

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires

# *Mémoire de Fin de Cycle*

En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat  
Option : Contrôle de Qualité et Analyses

## *Thème*

**Effet du calibre sur l'activité biologique  
des olives de table « *Azzeradj* »**

### *Présenté par*

M<sup>elle</sup> HAMITOUCHE Lynda  
M<sup>elle</sup> IGGUI Noura

### *Membres du jury*

Président : M<sup>r</sup> KATI D.E.  
Promotrice : M<sup>me</sup> TAMENDJARI née Mettouchi S.  
Co-promotrice : M<sup>elle</sup> LAINCER F.  
Examinatrice : M<sup>me</sup> LEHOUCHE R.  
Examineur : M<sup>r</sup> CHIKHOUNE A .

*Année : 2012/2013*

# *Remerciements*

*Au terme de ce travail nous remercions Dieu de nous avoir donné la force, la santé et la patience de réaliser ce travail.*

*Nos plus sincères remerciements à notre promotrice M<sup>me</sup> TAMENDJARI S. pour nous avoir guidé durant la réalisation de ce travail, elle nous a fait profiter de ses larges compétences et ses précieux conseils. On la remercie pour sa disponibilité et son sérieux*

*On remercie également à M<sup>elle</sup> LAINCER F. notre Co-promotrice, pour ses conseils, ses efforts et son soutien et son sourire. On ne vous remerciera jamais assez*

*Nos remerciements s'adressent à Mr TAMENDJARI A. pour nous avoir accueillis au sein de son laboratoire où notre travail a été réalisé, qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude et notre profond respect.*

*Nous exprimons aussi nos sentiments de gratitude aux membres de Jury qui ont accepté d'évaluer notre travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A toute ma famille ; à mon cher papa que j'adore et qui m'a toujours soutenue , qui fait son possible à ce que je fasse quelque chose de bon de ma vie, à ma chère maman qui veille*

*toujours sur moi et à ma grande mère pour son amour, je ne vous remercierais jamais assez pour votre soutien et amour, j'espère que vos serez toujours fiers de moi.*

*A mon oncle et sa femme sans oublier ma petite chérie Widad*

*A ma sœur Mira et son mari Yacine et mon adorable nièce Sarah*

*Ames petites sœurs Lydia et Syla*

*A mes chers frères Lyes et Mehdi*

*A toute la famille et tous ceux qui m'aiment et que j'aime*

*A mes cousins et cousines*

*A mon chéri Rafik (siphax) pour son soutien, son amour, sa présence dans ma vie*

*A l'ensemble de l'association des sourds muets*

*A mon binôme Noura et sa famille*

*A mes chers amis : Djaouida, Siham, Siham, Sonia, Lynda, Fahima, Radhia, Khaled, Ahmed ....et toute leur famille.*

*A toute la promotion CQA 2012/2013*

*Lynda*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A la mémoire de mes grands pères Achour et Mohand. Je ne vous oublierai Jamais.*

*A mon cher papa que j'adore et qui m'a toujours soutenue, sans lui je  
Ne serrai pas la aujourd'hui, à ma chère maman qui veille  
Toujours sur moi, je ne vous remercierais jamais assez pour votre soutien  
Et amour, inchaallah vos serez toujours fiers de moi.*

*A mon unique frère Mohand que j'adore.*

*A ma sœur Yasmina.*

*A Belaid l'homme de ma vie, pour son amour, sa  
compréhension, son soutien et ces conseils.*

*A mes grandes mères et mes tantes : Nouara et Razika, Hassina, son  
Marie et ses enfants, Fatima, son marie ainsi qu'à son fils  
Rafik,*

*A mes cousins et cousines : Aylane, Anya, yelana, Achour et  
Amaya.*

*A toutes personnes qui ont contribué a ma formation.*

*A mon binôm Lynda et sa famille*

*A mes chers amis : Lynda, Siham, Sonia, Siham, Fahima, Radhia,  
Khaled, Ahmed, Nabila, Samia, Chafika, Sara, Siham,  
.... et toute leur famille.*

*A mes copine de chambre F308*

*A toute la promotion CQA 2012/2013*

*Noura*

*Liste des abréviations :*

**b** : Bactéries

**COI** : Conseil Oléicole International.

**DPPH** : 2,2-diphényl-L-picryl-hydrazyl.

**Do**: Densité optique.

**DM** : Dry Matter.

**EC<sub>50</sub>** : Concentration de l'extrait qui inhibe 50% du radical DPPH.

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

**ITAFV** : Institut Technique d'Arboriculture Fruitière et de vigne.

**LMA** : Laboratoire de Microbiologie Appliqué.

**mg EQ** : Milligrammes Equivalents.

**MS** : Matière Sèche.

**mm** : millimètre

**ml**: millilitre

**nm** : nanomètre.

**O-H** : Liaison Oxygène-Hydrogène.

**pH** : Potentiel d'hydrogène.

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

**rpm** : Rotation par minute.

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

**°C** : Degré celcius.

**%** : pourcentage.

**µl** : microlitre.

**Ufc**: unité formant colonies.

*Liste des figures*

**Figure 1:** Principaux composés phénoliques de l'olive.....08

**Figure 2 :** Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques des olives *Azzeradj* de différents calibres sur milieu gélosé.....27

**Figure 3:** Teneurs en composés phénoliques des olives de table de la variété *Azzeradj* pour les différents Calibres.....28

**Figure 4:** Teneurs en *Ortho*-diphénols des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres.....29

**Figure 5:** teneurs en flavonoïdes des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres.....30

**Figure 6 :** Le pouvoir réducteur des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres.....32

**Figure 7:** L'activité anti-radicalaire des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres.....33

**Figure 8:** Effet de la concentration des extraits des trois calibres 6(a),9(b) et 13(c) de la variété *Azzeradj* sur l'activité anti-radicalaire.....35

**Figure 9:** L'activité antibactérienne des extraits des olives de table de la variété *Azzeradj* à différents calibres vis-à-vis de *P.aeruginosa* (A), *E.coli* (B) et *S.aureus* (C).  
38

---

*Liste des tableaux*

<b>Tableau I:</b> Situation botanique de l'espèce <i>Olea europea sativa</i> .....	03
<b>Tableau II :</b> Composition de l'olive.....	04
<b>Tableau III :</b> Intérêt nutritionnels et thérapeutiques des olives de table.....	10
<b>Tableau IV:</b> Marché mondial des olives de tables.....	11
<b>Tableau V:</b> Principales altérations et leur traitement préventif.....	19
<b>Tableau VI :</b> Caractéristiques de variétés d'olive étudiée( <i>Azzeradj</i> ) à différent calibre.....	22
<b>Tableau VII.</b> Références et origine des souches bactériennes utilisées.....	25
<b>Tableau VIII :</b> Activité antibactérienne de <i>Azzeradj</i> (calibre6, 9 et13).....	39

# *Sommaire*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

*Introduction*.....01

## *Etude bibliographique*

### *Chapitre I : Généralité sur les olives de table*

I.1) Structure de l'olive.....03

I.2) Définition et classification de l'olive de table.....03

I.3) Composition de l'olive.....04

I.4) Les antioxydants de l'olive.....05

I.4.1) les composés phénoliques.....05

I.4.1.1) Les phénols oléosidiques (Secoiridoides).....05

I.4.1.2) Les phénols simples .....06

I.4.2) Les Tocophérols (vitamine E).....09

I.4.3) Les Caroténoïdes.....09

I.5) Intérêt nutritionnel et thérapeutique de l'olive de table.....09

I.6) Marché économique des olives de table.....11

I.7) Marché mondial et algérien.....11

### *Chapitre II : Elaboration des olives de table*

II.1) Elaboration des olives de table.....12

II.2) Le traitement des olives .....13

II.2.1) Différents procédés connus dans le monde .....13

II.3) Elaboration des olives verte style espagnol.....14

II.3.1)La desamérisation .....14



II.3.2) Le lavage .....	15
II.3.3) La fermentation .....	15

### ***Chapitre III. Activité antimicrobienne***

III.1) Activité antimicrobienne des composés phénoliques.....	20
III.2) Mode d'action des composés phénoliques.....	20
III.2.2) Action sur la membrane cytoplasmique.....	21
III.2.1) Action sur les enzymes.....	21

### ***Partie expérimentale :***

#### ***Matériel et méthodes :***

I.1) Matériel végétal.....	22
II) Dosage des composés phénoliques.....	22
II.1) Préparation des extraits.....	23
II.2) Dosage des polyphénols totaux.....	23
II.3) Dosage des <i>ortho</i> -diphénols.....	23
II.4) Dosage des flavonoïdes.....	23
III) Détermination du pouvoir antioxydant .....	24
III.1) Activité anti –radicalaire.....	24
III.2) Pouvoir réducteur.....	24
IV) Détermination de l'activité antibactérienne.....	25
IV.1) Repiquage des souches bactériennes.....	25
IV.2) Standardisation des souches bactériennes.....	25
IV.3) Evaluation de l'activité antibactérienne.....	26
V) Analyse statistique.....	26

#### ***Résultats et discussion :***

I) Les composés phénoliques.....	28
I.1) Les polyphénols totaux.....	28
I.2) Les <i>Ortho</i> -diphénols.....	29
I.3) Les flavonoïdes .....	30

II) Mesure du pouvoir antioxydant.....	31
II.1) Le pouvoir réducteur.....	31
II.2) L'activité anti- radicalaire.....	33
III) Evaluation de l'activité antibactérienne.....	36

<i>Conclusion</i> .....	40
-------------------------	----

*Références bibliographique.*

*Glossaire.*

*Annexes.*

# *Introduction*

L'olivier (*Olea europaea sativa.*) est un arbre, qui appartient à la famille des *Oleaceae* indigène aux régions tempérées, tropicales et chaudes du monde. L'arbre, célèbre pour son fruit, est considéré comme source principale d'huile d'olive. Il est typiquement distribué dans le bassin méditerranéen oriental, en Europe du sud-est, en Asie occidentale et en Afrique du nord, bien que l'olive soit maintenant cultivée dans plusieurs régions du monde, la région méditerranéenne est le principal secteur de production avec environ 98% de la production mondiale. **(Ryan et Robart, 1998 ; Boskou et al., 2006).**

Les olives de table sont des produits préparés à partir des fruits sains d'olive qui subissent un traitement d'élaboration approprié, Les plus importantes préparations commerciales sont les olives vertes confites (style espagnol), les olives noires au naturel (style grec) et les olives tournantes noircies par oxydation **(Ozdemir, 1997).**

Selon le COI (2013), la production mondiale des olives de table pour la campagne 2012/2013 est évaluée à 2315 000 tonnes, l'Algérie occupe la cinquième place des pays producteurs, sa production est estimée à 157 000 tonnes.

En outre, le régime méditerranéen a été associé dans plusieurs études à la diminution du risque d'incidents coronaires et de maladies cardiovasculaires ;En effet, l'intérêt de la consommation des olives de table est lié, en plus de sa richesse en acides gras mono-insaturés, à la présence de substances antioxydantes telles que les composés phénoliques, les tocophérols et les caroténoïdes qui interviennent dans la lutte contre l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires, cancers et dégénérescences liées au vieillissement accéléré. En plus de l'activité antioxydante, Les polyphénols des olives présentent des propriétés antimicrobiennes et contribuent également aux caractéristiques sensorielles et aromatiques de l'olive **(Fernandez-Orozco et al., 2011 ; Ghambari et al., 2012).**

Le choix commercial de la variété se base sur plusieurs critères tels que la taille (le calibre), la forme, le goût, la fermeté et sa teneur en huile, où les variétés qui ont une teneur en huile moins de (12%) sont employées pour la production d'olive de table et c'elles avec une teneur proche de (20%) sont préférées pour la production d'huile d'olive **(Sousa et al., 2011 ; Ghambari et al., 2012).** Les facteurs environnementaux et génétiques sont très importants puisque le choix du consommateur en ce qui concerne les olives de table se base principalement sur le critère de la taille de l'olive où il préfère les olives au gros calibre **(Ryan et Robards, 1998 ; Kailis et al., 2007 ; Ghambari et al., 2012),** reste à vérifier si ce calibre est proportionnellement corrélé à l'apport en antioxydant définissant l'activité biologique du fruit. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui porte sur l'étude de

l'effet du calibre des olives vertes *Azzeradj* élaborées selon le procédé espagnol sur l'activité biologique (antioxydante et antibactérienne) des fruits.

La première partie de ce travail est une synthèse bibliographique consacrée à la description du procédé d'élaboration des olives de table vertes (style Espagnol) et à leur composition chimique et les principales classes de composés phénoliques présentes dans les olives de table ainsi qu'à leurs intérêt nutritionnel et thérapeutique grâce à leur propriétés antioxydantes et antibactériennes.

La seconde est expérimentale, elle est réservée au dosage des antioxydants (polyphénols totaux, *Ortho*-diphenols et flavonoïdes) d'olives de table *Azzeradj* à différents calibres (6, 9 et 13) et à l'évaluation du pouvoir antioxydant des échantillons en employant deux approches : le pouvoir antiradicalaire et le pouvoir réducteur. Ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antibactérienne à l'égard des souches *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

*Partie*  
*bibliographique*

*Généralités sur  
l'olive de table*

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen, de 6 à 8 m de hauteur, à tronc tortueux et à écorce grisâtre et crevassée. Les feuilles sont blanches argentées sur la face inférieure, vertes grisâtres sur la face supérieure, opposées, persistantes, coriaces et lancéolées. Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées (Benlemlih et Ghanem, 2012).

L'olivier est le nom commun d'environ 35 espèces d'arbustes et d'arbres du genre *Olea*. Le nom est particulièrement utilisé pour l'espèce *Olea europaea*. (Benlemlih et Ghanem, 2012).

### I-1) Structure de l'olive

Le fruit de l'olive (*Olea europaea sativa*) est caractérisé par l'épicarpe (peau), la pulpe (mésocarpe), et l'endocarpe (noyau), qui contient la graine. Dans les olives mûres, la graine représente environ 2 –3% de toute la masse, l'endocarpe 13 –23% et le mésocarpe occupe environ 84 –90%. Les composants de mésocarpe sont quantitativement les plus importants. (Ryan et Robards, 1998).

### I-2) Définition et classification de l'olive de table

Le tableau I décrit la situation botanique de l'espèce *Olea europaea* L. :

**Tableau I:** situation botanique de l'espèce *Olea europaea* L. (Benlemlih et Ghanem, 2012).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>Sous-embranchement</b>	<b>Magnoliophytina</b>
<b>Classe</b>	<b>Magnoliopsida</b>
<b>Sous-classe</b>	<b>Dialypetales</b>
<b>Ordre</b>	<b>Lamiales</b>
<b>Famille</b>	<b>Oleaceae</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Olea</i></b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Olea europaea</i> L</b>
<b>Sous-espèces</b>	<b><i>O.europaea subsp.europaea varsylvestris</i></b> <b><i>O.europaea subsp.europaea var.europaea</i></b>

Les olives de table préparées à partir des fruits de variétés de l'olivier cultivé (*Olea Europaea*. L) doivent être saines, charnues, fermes, résistantes à une faible pression entre les doigts, entières, non bosselées ni déformées ou écrasées, de couleur uniforme, sans tâches autres que les pigmentations naturelles, à peau adhérente, exemptes de piqûres, meurtrissures



ou lésions quelle qu'en soit l'origine. Elles devront avoir été cueillies au stade de maturité fixé pour leur catégorie, les olives de table préparées devront être dépourvues de toute odeur ou saveur anormale due en particulier à des altérations microbiologiques de type fermentation, leur peau sera adhérente et non cloquée. (Duriez, 2004 ; COI, 2004).

On distingue 3 types d'olive de table selon leur degré de maturité (codex Stan 66, 1981) :

**a) Olives vertes:** obtenues à partir de fruits récoltés au cours du cycle de maturation, avant la véraison, au moment où ils ont atteint leur taille normale. La couleur du fruit peut varier du vert au jaune paille.

**b) Olives tournantes:** obtenues à partir de fruits de teinte rose, rose vineux ou brune, récoltés avant complète maturité.

**c) Olives noires:** obtenues à partir de fruits récoltés au moment où ils ont atteint leur complète maturité, ou peu avant, leur coloration pouvant varier du noir rougeâtre au châtain foncé, en passant par le noir violacé, le violet foncé et le noir olivâtre non seulement sur la peau, mais également dans l'épaisseur de la chair.

### I-3) Composition de l'olive

La composition de l'olive de table est dépendante de nombreux facteurs tels que : L'héritage génétique, le site géographique et les conditions agronomiques, le stade de maturité ainsi que le procédé d'élaboration du fruit (Pereira *et al.*, 2006 ; Sousa *et al.*, 2006 ; Veillet, 2010 ; Ghanbari *et al.*, 2012).

La composition de l'olive est représentée dans le tableau II:

**Tableau II : Composition de l'olive en (%) (Ryan et Robards, 1998).**

Constituants	mésocarpe	endocarpe	épicarpe
Eau	50-60	9.3	30.0
Huile	15-30	0.7	27.3
Matière azotée	2-5	3.4	10.2
Glucide	3-75	41.0	26.6
Cellulose	3-6	38.0	1.9
Cendres	1-2	4.1	1.5
Composés phénoliques	2-2.5	0.1	0.5-1.0
Autres	/	3.4	2.4

#### I-4) les antioxydants de l'olive

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre, ils sont souvent nommés « piègeurs de radicaux libres » (Pelli *et Lyly*, 2001 ; Benlemlih *et Ghanem*, 2012).

Les composés phénolique d'origine végétale ont attiré une importante attention due à leurs effets bénéfiques fonctionnels et nutritionnels y compris l'activité antioxydante et antimicrobienne. (Bubonja-Sonje *et al.*, 2011).

##### I-4-1) les composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle *et al.*, 2004).

La teneur et la nature des composés phénoliques dépendent, dans l'olive, de la variété, du calibre (Amiot *et al.*, 1986 ; Ghanbari *et al.*, 2012), du stade de maturité de l'origine géographique mais aussi du traitement subi durant l'élaboration de l'olive de table; ; Pereira *et al.*, 2006 ; Sousa *et al.*, 2006 ; Benaib, 2009 ; Veillet, 2010 ).

Les olives de tables restent des sources considérables d'antioxydants, notamment en composés phénoliques, et plusieurs types d'olive de table, comme les olives vertes espagnoles, semblent contenir un taux plus élevé en hydroxytyrosol qui peut aller jusqu'à 170 mg / kg, et un niveau de lutéoline, qui peut être déterminé, dans le cas des olives noires, à un taux entre 25 et 75 mg/ kg (Benaib, 2009) .

Les composés phénoliques contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à l'amertume des huiles Mais si les composés phénoliques sont aujourd'hui au centre de nombreuses études, c'est surtout pour leur potentiel en matière de prévention de la santé humaine, différentes familles de composés phénoliques sont présentes dans les olives (Fitó *et al.*, 2000 ; Bendini *et al.*, 2007 ; Tripoli *et al.*, 2005 ; Cicerale *et al.*, 2010 Veillet, 2010) .

##### A/Les phénols oléosidiques (Secoiridoides)

Les dérivés sécoiridoides qui sont des composés glycosylés issus du métabolisme

secondaire des terpènes Parmi eux, l'oleuropéine (figure1) (ester de hétérosidique de 3,4dihydroxyphényl-éthanol ou hydroxytyrosol et d'acide élénolique glucoside), c'est le composé majoritaire dans les feuilles d'olivier et dans les olives et c'est le principal composé responsable de l'amertume des olives (Furneri *et al.*, 2002). Le ligstroside (Tyrosol estérifié à l'acide élénolique glucoside) et le verbascoside (ester hétérosidique d'acide caféique et d'hydroxytyrosol) (Figure 1) (Tsimidou *et al.*, 1998 ;Veillet, 2010).

Des changements importants se produisent dans la fraction phénolique de l'olive ; l'augmentation de l'oleuropeine pendant le développement du fruit, et sa diminution au cours de sa maturation suite à l'activation des estérases jusqu'à sa disparition dans l'olive noire (Kailis et Harris, 2007 ; Malheiro *et al.*, 2011 ; Ghanbari *et al.*,2012).

### B/Les phénols simples

Deux sous catégories se distinguent avec les alcools phénoliques (Figure 1) et les acides phénoliques (Figure1). Dans le premier groupe on retrouve l'hydroxytyrosol et le tyrosol avec une teneur élevée de 76.73 et 19.48mg/100g d'olive (Ghanbari *et al.*, 2012 ). Ces deux composés sont directement dérivés de l'hydrolyse de l'oleuropéine et du ligstroside.

Dans le groupe des acides phénoliques on retrouve l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p* -coumarique ou encore l'acide vanillique (Figure 1) (Ryan et Robards, 1998; Savarese *et al.*, 2007 ; Veillet, 2010 ; et Malheiro *et al.*, 2010).

#### B-1) Les *ortho*-diphénols

Les *ortho*- diphénols représentent un groupe très important parmi les phénols de l'olive, caractérisés par la fonction *O*-dihydroxyle dans le noyau catéchol, Les composés dominants sont l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine (Ryan et Robards, 1998). les *O*- diphénols exercent une meilleure capacité antioxydante que les composés para-hydroxylés (tyrosol) ou mono hydroxylés, suite à :

- Leur grande stabilité, par formation de liaisons hydrogène intramoléculaires entre leur groupement hydroxyle libre et leur radical phénoxy et à l'insaturation en position 2,3.
- La présence d'un groupement hydroxyle donneur d'électrons en position *ortho* réduit l'énergie de dissociation de la liaison O-H, favorisant ainsi le transfert de l'atome d'hydrogène sur le radical peroxyde. Ce sont également de puissants chélateurs de métaux. (Mc Donald *et al.*, 2001).

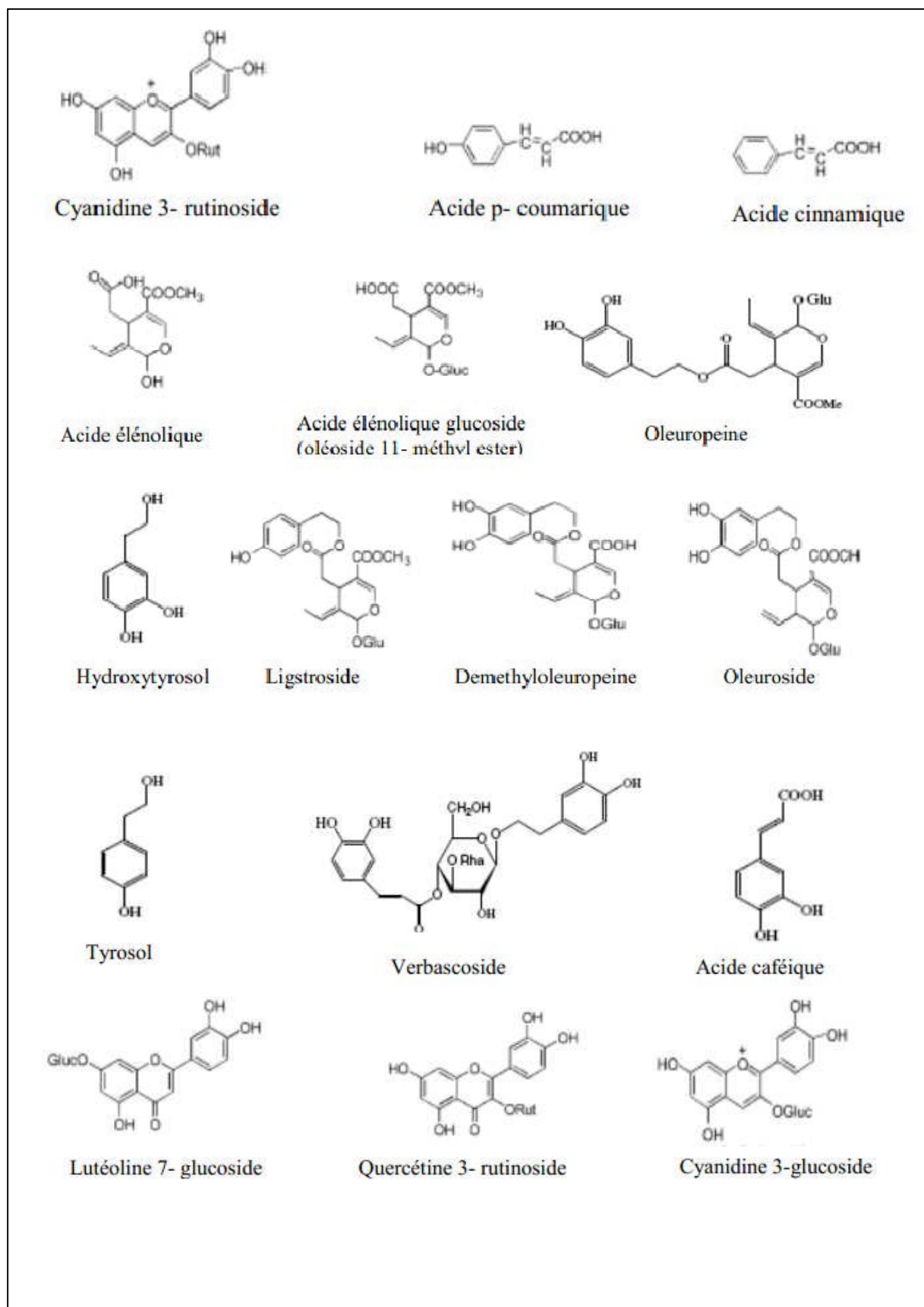


Figure 1: Principaux composés phénoliques de l'olive. (Ryan *et al.*, 2002)

### C/ Les flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont: luteoline 7-O-glucoside, apigénine 7-O-glucoside, la quercétine 3-O-glucoside et la quercétine 3-O-rutinoside possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones « 2-phényl-1-benzopyrane », constitué de deux cycles en C6 (A et B), reliés par un cycle pyranique central. Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles libres, méthylés ou glycosylés) sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle central C. (Vinha *et al.*, 2005 et Sousa *et al.*, 2006)

Des études sur les flavonoïdes ont déjà montré que le degré de l'activité antioxydante est corrélée au nombre de groupes hydroxyles. Le nombre de groupes hydroxyles et leurs positions sur le cycle aromatique sont déterminants pour l'activité des flavonoïdes (Nkhili, 2009).

#### C-1 ) Anthocyanes

Ce sont des pigments rouges en milieu acide, virant au bleu en milieu alcalin ; ils sont très répandus dans les fleurs et les fruits.

Les anthocyanes sont des dérivés du cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium) porteur de 3 cycles aromatiques conjugués d'où l'absorption de la lumière visible

Dans la nature, ces pigments n'existent pas sous forme aglycone, mais sous forme d'hétérosides (Nkhili, 2009), La teneur en anthocyanes augmente au cours de la maturation de l'olive. La dégradation de l'oleuropeine qui libère des sucres contribue à la synthèse de ces composés. Les anthocyanes les plus répandus dans l'olive sont : les cyanidines et les glycosides delphinidines (Ryan *et al.*, 2002 ; Ghanbari *et al.*, 2012).

#### I-4-2) Les Tocophérols (vitamine E)

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique propre, qui sont nécessaires à l'organisme.

Parmi elles, on distingue la vitamine E qui est une vitamine liposoluble de formule brute  $C_{29}H_{50}O_2$ . « Vitamine E » est le terme générique utilisé pour désigner les différents tocophérols qui se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique.

Le  $\alpha$ -tocophérol est souvent considéré comme le plus efficace mais leur activité relative dépend de la température et de la nature du substrat et un ordre différent a parfois été obtenu. (Helme *et al.*, 2004).

Le contenu en tocophérols dépend étroitement de la variété et du degré de maturité des olives (Ryan et Robards, 1998). (Annexe 04).

#### I-4-3) Les Caroténoïdes :

Les Caroténoïdes sont des substances naturelles jouant le rôle de pigments de couleurs jaune à rouge dans beaucoup de fruits et de légumes dont le plus connu est le  $\beta$ -carotène (Nève, 2002).

Selon les études effectuées par Mohamad Shofian *et al.* (2011) sur les caroténoïdes, il est avéré que, la teneur en caroténoïde diminue après avoir subi une lyophilisation due à la dégradation de  $\beta$ -carotène. (Annexe 04).

### I-5) Intérêts nutritionnels et thérapeutiques des olives de table

Le tableau III montre l'intérêt nutritionnel et thérapeutique des olives de table :

**Tableau III** : intérêt nutritionnels et thérapeutiques des olives de table

intérêt	effet
Prévention de l'athérosclérose	-les polyphénols, tocophérols et caroténoïdes empêchent l'oxydation du cholestérol-LDL (« mauvais » cholestérol) qui est responsable de l'inflammation de la paroi artérielle. ( <b>Lecerf et al ., 1994 ; Fitó et al., 2000 ; Tripoli et al ., 2005 ; Cicerale et al .,2010</b> ).
diabète gras (type2)	Les acides mono-insaturés diminuent la demande en insuline, une diminution de la concentration plasmatique en glucose ainsi que celle en triglycérides ( <b>COI, 2005 ; Benlemlih et Ghanem, 2012</b> ).
Maladies cardio-vasculaires ou cancer.	l'hydroxytyrosol à une activité contre le peroxyde d'hydrogène et une capacité à prévenir la production d'espèces réactives de l'oxygène. Aussi, un effet protecteur contre la nitration de la tyrosine et les dommages de l'ADN. <b>(Hodge et al ., 2004 ; COI,2005 ;Sakouhi et al.,2007 ; Attya et al., 2010 ;Kahouli , 2010 ; Warleta et al., 2011)</b>
activité anti-inflammatoire	activité puissante des polyphenols (hydroxytyrosol) dans l'anti-agrégation plaquettaire ( <b>Negrao et Faria., 2009 ; Attya et al., 2010 ; Cicerale et al .,2010 ; Gigon et Le Jeune, 2010</b> )
Activité antimicrobienne	-l'Oleuropéine et acides <i>p</i> -hydroxybenzoïque, vanillique et acide <i>p</i> -coumariques peuvent inhiber la croissance d' <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , et <i>Bacillus cereus</i> en endommageant la membrane cellulaire de ces bactéries. - L'Oleuropéine a un effet sur les virus en interférant avec la synthèse des acides aminés nécessaires pour l'activité virale, empêche la production de la transcriptase renverse et protéase. <b>(Furneri et al., 2002 ; Tripoli et al ., 2005 ; pereira et al. , 2006 ; Sousa et al. , 2006 ; Cicerale et al., 2010 ; Benlemlih et Ghanem., 2012).</b>

## I-6) Marché économique des olives de table

### I-6-1) Marché mondial et algérien :

La production mondiale d'olives de table pour la campagne 2012/13 est évaluée à 2315 000 t dont 666 000 t correspondent aux pays membres de l'union européenne , l'Espagne en tête avec une production estimée de (450 000 t), suivie de la Grèce (130 000 t), de l'Italie (74 000 t), du Portugal (8 000 t), de Chypre (2 800 t) et de la France (1 200 t) , pour les autres pays la production est estimée à 410 000 t pour la Turquie, 300 000 t pour l'Égypte, 172 000 t pour la Syrie, 157 000 t pour l'Algérie, 100 000 t pour le Maroc (COI, 2013).

Le tableau IV donne les paramètres du marché national et international des 6 premiers pays producteurs d'olive de table suivant les données du conseil oléicole international.

**Tableau IV:** marché mondial et algérien des olives de tables (COI, 2012) (1,000 tonnes)

		Espagne	Turquie	Égypte	Syrie	Algérie	Grèce
2008/2009	1	485.7	300.0	440.0	120.0	98.0	105.0
	2	147.7	240.0	360.0	94.0	97.5	20.0
	3	2.0	0.0	0.0	0.0	4.0	1.7
	4	165.2	65.0	88.0	24.0	0.0	53.0
2009/2010	1	492.6	390.0	409.0	135.0	136.0	107.0
	2	107.9	260.0	340.0	116.0	134.0	20.0
	3	1.9	0.0	0.5	0.0	1.5	1.5
	4	225.1	65.5	71.5	24.0	0.0	49.0
2010/2011	1	608.6	330.0	350.0	147.0	192.5	135.0
	2	150.0	300.0	300.0	122.0	189.0	16.0
	3	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1
	4	211.3	72.0	78.0	30.0	0.0	53.0
2011/2012	1	520.6	400.0	500.0	172.0	133.0	110.0
	2	187.7	350.0	300.0	132.0	139.0	14.0
	3	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5
	4	175.0	60.0	100.0	35.0	0.0	44.0
2012/2013	1	450.0	410.0	300.0	172.0	157.0	130.0
	2	185.0	350.0	300.0	132.0	155.0	20.0
	3	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0
	4	170.0	70.0	80.0	35.0	0.0	51.0

\* 1 : production, 2 : consommation, 3 : importation, 4 : exportation.



*Elaboration des  
olives de table*



**II.1) Elaboration des olives :**

Selon le **COI (2013)** ; les olives sont obtenues à partir de fruits recueillis pendant le cycle de maturation, avant la véraison et lorsqu'ils atteignent une taille normale, les olives sont généralement cueillies à la main, au moment où se produit un léger changement de coloration d'un vert feuille à un vert légèrement jaunâtre, et où la pulpe commence à changer de consistance, mais avant son ramollissement. La véraison de l'olive ne doit pas avoir commencé.

La première opération de transformation consiste à éliminer les feuilles, séparer les fruits piqués, blessés ou altérés et trier les olives selon leur degré de maturité (vertes, tournantes et noires). Ensuite, les olives sont calibrées d'après le nombre de fruits à l'hectogramme. Elles doivent être de grosseur ou de taille homogène et classées conformément aux calibres définis dans des listes propres aux industries, donc elles doivent être classées selon leur grosseur pour faciliter les opérations ultérieures et mettre sur le marché des produits finis homogènes (**Duriez, 2004 ; ELkhaloui et Nouri, 2007**).

Cette opération se fait dans une machine à câbles divergents, et les principaux calibres retrouvés dans l'olive sont les suivants :(nombre de fruits en Kilogramme)  
7/9,10/12,13/15,16/18,19/21,22/25,26/29,30/33,34/39,40/45,46/50 au delà de 50, l'écart est de 10 fruits. Dans tous les cas, le calibre chiffré peut être remplacé pour l'ensemble des variétés par les dénominations suivantes :

- « Extra-grosse » pour le calibre 19/21.
- « Grosse » pour le calibre 22/25.
- « Moyenne » pour le calibre 26/29.
- « Petite » pour le calibre 30/30 (**Duriez, 2004**).

Par la suite ces dernières vont être pré-triées ; le triage des fruits se fait selon les critères suivants : Variétés, degrés de maturité, état sanitaire (mouche de l'olive), déformations. Puis elles vont passer au lavage avant d'être soumises à un traitement alcalin à la soude (**COI, 2013**). Le délai entre la récolte et la désamérisation doit être le plus court possible. En moyenne il n'excèdera pas 24 heures à 20°C et 5 jours à 5°C. (**Chemonics international, INC, 2007**).

**II.2) Le traitement des olives :****II.2.1) Différents procédés connus dans le monde :**

D'après **Chemonics international, INC(2007)** ; La demande commerciale, la variété d'olive et le stade de maturité au moment de la récolte dictent la nature du traitement. Les olives de table sont traitées selon l'un des procédés suivants :

- Style américain.
- Style espagnol.
- Style grec.
- Style Kalamata

Les principaux systèmes de traitement des olives vertes sont les suivants: avec fermentation (style espagnol) et sans fermentation (style "picholine" et style américain)(**COI, 2013**).

**II.2.1.1) le style espagnol ou sévillan :**

Les olives sont traitées avec une solution diluée de lessive (hydroxyde de soude) pour éliminer et transformer l'oleuropéine et les sucres, former des acides organiques qui favorisent la fermentation postérieure, et augmenter la perméabilité du fruit. Les concentrations de lessive varient entre 2% et 4%, en fonction du degré de maturité des olives, de la température, de la variété et de la qualité de l'eau (**COI, 2013**).

Le traitement des olives vertes ou de « style espagnol »est semblable à celui du style américain, sauf que les olives ne sont pas exposées à l'air et restent donc vertes (non muries). Après le lavage, les olives vertes fermentent en saumure. **Chemonics international, INC, 2007; COI, 2013**)

**II.2.1.2) Le style américain ou picholine :**

On prépare avec cette méthode les olives des variétés "Picholine du Languedoc" et "Lucques" dans le sud de la France ainsi que d'autres variétés au Maroc et en Algérie. (**COI, 2013**).

La méthode de traitement de « style américain »commence par des lavages a l'hydroxyde de sodium pour éliminer l'amertume de l'oleuropeine.Entre les lavages, les olives sont« muries »par exposition à l'air.une fois les olives lavées, elles peuvent être fermentées en saumure ou mises en boîte et stérilisées (**Chemonics international, INC., 2007**).

**II.2.1.3) style grec :** Les olives cueillies lorsqu'elles sont mûres (noires) subissent normalement un traitement de « style grec », soit par fermentation en saumure, et doivent seulement être emballées dans une saumure fraîche avant leur consommation (**Chemionics international, INC, 2007**).

**II.2.1.4) style Kalamata :** Les olives Kalamata, une variété d'olives naturellement de faible teneur en oleuropéine, elles ne sont pas traitées avec l'hydroxyde de sodium. Elles sont immergées dans de l'eau ou une solution légèrement salée, lavées, puis fermentées dans du vinaigre avant d'être emballées dans une saumure fraîche et de l'huile d'olive (**Chemionics international, INC, 2007**).

### **II.3) Elaboration des olives verte style espagnol :**

Selon **COI (2013)**, Elle consiste en une fermentation lactique des olives vertes en saumure, après avoir subi un traitement alcalin pour en éliminer l'amertume qui rend les olives non comestibles directement et qui peut entraver la fermentation.

Les principales étapes de l'élaboration des olives de table sont :

#### **II.3.1) La desamérisation :**

La desamérisation des olives peut se faire par traitement alcalin, par immersion ou par des procédés biologiques (**COI, 2004**).

L'olive est le seul fruit qui ne peut être consommé directement après maturité. Il contient un composé phénolique; l'Oleuropéine, qui lui confère un goût amer. Ce constituant est éliminé en traitant les olives par une solution contenant 2% à 4% de soude. Cette opération est menée avec grande attention puisqu'elle conditionne le rendement de la fabrication. La concentration de soude varie avec la variété (texture de la pulpe); d'où la nécessité de séparer les variétés lors de la récolte. Cette opération permet également d'augmenter la perméabilité de l'épiderme et de favoriser la diffusion des matières fermentescibles dans la saumure lors de la fermentation. (**ELkhaloui et Nouri , 2007 ; COI 2013**).

Selon **Chemionics international, INC, (2007)** élimination de l'amertume a le but d'hydrolyser et rendre soluble l'oleuropéine, qui est le principe amer présent dans les olives. Pendant cette phase l'oleuropéine est scindé en métabolites qui sont successivement lessivés par l'eau pendant le lavage. La desamérisation peut être d'origine chimique, libérant l'acide Oléanolique et l'Hydroxytyrosol, comme est le cas dans toutes les conserveries.

L'opération est achevée lorsque le front de soude a atteint environ 2/3 de l'épaisseur de la pulpe d'après **Duriez(2004) ; ELkhaloui et Nouri (2007) ; COI (2013)**. La diffusion de la soude dans la pulpe s'accompagne aussi de :

- l'hydrolyse des pectines responsable de la rigidité du fruit ce qui résulte d'un ramollissement relatif du fruit.
- Une diminution de la valeur nutritionnelle par une baisse des teneurs en protéine, en sel minéraux, en sucre et en acide gras.

Le même objectif peut être atteint en mettant en œuvre un processus biologique par l'action de la beta-glucosidase et de l'estérase (enzyme présente chez *Lactobacillus plantarum*) en donnant lieu à l'acide Oléanolique, l'Hydroxytyrosol et le Glucose référence.

### **II.3.2) Le lavage :**

Après la desamérisation, il faut procéder efficacement au lavage des olives. L'objectif principal est d'éliminer la quasi-totalité de la soude entraînée par l'olive et faciliter le lessivage des composés qui résulte de l'hydrolyse du principe amer de l'olive. Il faut cependant bien gérer cette opération, de manière à minimiser les pertes de la matière fermentescibles soluble dans le fruit et des composés responsables pour le maintien du pouvoir tampon au cours de la fermentation, mais en parallèle éviter les lavages courts qui laissent les olives amères et le pH de la saumure en fermentation baisse très lentement à cause du fort pouvoir tampon. Dans ces conditions, on peut assister également au développement des microorganismes responsables des processus des altérations des olives (**Chemionics international, INC, 2007 ; COI, 2013**).

### **II.3.3) La fermentation :**

#### **II.3.3.1) Principaux paramètres agissant sur la fermentation lactique des olives de table :**

Selon **Ozdemir (1997)**, la fermentation des olives est contrôlée par plusieurs facteurs tels que la teneur en polyphénols, en sucres réducteurs, et le pH de la saumure. Comme le NaCl (sel) joue un rôle important dans la transformation des olives de table en affectant le goût et la stabilité microbiologique du produit final. (**Bautista-Gallego et al.,2010**)

Alors que **Medina et al.(2010)** ont constaté que la variété de l'olive est l'un des facteurs les plus importants à considérer lors de la fermentation des olives, et même plus important que le taux de sel.

**❖ la fermentation lactique poussée des olives vertes :****➤ la saumure :**

Les olives sont ensuite mises dans une saumure dont la concentration en NaCl (sel) est, généralement, comprise entre 2 % et 4 %. Si cette concentration en NaCl est inférieure, il y a risque de développement microbologique indésirable et si elle est supérieure, les olives peuvent se rider en raison de l'échange osmotique (**Ozdemir, 1997 ; Delgado et al., 2009 ; COI, 2013**). Les fruits doivent toujours être recouverts de saumure sinon il peut se produire une perte de qualité. Au contact de l'air, des moisissures et des levures, se développent, présentant une activité enzymatique susceptible de dégrader les olives, d'où la nécessité d'un ouillage régulier avec de la saumure mère (**Delgado et al., 2009**).

**➤ les principaux facteurs de la fermentation :**

- La maturité des olives : selon l'état d'avancement de la maturation, les olives contiennent plus ou moins de sucres qui sont les matières fermentescibles. En début de campagne, la quantité de sucres est plus importante.
- Les traitements précédents : desamérisation alcaline et lavage. Si le traitement alcalin a été intensif, la fermentation est facilitée tandis que si ce traitement a été trop court, la fermentation est ralentie.
- La nature des fermenteurs.
- La concentration en sels : le développement des bactéries lactiques dépend de la concentration en sel. Si celle-ci est trop élevée, le processus fermentaire est moindre.
- La température : si la température est élevée, le processus fermentaire est stimulé.
- Les traitements correcteurs d'acidité (CO<sub>2</sub>, acide chlorhydrique, acide lactique, acide citrique, acide acétique) et ceux correcteurs de sucres (**Ozdemir, 1997; Delgado et al., 2009**).

**➤ les différentes phases de la fermentation**

Schématiquement, la fermentation se déroule en 3 phases selon la nature des micro-organismes qui se développent. Une 4<sup>ème</sup> phase, indésirable, peut survenir.

• **La phase 1** : Cette phase est caractérisée par une baisse du pH de 10 à 6, une baisse de la teneur en sel de la saumure de 8-10 % à 5-6 % et une augmentation de l'acidité libre de 0 à 0,1-0,2 %. Cette phase dure en moyenne 7 à 10 jours, elle débute avec la mise en saumure des olives et se termine avec le développement des bactéries lactiques.

Dès la mise en saumure des olives, de nombreux échanges osmotiques se mettent en place et la saumure se transforme en milieu de culture (sucres, acides aminés, vitamines,...) avec le développement de bactéries Gram+ et Gram- (**Ozdemir, 1997 ; Delgado et al., 2009**).

Les bactéries Gram négatifs et les levures/moisissures prédominent, leur nombre dépend des conditions hygiéniques. Il est crucial que les levures et les bactéries lactiques soient présentes en nombre suffisant pour conduire la fermentation (**Ozdemir, 1997 ; Delgado et al., 2009**)

- **La phase 2** : Cette phase est caractérisée par une baisse du pH de 6 à 4,5, une stabilisation de la teneur en sel de la saumure à 5-6 %, et une augmentation de l'acidité libre de 0,2 à 0,4%, ainsi que la croissance exponentielle des lactobacilles parmi lesquels *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus brevis*, la diminution des bactéries Gram-, des coques Gram+ et des bactéries Gram+ sporulées, le développement de certaines levures dont les genres et espèces varient selon les pays. Ces levures sont responsables de fermentation alcoolique et non lactique, elles produisent des composés volatils importants d'un point de vue sensoriel.

Cette phase dure en moyenne 10 à 15 jours, elle débute avec le développement des bactéries lactiques et se termine à la disparition des bactéries Gram+.

Quand le pH descend les bactéries lactiques et les levures prédominent et forment des associations (normalement 100 b. lactiques/1 levure). Les espèces désirables sont les *Lactobacillus plantarum* et *L. pentosus* et les levures *Debaryomyces hansenii*, *Pichia anomala*, *P.membranifaciens*, *Rhodotorula glutinis* et *Saccharomyces cerevisiae*. Les bactéries lactiques produisent surtout de l'acide lactique, qui possède un fort pouvoir antimicrobien, mais aussi des composants aromatiques, des bactériocines. (**Ozdemir, 1997 ; Delgado et al., 2009 ; Bautista-Gallego et al., 2011**)

Les levures produisent des composants importants du point de vue organoleptique mais elles peuvent également causer des poches de gaz, des dépôts/voiles dans la saumure et même des saveurs désagréables.

Ces 2 phases sont les plus importantes du processus fermentaire car elles sont décisives dans la voie qui sera empruntée : voie des altérations ou voie de la fermentation lactique, notamment de par le contrôle de la disparition des bactéries Gram+ (**Ozdemir, 1997 ; Delgado et al., 2009 ; Bautista-Gallego et al., 2011**).

- **La phase 3** : Cette phase est caractérisée par une baisse du pH de 4,5 à 4, une stabilisation de la teneur en sel de la saumure à 5-6 %, et par une augmentation de l'acidité



libre de 0,4 à 0,7 %. Cette dernière débute avec la disparition des bactéries Gram- et peut durer de 1 à 3 mois. D'un point de vue microbiologique, cette phase se caractérise par le fort développement des lactobacilles, la présence des levures, la présence des coques lactiques.

Durant la fermentation des olives, il y a une phase au cours de laquelle la saumure devient gluante, épaisse, visqueuse. Ceci indique un développement lactique intense puisque le développement de *L. plantarum* induit une augmentation de la densité de la saumure. Après cette phase, la densité redevient normale, la qualité des olives n'est pas affectée.

Au cours de cette phase, il y a production d'acide lactique, donc l'acidité libre augmente et de ce fait le pH diminue. Lorsqu'il n'y a plus de substrat (de matières fermentescibles), la phase se termine, l'activité enzymatique des bactéries lactiques cesse. La concentration en sels est alors de 6 %.

Pour éviter le passage indésirable à la 4ème phase, il faut ajouter du sel pour obtenir une concentration de 8,5 % (Ozdemir,1997 ; Delgado *et al.*, 2009).

• **La phase 4 indésirable** : La quatrième phase se caractérise par une élévation du pH de 4 à 4,7-4,8, une stabilisation de la teneur en sel de la saumure à 5-6%. Elle se met en place lorsque le pH n'est pas suffisamment bas, il se développe alors des bactéries qui consomment l'acide lactique et le pH augmente et les micro-organismes responsables de cette évolution sont les bactéries propioniques qui consomment l'acide lactique pour produire de l'acide propionique, de l'acide acétique et du CO<sub>2</sub>. Ces acides organiques sont des acides plus faibles que l'acide lactique, c'est la raison de l'augmentation du pH, Les moisissures aérobies (présence sous forme de voile) qui consomment les acides produits induisent une augmentation du pH et un ramollissement des olives, D'un point de vue microbiologique, les lactobacilles, les levures et les coques Gram+ sont encore présents lors de cette phase mais de façon minoritaire (Delgado *et al.*, 2009).

Durant les différentes phases de la fermentation quelques altérations peuvent survenir, les principales sont mentionnées dans le tableau V suivant :

➤ les principales altérations et leur traitement préventif :

**Tableau V: principales altérations et leur traitement préventif :( Ozdemir, 1997 ; Maldonado *et al.*, 2008 ; Delgado *et al.* , 2009 ; COI, 2013) .**

Phases	Altérations possible	causes	Traitement préventif
1ere phase	Ramollissements	-Température élevée -Concentration élevée en soude utilisée. -Bacillus, Gram-;Rhodotorula; Aspergillus.	-Ecrémage régulier de levures et de moisissures -conditions d'anaérobiose. -pH acides et des [NaCl] élevées -Contrôler la 1rePhase.
2eme phase	"Alambrado"	les bactéries à Gram négatif, les bactéries lactiques hétéro-fermentaires et les levures (surtout en aérobiose)	-Eviter la croissance déséquilibrée des levures. -Réduire, la contamination par des, mesures hygiéniques. - Contrôler la température de fermentation. -Favoriser la diminution rapide du pH lors de la mise en saumure.
3eme phase	Fermentation putride et butyrique : Modifications organoleptiques.	-Températures basses -Mauvaises régulations du pH	-Eliminer les fonds alcalins -favoriser la diminution rapide du pH. -Utiliser des saumures d'au moins 8,5% -Contrôler la température de fermentation.
4eme phase	"Zapateria"	//	//

*Activité  
antibactérienne*

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques représente le facteur justifiant la nécessité de trouver et de développer de nouveaux agents antimicrobiens. Plusieurs études sont faites sur les propriétés antimicrobiennes des dérivés de plante, ces dernières sont employées pendant longtemps dans la médecine traditionnelle dans le but de lutter contre les infections (Tripoli *et al.*, 2005).

L'olive (*Olea europaea L.*) contient une série de composés (composés phénoliques, tocophérols et caroténoïdes) qui présentent des mécanismes chimique multiple de défense pour l'organisme. (Furneri *et al.*, 2004 ; Sousa *et al.*, 2006).

### III.1. Activité antimicrobienne des composés phénoliques :

Plusieurs travaux sont consacrés à l'étude de l'activité antimicrobienne des olives de table et de leur huiles et ont montré que ces derniers sont performants vis-à-vis de plusieurs souches microbiennes.

D'autres études menées par Furneri *et al.* (2002) sur l'activité de l'oleuropéine, phénols glycosidique contenu dans huile d'olive montrent une activité antimycoplasmale. Des CMI de 160, 320, 20 et 20 mg/l pour *Mycoplasma pneumoniae*, *M. pirum*, *M. hominis* et *M. fermentans*, respectivement sont observés.

Selon Furneri *et al.* (2004), l'hydroxytyrosol pur est doté d'une activité antimycoplasmale. Vingt souches de *M. hominis*, trois souches *M. fermentans* et une souche *M. pneumoniae* ont été employées dans cette étude, des CMI de 0,5, 0,03 et 0,25 µg/ml ont été enregistrées respectivement pour les souches *M. pneumoniae*, *M. hominis*, et *M. fermentans* respectivement.

Dans le travail effectué par Sousa *et al.*(2006) sur les extraits d'olives de table "Alcaparra" vis-à-vis de trois Gram positifs (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*), Gram négatifs (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *klebsiella pneumoniae*) et sur les mycètes (*Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*), avec une faible concentration de 0,05 mg/ml, l'extrait d'Alcaparra a indiqué une inhibition significative de la croissance des trois bactéries Gram positifs et sur deux Gram négatifs, à l'exception de *P. aeruginosa*. Néanmoins, on n'a observé aucune activité antifongique aux concentrations utilisées. Trois composés flavonoïques ont été identifiés (lutéoline 7-O-glucoside, apigénine 7-O-glucoside, et lutéoline) et considérés comme responsables de l'activité antimicrobienne de ces extraits.

L'étude menée par Romero *et al.*(2007), portant sur cinq variétés d'huiles d'olives espagnoles révèle une activité bactéricide sur huit souches *Helicobacter pylori*, cette dernière

connue comme étant la principale cause de la maladie ulcéreuse gastroduodénale. Cette activité est liée aux secoiridoïdes aglycones en particulier la forme aldehydique de ligstrosiode aglycone, qui a la particularité de résister à l'acidité gastrique pendant plusieurs heures.

Pereira *et al.* (2006) ont étudiés les olives de table verte " *Azeiteira* ". où sept composés phénoliques ont été identifiés et quantifiés; hydroxytyrosol, tyrosol, acide 5-O-caffeoilquinique, verbascoside, luteolin 7-O-glucoside, rutine et lutéoline. Ils ont montré qu'ils exercent une activité antibactérienne sur les trois souches Gram-positif (*B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*), les trois Gram-négatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) et sur le champignon (*C. albicans*, *C. neoformans*). Les mêmes espèces sont utilisés dans l'étude effectuée par Pereira *et al.* (2007) avec les extraits de feuilles d'olivier à une concentration de 5mg /ml où sept composés sont identifiés ; acide caféique, verbascoside, oleuropéine, luteolin 7-O-glucoside, rutine, apigénine 7-O-glucoside et luteolin 4'-O-glucoside ,ils ont constaté des CMI<sub>25</sub> de 0,37, 0,36, 0,35, 0,30, 0,44 ,0,37, 0,12, 0,12 pour *B. cereus*, *B. subtilis*, *S.aureus*, *E.coli* , *K. pneumoniae* , *P. aeruginosa* ,*C.albicans* ,*C. neoformans* respectivement.

### III.2. Mode d'action des composés phénoliques

Le mode d'action des polyphénols vis-à-vis des microorganismes peut s'exercer selon plusieurs modalités. Certains exercent leur activité en inhibant les protéines bactériennes, induisant ainsi l'altération des fonctions essentielles de la cellule, d'autres ont un pouvoir plus spécifique en altérant les structures membranaires. Les composés phénoliques peuvent avoir un effet bactéricide ou bactériostatique selon leurs concentrations.

#### III.2.1. Action sur les enzymes

Les polyphénols s'intercalent avec les protéines enzymatiques et bloquent les sites actifs des enzymes, inhibant ainsi leur activité (Cowan, 1999; Sher, 2009). D'après Cushnie et Lamb (2005), sept composés flavonoïques y compris la quercétine et l'apigénine sont capables d'inhiber *in vitro* l'ADN gyrase d'*Escherichia coli*.

#### III.2.2. Action sur la membrane cytoplasmique

Les composés phénoliques ont un pouvoir plus spécifique en altérant les structures membranaires, Casas-Sanchez *et al.* (2007) ont montré que l'oleuropéine s'intercale entre les phospholipides membranaires en causant une déformation et une irrégularité de la paroi ce qui induit une fuite des constituants cytoplasmiques tels que les protéines, le glutamate, le potassium et le phosphate qui ont un rôle dans le maintien et l'équilibre des réserves énergétiques et du pH intracellulaires (Furneri *et al.*, 2002 ; Rodriguez *et al.*, 2009).

*Partie*  
*Expérimentale*

*Matériels et  
méthodes*

## I) Matériels et méthodes

### I-1) Matériel végétal

L'étude porte sur trois échantillons d'olives de table verte de la variété *Azzeradj*, provenant de la région Seddouk (Bejaia), issues de la campagne 2009/2010.

Après triage (écartement des olives endommagées ou piquées par la mouche) et calibrage, trois calibres ont été distingués : les calibres 6, 9 et 13.

Les olives des trois calibres ont été élaborées suivant le style espagnol (sevillan), ont subi, une désamérisation dans 15 % de NaOH et une fermentation lactique dans 8 % de NaCl.

Les olives de table ainsi préparées ont été lyophilisées à  $-52^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ , puis broyées et tamisées, la poudre d'olives a été conservée au congélateur ( $-6^{\circ}\text{C}$ ) dans des buccaux en verre fumé et bien scellés

Les caractéristiques des variétés étudiées sont présentées dans le tableau I, par référence au catalogue des variétés Algériennes de l'olivier de l'ITAFV.

**Tableau VI** : Caractéristiques de variétés d'olive étudiée (*Azzeradj*) à différente calibre.

variété	origine	calibre	Caractéristiques
<i>Azzeradj</i>	Bejaia (Seddouk)	6	Fruit jaune-verdâtre ; à chair abondante, fine et ferme, craquante ; se détache facilement d'un noyau elliptique, allongé et lisse PM=3,164g
		9	Fruit jaune- verdâtre ; à chaire très abondante, craquante d'une fermeté extrême, se détache très bien du noyau elliptique, allongé et lisse. PM=4,761g.
		13	Gros fruit jaune- verdâtre, à pulpe très abondante, fine, tendre, moins craquante, se détache facilement du noyau. PM=5,968g.

## II. Dosage des composés phénoliques

### II.1. Préparation des extraits

Le protocole décrit par Mc Donald *et al.* (2001) a été adopté avec des modifications; 5g de poudre d'olive sont extraits avec du méthanol /eau (70 /30).Après homogénéisation pendant 20min et centrifugation à 3000 rpm/5 min, le culot subit une seconde extraction dans les mêmes conditions. Les extraits sont combinés, lavés deux fois à l'hexane puis filtrés.



## II.2. Dosage des polyphénols

Le réactif de Folin Ciocalteu, mélange des acides phosphotungstique et phosphomolybdique, est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la coloration obtenue est fonction du taux de composés phénoliques (Ribéreau- Gayon, 1968).

Le dosage des polyphenols a été réalisé par la méthode de Borzello *et al.*, (2000) où 0.5ml Folin Ciocalteu sont ajoutés à un volume d'extraits (0.1ml), après 5min, 3ml de carbonate de sodium sont additionnés puis ajustés à 10ml avec de l'eau distillée, ensuite une centrifugation 1500tr /15min est effectuée, après un repos de 30min à l'ombre, l'absorbance est mesurée à 725nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche par référence à une courbe d'étalonnage (Annexe 01).

## II.3. Dosage des *ortho*- diphénols

Les teneurs en *ortho* diphénols sont déterminées par la méthode de Tovar *et al.*, (2002) où 5ml d'extrait sont mélangés à 1ml de molybdate de sodium(5%). Après une incubation de 15mn, l'absorbance est mesurée à 370 nm. La quantité des *ortho* diphénols est exprimée en mg équivalent d'acide caféique par 100g de matière sèche, en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe 01).

## II.4. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est estimée par la méthode Toor et Savage (2003). Où 500 µl d'extrait sont mélangées avec 5ml d'eau distillée puis additionnées de 300 µl de nitrite de sodium (5%) ; après cinq et six minutes respectivement, 600 µl de chlorure d'aluminium (10%) et 2 ml d'hydroxyde de sodium (1%) sont additionnés; au final le tout est combiné avec 2,1ml d'eau distillée. L'absorbance est mesurée, à 510 nm.

La quantité de flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercitrine par 100g de matière sèche, en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe 01).

## III. Détermination du pouvoir antioxydant

Le pouvoir antioxydant est estimé par deux méthodes : l'activité antiradicalaire et le pouvoir réducteur.

### III.1. Activité antiradicalaire

Elle est estimée par une méthode utilisant le radical 2-2-diphényl 1-picryl-hydrazyl (DPPH). Ce radical en solution méthanolique donne une couleur violette, cette dernière disparaît au profit de la couleur jaune suite à la réduction du DPPH (**Molyneux, 2004 ; Fernandez-Orozco et al., 2011**)

500µl d'extrait méthanolique des olives sont ajoutées à 2 ml d'une solution méthanolique du DPPH. L'absorbance est mesurée à 517 nm après une incubation de 30 min à l'obscurité (**Boskou et al, 2006**). L'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage d'inhibition Annexe (01).

Le pourcentage d'inhibition du radical est calculé comme suite :

$$AA(\%) = [(A_t - A_e) / A_t] \cdot 100$$

**Où :** AA : activité antiradicalaire (en pourcentage d'inhibition) ;

$A_t$  : absorbance du témoin ;

$A_e$  : absorbance de l'échantillon

L'activité antiradicalaire est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche.

L'effet de la concentration sur l'inhibition du radical DPPH a été mesuré pour différentes concentrations des extraits des olives et la concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH (EC50) a été calculée.

### III.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur mesure l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure – Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux. Cette réduction se traduit par une coloration verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur.

Le protocole décrit par Zhan *et al.* (2006) a été utilisé; 0.5 ml d'extrait dans 1.25ml de tampon phosphate (pH 6,6) sont ajoutés à 1,25 ml de ferricyanure de potassium (1%); le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Après addition de 1,25 ml d'acide trichloracétique (10 %), le mélange est centrifugé à 1160 rpm/10min. 1,25 ml du surnageant sont mélangés à 1,25 ml d'eau distillée et 0,25 ml de chlorure ferrique (0,1%). Enfin, l'absorbance est mesurée à 700 nm.

Le pouvoir réducteur est exprimé en mg équivalent de BHA et de rutine par 100g de matière sèche Annexe (01).

#### IV) Détermination de l'activité antibactérienne

##### IV.1. Les souches bactériennes

Les tests antibactériens ont été effectués sur des germes couramment responsables de diverses pathologies (Annexe 03). Les microorganismes étudiés et leurs références sont rapportés dans le tableau suivant

**Tableau VII.** Références et origines des souches bactériennes utilisées.

Souches bactériennes	Caractère	Origine	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram+	SAIDAL- Antibiotical	<b>ATCC 6538</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram-	LMA	<b>ATCC 27853</b>
<i>Escherichia coli</i>	Gram-	LMA	<b>NAR</b> (Nalidixic Acid resistant)

##### IV.1. Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.

##### IV.3. Standardisation des souches bactériennes

L'activité de tout agent antimicrobien dépend de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée. La taille de l'inoculum bactérien est un élément primordial contribuant de façon essentielle à la qualité des résultats de l'antibiogramme, d'où la nécessité de standardiser l'inoculum bactérien. Ce dernier est préparé, dans de l'eau physiologique, à partir d'une culture pure de 18h. Une suspension bactérienne initiale, d'une opacité équivalente à une absorbance de 0,5 a différentes longueurs d'ondes de chaque suspension bactérienne 525nm pour *S.aureus*, 448nm pour *E.coli* et 537nm pour *P.aeruginosa* est préparée. Ensuite une série de dilutions décimales est réalisée dans de l'eau physiologique stérile ( $10^{-1}$  à  $10^{-9}$ ). Un volume de 0,1 ml de chaque dilution est ensemencé en surface (gélose PCA). Après incubation à 37°C pendant 24 heures un dénombrement est réalisé.

#### IV.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

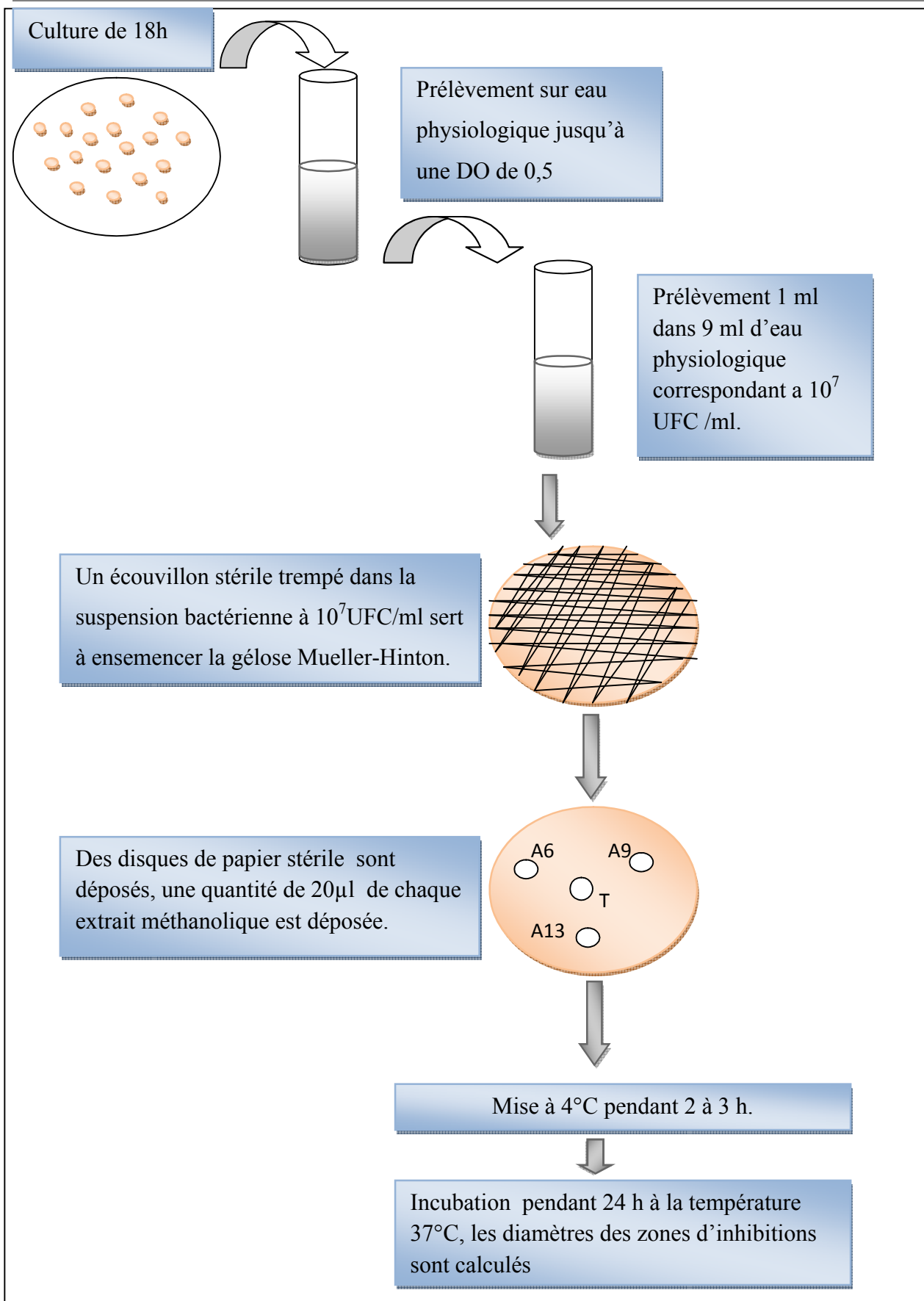
L'activité antibactérienne des trois extraits méthanoliques des olives des trois calibres étudiés a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé «l'antibiogramme». Cette méthode repose sur le principe de la compétition entre la croissance d'une bactérie et la diffusion d'une substance dans un milieu gélosé à partir d'un support en papier préimprégné (Denis *et al.*, 2007). Les molécules diffusent à partir du disque de papier selon un gradient de concentration, après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition claire entourant le disque sert à mesurer la puissance des substances actives contre le microorganisme (Jawetz *et al.*, 1973). Le protocole suivi pour réaliser cet antibiogramme est rapporté par plusieurs auteurs (Canadanovic-Brunet *et al.*, 2008 ; Kappel *et al.*, 2008).

A partir d'une culture pure et fraîche de 18 à 24 heures, des colonies isolées sont raclées puis mises dans 9 ml d'eau physiologique, après homogénéisation de la suspension bactérienne, les inocula sont ajustés jusqu'à obtenir une DO de 0,50 aux absorbances déjà déterminées.

- Un écouvillon stérile trempé dans une suspension bactérienne à  $10^7$ UFC/ml sert à ensemercer des géloses Mueller-Hinton coulées dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre avec une épaisseur d'au moins 4mm. L'opération a été répétée deux à trois fois.
- Des disques de papier stérile (06 mm de diamètre) sont disposés à égale distance les uns des autres de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose. Une légère pression sera exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence.
- Chaque disque est imprégné à l'aide d'une pipette Eppendorf d'une quantité de 20µl d'une solution des extraits méthanoliques des olives de la variétés *Azzeradj* à différent calibre (6,9 et 13) d'une concentration de 110 mg/ml. Des disques imprégnés de 20µl de méthanol/eau (70/30) sans extraits sont utilisés comme témoins négatifs.
- Les boîtes sont mises à 4°C pendant 2 à 3 h afin de permettre la diffusion des substances actives, elles sont mises à incuber pendant 24 h à la température 37°C.
- les diamètres des zones d'inhibition sont alors mesurés.

#### V. Analyse statistique

Les résultats représentent la moyenne de trois mesures. Une analyse de la variance, ANOVA par le logiciel STATISTICA est utilisée pour une comparaison des résultats et le degré de signification des données est estimé à la probabilité  $P < 0,05$ .



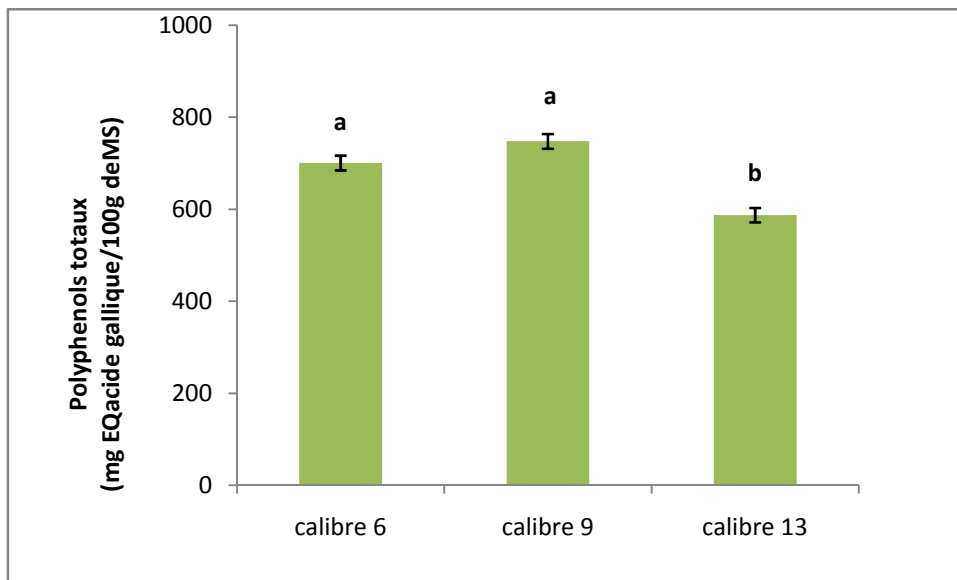
**Figure 02 :** Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques des olives *Azzeradj* de différents calibres sur milieu gélosé.

*Résultats et  
discussion*

## I) Les composés phénoliques :

### I-1) Les polyphénols totaux :

Les teneurs en composés phénoliques des olives de table de la variété *Azzeradj* pour les trois calibres 6,9 et 13 sont représentées dans la figure 03 :



**Figure 03:** Teneur en composés phénoliques des trois Calibres de l'olive de table « *Azzeradj* ».

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne représentent aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ ).

\* Les barres verticales représentent les écart-types.

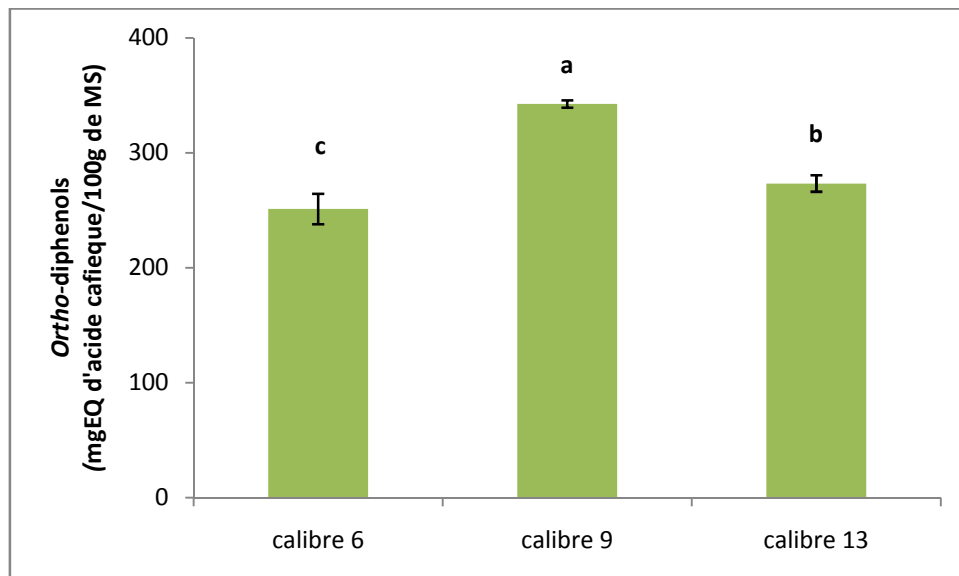
L'étude statistique ne révèle aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre la teneur en composés phénoliques des deux calibres 6 et 9, alors qu'il y a une différence significative par rapport à la teneur du calibre 13.

Suite aux analyses effectuées, les résultats montrent que c'est les extraits méthanoliques des olives aux calibres 6 et 9 qui renferment les teneurs les plus élevées en composés phénoliques (700,90mg EQ d'acide gallique/100g de MS ; 747,74mg EQ d'acide gallique/100g de MS) respectivement, alors que les olives au gros calibre (calibre 13) en sont les moins riches (587,38mg EQ d'acide gallique/100g de MS). On comparant nos résultats à ceux rapporté par Pereira *et al.* (2006) il s'avert que c'est la variété *Azzeradj* qui est plus riche en composés phénoliques comparer a la variété *Azeiteira, Carrasquenha* (323,90 mg/100g de MS).

Les études effectuées par Ryan *et al.* (2002) et Ghanbari *et al.* (2012) ont montré que la concentration en composés phénoliques, notamment en oleuropéine peut être affectée par la taille du fruit. Il existe quelques variétés de petit calibre qui renferment une teneur élevée en oleuropéine du début jusqu'à la fin de leur stade de maturité, par contre les fruits au gros calibres ont une teneur faible, donc la teneur en polyphénols est inversement proportionnelle au calibre du fruit ce qui peut être expliqué par la différence dans la teneur en huile qui est plus importante pour les gros calibres (Kailis et Harris, 2007).

### I-2 : Les *Ortho*-diphenols :

La figure 04 montre les teneurs en *Ortho*-diphenols des olives de table de la variété *Azzeradj* pour les différents calibres.



**Figure 04:** Teneurs en *Ortho*-diphenols des trois calibres de l'olives de table « *Azzeradj* »

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne représentent aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ ).

\* Les barres verticales représentent les écart-types.

L'étude statistique montre des différences significatives ( $p \leq 0,05$ ) entre la teneur en *Ortho*-diphenols des olives des trois calibres 6,9 et 13.

D'après ces résultats on constate que l'allure du contenu *Ortho*-diphenolique est différente de celle en polyphénols totaux, c'est les olives du calibre 9 qui contiennent la teneur la plus élevée en *O*-diphenols (342,54mg EQ d'acide caféique/100g de MS)

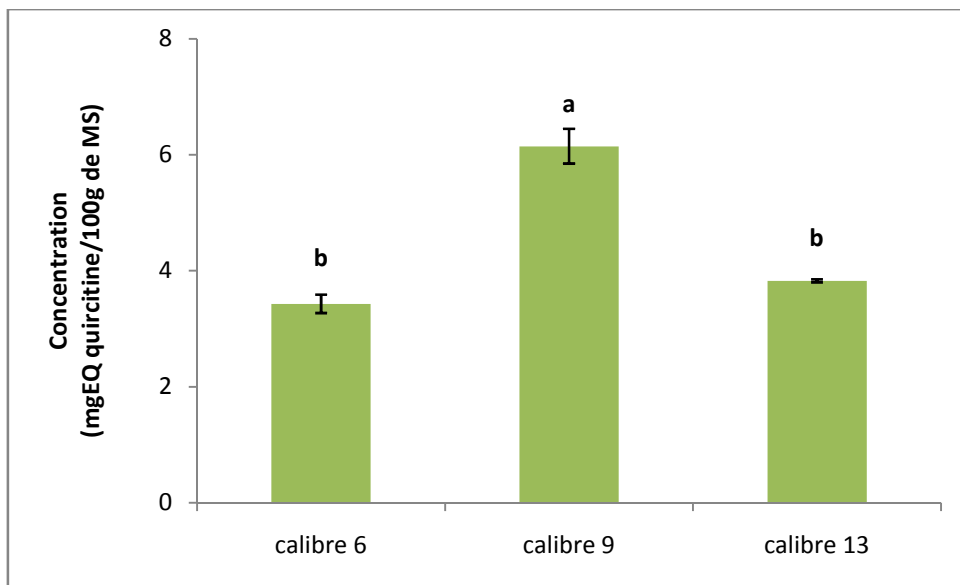


comparées aux olives des calibres 6 et 13 respectivement (251,16mg EQ d'acide caféique/100g de MS, 273,37mg EQ d'acide caféique/100g de MS).

D'après nos résultats il s'avère qu'une teneur élevée en polyphénols totaux ne reflète pas toujours une importante quantité en *Ortho*-diphenols, en effet, le calibre 13 présente la teneur la plus faible en polyphénols totaux (587,38mg/100g de MS) comparé à la teneur du calibre 6 (700,90mg/100g de MS) mais il est plus riche en *Ortho*-diphenols (273,37mg/100g de MS ; 251,16mg/100g de MS) respectivement.

**I-3 Les flavonoïdes :**

la figure ci après représente la teneur en flavonoïdes des olives de table de la variété *Azzeradj* pour différents calibres.



**Figure 05 :** teneurs en flavonoïdes des trois calibres de l'olives de table de la variété « *Azzeradj* ».

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne représentent aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ )

\* Les barres verticales représentent les écart-types.

L'étude statistique ne révèle aucune différence significative entre les teneurs en flavonoïdes de nos extraits méthanoliques des olives de table au calibre 6 et 13, alors qu'on constate une différence par rapport aux olives au calibre 9.

Les résultats obtenus montrent que les olives au calibre 9 présentent le double de la teneur des calibres 6 et 13. En effet la teneur en flavonoïdes du calibre 9 est estimée à 6,14mg EQ de quercitine/100g de MS, suivi par les olives au calibre 13

puis celle au calibre 6 (3,82mg EQ de quercitine/100g de MS, 3,42mg EQ de quercitine/100g de MS) respectivement.

L'allure des flavonoïdes diffère de celle des composés phénoliques, mais elle est similaire à celle des *Ortho*-diphenols. Une corrélation non significative est relevée entre la teneur en polyphénols totaux et celle des flavonoïdes( $r=0,65$ ) et une corrélation significative est obtenue entre la teneur en flavonoïdes et en *Ortho*-diphenols( $r=0,81$ ).

Les teneurs en flavonoïdes des olives de table de la variété *Azzeradj* sont inférieures à celles rapportées par Malik et Bradford (2006) pour la variété espagnole *Arbequina* (157mg/100g). Ainsi, il ressort en plus du calibre, le cultivar et l'origine géographique sont des facteurs importants qui influencent la composition en flavonoïdes.

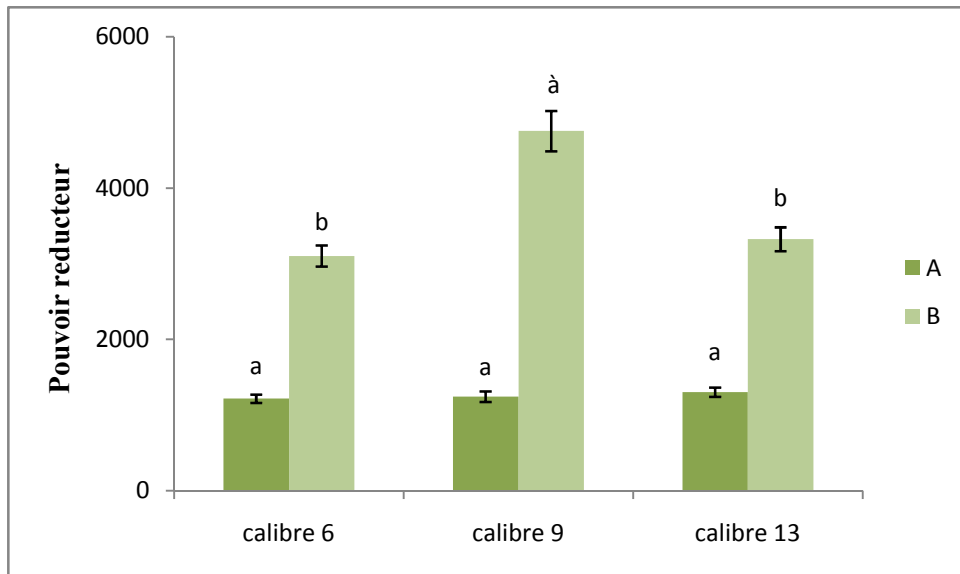
### **II- Mesure du pouvoir antioxydant :**

Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarité et comportement chimique. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits serait plus instructif et même nécessaire (**Athamena, 2009**).

Dans notre travail on a essayé d'évaluer le potentiel antioxydant de nos extraits méthanoliques des olives de la variété *Azzeradj* à différentes calibres avec deux méthodes : le pouvoir réducteur et le test du pouvoir anti-radicalaire (radical DPPH).

#### **II-1-le pouvoir réducteur**

La figure 06 illustre le pouvoir réducteur des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres :



**Figure 06 :** Le pouvoir réducteur des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres .**A** : en mg EQ BHA/100 de MS, **B** : mg EQ rutine/100g de MS.

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne représentent aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ ).

\*Les barres verticales représentent les écart-types.

L'étude statistique montre que le pouvoir réducteur en terme d'équivalent BHA/100g MS ne présente aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les trois calibres 6,9 et13.

Les résultats des dosages ont montré que les extraits méthanoliques des olives aux calibres 6, 9 et 13 ont un pouvoir réducteur en équivalent BHA presque similaire qui est estimé à (1216,76mg /100g de MS, 1242,54mg/100g de MS, 1328,76mg /100g de MS) respectivement.

D'après l'analyse statistique aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ ) n'est notée entre les olives aux calibres 6 et 13 en terme de pouvoir réducteur exprimé en équivalent rutin/100g de MS, par contre il existe une différence significative ( $p \leq 0.05$ ) par rapport aux olives au calibre 9.

Les résultats des dosages ont montré que le pouvoir réducteur en équivalent rutin de nos extraits méthanoliques des olives au calibre 9 (4751,92mg/100g de MS) est nettement supérieure a celui des autres calibres 6 et 13 (3102,20mg /100g de MS ; 3387,77mg /100g de MS) respectivement. Rappelant que c'est les olives au calibre 9 qui contiennent les teneurs les plus élevées en *Ortho*-diphenols et en flavonoïdes (342,54 mg EQ acide caféique/100g de MS, 6,14mg EQ quercitine/100g de MS,

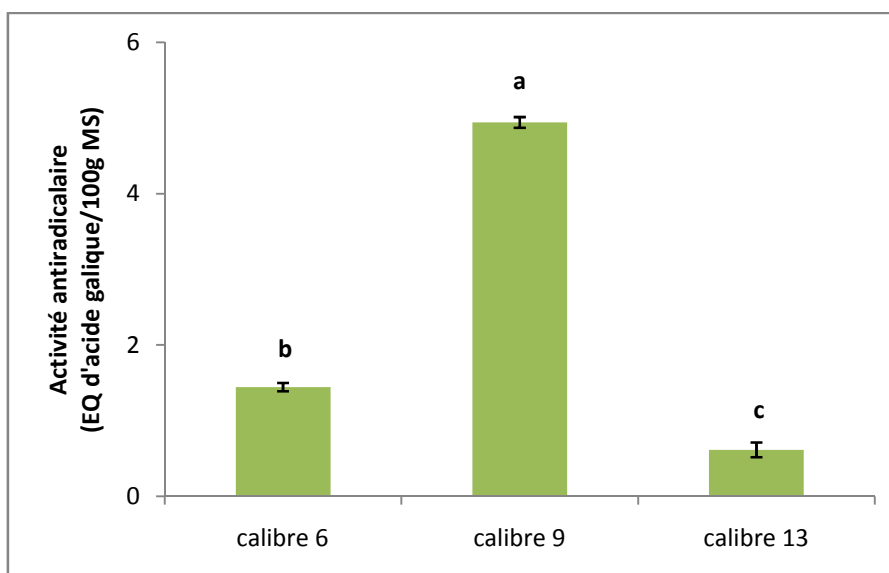
respectivement). Cette différence trouve probablement son explication dans la différence du standard utilisé.

On note l'existence d'une corrélation non significative entre le pouvoir réducteur et la teneur en polyphénols totaux de nos extraits méthanoliques ( $r=-0,56$ ,  $r=0,49$ ) (Annexe 02)

Comme on remarque que la corrélation est négative et non significative entre le pouvoir réducteur en équivalent BHA et la teneur en *Ortho*-diphenols( $r=-0,02$ ) et en flavonoïdes( $r=-0,34$ ). Alors qu'elle est significative en équivalent rutine pour les *Ortho*-diphenols( $r=0,93$ ), et pour les flavonoïdes( $r=0,71$ ) (Annexe 02). Ce qui montre que le choix du standard est important. Ces résultats témoignent du fait que le pouvoir réducteur est dépendant non pas de la teneur en composés phénoliques mais de la nature (profil phénolique de la variété ; le nombre, la position du OH et disponibilité des H, existence de sucre réducteur degré d'hydroxylation, elle même dépendante du calibre du fruit (Mc Donald *et al.*, 2001 et Balasundram *et al.*, 2006). Pour cela une analyse plus précise du profil phénolique de la variété devrait être effectuée.

## II-2) l'activité anti-radicalaire :

La figure 6 ci dessous illustre l'activité anti-radicalaire des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres.



**Figure 07:** L'activité anti-radicalaire des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres.

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne représentent aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ )

\*Les barres verticales représentent les écart-types.

Les extraits méthanoliques des olives analysées possèdent une capacité à piéger le radical DPPH et l'étude statistique révèle la présence d'une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre le pouvoir anti-radicalaire des olives des trois calibres.

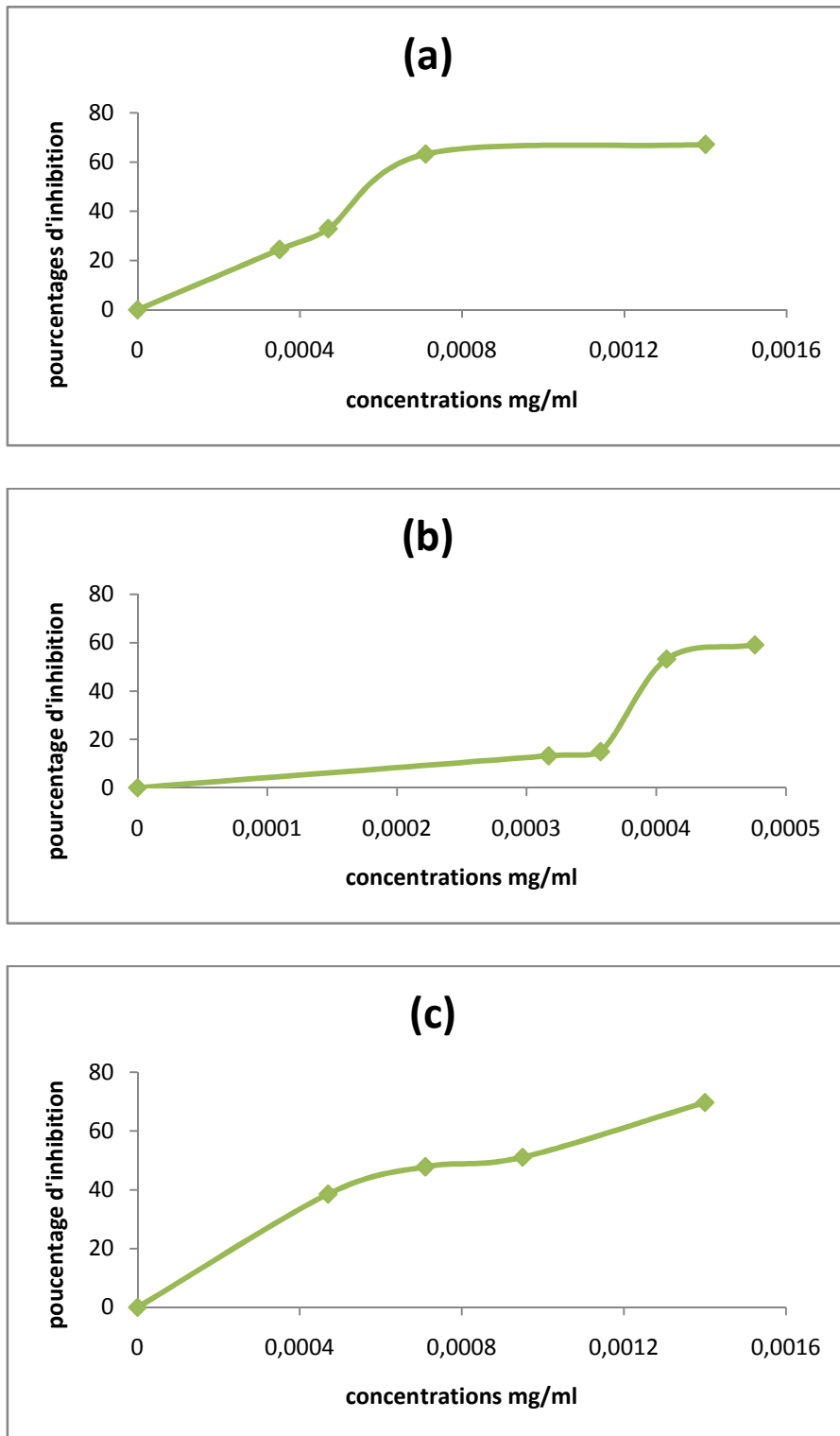
La figure 7 montre l'effet de la concentration des extraits des trois calibres 6 (a), 9 (b) et 13 (c) de la variété *Azzeradj* sur l'activité anti-radicalaire.

Les extraits méthanoliques des olives au calibre 9 ont un fort pouvoir anti-radicalaire qui est estimé à 4,94mg EQ d'acide gallique/100g de MS avec une concentration (EC50) de l'ordre de 0,4 $\mu$ g/ml, suivi par les olives au calibre 6 et 13 (1,44mg EQ d'acide gallique/100g de MS et une concentration de 0,54 $\mu$ g/ml ; 0,61mg EQ d'acide gallique/100g de MS et EC50=0,7 $\mu$ g/ml, respectivement).

D'après Cristina Popovici (2009) la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son EC50 est petit. Dans cette même optique, Pereira *et al.* (2006); Sousa *et al.* (2007) ont évalué EC50 des olives vertes *Azeiteira*, *Carrasquenha* et *Alcaparra* qui est de 0,60, 0,34 et 0,72mg/ml respectivement et Malheiro *et al.* (2011) ont estimé l'EC50 des olives de table vertes (*Alcaparra*) à 1,16 mg/ml, cela confirme que les olives de la variété *Azzeradj* sont beaucoup plus performantes en termes d'activité anti-radicalaire contre le radical DPPH, et que cette activité est dépendante du calibre du fruit.

Comme on constate une corrélation significative entre l'activité anti-radicalaire et la teneur en polyphénols totaux ( $r=0,77$ ). Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (**Athamena *et al.*, 2010**).

Boskou *et al.* (2006), Oliveras-Lopez *et al.* (2007), attestent que les composés phénoliques ayant la plus forte activité antioxydante appartiennent au groupe des *Ortho*-diphénols, en effet une corrélation significative entre l'activité anti-radicalaire (mg EQ acide gallique/100g de MS) et la teneur en *Ortho*-diphénols ( $r=0,88$ ) est constatée (**Roche *et al.* 2004 ; Tripoli *et al.* ,2005**).



**Figure 7 :** Effet de la concentration des extraits des trois calibres 6 (a), 9 (b) et 13 (c) de la variété *Azzeradj* sur l'activité anti-radicalaire.

On note l'existence d'une corrélation significative ( $r=0,81$ ) entre l'activité anti-radicalaire et la teneur en flavonoïdes. Selon Tripoli *et al.* (2005) et Yousfi *et al.* (2007) la capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres est liée essentiellement à leur structure moléculaire, sachant que plusieurs études ont révélé que parmi les flavonoïdes c'est les anthocyanes qui possèdent l'activité antioxydante la plus élevée (**Ayranci et Erkan, 2013**).

Il ressort de nos résultats que le calibre est un facteur important qui module l'activité anti-radicalaire

### **III) Evaluation de l'activité antibactérienne :**

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque contenant l'extrait, cette activité est exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition. Selon Pereira *et al.* (2006), un diamètre entre 2-3 mm traduit une activité antibactérienne minimale, 4-5mm présente une activité antibactérienne modérée, 6-9 mm une activité antibactérienne élevée, et un diamètre supérieur à 9 mm une forte activité antibactérienne.

Les résultats de l'activité antibactérienne de nos échantillons *Azzeradj* à différents calibres (calibre 6, 9 et 13 et nommés A6, A9 et A13 respectivement) sur trois souches *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S.aureus* sont donnés dans le tableau suivant

**Tableau VIII:** activité antibactérienne de la variété *Azzeradj* aux trois calibres (6,9 et 13)

Les germes cibles	Diamètre des zones d'inhibitions (mm)		
	Calibre6	Calibre9	Calibre13
<i>E.coli</i>	8,6 mm±0,11	9mm±0,1	3,33mm±0,57
<i>P. aeruginosa</i>	9mm ±0,12	11,2mm±0,17	9,6mm±0,11
<i>S. aureus</i>	20.3mm ±0,21	21,33mm±0,23	21,0mm±0,1

\*le diamètre du disque est inclus dans le calcul de la zone d'inhibition

Suite aux analyses effectuées, on constate que les extraits méthanoliques des olives de table *Azzeradj* exercent une activité antibactérienne sur les trois souches cibles.

Le calibre 9 présente l'activité antibactérienne la plus élevée vis à vis des trois espèces étudiées et que cette activité est classée selon Pereira (2006) comme étant très forte. Aussi pour les trois calibres étudiés, la plus forte activité antibactérienne est notée vis à vis de *S.aureus*.

Les résultats montrent que pour *E. Coli* l'extrait méthanolique des olives au calibre 9 présente une très forte activité antibactérienne, suivis de l'extrait des olives au calibre 6 qui présente une activité antibactérienne élevée, tandis que l'extrait méthanolique des olives au calibre 13 présente une activité antibactérienne minimale.

Vis-à-vis de *P. aeruginosa* les extraits des olives aux trois calibres (6, 9 et 13) donnent une forte activité antibactérienne, avec des zones d'inhibitions différentes (9 mm  $\pm$  0,12, 11,2 mm  $\pm$  0,17, 9,6 mm  $\pm$  0,11 respectivement). Enfin vis-à-vis de *S. aureus* on observe les plus grandes zones d'inhibitions où les extraits des olives aux trois calibres (6, 9 et 13) enregistrent de très fortes activités antibactériennes avec des zones de (20,3 mm  $\pm$  0,21, 21,33 mm  $\pm$  0,23, 21,0 mm  $\pm$  0,1 respectivement).

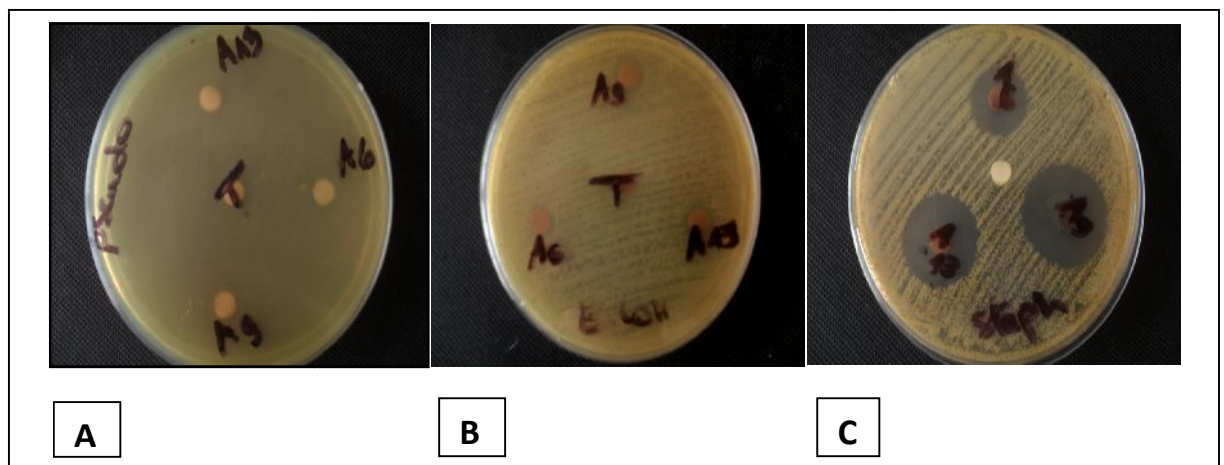
L'activité antibactérienne des olives de table est due à la nature des composés phénoliques présents dans les olives tels que l'hydrotyrosol et l'oleuropeine (**Bisignano et al., 1999 ; Furneri et al., 2004 ; Pereira et al., 2007**), flavonoïdes (**cushnie et Lamb, 2005 ; Alvarez et al., 2008**) *ortho*-diphénols (**Tripoli et al., 2005**), tyrosol, acide 5-O-caffeoilquinique, verbascoside, luteolin 7-O-glucoside, rutine, et lutéoline (**Pereira et al., 2006**) ceci peut expliquer la forte activité de l'extrait méthanolique des olives de table au calibre 9 qui est le plus riche en flavonoïdes et *O*-diphénols avec des teneurs de (6,14 mg EQ de quercitine /100g de MS, 342,54 mg EQ d'acide caféique/100g de MS respectivement).

La différence de l'activité antibactérienne entre les trois calibres (6, 9 et 13) est conséquente à la différence dans le contenu phénolique par le fait que cette activité dépende de la teneur en polyphénols (**Pereira et al., 2006 ; sousa et al., 2006**), où on observe une corrélation significative entre la teneur en polyphénols de nos extraits méthanoliques des trois calibres et l'activité antibactérienne vis-à-vis de *E.coli* ( $r=0,85$ ). Effectivement en terme de teneur en polyphénols, les olives au calibre 9 donnent la plus forte teneur (747,74 mg EQ d'acide gallique/100g), suivie de l'extrait méthanolique des olives au calibre 13 qui exerce l'activité la plus élevée sur *S.aureus* et *P.aeruginosa* par rapport à l'extrait méthanolique des olives au calibre 6, mais qui enregistre la plus faible teneur en polyphénols (587,38 mg EQ d'acide gallique /100g de MS), cela peut



être expliqué par le fait que l'activité antibactérienne dépende aussi de la nature de ces composés phénoliques (Pereira *et al.*, 2006). L'extrait des olives au calibre 13 étant plus riche en *Ortho*-diphenols (273,37 mg EQ d'acide caféique /100 MS contre 251,16 pour l'extrait des olives au calibre 6).

D'après Taguri *et al.* (2004), l'activité antibactérienne ne dépend pas uniquement des composés phénoliques mais aussi de l'espèce bactérienne (Athamena *et al.*, 2010). En effet, les composés phénoliques présents dans nos extraits exercent une meilleure activité à l'encontre de *S.aureus* (Gram positif). Cette résistance des Gram négatifs (*E.coli*) n'est pas surprenante car le périplasma de ces dernières est doté d'enzymes capables de détruire les molécules étrangères introduites de l'extérieur (Klančnik *et al.*, 2010), ce qui les rend généralement moins sensibles aux polyphénols que les Gram+ (Estevinho *et al.*, 2008 ; Šamec *et al.*, 2010).



**Figure 09** : l'activité antibactérienne des extraits des olives de table de la variété *Azzeradj* à différents calibres vis-à-vis *P.aeruginosa* (A), *E.coli* (B) et *S.aureus* (C).

\* calibre 6(A6), calibre 9 (A9) et calibre 13(A13)

Les résultats que nous avons obtenus, montrent l'efficacité de nos extraits en terme d'activité antibactérienne en comparaison aux résultats obtenus par Sousa *et al.* (2006) et Pereira *et al.* (2006) portant sur l'activité antibactérienne des olives de table des variétés *Alcaparra* et *Azeiteira*, *Carrasquenha* avec des teneurs en polyphénols de (323,90 12,24 mg/100g de MS). Pour lesquelles l'activité antibactérienne la plus élevée a été notée vis-à-vis d'*E.coli* avec des zones d'inhibition respectives de 6 à 9 mm

(*Alcaparra*) et supérieur à 9 mm (*Azeiteira, Carrasquenha*), aucune activité inhibitrice n'a été enregistrée à l'encontre de *P.aeruginosa*.

La plus grande performance de nos extraits revient à leur richesse en composés phénoliques. En effet, d'après ces auteurs, l'activité antimicrobienne étant directement dépendante de la teneur en polyphénols, ces derniers dépendant de la variété, du calibre, du stade de maturité, origine géographique et du traitement d'élaboration (**Amiot *et al.*, 1986 ; Benaib, 2009 ; Ghanbari *et al.*, 2012**).

On effet, on constate une corrélation significative entre le pouvoir réducteur en équivalant rutine et l'activité antibactérienne vis-à-vis de *P.aeruginosa* ( $r= 0,75$ ), ainsi qu'entre l'activité anti-radicalaire et l'activité antibactérienne vis-à-vis de *E.coli* ( $r=0,72$ ).

Reste à vérifier si les composés présents dans nos extraits méthanoliques des olives de table des trois calibres, responsables du pouvoir réducteur en équivalent rutine sont les mêmes responsables de l'activité antibactérienne vis-à-vis de *P.aeruginosa*, et ceux responsables de l'activité anti-radicalaire sont les mêmes responsables de l'activité antibactérienne vis-à-vis de *E.coli*.

*Références  
bibliographique*

## *Conclusion :*

La présente étude s'intéresse à l'évaluation de la qualité, l'activité antibactérienne, l'activité antioxydante, le pouvoir réducteur des composés phénoliques ; les *Ortho*-diphénols et les flavonoïdes des extraits méthanoliques des olives de table de la variété *Azzeradj* a différents calibres.

Les résultats obtenus révèlent que la teneur en antioxydants et l'activité antioxydante varient selon le calibre. Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux sont observées pour les calibres 6 et 9 (700,9 et 747,7 mg/100g de MS) respectivement, par ailleurs on note que la teneur en polyphénols totaux est inversement proportionnel au calibre.

Concernant les flavonoïdes, la teneur la plus élevée est observé pour les olives au calibre 9 (6,14 mg/100 g de MS), et pour les *Ortho*-diphénols les résultats des dosages ont montré que la teneur la plus élevée est enregistré pour les olives au calibre 9 ( 342,54 mg/100 g de MS) et la plus faible (251,16 mg/100g de MS) pour les olives au calibre 6. Donc la teneur en polyphénols totaux ne reflète pas toujours une quantité importante on *Ortho*-diphénols. L'estimation de l'activité antioxydante a révélé que la capacité réductrice de nos extraits méthanoliques en équivalent BHA est importante pour les trois calibres, et leurs capacité réductrice en équivalent rutine est beaucoup plus importante. Par ailleurs, l'aptitude la plus élevée est attribué pour les olives au calibre 9. Cette activité se trouve être corrélée significativement avec la teneur en *Ortho*-diphénols ( $r=0,93$ ) et en flavonoïdes ( $r=0,71$ ). Ces résultats montrent que le choix du standard est important dans l'évaluation de l'activité antioxydante.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire a montré que la plus forte activité est enregistrée pour les extraits méthanoliques des olives au calibre 9 (4,94 mg EQ acide gallique/100g de MS) avec un  $EC_{50}$  de 0,4 $\mu$ g/ml. Comme en remarque l'existence d'une corrélation significative entre les flavonoïdes ( $r=0,81$ ), les *Ortho*-diphénols ( $r=0,88$ ) et l'activité anti-radicalaire.

La corrélation est significative entre le pouvoir réducteur (EQ rutine) et l'activité anti-radicalaire ( $r= 0,91$ ). Ce qui atteste que ces deux méthodes sont compatibles pour l'étude du pouvoir antioxydant des olives de table de la variété *Azzeradj*.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques des olives de variétés *Azzeradj* sur milieu gélosé a révélé la présence de zones d'inhibition à l'égard des souches bactériennes testées (*S. aureus*, *E.coli*, *P.aeroginos*). *S. aureus* s'est avéré la souche la plus sensible et *E.coli* la moins sensible. La plus grande activité est exercée par les extraits

méthanoliques des olives de table au calibre 9, et la plus forte activité antibactérienne est exercée à l'égard de *S.aureus* (21.33 mm±0,23), et l'activité la plus faible à l'égard d'*E.coli* (9 mm±0,1). D'après nos résultats il ressort que le calibre du fruit est un facteur à prendre en considération lors de l'élaboration des olives de table et que la différence en capacité antioxydante et antibactérienne ne dépend pas de l'aspect quantitatif du contenu phénolique mais bien de l'aspect qualitatif, lui même dépendant de plusieurs facteurs, parmi les quels le calibre.

Les résultats obtenus dénotent que les olives de table peuvent constituer une bonne source d'antioxydants, particulièrement des composés phénoliques, suggérant que leur consommation pourrait être utile dans la prévention des maladies dans lesquelles des radicaux libres sont impliqués. En outre, les extraits d'olives de table peuvent être appliquée en tant qu'agents antimicrobiens contre des bactéries responsables des infections humaines (gastro-intestinale et respiratoire). Cependant, et malgré leur importance, ces résultats restent partiels et d'autres travaux s'imposent, car les approches sont restées globales en ne prenant en compte que l'ensemble des composés présents dans les extraits. Donc dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- Tester les différents composés individuellement en faisant appel à des tests in vivo Complémentaires qui permettraient une meilleure évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des polyphénols de l'olive de table.
- D'optimiser la préparation des olives de table pour chaque calibre (concentration de soude et du sel) ;
- De procéder à l'analyse sensorielle qui est importante dans l'évaluation de la qualité des olives de table, et du degré d'acceptabilité par le consommateur.

*Références  
bibliographique*

## Références bibliographiques

### A

**Alvarez M.A., Debattista N.B. and Pappano N.B. 2008.** Antimicrobial activity and synergism of some substituted flavonoids. *Folia Microbiol*, 53(1): 23-28.

**Amiot M.J., Fleuriet A. and Macheix J.J. 1986.** Importance and Evolution of Phenolic compounds in Olive during Growth and Maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34: 823-826

**Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S. and Khebri S. 2010.** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11(1): 69.

**Athamena S. 2009.** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique.

**Attya M., Benabdelkamel H., Perri E., Russo A. and Sindona G. 2010.** Effects of Conventional Heating on the Stability of Major Olive Oil Phenolic Compounds by Tandem Mass Spectrometry and Isotope Dilution Assay. *molecules*. ISSN 1420-3049.

**Ayranci E. and Erkan N. 2013.** Radical Scavenging Capacity of Methanolic *Phillyrea latifolia* L. Extract: Anthocyanin and Phenolic Acids Composition of Fruits. ISSN 1420-3049.

### B

**Balasundram N., Sundram K. and Samman S. 2006.** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.

**Bautista-Gallego J., Arroyo-López F.N., Durán - Quintana M.C., Garrido-Fernández A. 2010.** Profils de fermentations de manzanille- alorena cassées en olives vertes dans différentes solutions de chlorures de sel. *Food Microbiology*, 27(3): 403-412.

**Benlemlih M., Ghanam J., 2012.** Polyphenols d'huile d'olive. Tresors santé. ISBN 978-2-87211-117-6.

**Benabid H. 2009.** Caractérisation de l'huile d'olive algérienne apports des méthodes chimiques. Thèse de doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine.

**Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Gómez-Caravaca A., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. and Lercker G. 2007.** Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade . ISSN 1420-3049.

**Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N. and Saija A. 1999.** Activité antimicrobienne in vitro de l'oleuropeine et de l'hydroxytyrosol. *Pharmacology*, 51(8): 971-4.

**Borzillo A ; Iannota N ; Uccella N. 2000.** Oinotiria table olive : Quality evaluation during repening and processing by biomolecular components : European Food Research and Technologie.

**Boskou G., Salta F.N., Chrysostomou S., Mylona A., Chiou A. and Andrikopoulos N.K. 2006.** Antioxydant capacity and Phenolics profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry*, 94: 558- 564.

**Boskou D. 2006.** Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 505–512.

**Bubonja-Sonje M., Giacometti J., Abram M. 2011.** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127: 1821–1827.

## C

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



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

**Chebaibi A., Rhazi filali f., Lahlou amine i., Chahlaoui a., and l' kassmi h.2007.** Etude de l'activité antimicrobienne des feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L.). *Biochimie, Substance Naturelle et Environnement* :452-455.

**Chemonics International, Inc .2007.**Guide de bonnes pratiques de fabrication des olives de table.

**Cicerale S., Lucas L. and Keast R (2010).** Biological Activities of Phenolic Compounds Present in Virgin Olive Oil. *International Journal of Molecular Sciences*.ISSN 1422-0067.

**Codex Stan.1981.**Norme codex pour les olives de table. Codex Stan 66-1981 .

**Conseil oléicole international .2004.**Norme commerciale applicable aux olives de table.

**Conseil oléicole international .2005.** Olive Oil and Cardiovascular Diseases

**Conseil oléicole international .2012.**Marché mondial des olives de table.

**Conseil oléicole international .2013.**Elaboration des olives de table.

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

**Cushnie T.P. T., Lamb A. J. 2005.** Antimicrobial activity of flavonoids *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343–356.

## D

**Delgado A., Laurent A., Peres C., Brito D. 2009.** Amélioration de la qualité des olives de table par le contrôle du processus fermentaire, tout en réduisant les risques d'altérations.

**Denis F., Ploy N-C., Martin C. and Bingen E. 2007.** Instauration et surveillance d'un traitement d'antibiotique in *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. ED. Masson: 543-554.

**Duriez J.M. 2004.** Code des bonnes pratiques loyales pour les olives de table. Association Française Interprofessionnelle de l'Olive pour la Fédération de l'Olive (France) : 1-39.

**E**

**El khaloui M., and Nouri A. 2007.** Procédé d'élaboration des olives de table à base des variétés *Picholine* Marocaine et *Dahbia*. Transfert de Technologie en Agriculture, 152 : 1- 4.

**Estevinho L., Pereira A. P., Moreira, L., Dias L. G. and Pereira E. 2008.** Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. Food and Chemical Toxicology, 46: 3774–3779.

**F**

**Fernandez-Orozco R., Roca M., Gandul-Rojas B., Gallardo-Guerrero L. 2011.** DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv. Arbequina) during ripening. Journal of Food Composition and Analysis, 24: 858–864.

**Fitó M., Covas M. I., Lamuela-Raventós R. M., Vila J., Torrents J., Torre C. and Marrugat J. 2000.** Protective Effect of Olive Oil and Its Phenolic Compounds Against Low Density Lipoprotein Oxidation. Lipids, 35: 6.

**Furneri P.M., Piperno A., Saija A. and Bisignano G. 2004.** Antimycoplasmal Activity of Hydroxytyrosol. Antimicrobial agents and chemotherapy, 48(12): 4892–4894.

**Furneri P.M., Marino A., Saija A., Uccella N., Bisignano G. 2002.** In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. International Journal of Antimicrobial Agents, 20 :293- 296.

**G**

**GallegoB., Arroyo-López J.F.N, Durán - Quintana M .C., Garrido-Fernández A., 2010.** Profils de fermentations de manzanille- alorena cassées en olives vertes dans différentes solutions de chlorures de sel. Food Microbiology, 27(3): 403-412.

**Ghanbari R., Anwar F., Alkharfy K. M., Gilani A. and Saari N . 2012.** Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.). International Journal of Molecular Sciences. ISSN 1422-0067.

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

**Gilles G.2002.** Obtention d'une huile d'olive vierge extra de hautes qualités nutritionnelles et organoleptiques.

## H

**Helme J., Chazan J., Perrin J.2004.** Les antioxydants. Marie-Claude Martini, ISBN : 2-7430-0191-7 .Pages 337 à 352 . utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

**Hennebelle T., Sahpaz S. and Bailleul F.2004. Hodge .A. M., Dallas R. English, Margar et R.E. McCredie, Gianluca Severi, Peter Boyle, John L. Hopper& Graham G. Giles(2004).** Polyphénols végétaux, sources. *Foods nutrients and prostate cancer. Cancer Causes and Control*, 15: 11–20.

## J

**Jawetz E., Melnick J.L. and Adelberg E.A. 1973.** Chimiothérapie antimicrobienne in *Microbiologie médicale*. Les Presses université de Laval : 136-162.

## K

**Kahouli I.2010.** Effet antioxydant d'extraits de plantes (*laurus nobilis*.l. *rosmarinus officinalis*, *origanum majorana*, *oléa europea* L.) Dans l'huile de canola chauffée.Memoire. Université Laval: 10-40.

**Kailis S.G. and Harris D.2007.**Producing table olives.ISBN.978-0-643092-03-7.

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

**Klančnik A., Piskernik S., Jeršek B. and Možina S. S. 2010.** Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81: 121–126.

## L

**Lecerf J.M., Luc G. and Fruchart J.C.1994.** Vitamine E, antioxydants et athérosclorose . *Rev Mid Interne*, 15: 641-649.

**Lee J., Koo N. and Min D.B. 2004.** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 21-33.

## M

**Malik N.S.A. and Bradford J.M. 2006.** Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in “*Arbequina*” olives. *Scientia Horticulturae*, 110: 274- 278.

**Malheiro R., Sousa A., Casal S., Bento A. and Pereira J. A. 2011.** Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned table olives. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 450–457.

**Maldonado M.B., Zuritz C.A. and Assof M.V. 2008.** Diffusion of glucose and sodiumchloride in green olives during curing as affected by lye treatment. *Journal of Food Engineering*, 84: 224–230.

**McDonald S., Prenzler P.D., Antolovich M. and Robards K. 2001.** Phenolic content and antioxydant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73: 73- 84.

**Medina E., Gori C., Servili M., De Castro A., Romero C., Brenes M. 2010.** Confiserie des olives de table .*International Journal of Food Science & Technology*, 45 (6): 1291-1296.

**Molyneux P. 2004** .The use of the stable free radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity .*Songklanakarinn* . *Journal of science Technology* 26(2): 211-219.

**Mohamad Shofian N., Abdul Hamid A., Osman A., Saari N., Anwar F., Pak Dek M. and Hairuddin M. 2011.**Effect of Freeze-Drying on the Antioxidant Compounds and Antioxidant Activity of Selected Tropical Fruits. International Journal of Molecular Sciences. ISSN 1422-0067.

## N

**Nève J. 2002.** Nutrition et stress oxydant .Modulation de l’apport alimentaire en antioxydants Optimisation of dietary intake of antioxydants. Nutrition clinique et metabolism, 16: 292–300.

**Negrao R. and Faria A. 2009.** Natural Polyphenols as Anti-Oxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Agents in the Metabolic Syndrome. R. Soares, C. Costa (eds.), *Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis in the Metabolic Syndrome*, DOI 10.1007/978-1-4020-9701-08: 148-170.

**Nkhili E . 2009.** Polyphénols de l’Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse en co-tutelle. Université cad- Ayyad - Faculté des Sciences Semlalia – Marrakech : 250-270.

## O

**Oliveras-L’opez M.J., Innocenti M., Giaccherini C., Ieri F., Romani A. and Mulinac N. 2007.** Study of the phenolic composition of spanish and italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids.Talanta, 73: 726–732.

**Ozdemir M. 1997.** Table olive fermentation.Okyanus Danismanlik: 1-9.

## P

**Paschino F., Caria M., Gambella F. 2010.** The Harvest of Table Olives from the Plant by Means of an Hand Harvester. International Conference Ragusa SHWA.Ragusa Ibla Campus-Italy “Work Safety and Risk Prevention in Agro - food and Forest Systems.

**Pelli K. and Lyly M. 2000.** Les antioxydants dans l'alimentation. *VTT Biotechnology* Finlande. ISBN : 2-7380-1069-5.

**Pereira A., Ferreira I., Marcelino F., Valentão P., Andrade P., Seabra R., Estevinho L., Bento A. and Pereira J.A. 2007.** Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive(*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules*. ISSN 1420-3049.

**Pereira J.A., Pereira A., Ferreira I., Valentão P., Andrade P., Seabra R., Estevinho L., Bento A. 2006.** Table Olives from Portugal: Phenolic Compounds, Antioxidant Potential, and Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem*, 54: 8425–8431 8425.

**Pincemail J., Defraigne J.O., Meurisse M. and Limet R. 1998a.** Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires, 3ème partie: caroténoïdes et vitamine A. *Medi Sphère*, 98: 1-4.

**Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. ISSN 1313-8871.

## R

**Ribereau-Gayon P. 1968.** Les composés phénoliques des végétaux Ed. Dunod : 173-201.

**Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P. and Glover W. 1999.** Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.

**Rodríguez H., Curiel J.A., Landete J.M., de las Rivas B., López de Felipe F., Gómez-Cordovés C., Mancheño J.M. and Muñoz R. 2009.** Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132: 79-90.

**Roche M., Dufour C., Mora N. and Dangles O. 2004.** Antioxidant activity of olive phenols: mechanistic investigation and characterization of oxidation products by mass spectrometry. UMR A 408 INRA.

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

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

**Ryan D. and Robards K. 1998.** Phenolic compounds in olives, 123: 31R–44R.

## S

**Sakouhi F., Harrabi S., Absalon C., Sbei K., Boukhchina S. and Kallel H. 2008.**  $\alpha$ -Tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives (*Olea europaea* L.): changes in their composition during ripening and processing. Food Chemistry, 108: 833–839.

**Šamec D., Gruz J., Strnad M., Kremer D. Kosalec I. Jurišić Grubešić R., Karlović K., Lucić A. and Piljac-Zegarac J. 2010.** Antioxidant and antimicrobial properties of *Teucrium arduini* L. (Lamiaceae) flower and leaf infusions (*Teucrium arduini* L. Antioxidant capacity). Food and Chemical Toxicology, 48: 113–119.

**Savarese M., De Marco E. and Sacchi R. 2007.** Characterization of phenolic extracts from olives (*Olea europaea* cv. Pisciotana) by electrospray ionization mass spectrometry. Food Chemistry, 105: 761–770.

**Sher A. 2009.** Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. Gomal Journal of Medical Sciences, 7(1):72-78.

**Soares R. and Costa C. 2009.** Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis in the Metabolic Syndrome, DOI 10.1007/978-1-4020-9701-08.

**Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Calhella R., Andrade P.B., Valentao P., Seabra R., Estevinho L., Bento A. and Pereira J.A. 2006.** Phenolics and antimicrobial activity of

traditional stoned table olives *alcaparra*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14: 8533-8538.

**Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A. and Alberto Pereira J. 2007.** Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives“*Alcaparras*”. *LWT, Food Science and Technology*, 41: 739-745.

**Sousa A., Casal S., Bento A., Malheiro R., Oliveira M. and Pereira J. A .2011.** Chemical Characterization of “Alcaparras” Stoned Table Olives from Northeast Portugal. *molecules* .ISSN 1420-3049.

## T

**Taguri T., Tanaka T. and Kouno I.2004.**Antibacterial spectrum of plant polyphénols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biology Pharmacology Bulltin*, 29(11): 2226-2235.

**Toor R. and Savage G.P. 2003.**Antioxydant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International*, 3: 487-494.

**TovarJ., Romero P., Girona J. and Motilva M. J. 2002.** L-phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olives *Olea europaea*L. Cv Arbequina fruit grown under different irrigation regimes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 892-898.

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

**Tsimidou M.1998.** Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Italian Journal of Food Science*, 10(2): 99- 112.

## U

**Uccella N. 2001.** Olive biophenols: Fonctional effects on human wellbeing. *Trends in Food Science and Technology*, 11: 328- 339.



V

**Veillet S. 2010.** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. These de Doctorat. Academie d'aix-marseille. Universite d'avignon et des pays de vaucluse ed 306 – sciences des procédés – sciences des aliments : 21-60.

**Vinha A.F., Ferreres F., Silva B.M., Valentao P., Gonçalves a., Pereira J.A. and oliveira M.B seabra R.M. and Andrade P.B. 2005.** Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea*): Influence of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, 89: 561-568.

W

**Warleta F., Sánchez Quesada C., Campos M., Allouche Y., Beltrán G. and Gaforio J.J. 2011.** Hydroxytyrosol Protects against Oxidative DNA Damage in Human Breast Cells. *nutrients* .ISSN 2072-6643.

**Wu D., Kong Y., Han C., Chen J., Hu L., Jiang H. and Shen X. 2008.** D-Alanine:d-alanine ligase as a new target for the flavonoids quercetin and apigenin. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32(5): 421-426.

Y

**yousfi H., tahri H., El Amrani A. and serghini.caid H. 2007.** Etude de l'effet antioxydant de anthocyanes de l'olive, du raisin rouge, du chou rouge et de la fraise.

Z

**Zhan Y., Hong-Dong C. and yaoY-J. 2006.** Antioxydant activities of aqueous extract from cultivated fruit-bodies of *Cordyceps militaris* (L.) Link *in vitro*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(11): 1365- 1370.

# *Glossaire*

# *Glossaire*

**Athérosclérose** : Epaissement de la paroi intérieure des artères.

**Maladies cardio-vasculaires** : sont les maladies qui concernent le cœur et la circulation sanguine.

**Diabète de type 2** : diabète non insulino-dépendant, que l'on nomme également diabète gras ou diabète de la maturité.

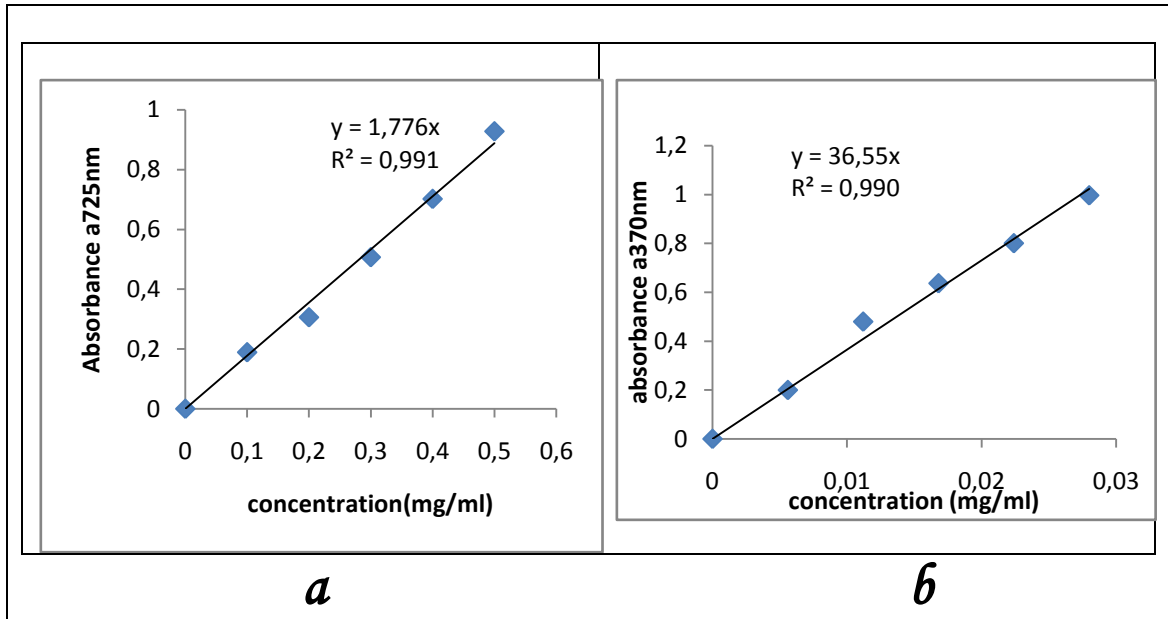
**Un cancer** : est une pathologie caractérisée par la présence d'une (ou de plusieurs) tumeur maligne formée à partir de la transformation par mutations ou instabilité génétique (anomalies cytogénétiques), d'une cellule initialement normale.

**Inflammation** : réaction localisée d'un tissu, consécutive à une agression.

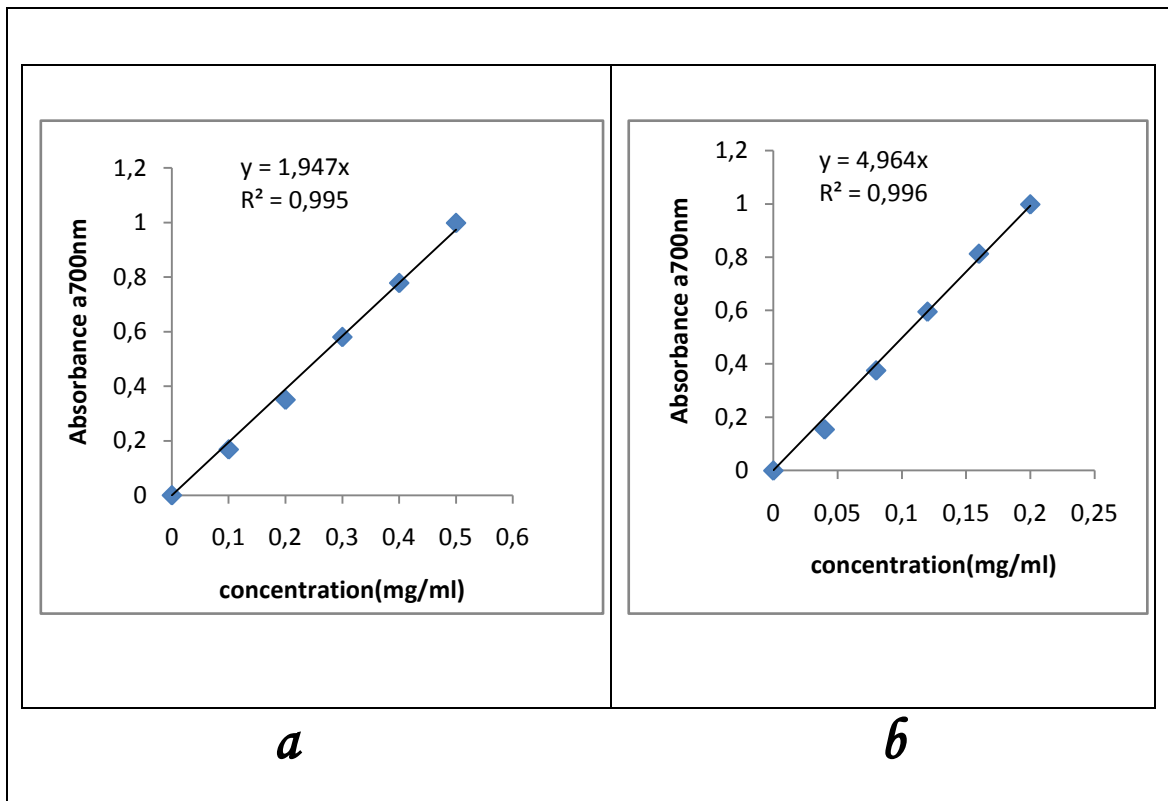
**Alambrado** : Apparition de poches de gaz sous la peau de l'olive.

**Zapateria** : Modifications organoleptiques dues au développement des bactéries.

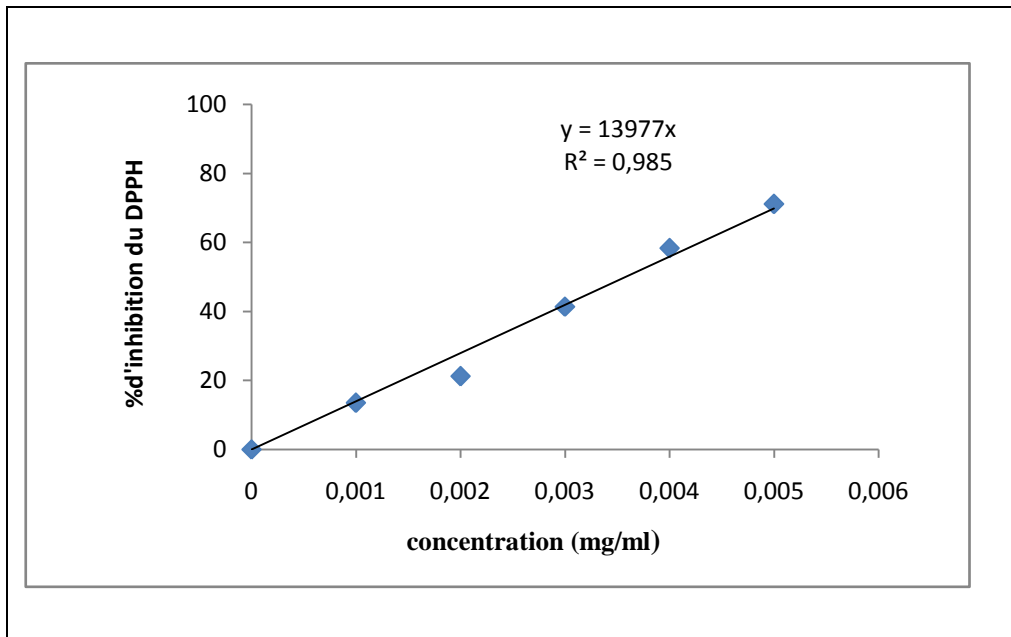
# *Annexes*



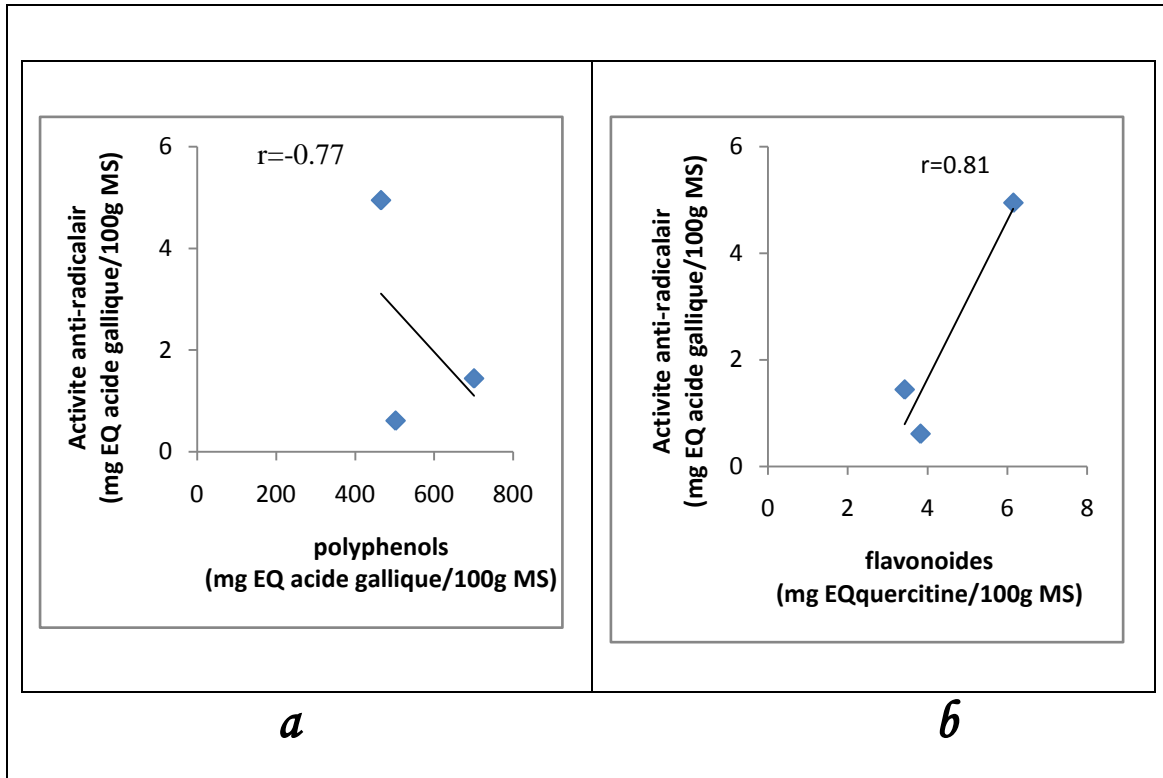
**Figure 01:** Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques(a) et avec l'acide caféique pour le dosage des *Ortho*-diphénols(b).



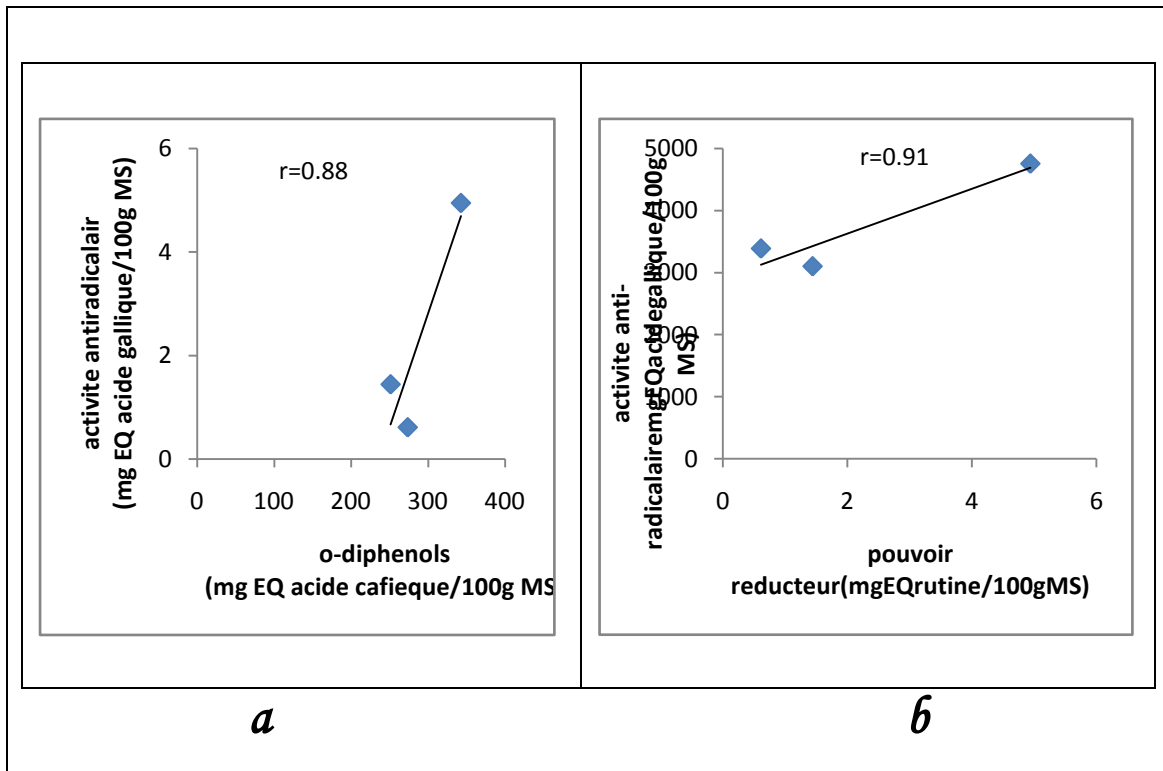
**Figure 02:** Courbe d'équivalence rutin (a), BHA(b) pour le pouvoir réducteur.



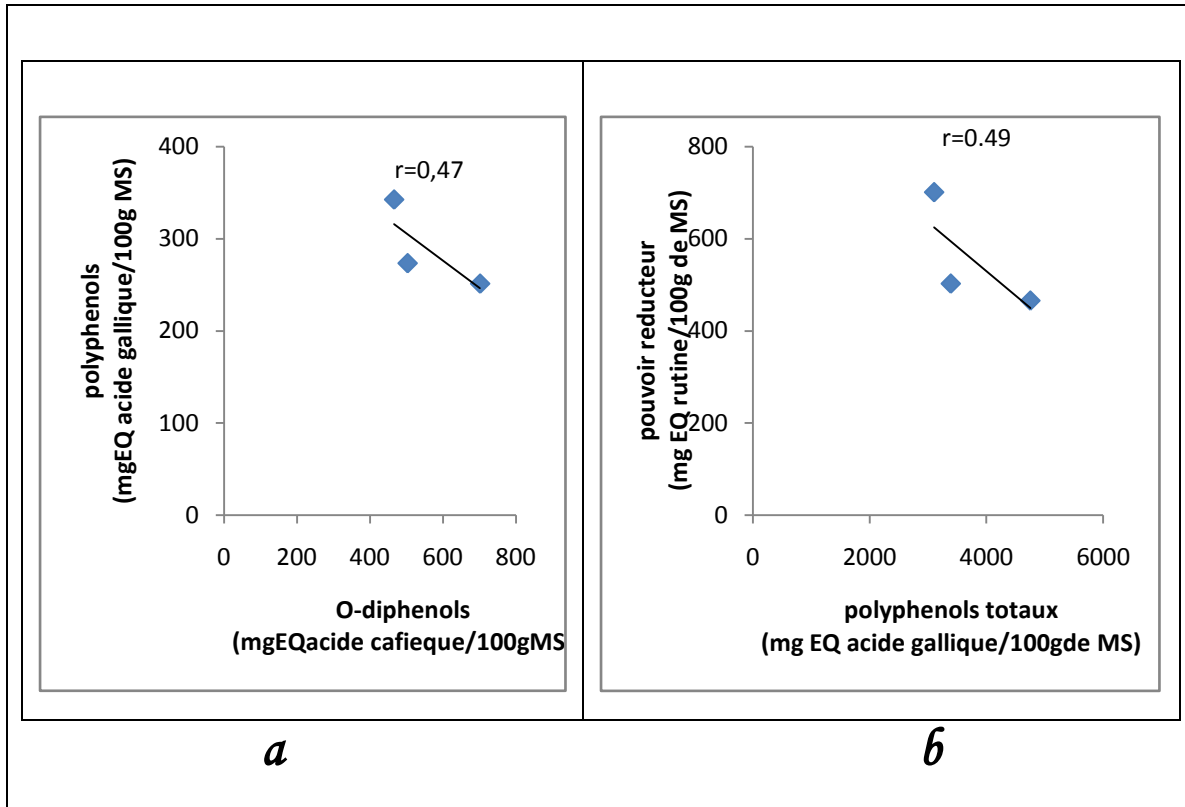
**Figure 03 :** Courbe d'équivalence acide gallique pour l'activité antiradicalaire.



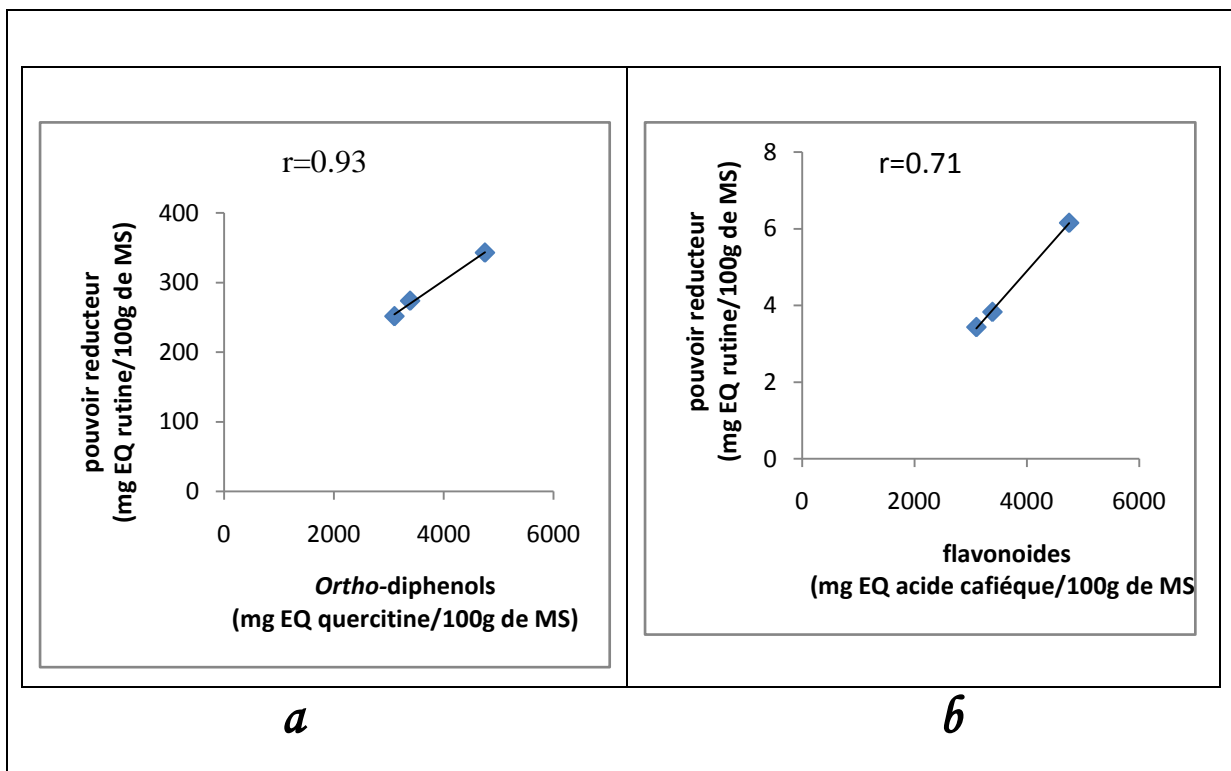
**Figure 03:** Corrélation entre les polyphénols totaux(a), les flavonoïdes(b) et l'activité anti-radicalaire.



**Figure 04:** Corrélation entre les O-diphénols(a), pouvoir réducteur (b) et l'activité anti-radicalaire.

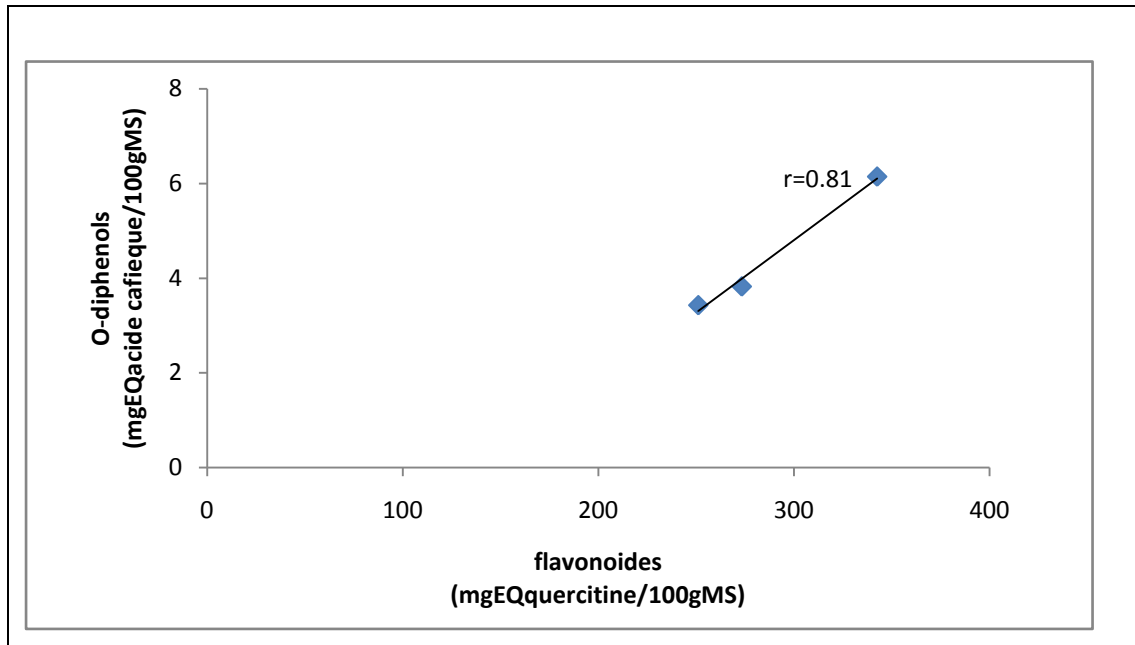


**Figure 05:** Corrélation entre les *Ortho*-diphenols(a), le pouvoir réducteur EQ BHA(b) et les polyphénols totaux.

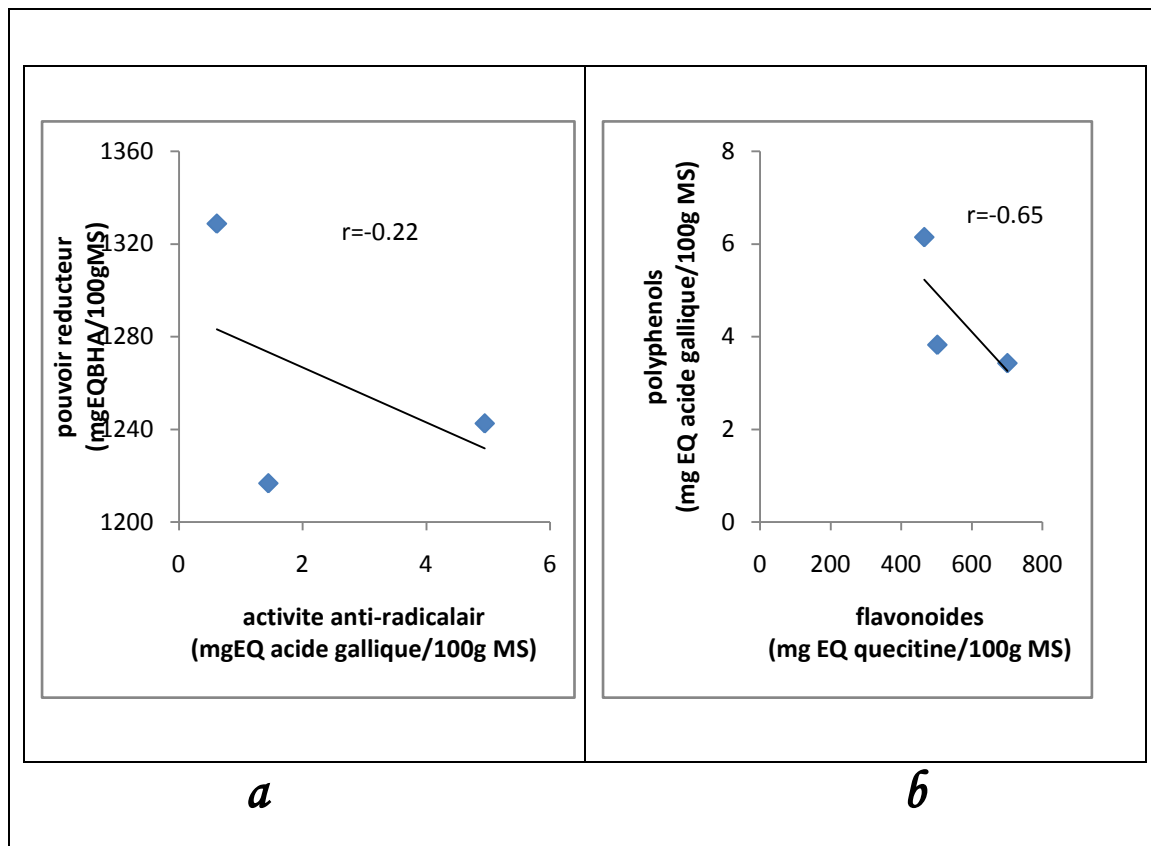


**Figure 06 :** Corrélation entre le pouvoir réducteur EQ rutine et les *Ortho*-diphenols(a), et les flavonoïdes (b)





**Figure 07:** Corrélation entre les flavonoïdes et les *Ortho*-diphenols.



**Figure 08 :** Corrélation entre l'activité anti-radicalaire et le pouvoir réducteur EQ BHA(a), les flavonoïdes et les polyphénols totaux(b).

**Tableau I:** Matrice de corrélation.

	Polyphenols totaux	<i>Ortho</i> -diphenols	Flavonoïdes	Pouvoir réducteur (BHA)	Pouvoir réducteur (Rutine)	Activité anti radicalaire (DPPH)
Polyphenols totaux	1,00					
<i>Ortho</i> -diphenols	0,47	1,00				
Flavonoïdes	0,65	<b>0,81</b>	1,00			
Pouvoir réducteur (BHA)	-0,56	-0,02	-0,34	1,00		
Pouvoir réducteur (Rutine)	0,49	<b>0,93</b>	<b>0,71</b>	0,17	1,00	
Activité anti radicalaire (DPPH)	<b>0,77</b>	<b>0,88</b>	<b>0,81</b>	-0,22	<b>0,91</b>	1,00

\* Les valeurs en rouge indiquent une corrélation significative ( $p \leq 0,05$ ).

**Tableau II :** Corrélations.

Paramètres Espèces	Polyphenols totaux	Flavonoïdes	<i>Ortho</i> -diphenols	Pouvoir réducteur (Rutine)	Pouvoir réducteur (BHA)	Activité anti radicalaire (DPPH)
<i>E.coli.</i>	<b>0,85</b>	0,38	0,38	0,52	-0,30	<b>0,72</b>
<i>P.aeruginosa.</i>	0,05	0,42	0,59	<b>0,75</b>	0,43	0,54
<i>S.aureus.</i>	0,08	0,40	0,04	0,10	-0,07	0,12

\*Les valeurs en rouge indiquent une corrélation significative ( $p \leq 0,05$ ).

## Composition des milieux de culture

### ✓ Gélose Mueller Hinton (milieu de culture déshydraté)

Extrait de viande : 2g, hydrolysate acide de caséine : 17,5g, amidon : 1,5g, agar : 10g, eau distillée : 1litre, pH=7,4.

### ✓ Gélose Chapman

Extrait de viande : 1g, chlorure de sodium : 75g, peptone : 10g, agar : 15g, mannitol : 10g, rouge de phénol : 0,025g, eau distillée : 1litre, ph=7,4.

### ✓ Gélose Hektoen

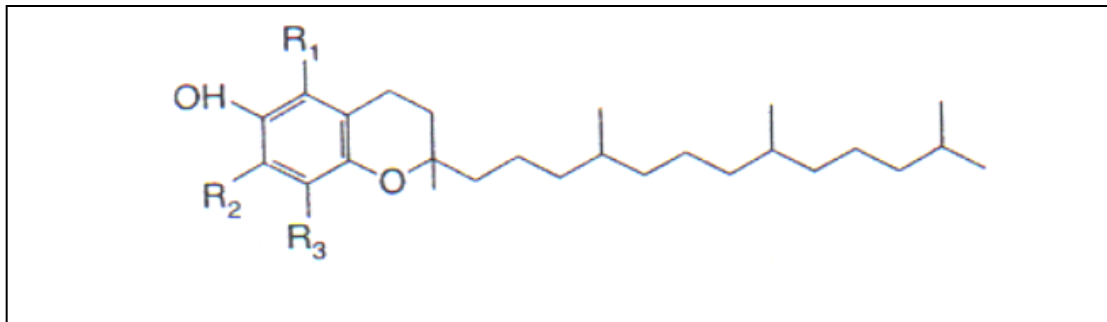
Protéose-peptone: 12,0 g, extrait de levure : 3,0 g, lactose ; 12,0 g, saccharose : 12,0 g, salicine : 2,0 g, citrate de fer III et d'ammonium : 1,5 g, sels biliaires : 9,0 g, fuchsine acide : 0,1 g, bleu de bromothymol : 0,065 g, chlorure de sodium : 5,0 g, thiosulfate de sodium : 5,0 g, agar 14,0 g, pH = 7,6.

### ✓ Milieu PCA (Plate Count Agar)

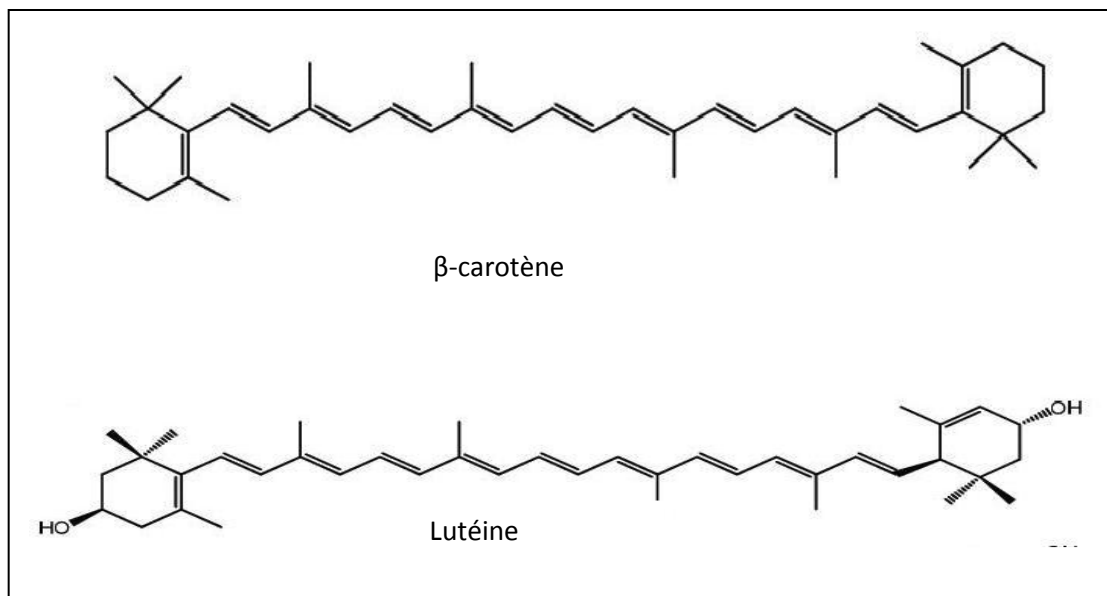
Peptone : 5g, extrait de levure : 2,5g, glucose : 1g, agar : 15g, eau distillée : 1litre, ph : 7.

**Tableau I:** Quelques caractères bactériologiques et pouvoir pathogène des souches bactériennes étudiées

Souches	Caractères bactériologiques	Pouvoir pathogène
<i>S. aureus</i>	Cocci à Gram+ en amas, paires, aéroanaérobie	Peut être à l'origine de toxi-infections alimentaires, entérocolites aiguës, syndrome de choc toxique, d'infection cutanées, sous-cutanées, muqueuses, de septicémies, staphylococcies osseuses, pleuropulmonaires, urogénitales, neuroméningées et l'endocardite staphylococcique
<i>P. aeruginosa</i>	Bacille à Gram-, aérobie stricte, production de pyocyanine et de pyoverdine	Pathogène opportuniste, provoque des infections pulmonaires, urinaires, ostéo-articulaires, oculaires, O.R.L., méningées, cutanées, bactériémies, entérites à bacille pyocyanique et des endocardites.
<i>E. coli</i>	Coccobacille à Gram-, Aéroanaérobie	espèce commensale du tube digestif de l'Homme et des animaux, responsable des infections intestinales et extra-intestinales (infections urinaires, méningites néo-natales, suppurations diverses).



**Figure 1 :** Structure chimique de la vitamine E (Lee *et al.*, 2004).



**Figure 2 :** Structure chimique de quelques caroténoïdes (Pincemail *et al.*, 1998)

## **Résumé :**

Cette étude a pour objectif la détermination de l'effet du calibre (6,9 et 13) sur l'activité biologique (activité antioxydante et antibactérienne) des olives de table vertes de la variété "Azzeradj". Les résultats obtenus montrent que la teneur en polyphénols totaux est inversement proportionnelle au calibre, les teneurs les plus élevées sont notées pour le calibre 6 et 9 (700,9 et 747,7mg EQ d'acide gallique /100g de MS) respectivement. Pour les ortho-diphénols et les flavonoïdes les teneurs les plus élevées sont enregistrées pour le calibre 9 (342,54mg EQ d'acide caféique /100g de MS et 6,14mg de quercitine /100g de MS) respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante montre que les olives au calibre 9 exercent la plus forte activité réductrice (1242,54 EQ de BHA et 4751,92 EQ de rutine/100g de MS), et la plus forte l'activité anti-radicalaire (4,94 EQ d'acide gallique /100g de MS) soit d'une EC<sub>50</sub> de 0,04µg/ml. L'activité antibactérienne à l'encontre de *S.aureus*, *E.coli* et *P.aeruginosa* révèle que cette dernière est influencée par la teneur en polyphénols totaux. Les olives au calibre 9 se placent encore en première position en termes d'efficacité inhibitrice, avec des zones d'inhibition de 21,33mm±0,23, 9mm±0,1et 11,2mm±0,17 respectivement, il ressort de ces résultats que les activités antioxydante et antibactérienne des olives de table de la variété *Azzeradj* sont influencées par le calibre et conditionnées par la teneur en *Ortho*-diphénols et en flavonoïdes.

**Mots clés :** olive de table, calibre, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antibactérienne.

## **Summary:**

This study aims to the determination of size impact on the biological activity (antioxidant and antibacterial activity) of green table olives variety (*Azzeradj*). The sizes 6, 9 and 13 were selected. The results obtained show that the concentration of polyphenols is inversely proportional to the size, the higher levels are noted for size 6 and 9 (700,9 and 747,7mg EQ of gallic acid EQ /100g of DM, respectively). For *ortho*-diphenols and flavonoids the higher amounts are recorded for size 9 (342,54mg cafeic acid EQ /100g of DM and 6,14mg quercitine EQ/100g of DM, respectively). The evaluation of the antioxidant activity shows that the olives with size 9 carry on the strongest reducing activity with (1242,54 BHA EQ and 4751,92 rutin EQ /100g of DM), and the radical-scavenging activity with (4,94 gallic acid EQ/100g of DM, so IC<sub>50</sub> of 0,4µg/ml). The antibacterial activity against *S.aureus*, *E.coli* and *P.aeruginosa* reveals that this activity is influenced by the levels of polyphenols. So the olives with size 9 are still placed in the first position in terms of inhibiting effectiveness, whit zones inhibition of 21, 33mm±0, 23, 9mm±0,1et 11, 2mm±0, 17 respectively. It comes out from these results that the antioxidant and antibacterial activities of table olives variety of *Azzeradj* are influenced by the size and conditioned by the content of *Ortho*-diphenols and flavonoids.

**Key words:** table olive, size, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity