	44
Tableau 06	Résultats des tests antibactériens de l'extrais.	44

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Arbre d'olivier.	04
Figure 02	Les feuilles d'olivier.	07
Figure 03	Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants	09
Figure 04	Vitamine C (acide ascorbique).	12
Figure 05	Deux exemples de structure des caroténoïdes.	13
Figure 06	Structure de base des poly phénols	13
Figure 07	La structure de base des tannins condensés.	18
Figure 08	Structure de base de Tannin hydrolysable.	21
Figure 09	Structure de base des flavonoïdes.	21
Figure 10	Exemple d'alcaloïde la morphine.	22
Figure 11	La poudre de la feuille d'olivier.	24
Figure 12	Protocole d'extraction des composés phénoliques.	27
Figure 13	Les étapes de méthode de diffusion en Agar (Méthode des puits).	28
Figure 14	Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique pour le dosage des poly phénols totaux (PPT).	33
Figure 15	Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins condensés (TC).	37
Figure 16	Teneurs en poly phénols totaux, flavonoïdes et tannins des deux extraits aqueux et extraits méthanoïques.	37
Figure 17	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	38
Figure 18	Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins des deux extraits E et M/E.	38
Figure 19	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test de FRAP.	41
Figure 20	Test de réduction du fer.	42

Liste des abréviations :

A : Absorbance.

AG : Acide gallique.

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium.

C₁₅H₁₀O₇ : Quercitrine d'hydraté.

CHCl₃ : Chloroforme.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

E. coli : Escherichia coli.

FeCl₃ : Chlorure Ferrique.

FRAP : Ferric ion Reducing antioxidant power.

FVT : flavonoïdes totaux.

H : heure.

H₂O : Eau distillée.

H₂O₂: Eau oxygène.

H₂SO₄ : Acide Sulfurique.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

Kg : Kilogramme.

M écha: Masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

Mext: Masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

Mg EAG/gMS : milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

Mg : Magnésium.

Mg ECA/gMS : milligramme équivalent catéchine par gramme de matière sèche.

Mg QE/gMS : milligramme équivalent quercitrine par gramme de matière sèche.

Min : minute.

Mm : millimètre.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

PPT : phénoliques: poly phénols totaux.

R% : rendement.

TC : tannins condensés.

V/V : volume/ volume.

μl : Microlitre.

% : Pourcentage.

°C : degré Celsius.

Table de matière

Remerciements

Dédicace

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I : L'olivier et les feuilles d'olivier

1. Historique sur l'olivier.....	03
2. Définition d'olivier.....	03
3. Description botanique.....	04
3.1. Les organes aériens.....	04
3.1.1. Le tronc.....	04
3.1.2. Les charpentières.....	04
3.1.3. Les rameaux.....	04
3.1.4. Les feuilles.....	05
3.1.5. Les fleurs.....	05
3.1.6. Les fruits.....	05
3.2. Le système racinaire.....	05
4. Classification botanique.....	05
5. Répartition géographique de l'olivier en Algérie.....	06
6. Les feuilles d'olivier.....	06
6.1. Composition chimique des feuilles.....	07
6.2. Domaines d'utilisations des feuilles d'olivier.....	07
6.2.1. Domaine de l'alimentation animale.....	07
6.2.2. Domaine thérapeutique.....	08
6.2.3. Domaine pharmaceutique.....	08
6.2.4. Domaine cosmétologique.....	08
6.2.5. Industries Alimentaires.....	08

6.2.6. Utilisations traditionnelles des feuilles.....	08
---	----

Chapitre II : Les activités biologiques

1. Les activités antioxydants.....	09
1.1.Stress oxydante.....	09
1.1.1. Définition.....	09
1.1.2. Conséquence des stress oxydante.....	09
1.2. Radicaux libres.....	10
1.2.1. Définition:.....	10
1.2.2. Production des radicaux libres.....	10
1.3. Les antioxydants.....	11
1.3.1. Définition	11
1.3.2. Types des antioxydants.....	11
1.3.2.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques).....	11
1.3.2.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques).....	12
1.3.3. Mécanismes d'action des antioxydants.....	14
1.3.3.1. Système de défense primaire.....	14
1.3.3.2. Système de défense secondaire.....	14
2. Activité antibactérienne:.....	14
2.1.Les souches bactériennes.....	15
2.1.1. <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	15
2.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	15
2.1.3. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25932	15
2.1.4. <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 25973.....	15
3. Activité antifongique.....	16
3.1. Les souches fongiques.....	16
4. Antibiotiques.....	17

Chapitre III : Les principaux métabolites secondaires.

1. Les composés phénoliques.....	18
1.1. Généralité sur les composés phénolique	18
1.2. Classification des composés phénoliques.....	18
1.2.1. Les acides phénoliques.....	18
1.2.1.1. Acides hydroxy benzoïques.....	20
1.2.1.2. Acides hydroxy cinnamiques.....	20

1.2.2. Tanins.....	20
1.2.2.1. Les tanins condensés.....	20
1.2.2.2. Les tanins hydrolysables.....	21
1.2.3. Flavonoïdes.....	21
1.2.4. Quinones.....	22
1.3. Biosynthèse des composés phénoliques.....	22
1.3.1. La voie de Shiki mate.....	23
1.3.2. La voie d'acétate.....	23
1.4. Rôle et intérêt des composés phénoliques Chez l humains.....	23
2. Alcaloïdes.....	23

Partie expérimentale.

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Présentation de la région d'étude.....	25
1.1. Situation géographique de la wilaya al –Mughayir.....	25
2. Matériel.....	25
2.1. Matériel biologique.....	25
2.1.1. La plante.....	25
2.1.2. Les souches utilisées.....	25
2.2. Matériel technique d'étude au laboratoire.....	25
2.2.1. Les produits et réactifs.....	25
2.2.2. verreies et petits matériels.....	26
2.2.3. Appareillage.....	26
3. Méthodes.....	27
3.1. Préparation du matériel végétal.....	27
3.1.1. Séchage et conservation.....	27
3.1.2. Broyage et tamisage.....	27
3.2. Préparation des extraits.....	27
3.3. Rendement d'extraction.....	28
3.4. Analyses qualitatives.....	28
3.4.1. Screening phytochimique.....	28
3.4.1.1. Test de flavonoïdes.....	29
3.4.1.2. Test de tannins.....	29
3.4.1.3. Test des alcaloïdes.....	29

3.4.1.4. Test des sucres réducteurs.....	29
3.4.1.5. Test des polyphénols.....	29
3.4.1.6. Test des Terpénoïdes.....	30
3.4.1.7. Test des saponosides.....	30
3.5. Dosage des composées phénoliques par la méthode colorimétrique «Analyse quantitative ».....	30
3.5.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT).....	30
3.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT).....	31
3.5.3. Dosage des tanins condensés (CT).....	31
3.6. Evaluation de l'activité anti oxydante.....	32
3.6.1. Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP).....	32
3.7. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	32
3.7.1. Méthode de diffusion en Agar (Méthode des puits).....	32

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	35
2. Screening phytochimique.....	35
3. Dosage des composées phénoliques.....	37
3.1.La teneur en polyphénols totaux PPT.....	38
3.2.La teneur en flavonoïdes totaux FVT.....	39
3.3.La teneur en tanines condensés TC.....	40
4. Evaluation de l'activité antioxydante	40
5. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	42
5.1.Antibiotiques Témoins (ATB-G).....	43
6. Evaluation d'activité antibactérienne et antifongique.....	43

Conclusion

Références

Introduction générale

Introduction

L'olivier (*Olea europaea. L*) constitue une substance fruitière principale, dans le bassin Méditerranéen, tant par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental. **(Gomes et al. 2012).**

Les sous-produits dérivés des oliviers et des extractions d'huile d'olive sont généralement appelés « sous-produits d'olive » **(ÖzcanMatthäuset al. 2017)**. Un nombre élevé de sous-produits et de résidus dérivés de la culture de l'olivier et de l'industrie de la transformation d'olivier sont obtenus chaque année et la plupart d'entre eux n'ont pas d'applications pratiques. Les feuilles d'olive, l'un de ces sous-produits, se trouvent en grande quantité dans les industries de l'huile d'olive. Les feuilles représentent 10 % du poids des olives récoltées pour l'extraction d'huile. En outre, ils s'accumulent également en grands volumes dans les fermes lors de l'égavage des arbres **(BotsoglouGovariset al. 2010)**.

On estime que l'égavage produit 25 kg de sous-produits (brindilles et feuilles) par arbre chaque année. Les feuilles d'olive sont généralement brûlées ou broyées avec le reste des produits d'égavage d'oliviers, c'est-à-dire des branches **(Romero-García Niño et al., 2014)** et sont ensuite jetées directement comme sous-produits, causant potentiellement des dommages environnementaux et gaspillant une ressource **(Xie Huang et al., 2015)**.

Par conséquent, la valorisation de ce sous-produit est nécessaire puisque, dans de nombreux cas, les sous-produits gaspillés peuvent produire un contenu similaire, voire plus élevé, de composés bioactifs que le produit final **(Ayala-Zavala Vega-Vega et al., 2011)**. Par conséquent, ces composés bioactifs peuvent être utilisés comme une source importante pour produire des nutraceutiques ou être inclus dans les aliments fonctionnels grâce à leurs avantages potentiels pour la santé.

Des extraits de feuilles d'olive ont été récemment commercialisés comme produits diététiques. Des produits commerciaux sous forme de tisanes ou de compléments alimentaires sont disponibles dans le monde entier, sous forme de feuilles séchées complètes, de poudre, d'extraits ou de comprimés **(Tsimidou et Papoti, 2010)**. Il a été démontré que l'encapsulation d'extraits de feuilles d'olive à l'aide de la cyclodextrine augmente la solubilité aqueuse des résidus polyphénoliques de la feuille d'olive **(Mourtzinis et al., 2007)**.

Les feuilles d'olivier ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays Européens et Méditerranéens pour leurs composés bioactifs, telle que les composés phénoliques actifs non transformés comme l'Oléuropeine, l'hydroxytyrosol et d'autres flavonoïdes qui ont été identifiés (**Armutcuet *al.* 2011**).

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet de type d'extraction sur, la qualité la quantité en métabolites secondaires, ainsi que le pouvoir antimicrobien et antioxydant des extraits.

Le présent travail est constitué de deux parties, une théorique comporte une recherche sur la plante étudiée, les métabolites secondaires, l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante. Ainsi qu'une partie expérimentale constitue des matériels et méthodes utilisées, les analyses qualitatives et quantitatives de quelques molécules bioactives des extraits différents. Aussi que l'évaluation de ses activités antimicrobienne et antioxydante.



**Partie
bibliographique**

Chapitre I :
Olivier et feuilles d'olivier

1. Historique sur l'olivier:

L'olivier est l'un des arbres développés les plus établis de la planète. Le début de l'olivier a fait l'objet de nombreuses discussions. Des fossiles datant de l'époque tertiaire (il y a assez longtemps) ont démontré la présence d'un ancêtre de l'olivier en Italie des fossiles de feuilles d'olivier ont été trouvés dans les magasins pliocènes de Mongardino (Italie), restes fossilisés dans les couches du Paléolithique supérieur du Nord L'Afrique, morceaux d'oléastres et centres de fouilles néolithiques en Espagne (AGGOUN-ARHAB, 2016). Il paraît certain que l'olivier a existé assez longtemps dans la localité qui concerne l'ancienne Perse et la Mésopotamie, puis son développement s'est répandu dans la "faucille mûre", région enveloppant l'Égypte, la Syrie, la Palestine et la Phénicie. La toile de fond historique de l'olivier converge avec celle des civilisations nées autour du bassin méditerranéen (AGGOUN-ARHAB, 2016).

Le développement de l'olivier le long de la Méditerranée remonte au quatrième millénaire avant notre ère. L'olivier a été présenté au XVI^e siècle dans quelques communes (LAHOUZI et MADANI, 2017).

En Islam, l'olivier symbolise la présence du prophète. Grâce à cet arbre béni, l'humanité dispose de la lumière que fait naître la lampe à huile, cette lueur divine qui rapproche les hommes d'Allah. On y retrouve cette évocation dans la vingt-quatrième sourate du Coran, verset 35 : «Allah est la lumière des cieux et de la terre. Sa lumière est semblable à celle d'une lampe allumée grâce à un arbre béni, un olivier dont l'huile éclairerait même si nul feu ne le touchait.» (Henry, 2003).

2. Définition de l'olivier:

L'olivier est un arbre de la famille des oléacées moyennement trapu de 2 mètres parfois très large et de plusieurs mètres de circonférence, se divise assez bas en de grosses branches tortueuses. Il présente des rameaux fins parfois épineux. Les troncs se déforment et forment de magnifiques sculptures naturelles. Toutes les parties de l'olivier sont utilisées, et cela depuis la plus haute Antiquité. Le bois, jaune à brun clair, joliment veiné et marbré, très dur, lourd et homogène permet le façonnage d'objets traditionnels (André belot ,et al 2004) (Figure01).



Figure 01: Arbre d'olivier (photo original).

3. Description botanique:

3.1. Les organes aériens:

3.1.1. Le tronc:

Selon **Beck et Danks (1983)** le tronc est jaunâtre puis passe à la brune très claire. Il est très dur, compacte, court, trapu (jusqu'à 2m de diamètre), et port des branches assez grosses, tortueuses, et lisse.

3.1.2. Les charpentières:

Ce sont de grosses branches destinées à former la charpente de l'arbre. C'est elle Les principaux charpentiers ou branches mères qui prennent leur origine sur le tronc. (**Lossert W. Bush, 1978**).

3.1.3. Les rameaux:

Ils sont de couleur grise verdâtre, leur croissance s'est poursuivie tout au long du printemps et de l'automne. Mesurant quelques dizaines de cm, ils portent des fleurs puis des fruits (**Loussert et Brousse, 1978 ; Boukhezna, 2008**).

3.1.4. Les feuilles :

Mesurant de 3 à 8 cm,elles sont persistantes presque opposées et allongées de couleur glauque un peu sombre au-dessus et blanc argenté en dessous. Elles sont portées par un court pétiole (**Andrébelotet al,2004**).

3.1.5.Les fleurs:

Les fleurs d'olivier sont groupées en inflorescence comportant un nombre de fleurs, variables d'un cultivar à un autre de 10 à plus de 40 par grappe en moyenne. Les fleurs individuelles peuvent être hermaphrodites ou staminées (**Loussert et Brousse, 1978**).

3.1.6.Les fruits :

La période de la mise à fruit s'étale d'octobre à novembre les fruits sont ovoïdes gros (1,5 à 2 cm), longtemps verts, puis noirs à complète maturité (**Rol et Jacamon, 1988**).la partie charnue où pulpe qui est comestible à plein maturité, c'est elle qui contient l'huile de 15% à 25% en poids selon les variétés(**Max lambert ,2004**).

3.2. Le Système racinaire:

L'olivier possède un système racinaire fasciculé très puissant, généralement situé sous le tronc dans une profondeur de 50 à 70 cm. Des rejets, assureront la pérennité de l'arbre (**Argenson et al., 1999**).

A noter que dans les sols sablonneux, les racines se développent jusqu'à 6 m de profondeur(**Civantos, 1998**).

4. classifications botaniques:

La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon (**Guignard, 2004**) :

Règne : Plantae

Embranchement:Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe: Eu dicotylédones

Sous classe : Astéridées

Ordre: Lamiales

Famille : Oléacées

Genre : *Olea*

Espèce: *Olea europaea*

L'olivier cultivé ou *Olea sativa* :Arbre à rameaux cylindriques, avec de grandes variations dans le feuillage et la taille des fruits suivant les variétés. L'olivier sauvage ou *Olea silvestris* (ou *Olea Oleaster* appelé Oléastre), arbrisseau à rameaux quadrangulaires et épineux, à petites feuilles courtes et petits fruits(**Georgese J. Aillaud,1985**).

5. Répartition géographique de l'olivier en Algérie:

L'Algérie est l'une des nations hyper méditerranéennes dont l'environnement est propice au développement de l'olivier où il est l'une des principales espèces de produits bio au niveau public (**Meziani et Chachoua, 2018**).

L'oléiculture algérienne est constituée d'environ 32 millions d'arbres (**Bensemmane, 2009 ;Mendil, 2009**), répartie sur une superficie d'environ 328.884 hectares (**FAOSTAT, 2013**), soit 34,09% du verger arboricole national.

La majorité des surfaces oléicoles se localisent dans des régions de montagne et les collines recouvrant une surface de 195 000 hectares (**Khoumeri, 2009**), ainsi que dans les plaines occidentales Cette superficie a bien nettement augmenté par la mise en place d'un programme national pour le développement de l'oléiculture intensive dans les zones steppiques, présahariennes et sahariennes (Msila, Biskra, Ghardaïa...) en vue d'augmenter les productions et de minimiser les importations.

6. Les feuilles d'olivier:

Les feuilles d'olivier (10 % du poids total des olives), et liquide telque la margine, Les quantités des produits de la taille ont été estimées à 25 kg de feuille et brindilles (**Nefzaoui, 1991**) (Figure02).



Figure 02: Les feuilles d'olivier (photo originale)

6.1.Composition chimique des feuilles:

La composition chimique des feuilles d'olivier varie en fonction de nombreux facteurs : la variété, Les conditions climatiques, de l'âge des plantations ainsi que l'époque de récolte(Nefzaoui, 1995).

Les feuilles d'olivier vertes sont caractérisées par une matière sèche qui se situe autour de 50 à 58%, celle des feuilles sèches autour de 90% (Hassina *et al.*, 2020).La teneur en matières azotées totales (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%. La teneur en matières grasses (MG) 5 à 7%, mais celle des constituants pariétaux et en particulier de la lignine est constamment élevée (18 à 20%) (Civantos, 1983).

Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines, des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tel que cellulose,hémicelluloses).

6.2.Domains d'utilisations des feuilles d'olivier:

6.2.1. Domaine de l'alimentation animale:

Les feuilles sont utilisées dans l'alimentation des moutons et chèvres (Delgado-Pertinez *et al.*, 2000). Elles sont également utilisées dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes (Botsoglouet *et al.*, 2010).

6.2.2. Domaine thérapeutique:

La consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé (**Giaoet al., 2007**). Les feuilles d'olivier ont un pouvoir anti- inflammatoire, antifongique et antimicrobien (**Talhaouiet al., 2015**).

6.2.3. Domaine pharmaceutique:

La valorisation concerne l'extraction des tocophérols et de l'*oleaeuropéine*, ainsi que la production de l'hydroxytyrosol(**De Lucas et al., 2002 ; Bouaziz et Sayadi, 2003**).D'autres substances extraite des feuilles d'oliviers sont également aussi valorisée, tels que les flavonoïdes (**Yuhonget al., 2006**), les stérols et les alcools gras (**Orozco-Solanoet al., 2010**).

6.2.4. Domaine cosmétologique:

Les feuilles sont utilisées dans la formulation des produits cosmétiques, tel que les savons, les crèmes (**Tadashi, 2006**).

6.2.5. Industries Alimentaires:

Les feuilles peuvent être utilisées comme ingrédients dans la formulation d'aliments pour les hyper-glycémiques (**KOMAKI, 2003**). Stabilisant de l'huile de tournesol (**FARAG et al. 2007**), et de l'huile d'olive (**BOUAZIZ et al., 2008**).

6.2.6. Utilisations traditionnelles des feuilles:

Les feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres (**Karakaya, 2009**).

Les feuilles d'olivier sont diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle modérée. L'extrait de feuilles est utilisé comme adjuvant dans les formes légères de diabète (**Ghedira,2008**).

Les feuilles aussi, ont été largement utilisées en tant que remède pour le traitement de la fièvre (**Lee et al., 2009**). L'étude réalisée par (**Jemalet al., 2008**) montre que l'extrait de feuille d'olivier diminue le taux de TSH sanguin avec une augmentation de la t3, probablement due à une stimulation de l'enzyme qui convertit la T4 en T3.

Les feuilles possèdent également des propriétés antimicrobiennes (**Pereira et al., 2007**) contre certains microorganismes tels que les bactéries, les champignons et les mycoplasmes (**Ghanbariet al., 2012**).

Chapitre II :
Activités biologiques

Les extraits de plantes contiennent une large gamme de composés chimiques végétaux qui jouent des rôles multiples dans les plantes. Bien que les rôles physiologiques exacts de ces extraits restent à déterminer, la diversité moléculaire des métabolites qu'ils renferment leur confère une grande variété de rôles et de propriétés biologiques.

1. Les activités antioxydants:

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser les radicaux libres, qui sont des molécules hautement réactives pouvant causer des dommages cellulaires. Les radicaux libres sont produits naturellement dans notre corps lors du processus de métabolisme, mais leur accumulation excessive peut entraîner un stress oxydatif, qui est associé à diverses maladies.

L'activité antioxydant réelle découverte dans les olives est *l'oleaeuropéine*, qui permet de réduire l'oxydation du cholestérol LDL et de protéger les fibres nerveuses contre les dommages causés par l'oxygène. Le LDL oxydé est la forme la plus nocive du cholestérol et peut commencer à endommager les tissus des vaisseaux sanguins, favorisant ainsi la formation d'athérosclérose. (CHIMI *et al.*, 1995).

1.1. Stress oxydante:

1.1.1. Définition:

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la production de radicaux libres ou de substances pro-oxydantes et les systèmes de défense antioxydants de l'organisme. Les radicaux libres sont des molécules très réactives contenant un électron non apparié, ce qui les rend instables. En raison de cette instabilité, ils peuvent réagir avec d'autres molécules à l'intérieur des cellules, endommageant les lipides, les protéines, les acides nucléiques et d'autres composants cellulaire. (Gammoudiet *al.*, 2013). L'exposition chronique au stress oxydatif, par exemple, peut favoriser l'apparition de cancers, de maladies vasculaires et de maladies cardiaques.(Figure03) (Favier, 2006 ; Nkhili, 2009).

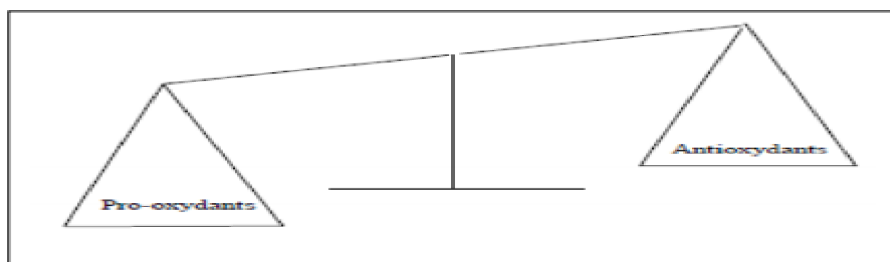


Figure03: Déséquilibre de la balance entre antioxydant setpro-oxydants (Favier, 2003).

1.1.2. Conséquence des stress oxydante:

Le stress oxydatif peut causer des dommages aux structures cellulaires, à l'AND, aux lipides et aux protéines en raison de la présence de concentrations élevées de types d'oxygène

réactifs (Valko *et al.*, 2006). Le stress oxydatif est considéré comme la principale cause de nombreuses maladies chroniques telles que le cancer, le syndrome de détresse respiratoire aiguë, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré, et ainsi de suite. Il est également l'un des facteurs qui favorisent l'apparition de maladies multifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, l'arthrite et les maladies cardiovasculaires. (Favier, 2003).

1.2. Radicaux libres:

1.2.1. Définition:

Les radicaux libres sont des espèces chimiques hautement réactives qui contiennent un ou plusieurs électrons célibataires. Leur réactivité provient de leur recherche d'électrons pour atteindre une configuration électronique plus stable. Les réactions des radicaux libres peuvent causer des dommages dans les tissus vivants, mais les antioxydants peuvent les neutraliser en leur donnant un électron. (Tableau 01) (Goudable, J. & Favier, A. 1997).

Tableau 01: Principaux radicaux libres et leur structure chimique (Haton, 2005).

Radicaux libres (nomenclature)	Structure chimique
Radical hydroxyle	OH^*
Radical hydroperoxyde	HOO^*
Radical peroxyde	ROO^*
Radical alkoxyde	RO^*
Peroxyde d'hydrogène*	H_2O_2
Peroxynitrite	ONOO^*
Anion superoxyde	O_2^*

* : Espèce active de l'oxygène non-radicalaire

1.2.2. Production des radicaux libres:

La production d'espèces oxydantes est le résultat inévitable du processus métabolique aérobie. En réalité, le corps a besoin d'oxygène (O_2) pour produire de l'énergie lors des réactions connues sous le nom de respiration oxydative. Cependant, une petite quantité d'oxygène s'échappe de sa réduction dans l'eau au niveau des mitochondries, et peut ainsi être une source de production de radicaux libres oxydants. (Chu *et al.*, 2010). Les autres sources de production de radicaux libres peuvent être classées en deux catégories principales : les sources internes ou RL, qui sont des produits résultant des réactions dans le corps, et les sources externes telles que

le tabagisme, l'exposition aux rayons ultraviolets, l'utilisation de médicaments, de réactifs chimiques, de solvants industriels et l'exposition à la pollution environnementale. (Pastre, 2005).

1.3. Les antioxydants:

1.3.1. Définition:

Les antioxydants sont des composés, qu'ils soient naturels ou synthétiques, qui empêchent ou retardent le processus d'oxydation d'autres composés en intervenant à différentes étapes de ce processus. Les antioxydants se caractérisent par leur stabilité suffisante pour donner des électrons aux radicaux libres agressifs et les neutraliser, réduisant ainsi leur capacité à causer des dommages. Les antioxydants jouent un rôle important dans la prévention des maladies chroniques telles que les maladies cardiaques, le cancer, le diabète, l'hypertension artérielle et la maladie d'Alzheimer. (Nimse et Pal, 2015).

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour contrôler les réactions radicalaires. On peut modifier la réaction radicalaire en capturant les composés qui déclenchent cette réaction. De plus, on peut capturer les ions métalliques tels que Fe^{2+} pour réduire l'activité des réactions radicalaires. On peut également neutraliser l'anion superoxyde pour éviter la formation de peroxydes en ajoutant des agents neutralisants pour cet anion. En outre, il est possible de mettre fin à la réaction de diffusion dans la préparation de la réaction radicalaire ou de réduire la concentration d' O_2 pour contrôler les réactions d'oxydation. (Maurent, 2017).

1.3.2. Types des antioxydants:

1.3.2.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques):

Sont des enzymes ou des protéines qui agissent contre l'oxydation dans le corps, comprenant des enzymes telles que la superoxyde dismutase, la catalase, et d'autres. Ils sont produits internement dans le corps en utilisant des minéraux spécifiques. Ces antioxydants font partie intégrante des fonctions naturelles du corps et jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre oxydoréducteur dans les cellules. Cependant, la quantité de ces antioxydants diminue progressivement avec l'âge, ce qui peut entraîner une augmentation des effets de l'oxydation dans le corps et leur association avec de nombreuses affections liées au vieillissement. (Mika. A *et al.*, 2004).

- **Le superoxyde dismutase (SOD):**

La superoxyde dismutase (SOD) est une protéine dotée d'une activité enzymatique qui favorise la dégradation de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$. Plusieurs types de SOD existent, se distinguant par la présence de différents minéraux (métaux) au sein de leur structure, notamment la Cu-SOD. (Frédéric, 2011).

- **La catalase (CAT):**

Est une enzyme présente principalement dans les globules rouges et les peroxysomes hépatiques. Son action est étroitement liée à celle du superoxyde dismutase (SOD), car elle accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. **(Piquet et Hébuterne, 2007).**

- **La glutathion peroxydase:**

Est une enzyme qui requiert la présence de sélénium en tant que cofacteur. Elle se trouve à la fois dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Son rôle principal est de catalyser la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). **(Valko et al., 2006).**

1.3.2.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques):

Les antioxydants exogènes, c'est-à-dire ceux qui ne sont pas produits par l'organisme, sont des substances qui peuvent agir comme des antioxydants in vivo. Parmi ces substances, on trouve la vitamine E, l'acide ascorbique (vitamine C), les caroténoïdes, les flavonoïdes et les composés phénoliques. Ces antioxydants ont la capacité de stabiliser les membranes cellulaires en réduisant leur perméabilité, et ils peuvent également se lier aux acides gras libres. **(Koechlin-Ramonatxo, 2006).**

- **Vitamine E:**

Fait référence à une famille de composés appelés tocophérols (α , β , δ , γ). En raison de sa nature hydrophobe, la vitamine E peut s'insérer dans les acides gras des membranes cellulaires et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en prévenant la propagation de la peroxydation lipidique causée par le stress oxydatif. Parmi les tocophérols, seuls les α et δ tocophérols présentent les propriétés antioxydants les plus intéressantes. **(Figure04) (Vertuani, Angusti et Manfredini, 2004).**

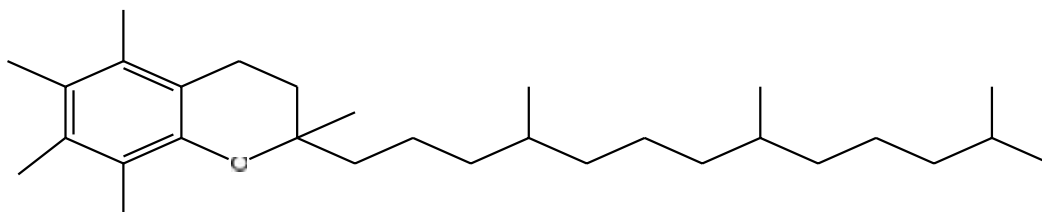


Figure 04: Vitamine E(tocophérol) (Vertuani, Angusti et Manfredini, 2004).

- **La vitamine C:**

Également connue sous le nom d'acide ascorbique, est l'un des antioxydants hydrosolubles les plus importants présents dans les fluides intra- et extracellulaires. Elle joue un rôle essentiel en réagissant directement avec des espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que $\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot$. En outre, la vitamine C est capable de régénérer l' α -tocophérol, une forme de vitamine E, ce qui contribue à prévenir l'oxydation des lipides (Figure05).

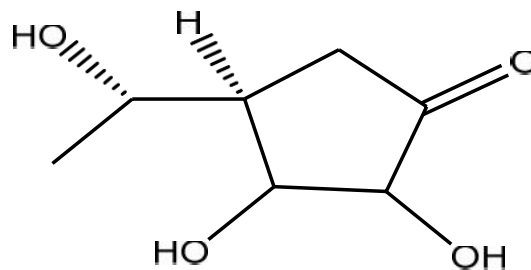


Figure 05: Vitamine C(acide ascorbique).(Vertuani, Angusti et Manfredini, 2004).

- **Les caroténoïdes:**

Sont des pigments synthétisés par les végétaux, parmi lesquels le bêta-carotène et l'alpha-carotène jouent un rôle crucial. Ces composés confèrent aux fruits et légumes leurs couleurs vives allant du orange au rouge en passant par le jaune. Leur fonction principale est de protéger les plantes. De plus, la plupart des caroténoïdes possèdent des propriétés antioxydants (Figure06) (Causse, 2005).

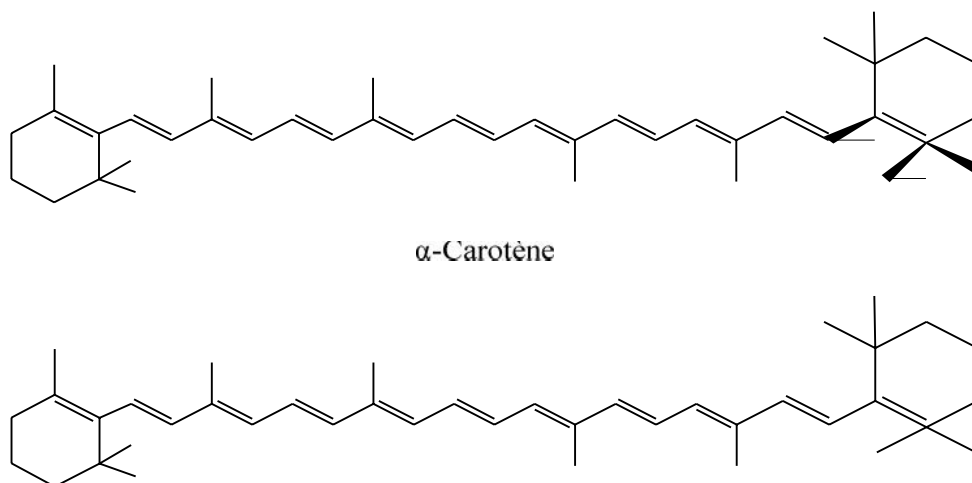


Figure 06 : Deux exemples de structure des caroténoïdes (Patrick et Graham,2002).

1.3.3. Mécanismes d'action des antioxydants:

Les antioxydants agissent de différentes manières pour neutraliser les radicaux libres et protéger les cellules. Ces mécanismes comprennent la capture de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par une réaction d'addition covalente, la réduction des radicaux ou des peroxydes, ainsi que la chélation des métaux de transition. (Favier, 2006). Les antioxydants sont classés en deux catégories, selon leur mode d'action:

1.3.3.1. Système de défense primaire: comprend des antioxydants tels que la catalase et le glutathion (GSH). Ces composés jouent un rôle essentiel en prévenant la production de radicaux libres (ROS) en limitant la phase initiale des réactions d'oxydation. En agissant de manière préventive, ces antioxydants contribuent à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs.

1.3.3.2. Système de défense secondaire: Les tocophérols, comme les antioxydants, agissent comme un système de défense secondaire en piégeant directement les radicaux oxydants. Ils jouent le rôle de "briseurs" de la chaîne radicalaire en bloquant les réactions de propagation, empêchant ainsi les dommages oxydatifs. (Buettner, 1993).

2. Activité antibactérienne:

Les polyphénols présentent une activité antibactérienne significative et variée, qui peut être attribuée à leur diversité structurale. Le nombre et la position des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques semblent être liés à leur toxicité relative envers les microorganismes, avec une corrélation directe entre le degré d'hydroxylation et la toxicité (Cowan, 1999). Il a également été observé que les composés phénoliques oxydés ont une plus grande capacité à inhiber les microorganismes (Scalbert, 1991). Parmi les polyphénols, les flavane-3-ols, les

flavonols et les tanins ont suscité davantage d'intérêt en raison de leur large spectre d'activité antimicrobienne et de leur forte efficacité par rapport aux autres polyphénols (Daglia, 2011).

Ces composés exercent leur action inhibitrice en agissant sur des mécanismes internes plutôt que sur la paroi bactérienne. On suppose qu'ils interagissent avec l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique des microorganismes (Ulanowska *et al.*, 2008). De plus, ils sont capables de supprimer plusieurs facteurs de virulence bactérienne, tels que la formation de biofilms, l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes. Ils peuvent également agir en synergie avec certains antibiotiques (Daglia, 2011).

2.1. Les souches bactériennes :

2.1.1. *Escherichia coli* ATCC 25922:

Escherichia coli est une espèce appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est une bactérie de forme coccobacille, gram négatif et mobile grâce à sa ciliature peritriche. Elle peut se développer en présence d'oxygène ou en l'absence d'oxygène, ce qui la classe comme une bactérie aérobie facultative ou anaérobie facultative. De plus, elle est catalase positive et oxydase négative selon les travaux (Irving *et al.*, 2005). Cette bactérie est capable de fermenter le glucose et le lactose, provoquant ainsi la production de gaz. Elle est utilisée comme indicateur de la contamination fécale dans les eaux potables et les aliments, conformément aux recherches de (Kayser *et al.*, 2005).

2.1.2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853:

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce la plus fréquemment rencontrée du genre en ce qui concerne la pathologie infectieuse. Elle est classée parmi les pathogènes opportunistes. Les infections causées par cette espèce peuvent avoir une origine endogène ou exogène. Dans le cadre des infections communautaires, *Pseudomonas aeruginosa* est principalement responsable de broncho-pneumopathies (Fiche technique _ Bactériologie 111 EN.FTBAC. 14-10-11.01 Emis le 17 mai 2011 Page 1 sur 4).

2.1.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 25932:

Staphylococcus aureus, également connu sous le nom de staphylocoque doré, est une bactérie en forme de coque, à coloration de Gram positive, qui ne sporule pas et est immobile. Elle peut se développer en présence ou en absence d'oxygène, ce qui la classe comme aéro-anaérobie facultatif. *S. aureus* possède des enzymes telles que la catalase et la coagulase.

En tant qu'espèce type du genre *Staphylococcus*, elle est connue pour produire de nombreuses toxines, y compris les enterotoxines (SE), qui sont produites par certains *S. aureus* portant les gènes correspondants. Ces toxines sont responsables d'épidémies associées à cette bactérie (De Buyser M. L., Sutra L. (2005). *Staphylococcus aureus*. In: Federighi).

2.1.4. *Bacillus subtilis* ATCC 25973:

Bacillus subtilis est une bactérie en forme de bâtonnet appartenant à la famille des bactéries gram-positives. On le trouve largement dans la nature et il fait également partie de la flore microbienne intestinale. La Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis classe *Bacillus subtilis* comme un organisme généralement reconnu comme sûr (GRAS), ce qui signifie qu'il est généralement considéré comme sûr et peut être utilisé sans problèmes dans les laboratoires de niveau de biosécurité S1. Les colonies de *Bacillus subtilis* ont une taille irrégulière avec des marges ondulées. Elles apparaissent comme des colonies blanches et ternes avec une texture sèche (Lopez D., Vlamakis H. & Kolter R Generation of multiple cell types in *Bacillus subtilis*. FEMS Microbiology Reviews. Jan 2009).

3. Activité antifongique:

Les infections fongiques constituent l'un des problèmes de santé publique les plus graves à travers le monde. Les mycoses peuvent se présenter sous la forme d'une infection superficielle bénigne, mais elles peuvent également évoluer en lésions systémiques graves et handicapantes, entraînant des taux de mortalité élevés (Hay, 2006 ; Lupiet *al.*, 2005).

La thérapie des infections fongiques repose principalement sur l'utilisation d'antifongiques. Cependant, une prescription excessive et parfois inappropriée de ces agents peut conduire à la sélection de souches multirésistantes. C'est pourquoi il est important d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies, notamment en explorant les plantes comme source d'inspiration pour de nouveaux médicaments (Ganaou, 1972).

3.1. Les souches fongiques:

- *Candida albicans* ATCC 10231:

Candida albicans est un champignon polymorphe qui présente la capacité de passer rapidement entre deux formes cellulaires distinctes : des cellules rondes appelées levures, et des filaments pseudo-mycéliens ou hyphes (Bahn *et al.*, 2007). Normalement, *Candida albicans* et d'autres espèces de *Candida* sont présents de manière endogène chez les individus, sauf chez les personnes immunodéprimées (Scheibler *et al.*, 2017). *Candida albicans* est un champignon

commensal chez les humains, souvent associé à un microbiote oral normal (**Williams et Lewis, 2011**).

4. Antibiotiques:

Les antibiotiques sont des substances d'origine naturelle, hémi-synthétiques ou synthétiques capables d'inhiber la croissance ou d'entraîner la mort des bactéries. Ils ont une activité sélective et spécifique liée à un mécanisme d'action précis (**Bryskier, 1999**). Ce sont les principales armes médicamenteuses les plus efficaces utilisées contre les infections bactériennes. Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (**Yala *et al.*, 2001**). La classification des antibiotiques selon leurs mécanismes d'action est cependant la plus répandue.

Chapitre III :
Principaux métabolites secondaires

1. Les composés phénoliques:

1.1. Généralité sur les composés phénolique :

Également connus sous le nom de polyphénols, sont des substances produites par le métabolisme secondaire des plantes. Ils se trouvent dans tous les organes de la plante. (**Apaket al., 2007**).

Ces composés se distinguent par la présence d'au moins un noyau benzénique dans leur structure, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, qui peut être libre ou impliqué dans une fonction éther, ester ou hétéroside. (**Bruneton, 1999; Handique et Baruah, 2002**) (Figure 07).

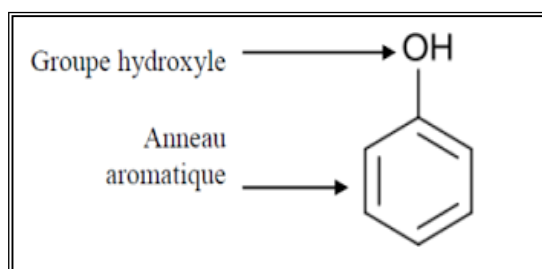


Figure 07 : Structure de base des polyphénols (**Manallha,2012**).

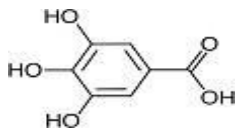
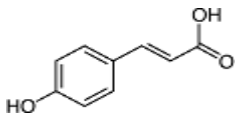
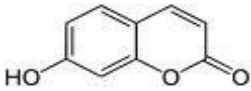
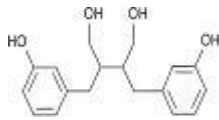
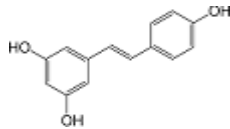
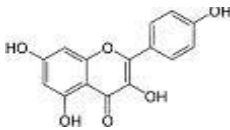
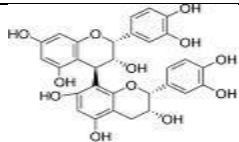
Les polyphénols jouent un rôle crucial dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant avec différentes hormones végétales impliquées dans la régulation de la croissance. De plus, ces composés permettent aux plantes de se défendre contre les rayons ultraviolets nocifs. Certains polyphénols ont également la capacité de renforcer la résistance des plantes aux infections causées par les champignons et les bactéries. (**Makoi et Ndakidemi, 2007**).

Les polyphénols sont fréquemment employés dans l'industrie agroalimentaire en tant qu'additifs, colorants, arômes ou agents de conservation. (**Bruneton, 1999**).

1.2. Classification des composés phénoliques:

Harborne (1980) a proposé une classification des substances basée sur les polyphénols. Cette classification repose sur deux critères principaux : le nombre d'atomes constitutifs et la structure de squelette de base (**Macheixet al., 2006**). Ainsi, on distingue différents groupes de polyphénols tels que les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tanins (Tableau02) (**Boros, 2010**).

Tableau 02 : Structure des squelettes de polyphénols(Crozieretal.,2006).

Classification	Squelette	Exemple	Structure
Acidesphénolique	C6-C1	Acidegallique	
Acideshydroxycinniques	C6-C3	Acidecoumarique	
Coumarines	C6-C3	Omblliférone	
Lignanes	(C6-C2) ₂	Entérodiol	
Stilbènes	C6-C2-C6	Resveratrol	
Flavonoïdes	C6-C3-C6	Kaempférol	
Tanins	(C6-C3-C6) _n	Procyanidine	

1.2.1. Les acides phénoliques:

Sont divisés en deux sous-classes :

1.2.1.1. Acides hydroxybenzoïques:

De base de type (C6-C1) qui sont des dérivés de l'acide benzoïque, sont largement présents dans la nature, se trouvant à la fois sous forme libre et sous forme de composés combinés tels que des esters ou des hétéro latéraux et incluent plusieurs molécules et les plus fréquentes sont. L'acide gallique, l'acide vanillique (JOHN *et al.*, 2014).

1.2.1.2. Acides hydroxycinnamiques:

De base de type (C6-C3), tels que l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide ferrulique, l'acide p-coumarique et l'acide sinaptique, sont couramment trouvés sous forme d'esters d'acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique (John *et al.*, 2014). Les degrés d'hydroxylation et de méthylation sur le cycle benzénique confèrent à ces molécules une réactivité chimique importante (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

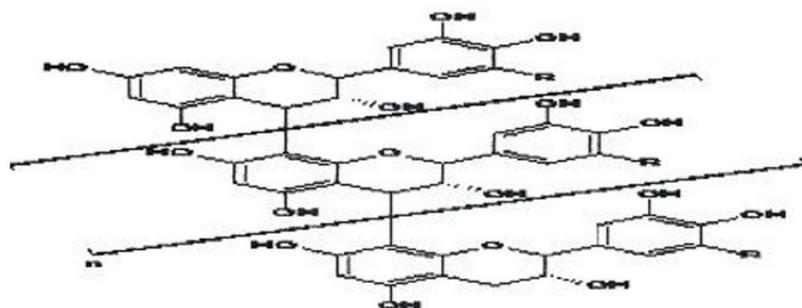
1.2.2. Tanins:

Les tanins sont des molécules à poids moléculaire élevé, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, et leur nom dérive du processus de tannage. (Bruneton, 2009). Ils sont des composés polyphénoliques présents naturellement dans les plantes. Les tanins jouent un rôle crucial dans la défense des végétaux contre les insectes et les champignons. On les trouve dans toutes les parties des plantes, telles que l'écorce, les racines et les feuilles, bien que leurs proportions puissent varier. (Santiago-Medina, 2017). Il existe deux grands types de tanins, qui se distinguent par leur activité chimique et leur composition : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. (Macheix, 2005).

1.2.2.1. Les tanins condensés:

Sont des polymères de flavonoïdes composés d'unités flavan-3-ols. Ils ont un degré de polymérisation variant de deux à plus de 50 unités (Khanbaba et Ree, 2001). Ces unités sont liées ensemble par des liaisons fortes de carbone, ce qui rend les tanins condensés non hydrolysables. Cependant, ils peuvent être oxydés par des acides forts, ce qui entraîne la libération d'anthocyanidines (Figure08).

Figure 08 : La structure de base des tannins condensés (Porter *et al* , 1986).



1.2.2.2. Les tanins hydrolysables:

Polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (Hopkins, 2003). Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (Figure 09) (Iserinet *et al.*, 2001).

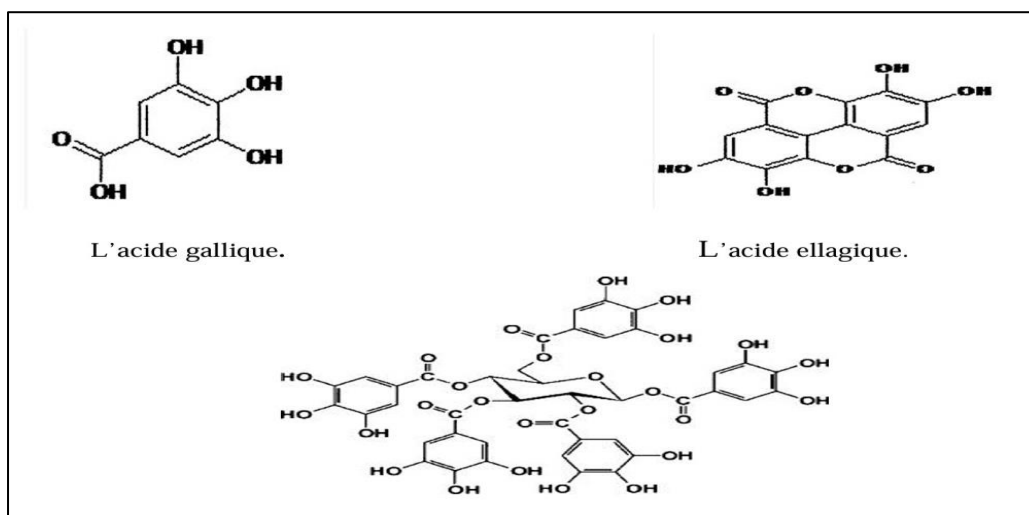


Figure 09: Structure de base de Tannin hydrolysable (Iserinet *et al.*, 2001).

1.2.3. Flavonoïdes:

Sont des composés d'origine végétale qui tirent leur nom du terme latin "flavus", signifiant jaune. Ils se caractérisent par une structure de type C₆-C₃-C₆ et ont un poids moléculaire relativement faible. En plus des chlorophylles et des caroténoïdes, les flavonoïdes jouent un rôle important dans la coloration des plantes (Wichtl et Anton, 2009). Ils peuvent exister sous forme libre, appelée aglycone, ou sous forme de glycosides, où ils sont liés à un ou plusieurs groupes sucre. Les flavonoïdes se composent de plusieurs sous-groupes qui contiennent deux ou plusieurs cycles aromatiques. Ces cycles sont reliés entre eux par des ponts carbonés, et chaque cycle peut porter un ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques. Cette structure complexe confère aux flavonoïdes leurs propriétés biologiques et leurs multiples bienfaits pour la santé. (Figure 10) (Heller et Forkmann, 1993).

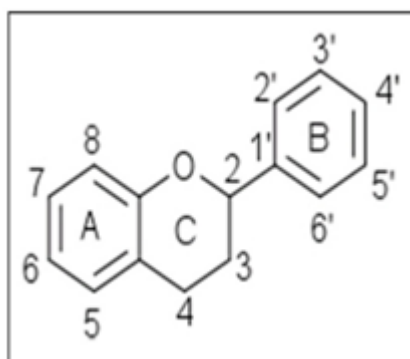


Figure 10: Structure de base des flavonoïdes. (Dacosta, 2003).

1.2.4. Quinones:

Les quinones sont des composés fascinants qui possèdent des caractéristiques uniques et jouent plusieurs rôles importants. On les trouve largement répandus dans la nature, tant dans les tissus animaux que végétaux. Ils jouent un rôle essentiel dans la chaîne de transport des électrons, permettant ainsi le maintien des fonctions biologiques chez les plantes et les animaux. En dehors de leurs fonctions biologiques, les quinones ont été utilisées dans de nombreuses pratiques cliniques variées (Naoya et Naotaka, 2014).

Les quinones sont reliées à des composés phénoliques simples. Certaines quinones plus complexes, où la partie aromatique est liée à une chaîne latérale isoprénique, jouent souvent des rôles biologiques cruciaux chez les organismes vivants, en particulier dans le transfert des électrons au sein des mitochondries et des chloroplastes (Macheixet *al.*, 2005).

1.3. Biosynthèse des composés phénoliques:

Les composés phénoliques peuvent être produits dans les plantes par le biais de deux voies métaboliques : la voie du shikimate et la voie des polyacétates (Macheix *et al.*, 2006).

1.3.1. La voie de Shikimate:

Une voie métabolique qui, suite à la transamination et à la désamination, conduit à la formation des acides cinnamiques et de leurs nombreux dérivés, tels que les acides benzoïques et les phénols simples (Knaggs, 2003).

1.3.2. La voie d'acétate:

Un chemin métabolique qui conduit à la formation de poly B-coesters, également appelés polyacétates, qui peuvent varier en longueur. Ces polyacétates peuvent subir une cyclisation, donnant ainsi naissance à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8-anthraquinones ou les naphtoquinones (Nackz et Shahidi, 2004).

1.4. Rôle et intérêt des composés phénoliques Chez l'humain:

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la protection contre certaines maladies en raison de leur capacité à interagir avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Fleuriet *et al.*, 2005).

Les polyphénols, contrairement aux antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT) et le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sont considérés comme sans effet nuisible sur la santé humaine.

Les polyphénols trouvent également leur utilisation dans l'industrie agro-alimentaire en tant qu'additifs, colorants, arômes ou agents de conservation (Bruneton, 1999).

2. Alcaloïdes:

Sont des composés organiques azotés d'origine végétale qui présentent des caractéristiques alcalines et une structure complexe, généralement sous la forme d'un noyau hétérocyclique. On les trouve dans de nombreuses familles de plantes. La plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool, et ils ont un goût amer. Il convient de noter que certains alcaloïdes sont hautement toxiques (Figure 11) (Wichtl et Anton, 2009).

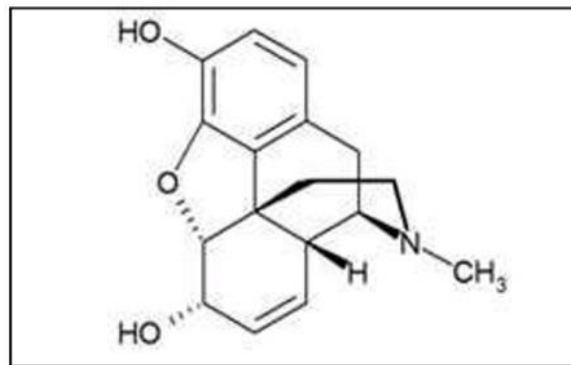


Figure 11: Exemple d'alkaloïde(lamorphine).(OsbourneLanzotti,2009).

Les principes actifs présents dans de nombreuses plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans la découverte de médicaments tels que la morphine, la quinine, la cocaïne et l'atropine. Ils ont également contribué au développement de l'industrie pharmaceutique (Omukoliet *al.*, 2000). L'étude de leur mécanisme d'action a permis leur utilisation en tant que réactifs biologiques en neurochimie et en chimiothérapie. De plus, ils possèdent des propriétés antioxydantes (Roué, 2011).



Partie
expérimentale

Chapitre I

Matériels et méthodes

Notre travail de recherche a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique qui fait partie de faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El- Oued. L'activité antimicrobienne à été réalisée au niveau de laboratoire EL Madjd.

1. Présentation de la région d'étude:

1.1. Situation géographique de la wilaya al -Mughayir:

Al-Mughair est un willaya algérien situé au sud-est de l'Algérie. Elle couvre une superficie de 8 835 kilomètres carrés. Elle est bordée au nord par la willaya de Biskra, à l'est par la wilaya d'El-oued, à l'ouest par la willaya d'Ouled Jalal et au sud par la willaya de Tougourt et Ouargla. Une zone semi-aride riche en eaux souterraines. Il se caractérise par un sol fertile propice à l'agriculture.

2. Matériel :

2.1. Matériel biologique:

2.1.1. La plante:

Les feuilles d'olivier ont été récoltées à partir d'un seul arbre dans la région de M'arara. (Al-Mughayir).

2.1.2. Les souches utilisées:

Nous avons utilisé une souche de référence de *Candida albicans* ATCC 10231 et quatre souches bactériennes, dont deux souches à Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922, et deux souches à Gram positif, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus subtilis* ATCC 25973. Les bactéries de référence de l'institut Pasteur.

2.2. Matériel technique d'étude au laboratoire:

2.2.1. Les produits et réactifs:

- Eau distillée (H₂O).
- Méthanol.
- Magnésium (Mg).
- Chlorure d'hydrogène (HCl).
- Chlorure ferrique 1% (FeCl₃).
- Réactif Dragendorff.
- Liqueur de Fehling.

- Chloroforme (CHCl_3).
- Acides sulfurique (H_2SO_4).
- Folincioalteu.
- Bicarbonate de sodium (7.5%) (Na_2CO_3).
- Trichloride d'aluminium (AlCl_3) 2%.
- Vanilline 4%.
- Solution saline stérile (NaCl 0,9 %).
- DMSO 5%.

2.2.2.verreies et petits matériels :

- Erlenmeyer.
- Pipettes pasteur.
- Béchers de 500 et 1000 ml.
- Tubes à essai.
- Micropipette 1000 μl .
- Flacons en verre de 250 ml.
- Boîtes pétri.
- Disques de papier wattman (buvard).
- Spatule.
- Entonnoir.
- Milieu de culture Mueller-Hinton.

- Loop sterile.
- Écouvillon sterile.
- Cônes.

2.2.3. Appareillage:

- Réfrigérateur.
- Etuve.
- Balance électronique.
- Spectrophotomètre UV-Visible.
- Agitateur.
- Autoclave.
- Evaporateurrotatif (Rotavapor).
- Bain marie.

- VITEK® DENSICHEK® McFarland.

- Bunsen.

3. Méthodes :

3.1. Préparation du matériel végétale :

3.1.1. Séchage et conservation:

Les feuilles d'Oliver ont été nettoyées puis séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante pendant trois semaines.

3.1.2. Broyage et tamisage:

Cette Broyées les feuilles d'olivier a l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, puis on l'homogénéise par tamisage et récupérer pour une ultérieure utilisation.(Figure12).



Figure 12: La poudre de la feuille d'olivier.

3.2. Préparation des extraits:

Nous avons réalisé deux méthodes d'extraction pour obtenir les composés actifs: la première implique l'immersion de la substance dans un mélange de méthanol et d'eau, tandis que pour la seconde on a utilisé uniquement l'eau.

Pour préparer l'extrait méthanolique à partir des feuilles d'olivier, nous avons utilisé 20g de poudre pour une macération dans un mélange méthanol/eau (70/30: V/V) équivalent à 100 ml.

Nous avons également préparé un extrait aqueux en macérant 20 g de poudre dans de l'eau (100ml).

Ces macérations ont été effectuées en trois étapes, durant trois jours consécutifs, avec un changement de solvant chaque 24 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Ensuite, le mélange a été filtré sur du papier wattman. Pour la troisième macération, le méthanol a été éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite à l'aide d'un rotavapor, puis le résidu a été séché à l'étuve à une température ne dépassant pas 45°C. L'extrait a été conservé jusqu'à son utilisation selon les recommandations de Talbi (Figure13) (Talbiet *al.* 2015).



Figure 13: Protocole d'extraction des composés phénoliques.

3.3. Rendement d'extraction:

Nous pouvons déterminer le rendement des plantes en extraits sec est calculé par la formule donnée par **Fallehet *al.* (2008)**.

$$R(\%) = 100 \text{ Mext} / \text{Méch}$$

Où :

R: est le rendement en %.

Mext: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

Méch: est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

3.4. Analyses qualitatives:

3.4.1. Screening phytochimique :

Le screening phytochimique est une méthode essentielle pour mettre en évidence la présence des différentes familles de composés chimiques dans un échantillon donné.

Le principe de cette méthode repose soit sur la formation de complexes insolubles par le biais de réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés grâce à des réactions de coloration, qui impliquent la conjugaison ou l'instauration dans une molécule (Mohammedi, 2013).

3.4.1.1. Test de flavonoïdes:

Pour mettre en évidence la présence de flavonoïdes, on traite 1 ml d'extrait avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et 0,1 g de tournures de magnésium. Si des flavonoïdes sont présents, une couleur rose ou rouge se développera après 3 minutes (Bouhadjera, 2005).

3.4.1.2. Test de tannins:

Les tanins sont mis en évidence à partir de 0.5 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl_3 (1% préparé au méthanol). Après l'agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Karumiet *al.* 2004).

3.4.1.3. Test des alcaloïdes:

1ml d'extrait végétal est additionné d'une goutte de HCl concentré, la solution obtenue est ajoutée deux goutte de réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration orange indique la présence d'alcaloïdes (Bagreet *al.* 2007).

3.4.1.4. Test des sucres réducteurs:

Les sucres réducteurs ont été détectés dans les extraits bruts en utilisant le réactif de Fehling. Pour cela, 1 ml d'extrait brut est mélangé avec 1 ml de liqueur de Fehling. Si une réaction positive se produit, un précipité rouge brique se forme après 2 à 3 minutes de chauffage au bain-marie à 70 °C (Békroet *al.* 2007).

3.4.1.5. Test des polyphénols:

La présence de polyphénols a été caractérisée par la réaction avec le chlorure ferrique (FeCl_3). Pour cela, 1 ml de chaque extrait a été mélangé avec une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte, plus ou moins foncée, indique la présence de polyphénols (Koffi *et al.* 2009).

3.4.1.6. Test des Terpénoïdes:

Dans un tube à essai, il faut ajouter 2 ml d'extrait de plante, puis 0,8 ml de chloroforme (CHCl_3) et 1,2 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. Si une couleur brune rougeâtre se forme, cela indique la présence de terpénoïdes (**Dharmendraet al. 2012**).

3.4.1.7. Test des saponosides:

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Kanoun, 2011**).

3.5. Dosage des composées phénoliques par la méthode colorimétrique «Analyse quantitative » :

3.5.1. Dosage des polyphenols totaux (PPT):

*Principe:

Le dosage des poly phénols est réalisé par la méthode de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalte. Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Lorsqu'il est exposé aux phénols, il subit une réduction formant un mélange d'oxydes bleus de tungstène ($\text{W}_{12}\text{O}_{23}$) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette réaction entraîne une coloration bleue dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration des composés phénoliques présents dans l'échantillon. Le maximum d'absorption de cette coloration se situe généralement autour de 750-765 nm (**Bonnailliet al. 2012**).

*Mode opératoire:

Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante, 0.2 ml des chaque solution d'extrait est ajouté, ensuite 1ml d'une solution de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée) est ajouté puis on ajouté 0.8 ml d'une solution de Na_2CO_3 (7.5%).

Le mélange obtenu est incubé à température ambiante pendant environ 2 heures, à l'abri de la lumière. Ensuite, l'absorbance de chaque solution est mesurée à une longueur d'onde de 760 nm par rapport à un blanc de référence (**Belyagoubi, 2012**).

Cette mesure de densité optique à 760 nm est utilisée pour établir une courbe d'étalonnage en utilisant de l'acide gallique à différentes concentrations, dans des conditions similaires. Cette courbe d'étalonnage permet de quantifier la concentration des polyphénols totaux présents dans l'extrait (**Belyagoubi, 2012**).

La concentration est exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait), en utilisant l'équation de régression obtenue à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (**Meziti, 2009**).

3.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT):

*Principe:

Le réactif utilisé est: le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$, 2%). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des carbones 4 et 5 des flavonoïdes par ce réactif, elle entraîne la formation d'un complexe jaune (**Lagnika, 2005**).

*Mode opératoire:

Mettre 1ml de chaque solution d'extrait dans un tube à essai; Ajouter 1 ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium 2%, Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm (**Nabti&Belhattab, 2016**).

Les résultats sont exprimés en mg quercétine équivalente/g de matière végétale sèche en référence à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

3.5.3. Dosage des tanins condensés (CT):

* Principe :

Pour doser les tannins condensés, la méthode de la vanilline a été utilisée (**Scalbert., 1992. Sun et al. 1998. Schofield et al. 2001**).

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm.

* Mode opératoire:

0.5ml d'extrait ou standard (catéchine) a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai de verre, et ajouté 3 ml de mélange 4% vanilline et de méthanol (4%, v/v), puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionnés. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est mesuré à 500 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV- Visible. La teneur totale en tanins condensés est calculée comme étant mg équivalent de catéchine (mg Ca E/g) en utilisant l'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (**Thomas *et al.* 2014**).

3.6. Evaluation de l'activité anti oxydante:

3.6.1. Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP):

***Principe:**

La méthode FRAP repose sur la réaction de réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) grâce à un antioxydant. Cette réaction est mise en évidence par le changement de couleur du fer ferrique, qui passe du jaune au bleu-vert (**Djahra, 2013**).

***Mode opératoire:**

Un volume égal 625 μ l de chaque extrait et de la référence à différentes concentrations est mélangé avec 625 μ l d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 625 μ l d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1 %. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50 °C pendant 30 min.

Ensuite 625 μ l d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Puis une centrifugation 3000rpm pendant 10min a été réalisée. Un aliquote (625 μ l) de surnageant est combinée avec 625 μ l d'eau distillée et 625 μ l d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ (Chlorure ferrique) à 0,1 %. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

3.7. Evaluation de l'activité antibactérienne:

3.7.1. Méthode de diffusion en Agar (Méthode des puits):

Il s'agit de la technique de base utilisée pour étudier l'effet antimicrobien d'une substance.

Des boîtes de Pétri contenant de la gélose Sabouraud dextrose supplémentée de 2% de glucose (pour les levures) et de la gélose Mueller-Hinton (pour les bactéries) sontensemencées aseptiquement avec une suspension de 10^6 cellules/mL obtenue à partir d'une jeune culture de levures ou de bactéries, respectivement. L'inoculation se fait par ensemencement en surface. Une fois les boîtes sèches, l'agar est perforé au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Les cavités ainsi formées sont remplies de la solution aqueuse de l'extrait à des concentrations de (120, 60, 30 et 15 mg/ml) (environ 50 μ L par puits).

La solution d'huile essentielle volatile est ensuite préparée pour le test d'efficacité antibactérienne en dissolvant l'huile dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour atteindre une concentration finale de (50, 25, 10 et 5 % V/V).

Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48 heures pour les levures et 24 heures pour les bactéries. L'activité inhibitrice est indiquée par la formation d'une zone d'inhibition autour des puits. Les résultats sont lus en mesurant les diamètres des zones d'inhibition. Un produit est considéré comme actif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 6 mm.(Figure14).



Figure 14: Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction des composés phénoliques:

Le rendement de chaque extrait a été déterminé par rapport à 20 g de matériel végétal en poudre sec. Les résultats ont été exprimés en pourcentage massique.(Tableau03).

Tableau 03: Résultats obtenus pour chaque extrait.

Extrait	Méthanol/Eau	Eau
Rendement en (%)	20.9 %	10.095%

Cette disparité au niveau des résultats pourrait être due à plusieurs paramètres : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon. De plus, la période et le lieu de récolte influencent le rendement d'extraction (**Madani,2017**).

Des études ont rapporté que les hauts rendements sont habituellement obtenus avec l'éthanol et le méthanol et leur mélange avec l'eau (**Santos et al. 2012**) ; en effet, l'eau joue un rôle essentiel dans le processus d'extraction des polyphénols en augmentant leur diffusion dans les tissus végétaux.

Les feuilles d'olivier sont connues pour être une source abondante de composés phénoliques, avec une teneur pouvant atteindre jusqu'à 40g par kilogramme de tissu sec. Cependant, il est important de noter que ces niveaux peuvent varier considérablement. Le profil et la quantité de polyphénols présents dans les feuilles d'olivier semblent être fortement influencés par le potentiel génétique de l'arbre. (**Mylonakiet al., 2008**).

2. Screening phytochimique :

Des tests qualitatifs ont été réalisés sur la feuille d'olivier afin d'analyser la composition chimique de deux phases distinctes, à savoir l'eau et le méthanol, présentes dans la partie aérienne de la plante. Les résultats obtenus sont présentés dans le rapport.(Tableau04).

Tableau 04 : Résultats des tests phytochimiques.

Classe des composés	Extrait aqueux	Extrait méthanolique
Saponines	+	-
Flavonoïdes	++	+
Tanins	++	++
Alcaloïdes	-	-
Sucres réducteurs	+	++
Terpenoïdes	-	++
Polyphénols	++	++

:(++):Présence en forte quantité maximale.

:(+):Présence en quantité moyenne.

:(-):Absence de substance chimique.

D'après les résultats de tableau nous remarquons que les tanins, les flavonoïdes et les polyphénols présentent en quantité importante dans l'extrait aqueuse et aussi dans l'extrait méthanolique. On note aussi que les saponines sont présentes en quantité moyenne dans l'extrait aqueuse. Par contre ils sont absents dans l'extrait méthanolique. En outre, les terpenoïdes sont présents en quantité importante dans l'extrait méthanolique mais, absents dans l'extrait aqueuse. Les alcaloïdes sont absents dans les deux extraits.

Dans l'ensemble, ces résultats phytochimiques mettent en évidence le potentiel thérapeutique de cette plante, en raison de la présence de nombreux composés bioactifs. Des études complémentaires seraient nécessaires pour explorer plus en détail les applications médicinales et les mécanismes d'action de ces extraits végétaux.

Une étude phytochimique sur les feuilles *d'Olea europaea* .Réalisée par **(Himouret al. 2016)** a mis en évidence la présence de flavonoïdes, de tanins, de polyphénols en grande quantité, de terpenoïdes et de saponosides. Nos résultats sont cohérents avec les résultats

précités. D'autres travaux de (Brunton, 1999) ont démontré la présence de flavonoïdes, de tanins et de saponosides, ainsi que l'absence d'alcaloïdes dans les feuilles. La différence de criblage phytochimique d'un extrait à l'autre est due à la nature des composés phénoliques présents dans chaque extrait. Son comportement varie selon sa composition chimique et la nature du milieu dans lequel il existe (acide, basique ou neutre) (Hayouniet al. 2007). Dhanani et coll. (2017) ont constaté que les composés phénoliques variaient en fonction du solvant utilisé et de la température appliquée. Cela varie également selon le type d'installation, même si le même solvant est utilisé. Cela est dû à la nature chimique du solvant et du soluté.

3. Dosage des composées phénoliques:

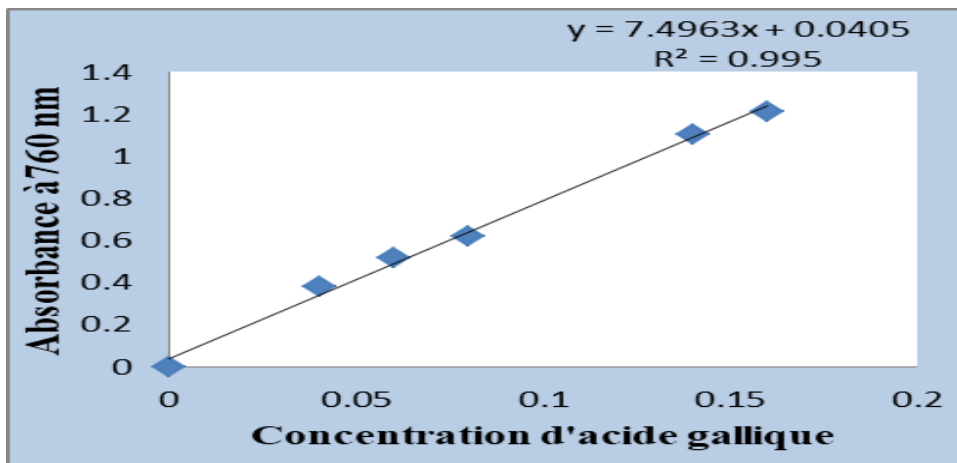


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique pour le dosage des polyphénols totaux (PPT).

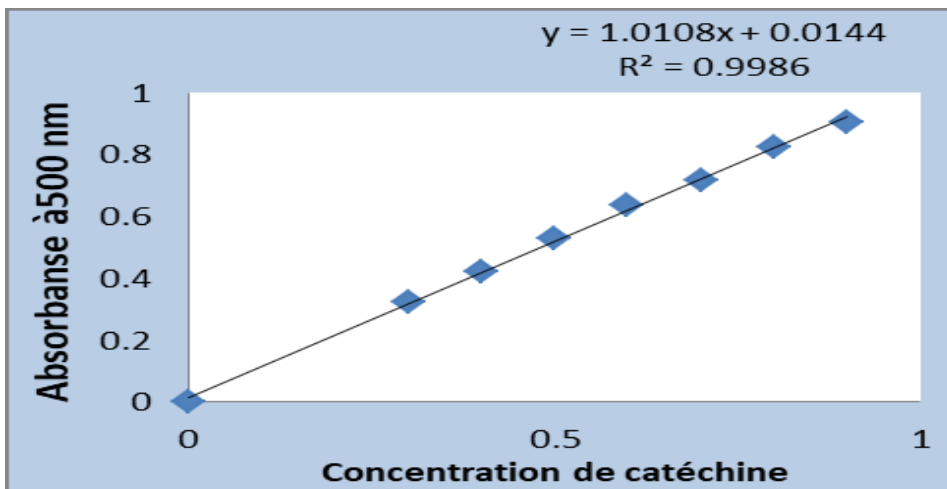


Figure16: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins condensés (TC).

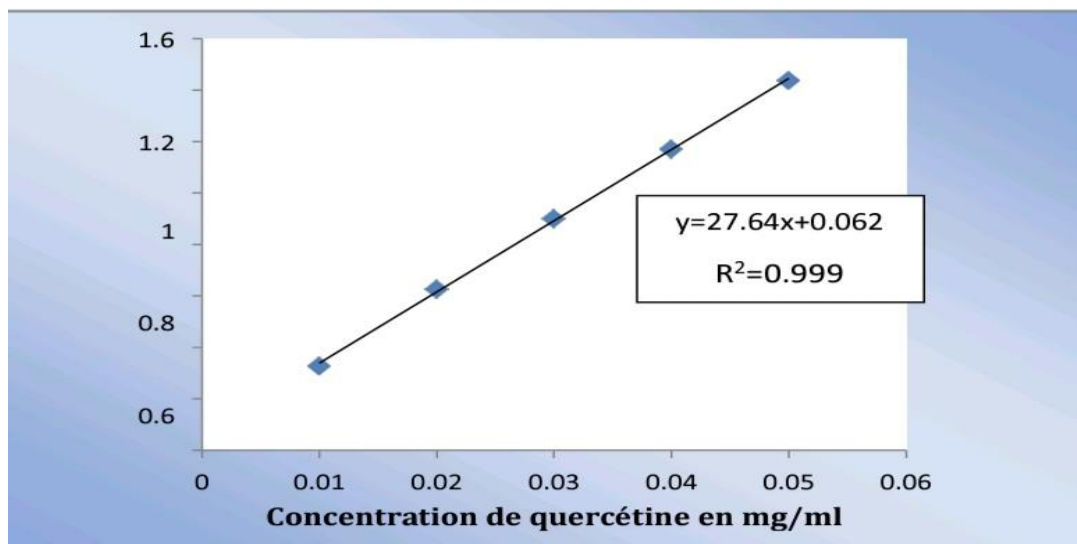


Figure17: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonodes totaux(FVT).

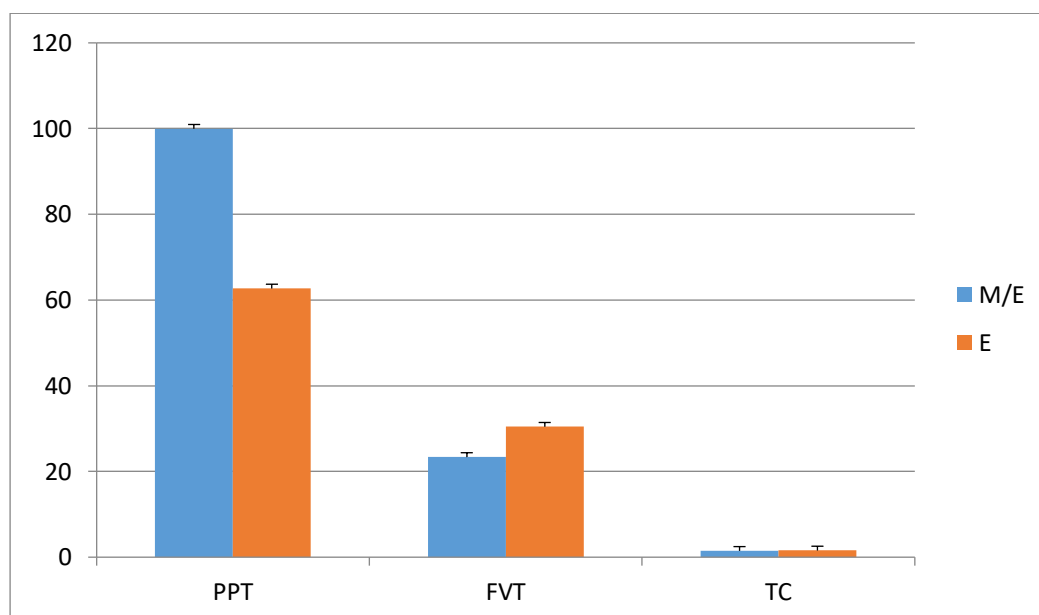


Figure18: Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins des deux extraits E et M/E

3.1. La teneur en polyphénols totaux PPT:

La teneur en polyphénols totaux des deux extraits a été mesurée en utilisant la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats ont montré une relation linéaire entre l'absorption et les concentrations de polyphénols, comme illustré dans la courbe. Les quantités de polyphénols pour chaque extrait ont été exprimées en milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme

de matière sèche, et ont été déterminées à l'aide de l'équation $y = 7,4963x - 0,0405$, avec un coefficient de détermination R^2 de 0,995. Les teneurs totales en polyphénols des deux extraits de feuilles d'olivier étudiés, désignés E et M/E, sont respectivement de l'ordre de 62.69 ± 0.092 et 99.96 ± 0.007 mg EAG/gMS.(Figure18).

Dans notre étude, nous avons constaté que la cueillette des feuilles d'olivier en décembre permet d'obtenir la quantité maximale de composés phénoliques. Cette récolte à un stade avancé de la croissance des feuilles met en évidence la richesse de notre diversité en polyphénols totaux. Nos résultats sont en accord avec les conclusions de **Bouabdellah (2014)**. Il est important de noter que la variation des teneurs en polyphénols peut également dépendre de la localisation géographique de la culture. Des études antérieures, telles que celle de **García-Gómez et al. (2003)**, ont souligné que la composition des feuilles d'olivier en substances bioactives varie en fonction de l'origine, de la méthode de séchage, de la durée d'extraction, du type de solvant utilisé et des conditions de stockage (**Bakoriet al. 2007**). Il convient également de mentionner que les teneurs totales en polyphénols peuvent varier en termes de qualité et de quantité d'une plante à l'autre. Cette variation peut être attribuée à des facteurs climatiques et environnementaux, comme le soulignait **Alupului (2012)**.

3.2. La teneur en flavonoïdes totaux FVT:

Les flavonoïdes présents dans les extraits de feuilles d'olivier ont été quantifiés en utilisant la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), avec la quercétine comme étalon. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS). Les taux de flavonoïdes des deux extraits, désignés E et M/E, ont été déterminés à l'aide d'une courbe d'étalonnage suivant l'équation $y = 27,647x + 0,0629$, . La qualité de l'ajustement de la courbe d'étalonnage est indiquée par un coefficient de détermination (R^2) de 0,9995. Les teneurs totales en flavonoïdes des extraits de feuilles d'olivier étudiés sont respectivement de l'ordre de 30.43 ± 0.002 mg EQ/g MS pour l'extrait E et 23.37 ± 0.001 mg EQ/g MS pour l'extrait M/E.(Figure18).

L'estimation des flavonoïdes dans un contenu peut également être affectée par la méthode de quantification utilisée (**Li et al. 2003**). Les résultats obtenus à partir des extraits méthanoliques et aqueux des feuilles d'olivier ont montré une concentration inférieure à celle rapportée par **HARRAR (2012)**. Par conséquent, il est possible d'affirmer que l'extrait de feuille d'olivier contient un pourcentage plus faible de flavonoïdes. Cependant, la comparaison entre nos résultats et ceux de **Harrar (2012)** et ceux de **Zaghd (2008)** ne permet pas de tirer de

conclusions claires. En effet, plusieurs facteurs liés à la plante tels que l'origine, les variétés, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, ainsi que la situation géographique peuvent influencer ces résultats (**Miliauskaset al. 2004**). De plus, les conditions de préparation et d'extraction de ces composés, telles que le choix du solvant, le diluant, la fatigue, la température et la pression, peuvent également jouer un rôle (**Ebrahimzadehet al. 2008**).

3.3. La teneur en tanins condensés TC:

La méthode à la vanilline en milieu acide a été utilisée pour déterminer les tanins condensés. La teneur en tanins est exprimée en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg Eca/g MS). Les taux de tanins dans les extraits ont été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage qui suit l'équation suivante : $y = 1,0108x - 0,0144$ avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,9986. Les teneurs en tanins des extraits de feuilles d'olivier étudiés, notés E et M/E, sont respectivement de l'ordre de 1.56 ± 0.003 et 1.47 ± 0.003 mg Eca/g MS. (Figure18).

Le faible taux de tanins dans les extraits étudiés peut s'expliquer par un équilibre atteint entre la concentration des tanins végétaux et le solvant utilisé, conformément à l'ouvrage de **Hoyos-Martínez et al. (2019)**. Ce phénomène ralentit le processus d'extraction des tanins. En outre, plusieurs facteurs liés aux plantes tels que l'origine, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, ainsi que la situation géographique, ont été identifiés dans de nombreuses études comme des influences sur les résultats d'extraction des tanins (**Miliauskaset al. 2004**). Par ailleurs, les conditions de préparation et d'extraction des tanins, notamment le choix du solvant et du diluant, la fatigue, la température et la pression, peuvent également jouer un rôle dans la quantité de tanins extraits (**Ebrahimzadehet al. 2008**).

4. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'extrait méthanolique présente la plus grande capacité de réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) par rapport à l'extrait aqueux. Cela indique que l'extrait méthanolique a une plus forte activité antioxydante selon la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). L'acide ascorbique, utilisé comme contrôle positif, a montré un pouvoir réducteur inférieur à celui de l'extrait méthanolique, mais supérieur à celui de l'extrait aqueux, aux mêmes concentrations.

L'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits de feuilles d'olivier. Cela suggère que plus la concentration en extraits est élevée, plus leur capacité de réduction est importante. Ces résultats démontrent que les extraits de feuilles d'olivier possèdent une activité antioxydante intéressante, mise en évidence par la méthode FRAP. (Figure 20).

Selon **Hayes et al. (2011)**, l'activité antioxydante des composés phénoliques dépend généralement du nombre et de la position des groupes hydroxyles par rapport aux groupes fonctionnels carboxyles. La structure de ces composés est un facteur crucial dans leur capacité à piéger les radicaux libres, qui sont considérés comme des agents pathogènes dans de nombreuses maladies. Certains de ces composés phénoliques sont également capables de chélater le fer, réduisant ainsi son excès. Par conséquent, l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de feuilles d'olivier à l'aide de la méthode de réduction du fer FRAP représente un indicateur important du pouvoir antioxydant des plantes, comme le confirment les résultats de **Hayes et al. (2011)**. Les résultats ont montré que le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de feuilles d'olivier est supérieur à celui de l'extrait aqueux. Selon **Hayes et al. (2011)**, ces résultats de la méthode FRAP indiquent une très forte activité antioxydante pour l'extrait méthanolique, ce qui confirme vos observations. La diminution de la capacité de réduction du fer peut servir d'indicateur du potentiel antioxydant des composés, car la présence d'agents réducteurs (tels que des antioxydants) provoque la conversion du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Bien que le fer soit essentiel, c'est un minéral réactif qui peut induire des dommages oxydatifs dans les tissus et cellules vivants, comme l'ont souligné (**Bourgou et al. 2008**). En conclusion, la classification des deux extraits de feuilles d'olivier selon leur activité antioxydante mesurée par la méthode FRAP est la suivante : l'extrait méthanolique a montré de meilleurs résultats.

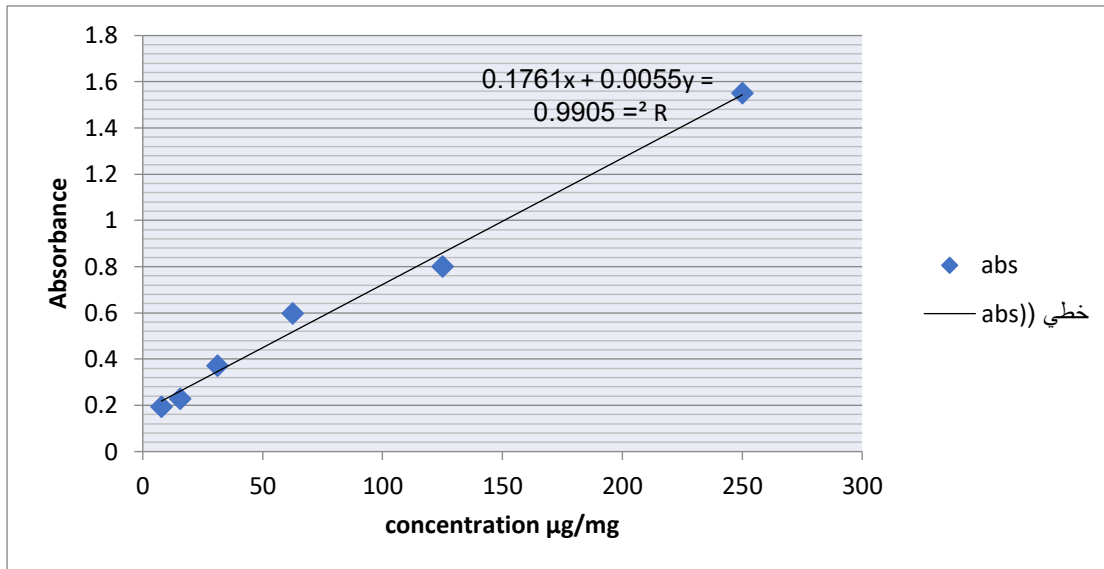


Figure 19: courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test de FRAP.

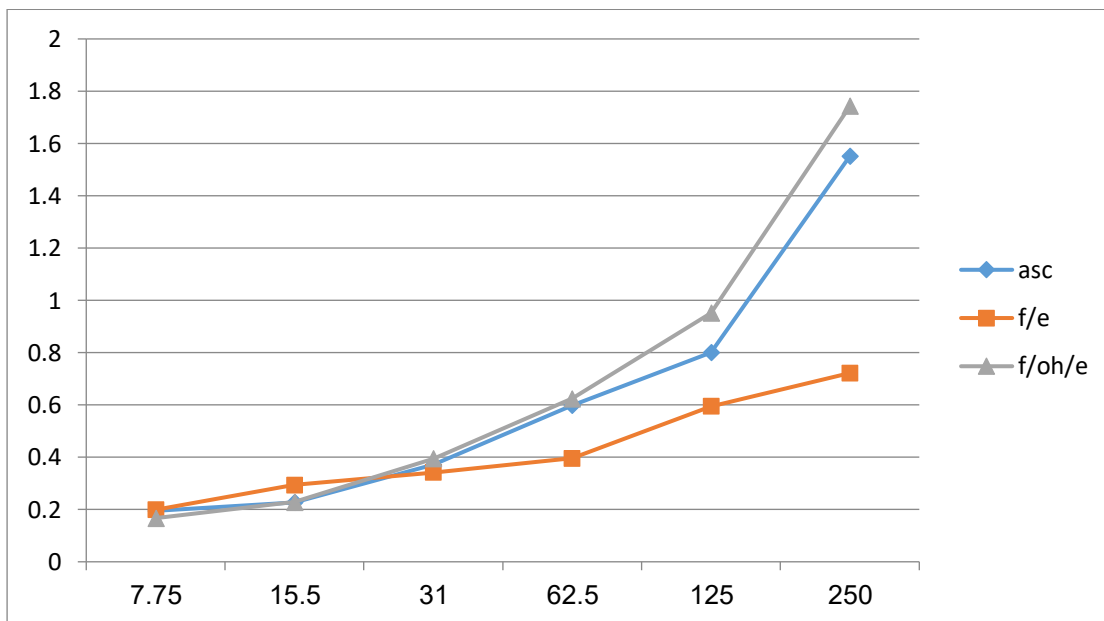


Figure 20: Test de réduction du fer.

5. Evaluation de l'activité antibactérienne:

Les résultats de cette étude indiquent que les extraits aqueux de la partie aérienne de la feuille d'olivier ont démontré une faible activité inhibitrice par rapport aux extraits méthanoliques sur la croissance des quatre souches bactériennes testées. Ces observations peuvent être expliquées par les résultats de l'analyse chimique des extraits, qui ont révélé la présence de composés tels que des tanins, des flavonoïdes et des polyphénols. Il a été prouvé que ces composés possèdent des propriétés antimicrobiennes (Bouزيد, 2011). Différentes classes de polyphénols, notamment les tanins et les flavonoïdes, peuvent augmenter la toxicité

des extraits envers les micro-organismes. Cette toxicité dépend de la localisation et du nombre de groupes hydroxyles présents dans le composé phénolique (Harrar, 2012). Une hydroxylation plus importante est associée à une toxicité accrue. Les phénols peuvent exercer leur effet antimicrobien en inhibant la croissance bactérienne par adsorption sur les membranes cellulaires, en interagissant avec des enzymes et des effecteurs, ou en privant les micro-organismes de substrats et d'ions métalliques (Dhaouadi *et al.* 2010). De nombreuses études ont également démontré l'activité antimicrobienne et anti-infectieuse des flavonoïdes. Cette activité est principalement attribuée à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN, la synthèse d'enzymes et de protéines membranaires chez les micro-organismes (Ulanowska *et al.* 2006) (Tableau 05 et 06).

5.1. Antibiotiques Témoins (ATB-G):

Les résultats obtenus démontrent que la gentamicine est hautement efficace contre la plupart des espèces bactériennes, en particulier les bacilles à Gram négatif. Ces résultats concordent avec l'étude menée par Schorderet en 1998, qui a également rapporté l'efficacité de la gentamicine dans le traitement des bactéries aérobies à Gram négatif. La gentamicine est un antibiotique bactéricide qui agit en inhibant spécifiquement la synthèse protéique normale chez les bactéries sensibles, ce qui entrave leur croissance. Son activité antibactérienne se manifeste par une inhibition de la synthèse des protéines. Dans le cas des bactéries à Gram positif, elle pénètre à travers les interstices du peptidoglycane. En revanche, chez les bactéries à Gram négatif, la gentamicine utilise les porines de la membrane externe pour pénétrer dans la cellule. Une fois à l'intérieur de la membrane cytoplasmique, la gentamicine se fixe au ribosome et est ensuite activement transportée jusqu'à celui-ci. Cette interaction provoque une déformation irréversible du ribosome, l'empêchant d'initier la synthèse protéique.

Malgré les propriétés antibactériennes remarquables de la feuille d'olivier mises en évidence dans notre étude, il est important de noter que son effet est moins puissant que celui de l'antibiotique gentamicine (G). Cette différence significative peut s'expliquer par divers facteurs, tels que les variations importantes dans la composition chimique et l'activité de la feuille d'olivier, qui dépendent notamment de la variété et de la période de récolte (Athamena, 2009). L'activité antibactérienne des extraits aqueux et méthanoliques de feuille d'olivier a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion en agar sur quatre souches bactériennes. Les résultats obtenus ont démontré que la zone d'inhibition, qui est une mesure de l'efficacité antibactérienne, augmentait de manière significative avec l'augmentation de la concentration

des extraits. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Dordevicet al.** dans leur étude publiée en 2007.

6. Evaluation d'activité antibactérienne et antifongique:

Tableau 05: Résultats des tests antibactériens d'extraite aqueux.

Souches utilisées	Inhibition microbienne			
	120mg/ml	60mg/ml	30mg/ml	15mg/ml
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	NI	NI	NI	NI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	12	NI	NI	NI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25932	NI	NI	NI	NI
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 25973	NI	NI	NI	NI
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	NI	NI	NI	NI

Tableau 06: Résultats des tests antibactériens de l'extrais méthanolique.

Souches utilisées	Inhibition microbienne			
	120mg/ml	60mg/ml	30mg/ml	15mg/ml
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	16	9	NI	NI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	8	NI	NI	NI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25932	15	9	NI	NI
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 25973	14	13	13	NI
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	NI	NI	NI	NI

L'extrait méthanolique a montré une activité inhibitrice significative contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, avec des zones d'inhibition allant de 9 à 16 mm aux concentrations testées (120 mg/ml, 60 mg/ml, 30 mg/ml). En revanche, l'extrait aqueux n'a montré aucune activité inhibitrice contre ces bactéries, les zones d'inhibition atteignant 0 mm à toutes les concentrations. De plus, l'extrait aqueux a montré une activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec une zone d'inhibition de 12 mm à forte concentration, contrairement à l'extrait méthanolique qui présentait une zone d'inhibition de seulement 8 mm. Ces résultats indiquent que l'extrait méthanolique est généralement plus efficace que l'extrait aqueux pour inhiber la croissance d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, tandis que l'extrait aqueux semble être plus efficace contre *Pseudomonas*

aeruginosa. De plus, il n'y avait aucune activité inhibitrice contre *Candida albican* dans les extraits méthanoliques et aqueux à différentes concentrations. Selon les études citées, les polyphénols, notamment les flavonoïdes et les tanins, sont reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Le mécanisme d'action de ces composés peut impliquer l'inhibition d'enzymes hydrolytiques, l'inhibition des adhésions microbiennes, du transport et des protéines de l'enveloppe cellulaire (Cowan M.M., 1999). Des travaux ont démontré que de nombreux flavonoïdes ont un effet significatif sur différentes souches bactériennes Gram-négatives et Gram-positives (Sousa et Ton, 2007 ; Ulanovska et al. 2007). Cependant, le mécanisme d'action des agents antimicrobiens sur les levures n'est pas encore bien compris (Isono et Suzuki, 1979). Les résultats de l'étude montrent que les extraits de feuilles d'olivier ont un pouvoir inhibiteur contre les souches bactériennes testées, mais aucune activité inhibitrice sur les souches fongiques n'a été observée, pour des raisons encore inconnues. Ces résultats ouvrent la voie à d'autres études visant à déterminer les causes responsables de ces effets.

Conclusion générale

Conclusion

La culture d'olivier fait partie de notre paysage écologique depuis des milliers d'années. Aujourd'hui encore, elle perdure grâce à sa grande diversité. Actuellement, de nombreuses plantes médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes.

Notre étude a porté sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antimicrobienne de deux extraits de feuilles d'olivier. Sur le plan pratique, on a visé principalement à la déterminer la quantité de polyphénols des flavonoïdes et des tanins présents dans l'extrait hydro-méthanolique et aqueux des feuilles d'olivier cultivée dans la région de Mughayir. Ainsi que sur l'évaluation de leur activité antioxydante et antimicrobienne.

La première étape, l'extraction des composés phénoliques, a permis de calculer le rendement d'extraction par macération (eau + méthanol) et eau (20,9% et 10,095%, respectivement). L'analyse qualitative réalisée par criblage phytochimique a révélé la présence de plusieurs familles de composés naturels comme les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes et les polyphénols.

L'évaluation quantitative des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins totaux a également révélé des quantités significatives de polyphénols et de flavonoïdes. L'extraction par la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu a montré que l'extrait aqueux et l'extrait hydro-méthanolique des feuilles d'olivier étudiées variaient respectivement entre $62,69 \pm 0,092$ et $99,96 \pm 0,007$ mg EAG/gMS. Les flavonoïdes ont été déterminés à l'aide de la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3), avec des valeurs standards de $30,43 \pm 0,002$ mg Eq/g et $23,37 \pm 0,001$ mg Eq/g, respectivement. La quantité de tanins condensés a été mesurée par la méthode à la vanilline, qui a donné une valeur de $1,56 \pm 0,003$ et $1,47 \pm 0,003$ mg Eca/g MS. Les résultats du test FRAP ont montré que, par rapport à la teneur en composés phénoliques, les extraits de tanins condensés des parties aériennes des feuilles d'olivier contenaient de puissants antioxydants.

L'activité antibactérienne a été évaluée contre quatre souches *Escherichiacoli*, *Pseudomonasaeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. L'activité antifongique a également été évaluée contre la souche *Candida albicans*, mais n'a révélé aucune activité inhibitrice pour aucun des deux extraits. Cela indique que cette plante représente une source prometteuse de composés naturels à très haute activité biologique, et que cette activité varie d'un extrait à l'autre et selon la méthode d'extraction, ce qui affecte la nature des composés présents dans les extraits et leur efficacité dans l'activité biologique de ces composés.

Il est important de réaliser des études plus approfondies, qui se résument dans les points suivants

- Analyses qualitatifs et quantitatifs plus précis pour les extraits obtenues.

- Évaluation d'autres activités telles que : antidiabétiques, antimicrobiennes, anticancéreuses, etc..
- Réalisation d'études in vivo pour identifier les tissus et organes cibles et pour étudier les mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire.

Références bibliographiques

A

AGGOUN-ARHAB, M. 2016- Caractérisation de la composition en microconstituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse : Sciences Alimentaires. Constantine : UNIVERSITE FRERES MENTOURI. 145p.

Alupului A. Microwave extraction of active principles from medicinal plants. U.P.B. Science Bulletin, Series B 2012.74.

ANDRÉ BELOT ,JACQUES BROUSSE 2004 ,”Tout savoir sur les arbres et les arbustes 161.162.Loussert R. Et Brousse C. (1978). Contribution à l'étude de l'oléiculture dans les zones arides : Cas de l'exploitation de Dhaouia (Wilaya d 'ElOued).Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Agronomie Saharienne. Université Kasdi Merbah-Ouargla.77p.

ANDRÉ BELOT ,JACQUES BROUSSE 2004 ,”Tout savoir sur les arbres et les arbustes 161.162.

Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S., BektaşoğluB., Berker K. And Özyurt D. (2007).Comparative evolution of various total antioxidant capacity assays Artaud Monique. L'olivier et ces contributions dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique, 06-07.

Argenson C., Régis S., Jourdain J. M., Vaysse P. (1999). L'olivier. Ed. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes. 204.

Armutcu F., Akyol, S., Hasgul R., Yigitoglu M. (2011). Biological Effects and the Medical Usage of Olive Leaves. Spat Dpeer Rev J Complement Med Drug Discov. 1:P.159.

Athamena. (2009). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminumcyminum et les feuilles de Rosmarinusofficinalis et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de Magister en Biologie, Université El-Hadj Lakhdar. Batna, Algérie.88p .

Athamena. (2009). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminumcyminum et les feuilles de Rosmarinusofficinalis et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de Magister en Biologie, Université El-Hadj Lakhdar. Batna, Algérie.88p .

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. (2009).Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry 112, 303–309.

B

Bagre, I., Bahi, C., Gnahoue, G., Djaman, A.J. et Guede, G.F. J. (2007). Composition phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits des feuilles de *Morinda Morindoides* (Baker) Milne-Redhead (Rubiaceae) Sur *Aspergillus Fumigatus* et *Candida Albicans*. Sci.Ttp://Www.Ufrspb.Ci/Cf/Doc2_31. Pharm. Biol,8, N°1, 15-23. En Ligne

Beck J.S. et Danks F. (1983).Determinación del umbral de tratamientos para la mosca del olivo *Bactrocera oleae* Gmel, (Diptera, Tephritidae) en olivar destinado a la producción de aceite. Bol.Sanid. Vegetal Plagas 21,577-588.

Bekro, Y-A., Bekro, J. A., Boua, B. B., Tra Bi, F. H. et Ehile, E. E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpinaceae). Sciences & Nature, Vol . 4 N°2, 217 – 225 .

Belyagoubi Nee Benhammou, N. (2012). Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en substances naturelles, Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen, Algérie .

Benariba N., Djaziri R., Bellakhdar W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse WJ., Sener A., Abdelkrim C. (2013) . Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. Asian Pac J Trop Biomed 1, 35-40.

BENSEMMANE A., 2009. L'oléiculture: Développons le secteur de l'Huile d'Olive en Algérie. Revue Fillaha Innove N°4 Avril-Mai 2009. 23p.

Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E. et Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques a partir de Pellicules D'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Revue De Génie Industriel, 7, 35-45. En Ligne [Http://Www.RevueGenie-Industriel.Info](http://www.RevueGenie-Industriel.Info) .

Boros B ., Jakabova S., Dornyei A., Horvath G., Pluhare Z ., Kilarf F and Felinger A.(2010).Determination of polyphenolic compound by liquid chromatography-mass spectroscopy in thymus species .Journal of chromatography 51, 7972-7980 .

Botsoglou E., Govaris A., Christaki E. and Botsoglou N. (2010). Effect of dietary olive leaves and/or α -tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. Food Chemistry 121, 17-2.

Botsoglou E., Govaris A., Moulas A et Botsoglou N., 2010. Oxidative stability and microbial growth of turkey breast fillets during refrigerated storage as influenced by feed supplementation with olive leaves, oregano and/or α -tocopherylacetate. *British Poultry Science*. 51 : 760-768.

Bouabdallah A. Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (Olea europea) [thèse]. Tlemcen : Université Abou BekrBelkaïd 1; 2014. p. 57.

Bouaziz M. and Sayadi S. (2003). High yield extraction of oleuropein from chemlali olive and leaves and bioconversion to hydroxytyrosol. *Polyphénolsactualités* 23,11-15.

Bouaziz M., Fki I., Jemai H., Ayadi M. and Sayadi, S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. *Food Chemistry* 108, 253-262.

Boudjoure M. (2011) .Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits phénoliques d'Urticadioica Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention de diplôme de master académique en Biologie, Université MOULOUD MAMMARI de Tizi-Ouzou.

Bouhadjera, K. (2005). Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales Sahariennes Oudneya Africana R.Br. et Aristidapungens L. Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée, Université Abou BekrBelkaid, Tlemcen, Algérie. 143p .

Bourgou Soumaya, Ksouri Riadh, Bellila Amor, Skandrani Ines, Falleh Hanen, Marzouk Brahim. Phenolic composition and biological activities of Tunisian Nigella sativa L. shoots and roots. C. R. Biologies, 2008; 48-55.

Bouzi, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C et Ayachi, A. (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'Aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, Vol. (12), 59-69 .

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3^{ème} Ed, Paris. France, 1120 p.

Bruneton J., (2009). Pharmacognosie Phytochimie des Plantes médicinales. 4^{ème} Edition. Lavoisier, paris. P. 117-119.

Buettner GR. (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys* 300,535-543 .

C

Causse C. (2005). Les secrets de santé des antioxydants : C'est naturel, c'est ma santé. Alpen Editions s.a.m P. 30.

Chu WL., Lim Y W., Radhakrishnan A.K and Lim P.E. (2010).Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. BMC Complementar and alternative Medicine 10, 2-8.

Civantos L. (1983). Valorisation des sous-produits de l'olivier, Réunion du comité technique(FAO), 143-145.

Cowan, M. M. (1999). Plant Products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12 (4), 564 – 582 .

D

Daglia, M. (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology, 23, 1 – 8 .

De Buyser M. L., Sutra L. (2005). Staphylococcus aureus. In : Federighi M. Bactériologie alimentaire – Compendium d'hygiène des aliments. Economica, Paris, 25-51.

De Lucas A., Martinez de la Ossa E., Rincón J., Blanco M.A. and Gracia I. (2002).Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. The Journal of Supercritical Fluids 3, 221-228.

Delgado-Pertinez M., Gomez-Cabrera A. and Garrido A. (2000). Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemical composition and in vitro studies. Animal Feed Science and Technology 87,187-201.

Dhaouadi, K., Raboudi, F., Estevan, C., Barrajon, E., Vilanova, E., Hamdaoui, M. et Fattouch, S. (2010). Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts. J. Agric Food Chem,Vol. (59), 402- 406 .

Dharmendra, S., Poonam, S., Abhishek, G. Shikha, S., Ekta, S.et Rajeev, N. (2012). Qualitative estimation of the presence of bioactive compound in *Centella asiatica*: An important medicinal plant. International Journal of Life Science and Medical Science, Vol. 2N° 1, 5-7 .

Djahra, A.B. (2015). Cours phytochimie II 2eme Année master. Université Echahid Hamma Lakhdar El-oued. 33p .

Dordevic, S., Petrovic, S., Dobric, S., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Zizic, S. et Kukic, J. (2007).Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J Ethnopharmacol*, 109: 458-463 .

E

EBRAHIMZADEH M.A., POURMMORAD F. ET HAFEZI S., 2008- Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish journal of biology.*, Vol. 32: 43-49 .

El-Haci IA, Atik-Bekkara F, Didi A, Gherib M, Didi MA. (2012) .Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie* 10, 280-285.

F

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008).Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *C. R. Biologies*, Vol. (331), 372-379 .

FAOSTAT.,2013Siteweb.

http://faostat.fao.org/https://fr.wikipedia.org/wiki/Olivier_24/04/2018.

Farag R.S., Mahmoud E.A. and Basuny A.M. (2007). Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science &Technology* 42,107-115.

Favier A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*,108 -115.

Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson .

Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix JJ. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* , 121-216 .

Frédéric L. (2011). Contribution à l'étude du stress oxydant cellulaire chez le chien de traîneau en course de sprint. Thèse doctorat, Centre hospitalier universitaire vétérinaire de VetAgro Sup. France. P. 66-70.

G

Gammoudia, A. Dandanaa, H. Chaheda, S. Ferchichia, S. Ernezb, A. Mileda. 2013. Évaluation des paramètres du stress oxydant chez des Patients coronariens. Immuno-analyse et biologie spécialisée ,p 39–42 .

Garcia-Gómez A, Roig A, & Bernal MP. Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *BioresourceTechnology*2003.86 .59-64.

Georges J. Aillaud. (1985). L'olivier et l'huile d'olive, le point de vue des botanistes- Institut de recherches et d'études sur le monde arabe et musulman.

Ghanbari R ., Farooq A., Alkharfy Khalid M., Gilani A-H. and Saari N. (2012). Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea L.*) A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 3291-3340.

Giao M.S., Gonzalez-Sanjose M.L., Rivero-Perez M.D., Pereira C.I., Pintado M.E. and Malcata F.X. (2007). Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of Science Food & Agriculture* 87,2638-2647.

Gomes S ; Martins-Lopes P et Guedes-Pinto H., 2012. Olive Tree Genetic Resources Characterization through Molecular Markers, Genetic Diversity in Plants, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0185-7, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/genetic-diversity-inplants/olivetree-genetic-resourcescharacterization-through-molecular-markers> .

Goudable, J. & Favier, A. 1997 . Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 11. P 115-120 .

Guignard J., Dupont F. (2004). Systématique moléculaire. Botanique : la famille des plantes. Editions Masson, Paris, France. 336.

H

HARRAR A.E.N., 2012- Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 113p .

Hassina, B., & Delloula, N. (2020). Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des feuilles d'olivier.

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

Heller W and Forkmann G.(1993). Biosynthesis of flavonoids. Chapman and Hall, science et thérapeutique. Ed Lavoisier, Paris, 692 p.

Henry S. (2003). L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université Henri Poincaré Nancy 18, 22-214.

Hopkins W .(2003). Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris, 514 p.

Hoyos-Martinez, P. L., Merle, J., Labidi, J., & Charrier–El Bouhtoury, F. (2019). Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *Journal of Cleaner Production*, 206, 1138-1155 .

I

Irving, W., Ala'Aldeen, D. et Boswell, T. (2005). *Medical Microbiology*. Collection Instant Notes. Taylor et Francis. 350p .

Iserin P, Masson M, Restellini J. P, Ybert E, De laage de meux A, Moulard F, Zha E., De la roque R, De la roque O, Vican P, Deesalle -feat T, Biaujeaud M, Ringuet J, Bloth J et Botrel A. (2001).

J

Jemal H., Bouaziz M., Fkii., EL fakia A., Sayadi S. (2008). Hydrolytic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis deriva.

JOHN C, PENELOPE J, HASLAM S ET CRAIG M, 2014- Self and Collective: Cognition and Social Context, vol 20, N°5, 454-463 .

K

Kanoun, K.(2011) . Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister en biologie, Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, Algérie. 37-41p .

Karakaya S. (2009). Olive tree(*Olea europaea*) leaves : potential beneficial effect on human health .nutrition reviews 67,632-638.Ghedira K. (2008). L'olivier. Phytothérapie 6, 83-89.

Karumi, Onyeyili, et Ogugbuaja. (2004). Identification of active principals of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. J Med Sci, 4, 179-182 .

Kayser, M.D. F. H., Bienz, K. A., Eckert, Ph.D. J. et Zinkernagel, M.D. M. R. (2005). Medical Microbiology. Edition Thieme. 698p .

Khanbaba K., Ree T.R.Tannins.(2001).Classification and Defenition. Journal of Royal Society of Chemistry 18, 641-649 .

Khoumeri, L. (2009). Influence de la photopériode, des milieux de culture et des hormones de croissance sur le développement in-vitro des embryons et des microboutures de l'olivier (*Olea europaea* L.) Var Chemlal [PhD Thesis]. Thèse. Ing. 100p.

Knaggs A.R.(2003). The biosynthesis of shikimate metabolites. Natural product reports 20,36- 119 .

Koechlin-Ramonatxo C. (2006).Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme. 20 : P. 165-177.

Koechlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme. 20 : P. 165-177.

Koffi, G., Kadja , B., Guédé , N., Zirihi , Traoré, D. et Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). Sciences & Nature , Vol. 6 N°1, 1 – 15 .

Komaki E., Yamaguchi S., Maru I., Kinoshita M., Kakehi K. Ohta Y. and Tsakada, Y.(2003). Identification of Anti-Amylase Components from Olive Leaf Extracts. Food Science. Technology. Research 1, 35-39.

L

Lagnika, L. (2005), Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur. Strasbourg, p 249.

LAHOUZI A et MADANI H, 2017- Contribution à l'étude de l'entomofaune de l'olivier dans la région de Haizer (Bouira), Mémoire , 70 p.Larousse des plantes médicinales: identification, préparation, soins. 2éme édition de Vuief, Hong Kong, 335p.

Lee OH., Lee B., Lee G ., Lee H.B., Parck C.S. (2009).Assessment of phenolic enriched extract and fraction of olive leaves and thier antioxidants activities. bioresource technology 100 ,6107 -6113.

LEE, J. T. ; BAILEY, C. A. ; CARTWRIGHT, A. L., 2003. Beta-Mannanase ameliorates viscosity-associated depression of growth in broiler chickens fed guar germ and hull fractions. Poul. Sci., 82 (12): 1925-1931.

Lopez D., Vlamakis H. &Kolter R Generation of multiple cell types in *Bacillus subtilis*. **FEMS MicrobiologyReviews. Jan 2009 .**

Loussert R. et Brousse G. (1978) .L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne 58, 62-77,128-136.

M

Macheix J., Fleuriet A et Sarni-manchado P. (2006). Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Technique et Documentation, Paris. France ,

Macheix Jean-J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005). Les Composés Phénoliques Des Végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Collection biologie, 10-11.

MACHEIX, J.J., FLEURIET, A. ET JAY-ALLEMAND, C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne.

Marc, T., Gerard, W. et Denis, L. (2001). Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux (4ème Edition). 426p .

Maurent k. (2017) . Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde, évaluation de leurs propriétés Antioxydantes et anti-inflammatoires. Thèse de Doctorat Chimie organique, Université Paul Sabatier de Toulouse, France. P. 9.

Maurent k. (2017). Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde, évaluation de leurs propriétés Antioxydantes et anti-inflammatoires. Thèse de Doctorat Chimie organique, Université Paul Sabatier de Toulouse, France. P. 9.

Maurice N. (1997). L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Lavoisier, Paris, 12- 14.

Max L,2004.L'olivier et la préparation des olives en Provence 10 p.Rol R. et Jacamon M., 1988 - Flore des arbres, arbustes et arbrisseaux. Ed. La Maison rustique, Paris, p51. Medical Usage of Olive Leaves. Spat DPeerRev J Complement Med Drug Discov. 1: P. 159.

MENDIL M., 2009. L'oléiculture: Expériences algériennes. Revue Fillaha Innove N°4 Avril- Mai 2009. 23p.

MEZIANI W ET CHACHOUA T, 2018- Enquête sur l'évolution de la production oléicole dans la wilaya de Bouira (subdivisions M'chedallah et Elesnam), Mémoire , UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA, 69 p.

Meziti, A. (2009). Activité antioxydant des extraits des graines de *Nigella sativa* l'étude in vitro et in vivo. Mémoire de magister en Molécules Bioactives, Université El-Haj Lakhdar Batna, Algérie. 71p .

Mika A., Minibayeva F., Becket t., Lidhje S. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. Phytochem. Review. 3: P. 173-193.

Mika A., Minibayeva F., Becket t., Lidhje S. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. Phytochem. Review. 3: P. 173-193.

MILIAUSKAS G, YENKUTONIS PR, VAN BEEK TA, 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plants extracts. Food Chem. ;85:231237 .

MILIAUSKAS G, YENKUTONIS PR, VAN BEEK TA, 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plants extracts. Food Chem.

Mohammedi, Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Pplantas médicinales de la région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en biologie, Université De Tlemcen, Algérie. 82p .

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

N

Nabit, L. Z. et Belhattab, R. (2016). In vitro antioxidant activity of *Oudneya africana* R. Br. Aerial Parts. Issues In Biological Sciences And Pharmaceutical Research, 4(6), 58-64 .

Nacks M., Shahidi F. (2004). Extraction and Analysis of phenolics In Food. Journal of chromatography A 1054, 11-95 .

Naoya K, Naotaka K. (2014). Analytical techniques for the determination of biologically active quinones in biological and environmental samples Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 87, 261–270.

Nefzaoui, A. (1991). Valorisation des sous-produits de l'olivier. Options Méditerranéennes, 16, 101-108.

NEFZAOU, A. (1995). Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. Advanced course. Syria 12-23 March 1995.

Nimse S.B., Pal D. (2015). Free radicals, naturel antioxydants, and their reaction mechanisms. RSC advances journal 5: P. 27986-28006.

O

Omulokoli E., Khan B. and Chhabra S.C. (2000). Antiplasmodial Activity Of Four Kenyan medicinal plants. J. Ethnopharmacol 56, 133-137 .

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

Özcan M. M., Matthäus B., 2017. A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *European Food Research and Technology*. 243(1): 89-99.

P

Pastre J. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des Carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 120p.

Patrick 1., Graham, (2002) livre de chimie pharmaceutique département of Chemistry, paisley university traduction de la 2^{ém} édition par Paul depovere. P.375-380 ; 429-431.

Pereira A-P., Ferreira I., Marcelino F., Valentão P., Andrade P-B., SeabraR., Estevinho L., Bento A. et Pereira J-A. (2007). Phenolic compound and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molécules* 12, 1153-1162.

Porter L. J., Hirtstich L. N., Change B. J. (1986). The convention of procianidins and prodlephinidins to cyanidines and delphenidines , *Phytochemistry*, 25:P.223-230.

Piquet M., Hébuterne X. (2007). Nutrition en pathologie digestive ; Edition, Doin ; P. 16-20.

R

Roué M.(2011). Contribution de la flore bactérienne associée au métabolisme secondaire de l'éponge calcaire *Clathrinaclathrus*. Doctorat de l'université Pierre et Marie Curie .

S

Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier, 2- 10 .

Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875 – 3883 .

Scalbert, A. (1992). Quantitative methods for the estimation of tannins in plant tissues. In: Hemingway R.W., Laks P.E. (Eds). *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance*. Plenum Press, New York .

Schofield, P., Mbugua, D. M., Pell, A. N. (2001). Analyses of condensed tannins. *Anim. FeedSci. Technol.*, 91, pp 21-40 .

Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins, *J. Agric. Food Chem.*, 46, pp 4267-4274 .

T

Tadashi U. (2006). Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese, 7.

Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J. et Hilali A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydant et la composition physico chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Mater. Environ. Sci*, 6 (4), 11111117 .

Talhaoui N., Taamalli A., Gómez-Caravaca A. M., Fernández-Gutiérrez A. and SeguraCarretero A. (2015). Phenolic compound in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International* 77, 92–.1108p.

Thomas, M., Emilie, D., Gaëtan, L. F., Marie, E. L., Claire, E. (2012). Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chemistry* 131:754-760 .

U

ULANOWSKA et al., 2007. ULANOWSKA K., MAJCHRZYK A., MOSKOT M., JAKÓBKIEWICZ-BANECKA J. et WĘGRZYN G., 2007- Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia* 62:132-135.

Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G & Wegrzyn, G. (2008). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol*, 184 (5), 271 –278 .

V

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M. et Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160, 1-40 .

Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. (2004). Tantioxidants and pro-oxidants network: an overview. *CurrPharm Des.* 10 : P. 1677-1694 .

W

Wichtl M et Anton R.(2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, Systematics and Ecology 3, 255-260 .

Y

Yuhong L., Qingsheng L., Huiqing K., Chen Z., Xiong L., Qiuyan L. and Meiling L. (2006). Study on using microwave to extract flavonoid antioxidants from olive leaves. *Journal written in Chinese* 8, 111-114.