

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité/Option : Qualité des produits et sécurité alimentaire

Département : Biologie

Thème

Effet d'extrait des feuilles d'olivier sur les bactéries pathogènes : Synthèse bibliographique

Présenté par :

BOUSLIBA AMEL

BOUABID RIHANA

Devant le jury composé de :

Présidente	SLIMANI A.	M.C.B	Université de Guelma
Examinatrice	SOUMATI- SOUIKI L.	Pr.	Université de Guelma
Encadreur	MEZROUA E.	M.C.B	Université de Guelma

Octobre 2020

Remerciement

Nous remercions tout d'abord **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous adressons d'abord nos sincères remerciements à **M^{me} SLIMANI** pour l'honneur qu'elle nous fait d'être présidente de jury.

Nous exprimons nos vifs remerciements à **M^{me} SOUMATI-SOUIKI** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à **M^r MEZROUA EI YAMINE** pour nous avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils, ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humain

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Chapitre 1 : L'olivier

1. L'olivier..... 4

1.1. Historique..... 5

1.2. Description botanique 5

1.3. Classification et systématique..... 7

1.4. L'olivier dans le monde..... 8

1.5. L'olivier en Algérie..... 10

2. Feuilles d'olivier 13

2.1. Caractéristiques physiques et chimiques des feuilles d'olivier 14

2.1.1. Métabolites primaires 14

2.1.2. Métabolites secondaires 15

2.2. Utilisations pharmacologiques 15

2.2.1. Activité antimicrobienne..... 15

2.2.2. Activité antioxydante 15

2.2.3. Activité anticancéreuse 15

2.2.4. Activité antinociceptive 16

2.2.5. Activités antidiabétiques..... 16

2.2.6. Troubles cardiovasculaires 16

2.2.7. Activité hypolipidémique 16

2.2.8. Activités neuroprotectrices..... 17

Chapitre 2 : Composés phénoliques des feuilles d'olivier

1. Composés phénoliques 19

2. Classification des composés phénoliques..... 20

2.1. Les acides phénoliques 22

2.2. Les tannins 22

2.3. Les flavonoïdes..... 22

3. Biosynthèse des composés phénoliques..... 23

3.1. La voie de Shikimate 23

3.2. La voie de l'acide malonique 23

4. Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques..... 24

5. Profil bioactif des feuilles d'olivier.....	25
6. Valorisation de sous-produits oléicoles.....	27
7. Déshydratation des feuilles d'olivier.....	32
8. Méthodes d'extraction et d'analyse des composés phénoliques.....	33
8.1. Techniques d'extraction conventionnelles.....	33
8.1.1. L'extraction solide-liquide (SLE).....	33
8.1.2. L'extraction liquide-liquide (LLE).....	34
8.2. Techniques d'extraction avancées.....	34
8.2.1. Extraction assistée par ultrasons.....	34
8.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (MAE).....	35
8.2.3. Extraction liquide sous pression (PLE).....	35
8.2.4. Extraction de fluide supercritique (SFE).....	36
9. Méthodes d'identification et de quantification des composés phénoliques.....	36
9.1. Méthode colorimétrique.....	36
9.2. Méthodes chromatographiques.....	37
9.3. Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	37
9.4. Méthodes couplées.....	37

Chapitre 3 : Activité antibactérienne d'extrait des feuilles d'olivier

1. Activité antibactérienne.....	39
2. Principales substances antimicrobiennes.....	39
2.1. Antibiotiques.....	39
2.2. Composés phénoliques.....	40
3. Détermination de l'activité antibactérienne.....	40
3.1. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980).....	40
3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	41
3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	42
4. Mécanisme d'action antimicrobien.....	42
5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles d'olive.....	43
5.1. Effet antibactérien des extraits aqueux de feuilles d'olive.....	44
5.2. Spectre d'activité antibactérienne des extraits phénoliques.....	45
5.3. Efficacité antimicrobienne des extraits phénoliques.....	46
5.4. Effets synergiques des composés phénoliques individuels et combinés de l'extrait de feuilles d'olivier.....	49
5.5. Effet de la méthode d'extraction sur l'activité antibactérienne des extraits phénoliques.....	50

5.6. Activité antimicrobienne de l'extrait commercial de feuilles d'olive	52
Conclusion générale	56
Références bibliographiques	58

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Figure 1 : L'olivier	4
Figure 2 : Les principales parties d'un olivier.....	6
Figure 3 : A) Photographie des olives mûrs et des feuilles ; B) photographie de l'olivier	7
Figure 4: Aires de répartition des oliviers au monde	9
Figure 5: Carte oléicole d'Algérie.....	10
Figure 6: Présentation de la wilaya de Guelma.....	12
Figure 7: Répartition Superficielle d'olive par zone.....	12
Figure 8: Formules brute et chimique d'une fonction phénol	20
Figure 9 : Structure générale des flavonoides	23
Figure 10 : Biosynthèse des composés phénoliques les plus largement distribués par la voie de shikimate.PAL : phénylalanine ammonia-lyase ; C4H : cinnmate 4-hydroxylase.....	24
Figure 11 : Exemples de polyphénols dans l'olivier. Glc-Glucose ; Rut-Rutinose	25
Figure 12 : Valorisation de sous-produits oléicoles	28
Figure 13 : Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'olivier pour la consommation humaine	29
Figure 14 : Détermination de l'activité antibactérienne par méthode de contact direct.....	41
Figure 15: Sites et mécanismes dans la cellule bactérienne considérés comme sites d'action pour les composés naturels.....	43
Figure 16: Effet inhibiteur des extraits d'olivier vis-à-vis de <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. Enteritidis</i> et <i>S. aureus</i>	47
Figure 17: Activité antibactérienne du meilleur extrait obtenu par macération en deux étapes avec de l'éthanol suivie de l'eau des feuilles séchées contre la bactérie <i>Escherichia coli</i>	50

Liste des tableaux

Tableau 1: Nombre d'oliviers et les superficies occupées par les oliveraies dans les six principaux pays méditerranéens oléicoles.....	9
Tableau 2: Composition chimique global des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100 g) selon plusieurs auteurs.....	14
Tableau 3: Classification des composés phénoliques	21
Tableau 4 : Les groupes phénoliques dans l'extrait de feuille d'olive (OLE)	26
Tableau 5: Une revue bibliographique sur les utilisations des feuilles d'olivier	30
Tableau 6: Activité antibactérienne des extraits aqueux de feuilles d'olive à différentes concentrations.....	44
Tableau 7: Taux de croissance microbienne en présence de différentes concentrations d'extraits de feuilles d'olivier et valeurs IC25	46
Tableau 8: Activité Antibactérienne de l'extrait brut aqueux et des polyphénols des feuilles d'olivier (Méthode de diffusion sur gélose), exprimée en diamètre d'inhibition	47
Tableau 9: Les Concentrations minimales inhibitrices exprimées en pourcentage	48
Tableau 10: Activités antimicrobiennes de l'oleuropéine, de rutine, de la vanilline, de l'acide caféique et de leur mélange en extrait de feuille d'olive.....	49
Tableau 11: Activité antibactérienne des feuilles d'olives extraits à différentes concentrations (Diamètre de la zone d'inhibition en mm)	51
Tableau 12: Données de susceptibilité pour les microorganismes (n = 122) testées sur l'extrait de feuille d'olive	53

Liste des abréviations

MS : Matière sèche

MAT : Matière azoté totale

MG : Matière grasse

CP : Composé phénolique

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

UV-VIS : Ultraviolet visible

SLE : Extraction solide -liquide

LLE : Extraction liquide-liquide

EAU : Extraction assistée par ultrason

MAU : Extraction assistée par micro -ondes

PLE : Extraction liquide sous pression

SFE : Extraction des fluides supercritique

EL : Extraction liquide

CO2 : Dioxyde de carbone

UV : Ultraviolet

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

CG : Chromatographie en phase gazeuse

MS : Spectroscopie de masse

LC : Chromatographie en phase liquide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CMB : Concentration minimale bactéricide

OLE : Extrait de feuille d'olive

IC25 : Concentration inhibitrice

MCF : Concentration minimale de champignons

Introduction générale

Introduction générale

L'olivier (*Olea europaea* L.) est l'une des plus anciennes plantes cultivées. Plus de 8 millions d'hectares d'oliviers sont cultivés dans le monde ; près de 98 % d'entre eux se trouvent dans le bassin méditerranéen (**Peralbo-molina de Castro et al., 2013**).

Les sous-produits dérivés des oliviers et des extractions d'huile d'olive sont généralement appelés « sous-produits d'olive » (**Özcan Matthäus et 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'élagage des arbres (**Botsoglou Govaris et al., 2010**).

On estime que l'élagage 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'élagage 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**).

Dans ce contexte général, l'objectif de notre travail est de montrer l'effet des extraits des feuilles d'olivier sur les bactéries pathogènes en réalisant une synthèse bibliographique.

Introduction générale

Donc, ce mémoire est composé de trois chapitres le premier est dédié à l'olivier, le deuxième, il traite les composés phénoliques des feuilles d'olivier, le troisième s'est focalisé sur l'effet des extraits de feuilles d'olivier sur les bactéries pathogène.

Chapitre I : L'olivier

1. L'olivier

Olive (*Olea europaea* L.) est la principale espèce cultivée appartenant à la famille monophylétique d'oléaceae, qui contient 30 genres et 600 espèces (Figure1). Les régions tempérées et tropicales de Malaisie et d'Asie sont les meilleures zones de croissance des olives. Le nom de genre *Olea* vient du mot grec « élasia », mais il est connu par 80 noms différents. Le genre *Olea* contient environ 30 à 35 espèces et est distribué en Asie, en Afrique, en Europe et en Océanie. *O. europaea* L. est la seule espèce comestible du genre *Olea*.

Le bassin méditerranéen est une région traditionnelle pour la culture de l'olivier, contenant 95% du total des vergers d'oliviers présents dans le monde. Les feuilles d'olivier (*O. europaea* L.) ont été largement utilisées dans les médicaments traditionnels comme extraits, tisanes et poudre dans les pays méditerranéens et européens.

Différents cultivars peuvent être distingués les uns des autres par la couleur et la forme drupe, la composition d'huile, la morphologie des feuilles et la phénologie. Les principaux points descriptifs correspondent à 42 caractéristiques de la morphologie des fruits, des feuilles et des pierres pour leur identification. Les cultivars d'olive peuvent être utilisés à des fins alimentaires ou pour la production d'huile. L'olive est une espèce à croissance lente et extrêmement longue, avec une espérance de vie allant jusqu'à 1000 ans (**Mushtaq et al., 2020**).



Figure 1 : L'olivier (anonyme 1).

1.1. Historique

L'olivier, arbre de la famille des oléacées, cultivé surtout dans le bassin méditerranéen depuis au moins 3500 ans avant notre ère. Il était dans l'antiquité grecque et romaine, un emblème de fécondité et un symbole de paix et de gloire. Le nom scientifique de l'arbre "Olea" vient d'un mot qui signifiait "huile" chez les grecques de l'antiquité. La culture de l'olivier prend son origine de la frontière Irano-Syrienne.

Récemment, par des travaux multiples, des botanistes de Montpellier concluent que « l'origine de l'olivier est beaucoup plus complexe que ce que l'on pensait » (**Amouretti et Brun, 1993**).

Dans la culture arabo-musulmane, l'olivier est un arbre particulier. Il fait partie des arbres cités dans le coran et à ce titre, il est l'objet d'un respect d'autant plus que ses vertus déjà signalées dans le coran sont approuvées par des études scientifiques.

1.2. Description botanique

D'après (**Amouretti et Brun, 1993**), l'aspect général de l'olivier est celui d'un arbre toujours vert dont les dimensions et les formes sont extrêmement variables. L'olivier se distingue par sa longévité, il peut devenir plusieurs fois centenaires, voire même millénaire. Il est de 6 à 8 m de hauteur et pouvant atteindre 10 m.

- **Les racines** : elles sont bandées et avec beaucoup de ramifications superficielles s'étendent de 2 à 3 fois la hauteur de la plante et poussent en profondeur dans les sols fertiles, jusqu'à 1,5 -2 mètres (**Amouretti et Comet, 1985**)

Le système racinaire a les fonctions suivantes :

- Ancrage de l'arbre.
- Absorption de l'eau et des nutriments.
- Synthèse de diverses matières organiques.
- Stockage des nutriments.

Les fonctions du système racinaire dépendent de la variété, des conditions du sol et des pratiques culturales (**Therios, 2009**).

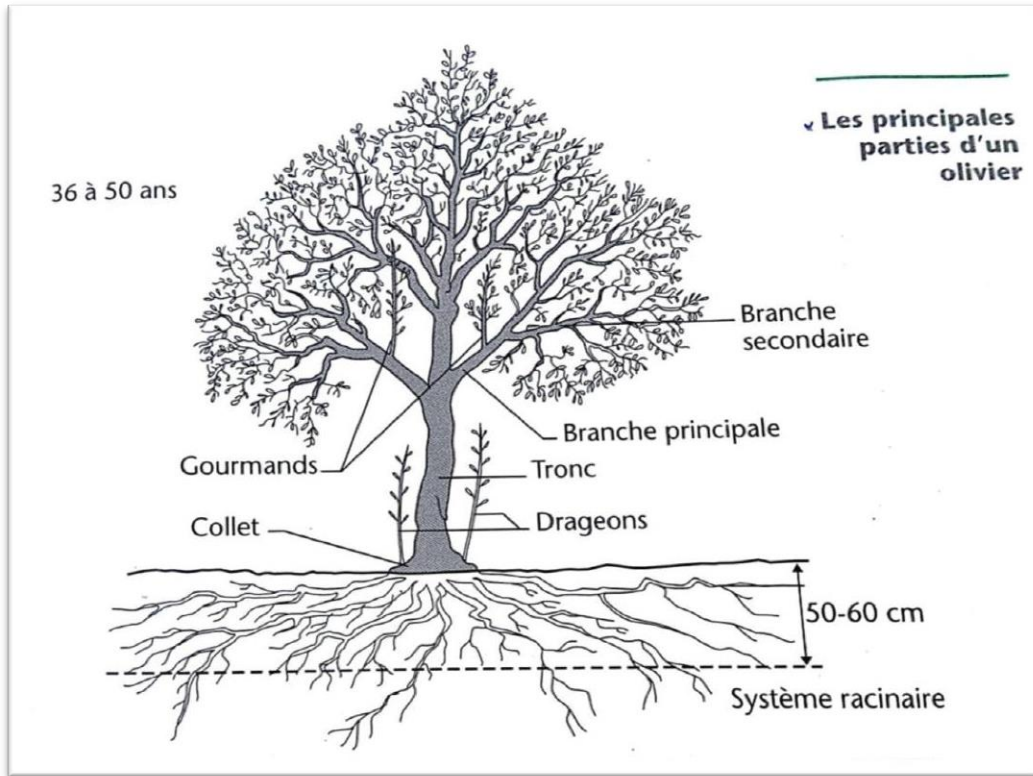


Figure 2 : Les principales parties d'un olivier (Argenson, 1999).

- **Le tronc :** il est cylindrique, avec une surface irrégulière, portant de nombreux renflements. Le bois est jaunâtre et plus foncé vers le centre du tronc. L'aspect gracieux et vallonné de l'olivier peut être assez attrayant. Dans un jardin entièrement vert, son feuillage grisâtre sert de contrepoint intéressant. Le motif attrayant des branches noueuses est également très caractéristique. Les arbres sont tenaces, ils repoussent facilement même lorsqu'ils sont coupés au sol.
- **Les feuilles :** Sont disposées de façon opposée, de forme oblongue et lancéolée, de 5 à 6 cm de long en moyenne. Elles sont de couleur vert foncé à leur face supérieure et présentent un aspect argenté, dû à la pruine, à leur face inférieure.
- **Les fleurs :** Petites et blanches jaunâtres, à quatre pétales, sont réunies en grappes à l'aisselle des feuilles (Therios, 2009).

- **Le fruit** : L'olive est une drupe, de forme sphérique ou elliptique, composée de l'exocarpe (peau), qui contient les stomates, du mésocarpe (flesh), qui est la partie comestible du fruit, et de l'endocarpe (noyau), y compris la graine. Le fruit de l'olivier est noir violacé lorsqu'il est complètement mûr, mais quelques cultivars sont verts lorsqu'ils sont mûrs et certaines olives prennent la couleur du brun cuivré. La taille du fruit de l'olivier est variable, même sur un même arbre, et dépend du cultivar, de la charge fructifère, de la fertilité du sol, de l'eau disponible et des pratiques culturales (**Therios, 2009**).

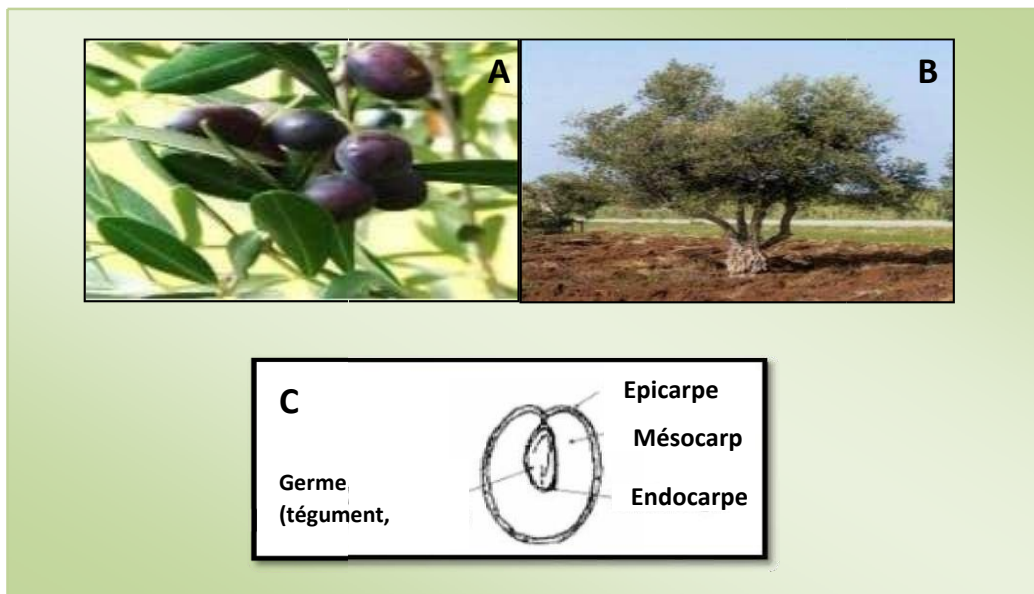


Figure 3 : A) Photographie des olives mûres et des feuilles ; B) photographie de l'olivier
C) Les différentes parties composant l'olive (**anonyme 2**).

1.3. Classification et systématique

Selon (**Amouretti et Comet, 1985**), l'olivier est classé dans la famille des oléacées qui comporte 25 genres où l'on rencontre aussi le frêne (*Fraxines*) ; le lilas (*Syringa*).

Le genre *Olea* comporte 30 espèces différentes réparties à la surface du globe. (**Emberger, 1960**) a classé cette famille dans l'ordre des Ligustrales, ordre appartenant au phylum des Térébinthales. D'après ces auteurs, la classification est la suivante :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Gamopétales
Ordre :	Ligustrales
Famille :	Oleacées
Sous famille :	Oleoidées
Genre :	Olea
Espèce :	<i>Olea europea L.</i>

1.4. L'olivier dans le monde

L'olivier est cultivé dans des aires géographiques où les chutes de pluie annuelles sont en moyenne de 350 à 400 mm et les températures estivales de 40°C ce qui correspond à la zone tempérée entre 30 et 45° parallèle Nord Sud.

La superficie oléicole dans le monde est estimée en 2007 à 10 492 000 hectares correspondant à plus de 800 millions d'arbres avec une augmentation annuelle de 150 000 hectares pour la période allant de 2001 à 2005, cet arbre typiquement méditerranéen, compte environ 840 millions d'oliviers qui sont implantés en méditerranée, et 90 millions dans le reste du monde (**Emberger, 1960**).

Les oliveraies sont de l'ordre de 10 millions d'hectares, soit une densité moyenne de 80 oliviers par hectare (**Anonyme, 2014**). Les variations observées dans les densités de plantations sont liées aux conditions climatiques et topographiques et aux objectifs de production recherchés.

Sur l'ensemble de la superficie oléicole, 53% reviennent aux pays de l'Union Européenne, 27% aux pays du Maghreb, 18% pour les pays du moyen orient et 2% pour les pays du continent américain (Figure 4) (**Bouras, 2015**).

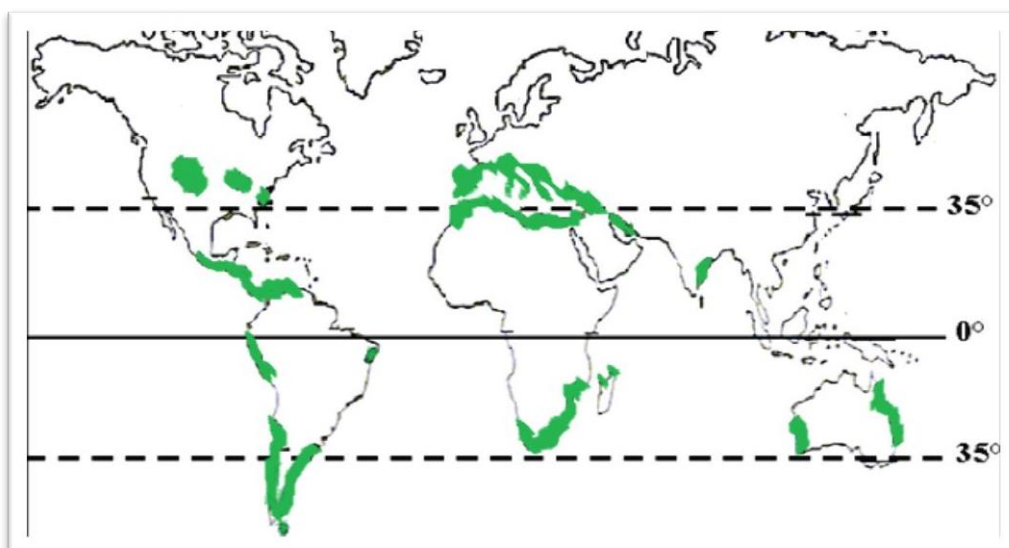


Figure 4: Aires de répartition des oliviers au monde (Bouras, 2015).

L'oléiculture occupe une place prépondérante dans l'économie nationale de ces pays et particulièrement l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Tunisie et le Maroc (Tableau 1). L'oliveraie couvre dans ces pays 65% de la surface mondiale et produit 74% ; soit 8,4 millions de tonnes d'olives annuellement (Nefzaoui, 1993).

Tableau 1 : Nombre d'oliviers et les superficies occupées par les oliveraies dans les six principaux pays méditerranéens oléicoles.

Pays méditerranéen	Oliviers (10 ⁶)	Superficie (10 ⁶ ha)
Espagne	210	2
Italie	190	1,2
Grèce	95	0,7
Turquie	70	0,9
Tunisie	60	1,5
Maroc	62	0,55

1.5. L'olivier en Algérie

Comme dans la plupart des autres pays méditerranéens, l'olivier constitue l'une des principales espèces fruitières plantées en Algérie. Elle couvre une superficie de 350 000 ha avec 23 millions d'arbres, soit plus de 50 % du patrimoine arboricole national (Missat, 2015).

L'olivier est principalement cultivé sur les zones côtières du pays à une distance de 8 à 100 km de la mer où il trouve les conditions favorables pour son développement. Il occupait, en 2009, une superficie de 310 000 hectares qui se répartie sur tout le territoire comme le montre la figure 5. La majorité des surfaces oléicoles se localisent dans des régions de montagne et les collines recouvrant une surface de 195 000 hectares, ainsi que dans les plaines occidentales du pays et dans les vallées comme la Soummam (ITAF, 2008).

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 en vue d'augmenter les productions et de minimiser les importations.

La figure 5 ci-après présente la nouvelle carte oléicole de l'Algérie, on remarque l'expansion des superficies oléicoles vers les zones steppiques, présahariennes et même sahariennes.

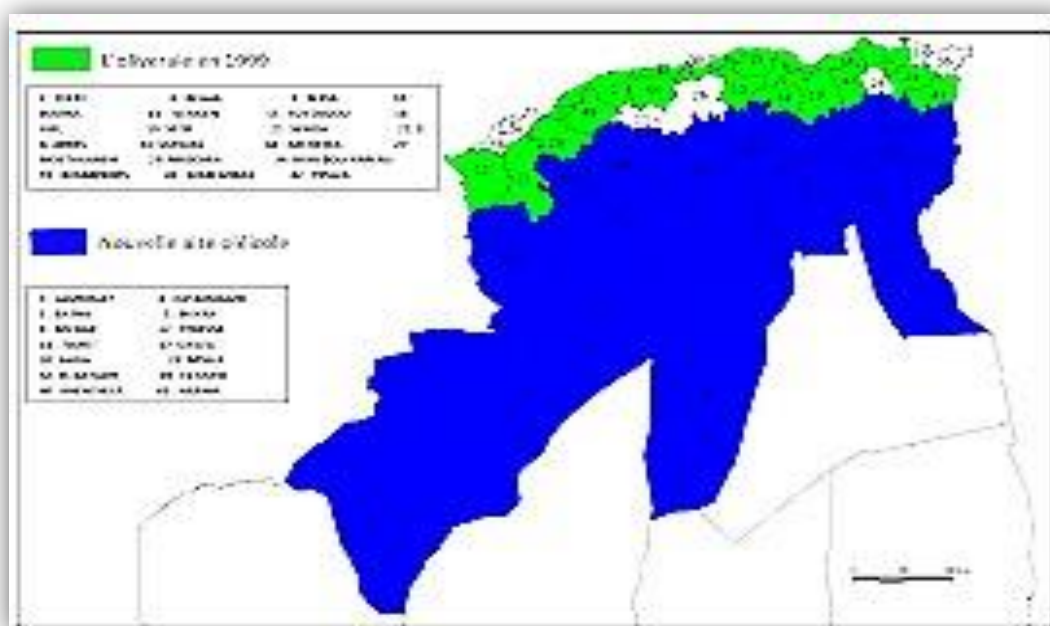


Figure 5 : Carte oléicole d'Algérie (ITAF, 2008).

L'Algérie dispose d'importantes ressources d'olives qui ne sont pas valorisées. Les espèces d'*Olea europea* occupent jusqu'à 2,3 % de la surface totale cultivée de l'Algérie. L'oléiculture algérienne est divisée en 3 zones : Ouest, centre de vastes zones non cultivées sont occupées par l'oleaster à Béjaïa (centre-est) (**Bouarroudj et al., 2016**). La densité moyenne en région de Nord-Est est de 40 à 70 arbres par hectare (**Loussert Brousse, d 1978**).

D'après (**Boukhari, 2014**), les principales variétés d'olive cultivées en Algérie sont :

-Chemlal : C'est la variété la plus dominante en Algérie, elle représente près de 45% du patrimoine oléicole nationale.

-Sigoise : C'est une variété auto-fertile, elle représente 20% du verger oléicole national. Généralement, elle se localise à l'Ouest du pays allant de Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen.

-Azeradj et Bouchouk : Elles accompagnent généralement les peuplements de Chemlal dont Azeradj améliore la pollinisation. Elles présentent un gros fruit destiné à la conserverie et même à la production d'huile.

-Limli: représente 8% du verger oléicole national, elle se rencontre dans la région d'Oued Soummam.

-Rougette de Mitidja : C'est une variété à huile installée dans la plaine de Mitidja et sur le piémont de l'Atlas, à faible altitude.

-Rougette de Guelma et blanquette de Guelma : Elles se trouvent en association dans la région Est du pays.

1.6. L'olivier à Guelma

La wilaya de Guelma possède un potentiel oléicole de 9 000 hectares sur les 10 000 ha projetés par le programme quinquennal 2010-2014, car les pouvoirs publics accordent un intérêt particulier à la promotion de cette filière qui enregistre une notable augmentation de la production grâce à l'extension des surfaces de plantations et à la modernisation des moyens d'exploitation.

Elle est réputée pour la qualité de son huile d'olive et elle recèle des variétés locales d'olives : blanquette, chemlel et rougettes. Selon les services de la DSA, en 2013, la production avait atteint 144 200 quintaux d'olives et 21 095 hectolitres d'huile d'olive. La cueillette des olives bat son plein au niveau des communes de Bouati-Mahmoud, Roknia, Boumahra-Ahmed, Hammam N'Bails, Bouchegouf, Khézaras, Aïn-Hassainia (**Bouregghda, 2017**).

Chapitre I : L'olivier

Les prévisions de la DSA de Guelma au titre de la campagne 2015- 2016, tablent sur un rendement moyen de 19 litres au quintal d'olives, soit 22825 hectolitres pour 9443 hectares d'oliviers (IDRM, 2003).

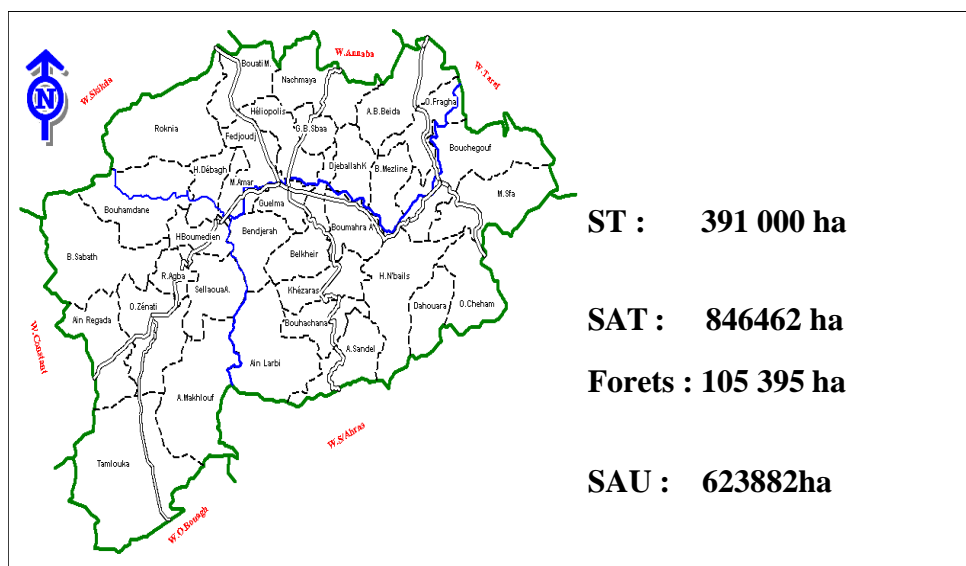


Figure 6 : Présentation de la wilaya de Guelma (IDRM, 2003)

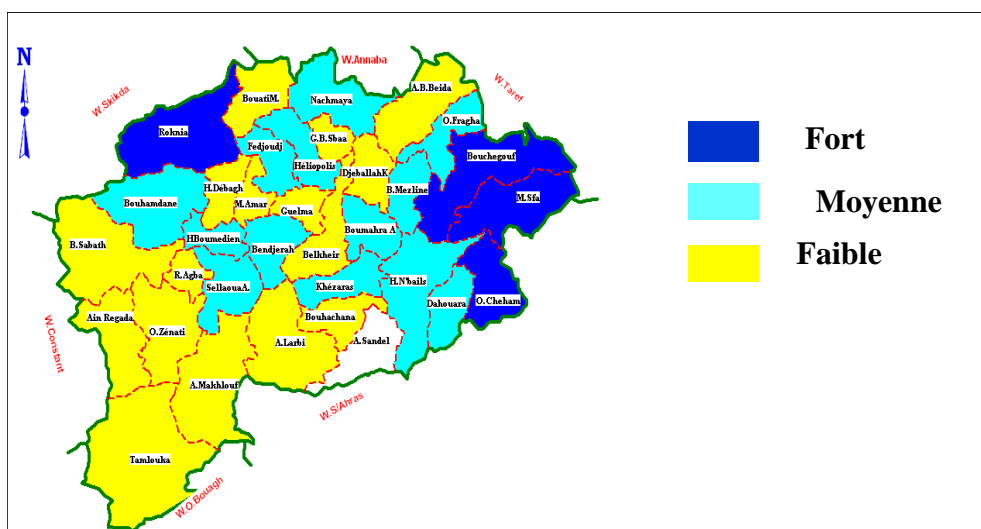


Figure 7 : Répartition Superficielle d'olive par zone (IDRM, 2003)

2. Feuilles d'olivier

L'olivier (*Olea europaea L.*) est l'un des arbres fruitiers les plus importants des pays méditerranéens. Bien que les feuilles d'olivier soient toujours utilisées comme aliments pour animaux, leur utilisation comme matière précieuse dans divers champs suscite un intérêt croissant. Elles sont considérées comme une matière première bon marché qui peut être utilisée comme une bonne source de bioactifs et elles sont également l'un des sous-produits de la production d'huile d'olive, représentant 10% du poids des olives récoltées (**Bouarroudj et al., 2016**).

Les feuilles d'olive, déchets agricoles obtenus lors de la récolte ou de la transformation des fruits d'olive, se trouvent en grande quantité dans les industries de l'huile d'olive et de la table d'olive, où elles sont séparées des olives à l'aide de systèmes de séparation pneumatique et créent un résidu sans intérêt industriel. Cependant, d'un point de vue économique, comme résidus industriels provenant de matériaux végétaux, les feuilles d'olive sont une excellente source de phytochimiques. Les feuilles d'olive contiennent des quantités importantes de composés précieux tels que les composés phénoliques et flavonoïdes, qui ont suscité un intérêt considérable en raison de leur utilisation potentielle comme additifs alimentaires et/ou nutraceutiques dans les industries alimentaire et pharmaceutique.

La quantité de feuilles d'olive qui s'accumulent annuellement de ces industries peut dépasser 1 million de tonnes. Par conséquent, ce résidu de l'industrie oléicole peut présenter de l'intérêt dans un contexte de bioraffinerie. En outre, il vaut la peine de récupérer des composés à haute valeur ajoutée de ce matériau, car ces composés peuvent présenter un grand intérêt pour les secteurs pharmaceutique, alimentaire et cosmétique, en raison de la tendance de l'utilisation de produits naturels au lieu de synthétiques (**Irakli et al., 2018**).

Les feuilles d'olive sont riches en une grande variété de composés phénoliques comme les secoiridoïdes (oléuropéine, ligstroside, diméthylloleuropeine) et les flavonoïdes (apigénine, luteoline, luolin-7-O-glucoside, etc.), avec autres composés phénoliques (hydroxytyrosol, tyrosol, acide caféique, ferulique, etc.) .qui sont responsables de plusieurs propriétés biologiques, y compris antioxydant et anti-inflammatoire, antimicrobien, antiviral, anti-cancérogène, ainsi que des effets cardiovasculaires bénéfiques.

Toutefois, le profil phénolique des feuilles d'olive varie en fonction de l'origine et de la variété du matériel végétal, de l'emplacement géographique et des conditions agro-écologiques, et en particulier des saisons (**Bouarroudj et al., 2016**).

2.1. Caractéristiques physiques et chimiques des feuilles d'olivier

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs tels que la variété, les conditions climatiques, l'époque de prélèvement, la proportion de bois, l'âge des plantations, etc.). Généralement, la matière sèche (MS) des feuilles vertes se situe autour de 50 à 58%, celle des feuilles sèches autour de 90%. La teneur en matières azotées totales (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%, alors que les rameaux ne dépassent pas 5 à 6%. La solubilité de l'azote est faible, elle se situe entre 8 et 14%, selon la proportion de bois. La teneur en matières grasses (MG) est supérieure à celle des fourrages et oscille autour de 5 à 7%, mais celle des constituants pariétaux et en particulier de la lignine est constamment élevée (18 à 20%) (Nefzaoui, 1991).

2.1.1. Métabolites primaires

Ce sont des composés issus du métabolisme primaire, par la voie du cycle de Calvin, qui est commun pour toutes les plantes. Ces métabolites tels que les acides aminés, les hydrates de carbone, les lipides, les protéines et les acides nucléiques qui sont nécessaires à la survie de la plante (Moussi *et al.*, 2015).

Tableau 2 : Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100 g) selon plusieurs auteurs

Composition	Boudhrioua et <i>al.</i> , 2009	Erbay et Icier, 2009	Martin-Garcia et <i>al.</i> , 2006	Garcia-Gomez et <i>al.</i> , 2003	Fegeros et <i>al.</i> , 1995
Eau	46,2-49,7 a	49,8 a	41,4 a	Nd	44,0 a
Protéines	5,0-7,6 a	5,4 a	7,0 b	Nd	Nd
Lipides	1,0-1,3 a	6,5 a	3,2 b	6,2 b	Nd
Minéraux	2,8-4,4 a	3,6 a	16,2 b	26,6 b	9,2 b
Carbohydrates	37,1-42,5 a	27,5 a	Nd	Nd	Nd
Fibres brutes	Nd	7,0 a	Nd	Nd	18,0 b
Cellulose	Nd	Nd	Nd	19,3 b	11,4 b
Hémicellulose	Nd	Nd	Nd	25,4 b	13,3 b
Lignin	Nd	Nd	Nd	30,4 b	14,2 b
Polyphénols totaux	1,3-2,3 b	Nd	2,5 b	Nd	Nd
Tannins solubles	Nd	Nd	Nd	Nd	0,3 b
Tannins condensés	Nd	Nd	0,8 b	Nd	1,0 b

A : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

b : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

Nd : valeur non déterminée

2.1.2. Métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes (**Krief, 2003**). La feuille d'olivier contient surtout des pigments flavoniques, de la choline et d'abondants composés phénoliques tels que : l'hydroxytyrosol, le verbascoside, apigenin-7-glucoside, lutéolin-7-glucoside et en particulier l'oleuropéine (**Hayes et al., 2011**).

2.2. Utilisations pharmacologiques

2.2.1. Activité antimicrobienne

L'effet antimicrobien de l'extrait aqueux de la feuille d'olive a été examiné contre *Bacillus subtilis*, *Cryptococcus neoformans*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Des mesures antimicrobiennes plus fortes ont été observées contre *S. aureus* et *E. coli* que d'autres organismes pathogènes (**Pereira et al., 2007**).

2.2.2. Activité antioxydante

Le meilleur antioxydant trouvé dans les olives est l'oleuropeine qui est utilisé pour diminuer l'oxydation du cholestérol LDL et pour protéger les cellules nerveuses des lésions liées à l'oxygène. Le LDL oxydé est la forme la plus dommageable de cholestérol et peut initier des dommages aux tissus artériels, favorisant ainsi l'athérosclérose (**Chimi et al., 1995**).

2.2.3. Activité anticancéreuse

Les composantes de d'O. europaea ont montré de forts effets anticancéreux sur plusieurs types de cancers (**Casaburi et al., 2013**). Des activités antiprolifératives et apoptotiques de l'érythrodiol ont été étudiées dans les cellules ht-29 de carcinome colorectal humain (**Juan et al., 2008**).

Il a retardé la croissance cellulaire sans causer aucune toxicité à une dose de 100 mM dans les cellules d'adénocarcinome de côlon. Des études similaires ont été menées sur des extraits méthanoliques et d'eau de feuilles d'olive contre les cellules endothéliales et cancéreuses. Ces extraits ont été utiles pour empêcher la division cellulaire du cancer du sein humain (MCF-7), le carcinome urinaire humain de réservoir souple (T-24), et l'endothélial capillaire de cerveau de bovine.

L'hydroxytyrosol est un agent antitumoral fort car il protège les cellules de 550 40. Effets olivharmful du peroxyde d'hydrogène, ADN des effets dangereux du nitrite de peroxy, et peut bloquer la division cellulaire à la phase G1 et induire l'apoptose (**Fabiani et al., 2002**). L'acide maslinique (triterpénoïde isolé des fruits d'olive et des feuilles) a montré des activités antitumorales fortes contre les cellules cancéreuses du côlon HT29 (**Bianchi et al., 1994**).

2.2.4. Activité antinociceptive

Des études menées sur des activités antinociceptives d'extraits d'olive sur des rats Wistar ont indiqué que les doses d'extraits de (50 à 200 mg/kg) produisent des effets analgésiques forts, et l'administration de ce médicament (200 mg/kg) dans le péritoine a entraîné une réduction significative des réponses à la douleur pendant le test formaline (**Esmacili-Mahani et al., 2010**).

2.2.5. Activités antidiabétiques

Dans une étude précédente, il a été constaté que l'effet antidiabétique de la feuille d'olive est directement lié à la présence d'acide oléanolique et d'oleuropéine (**Sato et al., 2007**). Dans une autre étude, l'activité antidiabétique de l'hydroxytyrosol et de l'oleuropéine extraits des feuilles d'olive a été trouvée en raison de leurs capacités de réduction oxydative de contrainte qui sont largement liées aux obstacles pathologiques du diabète (**Jemai et al., 2009**).

2.2.6. Troubles cardiovasculaires

Les composés tels que l'oleuropéine présents dans les olives diminuent les risques des maladies cardiovasculaires en empêchant l'oxydation de LDL, qui a comme conséquence la réduction de la formation de plaque athérosclérotique (**Visioli et Galli, 1994**).

2.2.7. Activité hypolipidémique

Les activités hypolipidémiques et hypoglycémiques des feuilles d'olive ont été testées sur des animaux de laboratoire. L'oleuropéine a été rapporté comme un composant actif, avec

un mécanisme d'action de la potentialisation de la libération d'insuline glucose-induite et une augmentation de l'absorption périphérique de glucose sanguin (**Mushtaq et al., 2020**).

2.2.8. Activités neuroprotectrices

L'effet de l'acide maslinique (un terpénoïde présent dans la feuille d'olive) sur les rats diabétiques a été étudié par différents scientifiques. Des rats ont été injectés avec la streptozotocine pour l'induction de la mort neuronale. Une activité neuroprotectrice significative a été exposée par l'acide maslinique en mode dose-dépendante (**Mushtaq et al., 2020**)

Une étude précédente montre que l'oleuropéine et l'extrait de feuilles d'olive sont utiles pour le traitement de la maladie de Parkinson (**Pasban-Aliabadi et al., 2013**). L'aglycone d'oleuropéine réduit la production d'agrégats amyloïdes toxiques dans le cerveau et, par conséquent, réduit les risques de la maladie d'Alzheimer (**Diomedea et al., 2013**).

Chapitre II : Composés phénoliques des feuilles d'olivier

1. Composés phénoliques

Les polyphénols constituent l'un des groupes de produits naturels les plus nombreux et largement distribués dans le royaume végétal. Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, dont plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Bien que les polyphénols soient caractérisés chimiquement comme composés avec des caractéristiques structurales phénoliques, ce groupe de produits naturels est très diversifié et contient plusieurs sous-groupes de composés phénoliques.

La diversité et la large distribution des polyphénols dans les plantes ont conduit à différentes façons de catégoriser ces composés naturels.

Les polyphénols ont été classés par leur source d'origine, leur fonction biologique et leur structure chimique. En outre, la majorité des polyphénols dans les plantes existent comme glycosides avec différentes unités de sucre et sucres acylés à différentes positions des squelettes de polyphénols (Tsao, 2010).

Les phénols végétaux distingués par le nombre d'atomes de carbone constitutifs en conjonction avec la structure du squelette phénolique de base. Les plus répandus et les plus divers des phénoliques sont les flavonoïdes qui sont construits sur un squelette de flavone C₆-C₃-C₆ dans lequel le pont à trois carbones entre les groupes de phényle est généralement cyclique avec de l'oxygène.

D'un point de vue biologique, ces composés phénoliques sont définis comme des métabolites secondaires dans l'olivier, et ont une contribution importante dans la plante la protection et la résistance contre les agents pathogènes fongiques, qui peuvent être d'une importance cruciale pour la culture durable de l'olivier (Lama-Muñoz et al., 2019).

Les phénols sont des composés qui ont un ou plusieurs groupes d'hydroxyle attachés directement à un anneau aromatique. Le phénol est la structure sur laquelle l'ensemble du groupe est basé. L'anneau aromatique dans ce cas est, bien sûr, le benzène.

OH

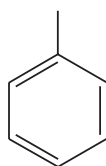


Figure 8: Formules brute et chimique d'une fonction phénol

Les phénols sont à bien des égards similaires aux alcools des structures aliphatiques où le groupe hydroxyle est attaché à une chaîne de carbones. Le groupe phénolique hydroxyle, cependant, est influencé par la présence de l'anneau aromatique. En raison de l'anneau aromatique, l'hydrogène de l'hydroxyle phénolique est labile, ce qui rend les phénols des acides faibles (**Falleh et al., 2008**).

Les polyphénols sont des composés qui ont plus d'un groupe hydroxyle phénolique attaché à un ou plusieurs anneaux de benzène. Le terme est peu trompeur car il tend à faire penser aux gens des polymères des molécules individuelles de phénol.

Bien sûr, de tels polymères existent. Les composés phénoliques sont caractéristiques des plantes et en tant que groupe, ils sont généralement trouvés comme esters ou glycosides plutôt que comme composés libres. Il est important de s'en rendre compte si vous voulez extraire des phénols des tissus végétaux (**Vermerris et Nicholson, 2007**).

2. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relie. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (**Boros et al., 2010**), ou sous forme conjuguée à l'ester ou hétérosides (**Bruneton, 1999**). Les différentes classes de ces composés phénoliques et les plantes qui les renferment sont représentées dans le tableau 3.

Tableau 3: Classification des composés phénoliques (Harborne et Simmonds, 1964)

Structure	Classe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénone et acide phényl acétique
C6-C3	Acides cinnamiques, aldéhydes cinnamyl, alcools cinnamyl, coumarins, isocoumarins et chromones
C15	Chalcones, aures, dihydrochalcones, flavans, flavones, flavanones, flavanonols, anthocyanidins, anthocyanins,
C30	Biflavonyls
C6-C1-C6, C6-C2-C6 stilbenes C6, C10, C14	Benzophenones, xanthones, Quinones
C18	Betacyanins
Lignans, neolignans oligomères Lignin	Dimères ou Polymères
Tannins	Oligomères ou polymères
Phlobaphènes	Polymères

La plupart des composés phénoliques sont présents conjugués avec un mono ou polysaccharides, liés à un ou plusieurs groupes phénols, et peut être aussi des dérivations fonctionnelles comme des esters et des méthyles esters. Plusieurs classes de ces composés ont été catégorisées selon leur squelette de base (Tableau 3). On distingue trois principales classes :

- les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinamiques);
- les flavonoïdes;
- les tannins et lignanes, ainsi que les coumarines et les stilbènes qui sont rare.

2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés polyphénoliques non flavonoïdes qui peuvent être divisés en deux principaux types, l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique basés sur les squelettes C1 – C6 et C3 – C6. Alors que les fruits et légumes contiennent de nombreux acides phénoliques libres, en grains et les graines en particulier dans le son ou la coque les acides phénoliques sont souvent sous forme liée. Ces acides phénoliques ne peuvent être libérés ou hydrolysés que par hydrolyse acide ou alcaline, ou par des enzymes (**Falleh et al., 2008**).

2.2. Les tannins

Les tannins sont des molécules polyphénoliques de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines des plantes (**Watterson et al., 1983**). Ils sont du grand intérêt pour la nutrition et la médecine à cause de leur capacité antioxydante puissante et leur effet protecteur possible sur la santé humaine (**Santos-Buelga et al., 2000 ; Oszmianski et al., 2007**).

La plupart des propriétés biologiques des tannins sont liées au pouvoir de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines. Les liaisons non covalentes, hydrogènes et hydrophobes participent à la formation du complexe tannins-protéine (**Hagerman et al., 1978 ; McManus, 1981**).

2.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont le squelette structural général C6 – C3 – C6 dans lequel les deux unités C6 (anneau A et anneau B) sont de nature phénolique (Figure 9). En raison du modèle d'hydroxylation et des variations de l'anneau chromane (anneau C), les flavonoïdes peuvent être divisés en différents sous-groupes tels que les anthocyanes, les flavan-3-ols, les flavones, les flavanones et les flavonols. Alors que la grande majorité des flavonoïdes ont un anneau B attaché à la position C2 de l'anneau C, certains flavonoïdes tels que les isoflavones et les néoflavonoïdes, dont l'anneau B est connecté aux positions C3 et C4 de l'anneau C, respectivement, se trouvent également dans les plantes. Les chalcones, bien que dépourvus de l'anneau hétérocyclique C, sont toujours classés comme membres de la famille des flavonoïdes. Ces structures de base des flavonoïdes sont des aglycones; cependant, dans les plantes, la plupart de ces composés existent sous forme de glycosides.

(**Falleh et al., 2008**).

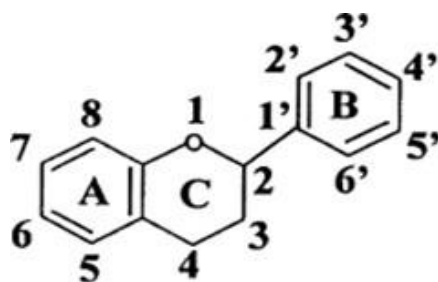


Figure 9 : Structure générale des flavonoïdes (Cushnie et Lamb, 2005).

3. Biosynthèse des composés phénoliques

Du point de vue biosynthétique, les composés phénoliques peuvent être engendrés par deux voies métaboliques : la voie du shikimate, la plus courante, qui conduit entre autre à la formation des acides phénoliques, flavonoïdes et lignines et la voie des polyacétates qui est à l'origine de composés polycycliques tels que les coumarines, les xanthones et les quinones (Macheix et *al.*, 2006).

3.1. La voie de Shikimate

La voie de l'acide shikimique (Figure 10) est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane.

Selon Visioli (2002), cette voie conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques, par la suite elle conduit après transamination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.

3.2. La voie de l'acide malonique

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Fleeger et Flipse, 1964).

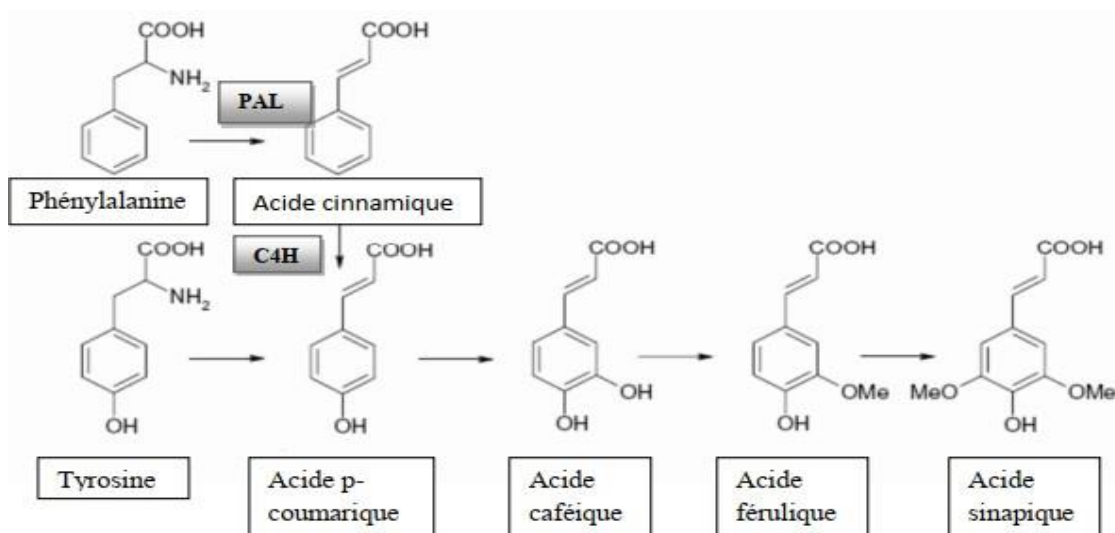


Figure 10 : Biosynthèse des composés phénoliques les plus largement distribués par la voie de shikimate. PAL : phénylalanine ammonia-lyase ; C4H : cinnamate 4-hydroxylase (Crozier *et al.*, 2006).

4. Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques

Les composés phénoliques sont pour la plupart des dérivés substitués d'acide hydroxycinnamique (forme libre phénolique) et acide hydroxybenzoïque (forme liée phénoliques) (Singh et Saldaña, 2011). Les feuilles d'olivier peuvent être considérées comme une source naturelle bon marché et facilement disponible des composés phénoliques. Le rendement théorique maximal des teneurs en polyphénols déterminée par l'essai Folin-Ciocalteu, soit 250,2 mg d'acide gallique par 100 g de poids sec d'extrait de feuilles d'olivier (Sivakumaran *et al.*, 2004). Il varie entre 2,8 mg/g de matière sèche (Altok *et al.*, 2008) et 44,3 mg/g de matière sèche (Boudhrioua *et al.*, 2009). Elle peut même dépasser les 250 mg/g de matière sèche (Mylonaki *et al.*, 2008).

Les polyphénols sont présents dans presque toutes les parties de l'olivier, mais leur nature et la concentration varient beaucoup d'un tissu à l'autre. Cinq groupes de composés phénoliques sont principalement identifiés dans les feuilles d'olivier :

- **Les oleuropéosides** (oleuropéine et verbascoside),
- **Les flavones** (lutéoline 7-O-glucoside, apigénine 7-O-glucoside, diosmétine 7-O-glucoside, lutéoline et diosmétine),
- **Les flavonols** (rutine),
- **Les flavan-3-ols** (catéchine)

- **Les phénols substitués** (tyrosol, hydroxytyrosol, vanilline, acide vanillique et acide caféique).

Les composés phénoliques les plus abondants dans les feuilles d'olivier est l'oleuropéine, suivie de l'hydroxytyrosol, le flavone-7-glucosides de lutéoline, d'apigénine et de verbascoside (Yoon, 2018).

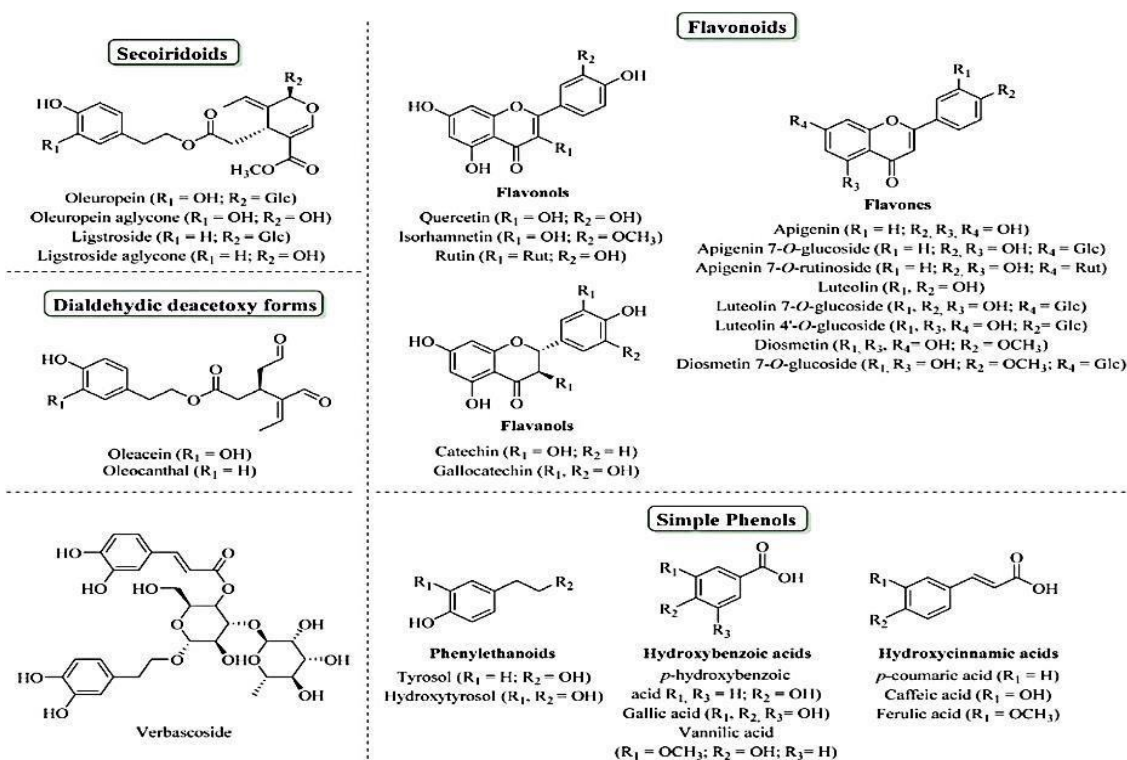


Figure 11 : Exemples de polyphénols dans l'olivier. Glc-Glucose ; Rut-Rutinose (Yoon, 2018).

5. Profil bioactif des feuilles d'olivier

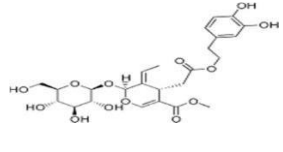
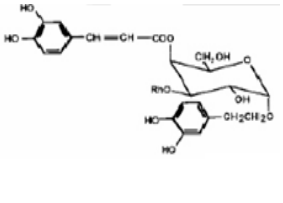
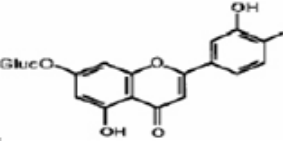
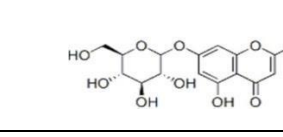
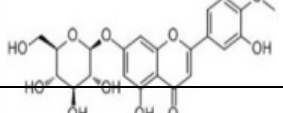
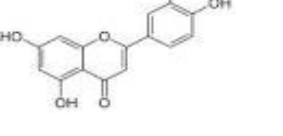
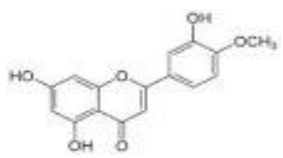
Les feuilles d'olivier contiennent plusieurs composés phénoliques (Tableau 4) tels que les sécoiridoïdes (oleuropéine, ligstroside, diméthyloleuropéine et oléoside), les flavonoïdes (apigénine, kaempférol, lutéoline) et les composés phénoliques (caféine acide, tyrosol, hydroxytyrosol). Une analyse qualitative et quantitative de la composition a été effectuée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la photodiode. La détection par réseau a révélé six composés polyphénoliques majeurs présents dans l'extrait de la feuille d'olivier : oleuropéine (24,5 %), verbascoside (1,1%), lutéoline-7-O-glucoside (1,4%), apigénin-7-O-glucoside, hydroxytyrosol (1,5 %) et tyrosol (0,7 %) (Hayes et al., 2011 ; Niaounakis et Halvadakis, 2006 ; Rafiee et al., 2012).

L'huile essentielle de feuilles d'olivier est un produit très complexe, c'est un mélange contenant des aldéhydes, des cétones, des esters, des alcools, des alcènes et des alcanes. Les

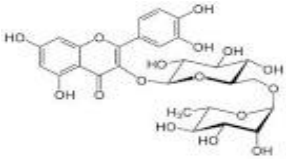
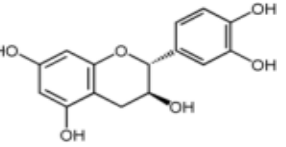
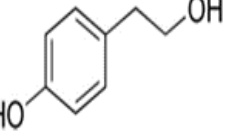
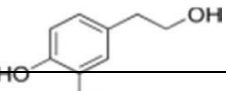
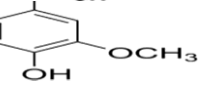
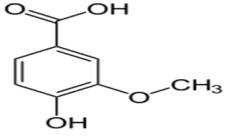
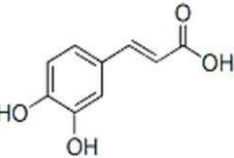
Chapitre II: Composés phénoliques des feuilles d'olivier

composants majeurs de l'huile essentielle de feuille d'olivier sont du 2-décénal-(E) (20,43 %), benzène-acétaldéhyde (4,00 %), 2-undécénal (3,71 %) et valencen (3,31 %) (Konoz *et al.*, 2013).

Tableau 4 : Les groupes phénoliques dans l'extrait de feuille d'olive (OLE) (Benavente Garcia *et al.*, 2000).

Groupe	Composé	Structure	TEAC ^a de OLE (mM)
Oleuropéosides	Oleuropéine		0.88 ± 0.09
	Verbascoside		1.02 ± 0.07
Flavones	Luteolin-7-glucoside		0.71 ± 0.04
	Apigenin-7-glucoside		0.42 ± 0.03
	Diosmetin-7-glucoside		0.64 ± 0.09
	Lutéoline		2.25 ± 0.11
	Diosmétime		1.42 ± 0.07

Suite Tableau 4

Flavonols	Rutine		2.75 ± 0.05
Flavan-3-ols	Catéchine		2.28 ± 0.04
Phénols substitué	Tyrosol		0.35 ± 0.05
	Hydroxytyrosol		1.57 ± 0.12
	Vaniline		0.13 ± 0.01
	Acide Vannilique		0.67 ± 0.09
	Acide caffeique		1.37 ± 0.08
Capacité antioxydante équivalente de Trolox			

6. Valorisation de sous-produits oléicoles

L'industrie oléicole, en plus de sa production principale qui est l'huile, génère deux résidus l'un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons) qui représentent un pourcentage important du poids total des olives traitées (Nefzaoui, 1991 ; Sayadi, 2000). De nos jours, la pollution joue un rôle majeur dans la destruction de la nature, les margines sont considérée comme un polluant de l'industrie oléicole, le plus souvent rejetées dans le milieu naturel, notamment dans les rivières, et cela impose des traitements de dépollution et de valorisation. La figure 12 résume les principales voies de valorisation des sous-produits oléicoles (Dermeche, 2013).

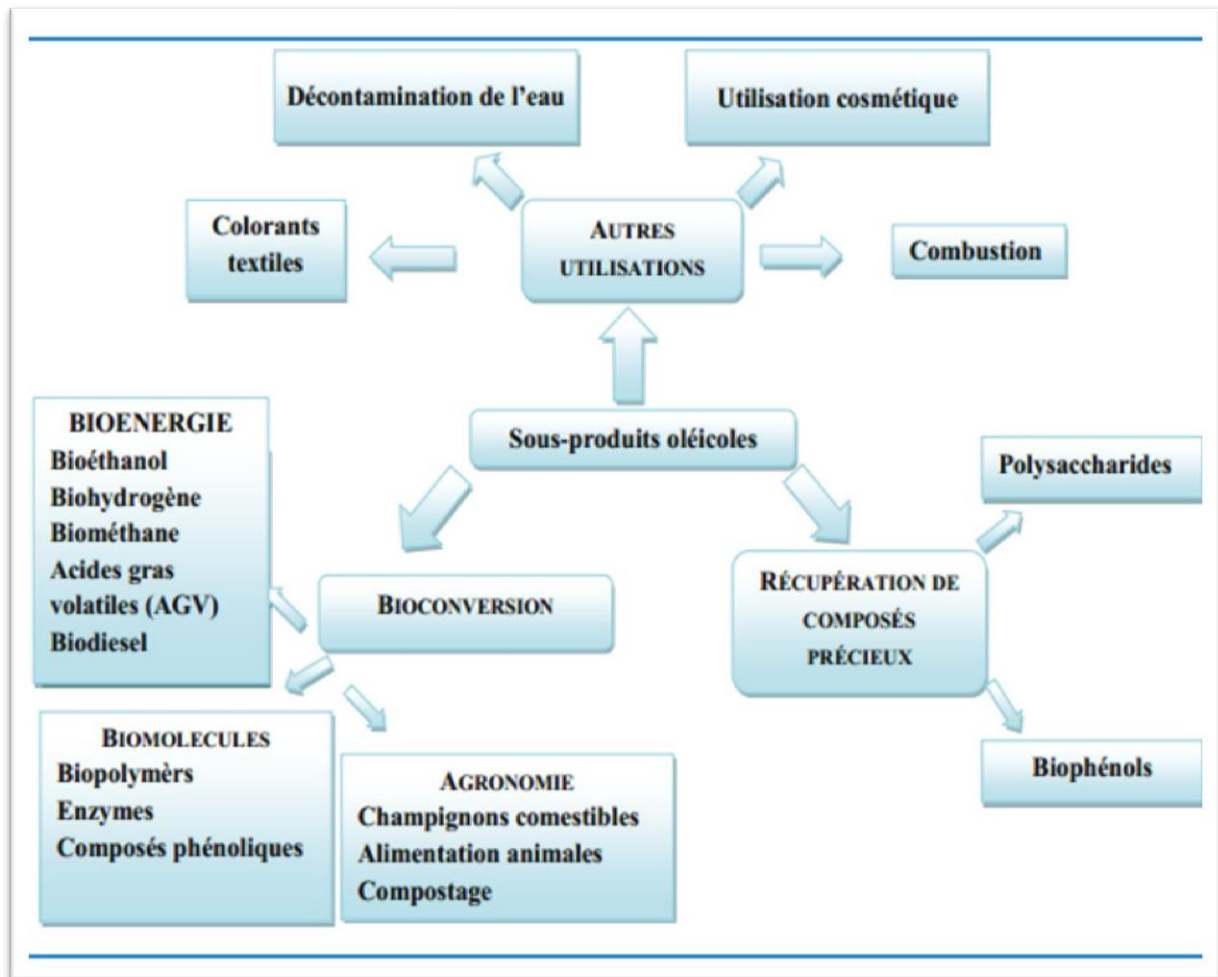


Figure 12 : Valorisation de sous-produits oléicoles (Dermeche, 2013).

Historiquement, les feuilles d'olivier étaient totalement orientées vers l'alimentation animale. Toutefois, ils sont aussi utilisés en phytothérapie traditionnelle pour le traitement de certaines maladies tel que la malaria et l'hypertension. Dans cette application, les feuilles d'olivier sont consommées sous forme de tisane. Dans le cadre de la phytothérapie moderne, des compléments alimentaires à base de feuilles d'olivier sont apparus sur le marché. Ces produits sont disponibles en forme de feuilles séchées complet ou en poudres, d'extrait, de gélules ou d'ampoules buvables (Figure13). Les producteurs en vendent leurs vertus pour la santé humaine.

Actuellement, et avec l'évolution de la technologie et l'amélioration des connaissances, les domaines d'utilisation des feuilles d'olivier ont été élargie et diversifié. Les feuilles d'olivier sont utilisées pour l'extraction des composés d'intérêt tel que le mannitol, les stérols, les alcools gras, les composés phénoliques, principalement l'oleuropéine, les flavonoïdes et les composés triterpéniques.

Chapitre II: Composés phénoliques des feuilles d'olivier

Outre, les propriétés radio-protectrices et anti-âge, qui caractérisent les feuilles d'olivier, les ont prédestinées à des utilisations dans l'industrie cosmétique. Dans ce domaine, les feuilles d'olivier sont utilisées comme ingrédient dans la formulation d'énormément de produits cosmétiques et diététiques, tel que les savons et les crèmes (**Bahloul, 2009**).



Figure 13 : Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'olivier pour la consommation humaine (**Bahloul, 2009**).

Les feuilles d'olivier ont aussi trouvé des applications dans l'industrie alimentaire. Ce ne sont pas les produits de la taille mais des feuilles recueillies après le lavage et le nettoyage des olives à l'entrée de l'huilerie. Leur quantité est estimée de 5 à 6 Kg de matières sèches par arbre et par an (**Nefzaoui, 1991**). Les feuilles peuvent être valorisées comme des antioxydants naturels destinés aux industries agroalimentaires et pharmaceutiques et des agents antibactériens grâce à leur richesse en polyphénols (**Djenane, 2012**).

Elles sont principalement utilisées pour l'amélioration de la qualité et la conservation des aliments tels que les viandes, l'olive de table et les huiles (Tableau 5). D'autres voies de valorisation des feuilles d'olivier, récemment démontrées, concernent le domaine de la dépollution, de la sidérurgie et de la synthèse biochimique (**Bahloul, 2009**).

Chapitre II: Composés phénoliques des feuilles d'olivier

Tableau 5: Une revue bibliographique sur les utilisations des feuilles d'olivier

Domaine	Applications	Références
Alimentation Animal	Utilisation dans l'alimentation des Moutons	Fegeros <i>et al.</i> , 1995
	Utilisation dans l'alimentation des moutons et chèvres	Martin-Garcia <i>et al.</i> , 2003 ; Delgado-Pertinez <i>et al.</i> , 2000
	Utilisation dans l'alimentation des Chèvres	Yanez <i>et al.</i> , 2004
	Utilisation dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes	Botsoglou <i>et al.</i> , 2010 ; Govaris <i>et al.</i> , 2010
Thérapeutique	Consommation humaine	Giao <i>et al.</i> , 2007
Pharmaceutique	Extraction des composés phénoliques, Notamment l'oleuropéine	Japan-Lujian <i>et al.</i> , 2006
	Extraction des composés phénoliques	Lee <i>et al.</i> , 2009 ; Altiok <i>et al.</i> , 2008; Mylonaki <i>et al.</i> , 2008; Haoyuan, 2006 (brevet); Ziqi <i>et al.</i> , 2007 (brevet); Leslie, 1998 (brevet); Leslie, 1999 (brevet);
	Production d'hydroxytyrosol	De Leonardis <i>et al.</i> , 2008 ; Bouaziz et Sayadi, 2005 ; Briante <i>et al.</i> , 2004 ; Briante <i>et al.</i> , 2002
	Extraction de l'oleuropéine	Panagiotis, 2007 (brevet)
	Extraction de l'oleuropéine et production d'hydroxytyrosol	Bouaziz et Sayadi, 2003
	Extraction des composés Triterpéniques	Sanchez-Avila <i>et al.</i> , 2009 ; Somova <i>et al.</i> , 2003
	Extraction de tocophérol	De Lucas <i>et al.</i> , 2002
	Extraction de flavonoïdes	Yuhong <i>et al.</i> , 2006 ab
Extraction de stérols et alcools gras	Orozco-Solano <i>et al.</i> , 2010	
	Extraction de mannitol	Ghoreishi <i>et al.</i> , 2009

Chapitre II: Composés phénoliques des feuilles d'olivier

Suite tableau 5

Cosmétique	Utilisation dans la formulation des produits cosmétiques	Tadashi, 2006 ; Thomas et <i>al.</i> , 2006 ; Akemi et <i>al.</i> , 2001 (brevet); Pinnell-Sheldon et Omar Mostafa, 2003 (brevet) ;
	Formulation photo protectrice	Pinnell-Sheldon et Omar Mostafa, et <i>al.</i> , 2004 (brevet)
	Formulation à destination cosmétique et/ou diététique contenant un mélange de lycopène et d'extrait de feuille d'olivier : Utilisation de l'extrait pour améliorer la solubilisation de lycopène	
Industrie	Ajout à la viande hachée bovine	Hayes et <i>al.</i> , 2009
Alimentaire	Ajout à la viande hachée bovine et porcine	Hayes et <i>al.</i> , 2009
	Enrichir l'olive de table	Lalas et <i>al.</i> , 2011
	Ajout à l'huile et effet sur les frites	Chiou et <i>al.</i> , 2009
	Stabilisation de l'huile	Jimenez et <i>al.</i> , 2010
	Stabilisation de l'huile de tournesol	Farag et <i>al.</i> , 2007
	Stabilisation de l'huile d'olive	Bouaziz et <i>al.</i> , 2008 ; Paiva-Martins et <i>al.</i> , 2007 ; Allouche et <i>al.</i> , 2009
	Ajout d'acide oléanolique à l'huile pour formuler un aliment fonctionnel	Guinda et <i>al.</i> , 2004
	Utilisation dans la formulation de boisson de santé pour consommation humaine	Young Soo, 2005 (brevet)
	Préparation de tisane pour consommation Humaine	Noriyuki et Masato, 2006 (brevet)
	Préparation de tisane fermentée pour consommation humaine	Kyoji et Kazuo, 1999 (brevet)
	Formulation d'une tisane	Kiyama, 1991 (brevet) ; Kiyama, 1999 (brevet) ; Hayakawa, 2001 (brevet)
	Préparation de feuille d'olivier sèches en poudre pour faire une tisane	Uematsu, 2003
	Ingrédient dans la formulation d'aliments pour les hyperglycémiques	Komaki, 2002
	Séchage et broyage et utilisation comme ingrédient dans la formulation d'aliments	Kinoshita, 2006
Biochimie	Utilisation d'une hydroperoxydase des feuilles d'olivier pour la synthèse de note Verte	Ben Akacha et Gargouri, 2009
	Biosynthèse de nanoparticules d'or	Khalil et <i>al.</i> , 2010
Sidérurgie	Inhibition de corrosion acide de l'acier	El-Etre et <i>al.</i> , 2007
Dépollution	Utilisation comme sorbant pour enlever le cadmium de milieu aqueux	Hamdaoui, 2009

7. Déshydratation des feuilles d'olivier

L'utilisation des feuilles d'olive comme source abondante, renouvelable et à faible coût pour la production de produits à forte valeur ajoutée, est une alternative sûre pour générer des revenus supplémentaires, réduire les coûts de production à long terme et contribuer au développement d'une chaîne de production durable (**Cruz, 2017 ; Tarchoune et al., 2019**).

L'inconvénient pour explorer le plein potentiel des feuilles d'olive et de leurs composés naturels, est le manque de connaissances sur la façon dont la composition et la concentration des substances récupérées dans les matrices végétales sont affectées par la transformation post-récolte. Étant donné que de nombreux composés bioactifs sont volatils, sensibles à la chaleur et facilement dégradables, des recherches sur la façon dont les conditions de traitement pourraient affecter les profils chimiques et les rendements d'extraction des extraits, sont nécessaires pour soutenir les progrès techniques dans ce domaine. De nombreuses recherches ont été publiées ces dernières années sur le séchage des feuilles fraîches (**Canabarro, 2019 ; Bustos et al., 2018 ; Erbay et Icier ., 2010 ; Lima- Corrêa et al., 2017 ; Pin et al., 2009**).

La sélection des méthodes de séchage est basée sur un certain nombre de facteurs qui comprennent les propriétés physiques des feuilles, les caractéristiques de manipulation solide, la sensibilité des matériaux à la température, les attributs de qualité souhaités dans le produit final, l'énergie et les coûts de transport. Le séchage à l'air chaud est largement utilisé dans plusieurs machines telles que les lits fixes, les séchoirs à l'air, vibro-fluidisés et les séchoirs à courroie de convoyeur (**Babu, 2018 ; Hatami et al., 2014 ; Lima-Corrêa et al., 2017**).

Parmi ces options, le séchoir à courroie transporteuse présente des caractéristiques attrayantes pour le traitement des feuilles, telles que la possibilité de fonctionner en mode continu, une automatisation facile et une mise à l'échelle (**Jensen, 2011 ; Tussolini et al., 2014**). Sa conception simple est suffisante pour manipuler les feuilles de différentes tailles, formes, force et rigidité et l'humidité de décharge peut être contrôlée en accordant la vitesse de convoyeur et le nombre de passages du matériau par le sècheuse (**Babu et al., 2018**).

En raison de la composition hétérogène et complexe des matériaux biologiques, la modélisation mathématique du séchage des feuilles pourrait être particulièrement difficile. Cependant, les modèles mathématiques sont utiles pour prédire les distributions de température et d'humidité et pour aider à la conception et à l'évaluation des performances, du

Contrôle et de l'optimisation du processus. Les modèles de séchage convectif peuvent être classés essentiellement comme des modèles semi-théoriques ou théoriques. La première catégorie est basée sur le concept de couches minces tandis que la seconde est basée sur la physique fondamentale du séchage (**Castro et al., 2018**).

Des modèles théoriques de dynamiques de séchage fondés sur les équilibres de masse et d'économie d'énergie ont été proposés dans la littérature pour prédire l'humidité et la variation de température pendant le séchage des bandes transporteuses (**Kiranoudis, 1995 ; Schmalko et al., 2007**). Ces modèles ont été validés pour le séchage des feuilles d'*Ilex paraguariensis* avec des coefficients de production thermique et de transfert de masse obtenus empiriquement à partir de données expérimentales (**Schmalko, 2007 ; Tussolini et al., 2014**).

8. Méthodes d'extraction et d'analyse des composés phénoliques

L'extraction est une étape très importante pour l'isolement des polyphénols. En raison de l'énorme complexité et de la variabilité entre les composés phénoliques en termes de polarité, de structure chimique, de quantités relatives dans l'échantillon et de complexité des matrices naturelles, il n'existe pas de protocole d'extraction normalisé. Généralement, l'extraction de polyphénols à partir de plantes a été effectuée à l'aide de techniques d'extraction conventionnelles telles que l'extraction solide-liquide (SLE) et l'extraction liquide-liquide (LLE). Ces techniques sont associées à l'utilisation d'un volume élevé de solvants, de longs temps d'extraction ou d'une faible sélectivité et de la reproductibilité (**Herrero et al., 2013**).

Les techniques d'extraction conventionnelles soient remplacées par des techniques d'extraction avancées, elles sont toujours les plus couramment utilisées pour récupérer les polyphénols des matrices naturelles. Les principales techniques d'extraction avancées proposées pour réaliser l'extraction des polyphénols ont été l'extraction assistée par ultrasons (EAU), l'extraction assistée par micro-ondes (MAE), l'extraction de liquide sous pression (PLE), l'extraction de fluide supercritique (SFE)

8.1. Techniques d'extraction conventionnelles

8.1.1. L'extraction solide-liquide (SLE)

Parmi les techniques d'extraction conventionnelles, l'extraction solide-liquide est le plus utilisé pour extraire les polyphénols à partir de matrices solides. L'échantillon est mis en contact avec un solvant ou un mélange de solvants où les analytes cibles sont dissous. Les

conditions optimales d'extraction des polyphénols dépendent de leur solubilité dans le solvant. Il y a beaucoup d'études liées à l'ESS de composés phénoliques de différentes matrices telles que la mangue, le sorgho et les pelures de melon (Mallek-Ayadi, 2017 ; Kang *et al.*, 2016 ; Shaheen *et al.*, 2017).

8.1.2. L'extraction liquide-liquide (LLE)

Lorsque l'échantillon est liquide, la technique préférée est l'extraction liquide-liquide. Cette procédure consiste à différencier la solubilité des analytes entre deux liquides immiscibles (Tasioula-Margari et Tsabolatidou, 2015). Habituellement, les échantillons liquides sont solubilisés dans l'eau (Catelani, 2016 ; Ivanova-Petropulos *et al.*, 2015 ; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2015).

Les extractions solide-liquide (SLE) ou liquide-liquide (LLE) sont effectués par agitation, chauffage et reflux à différentes températures et temps d'extraction. Différentes études ont montré que les temps d'extraction, les températures et les solvants les plus courants dans les SLE étaient de 15 min–72h à température ambiante à 70°C en utilisant de l'eau, de l'éthanol/ l'eau et du méthanol/eau comme solvants à différents pourcentages (Chiang, 2017 ; Gontijo *et al.*, 2017 ; Mallek-Ayadi *et al.*, 2017 ; Parikh *et al.*, 2017 ; Plaza *et al.*, 2018). Pour l'extraction liquide-liquide, l'eau et eau/acide acétique ont été utilisées pour extraire des composés phénoliques des vins, du miel et du sirop de canneberge (Catelani, 2016 ; Ivanova-Petropulos *et al.*, 2015 ; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2015).

8.2. Techniques d'extraction avancées

8.2.1. Extraction assistée par ultrasons

Cette technique consiste en la formation de cavitations acoustiques par ultrasons, aidant à la pénétration du solvant dans la matrice, ainsi que la libération de polyphénols dus à des altérations produites dans la paroi cellulaire de la matrice par cavitation à bulles (Corbin *et al.*, 2015).

Les paramètres les plus importants sont la fréquence et l'intensité du rayonnement, le temps d'extraction, la température et la composition des solvants. Les ultrasons de haute intensité augmentent la pression et la température dues à la cavitation de bulle, produisant une perturbation dans la paroi cellulaire de la matrice avec la libération suivante des polyphénols. Habituellement, la puissance et la fréquence utilisées pour l'extraction des polyphénols étaient respectivement de 50 à 400 W et de 20 à 60 kHz (Herrero *et al.*, 2013).

8.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (MAE)

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) a été appliquée à différentes matrices pour extraire des polyphénols (**Routray et al., 2014**). Cette technique d'extraction permet une diffusion élevée des fluides car elle applique de l'énergie micro-ondes en combinaison avec une température élevée et une pression contrôlée. Elle est basée sur les interactions des molécules polaires dans les milieux par rotation dipolaire et conduction ionique induite par les micro-ondes, qui provoquent le chauffage du solvant. En ce sens, la chaleur facilite la diffusion des composés phénoliques de la matrice au solvant (**Routray et al., 2014**). Pour être capable d'absorber les micro-ondes, le solvant ou la matrice doit contenir des molécules de dipôle. L'effet micro-ondes dépend grandement de la nature du solvant et de la matrice (**Flórez et al., 2015**).

Les principaux avantages de l'utilisation du MAE comprennent des temps d'extraction plus courts d'environ 1 à 3 min et des volumes de solvants inférieurs à ceux des techniques d'extraction conventionnelles (**Dahmoune, 2014 ; Herrero et al., 2013**). En général, l'éthanol, le méthanol, l'eau, l'acétone et leurs combinaisons sont les solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols par MAE (**Dahmoune, 2014 ; Moreira et al., 2017 ; M'hiri et al., 2015**).

8.2.3. Extraction liquide sous pression (PLE)

Elle est fondée sur l'application de températures suffisamment élevées (habituellement au-dessus du point d'ébullition du solvant) et sur des pressions pour maintenir le solvant d'extraction à l'état liquide (**Wijngaard et al., 2012**). Elle est également appelée extraction de liquide pressurisé, extraction de solvants pressurisés, ou extraction accélérée de solvant. En appliquant une température élevée, le processus d'extraction devient plus efficace grâce à des taux de diffusion plus rapides, facilitant ainsi une extraction plus rapide, ce qui, avec une haute pression, améliore la diffusion dans la matrice de l'échantillon et améliore l'efficacité d'extraction par rapport à l'utilisation du même solvant à des températures ambiantes (**Plaza et al., 2013**).

Les paramètres qui sont le plus souvent optimisés dans PLE sont la température, le solvant d'extraction, la pression, le temps et le débit. La sélection et la température des solvants peuvent être considérées comme les plus importantes. Des solvants tels que l'éthanol, l'eau et leurs mélanges, ont été utilisés pour extraire des composés phénoliques des plantes (**Chhouk, 2017 ; Machado et al., 2017 ; Oniszczyk et al., 2019**). L'ajout d'acide formique ou acétique (1% à 5%) peut faciliter la solubilité des analytes dans le solvant et stabiliser les

polyphénols (principalement les anthocyanidines). Habituellement, des températures d'extraction de 80 à 150 °C et des temps d'extraction de 1 à 160 min ont été appliqués pour extraire les composés phénoliques des plantes par PLE (**Ong et al., 2006**). L'utilisation de températures plus élevées (>150°C) doit être soigneusement étudiée en raison de la dégradation des composés phénoliques en raison du fait qu'il s'agirait de composés thermolabiles, ainsi que de l'apparition de réactions chimiques indésirables dans la matrice de l'échantillon.

8.2.4. Extraction de fluide supercritique (SFE)

Elle peut fonctionner avec n'importe quel solvant qui est pressurisé et chauffé au-dessus de son point critique. Il existe une variété de solvants qui peuvent être utilisés dans des conditions supercritiques, mais le dioxyde de carbone (CO₂) est le plus utilisé, même pour atteindre l'extraction de polyphénols parce que le CO₂ offre plusieurs avantages. Ce solvant a un faible point critique de pression et de température (31°C et 7,3 MPa), il est non toxique, non inflammable, non explosif, et il est considéré comme un solvant de qualité alimentaire, solvant écologiquement durable, facile à obtenir, bon marché, et il permet d'obtenir un extrait sans solvant (**Herrero et al., 2015**).

Compte tenu de la nature chimique des polyphénols, le CO₂ est incapable de les extraire en raison de sa faible polarité. Ainsi, de petites quantités (5% à 30%) des cosolvants polaires (méthanol, éthanol et mélanges d'éthanol et d'eau) sont utilisés avec le CO₂ pendant l'extraction (**Da Silva, 2016 ; Santana et Macedo, 2019 ; M'hiri et al., 2015 ; Da Porto et Natolino, 2017**). Le type et la quantité de cosolvant est l'un des paramètres les plus importants impliqués dans l'extraction de composés phénoliques. L'éthanol a fourni le meilleur rendement d'extraction.

9. Méthodes d'identification et de quantification des composés phénoliques

9.1. Méthode colorimétrique

La méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, cette méthode très sensible mais peu spécifique car beaucoup d'autres composés réducteurs peuvent interférer, en particulier l'acide ascorbique.

Tous les composés phénoliques des végétaux absorbent en UV (ultraviolet) et certains d'entre eux absorbent également dans le visible. Le spectre d'absorption résulte de la présence simultanée du cycle(s) benzénique (s), des fonctions hydroxyles phénoliques et des différentes doubles liaisons présentes dans la molécule. Lorsqu'un composé phénolique est très fortement

majoritaire dans un matériel végétal donné, on peut alors avoir une estimation approximative rapide de la teneur du matériel à partir du spectre d'absorption (UV ou visible) (**Macheix et al., 2005**).

9.2. Méthodes chromatographiques

Les séparations chromatographiques sur couche mince ou sur colonne sont utilisées (**Macheix et al., 2005**). La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est de très loin, la technique la plus appliquée pour la séparation et la quantification des composés phénoliques comme en témoignent les excellentes séparations déjà obtenues depuis plus de 20 ans (**Naczka, 2004 ; Macheix et al., 2005 ; Roginsky et Lissi, 2005**).

9.3. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) permet d'accéder qualitativement aux structures des molécules et à leur environnement physicochimique sans dégrader l'échantillon étudié. Celle-ci est basée sur la possibilité de faire résonner différents noyaux dans un champ magnétique, donc sur leurs propriétés magnétiques et cinétiques (**Alonso-Salces et al., 2010**).

9.4. Méthodes couplées

D'autres techniques performantes sont aussi utilisées, on peut citer, la chromatographie gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (GC/MS) donnent aussi des résultats très satisfaisants, le couplage de ces techniques à différents détecteurs (la détection UV à une longueur d'onde fixe, la détection à barrette de diodes, la détection fluorimétrique...) s'avère déterminant, améliore davantage leur sensibilité et leur résolution (**Liberatore, 2001 ; Saitta et al., 2002**).

L'application de la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS) est recommandée pour l'identification de certains composés phénoliques. En effet, cette technique permet l'analyse complète de la structure, mais généralement, elle est employée pour déterminer la masse moléculaire et pour établir la distribution des substituants sur les noyaux phénoliques (**Proestos et al., 2006**). Pour de nombreux auteurs, ce sont les techniques les plus adéquates pour l'étude des flavonoïdes (**de Rijke, 2003 ; Prasain et al., 2004**).

Chapitre III : Activité antibactérienne d'extrait des feuilles d'olivier

1. Activité antibactérienne

Les substances antibactériennes sont définies comme étant des substances capables de tuer les bactéries ou d'empêcher leur multiplication. L'action antibactérienne dépendra du microorganisme lui-même, de l'agent antibactérien et de l'environnement où se situe l'action. On parlera ainsi d'un effet bactériostatique lorsque la substance antibactérienne empêche la multiplication des bactéries et d'un effet bactéricide lorsqu'elle détruit totalement la bactérie (Mercier, 1994).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998). A titre d'exemple, environ, 95% de souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline et dans les pays asiatiques 70- 80% de ces mêmes souches sont résistantes à la méticilline (Hemaiswarya et al., 2008).

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduit à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les molécules synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (García-Ruiz, 2008 ; Kempf et Zeitouni, 2009).

2. Principales substances antimicrobiennes

2.1. 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.

2.2. Composés phénoliques

Les effets antimicrobiens des phénols issus de l'olive, l'huile d'olive et les feuilles de l'olivier ont été le sujet de différentes recherches qui confirment l'effet antimicrobien des polyphénols. Il a été établi que les sécoiridoïdes (oleuropéine et ses dérivés), une des classes principales de polyphénols contenues dans l'olive, l'huile d'olive et feuilles d'olivier, empêche ou retarde le taux de croissance d'une gamme de bactéries et de microchampignons (**Mercier, 1994**).

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) calculées présentent une preuve d'une large activité antimicrobienne de l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine contre les souches bactériennes étudiées. Ces données montrent que, outre l'emploi potentiel de ses principes actifs comme additifs alimentaires ou dans des programmes intégrés de prise en charge de parasites, *Olea europaea* peut être considéré comme une source potentielle d'agents antimicrobiens prometteurs pour le traitement des infections des systèmes gastro-intestinal ou respiratoire de l'homme. La feuille d'olivier elle-même est un fongicide et contient un antibactérien l'oleuropéine, qui protège l'arbre des champignons et des moisissures (**Mercier, 1994**).

3. Détermination de l'activité antibactérienne

3.1. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980)

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée préalablement sur milieu spécifique, est prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile, chacune sera ensuiteensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de la dernière solution qui constitue l'inoculum de l'espèce de bactérie donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique sont effectuées ; allant à 10^{-4} pour les germes étudiés.

Des prélèvements de 1 ml de chaque dernière dilution décimale sont ensuite individuellement ajoutés à 9 ml de chaque extrait des plantes testés dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions sont enfinensemencés en triple essais (3 boites de Petri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance pour chaque espèce microbienne. La lecture du nombre de colonies développé est effectuée après incubation des milieuxensemencés à 37°C pendant 24 à 72 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

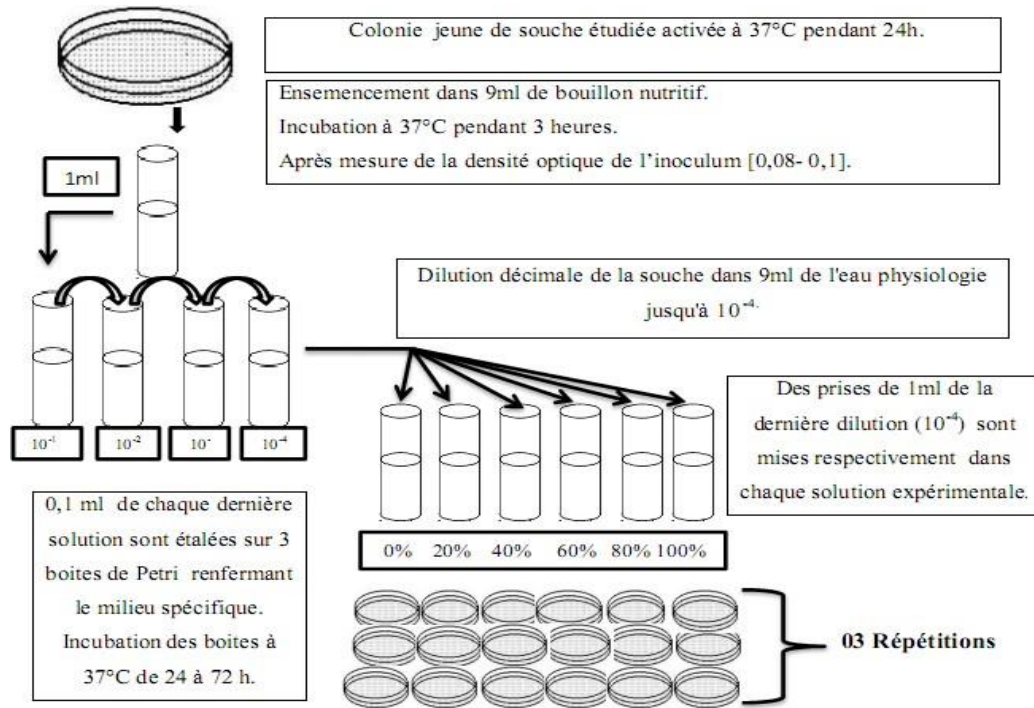


Figure 14 : Détermination de l'activité antibactérienne par méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980)

3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique et /ou en principes actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (Denis et al., 2011). Les extraits des plantes obtenus par extraction aux différents solvants sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice de germe. Ainsi, une colonie de la bactérie prélevée à l'aide d'une anse de platine dans 10 ml de bouillon nutritif, est incubée pendant 3 heures à 37°C en vue d'obtenir les inoculations, des prises de 0,2 ml de chaque inoculum sont ensuite introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

Les mélanges des tubes contenant séparément chaque extrait préparé à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie, sont ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures (LA et al., 2008). La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI est effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspond donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité.

3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide d'une espèce de germe étudié représente la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation (LA *et al.*, 2008).

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures.

Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5 cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la concentration minimale bactéricide.

4. Mécanisme d'action antimicrobien

Les composés phénoliques sont reconnus d'être synthétisés par les plantes en réponse à l'infection microbienne (Boulekbache *et al.*, 2013). En effet, ils sont les principaux composés antimicrobiens des plantes, possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes. L'intensité et le spectre d'activité antimicrobienne varient selon la bactérie et le type d'extrait et le type de bactéries (Djenane *et al.*, 2012).

L'action antibactérienne des phénols est liée à leurs capacités à dénaturer les protéines et sont généralement classés comme agents agissant en surface (Caturla, 2005 ; Casas-Sanchez *et al.*, 2007). Leur action conduirait à la fuite des constituants cellulaires des bactéries tels que les protéines, le potassium et le phosphate.

Ces effets pourraient être dus à la destruction du peptidoglycane ou aux dommages de la membrane cellulaire. L'hydrophobicité des polyphénols tels que les flavonoles est aussi un critère de toxicité qui leur permet de s'insérer entre les phospholipides membranaires et d'exercer leurs effets antibactériens à l'intérieur de la cellule.

Les mécanismes d'action des composés naturels sont liés à la désintégration de la membrane cytoplasmique, la déstabilisation de la force motrice des protons, le flux d'électrons, le transport actif et la coagulation du contenu des cellules (Figure 15). Les

polyphénols agissent par privation de substrat, rupture de la membrane et de la paroi cellulaire (Silva *et al.*, 2010).

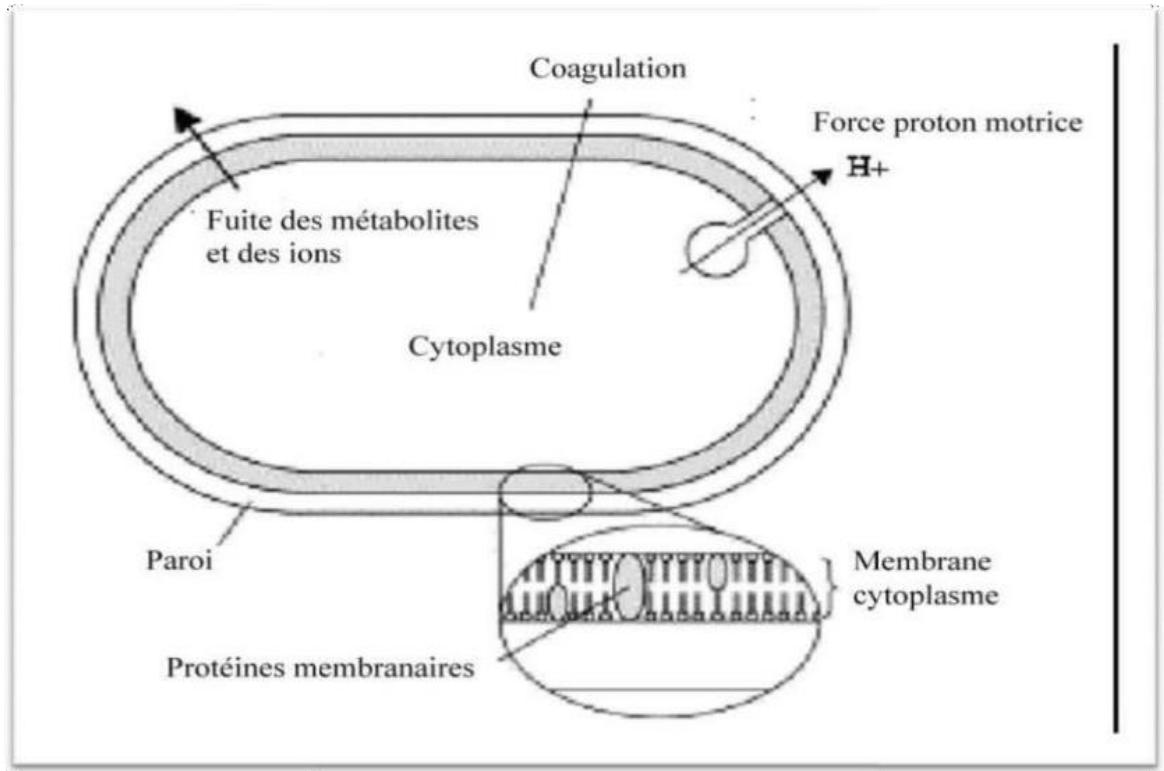


Figure 15 : Sites et mécanismes dans la cellule bactérienne considérés comme sites d'action pour les composés naturels (Silva *et al.*, 2010).

5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles d'olive

Malgré la grande disponibilité de médicaments antimicrobiens cliniquement utiles, plusieurs arguments (spectre antimicrobien limité et effets secondaires graves des antibiotiques majeurs, augmentation de la résistance clinique des micro-organismes précédemment sensibles, émergence d'infections auparavant rares) stimulent le développement de nouvelles molécules végétales avec une activité antibactérienne. Parce que la feuille d'olive (*Olea europaea*) est connue pour être résistante dans la nature aux attaques microbiennes et d'insectes, beaucoup de recherches ont porté sur l'activité antibactérienne des composés contenus dans les olives, l'huile et feuilles d'olive (Bisignano, 1999).

Plusieurs études ont montré que des extraits de plantes utilisées en médecine traditionnelle pourraient fournir des composés agissant sur de nouveaux récepteurs avec un nouveau mécanisme d'action contre les souches pathogènes multi-résistantes (Clements *et al.*, 2002 ; Ballel, 2005).

5.1. Effet antibactérien des extraits aqueux de feuilles d'olive

Selon l'étude de **Aliabadi et al. (2012)**, l'activité antibactérienne des extraits aqueux de feuilles d'olive est testée par la méthode de diffusion de puits d'agar contre certaines bactéries pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus cereus*.

Tableau 6: Activité antibactérienne des extraits aqueux de feuilles d'olive à différentes concentrations (**Aliabadi et al., 2012**)

Bactéries pathogènes	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>B. cereus</i>
Extrait mg/ml					
10	-	1	-	-	-
15	1	2	-	2	1
25	3.5	4	2	4.5	2.1
35	7.2	8.5	6	7.2	7
50	9	11.5	8.2	10	9.5

- zones d'inhibition en millimètre

Selon **Aliabadi et al. (2012)**, les extraits de feuilles d'olive ont montré de bons effets inhibiteurs sur les bactéries pathogènes. **Markin et al. (2003)** ont également signalé que l'extrait de feuille d'olivier avec une concentration de 0,6 % (w/v) a tué *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *K. pneumonia* dans l'exposition à 3 heures. D'autre part, *B. cereus* n'a été inhibé que lorsque la concentration a été augmentée à 20 % (w/v) et cela peut-être due à la capacité de formation des spores dans cette espèce.

Dans une autre étude, **Korukluoglu et al. (2010)** ont étudié l'effet du solvant d'extraction sur l'efficacité antimicrobienne sur *S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*. Ils ont rapporté que le type de solvant a affecté la distribution et la concentration phénolique dans les extraits, et l'activité antimicrobienne contre les bactéries testées. L'extrait des feuilles d'olivier par l'éthanol a montré l'efficacité antibactérienne la plus élevée contre *E. coli* et *S. enteritidis*. Cependant, l'extrait par l'acétone a montré l'efficacité la plus élevée contre *S. typhimurium* (**Korukluoglu et al., 2010**).

Dans l'étude d'**Owen et al. (2003)**, les composés phénoliques contenus dans l'extrait de feuille d'olive ont montré des activités antimicrobiennes contre plusieurs micro-

Organismes, dont : *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *S. typhi* et *V. parahaemolyticus*. Dans cette étude, l'extrait aqueux de feuille d'olive a montré de bonnes capacités antimicrobiennes et l'inhibition la plus élevée de 11,5 mm contre *Salmonella typhimurium*.

5.2. Spectre d'activité antibactérienne des extraits phénoliques

La force et le spectre d'activité antibactérienne varient selon le type d'extrait et le Gram des bactéries. Cependant, les bactéries à Gram positif sont généralement les plus sensibles aux effets de ces extraits polyphénoliques. Cette résistance élevée chez les bactéries à Gram négatif est attribuée à la présence d'une membrane externe imperméable aux composés lipophiles. L'absence de cette barrière chez les bactéries à Gram positif permet le contact direct des constituants hydrophobes des extraits avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne, entraînant une augmentation de la perméabilité aux ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux ou l'altération des systèmes enzymatiques bactériens (Wendakoon et Sakaguchi, 1995).

Pereira *et al.* (2007) ont testé l'effet des extraits aqueux de feuilles d'olivier sur les bactéries *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus* (Gram +), *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* (Gram -) et *C. albicans* et *C. neoformans* (champignons). Ils ont remarqué que l'extrait inhibait toutes les bactéries et champignons testés, suggérant une large activité antimicrobienne des extraits de feuilles d'olive d'une manière dépendante de la concentration.

Selon le tableau 7, les valeurs du taux de croissance microbienne en présence de différentes concentrations d'extraits des feuilles d'olivier présentaient une capacité antimicrobienne suivant l'ordre *B. cereus* > *C. albicans* > *E. coli* > *S. aureus* > *C. neoformans* > *K. pneumoniae* > *P. aeruginosa* > *B. subtilis*.

B. cereus (Gram positif) et *C. albicans* (champignons) étaient les microorganismes les plus sensibles, présentant des valeurs IC25 inférieures à 1 mg/ml.

Tableau 7 : Taux de croissance microbienne en présence de différentes concentrations d'extraits de feuilles d'olivier et valeurs IC₂₅ (**Pereira et al., 2007**).

Extrait (mg/mL)	<i>B. cereus</i>	<i>B. Subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. neoformans</i>
0.00	0.67	0.53	0.66	0.57	0.68	0.63	0.40	0.18
0.05	0.69	0.62	0.71	0.56	0.61	0.52	0.35	0.17
0.10	0.54	0.61	0.73	0.56	0.60	0.63	0.36	0.16
0.50	0.51	0.59	0.68	0.52	0.61	0.60	0.39	0.16
1.00	0.48	0.53	0.60	0.46	0.59	0.60	0.26	0.15
5.00	0.37	0.36	0.35	0.30	0.44	0.37	0.12	0.12
IC₂₅	0.63	4.12	2.68	1.81	3.13	3.22	0.85	3.00

IC₂₅ (concentration inhibitrice de 25%)

En outre, il n'y avait pas de sélectivité entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Cet extrait de feuilles a été en mesure de dénaturer les protéines et d'affecter la perméabilité de la membrane cellulaire de la bactérie (**Pereira et al., 2007**).

5.3. Efficacité antimicrobienne des extraits phénoliques

Selon l'étude de **Djenane et al. (2012)**, l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles d'olivier vis-à-vis des trois souches pathogènes *P. aeruginosa*, *S. Enteritidis*, *S. aureus* (Figure 16), est évaluée qualitativement et quantitativement par la méthode de diffusion sur gélose. Selon les résultats représentés dans le tableau 8, l'extrait brut et les polyphénols de feuilles d'olivier ont présenté une forte activité antibactérienne. Les résultats obtenus pour ces composés sont comparables à ceux obtenus pour le chloramphénicol, un antibiotique utilisé comme témoin positif. Les diamètres d'inhibition enregistrés vis-à-vis des souches sont récapitulés dans le tableau 9.

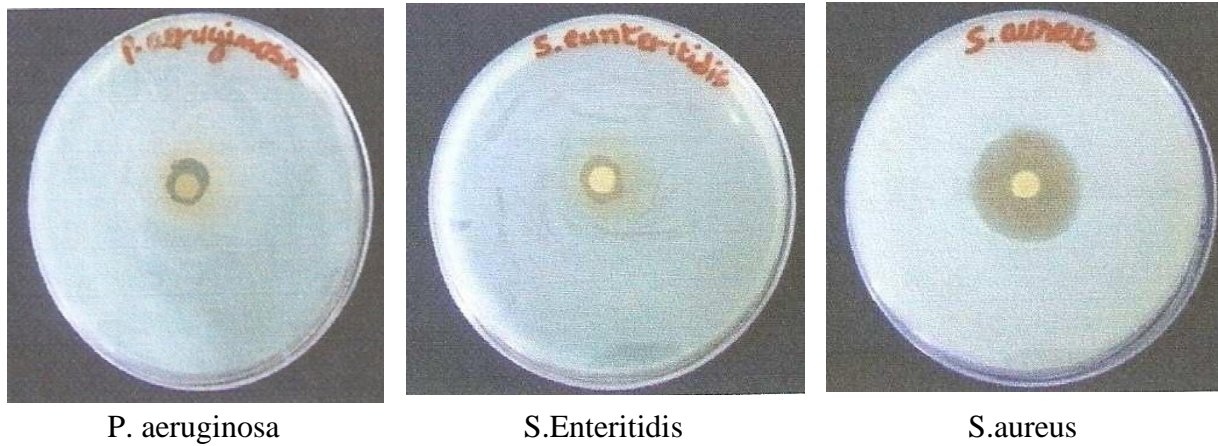


Figure 16 : Effet inhibiteur des extraits d'olivier vis-à-vis de *P. aeruginosa*, *S. Enteritidis* et *S. aureus* (Djenane et al., 2012)

Tableau 8 : Activité Antibactérienne de l'extrait brut aqueux et des polyphénols des feuilles d'olivier (Méthode de diffusion sur gélose), exprimée en diamètre d'inhibition (mm) (Moyenne± écart type) (Djenane et al., 2012)

	Zone d'inhibition (mm)		
	Polyphénol	Extrait brut	Chloramphénicol
<i>S. Enteritidis</i>	16,15±1,2 ^a	13,70±2,10 ^b	15,25±0,8 ^{a,b}
<i>S. aureus</i>	30,18±2,10 ^a	16,33±1,8 ^b	16,35±1,8 ^b
<i>P. aeruginosa</i>	15,57±2,15 ^a	15,29±1,9 ^a	16,15±0,7 ^a

Les recherches réalisées "in vitro" par plusieurs auteurs **Das et al. (2010) ; Keskin et al. (2012)** ont démontré que les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes, ayant des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis de nombreux micro-organismes. La forte activité antimicrobienne des extraits phénoliques et bruts est confirmée par la méthode de micro dilution (Tableau 9).

Tableau 9: Les Concentrations minimales inhibitrices exprimées en pourcentage (v/v) (Djenane et al., 2012)

	CMI %	
	Polyphénols	Extrait brut
<i>S. Enteritidis</i>	0,1	1,2
<i>S. aureus</i>	0,05	0,9
<i>P. aeruginosa</i>	0,1	1,2

Il ressort de ce tableau que les polyphénols sont plus performants par rapport à l'extrait brut en termes de valeurs de CMI. Les polyphénols ont exhibé une valeur de CMI (0,05%) inférieure de 18 fois à celle obtenue avec l'extrait brut (0,9%) vis-à-vis de *S. aureus*. Cependant, vis-à-vis de *S. Enteritidis* et *P. aeruginosa*, l'extrait polyphénolique est 12 fois plus performant que l'extrait brut (Djenane et al., 2012).

En outre, les activités antimicrobiennes de ces extraits sont difficiles à corrélérer à un composé spécifique en raison de leur complexité et leur variabilité. Néanmoins, certains chercheurs ont signalé qu'il existe une relation étroite entre la composition chimique en éléments phénoliques et l'activité antimicrobienne (Djenane et al., 2012).

Les valeurs de CMI indiquent que l'extrait polyphénolique est plus efficace que l'extrait brut. Kim et al. (1995) ont déjà indiqué qu'en raison de la variation dans la diffusion et des propriétés de solubilité des différents composés dans les différents milieux, les résultats obtenus par la méthode des disques ne peuvent pas être directement comparables à ceux obtenus par la méthode de microdilution. Leurs résultats ont montré que l'extrait polyphénolique qui a provoqué d'importantes zones d'inhibition vis-à-vis de *S. aureus* est celui qui a donné la plus faible valeur de CMI (0,05%).

Selon Das et al. (2010), les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédants des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes. Cela a été prouvé grâce à leurs travaux portant sur l'évaluation de l'activité biologique d'extraits issus de plusieurs plantes méditerranéennes (bourrache, romarin, sauge, origan, lentisque, etc.) (Djenane et al., 2002, 2003).

5.4. Effets synergiques des composés phénoliques individuels et combinés de l'extrait de feuilles d'olivier

Selon les résultats de **Lee et Lee (2010)**, les effets synergiques de l'individu et des composés phénoliques combinés dans l'extrait des feuilles d'olivier testés vis-à-vis des cinq souches pathogènes *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* (Tableau 10). L'oleuropéine a montré un effet d'inhibition fort (23,5 mm) contre *S. enteritidis*, et l'acide caféique a montré des effets d'inhibition modérés (9,8 à 10,4 mm) contre *B. cereus*, *E. coli*, et *S. enteritidis*. Cependant, l'oleuropéine et l'acide caféique n'ont pas montré d'activités antimicrobiennes contre *S. aureus*. De façon constante, aucune activité antimicrobienne n'a été observée pour la rutine et la vanilline contre *B. cereus*, *E. coli*, *S. enteritidis* et *S. aureus*. Il est intéressant de noter que le mélange combiné de composés phénoliques a montré de meilleurs effets d'inhibition contre *B. cereus* et *S. enteritidis*. Une différence significative a été détectée dans laquelle le mélange de composés phénoliques a présenté des effets d'inhibition plus élevés que les composés phénoliques individuels ($p < 0,05$). Ces résultats indiquent que l'oleuropéine, la rutine, la vanilline et l'acide caféique contenus dans l'extrait de feuille d'olive offrent certains effets synergiques sous forme mixte.

Tableau 10: Activités antimicrobiennes de l'oleuropéine, de rutine, de la vanilline, de l'acide caféique et de leur mélange en extrait de feuille d'olive (**Lee et Lee, 2010**).

	Oleuropéine	Rutine	Vanilline)	acide caféique	Mélange d'extrait
<i>Bacillus cereus</i>	- b	-	-	9.8 ± 0.0 b	28.5 ± 0.3 a
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	10.1 ± 0.1	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	23.5 ± 0.8 b	-	-	10.4 ± 0.2 c	24.5 ± 0.5 a

^{a-c} : Les moyens de la même colonne qui ne partagent pas une lettre commune sont significativement différents ($p < 0,05$) par le test multiple de Duncan. ^b Non détecté.

5.5. Effet de la méthode d'extraction sur l'activité antibactérienne des extraits phénoliques

Les chercheurs **Ghomari *et al.* (2019)** ont étudié l'effet des solvants d'extraction (éthanol, acétonitrile, eau distillée), du pH, de la température et de la méthode d'extraction (macération, sonication, macération en deux étapes) sur le contenu flavonoïde et phénolique des feuilles d'olive. En outre, des analyses qualitatives et quantitatives des composés phénoliques par (HPLC) ont été effectuées.

Les résultats ont montré que l'extrait macéré en deux étapes par l'éthanol suivi par l'eau distillée des feuilles séchées, a montré une teneur élevée en composés phénoliques et en flavonoïdes par rapport aux extraits obtenus par les autres méthodes d'extraction. D'autre part, l'effet des extraits obtenus a été étudié sur cinq bactéries pathogènes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes*) à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose. Les disques imbibés de chloramphénicol ont été utilisés comme témoins positifs. Le contrôle négatif était un disque contenant 10 ml de DMSO. Les expériences ont été répétées deux fois pour chaque essai.

Les résultats de cette étude ont montré des réponses différentes concernant les cinq bactéries testées reflétées par différents diamètres de halos. L'effet antibactérien était plus important pour l'extrait préparé à l'éthanol puis à l'eau pour les feuilles séchées (Figure 17).

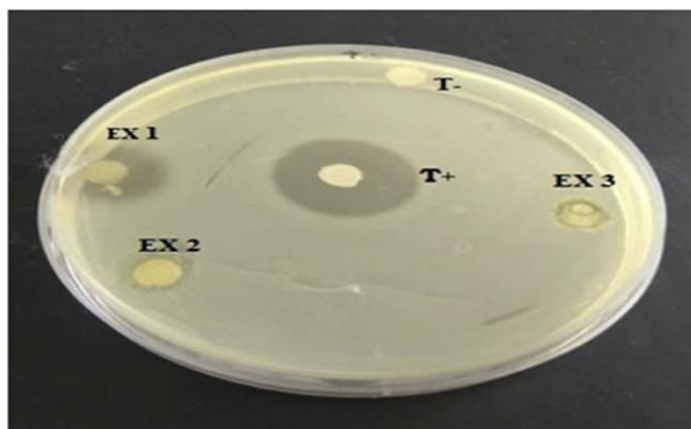


Figure 17: Activité antibactérienne du meilleur extrait obtenu par macération en deux étapes avec de l'éthanol suivie de l'eau des feuilles séchées contre la bactérie *Escherichia coli*.

T- : témoin négatif (DMSO) ; T+ : témoin positif (Chloramphénicol) ; EX 1 : extrait testé obtenu par macération avec de l'éthanol suivi de l'eau ; EX 2 : extrait testé obtenu par macération d'eau distillée ; EX 3: extrait testé obtenu par macération avec 20% d'acétonitrile (**Ghomari *et al.*, 2019**).

Chapitre III: Activité antibactérienne d'extrait des feuilles d'olivier

Cet extrait a montré l'activité inhibitrice contre toutes les souches étudiées. Ainsi, ces résultats ont montré que la forte teneur en flavonoïdes et en composés phénoliques totaux de ces extraits peut expliquer probablement leurs fortes activités antibactériennes par rapport aux autres techniques utilisées. Ils ont observé également que ces extraits ont une forte teneur en oleuropéine, ce composé est un sécoiridoïde contenu dans les feuilles d'olive, les olives et l'huile d'olive. Ce dernier était responsable d'une forte activité antibactérienne qui pourrait s'expliquer par ses propriétés surfactantes qui pourraient changer la perméabilité de la membrane cellulaire des bactéries (**Ghomari et al., 2019**).

Les résultats obtenus pour l'activité antibactérienne de chaque extrait préparé (le diamètre d'inhibition est donné par (mm)) sont résumés dans le tableau 10.

Tableau 11:Activité antibactérienne des feuilles d'olives extraits à différentes concentrations (Diamètre de la zone d'inhibition en mm) (**Ghomari et al., 2019**).

Extraits	Conc mg/ml	S. aureus	L. Monocytogene	B. subtilis	P. aeruginosa	E. Coli
Macération						
80% Éthanol	30	3.5 ± 0.0	03 ± 0.2	02 ± 0.5	01 ± 0.2	03 ± 0.0
	50	8.5 ± 0.9	07 ± 0.6	5.5 ± 0.8	4.5 ± 0.6	07 ± 0.1
20% Acétonitrile	30	–	–	–	–	–
	50	–	–	–	–	–
Eau distillée	30	–	–	–	–	–
	50	–	–	–	–	–
Eau distillée à 60°C	30	01 ± 0.3	01 ± 0.2	01 ± 0.2	–	02 ± 0.0
	50	4.5 ± 1.0	04 ± 0.1	05 ± 0.2	01 ± 0.3	06 ± 0.4
Eau distillée à 60C avec pH 3	30	01 ± 0.3	01 ± 0.0	02 ± 0.5	01 ± 0.0	01 ± 0.1
	50	3.5 ± 1.0	3.2 ± 0.0	03 ± 0.2	02 ± 0.0	03 ± 0.3
Sonication						
80% Éthanol	30	–	–	–	–	–
	50	–	–	–	–	–

Chapitre III: Activité antibactérienne d'extrait des feuilles d'olivier

Suit tableau 11

20% Acétonitrile	30 50	- -	- -	- -	- -	- -
Macération en deux étapes						
Éthanol – Méthanol	30 50	07 ± 0.4 10 ± 1.5	06 ± 1.3 12 ± 1.0	07 ± 2.5 09 ± 1.3	2 ± 0.0 5 ± 1.2	07 ± 2.1 10 ± 0.0
Eau d'éthanol distillée	30 50	08.5 ± 1.0 10.5 ± 0.0	09 ± 0.4 15.5 ± 0.4	11 ± 1.3 15 ± 1.3	09 ± 0.3 12.5 ± 1.3	11 ± 0.3 15 ± 1.3
Éthanol -eau distillée	30	05 ± 1.2	08 ± 0.3	04 ± 0.5	03 ± 0.0	03 ± 0.3
Feuilles fraîches	50 30	09 ± 2.0 16 ± 0.8	10 ± 0.9 16 ± 2.3	07 ± 0.3 16 ± 0.3	07 ± 0.0 14 ± 2.4	05 ± 0.3 19 ± 0.0
Chloramphénicol	50	21 ± 2.9	20 ± 0.4	19 ± 2.3	20 ± 2.5	26 ± 0.9

-: Pas d'activité antibactérienne.

Les résultats de l'antibiogramme ont également montré que toutes les souches testées sont sensibles au chloramphénicol avec des diamètres d'inhibition différents. La richesse des feuilles d'olive en molécules précieuses pourrait être exploitée dans diverses applications dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. D'autres études sont ainsi menées pour valoriser l'oleuropéine tout au long de la bioconversion vers l'hydroxytyrosol qui est un produit à forte valeur ajoutée.

5.6. Activité antimicrobienne de l'extrait commercial de feuilles d'olive

Les chercheurs **Sudjana *et al.* (2009)** ont étudié l'activité d'un extrait commercial des feuilles d'*Olea europaea* contre un large éventail de microorganismes (n = 122).

Selon les résultats obtenus, les microorganismes les moins sensibles à l'extrait de feuille d'olivier (OLE) ayant des MIC \geq 50% OLE étaient *Bacillus subtilis*, *Candida spp.*,

Chapitre III: Activité antibactérienne d'extrait des feuilles d'olivier

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Serratia marcescens* (Tableau 12). À l'inverse, le microorganisme le plus sensible était *Campylobacter jejuni* avec des MIC aussi bas que 0,31 %, suivis de *Helicobacter pylori* avec des MIC de 0,62 % et de *Staphylococcus aureus* avec des MIC de 0,78 %. En revanche, l'extrait a montré peu d'activité contre tous les autres organismes d'essai (n = 79), avec des MIC pour la plupart allant de 6,25% à 50% (v/v).

Tableau 12: Données de susceptibilité pour les microorganismes (n = 122) testées sur l'extrait de feuille d'olive (% v/v) (Sudjana *et al.*, 2009).

Microorganisme (n)	MIC _{range}	MIC ₉₀	MBC/MFC _{range}	MBC ₉₀ /MFC ₉₀
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (N°120)	25		25	
<i>Bacillus cereus</i> (N°120)	12.5		12.5	
<i>Bacillus subtilis</i> (N°120)	50		50	
<i>Campylobacter jejuni</i> (10)	0.3–2.5	2.5		
<i>Candida albicans</i> (N°120)	50		>50	
<i>Candida glabrata</i> (N°120)	50		50 to >50	
<i>Candida parapsilosis</i> (N°120)	50		50 to >50	
<i>Enterococcus faecalis</i> (6)	25		50	
<i>Escherichia coli</i> (4)	25–50		25–50	
<i>Helicobacter pylori</i> (4)	0.6–1.2			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (3)	50		50	
<i>Kocuria rhizophila</i> (N°120)	12.5		50	
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (N°120)	6.2		12.5	
<i>Lactobacillus casei</i> (3)	12.5–25		12.5–25	
<i>Lactobacillus spp.</i> (13)	12.5–25	25	25	25
<i>Listeria innocua</i> (N°120)	12.5		12.5	
<i>Listeria monocytogenes</i> (8)	25		25–50	
<i>Micrococcus luteus</i> (N°120)	6.2		25	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (4)	25–50		50	
<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> (N°120)	25		25	

Suite tableau 12

<i>Serratia marcescens</i> (3)	25–50		25–50	
MSSA (N°120)	0.8–6.2	6.2	0.8–6.2	6.2
MRSA (17)	0.8–12.5	12.5	0.8–12.5	12.5
<i>Staphylococcus capitis</i> (N°120)	3.1		3.1	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (4)	1.6–3.1		1.6–3.1	
<i>Staphylococcus hominis</i> (N°120)	6.2		6.2	
<i>Staphylococcus xylosus</i> (N°120)	6.2–25		6.2–25	
<i>Streptococcus pyogenes</i> (10)	3.1–25	25	6.2–50	50

MIC : concentration inhibitrice minimale ; MBC : concentration bactéricide minimale ; MFC : concentration minimale de champignons ; MSSA : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline ; SARM : *S. aureus* résistant à la méticilline.

Les données de **Sudjana et al. (2009)** indiquent qu'OLE ne présente pas d'activité à large spectre et n'a une activité appréciable que contre *C. jejuni*, *H. pylori* et *Staphylococcus spp.* La sensibilité des microorganismes *H. pylori* et *C. jejuni* à l'OLE n'est pas surprenante car ces organismes sont fréquemment sensibles aux agents antimicrobiens in vitro. De plus, une étude antérieure a montré que les isolats de *C. jejuni* sont comparativement plus sensibles à divers composés naturels que d'autres microorganismes comme *E. coli*, *Salmonella* et *Listeria*. Cela a été attribué à leur nature exigeante et peut-être à des différences dans la membrane externe et la paroi cellulaire par rapport aux autres organismes (**Friedman et al., 2004**).

Conclusion générale

Conclusion générale

L'activité antimicrobienne d'*Olea europaea L.* a fait l'objet d'une étude approfondie au cours des quatre dernières décennies. Ces efforts scientifiques se sont principalement concentrés sur l'activité antimicrobienne globale des extraits bruts contre une grande variété de bactéries et de champignons. *Olea europaea L.* semble être une source fiable de composés phénoliques qui pourraient servir d'additifs alimentaires appropriés. Dans le cadre de leur bioactivité extraordinaire, l'ajout technologiquement contrôlé de certains composés phénoliques aux aliments peut être considéré comme favorable, car ils possèdent de forts effets bénéfiques pour la santé, contrairement aux agents conservateurs traditionnels.

L'extrait des feuilles d'olive est une source puissante de polyphénols ayant des propriétés antimicrobiennes importantes. Ainsi, l'extrait brut des feuilles d'olivier inhibent toutes les bactéries et les champignons testés, suggérant une large activité antimicrobienne dépendante de la concentration. En outre, il n'y avait pas de sélectivité entre les bactéries gram positif et gram négatif. Cependant, l'extrait polyphénolique est révélé 12 fois plus performant que l'extrait brut. Dans ce cadre, certains chercheurs ont signalé l'existence d'une relation étroite entre la composition chimique en éléments phénoliques et l'activité antimicrobienne.

Par ailleurs, les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédant des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes. L'activité antimicrobienne des phénols combinés a montré des effets meilleurs que les phénols individuels utilisés in-vitro. De plus, le type de solvant affecte également la composition et la concentration phénolique dans l'extrait et en conséquence l'activité antimicrobienne.

Bien que, les activités, les modes d'action et l'aptitude à l'utilisation des extraits des feuilles d'olivier dans les aliments nécessitent plus d'études expérimentales pour étudier le comportement des constituants phénoliques de *Olea europaea* dans les matrices alimentaires et élargir les connaissances sur les altérations sensorielles possibles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Aliabadi M. A., Darsanaki R. K., Rokhi M. L., Nourbakhsh M et Raeisi G., 2012.** Antimicrobial activity of olive leaf aqueous extract. *Annals of biological research*. 3(8): 4189-4191.
- **Alonso-Salces R., Héberger K., Holland M., Moreno-Rojas J., Mariani C., Bellan G., Reniero F et Guillou C., 2010.** Multivariate analysis of NMR fingerprint of the unsaponifiable fraction of virgin olive oils for authentication purposes. *Food chemistry*. 118(4): 956-965 .
- **Altıok E., Bayçın D., Bayraktar O et Ülkü S., 2008.** Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. separation and purification technology. 62(2): 342-348 .
- **Amouretti M.C et Comet G.,1985.** Le livre de l'olivier. Edisud. 56 - 90 pages.
- **Argenson C.,1999.** L'olivier. Les Editions Ctifl. 462 pages.
- **Ayala-Zavala J., Vega-Vega V., Rosas-Domínguez C., Palafox-Carlos H., Villa-Rodríguez J., Siddiqui M. W., Dávila-Aviña J et González-Aguilar G.,2011.** Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*.44(7): 1866-1874 .
- **Babu A., Kumaresan G., Raj V. A. A et Velraj R., 2018.** Review of leaf drying : Mechanism and influencing parameters, drying methods, nutrient preservation and mathematical models. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier. 90(C) :536-556 .
- **Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuño A et Del Rio J., 2000.** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*. 68(4):457-462 .
- **Bianchi S., Bigazzi R., Baldari G., Sgherri G. et Campese V. M., 1994.** Diurnal variations of blood pressure and microalbuminuria in essential hypertension. *American Journal of Hypertension*. 7(1):23-29.
- **Boros B., Jakabová S., Dörnyei Á., Horváth G., Pluhár Z., Kilár F et Felinger A., 2010.** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography– mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of chromatography*. 1217(51):7972-7980 .
- **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 -tocopheryl acetate. *British Poultry Science*. 51 : 760-768.
- **Bouarroudj K., Tamendjari A et Larbat R., 2016.** Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops and Products*. 83: 484-491 .

Références bibliographiques

- **Bouaziz M., Fki I., Jemai H., Ayadi M et 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(1): 253-262.
- **Boudhrioua N., Bahloul N., Slimen I. B et Kechaou N., 2009.** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products* . 29(2-3) : 412-419.
- **Boukhari R., 2014.** Contribution à l'analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d'olivier et l'influence de l'environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou. Mémoire de Magister,U.A.B.B. Tlemcen.188 pages.
- **Boulekbache-Makhlouf L., Slimani S et Madani K., 2013.** Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. Mémoire de Magister.Bouira. 280 pages.
- **Bouras N., 2015.** Faisabilité de mise en place d'une indication géographique sur l'olive de table variété " SIGOISE", Thèse, ENSA. de Sig-W. Mascara.187 pages.
- **Bouregghda W., 2017.** Identification des prédateurs généralistes (carabidés et araignées) dans un verger d'olivier situé dans la région de Guelma. Mémoire de Master. Guelma. 86 pages.
- **Bourgeois C. et Leveau S., 1980.** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries alimentaires. 2^{ème} édition : Entièrement. Paris : Lavoisier-Tec & Doc : Apria.
- **Bruneton J.P., 1999.** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} Edition : Technique and Documentation. London ; Paris ; New York .101-120 pages.
- **Bryskier A., 1999.** Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques, Ellipses. Paris .76(1)
- **Bustos M. C., Rocha-Parra D., Sampedro I., Pascual-Teresa S et Leñ A. E, 2018.** The influence of different air-drying conditions on bioactive compounds and antioxidant activity of berries. *Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba*. 66(11): 2714-2723.
- **Casaburi I., Puoci F., Chimento A., Sirianni R., Ruggiero C., Avena P et Pezzi V., 2013.** Potential of olive oil phenols as chemopreventive and therapeutic agents against cancer: a review of in vitro studies. *Food research* . 57(1): 71-83.
- **Casas-Sanchez J., Alsina M. A., Herrlein M. K et Mestres C., 2007.** Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes *Colloid and Polymer Science* . 285(12): 1351-1360.
- **Castro A., Mayorga E et Moreno F., 2018.** Mathematical modelling of convective drying of fruits *Journal of Food Engineering* . 223 : 152-167 pages.
- **Chimi H., Morel I., Lescoat G., Padeloup N., Cillard, P et Cillard J., 1995.** Inhibition of iron. *Toxicology in Vitro*. 9(5) :695-702.

Références bibliographiques

- **Corbin C., Fidel T., Leclerc E. A., Barakzoy E., Sagot N., Falguières A., Renouard S., Blondeau J.-P et Ferroud C., 2015.** Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrason Sonochem.* 26 : 176-185.
- **Crozier A., Jaganath I. B et Clifford M. N., 2006.** Phenols, polyphenols and tannins: an overview. *Structure and Role in the Human Diet.* 1 – 24 .
- **Cushnie, T. T. et Lamb A., 2005.** Antimicrobial activity of flavonoids .*International Journal of Antimicrobial Agents* . 26 (5): 343-356.
- **Da Porto C. et Natolino A., 2017.** Supercritical fluid extraction of polyphenols from grape seed (*Vitis vinifera*): Study on process variables and kinetics. *Journal of Supercritical Fluids* . 130 : 239-245.
- **Das K., Tiwari R et Shrivastava D., 2010.** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents, current methods and future trends. 4(2): 104-111.
- **Diomedea L., Rigacci S., Romeo M., Stefani M et Salmona M., 2013.** Oleuropein aglycone protects transgenic *C. elegans* strains expressing A β 42 by reducing plaque load and motor deficit. *Phytochemistry.*8(3): 58-93.
- **Djenane D., Aïder M., Yangüela J., Idir L., Gómez D et Roncalés P., 2012.** Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157: H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Journal of Meat Science* .92(4): 667-674.
- **Djenane D., Sanchez-Escalante A., Beltran J. A et Roncales P., 2002.** Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry.*76(4): 407-415.
- **Djenane D., Sánchez-Escalante A., Beltrán J. A et Roncalés P., 2003.** The shelf-life of beef steaks treated with DL-lactic acid and antioxidants and stored under modified atmospheres. *Food Microbiologie.* 20(1): 1-7.
- **Emberger L., 1960.** Les végétaux vasculaires. Edition : Société Linnéenne de Lyon . 125-127 pages.
- **Erbay Z. et Icier F., 2010.** The importance and potential uses of olive leaves. *Food Reviews International.* (4): 319-334.
- **Erbay Z. et. Icier F., 2010.** Thin-layer drying behaviors of olive leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of Food Process Engineering.*33(2): 287-308.

Références bibliographiques

- **Esmaili-Mahani S., Rezaeezadeh-Roukerd M., Esmailpour K., Abbasnejad M., Rasoulia B., Sheibani V., Kaeidi A et Hajjalizadeh Z., 2010.** Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract elicits antinociceptive activity, potentiates morphine analgesia and suppresses morphine hyperalgesia in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. (1): 200-205.
- **Fabiani R., De Bartolomeo A., Rosignoli P., Servili M., Montedoro G et Morozzi G., 2002.** Cancer chemoprevention by hydroxytyrosol isolated from virgin olive oil through G1 cell cycle arrest and apoptosis. *Journal European. Cancer prevention organisation* . (4): 351-358.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M et Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs and their biological activities. *Compte Rendu de Biologie*. 331: 372–379.
- **Fleeger J. et Flipse R., 1964.** Metabolism of bovine semen. XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *Journal of Dairy Science*.47(5): 535-538.
- **Flórez N., Conde E et Domínguez H., 2015.** Microwave assisted water extraction of plant compounds. *Chemical technology and Biotechnology* . 90(4): 590-607.
- **Friedman M., Henika P. R., Levin C. E et Mandrell R. E., 2004.** Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of agricultural and Food chemistry* .52(19): 6042-6048.
- **Ghomari O., Sounni F., Massaoudi Y., Ghanam J., Kaitouni L. B. D., Merzouki M et Benlemlih M., 2019.** Phenolic profile (HPLC-UV) of olive leaves according to extraction procedure and assessment of antibacterial activity *Biotechnology Reports (Amsterdam, Netherlands)*. 2: 347.
- **Ghoreishi S. et Shahrestani R. G., 2009.** Subcritical water extraction of mannitol from olive leaves. *Journal of Food Engineering*. 93(4): 474-481 .
- **Gontijo D. C., Brandão G. C., Gontijo P. C., de Oliveira A. B., Diaz M. A. N., Fietto L. G. et Leite J. P. V., 2017.** Identification of phenolic compounds and biologically related activities from *Ocotea odorifera* aqueous extract leaves. *Food chemistry* :618- 626 .
- **Hagerman A. E et Butler L. G., 1978.** Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of agricultural and Food chemistry* . 26(4): 809-812.
- **Hatami T., Mirfatah S. M et Khamforoush M., 2014.** Application of three types of dryers namely tunnel, fluidized bed, and fluidized bed with microwave for drying of celery, corn, and sour cherry: Experiments and modeling. *Transactions and Applications*. 27(5): 667-674.
- **Hayes J., Allen P., Brunton N et O'grady M., 2011.** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food chemistry*.126(3): 948-955 .

Références bibliographiques

- **Herrero M., Castro-Puyana M., Mendiola J. A. et Ibañez E., 2013.** Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. *Trends in Analytical Chemistry*. 43: 67-83.
- **Herrero M., Del Pilar Sánchez-Camargo A., Cifuentes A et Ibañez E., 2015.** Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. *Trends in Analytical Chemistry*. 71: 26-38.
- **Irakli M., Chatzopoulou P et Ekateriniadou L., 2018.** Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities . *Food Science & Technology*: 382-388.
- **Ivanova-Petropulos V., Hermosín-Gutiérrez I., Boros B., Stefova M., Stafilov T., Vojnoski B., Dörnyei Á et Kilár F., 2015.** Phenolic compounds and antioxidant activity of Macedonian red wines. *Journal of Food Composition and Analysis* : 1-14 .
- **Jemai H., El Feki A et Sayadi S., 2009.** Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Food chemistry* . (19): 8798-8804 .
- **Kang J., Price W. E., Ashton J., Tapsell L. C. et Johnson S., 2016.** Identification and characterization of phenolic compounds in hydromethanolic extracts of sorghum wholegrains by LC-ESI-MSN. *Food chemistry*: 215-226 .
- **Kempf I. et Zeitouni S., 2009.** The cost of antibiotic resistance: Analysis and consequences. Thèse. AFSSA LERAPP, unité mycoplasmodologie-bactériologie, Zoopole-les-Croix, Ploufragan, France.
- **Keskin D., Ceyhan N., Ugur A et Dbeyas A. D., 2012.** Antimicrobial activity and chemical constitutions of West Anatolian olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. (2): 99-102 .
- **Khanmohammadi M., Moeini M., Garamarudi A. B., Sotudehnia A et Zarrabi M., 2009.** Simultaneous determination of sucrose and trehalose in olive leaves by spectrophotometry utilizing partial least squares method national journal.. 31(4): 865-869 .
- **Kim J., Marshall M. R et Wei C.-I., 1995.** Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Food chemistry*. (11): 2839-2845 .
- **Konoz E., Abbasi A., Moazeni R. S., Parastar H et Jalali-Heravi M., 2013.** Chemometrics-assisted gas chromatographic-mass spectrometric analysis of volatile components of olive leaf oil. *Journal of the Iranian Chemical Society*. (1): 169-179 .
- **Korukluoglu M., Sahan Y., Yigit A., Ozer E. T et Gücer S., 2010.** Antibacterial activity and chemical constitutions of *Olea europaea* L. leaf extracts. *Food Science & Technology* .(3): 383-396.

Références bibliographiques

- **Krief S., 2003.** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées, Thèse. Museum national d'histoire naturelle. PARIS . 208 pages
- **LA M. J.-., Loukou Y et Guede-guina F., 2008.** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) *milne-redheat* (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli* Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) *milne-redheat* (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* trains. Félix Houphouët- Boigny. (3) :228-366.
- **Lee O.-H. et Lee B.-Y., 2010.** Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Food chemistry* . (10): 3751-3754.
- **Lima-Corrêa R. d. A. B., Santos Andrade M. dos., Freire J. T et Do Carmo Ferreira M., 2017.** Thin-layer and vibrofluidized drying of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.): analysis of drying homogeneity and influence of drying conditions on the composition of essential oil and leaf colour. *National Agricultural*. 7: 54-63.
- **Loussert R et Brousse G., 1978.** L'olivier: techniques agricoles et productions méditerranéennes. Edition :Bioresource Technology, Paris. 460 pages.
- **M'hiri N., Ioannou I., Boudhrioua N. M., Ghoul M., 2015.** Effect of different operating conditions on the extraction of phenolic compounds in orange peel. *Food and Bioproducts Processing*. 96: 161-170 .
- **Machado A. P. D. F., Pereira A. L. D., Barbero G. F et Martínez J., 2017.** Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. *Food Chemistry* . 231: 1-10 .
- **Macheix J.-J., Fleuriet A et Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, PPUR presses polytechniques. Edition : Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes. 192 pages.
- **Macheix J., Fleuriet A et Sarni-Manchado P., 2006.** Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. Edition : Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes, Lavoisier Paris.390-399 pages.
- **Mallek-Ayadi S., Bahloul N et Kechaou N., 2017.** Characterization, phenolic compounds and functional properties of *Cucumis melo* L. peels. *Food Chemistry*. 221 : 1691-1697 .
- **Markin D., Duek L et Berdicevsky S., 2003.** In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern in vitro*. *Mycoses*. 46(3-4): 132 -136 .

Références bibliographiques

- **MISSAT L., 2015.** Perspectives de développement de l'olivier dans les Monts des Ksour. Mémoire de master .128 pages.
- **Moreira M. M., Barroso M. F., Boeykens A., Withouck H., Morais S et Delerue-Matos C., 2017.** Valorization of apple tree wood residues by polyphenols extraction: Comparison between conventional and microwave-assisted extraction. *Industrial Crops and Product* . 104: 210-220.
- **Mourtzinou, I., Salta F., Yannakopoulou K., Chiou A et Karathanos V. T., 2007.** Encapsulation of olive leaf extract in β -cyclodextrin. *Journal of agricultural and Food Chemistry* .55(20): 8088- 8094.
- **Moussi K., Nayak B., Perkins L. B., Dahmoune F., Madani K et Chibane M., 2015.** HPLC-DAD profile of phenolic compounds and antioxidant activity of leaves extract of *Rhamnus alaternus* L. *Industrial Crops and Product*.74: 858-866.
- **Mushtaq A., Hanif M. A., Ayub M. A., Bhatti I. A et Romdhane M., 2020.** Olive. *Medicinal Plants of South Asia* , Edition Novel sources for drug discovery: 541-555 pages.
- **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. *Analytical and bioanalytical Chemistry*. 392(5): 977.
- **NEFZAOUI A., 1993.** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits, Edition :Ciheam .Paris : (1): 11-14 pages.
- **Nefzaoui A., 1991.** Valorisation des sous-produits de l'olivier, édition : Ciheam. 16: 101-108 pages.
- **Niaounakis M et Halvadakis C. P., 2006.** Olive processing waste management: literature review and patent survey. *Journal of agricultural and Food Chemistry*: 10-12 .
- **Ong E. S., Cheong J. S. H et Goh D., 2006.** Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials. *Journal of chromatography A* . 1112(1-2): 92-102.
- **Oniszczyk A., Olech M., Oniszczyk T., Wojtunik-Kulesza K et Wójtowicz A, 2019.** Extraction methods, LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic compounds and antiradical properties of functional food enriched with elderberry flowers or fruits. *Arabian Journal of Chemistry* . 12(8): 4719-4730.
- **Oszmianski J., Wojdylo A., Lamer-Zarawska E et Swiader K., 2007.** Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chemistry*. 100(2): 579-583 .
- **Owen R., Haubner R., Mier W., Giacosa A., Hull W., Spiegelhalder B et Bartsch H., 2003.** Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food and chemical Toxicology*. 41(5): 703-717.
- **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.

Références bibliographiques

- **Parikh B., Patel V. et Wellness H., 2017.** Quantification of phenolic compounds and antioxidant capacity of an underutilized Indian fruit: Rayan [Manilkara hexandra (Roxb.) Dubard]. *Food science and human wellness* . 6(1): 10-19.
- **Pasban-Aliabadi H., Esmaili-Mahani S., Sheibani V., Abbasnejad M., Mehdizadeh A et Yaghoobi M. M., 2013.** Inhibition of 6-hydroxydopamine-induced PC12 cell apoptosis by olive (*Olea europaea* L.) leaf extract is performed by its main component oleuropein. *Rejuvenation Research* . 16(2): 134-142.
- **Peralbo-Molina Á., De Castro M. D. L., 2013.** Potential of residues from the Mediterranean agriculture and agrifood industry. *Journal of Trends in Food Science and technology* .32(1): 16-24.
- **Pereira, A. P., I. C. Ferreira, F. Marcelino, P. Valentão, P. B. Andrade, R. Seabra, L. Estevinho, A et Pereira B.,2007.** Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Jouranal of molecules*. 12(5): 1153- 1162.
- **Pin K. Y., Chuah T., Rashih A. A., Law C., Rasadah M et Choong T., 2009.** Drying of betel leaves (*Piper betle* L.): Quality and drying kinetics. *Journal of Drying Technology* . 27(1): 149-155.
- **Plaza M., Domínguez-Rodríguez G., Castro-Puyana M et Marina M. L., 2018.** Polyphenols analysis and related challenges. *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications* . 177-232 pages .
- **Plaza M et Rodríguez-Meizoso I., 2013.** Advanced extraction processes to obtain bioactives from marine foods. Edition : Blanca Hernández-Ledesma Miguel Herrero. 343-371 pages.
- **Prasain J. K., Wang C.-C et Barnes S., 2004.** Mass spectrometric methods for the determination of flavonoids in biological samples. *Free radical biology and medicine* .37(9): 1324-1350.
- **Proestos C., Boziaris I., Nychas G.-J. et Komaitis M., 2006.** Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food chemistry*. 95(4): 664-671.
- **Quirantes-Pine R., Verardo V., Arraez-Roman D., Fernandez-Arroyo S., Micol V., Caboni M., Segura-Carretero A et Fernandez-Gutierrez A., 2012.** Evaluation of different extraction approaches for the determination of phenolic compounds and their metabolites in plasma by nanoLC-ESI-TOF-MS. *Analytical and bioanalytical chemistry* .404(10): 3081- 3090.
- **Rafiee Z., Jafari S., Alami M et Khomeiri M., 2012.** Antioxidant effect of microwave-assisted extracts of olive leaves on sunflower oil. *Journal of Agricultural Science and Technology* :11-15 .
- **Rahmanian N., Jafari S. M., Wani T. A., 2015.** Bioactive profile, dehydration, extraction and application of the bioactive components of olive leaves. *Functional Food*. 42(2): 150-172.

Références bibliographiques

- **Rodríguez-Pérez C., Quirantes-Piné R., Contreras M. d. M., Uberos J., Fernández-Gutiérrez A et Segura-Carretero A., 2015.** Assessment of the stability of proanthocyanidins and other phenolic compounds in cranberry syrup after gamma- irradiation treatment and during storage. *Food chemistry*.174 : 392-399.
- **Roginsky V et Lissi E. A., 2005.** Review of methods to determine chain- breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry* .92(2): 235-254.
- **Romero-García J., Niño L., Martínez-Patiño C., Álvarez C., Castro E et Negro B. t., 2014.** Biorefinery based on olive biomass. State of the art and futurs trends. *National journal*. 159 : 421-432.
- **Routray W., Orsat V., 2014.** MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *indestriiel crops and products*. 58: 36-45.
- **Saitta M., Curto S. L., Salvo F., Bella G. Di et Dugo G., 2002.** Gas chromatographic– tandem mass spectrometric identification of phenolic compounds in Sicilian olive oils. *Analytical Chemistry*. 466(2): 335-344.
- **Santana Á. L. et Macedo G. A., 2019.** Effects of hydroalcoholic and enzyme-assisted extraction processes on the recovery of catechins and methylxanthines from crude and waste seeds of guarana (*Paullinia cupana*). *Food chemistry*. 281: 222-230.
- **Santos-Buelga C et Scalbert A., 2000.** Proanthocyanidins and tannin-like compounds– nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Science of Food and Agriculture*. 80(7): 1094-1117.
- **Sato T., Ashidate M., Jinbo T et Goshima S., 2007.** Does male-only fishing influence reproductive success of the female spiny king crab, *Paralithodes brevipes*? *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 64(4): 735-742.
- **Schmalko M., Peralta J. M et Alzamora S. M., 2007.** Modeling the drying of a deep bed of *Ilex paraguariensis* in an industrial belt conveyor dryer. *Journal of drying technology*. 25(12): 1967- 1975 .
- **Shaheen N., Lu Y., Geng P., Shao Q et Wei Y., 2017.** Isolation of four phenolic compounds from *Mangifera indica* L. flowers by using normal phase combined with elution extrusion two-step high speed countercurrent chromatography. *Journal of chromatography and analytical technologies in biomolecules*. 1046: 211-217 .
- **Silva N., Fernandes Júnior A., 2010.** Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* .16(3): 402-413.

Références bibliographiques

- **Singh, P. P. et Saldaña M. D., 2011.** Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel. *Food Research International* .44(8): 2452-2458.
- **Sivakumaran S., Molan A. L., Meagher L. P., Kolb B., Foo L. Y., Lane G. A., Attwood G. A., Fraser K et Tavendale M., 2004.** Variation in antimicrobial action of proanthocyanidins from *Dorycnium rectum* against rumen bacteria. *Phytochemistry* .65(17): 2485-2497 .
- **Spinelli R et Picchi G., 2010.** Industrial harvesting of olive tree pruning residue for energy biomass. *Journal of biotechnology*.101(2): 730-735.

- **Sudjana A. N., D’Orazio C., Ryan V., Rasool N., Islam J. Ng, N., Riley T. V et Hammer K., 2009.** Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract.national library of medicine. (5): 461-463.
- **Tarchoune I., Sgherri C., Eddouzi J., Zinnai A., Quartacci M. F et Zarrouk M., 2019.** Olive leaf addition increases olive oil nutraceutical properties. *Journal of drying technology*. 24(3): 545.
- **Therios I. N., 2009.** Olives, CABI. toxicity in rat hepatocyte culture by natural phenolic compounds. *Toxicology in Vitro*. 9 : 695-702.
- **Tsao R., 2010.** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Journal of nutrients*. .2(12): 1231-1246.
- **Tsimidou M. Z. et Papoti V. T., 2010.** Bioactive ingredients in olive leaves. *Olives and olive oil in health and disease prevention*, Edition Ronald ross Watson . 349-356 pages.
- **Tussolini L., De Oliveira J. S., Freire F. B., Freire J. T. et Zanoelo E. F., 2014.** Thin-layer drying of mate leaves (*Ilex paraguariensis*) in a conveyor-belt dryer: A semi-automatic control strategy based on a dynamic model. *Journal of drying technology* . (12): 1457-1465.
- **Van Tieghem P. É. L., 1891.** *Traité de botanique*, Ed : Savy.paris.12-26 pages.
- **Varmaghany S., Rahimi S., Torshizi M. K., Lotfollahian H et Hassanzadeh M., 2013.** Effect of olive leaves on ascites incidence, hematological parameters and growth performance in broilers reared under standard and cold temperature conditions. (1-2): 60-69 .
- **Vermerris W et Nicholson R., 2007.** *Phenolic compound biochemistry*, Springer Science & Business Media:102-111 .
- **Visioli F. et Galli C., 1994.** Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. *Journal of Life Science*. (24): 1965-1971.
- **Watterson J. J et Butler L. G., 1983.** Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *Food Chemistry* .31(1): 41-45 .

Références bibliographiques

- **Wendakoon C. N. et Sakaguchi M., 1995.** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food protection.* (3): 280-283.
- **Wijngaard H., Hossain M. B., Rai D. K et Brunton N., 2012.** Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International.*46(2): 505-513.
- **Xie P.-j., Huang L.-x., Zhang C.-h., You F et Zhang Y, 2015.** Reduced pressure extraction of oleuropein from olive leaves (*Olea europaea* L.) with ultrasound assistance *Biomass-Based Materials . Technologies for Energy* : 29-38 .
- **Yala D., Merad A., Mohamedi D et Ouar Korich M., 2001.** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb.* (1) : 5-12 .

Sites :

Anonyme 1 :

<https://www.jardiner-malin.fr/fiche/olivier.html> consulté le 22/09/2020 à 9h :30 min

Anonyme 2 :

a) <https://fr.dreamstime.com/feuilles-m%C3%BBres-feuille-m%C3%BBre-d-olives-blanc-image108255942> consulté le 22/09/2020 à 09 h : 33 min

b) <https://www.pinterest.fr/germanaz/olivier> consulté le 22/09/2020 a 09 h:35 min

c) <https://fr.wikipedia.org/wiki/Olivier> consulté le 22/09/2020 a 09h :38 min

ITAF : <https://etudiant-algerien.com/tag/institut-technique-de-larboriculture-fruitiere-et-de-la-vigne-itaf/> consulté 23/05/2020 a 22 h:32 min

DSA – Guelma : <https://rhinotenders.com/companies/company/dsa-direction-des-services-agricoles-de-la-wilaya-de-Guelma> consulté le 07/06/2020 a 11h:30 min

Résumé

Les extraits de feuilles d'olivier font actuellement l'objet de nombreuses recherches scientifiques visant à explorer et exploiter leurs activités dans les différents domaines. Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de présenter l'effet d'extrait de ces feuilles sur les bactéries pathogènes. Plusieurs études ont démontré que les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes, ayant des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis de nombreux micro-organismes pathogènes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes*. Les activités antimicrobiennes de ces extraits sont difficiles à corréler à un seul composé spécifique en raison de leur complexité et leur variabilité. Donc, la valorisation des feuilles d'olivier, et leur utilisation comme un moyen de la lutte contre les bactéries pathogènes, s'avère prometteuse dans le domaine médical et agro-alimentaire.

Mots clés : feuilles d'olivier, extraits, bactéries pathogènes, polyphénols.

Abstract

Olive leaf extracts are currently the subject of much scientific research aimed at exploring and exploiting their activities in different fields. In this context, the objective of this work is to present the effect of extract of these leaves on pathogenic bacteria. Several studies have shown that polyphenols are the main antimicrobial compounds of plants, having various action modes of inhibitory and lethal activities on many pathogenic microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Listeria monocytogenes*. The antimicrobial activities of these extracts are difficult to correlate with a single specific compound due to their complexity and variability. Therefore, valuing olive leaves, and their use as a means of combating pathogenic bacteria, is showing promise in the medical and agri-food fields.

Keywords: olive leaves, extracts, pathogenic bacteria, polyphenols.

ملخص

تخضع مستخلصات أوراق الزيتون حاليًا للكثير من الأبحاث العلمية التي تهدف إلى استكشاف واستغلال أنشطتها في مختلف المجالات. في هذا السياق، يهدف هذا العمل إلى عرض تأثير مستخلص هذه الأوراق على البكتيريا المسببة للأمراض. أظهرت العديد من الدراسات العلمية أن البوليفينولات هو المركبات الرئيسية في النباتات المضادة للميكروبات ، ولها أنماط مختلفة من العمل وأنشطة مثبطة وقاتلة تجاه العديد من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Staphylococcus aureus* ، *Bacillus subtilis* و *Listeria monocytogenes* . كما دلت الدراسات أنه من الصعب ربط الأنشطة المضادة للميكروبات لهذه المستخلصات بمركب محدد واحد بسبب تعقيدها وتنوعها. لذلك ، فإن تقييم أوراق الزيتون ، واستخدامها كوسيلة لمكافحة البكتيريا المسببة للأمراض ، يبشر بالخير في مجالي الطب والأغذية الزراعية.

الكلمات المفتاحية: أوراق الزيتون ، المستخلصات ، البكتيريا الممرضة ، البوليفينولات