

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique
Université Kasdi Merbah-Ouargla
Faculté des Sciences de la Nature Et de la Vie
Département des Sciences Biologiques



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Option : Microbiologie appliquée

Thème :

Etude rétrospective de l'effet synergique antibactérien des extraits phénoliques issus de l'eau de lavage des huiles oléicoles

Présentée par :

TOUATI ASSMA

BERDOUD AMINA

Soutenue :

Le 28 / 06 / 2021

Devant le jury :

Président :	CHOUANA Toufik	(MCB)	Univ. Kasdi Merbah, Ouargla
Promoteur:	OULD EL HADJ Mohamed Didi	(Prof.)	Univ. Kasdi Merbah, Ouargla
Co-Encadreur :	M ^{elle} HADRI Nassima	(Doc)	Univ. Kasdi Merbah, Ouargla
Examineur :	BALDI Nadia	(MCB)	Univ. Kasdi Merbah, Ouargla

Année Universitaire 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ وَالتِّينِ وَالزَّيْتُونِ ﴾

[سورة التين : ١]

L'olivier est l'un des arbres sacrés mentionnés dans les trois livres célestes. Y compris le Saint Coran, où Dieu Tout-Puissant a juré par elle dans sourate Al-Tin, et Dieu ne jure que par des grandes choses



"Là où l'olivier renonce, s'achève la Méditerranée" "Là où le soleil le permet, l'olivier s'implante et gagne du terrain"
(Duhamel)

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier, Dieu tout puissant ALLAH qui m'a guidé sur le chemin de la science et m'a aidé pour la réalisation de ce présent travail, il m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Au terme de ce travail :

*Je remercie très chaleureusement mon encadreur, **Mr OULD EL HADJ Mohamed Didi** professeur au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, pour avoir accepté d'encadrer.*

Je le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience et ses conseils, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire. Merci

*Aussi ce travail ne serait pas riche et n'aurait pas pu avoir la jour sans l'aide de M^{lle} **HADRI Nassima**. Maître assistante au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, je le remercie d'avoir accepté de Co-encadrer.*

Et je le remercie aussi pour son aide exceptionnel dans la pratique pendant toute la période, son soutien moral, ses encouragements aussi son ouverture d'esprit, ses conseils précieux et sa vision de la recherche scientifique.

*Mes remerciements vont à **Mr CHOUANA Toufik**, qui m'a fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.*

*Je tiens à remercier également **Madame BELDI Nadia**, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail, ainsi que pour son aide.*

Mon remerciement s'adresse également à tous mes professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Un merci tout spécial à ma famille qui a soutenu et contribué à la réalisation de ce travail.

Enfin, je tiens également à remercier tous ceux qui m'aidé de près ou de loin.



Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À mon père, la source de mon ambition, la source de mes efforts et à la lumière qui éclaire ma vie. A l'homme qui se sacrifie pour me voir réussir et qu'il n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse. En un jour pareil, aucun mot ne suffira pour te remercier de nous avoir inculqué la foi en Dieu, la conviction religieuse, la droiture, l'honnêteté et la modestie, jamais tu n'as failli à ton devoir. Ce travail est de toi et il te revient. Car je n'ai pu le réaliser qu'en pensant à l'amour que tu nous portes tous. Qu'ALLAH te protège et t'accorde Santé et longue Vie.

À ma mère, ma vie et mon bonheur, tout dans ma vie. A la femme qui m'a comblé de son amour et de sa tendresse. Aucun mot ni geste ne pourrait suffire pour te prouver l'amour que je te porte. Ma mère œuvrée pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, sache que ce modeste travail n'est que le fruit de toutes les valeurs que tu nous as inculqué, la rigueur, l'esprit de sacrifice, la solidarité, le respect du prochain. Reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Qu'ALLAH te protège et t'accorde Santé et longue Vie.

À mes frères, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

À toute ma famille et toute la promotion de la microbiologie



ASSMA



**Table des
matières**

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicace

Table des matières

Liste des abrviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapiter I.- les huiles d'olive

I.1.- Généralités sur l'olivier 4

I.1.1.- Histoires de la culture de l'olivier.....4

I.1.2.- Origine de l'oléiculture5

I.1.3.- Localisation géographique de la culture5

I.1.4.- Caractéristique morphologique et taxonomique de l'olivier6

I.1.5.- Description et origine botanique 11

I.1.6.- Distribution d'oléiculture dans le monde.....12

I.1.7.- Filière oléicole en Algérie..... 15

I.1.8.- Principales variétés d'oléiculture en Algérie16

I.2.- Huile d'olive..... 19

I.2.1.- Processus d'extraction d'huile d'olive..... 19

I.2.1.1.- Extraction sous pression ou discontinus.....20

I.2.1.2.- Extraction centrifuges ou continus20

I.2.2.- Sous-produits de l'oléicole21

I.2.2.1.- Grignons d'olive ou tourteaux d'olive23

I.2.2.1.- Eaux de lavage ou margines23

I.2.3.- Bénéficité de l'huile d'olive sur la santé.....24

I.3.- Eau de lavage..... 24

I.3.1.- Origine24

I.3.2.- Propriétés physico-chimiques25

I.3.2.1.- Fraction minérale.....25

I.3.2.2.- Fraction organique.....	25
I.3.3.- Caractéristiques microbiologiques.....	28
I.3.3.1.- Champignons.....	29
I.3.3.2.- Bactéries.....	29
I.3.4.- Effet des eaux de lavage sur le milieu environnemental.....	29

Chapiter II.- les composés phénoliques

<i>II.1.- Généralités.....</i>	<i>32</i>
II.1.1.- Composés phénoliques.....	33
II.1.2.- Biosynthèse.....	34
II.1.3.- Structure.....	34
II.1.4.- Classification des polyphénols.....	34
II.1.5.- Rôles et activité biologiques des composés phénoliques.....	36
II.1.5.1.- Rôles dans les aliments et les végétaux.....	36
II.1.5.2.- Activité biologique.....	38
<i>II.2.- Fraction des composés phénoliques de l'olivier et des eaux de lavage.....</i>	<i>40</i>
II.2.1.- De l'olivier.....	40
II.2.2.- Des eaux de lavage.....	44
<i>II.3.- Propriétés biologiques des polyphénols de l'olivier.....</i>	<i>45</i>
II.3.1.- Effet antimicrobien des polyphénols de l'olivier.....	46
II.3.2.- Effet antimicrobien des polyphénols des eaux de lavage.....	47

Partie Expérimentale

Chapiter III.- Matériel et Méthodes

<i>III.1.- Objectif de travail.....</i>	<i>50</i>
<i>III.2.- Echantillonnage.....</i>	<i>51</i>
<i>III.3.- Matériels et Méthodes.....</i>	<i>51</i>
<i>III.4.- Caractéristiques physico-chimiques des eaux de lavage.....</i>	<i>51</i>
III.4.1.- L'acidité.....	51
III.4.2.- Conductivité électrique.....	52
III.4.3.- Cendre (Matière minérale).....	53
III.4.4.- Teneur en matière sèche (MS).....	54
III.4.5.- Teneur en matière en suspension.....	55
<i>III.5.- Traitement des eaux de lavage.....</i>	<i>55</i>

III.5.1.- Acidification	56
III.5.2.- Délipidation	57
III.6.- Extraction des composés phénolique par acétate d'éthyle	57
III.7.- Dosage des polyphénols totaux	61
III.8.- Evaluation de l'activité antibactérienne.....	63
III.8.1.- Revivification des souches bactériennes	63
III.8.2.- Suspension bactérienne.....	65
III.8.3.- Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes	65
III.8.4.- Préparation des dilutions	66
III.8.5.- Préparation et dépôt des disques.....	66
III.8.6.- Incubation	67
III.8.7.- Lecture des résultats	67
III.9.- Détermination des paramètres d'inhibition : CMI, CMB	67
III.9.1.- Détermination de la CMI par la méthode de diffusion sur gélose.....	67
III.9.2.- Détermination de la CMI et la CMB par la méthode de micro-dilution.....	67
III.10.- L'effet synergique antibactérien des extraits phénoliques	69

Chapiter IV.- Résultats et interprétations

IV.1.- Caractéristiques physico-chimiques des eaux de lavage.....	70
IV.1.1.- Détermination du pH.....	70
IV.1.2.- Détermination de conductivité électrique	70
IV.1.3.- Détermination de la matière minérale (Cendre).....	71
IV.1.4.- Détermination de la matière sèche (MS).....	71
IV.1.5.- Détermination de la matière en suspension.....	71
IV.2.- Teneur en polyphénols totaux	72
IV.3.- Evaluation de l'activité antibactérienne	72
Conclusion	77
Références Bibliographies	79

Annexes

Résumé

Abstract

الملخص

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac.Gal	Acide Gallique	OPA	Orthophtalaldéhyde
ADN	Acide DésoxyriboNucléique	pH	Potentiel hydrogène
COI	Conseil Oléicole International	PT	Phénols Totaux
CP	Composés phénolique	UV	Ultraviolet
CPG	Chromatographie en phase gazeuse	t/mn	Tours par minutes
C	Carbone		
°C	Degré Celsius		
Da	Dalton		
FAO	Food and Agriculture Organization		
F-C	Folin-Ciocalteu		
GTA	Glutaraldéhyde		
HPLC	High-performance liquid chromatography		
HCL	Acide Chlorhydrique		
KDa	kilodalton		
MES	Matière en suspension		
MS	Matière sèche		
MM	Matière minérale		
mS/cm	Millisiemens par centimètre		
M-H	Mueller-Hilton		
µS/cm	Microsiemens par centimètre		
µm	Micromètre		
N	Normalité		
Na₂SO₄	sulfate de sodium anhydre		
Na₂CO₃	carbonate de sodium		
NaCl	Chlorure de Sodium		
ONU	L'Organisation des Nations unies		
OH	Oxyde d'hydrogène		

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
01.-	Taxonomique de l'olivier	11
02.-	Principales variétés d'olivier en Algérie	18
03.-	Teneur en CP des quelques végétaux utilisés ou consommés par l'Homme	36
04.-	Activité biologique des quelques CP	38
05.-	Principaux CP identifiés dans les différentes matrices de l'olivier (olives, grignons, margines et huile d'olive) et leurs poids moléculaire (Da)	40
06.-	Principaux biophénols présents dans les eaux de lavage des huiles oléicoles	43
07.-	L'effet antimicrobien des extraits phénoliques des produits et sous-produits d'olivier (olives, huiles d'olive et grignons d'olive)	46
08.-	Activité antimicrobienne des eaux de lavage brutes et leurs extraits phénoliques	48
09.-	Les absorbances à 725nm en fonction des concentrations d'acide gallique	59
10.-	Quelques caractéristiques des souches bactériennes testées	62
11.-	Les caractérisations physico-chimiques des eaux de lavage étudiée	70
12.-	Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique	72
12.-	CMI des différentes combinaisons utilisées contre <i>S. pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i> . Chaque puits contient ~10 ⁵ cfu. Les résultats ont été obtenus après incubation à 37°C pendant 24h	76

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
01.-	Arbre d'olivier (Dominique, 2011)	07
02.-	Tronc d'olivier (Dominique, 2011)	08
03.-	Feuilles d'olivier	09
04.-	Fleurs d'olivier (Dominique, 2011)	10
05.-	Fruits d'olivier (Mourida, 2014)	11
06.-	Carte du verger oléicole mondial (Géographie, l'olivier)	13
07.-	Les oliviers du monde (Géographie, l'olivier)	13
08.-	Pays producteurs et consommateurs d'huile d'olive dans le monde (Géographie, l'olivier)	14
09.-	Carte oléicole d'Algérie (ITAF, 2006)	16
10.-	Principaux processus d'extraction de l'huile d'olive (Aggoun-Arhab, 2016)	22
11.-	Valorisation des sous-produits oléicoles (Dermeche et al., 2013)	23
12.-	Conséquences environnementales des rejets des eau de lavage des huiles oléicoles dans la milieu naturel	30
13.-	Classification des composés phénoliques (Laouini, 2014)	34
14.-	Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002)	39
15.-	Diagramme représentant l'objectif de notre étude	49
16.-	Diagramme représentant l'extraction des composés phénoliques des eaux de lavage (Bourmed, 2011)	58
17.-	Diagramme représentant le dosage des polyphénols totaux des eaux de lavage (Bourmed, 2011)	61
18.-	Schéma résume le protocole de l'activité antimicrobienne (Abbassi et Touil, 2019)	69
19.-	Activité antimicrobienne de l'extrait phénolique vis-à-vis des souches testées (Larid et Elaichi, 2019)	74



Introduction

L'olivier (*Olea europaea L.*) est un arbre à dominante méditerranéenne, cultivé depuis l'Antiquité pour la production d'olives de table et d'huile d'olive. De plus, il constitue un type de fruit majeur, tant par le nombre de variétés cultivées, l'importance sociale et économique de sa culture que son rôle environnemental (**Breton et al., 2006 ; Gomes et al., 2012 ; COI, 2017**)

L'huile d'olive est extraite des fruits de l'olivier, qui est l'une des meilleures huiles comestibles. De toutes les graisses alimentaires, l'huile d'olive a occupé une place particulière dans les traditions culinaires de la région méditerranéenne dont elle a toujours été. De plus, ses propriétés avérées et potentielles lui ont valu une place centrale dans la recherche moderne en nutrition ces dernières années (**Uzzan et al., 1992 ; Benrachou et al., 2010**). La production d'olives pour l'huile d'olive était concentrée principalement dans les pays du bassin méditerranéen : Espagne, Italie, Grèce, Turquie, Syrie, Tunisie, Maroc et Portugal. Ainsi, l'Algérie se classe au neuvième rang mondial après ces pays (**Benyahia et Zein, 2003 ; Boudissa, 2012**). Il est un pur jus de fruit et la seule huile qui ne soit pas obtenue par solvants ou par procédés chimiques mais seulement par des procédés mécaniques à l'état vierge (**Uzzan et al., 1992**). Cette façon de l'obtenir garantit que toutes les vitamines et les substances définissant le goût et qui étaient présentes dans le fruit, se retrouveront intactes dans l'huile (**Mahdi, 2016**).

Pour la production d'huile d'olive, les fruits sont récoltés de l'arbre à partir du mois de novembre, broyés puis malaxés pour augmenter le rendement en huile libérée. L'extraction de l'huile de la pâte d'olives peut s'effectuer selon différents processus : discontinu à presse, continu à trois phases et continu à deux phases (**Klen et Vodopivec, 2012**). Trois différents produits et sous-produits sont générés pour les deux premiers processus (huile d'olive, grignons et eaux de lavage/ margines) et seulement deux (huile d'olive et grignons humides) avec le système à deux phases. Même s'ils sont moins écologiques et génèrent de grandes quantités d'eau de lavage (**Benhayoun et Lazzeri, 2007**), le système de décantation à trois phases implique l'addition de grande quantité d'eau qui entraînant une large production mondiale des eaux de lavage (**Borja et al., 1997 ; Casa et al., 2003**). Les procédés traditionnels et industriels de fabrication de l'huile d'olive (**El Hadrami et al., 2004**), En plus de sa production principale (huile d'olive vierge et huile de grignons) l'industrie oléicole génère deux résidus, l'un liquide (les eaux de lavage) et l'autre solide (les grignons) (**Achak et al., 2008**). Les pays producteurs d'huile sont confrontés à la problématique de l'élimination de leurs eaux de lavage (**Benyahia et Zein, 2003**). Ces

dernières sont habituellement déchargées dans des conditions non adaptées ou directement dans des terres agricoles (**El Hadrami et al., 2004**), ce qui peut avoir un grand impact environnemental sur le sol et sur l'eau en raison de leur forte phytotoxicité (**Roig et al., 2006**)

Les eaux de lavage sont des eaux très polluantes, fortement chargées en matière organique et affectent particulièrement la qualité des eaux auxquelles elles sont déversées (**Benyahia et Zein, 2003**). Plusieurs études ont prouvé les effets négatifs de ces déchets sur la population microbienne du sol (**Paredes et al., 1987 ; Colarieti et al., 2006**). Il a été suggéré que les principaux composés phytotoxiques des eaux de lavage sont les composés phénoliques (**Casa et al., 2003 ; D'Annibale et al., 2004**) dont la teneur est élevée (4.98 g) (**Morillo et al., 2009**). Pendant le processus de fabrication de l'huile d'olive, la grande proportion des polyphénols, originaire des olives, est perdue dans les eaux de lavage. Seulement 2% des composés phénoliques sont transférés dans la phase huileuse (**Rodis et al., 2002**), cependant, ils possèdent une forte activité antioxydante (**Galli et Visioli, 1998 ; Fki et al., 2005 ; Obied et al., 2005**) où ils attribuent une valeur précieuse aux co-produits rejetables (**Ranalli et al., 2003**). Les propriétés antioxydantes des eaux de lavage peuvent orienter, les résidus de l'huile d'olive en source d'antioxydants naturels (**Atanassova et al., 2005**).

De nombreuses études ont été menées avec le souci de trouver des solutions permettant le traitement des eaux de lavage par des voies physiques, chimiques et/ou biologiques (**El Hajjouji et al., 2008 ; Achak et al., 2009**).

Les profils phénoliques de l'huile d'olive, des grignons et des eaux de lavage dépendent de plusieurs facteurs tels que le cultivar (**Laincer et al., 2016**), la maturation des fruits et le processus d'extraction de l'huile utilisé (**Laribi et al., 2009 ; Bengana et al., 2013**). Malgré la vocation oléicole de l'Algérie et la richesse de son patrimoine variétal, les travaux qui ont analysé la fraction phénolique des sous-produits oléicoles restent très limités, par rapport à la Tunisie et au Maroc. Les polyphénols de l'olivier ont fait l'objet de nombreuses études en raison de leurs propriétés biologiques (**Lopez-Miranda, 2010 ; Ghanbari et al., 2012**). Ils sont doués de diverses activités antioxydantes, antivirales, anti-inflammatoires, antiallergiques et antimicrobiennes (**D'Angelo et al., 2005 ; Visioli et al., 2005**). Ces propriétés ont orienté les chercheurs, vers l'extraction et la valorisation de ces polyphénols dans divers domaines (agriculture, pharmacologie, agro-alimentaire) (**Paredes et al., 2000 ; Bouaziz et al., 2008 ; Lee et al., 2009**).

L'objectif général de ce travail consiste à l'extraction de la fraction phénolique contenu dans les eaux de lavage, et à déterminer éventuelles leurs propriétés antibactériennes par l'évaluation de leurs effets synergiques vis à vis les bactéries pathogènes.

Ce présent travail est subdivisé en deux parties : une synthèse bibliographique, l'étude expérimentale.

La partie bibliographique comporte deux grands chapitres : le premier chapitre traite des généralités sur l'olivier, ses produits principaux qui est l'huile d'olive ainsi les différents systèmes d'extraction, ses sous-produits avec plus de faits saillants sur l'eau de lavage et son contenu en polyphénols. Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des profils phénoliques de l'olivier, leurs propriétés biologiques, focalisant sur l'effet antimicrobienne des polyphénols de l'olivier et des eaux de lavage

La partie expérimentale dans laquelle nous avons présente le matériels et les méthodes utilisées pour effectuer :

- Les analyses physico-chimiques l'eau de lavage brutes
- L'extraction la quantification des polyphénols présents dans l'eau de lavage
- L'évaluation de l'effet synergique antibactérien des extraits phénoliques issus d'eau de lavage vis-à-vis des souches pathogènes.



Partie
Bibliographique

A laurel wreath, composed of two branches of green leaves, frames the text. The leaves are small and pointed, and the branches are intertwined to form a circular shape.

**Chapitre I.-
Les huiles
d'olives**

I.1.- Généralités sur l'olivier

I.1.1.- Histoires de la culture de l'olivier

Olea europaea est une plante endémique de la région méditerranéenne avec une histoire de 50 000 ans (Aoukli et Chettouhe, 2019), les pays de cette région ont été les premiers centres d'oliviers sauvages (Ararbi et Rahmani, 2017). La plupart des botanistes pensent qu'elle existe sur ses rives depuis la préhistoire (Bourmad, 2011). De plus, la culture des oliviers et la production et l'utilisation de l'huile d'olive sont des pratiques bien connues et efficaces dans cette région depuis plus de 7000 ans (Tsagaraki *et al.*, 2007). Il constitue la base de la bonne santé des habitants de ces pays et représente le fleuron du régime dit méditerranéen. Le nom scientifique de l'arbre est *Olea*, dérivé du mot « huile » prononcé par les anciens Grecs. Sa première domestication remonte aux anciennes civilisations de la Méditerranée. À cette époque, les Grecs ont établi des villes le long de ses environs et les Phéniciens ont établi des colonies en Afrique du Nord. Ils apportèrent avec eux le goût de cette culture (Labane et Tadala, 2015), et sa culture à travers ces civilisations et conquêtes s'est étendue de 1200 à 500 avant JC (Aoukli et Chettouhe, 2019). A partir du VI^{ème} siècle avant JC, sa culture s'est répandue dans tout le bassin méditerranéen, passant successivement par la Libye, la Tunisie, la Sicile et l'Italie. Romains pendant la conquête (Henry, 2003).

Au troisième millénaire avant notre ère, il était cultivé en Syrie et en Palestine, puis après conquête et expansion commerciale, il a été découvert en Sicile, en Italie, en Tunisie, en Algérie, au Maroc et dans le sud de la France (Lebdiri et Berkani, 2015). L'histoire de la plantation d'oliviers en Algérie remonte à la période la plus ancienne. En effet, l'huile d'olive faisait l'objet du commerce intense entre l'Algérie et Rome à l'époque romaine et était l'un des fondements de base des activités économiques de la population rurale (Alloum, 1974). Depuis le XII^e siècle avant JC, le véritable oléastre existe en Algérie. De là aux Phéniciens (4000-3000 avant JC) (COI, 2006). Selon le COI, ont découvert des peintures rupestres construites au deuxième millénaire avant JC dans les montagnes du Sahara central (Tassili dans le Hoggar, Algérie) en 1957, avec témoignage d'hommes couronnés de branches d'olivier.

La trace historique a été trouvée avant même la naissance de l'écriture. Des rameaux d'olivier ont été trouvés dans des tombes égyptiennes. Les anciens Égyptiens utilisaient des feuilles d'olivier pour momifier les membres de la famille royale. Dans le passé, il symbolisait la vie, la connaissance, la loyauté, la victoire et la force. Cet arbre conserve son pouvoir symbolique et le

rameau d'olivier est devenu un symbole de paix et de victoire à travers le monde. Il figure actuellement sur le drapeau de l'ONU (Lebdiri et Berkani, 2015).

I.1.2.- Origine de l'oléiculture

La culture de l'olivier est originaire d'Asie Mineure et s'étend de la Syrie à la Grèce (Aouchiche et Boumghar, 2015). Des ruines antiques ont également été découvertes en Asie Mineure en référence à cet arbre millénaire, datant d'au moins 6000 ans avant JC (Ait Fodil et Ourahmoun, 2016), et les fouilles syriennes dans l'ancien port d'Ougarit ont révélé de grandes quantités d'amphores d'huiles. Il était probablement dédié au commerce méditerranéen (Lebdiri et Berkani, 2015), en plus d'être un arbre connu depuis l'Antiquité. En Grèce et à Rome, il est apparu dans l'histoire et la mythologie comme un symbole de fertilité, de paix et de gloire (Lallas *et al.*, 2011). C'est particulièrement le cas dans la mythologie grecque après qu'Athéna a exposé un « olivier ». De plus, ils ont utilisé du bois d'olivier dans les sculptures des dieux grecs. De plus, des branches d'olivier et des bouteilles d'huile d'olive ont été attribuées aux premiers gagnants des Jeux Olympiques en récompense de leur performance (Azzouni et Benariba, 2017).

Au cours des périodes récentes, l'olivier a continué à se développer en dehors des pays méditerranéens avec la découverte de l'Amérique en 1492 et en 1560, lorsque l'olivier a été trouvé au Mexique, puis au Pérou, en Californie, au Chili et enfin en Argentine. Puis il s'est installé en Afrique du Sud, en Australie, au Japon et en Chine. Malgré tout cela, l'olivier reste une culture méditerranéenne par excellence, et son « or liquide », quelle que soit l'époque ou le lieu, reste le symbole et la richesse du monde méditerranéen (COI, 2006 ; Selmani, 2015).

I.1.3.- Localisation géographique de la culture

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

Pour les botanistes, l'aire de répartition de l'olivier est synonyme de "région méditerranéenne". L'olivier (*Olea europaea* L.) est cultivé depuis très longtemps autour de la méditerranée et de la mer noire surtout en : Espagne, Italie, Grèce, Turquie, France, Tunisie, Algérie et Croatie. Cette répartition géographique est influencée par des facteurs climatiques et pédologiques. (Gaussorgues, 2009 ; Carrion *et al.*, 2010).

I.1.4.- Caractéristique morphologique et taxonomique de l'olivier

Caractéristique morphologique

Le système racine :

L'olivier développe un système racinaire essentiellement peu profond 60 à 100 cm à développement latéral, dont les racines principales débordent peu l'aplomb du feuillage, alors que les racines secondaires et les radicelles peuvent exploiter une surface du sol considérable. Le chevelu racinaire se limite en général au premier mètre où poussent des racines qui permettent l'alimentation hydrique de l'arbre en cas de sécheresse. Seules les radicelles émises au cours de l'année permettent l'absorption de l'eau. Parmi les principales fonctions des racines est le stockage de carbone et d'azote. Le carbone est stocké sous forme d'amidon et des sucres solubles (Sibbett et Ferguson, 2005).

Le développement du système racinaire de l'arbre dépend des caractéristiques physico-chimiques du sol, sa profondeur, sa texture et sa structure. Le jeune plant issu de semis développe une racine pivotante. A l'état adulte, l'olivier présente deux à trois racines pivotantes qui s'enfoncent profondément et de celles-ci, part un système racinaire peu profond à développement latéral, qui donne naissance à des racines secondaires et des radicelles pouvant explorer une surface de sol considérable. Le système racinaire devient de moins en moins dense avec la profondeur (Kasraoui, 2010).

Le système aérien :

L'arbre

C'est un arbre à croissance lente qui peut atteindre 15 à 20 m de hauteur, le tronc est le plus souvent élancé selon les sols et les climats et vivre très longtemps. Mais dans la plupart des modes de culture, les oliviers sont maintenus entre trois et sept mètres de hauteur afin de rendre possible l'entretien et la récolte (Gharabi, 2019). Il est toujours vert mais dont les dimensions et les formes peuvent être très variables (Iserin, 2001 ; Ghedira, 2008 ; Doveri et Baldoni, 2007).

Il présente une cime arrondie avec des rameaux étalés très nombreux, enchevêtrés les uns dans les autres. Les dimensions et la forme de l'olivier varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol et les variétés. L'olivier préfère les sols légèrement basiques (Zamoum, 2016).

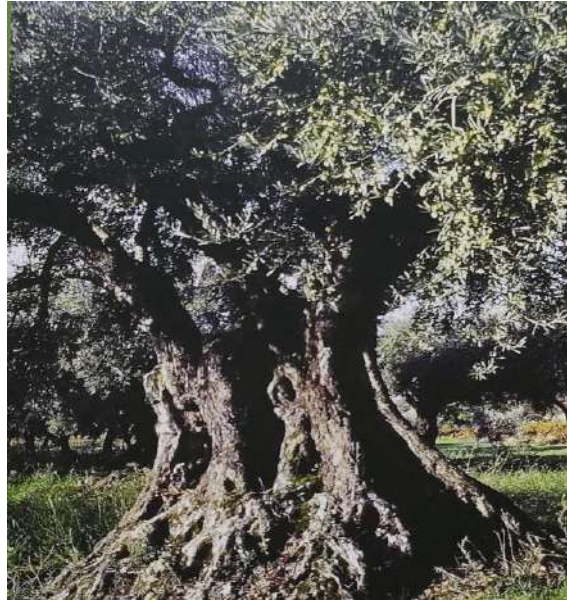


Figure 1.- Arbre d'olivier (Dominique, 2011)

Le tronc :

L'olivier est très rameux, au tronc noueux et bas de couleur grise (Iserin, 2001 ; Ghedira, 2008 ; Doveri et Baldoni, 2007) et bois dur et dense, à l'écorce brune crevassée. Il peut atteindre vingt mètres de hauteur (Figure 2.) (Haouari, 2013).

Le tronc est le principal support de l'arbre. Sur les jeunes arbres, le tronc est droit et circulaire puis il se déforme, au fur et à mesure de leur vieillissement, pour donner naissance à des « cordes » (zones successives de dépressions donnant au tronc un aspect, tourmenté, caractéristique de l'olivier). Ce dernier se développe en : Des charpentières composées de charpentières maîtresse et sous-charpentières ; des branches : trois sortes : branches à bois, branches à fruits et branches mixtes (Gharabi, 2019).

Le tronc et les branches constituent le « bois » ou « squelette » de l'arbre ; leur rôle principal est le transport de sève brute et de sève élaborée. Du tronc sortent les branches principales sur lesquelles sont insérées les branches secondaires et sur celles-ci, à leur tour les tertiaires et pour finir les branches fines, d'ordre supérieur. A leur bout, ces dernières portent les pousses fructifères, dénommées « rameaux », qui, l'année d'après seront chargés de produire les fruits (Haouari, 2013).



Figure 2.- Tronc d'olivier (Dominique, 2011)

Les feuilles :

Les feuilles d'olivier sont opposées, ovales allongées, portées par un court pétiole, coriaces, entières et possèdent des caractères nettement xérophytiques (épiderme supérieur fortement cutinisé et épiderme inférieur recouverts de poils) (Proietti, 1995).

La face supérieure des feuilles est luisante de couleur vert foncé, tandis que la face inférieure présente un aspect argenté dû à une pruine. Le dessus des feuilles exposé au soleil est protégé par une cuticule vert sombre d'une texture vernissée, imperméable. La face inférieure est duveteuse et contrôle la sortie des eaux par un poil qui le coiffe à la manière d'un parasol (Figure 3.) (Ghedira, 2008).

Les feuilles sont persistantes, elles vivent en moyenne trois ans, puis jaunissent et tombent principalement en été (Proietti, 1995). Les feuilles ont un certain nombre de fonctions y compris la photosynthèse et la transpiration. C'est grâce à sa feuille que l'olivier peut survivre en milieu aride. Quand il pleut, les cellules foliaires s'allongent pour emmagasiner l'eau. En cas de sécheresse, les feuilles se rétractent et bloquent l'activité de photosynthèse au détriment des fruits (Angelopoulos *et al.*, 1996 ; Haouari, 2013).



Figure 3.- Feuilles d'olivier

Les fleurs :

Les fleurs sont petites, blanches, odorantes, regroupées en petites grappes de dix à vingt dressées à l'aisselle des feuilles, l'olivier produit deux sortes de fleurs, une parfaite qui contient les deux sexes mâle et femelle et une staminée (Figure 4.) (**Lavee et al., 1996 ; Fabbri et al, 2009 ; Ghedira, 2008**)

La fleur est constituée de 4 sépales, 4 pétales, 2 étamines et 2 carpelles (**Gharabi, 2019**), poussant à l'aisselle des feuilles au début du printemps sur les rameaux de deux ans. Le nombre de fleurs et leur distribution sur l'inflorescence sont spécifiques pour chaque cultivar, mais change d'une année à une autre (**Lavee et al., 1996**)

La plupart des oliviers sont auto-fertiles, mais il y a aussi des arbres non auto-fertiles, qui doivent être plantés avec des cultivars pollinisateurs. Seulement 5 à 10 % des fleurs produiront des fruits pour une bonne production. Sur le nombre total des ovaires fécondés, seulement 25% sont restés après la chute des pétales, mais seulement 2% de l'ensemble des fleurs développeront en fruits qui atteignent la maturation. L'élimination de la moitié des inflorescences améliore la nouaison des autres (**Lavee et al., 1996**).



Figure 4.- Fleurs d'olivier (Dominique, 2011)

Les fruits :

L'olive, fruit de l'olivier est une drupe à mésocarpe charnu, indéhiscente (ne s'ouvrant pas), à noyau. Sa forme est ovoïde ou ellipsoïde. Ses dimensions sont très variables suivant les variétés. La paroi de ce fruit est constituée (Figure 5.) (Doveri et Baldoni, 2007 ; Ghedira, 2008 ; Aparicio et Harwood, 2013 ; Gharabi, 2019) :

- ▶ De l'épicarpe (épiderme ou peau) solidement attaché à la pulpe. Une maturation, l'épicarpe, recouverte d'une matière cireuse imperméable à l'eau (la pruine). Passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive tournante) puis à la coloration noirâtre (olive noire). Le changement de couleur est dû à une oxydation effectuée par des phénol oxydases
- ▶ Du mésocarpe (pulpe ou chair), charnu, riche en huile et en matière grasse stockée durant la lipogenèse de la fin d'aout jusqu'à la véraison.
- ▶ De l'endocarpe (noyau), osseux très dur, formé d'une enveloppe boisée renfermant un ou rarement deux graines. Qui se sclérifie l'été (à partir de la fin juillet) et contient une amande avec ovaires, dont l'un est généralement stérile et non fonctionnel cette graine produit un embryon, qui donnera un nouvel olivier si les conditions sont favorables

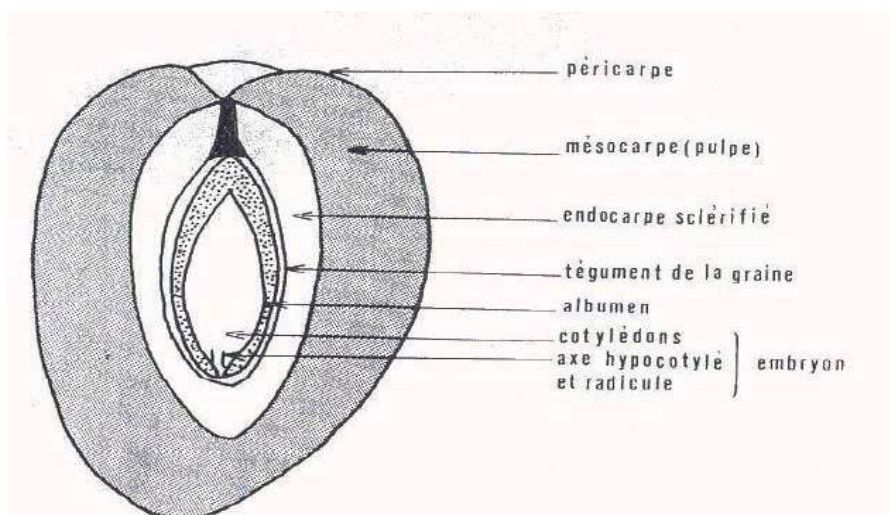


Figure 5.- Fruit d'olivier (Mourida, 2014)

Taxonomique de l'olivier

Selon la classification phylogénique APG III (Angiosperm Phylogeny Group, 2009) l'olivier appartient au :

Tableau 1.- Taxonomique de l'olivier (Ghedira, 2008)

Règne	Plantae
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Oleaceae</i>
Genre	<i>Olea L.</i>
Espèce	<i>Olea europaea L.</i>

I.1.5.- Description et origine botanique

L'olivier (*Olea europaea L.*) Est un arbre méditerranéen par excellence, vivace, généralement plus de 500 ans, mais des arbres plus âgés de 2000 ans ont été enregistrés, originaire d'un climat subtropical sec. Il s'adapte bien à des conditions d'environnement extrêmes telles que : la sécheresse, la salinité, la chaleur et à des basses températures, mais il craint le gel (Ghedira, 2008 ; Brahimi, 2015).

L'olivier appartient à la famille largement distribuée des *Oleaceae* qui comprend 25 genres et plus de 500 espèces (**Benrachou, 2013**). C'est une famille très distincte, ce dernier est appartenu au genre *Olea* contient diverses espèces et sous-espèces (33 espèces réparties sur la surface du globe). Ces espèces sont réparties sur les 5 continents, en Nouvelle-Zélande et en Nouvelle-Calédonie

L'espèce *Olea europaea* Linné : *Olea europaea* Linné est l'unique espèce cultivée en Méditerranée représentative du genre *Olea*, qui se divise à son tour en deux sous-espèces (**Zohary, 1975 ; Green, 2002 ; Henry, 2003**) :

- ❖ *Olea europaea sylvestris* ou l'olivier sauvage, qui se présente sous une forme spontanée comme un buisson épineux et à fruit ordinairement petit
- ❖ *Olea europaea sativa* ou l'olivier cultivé qui se constitue par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage ou par greffage qui sont toutes originaires de régions où les conditions de croissance sont relativement difficiles (**Green, 2002**).

L'oléastre se différencie de l'olivier cultivé par ces caractères : c'est un arbrisseau, il possède des rameaux épineux et quadrangulaires, ses fruits sont petits et nombreux et son huile est peu abondante (**Benrachou, 2013**).

Selon la taxonomie d'*Olea europaea* L., l'espèce comprend six sous-espèces :

- *Olea europaea* subsp. *Laperrinei* : Massifs sahariens.
- *Olea europaea* subsp. *Cerasiformis* : Madère.
- *Olea europaea* subsp. *Guanchica* : Iles canaries.
- *Olea europaea* subsp. *Maroccana* : présent au Sud du Maroc, Massifs du grand atlas.
- *Olea europaea* subsp. *Cuspidata* : présent en Asie, Chine, Inde, Pakistan et Iran, Arabie, Afrique de l'Est et du Sud (**Laboub et Achoura, 2017**).

I.1.6.- Distribution d'oléiculture dans le monde

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud. On compte actuellement

plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde et existait sur six continents : Europe, Amérique du nord, Amérique du sud, Afrique, Asie, Océanie. Toutefois, le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales. Les principaux vergers se situent en Espagne, en Tunisie, en Italie, en Turquie, en Grèce, au Maroc, en Syrie et au Portugal (Figure 6., Figure 7.) (Benhayoun et Lazzeri, 2007 ; Géographie, l'olivier).



Figure 6.- Carte du verger oléicole mondial (COI, 2013)

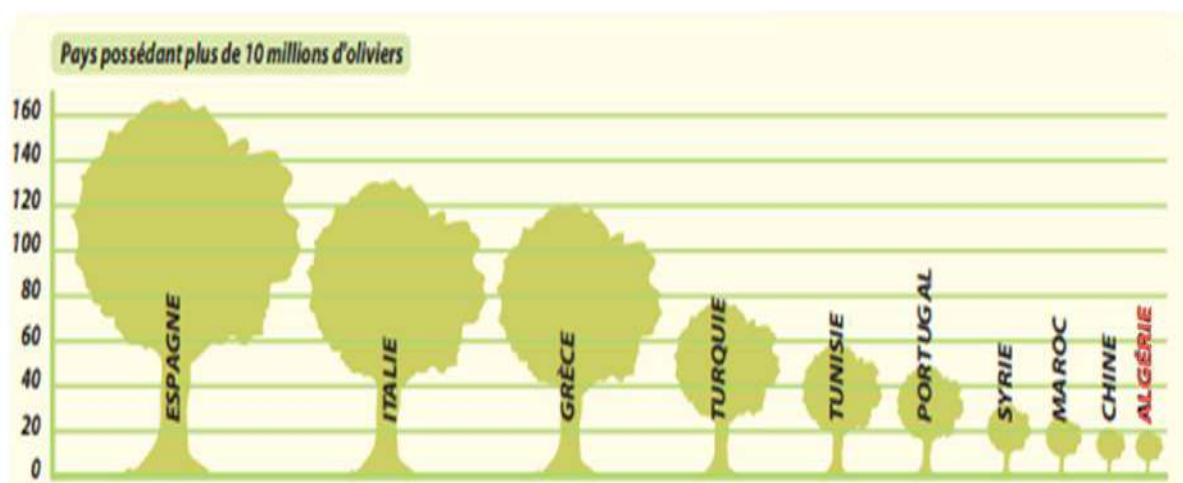


Figure 7.- Les oliviers du monde (Géographie, l'olivier)

Le principal producteur d'huile d'olive est l'Union Européenne qui représente plus de 70 % de la production mondiale d'huile d'olive. Dans l'Union Européenne, seuls 7 pays produisent de l'huile d'olive : l'Espagne, l'Italie, la Grèce, le Portugal, la France, Chypre et la Slovénie. Parmi les pays producteurs importants (produisant plus de 20 000 tonnes d'huile d'olive par an), on peut citer la Tunisie, la Turquie, la Syrie, le Maroc, l'Algérie, l'Argentine, la Jordanie. Les principaux consommateurs d'huile d'olive sont les pays producteurs (**Géographie, l'olivier**).

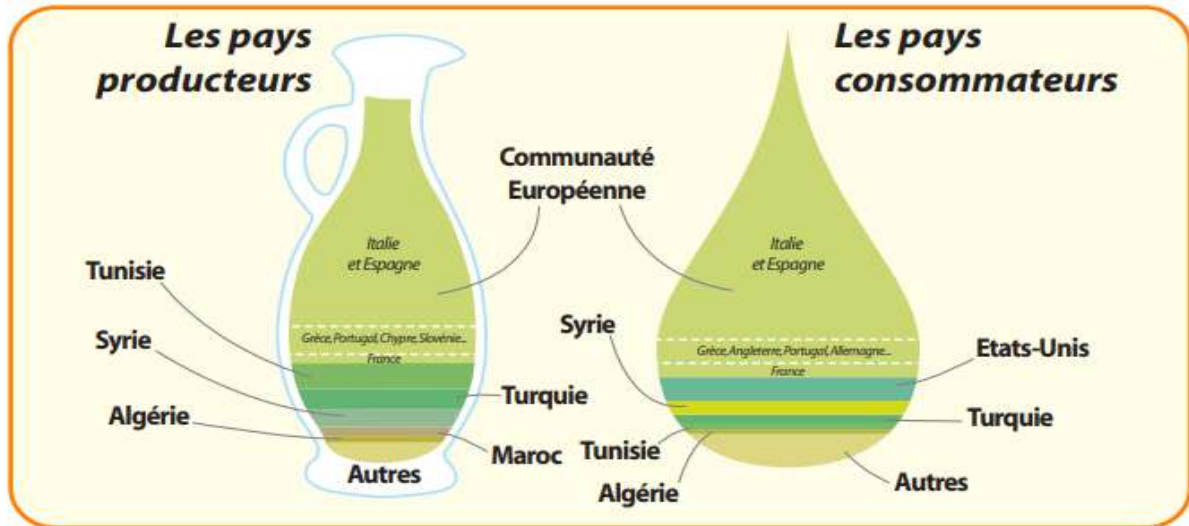


Figure 8.- Pays producteurs et consommateurs d'huile d'olive dans le monde
(Géographie, l'olivier)

L'Espagne se situe en premier rang avec 43% de la production mondiale suivie de l'Italie (28%), la Grèce (19%), la Turquie, la Tunisie et le Maroc. Paradoxalement à la production d'huile d'olive, ces pays rejettent des eaux usées appelées margines qui posent actuellement un vrai problème environnemental pour toute la région méditerranéenne. En effet, plus de 30 106 m³ de margines sont produits annuellement dans le bassin méditerranéen par rapport au volume mondial inférieur à 40 millions de m³/an (Halah, 2003).

Du point de vue variétale, il n'est pas rare de compter plus d'une centaine de variétés d'olivier dans chacun des pays producteurs (Ouzzani *et al.*, 1995). Les variétés d'olivier se divisent en trois catégories :

- Les variétés à huile sont principalement destinées à l'extraction de l'huile et sont caractérisées par un rendement variable mais normalement non inférieur à 16- 18 %.
- Les variétés de table sont les variétés dont les fruits sont destinés à la consommation directe.

- Les variétés à double aptitude sont celles qui peuvent être utilisées tant pour l'extraction de l'huile que pour la production d'olives de table

Le patrimoine génétique oléicole mondial est très riche en variétés d'olivier (*Olea europaea L.*), cultivées et spontanées. D'après (Muzzalupo *et al.*, 2014). Actuellement, et sur la base des évaluations de la FAO, ce patrimoine est constitué par plus de 2,600 variétés différentes, ce nombre est certainement plus élevé à cause du manque d'informations pour beaucoup de cultivars locaux et écotypes (Cantini *et al.*, 1999). La plus grande partie de ces cultivars vient des pays du sud de l'Europe comme l'Italie (538 cultivars), l'Espagne (183 cultivars), France (88 cultivars) et la Grèce (52 cultivars). Vu la richesse de ce germoplasme, l'olivier est un cas exceptionnel entre les cultures horticoles et sa biodiversité peut représenter une source riche de variabilité pour l'amélioration génétique de cette plante (Belaj *et al.*, 2010).

I.1.7.- Filière oléicole en Algérie

L'oléiculture est la première richesse arboricole de l'Algérie. Elle constitue une source de subsistance pour de nombreuses familles. L'oliveraie occupe 45% du verger arboricole total et compte 32 millions d'arbres dont 80% sont destinés à la production d'huile d'olive (Aggoun-Arhab, 2016), estimée à 55.000-70.000 tonnes/an (Vossen, 2013).

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier (COI, 2003). Elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Syrie, la Tunisie, le Maroc et l'Égypte qui sont les plus gros pays producteurs d'olives et d'huile d'olives. Avec une superficie en constante augmentation (Sidhoum, 2011).

Le potentiel oléicole est concentré dans les régions montagneuses et se répartit principalement dans trois régions :

- Le Centre Nord, principalement Tizi-Ouzou, Bouira et Bejaia avec 54,3 % de la surface totale
- L'Est (Jijel, Guelma, Skikda, et Mila) avec 28,3 %
- L'Ouest qui occupe à peine 17% (Tlemcen, Sig et Mascara).

La plupart des oliveraies (80 %) est donc cultivée sur des terrains accidentés et marginaux, peu fertiles et caractérisés par une pluviométrie moyenne comprise entre 400 et 900 mm/an. Le reste (20 %) est situé dans les plaines occidentales où la pluviométrie moyenne annuelle est de 300-

400 mm. A noter que les olives des régions Centre et Est sont destinées à la production de l'huile, alors que celles de l'Ouest sont pour la conserverie.

Les principaux et les plus anciens vergers oléicoles se trouvent dans les régions montagnardes et les collines recouvrant une surface de 195 000 ha, ainsi que dans les plaines occidentales du pays (Mascara, Sig, Relizane) et dans les vallées comme la Soummam. Cette superficie a bien nettement augmenté par la mise en place d'un programme national pour le développement de l'oléiculture intensive dans les zones steppiques, présahariennes et sahariennes (Msila, Biskra, Ghardaïa...). La carte ci-dessous montre la nouvelle distribution oléicole, il est net expansion des superficies vers les zones steppiques, présahariennes et même sahariennes (**Abdessemed, 2017**).

L'olivier est principalement cultivé sur les zones côtières du pays à une distance de 8 à 100 km de la mer où il trouve les conditions favorables pour son développement (**Haddou, 2017**). La figure ci-après présente la nouvelle carte oléicole de l'Algérie, on remarque l'expansion des superficies oléicoles vers les zones steppiques, présahariennes et même sahariennes.

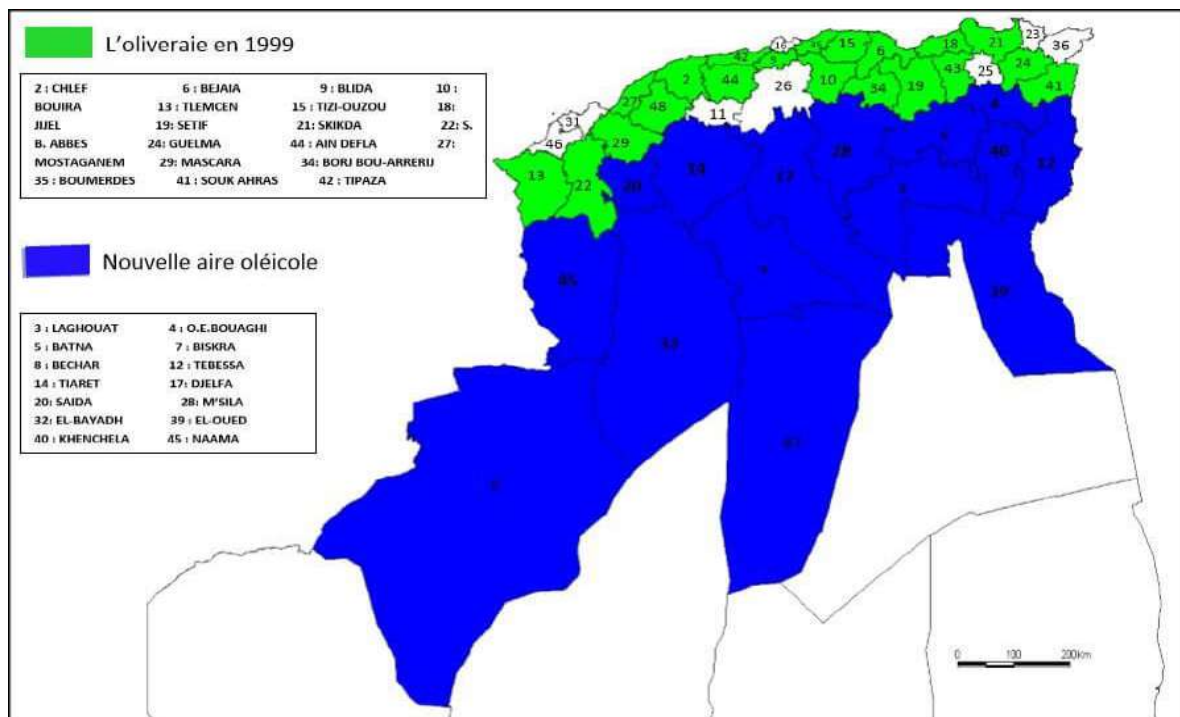


Figure 9.- Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008)

I.1.8.- Principales variétés d'oléiculture en Algérie

L'Algérie dispose de 150 cultivars d'olives représentés majoritairement par des arbres vieux, cultivés localement et utilisant des critères locaux pour leur appellation. Ces critères peuvent

refléter des caractères morphologiques ou agronomiques, comme par exemple la période de maturation du fruit (exemple "Chetoui" maturation tardive d'hiver) ou leur site d'origine (exemple "Chemlal" de Kabylie) (**Aggoun-Arhab, 2016**).

Les principales variétés cultivées en Algérie (locales et introduites) ainsi que leur répartition sont données dans le Tableau 2.

Tableau 2.- Principales variétés d'olivier en Algérie (Boukhari, 2014 ; Brahimi, 2015)

Variétés	Description	Aire de culture	Destination	Observation
Chemlal	C'est la variété la plus dominante en Algérie, elle représente près de 45% du patrimoine oléicole national	Centre Algérien Kabylie	Huile	Huile très appréciée. Résiste en culture sèche. Inconvénients : autostérile, floraison tardive
Sigoise	C'est une variété auto-fertile, elle représente 20% du verger oléicole national	Ouest Algérien (Oranie, Tlemcen)	Table + Huile	Très estimée pour la conservation et l'huilerie, rendement élevé en huile, variété autofertile
Azeradj	Elles accompagnent généralement les peuplements de Chemlal dont Azeradj améliore la pollinisation. Elle présente un gros fruit destiné à la conserverie et même à la production d'huile	Centre Algérien	Table + Huile	Très bon pollinisateur de Chemlal
Limli	Représente 8% du verger oléicole national, elle se rencontre dans la région d'oued Soummam	Est Algérien	Huile	Variété conseillée dans la région de Jijel à Sidi-Aich
Rougette	C'est la variété à l'huile installée dans la région Est du pays	Est Algérien	Huile	-

- Absent

I.2.- Huile d'olive

I.2.1.- Processus d'extraction d'huile d'olive

La production d'huile d'olives a toujours été le principal objectif de la culture de l'olivier et avec le développement du secteur oléicole, les systèmes traditionnels ont cédé la place aux équipements modernes. L'amélioration de ces procédés a permis d'extraire l'huile par des étapes successives, mais, le processus d'extraction d'huile d'olives reste toujours le même. Il inclut quatre opérations principales : les opérations préliminaires, le broyage, le malaxage et la séparation des phases liquides ; huile et eau (**Halah, 2003**).

Les olives vertes sont récoltées en septembre jusqu'à février. L'huile d'olive est contenue dans les vacuoles (minuscules placées dans les cellules des olives.). Pour pouvoir récupérer cette huile, il faut briser la paroi de ces derniers, cette opération est appelée broyage. Dans la plupart des cas, les olives sont broyées entières (avec leur noyau). Du coup on obtient une pâte de consistance plus au moins liquide (pâte). Cependant le broyage ne suffit pas pour briser la totalité des vacuoles, et afin de libérer le maximum d'huile, un malaxage est appliqué à la pâte. Le broyage et le malaxage permettent d'obtenir une pâte qui contient de la matière solide (débris de noyau, épiderme, parois cellulaires, ...) et des liquides (huiles et eaux de végétations, c'est-à-dire l'eau contenue dans les cellules végétales de l'olive). L'étape suivante consiste à séparer la partie solide (appelé grignon) de la partie liquide. Cette opération s'appelle : séparation de phases. La dernière étape de l'extraction de l'huile d'olive consiste à séparer l'huile de végétation désignée sous terme « eaux de lavage », il s'agit de la décantation. Il faut donc séparer l'huile de la margine (**Karray, 2013**).

A l'heure actuelle, trois systèmes d'extractions sont mise en œuvre :

- Procédés discontinus ou systèmes à presses.
- Procédés continus ou systèmes à centrifugation à deux phases.
- Procédés continus ou systèmes à centrifugation à trois phases.

Ce dernier se déroule soit selon un procédé continu à trois phases ou en un procédé continu à deux phases (procédé écologique) (**Morillo et al., 2009**).

I.2.1.1.- Extraction sous pression ou discontinus

Ce sont les systèmes classiques par pression avec broyeurs. Le broyage des olives suivi du malaxage se font sous des meules. Il se termine par obtention d'une pâte qui est composée de grignon et un mout contenant l'huile et les margines. La séparation des deux phases solides-liquides se fait par simple pression, alors que la phase liquide-liquide se fait par décantation naturelle (Figure 10.) (Saoudi, 2017).

I.2.1.2.- Extraction centrifuges ou continus

Le progrès technologique a permis le développement de systèmes automatisés et moins fastidieux que les presses : il s'agit des centrifugeuses horizontales à 2 ou à 3 phases, aussi improprement nommés décanteurs. Les centrifugeuses horizontales à 3 phases ont été les premières à être développées.

I.2.1.2.1.- Procédé à 3 phases

Ce procédé permet la séparation de la pâte en trois phases :

- Les grignons
- L'huile avec un peu d'eau
- Les eaux de lavage avec un peu d'huile.

Les deux phases liquides n'étant pas bien séparées, elles sont regroupées et envoyées dans une centrifugeuse verticale. A la sortie de la centrifugeuse, on retrouve d'un côté des grignons très humides et de l'autre une émulsion huile/eau (Aggoun-Arhab, 2016).

L'introduction de ces installations « continues » a permis de réduire les coûts de transformation et la durée de stockage des olives avec comme conséquence une production d'huile de moindre acidité.

Le principal inconvénient de ce type de système est qu'il requiert un grand ajout d'eau pour fonctionner. L'eau ajoutée va se mélanger aux eaux de lavage et donc grandement augmenter le volume de coproduits à éliminer. Le volume d'eaux résiduelles est 2 à 3 fois supérieur à celui produit par le système en discontinu, les eaux de lavage sont, par conséquent moins concentrées. Ainsi que les rapports élevés en eau chaude font que l'huile extraite se trouve appauvrie en composés aromatiques et phénoliques. Ces composés passent dans les eaux de lavage (Figure 10.) (Aggoun-Arhab, 2016 ; Saoudi, 2017).

I.2.1.2.2.- Procédé à 2 phases

Le procédé technologique d'extraction des huiles d'olives fonctionne avec un nouveau décanteur avec centrifugation à 2 phases qui ne nécessite pas l'ajout de l'eau pour la séparation des phases huileuses et solide contenant le grignons et les eaux de lavage (Saoudi, 2017).

Ce décanteur à deux phases permet l'obtention de rendements en huile légèrement plus élevés que ceux obtenus par le décanteur conventionnel à trois phases et le système de presse. En outre, il n'entraîne pas d'augmentation du volume des eaux de lavage (Figure 10.) (Aggoun-Arhab, 2016).

I.2.2.- Sous-produits de l'oléicole

L'industrie oléicole, en plus de sa production principale qui est l'huile, génère deux résidus l'un liquide (les eaux de lavage) et l'autre solide (les grignons) qui représentent un pourcentage important du poids total des olives traitées. De plus, l'olivier, à travers la taille engendre des feuilles, des brindilles et du gros bois (Sayadi *et al.*, 2000 ; Leulmi, 2011). Les olives contiennent environ 20% d'huile, 30% de grignons et 50% de eaux de lavage (Yakhlef, 2019). Ces dernières résultent de l'eau contenue dans le fruit (olives) et l'eau de fabrication ajoutée au cours du processus de trituration (Achak *et al.*, 2009).

Ces dernières années, le développement de l'activité agro-industrielle a engendré une large production de déchets qui sont notamment issus de la transformation des matières première de l'agriculture. Comme toutes les industries agro-alimentaire, l'opération d'extraction nécessite des grandes quantités d'eau, par conséquent elle engendre des quantités importantes de déchets solides (grignons d'olive) et liquide (des eaux de lavage) estimés à environ 3 millions de m³ /an (Gueham et Harikeche 2019).

De nos jours, la pollution joue un rôle majeur dans la destruction de la nature. Etant donné que les margines sont considérée comme un polluant de l'industrie oléicole, le plus souvent rejetées dans le milieu naturel, notamment dans les rivières, cela impose des traitements de dépollution et de valorisation. La Figure 11. Résume les principales voies de valorisation des sous-produits oléicoles (Dermeche *et al.*, 2013).

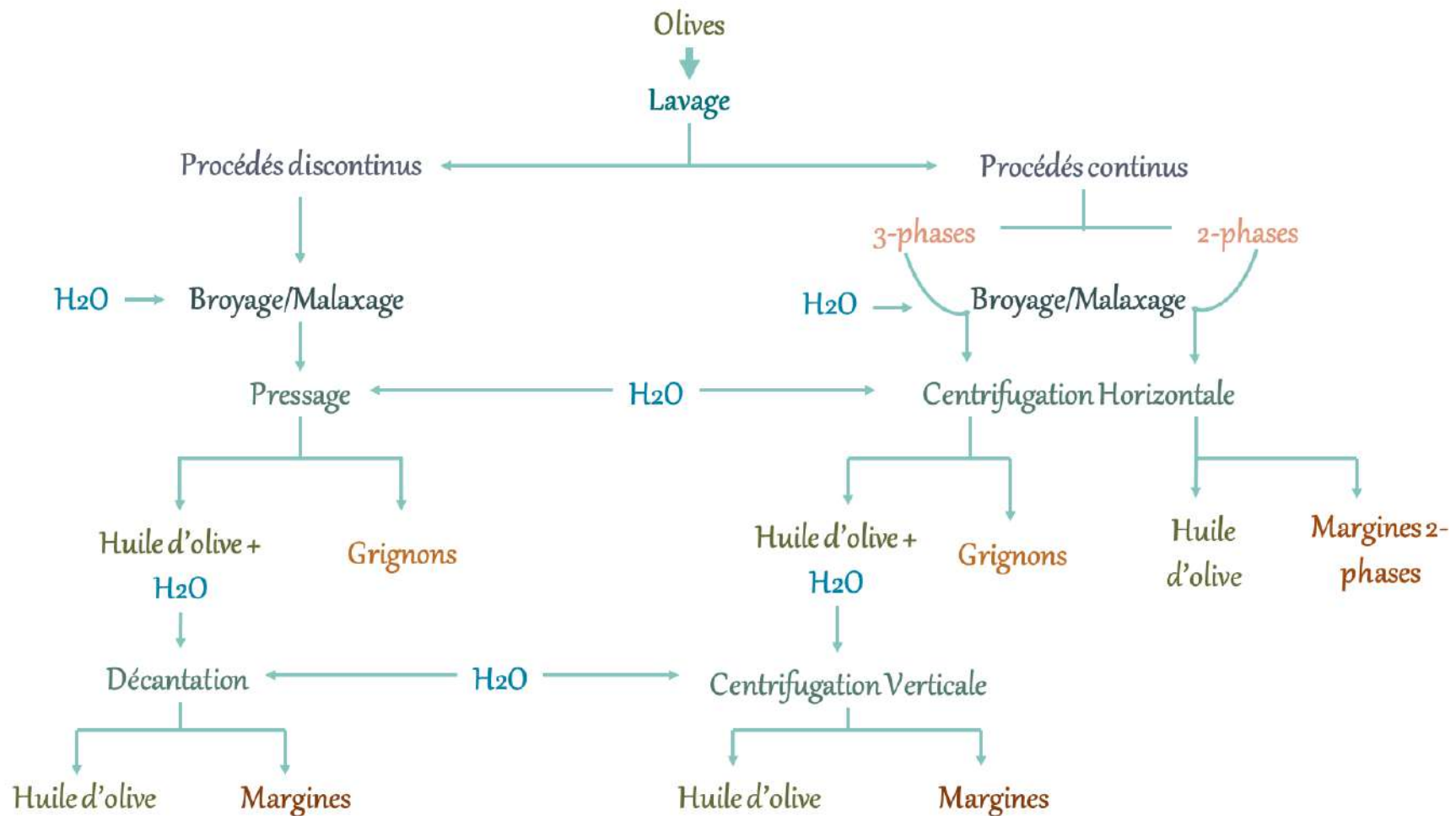


Figure 10.- Principaux processus d'extraction de l'huile d'olive (Aggoun-Arhab, 2016)

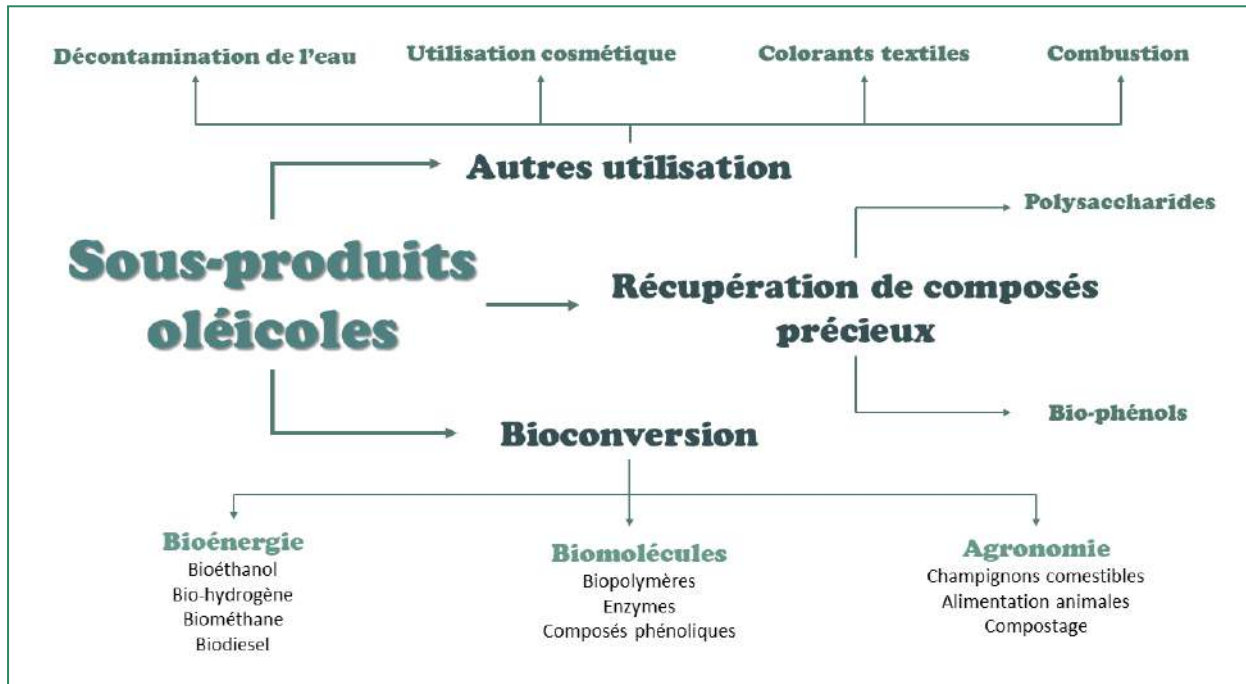


Figure 11.- Valorisation des sous-produits oléicoles (Dermeche *et al.*, 2013).

I.2.2.1.- Grignons d'olive ou tourteaux d'olive

Sont des résidus solides issus de la première pression ou centrifugation, ils sont formés des pulpes et des noyaux d'olives. Elles représentent environ un tiers du poids des olives fraîches triturées. Les grignons peuvent être transformés en un produit destiné à l'alimentation animale, engrais et la fabrication de savon, ou subir une extraction chimique afin de produire de l'huile de grignons d'olive (Garcia *et al.*, 2002 ; Chiofalo *et al.*, 2004 ; Labdaoui, 2017).

I.2.2.1.- Eaux de lavage ou margines

Ce sont des résidus liquides des huiles oléicoles d'une couleur brune rougeâtre à noire, d'un pH acide varie entre 4,7-5,7 (Ramos-Cormenzana *et al.*, 1996 ; Zbakh et EL Abbassi, 2012). Ceci est dû à la composition phénoliques contenus dans les margine ainsi qu'à la variété et le degré de maturation des olives et l'état de dégradation des composées phénoliques des eaux de lavage (Sabah *et al.*, 2004). Qui est généré lors de la phase de séparation solide liquide par centrifugation ou sédimentation après le pressage (Paredes, 1996 ; Boudoukhana, 2008).

L'eau de lavage est constituée des eaux de végétation des olives et de celle ajoutées aux différents stades du procédé d'extraction de l'huile. Si les premières dépendent uniquement des caractéristiques des olives triturées, les deuxièmes sont quant à elles inhérentes au système d'extraction. En effet, lors de l'extraction de l'huile d'olive, la consommation en eau diffère selon

que le système d'extraction fonctionne en discontinue ou en continue à trois phases ou à deux phases). Le pressage de 1 tonne d'olives produit en moyenne 1,5 tonnes de margines avec les modes de production modernes (**Benyahia et Zein, 2003**).

Les eaux de lavage comportent deux fractions organiques : une fraction insoluble constituée essentiellement de pulpes d'olives qui représente la matière en suspension et colloïdale et une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient les sucres, les lipides, les composés azotés, les vitamines, les acides organiques et les composés phénoliques (CP) (**Hamdi, 1991 ; Obied et al., 2005**).

I.2.3.- Bénéficité de l'huile d'olive sur la santé

L'huile d'olive constitue l'un des plus vieux médicaments. Elle fut très tôt utilisée pour des usages externes (massages cutanés ou sous forme d'onguents et de baumes), mais également par voie interne, oralement (huile pure ou huiles composées), mais aussi en instillations locales (nasales, auriculaires, oculaires).

En externe, nombreuses ont été les recettes faisant usage de l'huile d'olive pour combattre les courbatures, pour échauffer le corps, ou encore le protéger contre le froid. En bains de bouche, elle était excellente pour les gencives et gardait les dents blanches et saines.

Les propriétés cicatrisantes de l'huile d'olive sont à l'origine des préparations d'onguents et de pommades destinés aux plaies, brûlures, ulcères cutanés. Outre le fruit et l'huile extraite, la médecine traditionnelle utilisait également la feuille, mais aussi l'écorce de l'olivier, pour des préparations huileuses destinées à soigner les ulcères, les inflammations, les panaris.

En usages internes, c'est dans le domaine des fonctions digestives, et dans certains cas depuis la plus haute Antiquité, que l'huile d'olive a trouvé ses principales propriétés médicinales (gastrites et ulcères de l'estomac, constipation, maladies du foie et de la vésicule biliaire...) (**Dominique, 2011**).

I.3.- Eau de lavage

I.3.1.- Origine

Les margines sont obtenues lors de l'extraction de l'huile d'olive à partir de l'eau contenue dans le fruit, ajoutée au cours du broyage et des étapes de trituration. La qualité et la quantité des margines dépendent de l'opération d'extraction d'huile d'olive. Elles sont aussi influencées par la

variété d'olives, la saison de récolte, le taux de maturation des fruits et les conditions climatiques (Fiorentino *et al.*, 2003).

I.3.2.- Propriétés physico-chimiques

Les margines présentent une composition chimique très complexe et hétérogène. Elles contiennent une variété de composés organiques et minéraux, de nature et de concentration très différentes. Cette variation est due essentiellement aux procédés d'extraction d'huile d'olive (presse ou centrifugation) qui représente l'élément le plus important, au stade de la maturité des olives, à la variété de l'olivier, aux conditions climatiques, à la durée de stockage des olives avant la trituration, au système de culture, à la situation géographique, au temps de stockage des olives avant la trituration, à la nature de conservation des olives et aux techniques et lieu de stockage (Karapmar et Worgan, 1983 ; Bambalov *et al.*, 1989).

La caractérisation physico-chimique des margines est généralement tributaire des techniques et des systèmes retenus pour l'extraction d'huile d'olives et diffère d'un pays à l'autre (Benyahia et Zein, 2003).

La composition chimique typique générale des margines est donnée dans le tableau 2. Les margines ont un pH acide avec des valeurs comprises entre 3,6 et 5,08, un pourcentage d'humidité de 84,83 à 94,83 %. Elles ont généralement une forte salinité due à l'ajout important de sel pour la conservation des olives (Tsioulpas *et al.*, 2002).

I.3.2.1.- Fraction minérale

La fraction minérale est comprise entre 0,61 et 39 g/l et constituée principalement de potassium, ce qui a conduit plusieurs chercheurs à tester leur pouvoir fertilisant. Les métaux lourds, tels que l'arsenic (As), le cuivre (Cu), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le sélénium (Se), le mercure (Hg) et le nickel (Ni) sont présents, pour la plupart à l'état de traces.

I.3.2.2.- Fraction organique

La matière organique des margines, avec une concentration de 20 à 129,93 g/l, comporte :

- une fraction insoluble constituée essentiellement de pulpes d'olives, matières en suspension et colloïdales.

- une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient des sucres, lipides, acides organiques, pectines, composés phénoliques, vitamines et traces de pesticides (**Hamdi, 1991 ; Aggoun-Arhab, 2016**).

I.3.2.2.1.- Composés azotés

La fraction azotée est représentée principalement par les protéines (grosse molécule complexe d'acides aminés) avec une concentration variante entre 1,2 et 2,4%. Tous les acides aminés contenus dans les margines ont été identifiés. Les plus abondants sont l'acide aspartique, l'acide glutamique, la proline et la glycine (**Aggoun-Arhab, 2016**).

I.3.2.2.2.- Vitamines

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique, mais indispensable à l'organisme. Plusieurs vitamines ont été identifiées. Les plus fréquentes sont les vitamines du groupe D (calciférol) et la vitamine PP (vitamine B3 ou acide nicotinique) avec une concentration de 124 mg/kg de teneur qui peut être exploitée à l'échelle industrielle (**Aissam, 2003**).

I.3.2.2.3.- Huiles

Les huiles sont des liquides gras, inflammable, insoluble dans l'eau, d'origine végétale, animale ou minérale. La concentration d'huile résiduelle contenue dans les margines est très variable selon le procédé d'extraction utilisé. Elle varie entre 0,02 et 1% (v/v) (**Fiestas Ros De Ursinos et Borja, 1992**). L'acide oléique est l'acide gras le plus abondant avec un pourcentage de 65% par rapport à la totalité d'huile (**Larid et Elaichi, 2019**).

I.3.2.2.4.- Glucides

Les glucides sont des composant de la matière vivante forme de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Sa teneur dans la margine varie entre 2 et 8% du poids de la pulpe d'olive fraîche (**Capasso et al., 2002**). Sont essentiellement représentés par les composants pariétaux, en particulier la cellulose et les pectines, ces dernières jouent un rôle important dans la texture des olives où ils représentent environ 0,6 % du poids de la pulpe fraîche (**Obied et al., 2005**).

- **Les sucres**

Représentent entre 4,1 et 4,8 % du poids total des eaux de lavage pouvant se répartir comme suit : arabinose (62-71%), galactose (17-25%), rhamnose (2-3%), xylose (12%), glucose (1%) (**Dermeche et al. 2013**)

Les sucres simples les plus fréquents dans les eaux de lavage sont, en particulier, Arabinose, Galactose, Glucose, Rhamanose, Acide Gluronique, Acide Galacturonique (**Capasso et al., 2002**).

I.3.2.2.5.- Les acides organiques

La proportion des acides organiques présente dans les eaux de lavage varie entre 0,5 et 1,5%. Les principaux acides organiques rencontrés sont les acides fumarique, glycérique, lactique, malique et malonique (**Tsioulpas et al., 2002**).

I.3.2.2.6.- Composés phénoliques

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Les composés phénoliques des eaux de lavage sont très divers et leur structure est très variable. Plus de 50 différents composés phénoliques ont été identifiés dans les eaux de lavage (**Obied et al., 2005 ; Dermeche et al., 2013**).

La teneur en composés phénoliques dans les margines dépend du système d'extraction de l'huile d'olive (**Aissam, 2003**). Ils proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction.

Leur solubilisation dans l'huile est cependant bien inférieure à celle dans les eaux de végétation, ce qui explique leur concentration élevée détectée dans les margines. Les caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive vierge dépendent de la présence des composés phénoliques et des substances volatiles (**Lamraoui et Kaddour, 2018**). La teneur en composés phénoliques dans les eaux de lavage varie entre 3 et 5 g/l (**Al-Malah et al., 2000 ; Garrido Hoyos et al., 2002 ; Tsioulpa et al., 2002 ; Casa et al., 2003 ; Fenice et al., 2003**) et elle peut même dépasser les 9 g/l (**Klibanov et al., 1983 ; Borja et al., 1992 ; Kissi et al., 2001**).

- **Les monomères phénoliques**

Les acides phénoliques sont les monomères les plus abondants dans les margines, ce qui explique leurs acidités. Plusieurs acides phénoliques ont été identifiés dans différents types de

margines par (HPLC ou CPG) (**Borja et al., 1995**). Ils sont représentés essentiellement par des alcools et des acides phénoliques. Ils sont représentés essentiellement par des alcools et des acides phénoliques.

- **Les polymères phénoliques**

Les polyphénols identifiés dans les eaux de lavage des huiles oléicoles sont essentiellement :

- Les anthocyanes

- Les tannins : Leur structure est très complexe, leur concentration peut atteindre 12 g/l. Ils sont classés conventionnellement en tanins hydrolysables et tanins Condensés (**Lamraoui et Kaddour, 2018**). Les tannins hydrolysables renferment trois groupes :

1. Esters d'acides phénoliques
2. Esters d'acides phénoliques et sucres
3. Glucosides
4. Les tanins condensés, appelés aussi flavotanins (**Lamraoui et Kaddour, 2018**).

- **Autres composés phénoliques**

D'autres composés phénoliques monomères ont été identifiés :

- L'oleuropéine,
- L-caféyl-glucose,
- L'apégine et la lutéoline (**Lamraoui et Kaddour, 2018**).

I.3.3.- Caractéristiques microbiologiques

Dans les margines d'olive, seuls quelques microorganismes arrivent à se développer. Ce sont essentiellement des levures et des champignons

Les levures et les champignons se développent mieux que les bactéries. Ces microorganismes supportent la salinité élevée et le pH acide caractéristiques de ces effluents, et résistent plus que les bactéries aux substances phénoliques

Les études microbiologiques effectuées sur plusieurs échantillons de margines ont confirmé l'absence totale de micro-organismes pathogènes. Donc, ces effluents ne posent aucun problème hygiénico-sanitaire (Aissam, 2003 ; Bendjedou et Selaimia, 2020).

Ces effluents agissent sur les bactéries en dénaturant les protéines cellulaires et en altérant les membranes (Bendjedou et Selaimia, 2020). Ils peuvent inhiber également l'activité des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote dans le tube digestif des ruminants en inhibant leur activité enzymatique. (Aissam, 2003)

I.3.3.1.- Champignons

La flore fongique se compose essentiellement (Aissam, 2003) :

1. *Aspergillus flavus*
2. *Aspergillus candidus*
3. *Penicillium negricans*
4. *Alternaria sp* possèdent la capacité de dégrader les phénols à faible concentration. (Aissam, 2003)

I.3.3.2.- Bactéries

La flore bactérienne regroupe les bactéries qui résistent aux polyphénols particulièrement les bactéries à Gram-négatif (Aissam, 2003).

- a) *Pseudomonas sp.*
- b) *Bacillus megaterium.* (Aissam, 2003)

I.3.4.- Effet des eaux de lavage sur le milieu environnemental

L'industrie oléicole engendre l'huile d'olive comme produit principal, mais elle présente l'inconvénient de générer d'importantes quantités de sous-produits. Les grignons ne posent pas de problèmes particuliers pour l'environnement car ils sont réutilisés en agriculture et en industries, En revanche, les margines sont rejetées directement dans les égouts.

Les critères de pollution des margines se limitent à trois facteurs principaux :

1. L'acidité
2. La conductivité élevée due à l'ajout du sel lors du stockage des olives avant leur trituration

3. La concentration élevée en matière organique représentée essentiellement par les composés phénoliques qui sont responsables de la toxicité et de la coloration brune rougeâtre à noire des margines.

L'impact des eaux de lavage sur l'environnement se caractérise par l'effet des eaux de lavage des huiles oléicoles sur les différents compartiments de l'environnement (Figure 12).

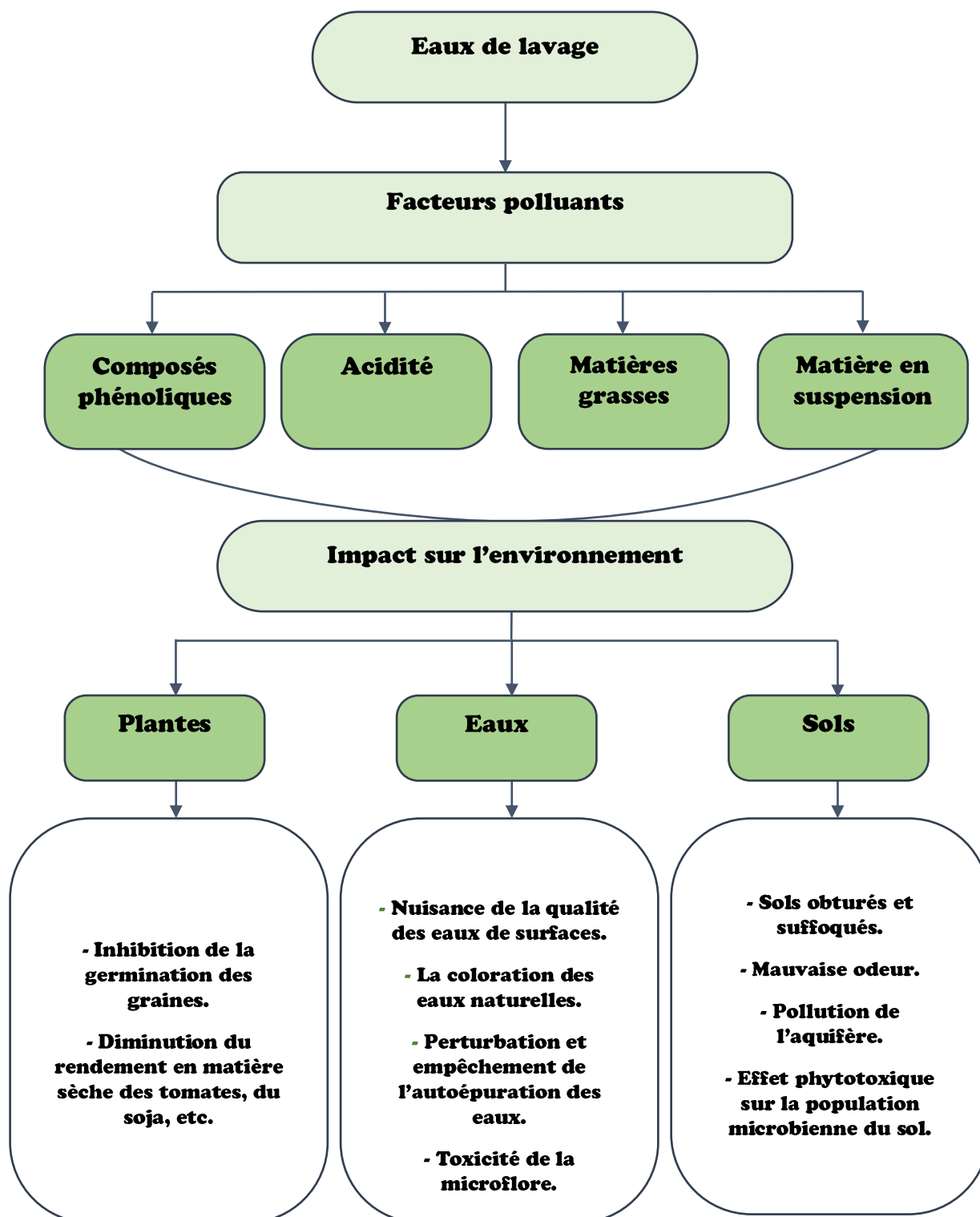


Figure 12.- Conséquences environnementales des rejets des eaux de lavage des huiles oléicoles dans le milieu naturel



**Chapitre II.-
Les composés
phénoliques**

II.1.- Généralités

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées (**Macheix et al., 2005**). En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Herbert, 1989**). Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques ...etc. (**Macheix et al., 2005**)

Les composés phénoliques, dénommés aussi Bio-phénols (**Achat, 2013**), constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (**Nkhili, 2009**) et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (**He et al., 2008**). Des milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux (**Macheix et al., 2005**). Ils sont classés généralement en acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes, coumarines et tannins (**Liu, 2004**). Ils sont synthétisés par les plantes en réponse au stress de l'environnement, particulièrement provoqué par un climat chaud et l'exposition prolongée des cultures aux rayonnements solaires qui est une caractéristique du bassin méditerranéen. Ce sont les produits du métabolisme secondaire des plantes, ils fournissent des fonctions essentielles dans la reproduction et la croissance des plantes, agissant dans les mécanismes de défense contre les pathogènes, parasites et les prédateurs, de même ils contribuent à la coloration des plantes en plus de ça Ils interviennent dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur (**Dubois et al., 1977**)

Ces substances jouent aussi un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (**Achat, 2013**) dans lequel ils participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (**Zeghad, 2009 ; Macheix et al., 2005**). Les composés phénoliques peuvent intervenir dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, se trouvent

les polyphénols, les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tannins. Ils peuvent permettre aussi aux plantes de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes et environnementales (**Gee et Johnson, 2001**).

Les polyphénols sont aussi connus pour leur effet protecteur contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs et pour ces propriétés antifongique et antibactérienne (**Heimeur et al., 2004**). D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (**Zeghad, 2009**).

En plus de leurs rôles dans les plantes, les polyphénols suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison du bénéfice qu'ils pourraient apporter en termes de prévention des maladies chroniques (**Liu, 2007**) et des maladies liées au vieillissement : Infarctus du myocarde, cancers, maladies neurodégénératives (**Hennebelle et al., 2004**).

II.1.1.- Composés phénoliques

L'appellation polyphénols ou composés phénoliques regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques. Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 C, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004 ; Bellebcir, 2008**). Ils constituent un groupe de substances variées et ubiquistes. En font partie les flavonoïdes, les tanins les dérivés phénylpropanoïdes tels que les lignines, les esters et amides hydroxybenzoïques, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxybenzoïques, les xanthones et de nouveaux composés sont identifiés continuellement (**Hopkins, 2003 ; Georgé et al., 2005**).

Alors les composés phénoliques divisés en plusieurs catégories :

1. Les acides phénoliques
2. Les flavonoïdes
3. Les tanins obtenus par polymérisation des flavonoïdes
4. Les lignines avec les isoflavones sont nommés phyto-œstrogènes (**Bellebcir, 2008**).

II.1.2.- Biosynthèse

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques

La voie de Shikimat : cette voie conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (Knaggs, 2003).

La voie d'acétate : qui conduit à des poly B-coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (Naczk et Shahidi, 2004).

II.1.3.- Structure

L'élément fondamental qui caractérise les CP est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH), libre ou engagé dans une autre fonction. Les CP se trouvent généralement conjugués aux sucres et aux acides organiques (Crozier *et al.*, 2008). Les principaux composés phénoliques ne se trouvent pas à l'état libre mais sous forme d'esters ou d'hétérosides. Les CP peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins (Yakhlef, 2019).

II.1.4.- Classification des polyphénols

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Figure 13). Qui se différencie d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.). Ces molécules sont généralement trouvés conjugués aux sucres et les acides organiques. (Herbert, 1989 ; Macheix *et al.*, 2005 ; Beta *et al.*, 2005 ; Crozier *et al.*, 2008).

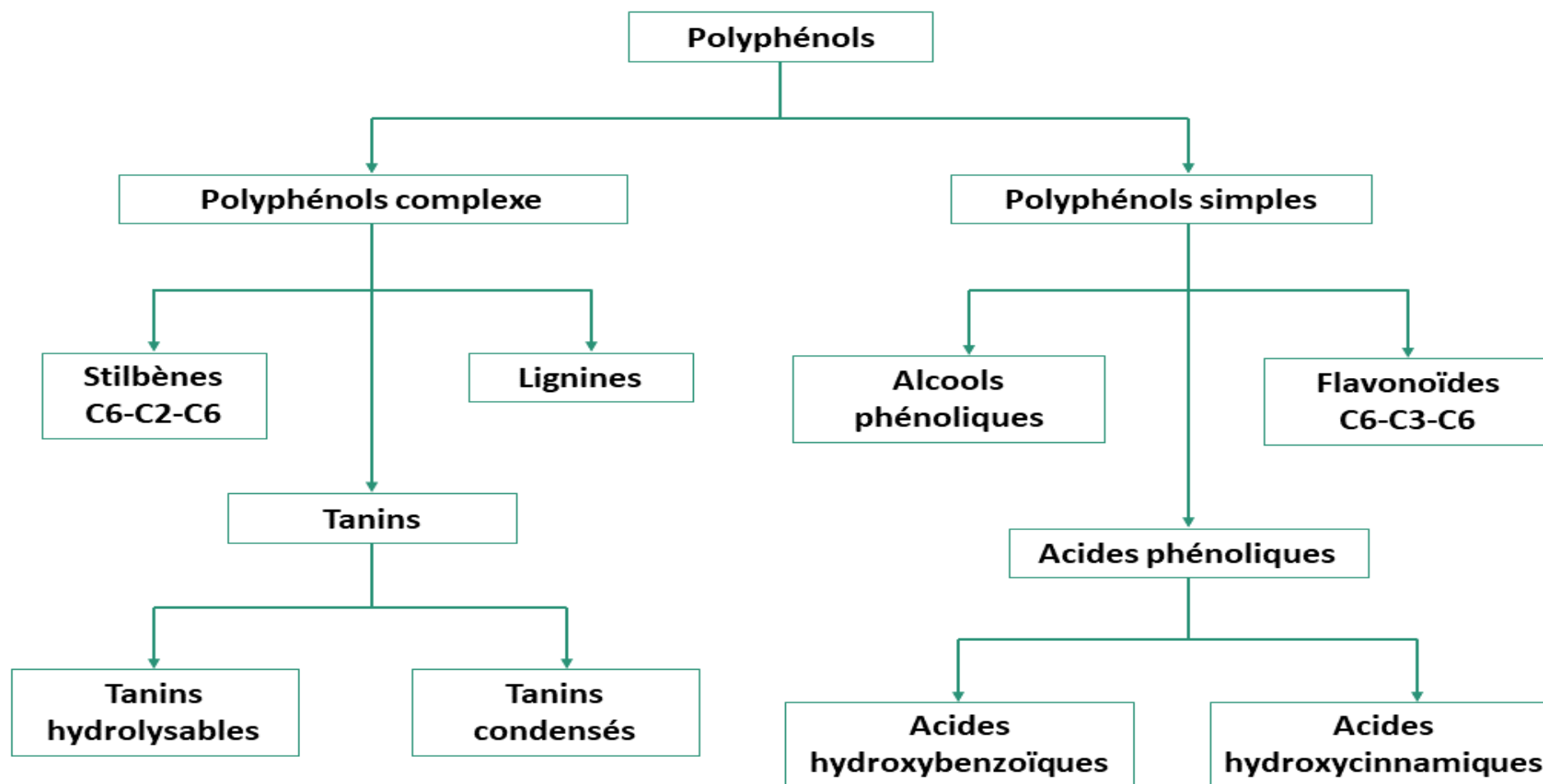


Figure 13.- Classification des composés phénoliques (Laouini, 2014).

II.1.5.- Rôles et activité biologiques des composés phénoliques

II.1.5.1.- Rôles dans les aliments et les végétaux

II.1.5.1.1.- Rôles dans l'alimentation

Les CP font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**). Ces corps jouent un rôle fondamental car ce sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur des polyphénols (**Lugasi *et al.*, 2003**).

Plusieurs centaines de molécules ont été identifiées dans les aliments réparties en plusieurs classes, on peut citer parmi les plus importantes :

- Les anthocyanes responsables de la couleur des fruits rouges (cerise, cassis, fraise, etc.). En effet, en plus de leur contribution à la couleur et à l'arôme, ils jouent un rôle déterminant sur le plan gustatif, et tout particulièrement sur les sensations d'astringence et d'amertume (**Outayeb et Touabi, 2014**)
- les tanins responsables de l'astringence de divers fruits (pellicule et pépins du raisin, chair du kaki, etc.).
- les flavanones responsables de l'amertume du pamplemousse et également abondantes dans l'orange. Pour les légumes, on peut citer l'oignon riche en flavonols (quercétine).

L'Homme ingère avec ses aliments environ un gramme de polyphénols chaque jour (**Outayeb et Touabi, 2014**), soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E et l'on estime que les fruits et légumes contribuent pour moitié à ces apports (Tableau 3.). Cependant, comme pour la plupart des métabolites dits secondaires, il existe en réalité une extrême diversité de répartition de ces composés selon les espèces et en fonction des différents organes et tissus d'une plante ou encore les différents stades de développement (**Gresele *et al.*, 2011**).

Tableau 3.- Teneur en CP des quelques végétaux utilisés ou consommés par l'Homme
(Outayeb et Touabi, 2014)

<i>Aliments</i>	Principaux composés phénoliques concernés	Teneurs
<i>Légumes</i>		
<i>Légumes secs</i>	Phénols totaux	300 mg à 17 g/kg
<i>Pomme de terre</i>	Acides phénoliques	32 à 103 mg/kg
<i>Oignon</i>	Dérivés de quercétine	56 à 1020 mg/kg
<i>Fruits</i>		
<i>Pomme</i>	Phénols totaux	100 mg à 3 g/kg
	Acides chlorogénique	26 à 510 mg.kg
<i>Raisin rouge</i>	Phénols totaux	500 mg à 5.6 g/kg
<i>Raisin rouge (pellicule)</i>	Anthocyanes	200 mg à 5 g/kg
<i>Cassis</i>	Anthocyanes	1 à 10 g/kg
<i>Myrtille</i>	Anthocyanes	3 à 4.5 g/kg
<i>Divers</i>		
<i>Feuilles de thé vert</i>	Phénols totaux	39 % MS
<i>Grains de café</i>	Esters caféïques	6 à 10 % MS
<i>Grains de sorgho</i>	Tanins	4 % MS
<i>Bois (hêtre, chêne...)</i>	Lignines	15 à 35 % du bois

MS: matière sèche

II.1.5.1.2.- Rôles dans la physiologie et la protection des plantes

Les dérivés d'acides hydroxy-cinnamiques constituent des composés importants dans la physiologie de la plante de par leur large distribution et de par leur rôle biologique. Ils sont impliqués dans les processus de lignification, de la fertilité, de pigmentation (des fleurs, des légumes et de quelques fruits comme raisins, agrumes, etc....). Il a été classiquement montré que beaucoup de phénols ou quinones qui en dérivent par oxydation sont des inhibiteurs du développement de certains microorganismes saprophytes (dans les litières végétales) ou parasites, champignons ou bactéries (Outayeb et Touabi, 2014).

Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Tous les CP absorbent les rayonnements UV et donc participent à la protection des végétaux contre le rayonnement solaire, en raison de leur localisation superficielle dans les tissus. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (**Makoi et Ndakidemi, 2007**). La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en CP (**Bahorun, 1998**).

II.1.5.2.- Activité biologique

Le rôle des CP est largement montré dans la protection contre certaines maladies (Tableau 5) en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (**Macheix et al., 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006 ; Han et al., 2007**). Les CP sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique (**Crozier et al., 2010**). De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires (**Manach et al., 2005**), anti-inflammatoires, antiathérogènes, antibactériennes, antiviraux (**Ali et al., 2007**), anti-allergènes (**Falleh et al., 2008 ; Hodgson et Croft, 2010**) (Figure 14).

Ils sont regroupés dans la catégorie de veinotoniques et des vasculo-protecteurs (**Ghosh et al., 2009**). Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des antiagrégants plaquettaires ou hypotenseurs sans résultats probants (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

Les polyphénols préviennent le développement des maladies cancérogènes dans l'organisme en inhibant les réactions oxydatives et empêchant la formation d'ADN anormal (**Ross, 1999**). Aussi ils agissent par différents mécanismes dont l'inhibition de l'absorption du glucose au niveau intestinal (**Dembinska-Kiec et al., 2008**), ou encore son assimilation dans les tissus périphériques (inhibition de la gluconeogenèse, de la stimulation adrénérique de l'absorption du glucose ou stimulation de la libération de l'insuline par les cellules pancréas) (**Scalbert et al., 2005**).

Les polyphénols ont montré des effets protecteurs dans d'autres pathologies, telle que la sclérose en plaque (**Gonzalez-Gallego et al., 2006**), l'ostéoporose (**Scalbert et al., 2005**) et les pathologies liées au vieillissement cérébral (maladie d'Alzheimer, autres types de démences, maladie de Parkinson...) (**Spencer, 2010**).

Tableau 4.- Activité biologique des quelques CP (Outayeb et Touabi, 2014)

Composés phénoliques		Activité biologique
Acides phénols	<ul style="list-style-type: none"> - Acide caféique - Acide salicylique 	<ul style="list-style-type: none"> - Antibactérienne - Antifongique - Antioxydante
Tanins	<ul style="list-style-type: none"> - Tanin gallique - Proanthocyanidine 	<ul style="list-style-type: none"> - Effet stabilisant sur le collagène - Antioxydant - Antidiarrhéique - Antiseptique - Vasoconstricteur
Flavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> - Lutéoline - Catéchine - Hespéridine - Quercétine - Naringénine 	<ul style="list-style-type: none"> - Antitumorale - Anti-carcinogène - Anti-inflammatoire - Antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse - Antivirale, antimicrobienne, hypotenseur - Diurétique
Coumarines	<ul style="list-style-type: none"> - Dicoumarol 	<ul style="list-style-type: none"> - Anticoagulant, antioxydant - Protectrice vasculaire - Antioedémateuse

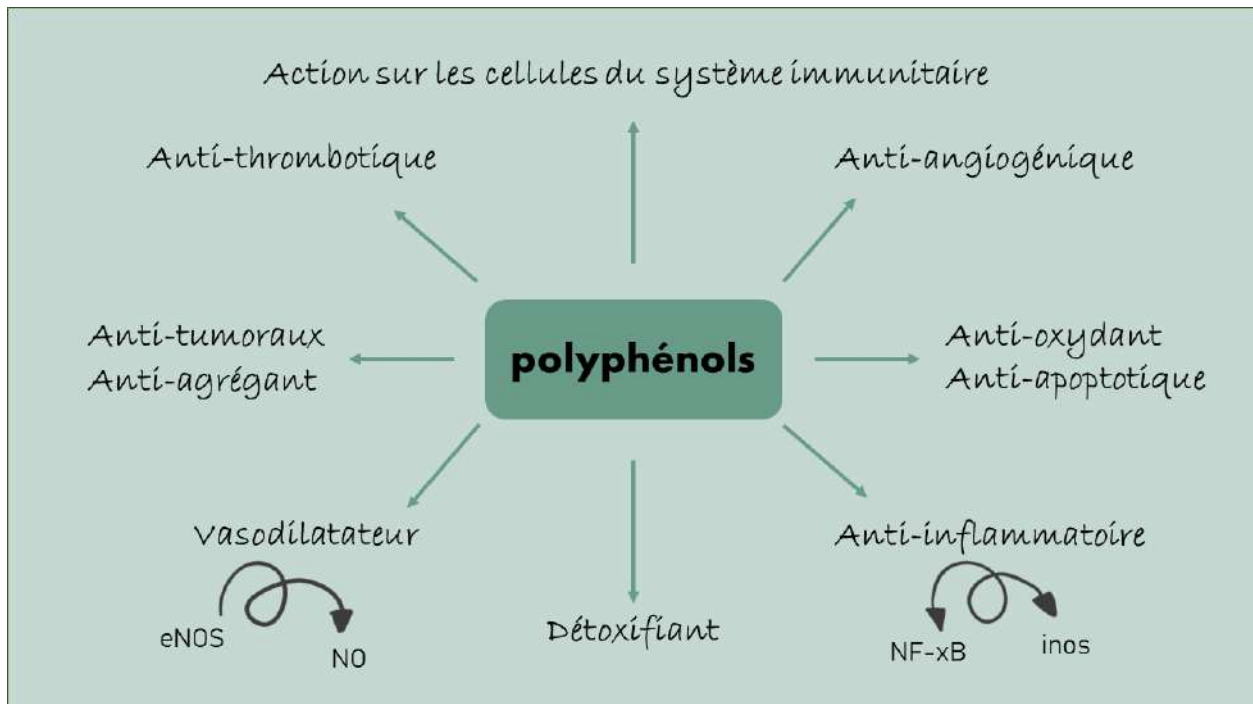


Figure 14.- Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002)

II.2.- Fraction des composés phénoliques de l'olivier et des eaux de lavage

II.2.1.- De l'olivier

Les olives peuvent contenir jusqu'à 80 mg de polyphénols par échantillon de 100 g (Visioli *et al.*, 2000). Les secoiridoïdes (oleuropéine, déméthyloleuropéine, ligstroside, verbascoside) représentent les principaux CP des olives (Tableau 5.). L'oleuropéine est le composé majoritaire responsable de l'amertume des olives (Yakhlef, 2019). Il a été montré que la teneur de ce dernier diminue à mesure que les olives mûrissent (Shahidi et Naczk, 2003).

Tableau 5.- Principaux CP identifiés dans les différentes matrices de l'olivier (olives, grignons, margines et huile d'olive) et leurs poids moléculaire (Da) (Jerman Klen, 2014).

Classe / Composé phénolique	PM	Olives	Grignons	Margines	Huile d'olive
Alcools phénoliques					
Hyroxytyrosol diglucoside	476	-	-	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	-
Hydroxytyrosol glucoside	316	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Cardoso <i>et al.</i> , 2005	Artajo <i>et al.</i> , 2006	Bianco <i>et al.</i> , 1998
Tyrosol glucoside	300	Romero <i>et al.</i> , 2002a	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	-	-
Hydroxytyrosol	154	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Dierkes <i>et al.</i> , 2012
Hydroxytyrosol acétate	196	Morelló <i>et al.</i> , 2004	-	Artajo <i>et al.</i> , 2006	Brenes <i>et al.</i> , 1999
Tyrosol acétate	180	-	-	-	Mateos <i>et al.</i> , 2001
Tyrosol	138	Romero <i>et al.</i> , 2002a	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Suárez <i>et al.</i> , 2008
Catéchol	110	Romero <i>et al.</i> , 2002a	-	-	Brenes <i>et al.</i> , 2004
Acides benzoïques					
Acide Syringique	198	Ryan <i>et al.</i> , 1999	Alu'datt <i>et al.</i> , 2010	-	Cioffi <i>et al.</i> , 2010
Acide Quinique	192	-	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	-
Acide Homovanillique	182	Ryan <i>et al.</i> , 2002	-	Artajo <i>et al.</i> , 2006	-
Acide Gallique	170	McDonald <i>et al.</i> , 2001	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	-	Cioffi <i>et al.</i> , 2010
Acide Vanillique	168	Romero <i>et al.</i> , 2002a	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	De Marco <i>et al.</i> , 2007	De LaTorreCarbot <i>et al.</i> , 2005
Acide Proto-catéchique	154	Boskou, 2006	Alu'datt <i>et al.</i> , 2010	-	-
Vanilline	152	Morelló <i>et al.</i> , 2004	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	De LaTorreCarbot <i>et al.</i> , 2005
Acide <i>p</i> -Hydroxybenzoïque	138	Boskou <i>et al.</i> , 2006	Alu'datt <i>et al.</i> , 2010	-	Caponio <i>et al.</i> , 1999

Acides cinnamiques					
β -OH-verbascoside	640	Kanakis <i>et al.</i> , 2012	Innocenti <i>et al.</i> , 2006	-	-
Acide Sinapique	224	Ryan <i>et al.</i> , 1999	Alu'datt <i>et al.</i> , 2010	-	-
Acide Féruilique	194	Boskou <i>et al.</i> , 2006	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	-	Cioffi <i>et al.</i> , 2010
Acide Caféique	180	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Obied <i>et al.</i> , 2007a	Mulinacci <i>et al.</i> , 2001	Mateos <i>et al.</i> , 2001
Acide <i>p</i> -Coumarique	164	Ryan <i>et al.</i> , 2002	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	Suárez <i>et al.</i> , 2010	De LaTorre-Carbot,2005
Acide Cinnamique	148	Boskou <i>et al.</i> , 2006	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	-	Mateos <i>et al.</i> , 2001
Flavonoïdes					
Hésperidine	610	Kalua <i>et al.</i> , 2006	Alu'datt <i>et al.</i> , 2010	-	-
Rutine	610	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Cardoso <i>et al.</i> , 2005	Mulinacci <i>et al.</i> , 2001	-
Cyanidine-3- <i>O</i> -rutinoside	595	Romero <i>et al.</i> , 2002	-	-	-
Lutéoline-7- <i>O</i> -glucoside	448	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Cardoso <i>et al.</i> , 2005	Mulinacci <i>et al.</i> , 2001	Yorulmaz <i>et al.</i> , 2011
Apigénine-7- <i>O</i> -glucoside	432	Obied <i>et al.</i> , 2007a	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	Suárez <i>et al.</i> , 2010	-
Quercétine	302	Rigane <i>et al.</i> , 2011	Alu'datt <i>et al.</i> , 2010	-	-
Cyanidine	287	Ryan <i>et al.</i> , 1999	-	-	-
Lutéoline	286	Ryan <i>et al.</i> , 2002	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> ,2011	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Fu <i>et al.</i> , 2009
Apigénine	270	Bouaziz <i>et al.</i> , 2005	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> ,2011	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Fu <i>et al.</i> , 2009
Lignanes					
Syringaresinol	418	-	-	-	García-Villalba <i>et al.</i> , 2010
Acétoxypinorésinol	416	López <i>et al.</i> , 2008	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> ,2011	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Fu <i>et al.</i> , 2009
Pinorésinol	358	Bonoli <i>et al.</i> , 2004	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Fu <i>et al.</i> , 2009
Hydroxy-isochromans					

1-(3'-Methoxy-4'-hydroxy)phenyl-6,7-dihydroxyisochroman	288	-	-	-	Bianco <i>et al.</i> , 2001
1-Phenyl-6,7-dihydroxyisochroman	242	-	-	-	Bianco <i>et al.</i> , 2001
Secoiridoïdes					
Oleuropéine diglucoside	702	Bouaziz <i>et al.</i> , 2010	Cardoso <i>et al.</i> , 2005	-	-
Caffeoyl-6'-secologanoside	552	Obied <i>et al.</i> , 2007a	Obied <i>et al.</i> , 2007a	Obied <i>et al.</i> , 2007a	-
Oleuropéine	540	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Cardoso <i>et al.</i> , 2005	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Bianco <i>et al.</i> , 1998
Oleuroside	540	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Obied <i>et al.</i> , 2007a	-	-
Comsélogoside	536	Obied <i>et al.</i> , 2007a	Obied <i>et al.</i> , 2007a	-	-
Deméthyleuropéine	526	Savarese <i>et al.</i> , 2007	-	-	Bianco <i>et al.</i> , 1998
Ligstroside	524	Savarese <i>et al.</i> , 2007	-	De Marco <i>et al.</i> , 2007	-
Deméthylligstroside	510	Sivakumar <i>et al.</i> , 2005	-	-	-
Acide élénolique glucoside	404	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Cardoso <i>et al.</i> , 2005	-	-
Hy-EA	378	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Cardoso <i>et al.</i> , 2005	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Fu <i>et al.</i> , 2009b
Ty-EA	362	-	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Suárez <i>et al.</i> , 2008
Ligstroside dérivé	336	-	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Suárez <i>et al.</i> , 2008
Hy-EDA	320	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Dierkes <i>et al.</i> , 2012
Ty-EDA	304	Obied <i>et al.</i> , 2007a	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	Suárez <i>et al.</i> , 2010	Dierkes <i>et al.</i> , 2012
Acide élénolique	242	Savarese <i>et al.</i> , 2007	Peralbo-Molina <i>et al.</i> , 2012	Mulinacci <i>et al.</i> , 2001	Dierkes <i>et al.</i> , 2012
Forme hydroxylée de l'acide élénolique	258	-	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	-	García-Villalba <i>et al.</i> , 2010
Forme dialdehyde du décarboxyméthyl élénolate (EDA)	184	-	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	Lozano-Sanchez <i>et al.</i> , 2011	-

(-) : Absence

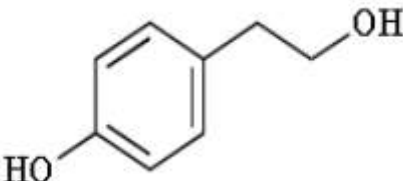
II.2.2.- Des eaux de lavage

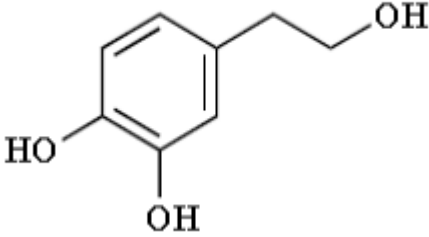
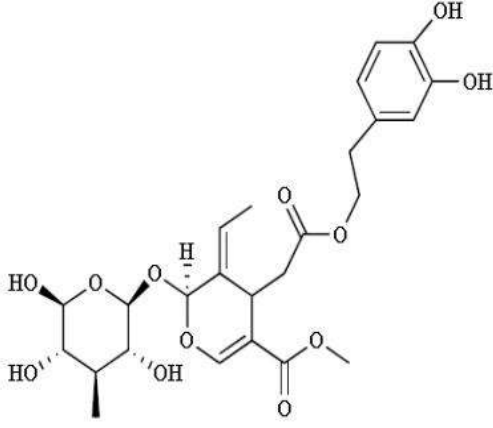
La teneur en phénols totaux (PT) est très appréciable dans les effluents oléicoles. Elle est de l'ordre de 5,5 à 12 g par litre des eaux de lavage. La fraction phénolique des eaux de lavage se caractérise par une grande complexité. Cette dernière a été étudiée dans de nombreux travaux, et plus de 30 phénols différents ont été déjà identifiés (Servili *et al.*, 1999 ; DellaGreca *et al.*, 2004 ; Obied *et al.*, 2005).

Le profil phénolique des eaux de lavage est différent de celui du fruit. Alors que les olives sont très riches en sécoiridoïdes glucosés, les eaux de lavage présentent une forte concentration en dérivés sécoiridoïdes tels que l'hydroxytyrosol, le tyrosol et l'Hy-EDA (Tableau 6.). Les eaux de lavage sont également très riches en acides phénoliques, ce qui explique leur caractère acide (De Marco *et al.*, 2007).

La variété, le système de d'extraction (type de broyage, temps et température du malaxage), l'addition de l'eau chaude et le chlorure de sodium (NaCl) lors de la trituration des olives, représentent les principaux facteurs qui affectent le rendement phénolique de l'huile d'olive et des eaux de lavage (Servili *et al.*, 1999 ; Gómez-Rico *et al.*, 2008 ; Pérez *et al.*, 2008 ; Inarejos-García *et al.*, 2009 ; Clodoveo, 2012).

Tableau 6.- Principaux biophénols présents dans les eaux de lavage des huiles oléicoles (Takaç et karakaya, 2009)

Biophénols	Structure chimique	Propriétés
Tyrosol		<p>Nomenclature de l'UICPA : 4-(2-Hydroxyethyl)phenol</p> <p>Synonymes : 4-(2-Hydroxyethyl) phenol p-Hydroxyphenethyl alcohol 4-Hydroxyphenylethanol</p> <p>Formule brute : C8H10O2</p> <p>Poids moléculaire : 138.164 Da Numéro CAS : 501-94-0</p>

<p>Hydroxytyrosol</p>		<p>Nomenclature de l'UICPA : 4-(2-Hydroxyethyl)-1,2- benzenediol</p> <p>Synonymes : 3-Hydroxytyrosol, 3,4-dihydroxyphenylethanol</p> <p>Formule brute : C₈H₁₀O₃</p> <p>Poids moléculaire : 154.16 Da</p> <p>Numéro CAS : 10597-60-1</p>
<p>Oleuropéine</p>		<p>Nomenclature de l'UICPA : 4S,5E,6S)-4-[2-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethoxy]- 2-oxoethyl]- 5-ethylidene-6-[[[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)- 2-tetrahydropyranyl]oxy]-4Hpyran-3-carboxylic acid, methyl ester</p> <p>Formule brute : C₂₅H₃₂O₁₃</p> <p>Poids moléculaire : 540.514 Da</p> <p>Numéro CAS : 32619-42-4</p>

UICPA : l'Union internationale de chimie pure et appliquée

CAS : Chemical Abstracts Service

II.3.- Propriétés biologiques des polyphénols de l'olivier

L'olivier est considéré comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques, tels que les composés phénoliques. Ces derniers sont doués d'activités biologiques extrêmement importantes (**Djenane et al., 2012**). Le nombre des travaux, qui s'intéressent à ces composés, a augmenté de façon exponentielle au cours de ces dernières années (**Vierhuis et al., 2001 ; Garcia-Castello et al., 2010**)

Les polyphénols de l'olivier sont pourvus d'un grand effet antioxydant supérieur à celui du vin rouge, du thé vert, et de la vitamine C (**Yakhlef, 2019**). Cette propriété antioxydante est associée à leur capacité à former des liaisons hydrogène intramoléculaires entre le groupe hydroxyle et les radicaux phénoxylique (**Visioli et Galli, 1998**).

Les CP de l'olivier permettent également de prévenir et de traiter les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète et les maladies neurodégénératives (**Visioli et al., 1995 ; Fabiani et al., 2002**). Ce sont aussi des excellents antimicrobiens et jouent un rôle important dans le renforcement du système immunitaire et la protection de certains tissus et organes contre les dommages oxydatifs : cerveau, foie, globules sanguins, muscles et artères. Il a été également prouvé que l'hydroxytyrosol améliore la fonction mitochondriale et pourrait donc prévenir le vieillissement cellulaire (**Yakhlef, 2019**).

II.3.1.- Effet antimicrobien des polyphénols de l'olivier

Plusieurs études ont montré que les composés phénoliques sont de bons inhibiteurs des microorganismes pathogènes (**Takahashi et al., 2004 ; Yadava et Tiwari, 2005**). Le mécanisme de l'effet antimicrobien des CP est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on cite :

- L'inhibition de la synthèse d'acides nucléiques (**Hilliard et al., 1995**)
- L'inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique (**Tsuchiya et Inuma, 2000**)
- L'inhibition du métabolisme énergétique microbien (**Haraguchi et al., 1998**)
- L'inhibition des enzymes hydrolytiques (**Cowan, 1999**).

Les composés phénoliques de l'olivier, ses produits et ses sous-produits ont la capacité d'arrêter ou de retarder la prolifération de diverses bactéries (**Bisignano et al., 1999 ; Rupasinghe et al., 2006**) et champignons (Tableau 7.) (**Pereira et al., 2006 ; Brenes et al., 2011**).

L'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et la vanilline ont été initialement identifiés comme principaux composés phénoliques inhibiteurs des microorganismes (**Bisignano et al., 1999 ; Rupasinghe et al., 2006**). Medina et ses collègues (2006) ont ensuite prouvé que les produits de l'hydrolyse de l'oleuropéine, tels que l'Hy-EDA et le Ty-EDA, ont été plus inhibiteurs que leurs précurseurs. Ces résultats ont été confirmés en testant chaque composé phénolique isolé par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), contre *Listeria monocytogenes*.

Il a été également montré que ces composés étaient aussi actifs que deux biocides synthétiques, le glutaraldéhyde (GTA) et l'orthophthalaldéhyde (OPA), vis-à-vis d'une large gamme de bactéries à Gram positif et négatif (**Medina et al., 2009**). La GTA et l'OPA interagissent

fortement avec les acides aminés, les protéines et les molécules membranaires, favorisant la perméabilisation de la membrane et la lyse cellulaire (Simoes *et al.*, 2006).

Tableau 7.- L'effet antimicrobien des extraits phénoliques des produits et sous-produits de l'olivier (olives, huile d'olive et grignons d'olives)

	Microorganisme	Référence
Olives	<i>Escherichia coli</i>	(Medjkouh <i>et al.</i> , 2016)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Haemophilus influenzae</i>	(Bisignano <i>et al.</i> , 1999)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	
	<i>Salmonella typhi</i>	
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Huile d'olive	<i>Listeria monocytogenes</i>	(Medina <i>et al.</i> , 2006)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Salmonella enteritidis</i>	
	<i>Yersinia sp.</i>	
	<i>Shigella sonnei</i>	(Romero <i>et al.</i> , 2007)
Grignons d'olives	<i>Alternaria solani</i>	(Winkelhausen <i>et al.</i> , 2005)
	<i>Botrytis cinerea</i>	
	<i>Fusarium culmorum</i>	

II.3.2.- Effet antimicrobien des polyphénols des eaux de lavage

Les eaux de lavage contiennent plusieurs composés phénoliques qui ont des propriétés phytotoxiques et antimicrobiennes (Tableau 8.) (Ramos-Cormenzana, 1996). L'effet inhibiteur des CP des margines a été montré contre la sporulation des bactéries telluriques ainsi que la croissance des bactéries Gram positives et Gram négatives (Pérez *et al.*, 1992 ; Capasso *et al.*, 1995 ; Larif et Khiri, 2015 ; Leouifoudi *et al.*, 2015 ; Roila *et al.*, 2016).

Elles agissent sur les bactéries en dénaturant leurs protéines cellulaires et en altérant leurs membranes cytoplasmiques (Yakhlef, 2019). Nombreuses études ont également révélé l'action

des polyphénols des effluents oléicoles sur la croissance des champignons (**Özdemir, 2009 ; Vagelas *et al.*, 2009**) et des algues (**DellaGreca *et al.*, 2001**).

En plus du coût élevé des opérations d'extraction, la récupération des polyphénols des eaux de lavage reste une tâche analytique difficile pour plusieurs raisons. Les phénols sont des espèces chimiques réactives, vulnérables à l'oxydation, à la conjugaison, à l'hydrolyse, à la polymérisation, ceci est aggravé par le contact direct de ces polyphénols avec les enzymes et les substrats (protéines, lipides, polysaccharides) qui se trouvent en grande quantités dans les eaux de lavage (**Obeid *et al.*, 2005**).

L'analyse immédiate des eaux de lavage fraîches est donc toujours la situation idéale, en raison des modifications possibles dans leur composition chimique lors de la manipulation de l'échantillon (**Bianco, 2003**). Plusieurs auteurs ont recommandé l'utilisation des eaux de lavage brutes, filtrées et stérilisés comme agents antibactériens et antifongiques. Ces eaux de lavage ont présenté des résultats similaires à leurs extraits phénoliques (**Capasso *et al.*, 1995 ; Visioli et Galli, 1998 ; Vagelas *et al.*, 2009 ; Esmail *et al.*, 2015**).

Il faut signaler que les polyphénols de l'olivier ne sont pas disponibles commercialement en grande quantité. Plusieurs méthodes ont été proposées pour leur synthèse chimique (**Tuck et Hayball, 2002**) ou enzymatique (**Espin *et al.*, 2001**), mais les protocoles sont généralement lents et coûteux. La récupération des polyphénols des effluents oléicoles offre donc une double opportunité d'obtenir des biomolécules à haute valeur, et de réduire la toxicité environnementale de eaux de lavage.

Tableau 8. Activité antimicrobienne des eaux de lavage brutes et leurs extraits phénoliques

Microorganisme	Espèce	Référence
Algues	<i>Ankistrodesmus braunii</i>	(DellaGreca et al., 2001)
Champignons	<i>Fusarium solani</i>	(Yangui et al., 2008)
	<i>Botrytis cinerea</i>	(Vagelas et al., 2009)
	<i>Aspergillus flavus</i>	(Senani-Oularbi et al., 2018)
Bactéries	<i>Clavibacter michiganensis</i>	(Özdemir, 2009)
	<i>Pseudomonas syringae</i>	(Capasso et al., 1995 ; Özdemir, 2009)
	<i>Corynebacterium michiganense</i>	(Capasso et al., 1995)
	<i>Bacillus subtilis</i>	(Obied et al., 2007b)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	(Roila et al., 2016)
	<i>Proteus sp</i>	(Obied et al., 2007b ; Tafesh et al., 2011 ; Esmail et al., 2015 ; Leouifoudi et al., 2015)
	<i>Enterococcus faecalis</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	(Tafesh et al., 2011)
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	(Krid et al., 2011)	



**Partie
Expérimentale**



**Chapitre III.-
Matériel et
Méthodes**

III.1.- Objectif de travail

Dans cette partie expérimentale, nous sera précisé :

- Les analyses physico-chimiques des eaux de lavage
- L'extraction et dosage de ces composés phénoliques
- L'évaluation de l'activité synergique antibactérien des extraits phénoliques issus des eaux de lavage vis-à-vis des souches pathogènes (Figure 15.)

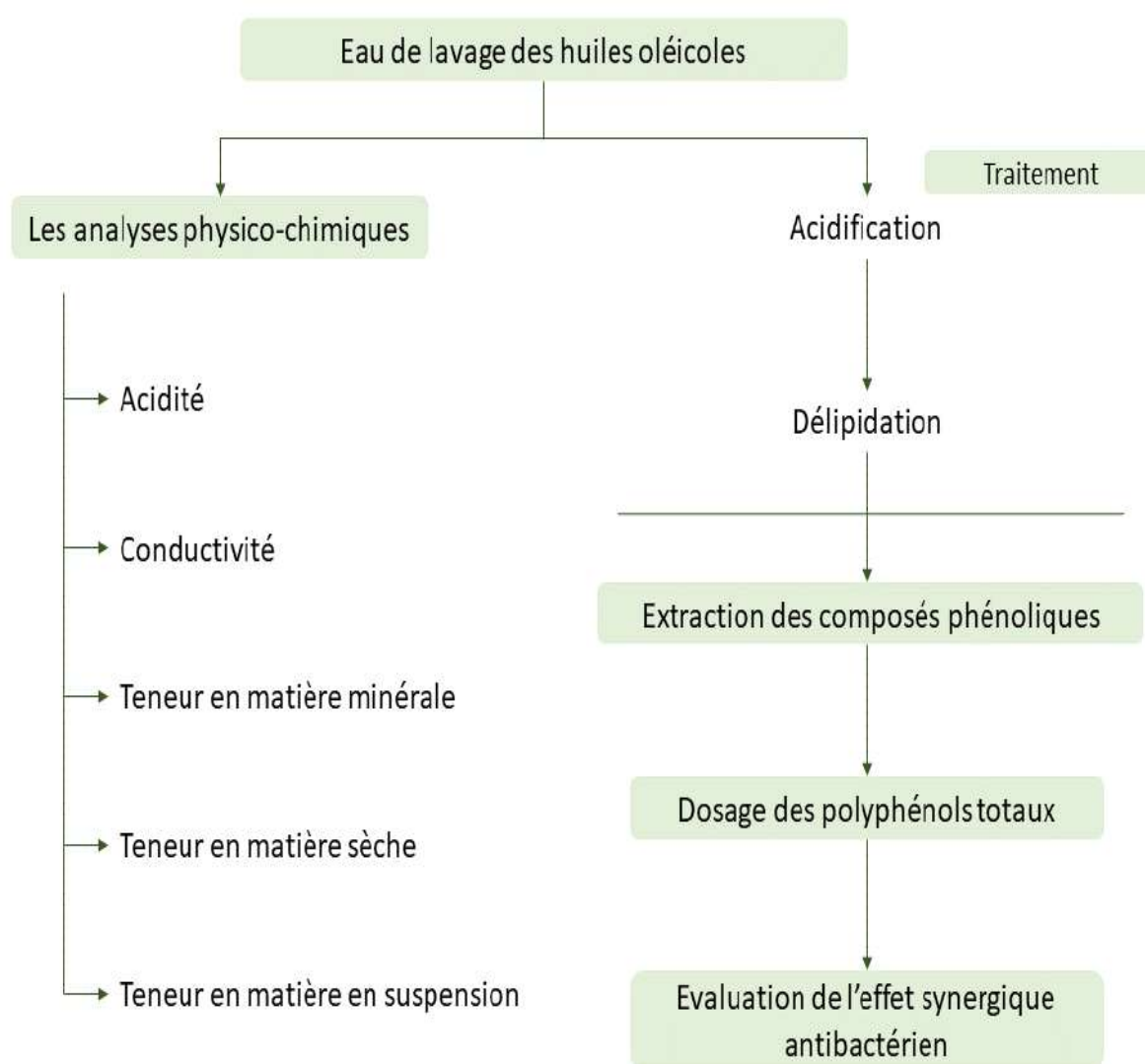


Figure 15.- Diagramme représentant l'objectif de notre étude

III.2.- Echantillonnage

Les échantillons qui sont utilisés dans cette étude ce sont des d'eaux de lavage des huiles oléicoles (les margines). Cela a été obtenus à partir des olives de la variété "chemlal" de la région EL Oued.

Ces eaux de lavage sont venues d'une unité industrielle de trituration équipée en chaînes continues du système de centrifugation à trois phases.

Les échantillons ont été prélevés au cours du mois de Mars pour l'année 2020/2021 et acheminé au laboratoire dans des flacons de 1.5 l puis ils sont stockés et conservés à l'abri de la lumière à 4°C (environnement non oxygéné), jusqu'à l'utilisation.

III.3.- Matériels et Méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du Laboratoire pédagogique de la microbiologie de l'université Kasdi Merbeh Ouargla et dans le centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimique (CRAPC)

III.4.- Caractéristiques physico-chimiques des eaux de lavage

Les caractéristiques physico-chimiques des eaux de lavage sont basées sur les paramètres suivants : L'acidité, Conductivité électrique, Matière en suspensions, Matière sèche, Matière minérale (Cendre).

III.4.1.- Détermination du pH

Il y'a deux méthodes pour mesurer le potentiel hydrogène l'un des méthodes est à l'aide de papier pH et l'autre à l'aide de pH-mètre. Ce dernier est une méthode plus longue, mais il permet une meilleure précision.

Principe

Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres (H) contenue dans l'échantillon (AFNOR, 1983).

Matériels et produits utilisés

- pH-mètre du type OHAUS (Annex I)
- Bécher

- L'eau distillée
- Papier absorbant

Mode opératoire

Le mode opératoire utilisés est comme suite (Rejeseck, 2003) :

1. Régler la température du pH mètre sur le milieu ambiant, rincer toujours la sonde à l'aide d'eau distillée, puis on l'essuie
2. Prendre 100 ml des eaux de lavage brute bien homogénéisée à analyser dans un bécher
3. Plonger verticalement la sonde dans la solution à analysés
4. Appuyer sur le bouton, attendre jusqu'a que la valeur du pH se stabilise
5. Noter la valeur

Le test est répété trois fois

III.4.2.- Détermination de la conductivité électrique

Mesure de la conductivité électrique d'une colonne de liquide, délimitée par deux électrodes de platine maintenues parallèles, constituant l'une des branches d'un pont de Wheatstone. La conductivité varie avec la T°. Elle est exprimée à 20 °C

Principe

La conductivité est la capacité d'une solution à faire passer le courant électrique. Elle est exprimée par microsiemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ou en millisiemens par centimètre (mS/cm) (Anonyme, 2013)

Matériels et produits utilisés

- Conductimètre du type OHAUS (Annex I)
- L'eau distillée
- Tube de mesure
- Papier absorbant

Mode opératoire

Le mode opératoire utilisés est comme suite (Rejeseck, 2003) :

1. Réaliser un étalonnage préalable par rinçage de la sonde avec l'eau distillée puis l'essuyée très légèrement avec papier absorbant
2. Déposer la sonde verticalement dans un tube de mesure qui contient un volume des eaux de lavage brute bien homogénéisée
3. Appuyer sur le bouton, attendre jusqu'à que la valeur se stabilise
4. Noter la valeur

NB : prenant en considération la température à laquelle la mesure a été faite

Le test est répété trois fois

III.4.3.- Détermination de la matière minérale (cendre)

Principe

Incinérées à 550°C les eaux de lavage jusqu'à une masse constante dans un four à moufle. La matière organique correspond à la différence entre le poids sec et les cendres (correspondant à la MM) qui en résultent. (AOAC, 1990)

Matériels et produits utilisés

- Four à moufle du type protherm (**Annex I**)
- Dessiccateur (**Annex I**)
- Balance du type OHAUS (**Annex I**)
- Creuset en porcelaine

Mode opératoire

Le mode opératoire utilisés est comme suit : (AOAC, 1990)

1. Prendre un volume de 100 ml des eaux de lavage brute bien homogénéisée placée dans une Creuset en porcelaine préalablement séché et pesé
2. Dépose-là dans un four à moufle à 550°C pendant 4 h

3. Après incinération, refroidir dans un dessiccateur et pesé dès qu'il atteint la T° du laboratoire

Le test est répété trois fois

III.4.4.- Détermination de la matière sèche (MS)

La « matière sèche » est le résidu sec obtenu par évaporation de l'échantillon à analysés. Elle est exprimée en pourcentage ou en masse

Principe

Elle est déterminée en calculant la différence entre le poids de l'échantillon humide et celui de l'échantillon séché (Tovar *et al.*, 2002)

Matériels et produits utilisés

- Etuve du type memmert (**Annex I**)
- Balance du type OHAUS (**Annex I**)
- Dessiccateur (**Annex I**)
- Bécher

Mode opératoire

Le mode opératoire utilisés est comme suit :

1. Prendre un volume de 100 ml des eaux de lavage brute bien homogénéisée et placée dans un bécher préalablement séché et pesé (**Po**)
2. Dépose-là dans une étuve pour sécher à 105°C pendant 24 h
3. Après séchage, l'échantillon est ensuite refroidi dans un dessiccateur et pesé dès qu'il atteint la température du laboratoire (**Ps**).
4. La teneur en matière sèche est exprimée en g/l

$$\text{Humidité (\%)} = (P - Ps) / (P - Po)$$

$$\text{MS (\%)} = 100 - \text{Humidité (\%)}$$

- ❖ P = poids du bécher + l'échantillon avant séchage.
- ❖ P_s = poids du bécher + l'échantillon après séchage.
- ❖ P_o = poids du bécher vide.

Le test est répété trois fois

III.4.5.- Détermination de la matière en suspension

Principe

Elle est déterminée par filtration sur des filtres de porosité 0,45 μm de diamètre, soit par centrifugation (2800 à 3200 g/15min). (Rodier ,1996)

Matériels et produits utilisés

- Centrifugeuse du type Hettich (**Annex I**)
- Etuve du type memmert (**Annex I**)
- Balance du type OHAUS (**Annex I**)
- Dessiccateur (**Annex I**)
- Bécher
- Pipette graduée
- L'eau distillée

Mode opératoire

Le mode opératoire utilisés est comme suit :

1. Centrifuger un volume de 100 ml des eaux de lavage brute bien homogénéisée à 3200 t/mn pendant 15 min
2. Séparer le liquide surnageant par aspiration à l'aide d'une pipette graduée sans perturbation du dépôt
3. Ensuite à l'aide d'une spatule et l'eau distillée prendre le culot qui existe au fond du tube à centrifuger et transvaser dans un bécher préalablement séché et pesé.

4. Dépose-là dans une l'étuve pour séchage à 105°C jusqu'à obtention d'une masse constante.
5. Après séchage, l'échantillon est refroidi au dessiccateur et pesé dès qu'il atteint la température du laboratoire.
6. La teneur en MES est calculée par différence de poids d'échantillon avant et après centrifugation et séchage à l'étuve à 105°C pendant 24 h selon :

$$\text{MES} = \text{PF} - \text{PS} / \text{PF}$$

- ❖ MES : Teneur en matière en suspension
- ❖ PS : Poids de l'eau de lavage séché
- ❖ PF : Poids de l'eau de lavage filtré

Le test est répété trois fois

III.5.- Traitement des eaux de lavage

Avant de procéder à l'extraction à l'aide d'un solvant extracteur on fait l'acidification, puis délipidation des eaux de lavage préalablement filtrée

Le traitement des eaux de lavage et l'extraction liquide-liquide des phénols ont été faits selon la méthode décrite par De Marco et al. (2007) avec quelques modifications.

III.4.1.- Acidification

Principe

L'acidification consiste à favoriser la précipitation des protéines, la libération des biophénols liés aux composants de la paroi cellulaire, et l'élévation de la solubilité des composés phénoliques dans les solvants organiques (**Obied et al., 2005a**). Elle provoque une hydrolyse du complexe des composés phénoliques, et en conséquence, la libération des monomères phénoliques, et donc une augmentation de la concentration des phénols totaux trouvés dans un extrait d'eau de lavage acidifiée par rapport à un extrait d'eau de lavage fraîche (sans acide) (**De Marco et al., 2007**).

Selon **Greco et al. (1999)** les acides ont le pouvoir de flocculer les espèces à haut poids moléculaire des eaux de lavage.

Matériels et produits utilisés

- Centrifugeuse
- Acide chlorhydrique
- pH-mètre
- Bécher
- Papier filtre
- Entonnoir
- Passoir

Mode opératoire de l'acidification

1. Avant l'acidification, prend un volume de 200 ml des eaux de lavage brute bien homogénéisée.
2. Filtrer par passoire et centrifugées dans des conditions réfrigérées (4°C) à 4000 t/mn pendant 20 min.
3. Verser le liquide surnageant seulement sans prendre le précipité dans un autre bécher qui contient un entonnoir avec de papier filtre.
4. Laisser l'échantillon jusqu'à la filtration terminée
5. Déposée dans un bécher une quantité des eaux de lavage préalablement filtrée quelques gouttes de HCL de (4 N) jusqu'à atteindre le pH 2

III.4.2.- Délipidation**Matériels et produits utilisés**

- Centrifugeuse
- Hexane
- Bécher
- Eprouvette

- Ampoule à décanté

Mode opératoire

1. Les eaux de lavage préalablement acidifier par HCL sont mélanger avec un volume de 300 ml de l'hexane
2. Centrifuger dans des conditions réfrigérées (4°C) à 4000 tours pendant 20 min
3. Ensuite verser la tout dans l'ampoule à décanté avec une bien agitation
4. Laisser décanter.
5. Quand la décantation est terminée récupérer la phase inferieur dans un béccher et rejeté la phase supérieure

NB : La phase hexanique est séparée, la délipidation est répétée deux fois successivement

III.6.- Extraction des composés phénolique par acétate d'éthyle

Principe

L'acétate d'éthyle est fréquemment utilisé pour l'extraction des biophénols des matrices aqueuses telles que les eaux de lavage (**Lesage-Meessen *et al.*, 2001 ; Della Greca *et al.*, 2004**).

L'acétate d'éthyle possède un pouvoir extracteur élevé par rapport à d'autres solvants tels que méthylisobutylcétone, méthyléthylcétone, et l'éther diéthylique, même s'il est assez sélectif à l'égard des composés phénoliques de faible (180 Da) et de moyenne (environ 13 kDa) masse. L'acétate d'éthyle n'extrait pas les molécules de haut poids moléculaire qui restent dans la phase aqueuse (**Visioli *et al.*, 1999**) et il extrait les composés phénoliques hydrosolubles des eaux de lavage (**El Hadrami *et al.*, 2004**).

Matériels et produits utilisés

- Rotavapor du type RE100-pro (**Annex I**)
- Centrifugeuse
- Acétate d'éthyle
- Sulfate de sodium anhydre
- Méthanol

- Bécher
- Epprouvette
- Ampoule à décanter
- Papier filtre
- Entonnoir
- Micro pipette

Mode opératoire

1. Mixées les eaux de lavage préalablement délipidées avec 200 ml d'acétate d'éthyle
2. Secouer vigoureusement le mélange dans une ampoule à décanter (15 min)
3. Centrifuger à 4000 t/mn pendant 20 min dans des conditions réfrigérées (4°C) à l'aide d'une centrifugeuse.
4. Les phases sont séparées et l'extraction est répétée quatre fois successivement.
5. Collecter et combiner les 3 phases d'acétate d'éthyle contenant les composés phénoliques
6. L'eau dissoute est enlevée avec du sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄), filtrer
7. Évaporer le solvant sous vide dans un évaporateur rotatif à 40°C.
8. Conserver le résidu sec dans 2 ml du méthanol à -18°C, cette solution est utilisée pour le dosage, la quantification et la détermination de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques.

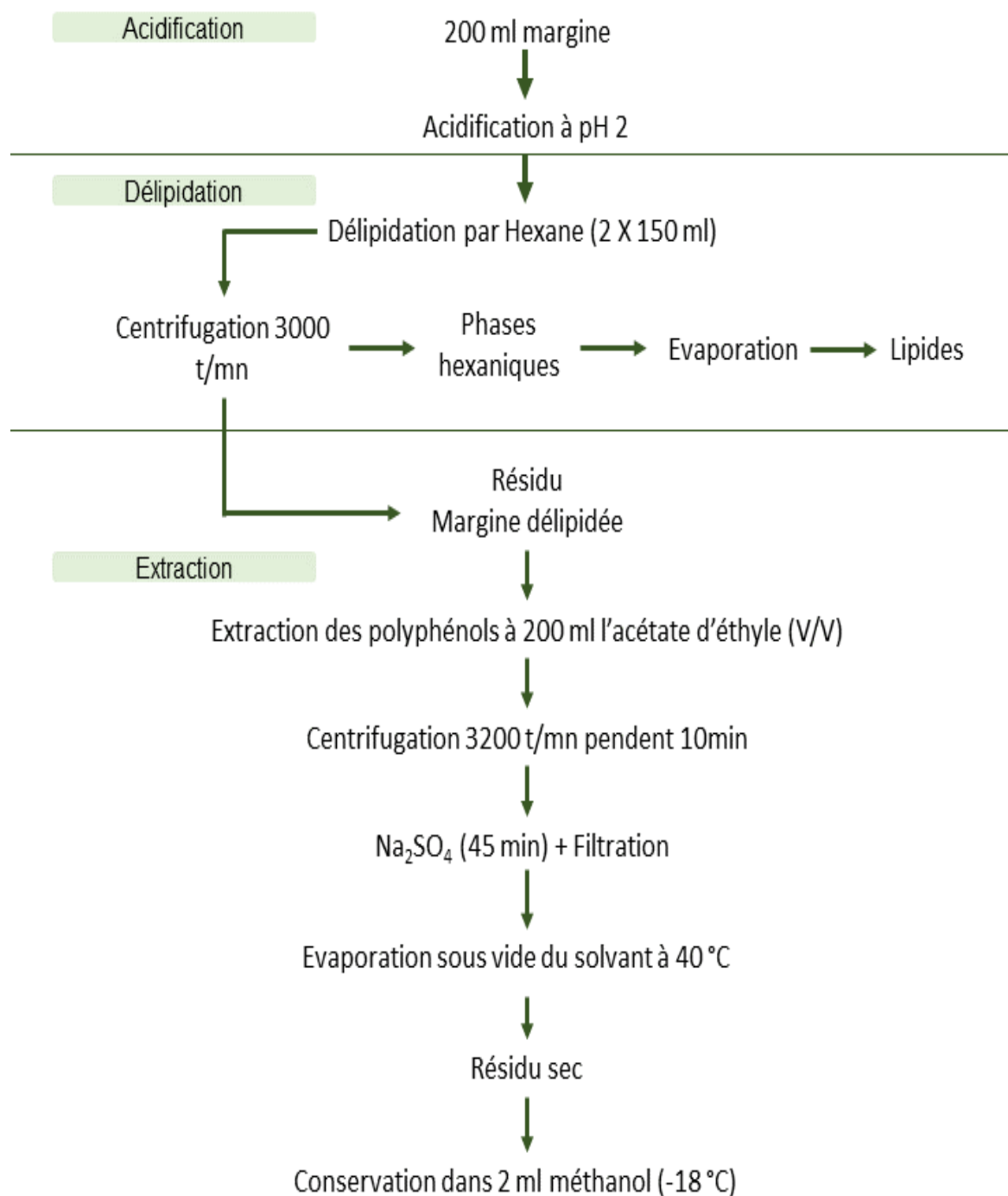


Figure 16.- Diagramme représentant l'extraction des composés phénoliques des eaux de lavage (Bourmed, 2011).

III.7.- Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été effectuée par la méthode Folin-Ciocalteu (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W₈O₂₃) et molybdène (MO₈O₂₃). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les eaux de lavage (**Boizot et Charpentier, 2006**).

La lecture de la densité optique à 725 nm permet de déterminer la concentration des polyphénols, en se référant à une courbe étalon établie à partir d'une série de solutions standards de l'acide gallique traitées au réactif F-C ayant les concentrations suivantes : 0.6, 1.2, 1.8, 3, 6 mg/l (**Tableau 9**).

Tableau 9.- Les absorbances à 725nm en fonction des concentrations d'acide gallique (**Bourmed, 2011**).

Concentrations (mg AC.Gal/l)	0.6	1.2	1.8	3	6
Absorbances	0.064	0.122	0.19	0.311	0.619

AC.Gal/l : Acide Gallique sur litre

- **Préparation des concentrations d'acide gallique utilisées pour la gamme étalon**

La solution mère de l'acide gallique :

1. Dissoudre dans une fiole de 100 ml une quantité de 0.5 g de l'acide gallique sec dans 10 ml de l'éthanol
2. Diluer avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

Les concentrations de l'acide gallique :

1. Mettre 1, 2, 3, 5 et 10 ml de la solution mère dans une fiole jaugée de 100 ml
2. Diluer au volume avec de l'eau distillée.

Ces solutions auront des concentrations en phénols (Ac.Gal) de 50, 100, 150, 250 et 500 mg/l (Bourmed, 2011).

Mode opératoire de dosage

Les phénols totaux des margines sont déterminés par colorimétrie à 725 nm, selon la méthode de **Gutfinger (1981)** modifiée par **Lafka et al. (2007)**. Le mode opératoire utilisés est comme suit :

1. Diluer 0.5 ml des extraits phénoliques concentrés dans 20 ml d'eau distillée.
2. Introduire 0.3 ml des extraits phénoliques dilués, 20 ml d'eau distillée et 0.625 ml de réactif F-C dans des fioles de 25 ml.
3. Après 3 min, ajouter 2.5 ml de la solution saturée de carbonate de sodium (Na_2CO_3) 35%.
4. Agiter le contenu et diluer le volume avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.
5. Préparer un blanc, dans les mêmes conditions, en éliminant l'extrait Maintenir les fioles préparées à l'obscurité pendant 1 h.
6. Lire les densités optiques à 725 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent acide gallique par litre de margine (mg Ac.Gal/l).

Toutes les étapes du dosage des polyphénols totaux sont résumées dans le diagramme illustré par la figure 17.

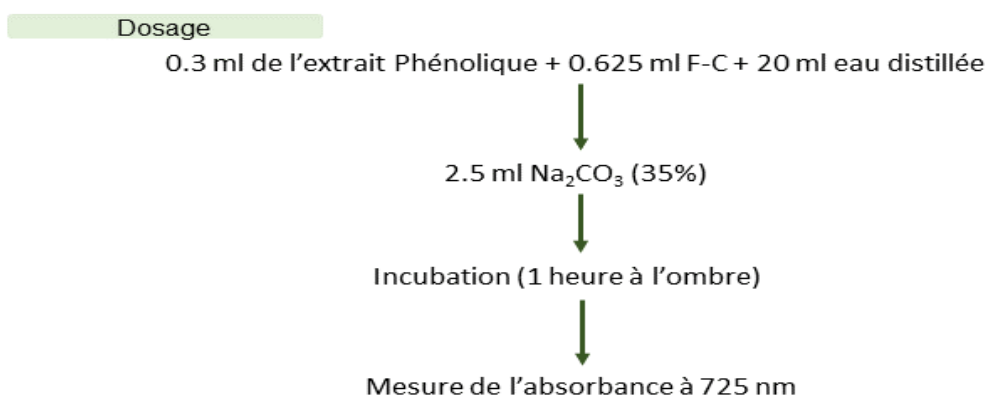


Figure 17. Diagramme représentant le dosage des polyphénols totaux des eaux de lavage (Bourmed, 2011).

III.8.- Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait phénoliques qui obtenu par les étapes précédant, a été réalisée par méthode de diffusion en gélose décrite par Daas Amiour et al. Et évaluée qualitativement et quantitativement avec la présence ou l'absence de zones d'inhibition (Yin *et al.*,2013).

Mode opératoire

III.8.1.- Revivification des souches bactériennes

La revivification des souches bactériennes est une étape essentielle et nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle. Donc, elle a pour but l'obtention d'une culture jeune et pure (Bouchouka,2016).

Matériels et produits utilisés

- Gélose nutritive (Annex I)
- Bouillon nutritive (Annex I)
- Etuve
- Bec bunsen
- Tubes à essai
- Boîtes pétri stériles

Mode opératoire

1. À partir d'une culture pure sur milieu d'isolement gélose nutritive, ont été préparées des suspensions (inoculum de 10 ml bouillon nutritive dans des tubes stérile)
2. Chacune des souches bactériennes à tester et incubée par la suite dans l'étuve à 37°C pendant 24h puis conservées à 4°C. (Daas Amiour *et al.*, 2014).
3. Dans une zone stérile, ensemercer en stries des suspensions bactériennes conservées à 4°C à la surface de la gélose nutritive préalablement coulée et solidifiée dans les boîtes de Pétri.

4. Les boîtes de Pétri qui renfermant chacune une souche de bactérie sont par la suite incubées à 37°C pendant 24h (Abbassi et Touil, 2019).

Les souches bactériennes testées qui utilisée dans cette activité comprenaient les souches de référence ATCC (American Type Culture Collection), sont présentées dans le tableau 10.

Tableau 10.- Quelques caractéristiques des souches bactériennes testées

Les souches testées	Le code	Caractéristiques
<i>Bacillus megaterium</i>	ATCC14581	Bâtonnet à Gram+, aérobic strict, catalase positive, considéré comme non pathogène et est rarement isolé comme agent pathogène opportuniste chez les personnes présentant déjà des problèmes de santé.
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC14579	Gram+, aéro-anaérobic, ubiquitaire synthétisant deux types de toxines : une toxine thermostable et une toxine thermolabile. Responsable d'intoxications alimentaires opportunistes
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	Cocci à Gram+ ubiquitaire, commensal de l'homme et se révèle être pathogène opportuniste. Responsable d'infections nosocomiales, d'intoxications alimentaires et sa résistance aux antibiotiques est parfois un grand problème pour le traitement des patients.
<i>Escherichia coli</i>	ATCC11303	Bacille aérobie et Gram- que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud.
	ATCC25922	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC9027	Bacille aérobie, Gram-, souvent responsable d'infections nosocomiales (germe ubiquitaire). C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement

III.8.2.- Suspension bactérienne

Mode opératoire

1. Prélever à partir des cultures jeunes préparées quelques colonies des bactéries puis mettre dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %.
2. Agiter par la suite les tubes au vortex pendant quelques secondes.
3. Réaliser une lecture de la densité de chacune des suspensions microbiennes préparées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm.

NB : La densité optique obtenue doit être comprise entre 0,1 et 0,2 pour les bactéries, qui correspondent à une concentration de 10^8 UFC/ml (**Reghioua *et al.*, 2006 ; Ouis, 2015**).

III.8.3.- Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes

La gélose Mueller–Hinton est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion ou de dilution en gélose (**Fiche Technique MUELLER – HINTON**).

Principe

La standardisation du milieu de Mueller-Hinton est nécessaire pour obtenir des résultats fiables au niveau de l'antibiogramme (**Fiche Technique MUELLER – HINTON**).

Matériels et produits utilisés

- Milieu Mueller-Hinton (**Annex I**)
- Etuve
- Bec bunsen
- Boites pétri stériles

Mode opératoire

1. Liquéfier le milieu de culture M-H préalablement préparer (Milieu pour les bactéries) dans un bain marie
2. Dans une zone stérile, couler aseptiquement les milieux en sur fusion dans des boîtes de Pétri stériles à raison de 6 mm par boîte.

3. Laisse refroidir et solidifier sur la paillasse
4. Incuber les boîtes de pétri à 37°C dans une étuve pendant 24h
5. Réaliser un ensemencement par écouvillonnage à l'aide d'un coton-tige stérile contenue des suspensions microbiennes et on verse en tournant la boîte (**Hoekou et al., 2012**)

III.8.4.- Préparation des dilutions

Différentes concentrations (0.5 ; 1 ; 2.5 ; 5 mg/ml) d'extrait phénoliques ont été préparé dans DMSO (**Vora et al., 2017**).

III.8.5.- Préparation et dépôt des disques

Principe

À partir des disques imprégnés de notre extrait. Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque (**Shariffar et al., 2007**).

Matériels et produits utilisés

- Etuve
- Papier Wattman N° 3

Mode opératoire pour la préparation des disques

1. Des disques de 6 mm de diamètre sont découpés du papier Wattman N° 3
2. Ensuite stérilisés dans une étuve pendant 20 min à 120°C (**Yin et al., 2013**).

Mode opératoire pour le dépôt des disques

1. Prélever aseptiquement à l'aide d'une pince stérile 4 disques absorbant stérile
2. Imprégner les disques d'une petite quantité (10µl) de quatre concentrations de l'extrait phénolique à tester
3. Par la suite déposer délicatement sur la surface de la gélose M-H préalablement préparée et inoculée (3 boîtes pour chaque espèce) (**Daas Amiour et al., 2014 ; Labiod, 2016**).

NB : Un disque préparé imbibé de DMSO est utilisé comme contrôle négatif

III.8.6.- Incubation

On incube les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24h pour les bactéries (Daas Amiour *et al.*, 2014)

III.8.7.- Lecture des résultats

La lecture des résultats est effectuée en fonction de l'existence ou non des zones d'inhibition et par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions autour des disques. La sensibilité des espèces à l'extrait phénolique a été estimée par la mesure du diamètre de zone d'inhibition comme suit :

- Non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm
- Sensible (+) pour un diamètre entre 9 à 14 mm
- Très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15 à 19 mm
- Extrêmement sensible (+ + +) pour le diamètre plus que 20 mm (Moreira *et al.*, 2005)

III.9.- Détermination des paramètres d'inhibition : CMI, CMB

III.9.1.- Détermination de la CMI par la méthode de diffusion sur gélose

Les boîtes ayant montré une activité antibactérienne positive, sont sélectionnés pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de diffusion sur gélose. La CMI d'un extrait phénolique vis-à-vis d'une souche testée correspond à la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe. Des dilutions successives progression géométrique de raison 1/2 ont permis de préparer une gamme de dilution (Saffidine, 2015)

III.9.2.- Détermination de la CMI et la CMB par la méthode de micro-dilution

L'évaluation des pouvoirs bactéricides et bactériostatiques des extraits phénoliques ayant révélé une activité antibactérienne, a été effectuée en utilisant la technique de micro-dilution en milieu liquide. Les CMI et CMB sont déterminées après observation des cultures. La CMB (99,99% de destruction microbienne), a été déterminée par comparaison à une boîte témoin ensemencée avec différentes dilutions de l'inoculum bactérien (Saffidine, 2015)

Mode opératoire

Les CMI des extraits phénoliques étudiées, sont déterminées selon le mode opératoire suivant :

- Préparation une gamme de concentrations avec des dilutions (de gradient 2)

1. Distribuer à partir de l'extrait phénolique un volume de 25 μl des dilutions
2. Deux puits représentent respectivement le témoin de culture des bactéries et le témoin de stérilité du milieu de culture MH.
3. L'inoculum bactérien est préparé dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à partir de cultures pures de 24 heures.
4. La densité de la suspension, mesure effectuée sur densitomètre, est ajustée à 0.5 Mac Farland (10^8 CFU/ml). Les cupules de la microplaque sont inoculées avec de 5 μl de la suspension bactérienne (diluée au 1/10ème), à l'exception d'une colonne qui correspondant de témoin négatif.
5. 70 μl de milieu Muller Hinton sont répartis dans les puits de la microplaque. Les inocula sont de $5 \cdot 10^5$ UFC/ml.
6. Incuber par la suite les plaques à 37 °C pendant 24 heures.
7. Après incubation, une éventuelle croissance est révélée par la présence d'un trouble au fond de la cupule.
8. La CMI est définie comme la concentration minimale d'extrait pour laquelle on n'observe pas de croissance visible à l'œil nu.
9. Les plaques n'ayant montré aucune croissance microbienne visible à partir de la CMI, sont réisolés sur la gélose Muller-Hinton.
10. L'ensemencement est fait par stries parallèles de 3 cm de long à la surface de la gélose.
11. Après 24h d'incubation à l'étuve à 37 °C, le nombre de colonies sur les stries a été comparé à celles de la boîte témoin ensemencée avec des stries des dilutions de l'inoculum bactérien (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}). La plus faible concentration pour laquelle on n'observe aucune colonie microbienne (99,99% de destruction) correspond à concentration minimale bactéricide (CMB). (Saffidine, 2015)

III.10.- L'effet synergique antibactérien des extraits phénoliques

L'effet synergique entre l'extrait phénolique des eaux de lavage et les souches bactériennes utilisée est évalué par la méthode de diffusion des disques décrite précédemment.

Mode opératoire

1. Imprégner des disques en papier wattman N° 3 de l'extrait phénolique issus des eaux de lavage dans le DMSO
2. Sécher dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures
3. Déposer délicatement sur l'agar ensemencé préalablement avec une suspension bactérienne des souches testées.
4. Après incubation à 37° C, les diamètres des zones claires d'inhibition autour des disques sont mesurés en mm. (**Chanda et al., 2013**)

Les zones d'inhibition observées pour les combinaisons entre les extraits phénoliques et les souches bactérienne sont comparées à la moyenne des zones d'inhibition des extraits testés seuls. Les zones d'inhibition pour chaque extrait testé seul ou combiné sont également comparées. Une différence significative ($\geq 5\text{mm}$) montre un effet synergique (**Chanda et al., 2013**)

Les effets antibactériens des associations de ces extraits phénoliques, sont définis en réponse aux interactions de manières suivantes (**Saffidine, 2015**) :

- **Indifférence** : l'activité d'un extrait phénolique n'est pas affectée

- **Addition** : l'effet de l'extraits phénoliques est égal à la somme des effets de chaque extrait étudié isolément : $(A + B) = \text{effet A} + \text{effet B}$.

- **Synergie** : l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque extrait phénolique étudié isolément : $(A + B) > \text{effet A} + \text{effet B}$.

- **Antagonisme** : l'association diminue l'activité. Elle est inférieure à la somme des effets de chaque extrait phénolique pris séparément : $(A+B) < \text{effet A}$ ou effet B .

A : extrait phénolique seul / B : extrait phénolique avec standard

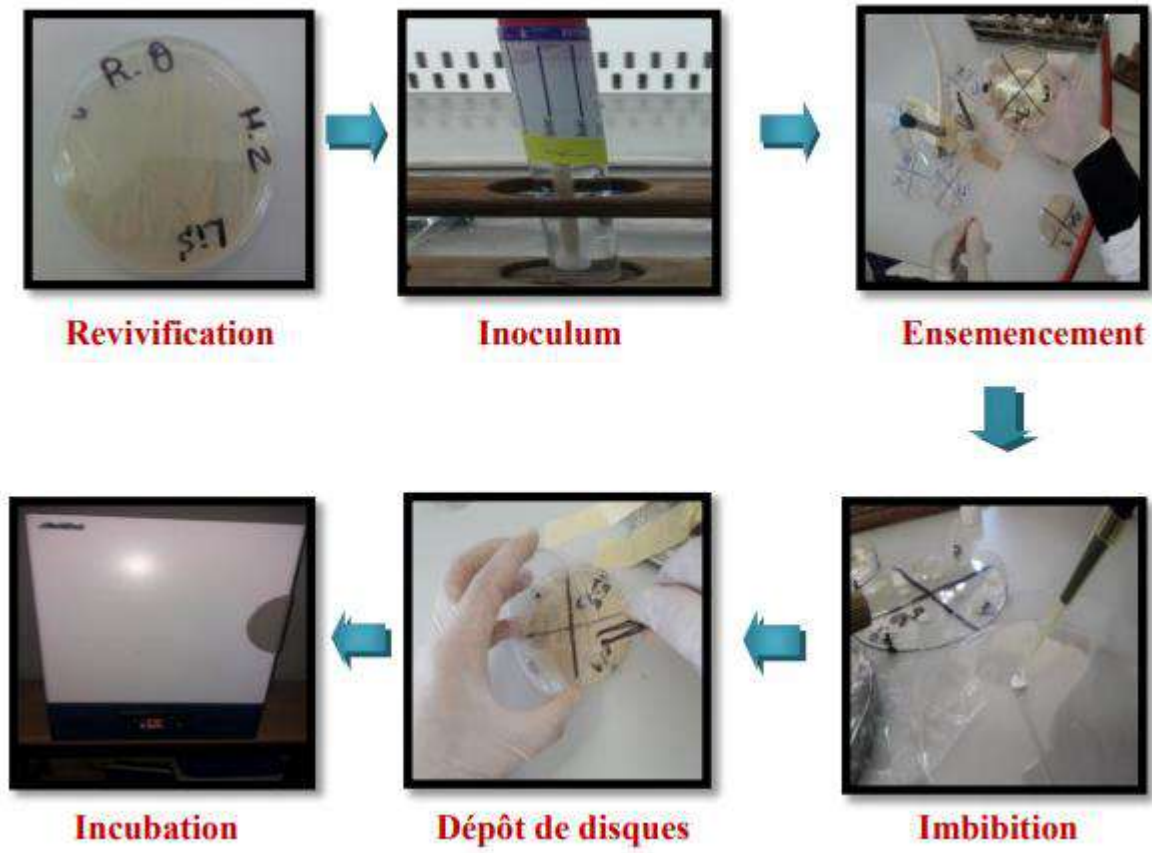


Figure 18. - Schéma résume le protocole de l'activité antimicrobienne (Abbassi et Touil, 2019)



**Chapitre IV.-
Résultats et
Interprétations**

IV.- Résultats et interprétations

III.4.- Caractéristiques physico-chimiques des eaux de lavage

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques des eaux de lavage brutes, utilisées dans notre étude sont présentes comme la suit :

Tableau 11.- Les caractérisations physico-chimiques des eaux de lavage étudiée

Paramètre	Valeur
pH	4.71
Conductivité électrique	6.38 ms/cm
Matière minérale	0.503g/l
Matière sèche	2.0941g/l
Matière en suspension	1.942g/l

III.4.1.- Détermination du pH

La valeur du pH initiales des eaux de lavage brutes mesurée avant leur acidification est de l'ordre de **4,60**. ce résultat indique le caractère acide des eaux de lavage dont l'acidité varie entre **4,5** et **6**. Cette valeur se trouve dans la fourchette citée dans la littérature (**Lamraoui et Kaddour, 2018 ; Chikhi et Nazef, 2018**) dont les valeurs du pH sont respectivement : **4.8** et **4.84**. L'acidité des eaux de lavage est généralement due à leur richesse en acides organiques (acides phénoliques, acides gras, ...) (**Capasso et al., 1992b**).

III.4.2.- Détermination de conductivité électrique

Conductivité électrique La conductivité électrique constitue un indicateur du degré de la minéralisation globale des eaux. Dans notre étude les eaux de lavage montrent une valeur de conductivité électrique très faibles de **6.38 ms/cm** comparativement à celles trouvées pour les eaux de lavage par **Bendjedou et Selaimia (2020) (10.35 ms/cm)** et **Chikhi et Nazef (2018) (13.3 ms/cm)** et très proche à celle trouvée par **Larid et Elaichi (2019) (6.2 ms/cm)**. La faible conductivité de nos eaux de lavage due à la richesse naturelle des eaux de lavage en sels

minéraux, expliqué par le non ajout de sel pratiqué pour la conservation des olives. Aussi nous pourrait s'expliquer par leur grand teneur en composés organiques que les sels. En effet, les sels minéraux dissouts en solution sont de bons conducteurs. Par contre, les composés organiques sont de mauvais conducteurs (**De villers, 2005**). Ce résultat est corroboré à la richesse de nos eaux de lavage en matières organiques

III.4.3.- Détermination de la matière minérale (Cendre)

La teneur moyenne des eaux de lavage étudiées en matière minérale (Mm) est de l'ordre de **0.503g/l**. Cette valeur est proche de celle trouvée par **Larid et Elaichi (2019)** pour des eaux de lavage qui est de **0.77g/l** et inférieur par rapport aux deux valeurs des eaux de lavage trouvée par **Chikhi et Nazef (2018)** **34.49 g/l** et **26.85 g/l**. La teneur en matière minérale est dû à la conservation des olives avant leur trituration qui se fait en totalité par l'ajout de sel (chlorure de sodium). Tandis que, la conservation des olives utilisées dans notre étude était faite en dehors de tout ajout de sel

III.4.4.- Détermination de la matière sèche (MS)

Le taux de matières sèches totales (en g/l) pour notre étude est (**2.0941g/l**). Il est nettement plus faible que celui des eaux de lavage prises comme échantillon par **Lamraoui et Kaddour (2018)** (**109.3 g/l**) et **Senani-Oularbi (2018)** (**118.5 g/l**). Ces variations de la teneur en matière sèche peuvent être dues à des paramètres climatiques et géologiques, à des variations botaniques, au stade de maturation de l'olive et au procédé d'extraction de l'huile. Par rapport à ce dernier : notre eaux de lavage sont provenait de système de centrifugation à trois phases

III.4.5.- Détermination de la matière en suspension

Les matières en suspension baissent sous l'effet de la décantation, l'origine de l'échantillon et la dilution des pâtes par à port à ces conditions. La concentration de la matière en suspension de notre étude est relativement très faible elle est de l'ordre de **1.942g/l** comparativement à celles trouvées pour les eaux de lavage par **Bendjedou et Selaimia (2020)** (**10.20 g/l**), **Chikhi et Nazef (2018)** (**37,79 g/l**) et **Senani-Oularbi (2018)** (**34.3 g/l**). La faible concentration de la matière en suspension de nos eaux de lavage due dus à la dilution des pâtes d'olive (pulpe + noyau) avec de l'eau chaude

III.6.- Teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux, nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenu au niveau de l'extrait. Les méthodes colorimétriques ont été utilisées pour évaluer la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale. Avant de procéder à la détermination de la teneur en composés phénoliques ; nous avons établi une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche

- **Résultat**

Le dosage colorimétrique de Folin-Ciocalteu nous a permis d'avoir une idée sur les variations qualitatives des composés phénoliques précisément les polyphénols totaux. Les résultats sur la teneur en polyphénol à celle rapportées par (**Senani-Oularbi, 2018 ; Yakhlef, 2019 ; Larid et Elaichi, 2019**). En général, elles dépendent de plusieurs facteurs qui sont : le degré de maturation des olives et l'extraction de l'huile d'olive. Ce dernier dans les unités équipées de centrifugation à trois phases elles nécessitent l'ajout d'importantes quantités d'eau pour séparer les trois phases (huile, grignons et eaux de lavage). Les produits et les sous-produits qui résultent, seront donc appauvries en polyphénols. Cela correspond parfaitement aux valeurs des échantillons des eaux de lavage qui provenant des huileries traditionnelles à système de presse sont montrées plus riches en polyphénols, avec des concentrations phénoliques qui varient entre **Larid et Elaichi (2019)** (3.81g/l) et **Yakhlef (2019)** (5,68g/L), par rapport aux eaux de lavage résultantes d'un procédé continu de trituration **Senani-Oularbi (2018)** (1,09 g/L).

III.8.- Evaluation de l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion sur milieu gélosée permettre la mise en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique envers des microorganismes pathogènes.

L'apparition croissante, en particulier dans les hôpitaux, de bactéries pathogènes résistantes, en particulier *S. aureus*, à une large gamme d'agents antimicrobiens, y compris toutes sortes de β -lactames, a rendu le traitement plus difficile. La résistance croissante aux antibiotiques représente le principal facteur justifiant la nécessité de trouver et/ou de développer de nouveaux agents antimicrobiens. Ainsi, de nombreuses études se sont focalisées sur les agents antimicrobiens et sur les propriétés antimicrobiennes des principes actifs d'origine végétale (**Ferreira et al., 1992 ; Saravanakumar et al., 2009 ; Ozdemir, 2009 ; Sudjana et al., 2009**)

Tableau 12.- Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique

Microorganismes	Activité	Références
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25921	+	Larid et Elaichi, 2019
<i>Enterobacter faecalis</i>	+	
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> ATCC 23308	+	
<i>Clavibacter michiganensis</i>	+	Yakhlef, 2019
<i>Pseudomonas syringae</i>	+	
<i>Corynebacterium michiganense</i>	+	
<i>Bacillus subtilis</i>	+	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	
<i>Enterococcus faecalis</i>	+	
<i>Proteus sp.</i>	+	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	
<i>Escherichia coli</i>	+	
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	+	

+ : présence de zone d'inhibition

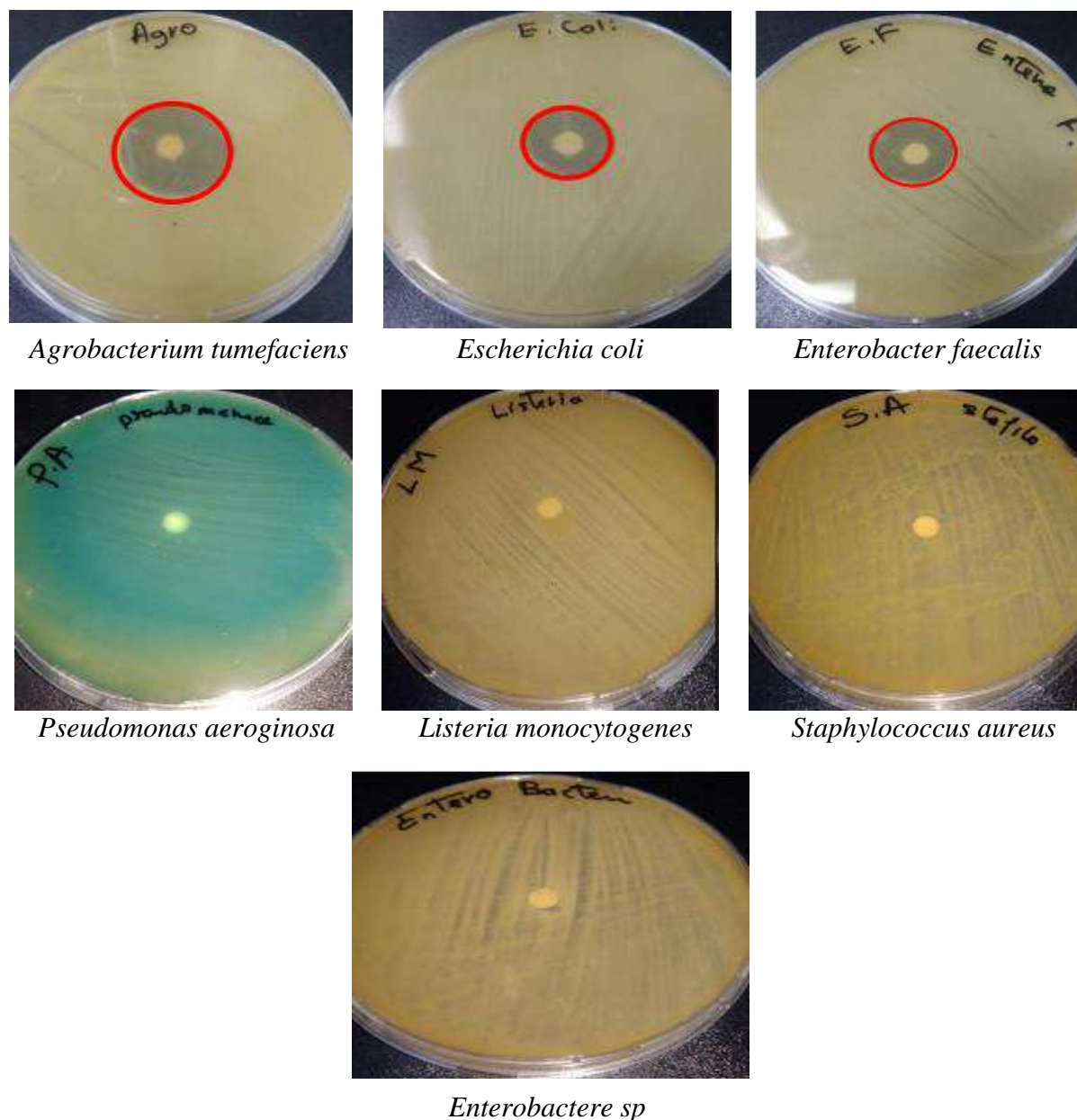


Figure 19.- Activité antimicrobienne de l'extrait phénolique vis-à-vis des souches testées (Larid et Elaichi, 2019)

Bien que des stratégies aient été proposées pour tenter de contrôler la propagation des bactéries pathogènes, la recherche de nouvelles façons de traiter les infections stimule la recherche de composés naturels comme traitement alternatif de ces infections.

Dans notre recherche d'ingrédients antimicrobiens d'eau de lavage, nous avons l'intention d'utiliser des fractions et une synergie d'au moins deux extraits pour plusieurs raisons. Premièrement, de manière générale, la capacité antimicrobienne des composés phénoliques est

bien connue (**Pereira et al., 2006**). De plus, les extraits (fractions) peuvent être plus bénéfiques que les constituants isolés, car un composant individuel bioactif peut modifier ses propriétés en présence d'autres composés présents dans les extraits (**Borchers et al., 2004**).

Selon Liu (**Liu, 2003**) les effets additifs et synergiques des composés phytochimiques dans les fruits et légumes sont responsables de leurs puissantes propriétés bioactives, et le bénéfice d'une alimentation riche en fruits et légumes est attribué au mélange complexe de composés phytochimiques présents dans les aliments entiers. Cela explique pourquoi aucun antimicrobien ne peut remplacer la combinaison de composés phytochimiques naturels pour atteindre la santé.

Avantages. Certains chercheurs ont également démontré que les biocomposés présents dans les produits oléicoles, tels que l'oleuropéine (**Bisignano et al., 1999 ; Furneri et al., 2002**) et l'hydroxytyrosol (**Bisignano et al., 1999**) et les aldéhydes aliphatiques (**Battinelli et al., 2006**), inhibent ou retardent le taux de croissance d'une gamme de bactéries et de microchampignons, de sorte qu'ils pourraient être utilisés comme aliments alternatifs additifs ou en intégrant des programmes de lutte antiparasitaire (**Boudet, 2007**)

Par conséquent, l'étude de Tafech, 2011 s'est concentrée sur l'extraction de fractions uniques à partir d'eau de lavage et sur des combinaisons d'essais de composés, car des composés ou des fractions uniques ont démontré de faibles effets d'inhibition et, en outre, la fraction d'eau de lavage ne contenait pas certains composés phénoliques importants tels que l'acide gallique. Un résultat intéressant a été obtenu par la combinaison hydroxytyrosol/acide ascorbique (vitamine C) où 200/200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ et encore moins ont provoqué une inhibition complète de la croissance des quatre isolats bactériens. L'explication de l'effet antibactérien élevé de l'hydroxytyrosol/acide ascorbique pourrait être due à certains effets additifs des deux composés. La combinaison d'autres composants était moins efficace.

La conclusion la plus importante tirée de cette étude est qu'une extraction simple, efficace et rentable d'eau de lavage produisant un extrait antimicrobien hautement actif peut être effectuée et que l'extrait peut être encore augmenté avec des composés naturels supplémentaires pour atteindre une activité plus élevée. Ces découvertes peuvent conduire à une plus grande attention aux composés naturels comme traitement alternatif des maladies infectieuses (**Pereira et al., 2006**). Ces mélanges combinés qui se sont avérés efficaces contre les quatre agents pathogènes différents (Tableau 14) seront évalués pour leur utilisation en tant que formulations de médicaments pour la prévention ou le traitement des infections bactériennes.

Tableau 13.- CMI des différentes combinaisons utilisées contre *S. pyogenes*, *S. aureus*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. Chaque puits contient ~10⁵ cfu. Les résultats ont été obtenus après incubation à 37°C pendant 24h (**Tafech, 2011**)

Synergie (µg/mL)	Souche			
	<i>E. coli</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>
Anti-solvant	400	50	200	200
Hydroxytyrosol	200	50	200	100
Anti-solvant	50	50	100	50
Acide gallique	100	100	100	100
Acide gallique	100	50	100	100
Hydroxytyrosol	200	100	50	50
Hydroxytyrosol	200	50	100	100
Acide ascorbique	100	100	200	100



Conclusion

A l'heure actuelle, le rejet des eaux de lavage (margines) des huiles oléicoles, est un problème majeur pour tous les pays méditerranéens du fait qu'elles renferment une fraction organique importante qui est les composés phénoliques.

Au terme de ce travail, nous avons pu éclairer tous les aspects liés au thème du mémoire, en présentant tous les concepts et relations dans le côté théorique. Et à travers l'étude que nous avons menée sur le plan pratique, l'objectif c'était comme la suit

- Déterminer la qualité des eaux de lavage par mesure des paramètres physico-chimiques
- L'extraction et dosage de composés phénoliques issus des eaux de lavage
- Étude de l'effet synergique antibactérien des extraits phénoliques par la méthode de diffusion de disque vis-à-vis les souches pathogènes

Concernant les résultats relatifs à des analyse physico-chimique des eaux de lavage après la lecture des études des travaux antérieurs la plupart montre que :

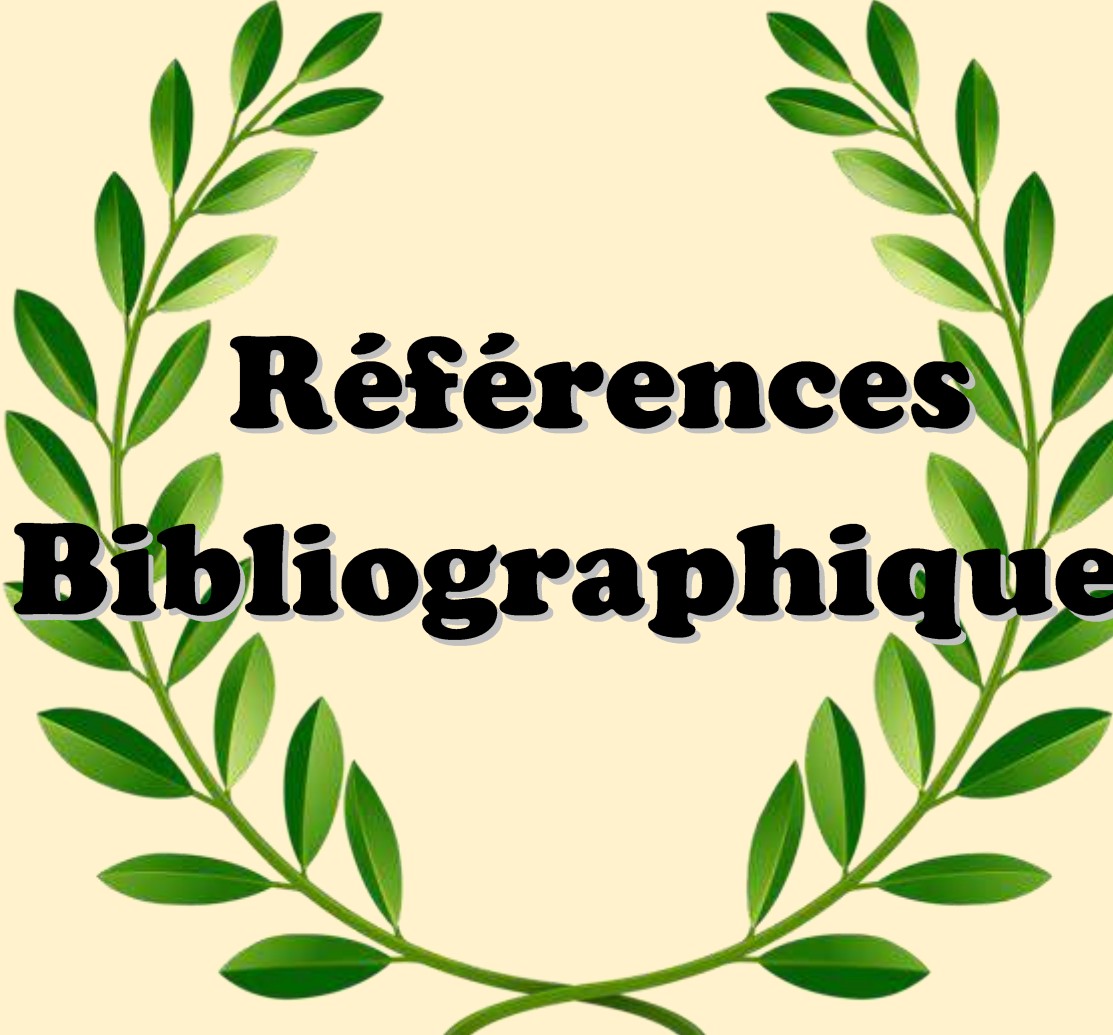
- Le pH des margines sont acides due à la richesse en acides organiques et particulièrement en polyphénols.
- La conductivité peut être forte due à la richesse naturelle des margines en sels minéraux ou les olives sont très riche en composés organiques qui est le sel.
- La matière sèche dépend à des paramètres climatiques et géologiques, à des variations botaniques, au stade de maturation de l'olive et au procédé d'extraction d'huile.
- La matière minérale dépend à la conservation des olives avant leur trituration qui se fait en totalité par l'ajout de sel (chlorure de sodium).
- La matière en suspension dépend à la dilution des pâtes d'olive avec de l'eau chaude.
- La teneur en composés phénoliques dépend des systèmes l'extraction de l'huile d'olive

Et concernant les résultats relatifs à l'effet synergique des extraits phénolique on a trouvé après la lecture des études des travaux antérieurs la plupart des activités antibactérien sur 16 souches *Escherichia coli*, *Enterobacter faecalis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae*,

Klebsiella pneumoniae, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp...*etc. Indiquent que l'extrait phénolique possède un effet antibactérien sur ces souches pathogènes

Après les résultats suivants de cette étude, il nous est apparu clairement la possibilité d'autres études, qui sont des sujets très pertinents

- L'effet de ces extraits phénoliques sur les plantes et leur protection contre certaines maladies
- L'effet de ces extraits phénoliques dans les l'industries pharmaceutique et l'utilisation comme probiotique par exemple
- L'effet de ces extraits phénoliques sur la supplémentation nutritionnelle

A laurel wreath, composed of two green branches with small, pointed leaves, frames the text. The branches curve upwards and meet at the top, then curve downwards and meet at the bottom.

**Références
Bibliographiques**

A

1. NORELDJIHANE AOUKLI MANEL and CHETTOUHE SOUAD. Etude et qualitative des huiles d'olive de la région de DJAAFRA. PhD thesis, 2019.
2. Samira Ararbi and Ghenima Rahmani. Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques des deux variétés d'huile d'olive Azeradj et Chemlal dans deux régions de la wilaya de Tizi-Ouzou. PhD thesis, Université Mouloud Mammeri, 2017.
3. Aouchiche, Ryma, and Nassima Boumghar. Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante d'extraits de feuilles de laurier et de sous-produits de l'olivier. PhD diss., Université Mouloud Mammeri, 2015.
4. Sabrina Ait Fodil and Razika Ourahmoun. Caractérisations physico-chimiques de l'huile d'olive issue de deux systèmes d'extraction. PhD thesis, Université Mouloud Mammeri, 2016.
5. K Angelopoulos, B Dichio, and C Xiloyannis. Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europaea* L.) during water stress and rewatering. *Journal of experimental botany*, 47(8):1093–1100, 1996
6. Angiosperm Phylogeny Group. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: Apg iii. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2):105–121, 2009.
7. Sanna Abdessemed. Contribution à la caractérisation et à l'identification des écotypes d'olivier *Olea europaea* L dans la région des Aurès. PhD thesis, Université de Batna 2, 2017.
8. Mounia Achak, Naïla Ouazzani, Abdelghani Yaacoubi, and Laila Mandi. Caractérisation des margines issues d'une huilerie moderne et essais de leur traitement par coagulation-floculation par la chaux et le sulfate d'aluminium. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 21(1):53–67, 2008.
9. Kamal Al-Malah, Mohammed OJ Azzam, and Nehal I Abu-Lail. Olive mills effluent (ome) wastewater post-treatment using activated clay. *Separation and Purification Technology*, 20(2-3):225–234, 2000.
10. Latifa ABBASSI and Hadjer TOUIL. Contribution à l'étude phytochimique de feuilles de *pergularia tomentosa* L. dans la région d'el-oued. 2019.
11. Mounia Achak, Naïla Ouazzani, and Laila Mandi. Traitement des margines d'une huilerie moderne par infiltration-percolation sur un filtre à sable. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 22(3):421–433, 2009.
12. Sabiha Achat. Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Avignon, 2013.
13. AOAC. In: S. William (Ed.), *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemist International*, 15th AOAC International, Arlintong, Virginia, (USA), 1990.
14. AFNOR. Recueil de normes françaises: eau, méthodes d'essai, 2ème édition, Paris, France, 621p, 1983.
15. Aissam H. Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat national, Université Sidi Mohamed ben Abdellah, Fes, 156p, 2003.
16. Moufida Aggoun-Arhab. Caractérisation de la composition en micro constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Mémoire doctorat. Option: Biotechnologies Alimentaires. République Algérienne, 2016.
17. D Alloum. L'oléiculture algérienne. *Options méditerranéennes*, (24):45–48, 1974.

18. Ramon Aparicio and John Harwood. Handbook of olive oil. Springer, 2013.
19. Dora Atanassova, Panagiotis Kefalas, and Eleftheria Psillakis. Measuring the antioxidant activity of olive oil mill wastewater using chemiluminescence. *Environment international*, 31(2):275–280, 2005.
20. Stefania D’Angelo, Diego Ingrassio, Valentina Migliardi, Alvara Sorrentino, Giovanna Donnarumma, Adone Baroni, Lucia Masella, Maria Antonietta Tufano, Marcello Zappia, and Patrizia Galletti. Hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, prevents protein damage induced by long-wave ultraviolet radiation in melanoma cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(7):908–919, 2005.
21. Mohammad Babar Ali, Eun-Joo Hahn, and Kee-Yoeup Paek. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in panax ginseng bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12(3):607–621, 2007.
22. Anonyme 6. Conductivité théorie et pratique. Guide pour des Mesures Fiables en pH métrie, Ionométrie et Conductimétrie. Radiometer analytical SAS, France, 52p, 2013.
23. BENARIBA Kaddour AZZOUNI Mohamed Abdelkarim. Comparaison physico-chimique et organoleptique de quelques huiles d’olives de la région de Tlemcen. PhD thesis, UNIVERSITE de TLEMEN Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l’Univers Département d’Agronomie, 2017.

B

24. Soumaya BOURMAD. Extraction des polyphénols à partir des margines et valorisation en tant qu’antioxydant naturel dans les huiles. PhD thesis, 2011.
25. S Brahimi. Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d’olives amoredj fermentés. Mémoire de Magister, Spécialité: Biodiversités des microorganismes, Université D’Oran, 1:3–4, 2015.
26. Nora Benrachou. Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d’huiles d’olive issues de trois cultivars de l’Est algérien. PhD thesis, Annaba, 2012
27. Gilbert Benhayoun and Yvette Lazzeri. L’olivier en Méditerranée, du symbole à l’économie. Editions L’Harmattan, 2007.
28. G Bambalov, C Israilides, and S Tanchev. Alcohol fermentation in olive oil extraction effluents. *Biological wastes*, 27(1):71–75, 1989.
29. Antonio Jesus Martin Martin, Rafael Borja Padilla, Maria de la Montana Duran-Barrantes, et al. Estudio cinetico del proceso de biometanizacion de alpechin de almazara clasica previamente sometido a tratamiento aerobio con geotrichum candidum. 1992.
30. L Bellebcir. Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Mémoire de Magiste, Université Mentouri de Constantine, 119, 2008.
31. Trust Beta, Shin Nam, Jim E Dexter, and Harry D Sapirstein. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal chemistry*, 82(4):390–393, 2005
32. T Bahorun. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists*, volume 83, 1998
33. Giuseppe Bisignano, Antonio Tomaino, Rossella Lo Cascio, Giuseppe Crisafi, Nicola Uccella, and Antonella Saija. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 51(8):971–974, 1999.

34. Manuel Brenes, Aranzazu Garcia, Berta De los Santos, Eduardo Medina, Concepcion Romero, Antonio De Castro, and Fernando Romero. Olive glutaraldehyde-like compounds against plant pathogenic bacteria and fungi. *Food Chemistry*, 125(4):1262–1266, 2011.
35. R Borja, CJ Banks, and J Alba. A simplified method for determination of kinetic parameters to describe the aerobic biodegradation of two important phenolic constituents of olive mill wastewater by a heterogeneous microbial culture. *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 30(3):607–626, 1995.
36. Mohamed Bengana, Abdelhakim Bakhouch, Jesus Lozano-Sanchez, Youcef Amir, Ahcene Youyou, Antonio Segura-Carretero, and Alberto Fernandez-Gutiérrez. Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International*, 54(2):1868–1875, 2013.
37. Angelina Belaj, Concepcion Munoz-Diez, Luciana Baldoni, Zlatko Satovic, and Diego Barranco. Genetic diversity and relationships of wild and cultivated olives at regional level in Spain. *Scientia Horticulturae*, 124(3):323–330, 2010.
38. Rachid BOUKHARI. Contribution à l'analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d'olivier et l'influence de l'environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou. PhD thesis, 2014.
39. Nora Benrachou, Cherifa Henchiri, and Zeineddine Djeghaba. Caractérisation de trois huiles d'olive issues de trois cultivars de l'est algérien. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 22:12–22, 2010.
40. Nadia Benyahia and Karim Zein. Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. Contribution spéciale de Sustainable Business Associates (Suisse) à SESEC II, pages 2–7, 2003.
41. E Bouchouka. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes, 2016.
42. Hocine BOUDOUKHANA. Impacts des margines sur les eaux de oued bouchtata (wilaya de skikda). 1955.
43. SELAIMIA Assia BENDJEDOU Marwa. ANALYSES ET TRAITEMENT DES EFFLUENTS DES HUILLERIES D'OLIVES. PhD thesis, Université 8 Mai 1945 Guelma, Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière, Département des Sciences de la Matière, 2020.
44. Nathalie Boizot and Jean-Paul Charpentier. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, pages 79–82, 2006.
45. Andrea T Borchers, Carl L Keen, and M Eric Gershwin. Mushrooms, tumors, and immunity: an update. *Experimental Biology and Medicine*, 229(5):393–406, 2004.
46. L Battinelli, C Daniele, M Cristiani, G Bisignano, A Saija, and G Mazzanti. In vitro antifungal and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. fruit. *Phytomedicine*, 13(8):558–563, 2006.
47. Alain-Michel Boudet. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68(22-24):2722–2735, 2007.
48. Benhayoun G., Lazzeri Y. L'olivier en Méditerranée, du symbole à l'économie. Harmattan. Paris, 137 p, 2007.
49. Farida BOUDISSA. Influence des radiations micro-onde sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive imprégné de margines. PhD thesis, Université de Tizi Ouzou-Mouloud Mammeri

50. Catherine Breton, Frédéric Médail, Christian Pinatel, and André Bervillé. De l'olivier à l'oléastre: origine et domestication de *Olea europaea* L. dans le bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*, 15(4):329–336, 2006.
51. Claudio Cantini, Antonio Cimato, and Graziano Sani. Morphological evaluation of olive germplasm present in tuscan region. *Euphytica*, 109(3):173–181, 1999.
52. B Chiofalo, L Liotta, A Zumbo, and V Chiofalo. Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research*, 55(1-3):169–176, 2004
53. Renato Capasso, Antonio De Martino, and Michele Arienzo. Recovery and characterization of the metal polymeric organic fraction (polymerin) from olive oil mill wastewaters. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10):2846–2855, 2002.
54. Raffaele Casa, Alessandro D'Annibale, Fabio Pieruccetti, Silvia Rita Stazi, G Giovannozzi Sermanni, and B Lo Cascio. Reduction of the phenolic components in olive-mill wastewater by an enzymatic treatment and its impact on durum wheat (*triticum durum* Desf.) germinability. *Chemosphere*, 50(8):959–966, 2003.
55. Conseil Oléicole International (C.O.I.). Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive, 2003. Disponible sur <http://www.internationaloliveoil.org/documents/viewfile/3619-normaf/5>
56. Alan Crozier, Daniele Del Rio, and Michael N Clifford. Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. *Molecular aspects of medicine*, 31(6):446–467, 2010.
57. Yolanda Carrion, Maria Ntinou, and Ernestina Badal. *Olea europaea* L. in the north mediterranean basin during the pleniglacial and the early– middle holocene. *Quaternary Science Reviews*, 29(7-8):952–968, 2010.
58. Maria Lisa Clodoveo. Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. past, present and future— an overview. *Trends in Food Science & Technology*, 25(1):13–23, 2012.
59. Maria Letizia Colarieti, Giuseppe Toscano, and Guido Greco. Toxicity attenuation of olive mill wastewater in soil slurries. *Environmental Chemistry Letters*, 4(2):115–118, 2006.
60. Alan Crozier, Mike N Clifford, and Hiroshi Ashihara. Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. John Wiley & Sons, 2008.
61. R Capasso, A Evidente, L Schivo, Germano Orru, MA Marcialis, and G Cristinzio. Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *Journal of Applied Bacteriology*, 79(4):393–398, 1995
62. Marjorie Murphy Cowan. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4):564, 1999.
63. Capasso R., Evidente A., Scognamiglio F. A simple thin layer chromatographic method to detect the main polyphenols occurring in olive oil vegetation waters. *Phytochem Anal*; 3: 270–275, 1992
64. COI, Le monde oléicole, L'olivier, Conseil Oléicole International, p1, (2006).
65. Sumitra Chanda, Kalpna Rakholiya, Komal Dholakia, and Yogesh Baravalia. Antimicrobial, antioxidant, and synergistic properties of two nutraceutical plants: *Terminalia catappa* L. and *Colocasia esculenta* L. *Turkish Journal of Biology*, 37(1):81–91, 2013.

C

66. Célia Chikhi and Melissa Nazef. Traitement et valorisation des margines. PhD thesis, UMMTO, 2018.
67. Conseil Oléicole International (C.O. I.) (2017) Chiffres du marché mondial de l'huile d'olive. Disponibles sur: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>

D

68. Silvia Doveri and Luciana Baldoni. Olive, pages 253–264. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2007.
69. S Dermeche, M Nadour, C Larroche, F Moulti-Mati, and P Michaud. Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48(10):1532–1552, 2013
70. Aldona Dembinska-Kiec, Otto Mykkanen, Beata Kiec-Wilk, and Hannu Mykkanen. Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. *British Journal of Nutrition*, 99(E-S1):ES109–ES117, 2008.
71. Vincent CJ de Boer. Towards functional effects of polyphenols: modulation of energy metabolism revealed. 2007.
72. Marina DellaGreca, Lucio Previtiera, Fabio Temussi, and Armando Zarrelli. Low-molecular-weight components of olive oil mill waste-waters. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 15(3):184–188, 2004.
73. Elena De Marco, Maria Savarese, Antonello Paduano, and Raffaele Sacchi. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food chemistry*, 104(2):858–867, 2007.
74. D Djenane, J Yanguela, F Derriche, L Bouarab, and P Roncales. Extrait de feuilles d'olivier; tests in vitro vis-à-vis de staphylococcus aureus, salmonella enteritidis et pseudomonas aeruginosa; application sur la viande de dinde. *Phytothérapie*, 10(1):10–18, 2012.
75. Elena De Marco, Maria Savarese, Antonello Paduano, and Raffaele Sacchi. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food chemistry*, 104(2):858–867, 2007.
76. Grant E DuBois, Guy A Crosby, and Patrick Saffron. Nonnutritive sweeteners: taste-structure relationships for some new simple dihydrochalcones. *Science*, pages 397–399, 1977.
77. A D'annibale, R Casa, F Pieruccetti, M Ricci, and R Marabottini. Lentinula edodes removes phenols from olive-mill wastewater: impact on durum wheat (triticum durum desf.) germinability. *Chemosphere*, 54(7):887–894, 2004.
78. S Daas Amieur, O Alloui-Lombarkia, F Bouhdjila, A Ayachi, and L Hambaba. Etude de l'implication des composés phénoliques des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 12(2):135–142, 2014.
79. Dominique Bottani. L'olivier de toute éternité. Équinoxe, 2011.
80. M DellaGreca, P Monaco, G Pinto, A Pollio, L Previtiera, and F Temussi. Phytotoxicity of low-molecular-weight phenols from olive mill waste waters. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 67(3):0352–0359, 2001.

81. Della Greca M., Monaco P., Pinto G., Pollio A., Previtiera L., Temussi F. Phytotoxicity of low-molecular weight phenols from olive mill wastewaters. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; 67: 352-359, 2001

E

82. A Esmail, N Chahboun, Z Mennane, R Amiyare, H Abed, M Barrahi, A Qebibo, M Ouhssine, and EH Berny. Etude de l'activité antimicrobienne des margines issues de fès boulman vis-à-vis de souches pathogènes [study of antimicrobial activity of olive mille wastewater (omww) from fez boulman against some pathogenic strains]. 2015
83. Juan Carlos Espin, Cristina Soler-Rivas, Emma Cantos, Francisco A Tomas-Barberan, and Harry J Wichers. Synthesis of the antioxidant hydroxytyrosol using tyrosinase as biocatalyst. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3):1187–1193, 2001.
84. Houda El Hajjouji, Jean-René Bailly, Peter Winterton, Georges Merlina, Jean-Claude Revel, and Mohamed Hafidi. Chemical and spectroscopic analysis of olive mill waste water during a biological treatment. *Bioresource technology*, 99(11):4958–4965, 2008.
85. A El Hadrami, M Belaqziz, M El Hassni, S Hanifi, A Abbad, R Capasso, L Gianfreda, and I El Hadrami. Physico-chemical characterization and effects of olive oil mill wastewaters fertirrigation on the growth of some mediterranean crops. *Journal of Agronomy*, 2004.

F

86. Andrea Fabbri, Maurizio Lambardi, and Yelda Ozden-Tokatli. *Olive Breeding*, pages 423–465. Springer New York, New York, NY, 2009.
87. Antonio Fiorentino, Alessandra Gentili, Marina Isidori, Pietro Monaco, Angela Nardelli, Alfredo Parrella, and Fabio Temussi. Environmental effects caused by olive mill wastewaters: toxicity comparison of low molecular-weight phenol components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4):1005–1009, 2003.
88. JA Fiestas Ros De Ursinos and R Borja Padilla. Use and treatment of olive mill wastewater: current situation and prospects in Spain. *Grasas y aceites*, 43(2):101–106, 1992.
89. Massimiliano Fenice, Giovanni Giovannozzi Sermanni, Federico Federici, and Alessandro D'Annibale. Submerged and solid-state production of laccase and mn-peroxidase by *panus tigrinus* on olive mill wastewaterbased media. *Journal of Biotechnology*, 100(1):77–85, 2003.
90. Hanen Falleh, Riadh Ksouri, Kamel Chaieb, Najoua Karray-Bouraoui, Najla Trabelsi, Mondher Boulaaba, and Chedly Abdely. Phenolic composition of *cynara cardunculus* l. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5):372–379, 2008.
91. RDBA Fabiani, A De Bartolomeo, P Rosignoli, M Servili, GF Montedoro, and G Morozzi. Cancer chemoprevention by hydroxytyrosol isolated from virgin olive oil through g1 cell cycle arrest and apoptosis. *European Journal of Cancer Prevention*, 11(4):351–358, 2002.
92. Mohamed Bouaziz, Ines Fki, Hedy Jemai, Mohamed Ayadi, and Sami Sayadi. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108(1):253–262, 2008.
93. Ines Fki, Nouredine Allouche, and Sami Sayadi. The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the

- stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93(2):197–204, 2005.
94. Daneel Ferreira, Jan P Steynberg, David G Roux, and E Vincent Brandt. Diversity of structure and function in oligomeric flavanoids. *Tetrahedron*, 48(10):1743–1803, 1992.
95. Pio Maria Furneri, Andreama Marino, Antonina Saija, Nicola Uccella, and Giuseppe Bisignano. In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *International journal of antimicrobial agents*, 20(4):293–296, 2002
96. Fiche Technique MUELLER – HINTON 56137 - 63824 - 63901 - 64884 - 64888
-
- G**
97. R Gaussorgues. L'olivier et son pollen dans le bassin méditerranéen. un risque allergique? *Revue Française d'Allergologie*, 49:S2–S6, 2009.
98. Kamel Ghedira. L'olivier. *Phytothérapie*, 6(2):83–89, 2008
99. Dhia GHARABI et al. Effet du stress salin sur le comportement physiologique et morpho-biochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et introduites non greffés et greffés sur oléastre. PhD thesis, 2018.
100. Souhila Gueham, Samira Harikeche, and N Encadreur Benhammada. Vérification d'un système de traitement des margines. PhD thesis, Université de Jijel, 2019.
101. SE Garrido Hoyos, L Martinez Nieto, F Camacho Rubio, and A Ramos Cormenzana. Kinetics of aerobic treatment of olive-mill wastewater (omw) with *aspergillus terreus*. *Process Biochemistry*, 37(10):1169–1176, 2002.
102. Francesco Visioli and Claudio Galli. Olive oil phenols and their potential effects on human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10):4292–4296, 1998.
103. Paolo Gresele, Chiara Cerletti, Giuseppe Guglielmini, Pasquale Pignatelli, Giovanni de Gaetano, and Francesco Violi. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *The Journal of nutritional biochemistry*, 22(3):201–211, 2011.
104. E Garcia-Castello, A Cassano, A Criscuoli, C Conidi, and E Drioli. Recovery and concentration of polyphenols from olive mill wastewaters by integrated membrane system. *Water research*, 44(13):3883–3892, 2010.
105. AM Gomez-Caravaca, M Gomez-Romero, D Arraez-Roman, A SeguraCarretero, and A Fernandez-Gutiérrez. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4):1220–1234, 2006
106. Javier Gonzalez-Gallego, M Victoria Garcia-Mediavilla, Sonia SanchezCampos, and Maria J Tunon. Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British journal of nutrition*, 104(S3):S15–S27, 2010
107. Rahele Ghanbari, Farooq Anwar, Khalid M Alkharfy, Anwarul-Hassan Gilani, and Nazamid Saari. Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*, 13(3):3291–3340, 2012
108. Guido Greco Jr, Giuseppe Toscano, Mario Cioffi, Liliana Gianfreda, and Filomena Sannino. Dephenolisation of olive mill waste-waters by olive husk. *Water Research*, 33(13):3046–3050, 1999.
109. JM Gee and IT Johnson. Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current medicinal chemistry*, 8(11):1245–1255, 2001.

110. Dilip Ghosh and Arjan Scheepens. Vascular action of polyphenols. *Molecular nutrition & food research*, 53(3):322–331, 2009
111. Peter Shaw Green. A revision of *Olea* l.(oleaceae). *Kew Bulletin*, pages 91–140, 2002.
112. Al Martin Garcia, A Moumen, DR Yanez Ruiz, and E Molina Alcaide. Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 107(1-4):61–74, 2003.
113. Stephane Georgé, Pierre Brat, Pascaline Alter, and Marie J Amiot. Rapid determination of polyphenols and vitamin c in plant-derived products. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53(5):1370–1373, 2005.
114. Fiche de Géographie, l’olivier enseignant 2.1. AFIDOL. Pédag Olive
115. T Gutfinger. Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 58(11):966–968, 1981.
116. Sonia Gomes, Paula Martins-Lopes, and Henrique Guedes-Pinto. Olive tree genetic resources characterization through molecular markers. 2012.

H

117. Stéphanie Henry. L’huile d’olive: son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. PhD thesis, UHP-Université Henri Poincaré, 2003.
118. Afef Haouari. Influence des modifications de l’équilibre source-puits sur le paramètres physiologiques et biochimiques chez l’olivier (*Olea europaea* L.), sous bioclimat semi-aride de Tunisie. PhD thesis, Ghent University, 2013.
119. Halah Aissam. Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l’enzyme tannase. 2003.
120. DJILALI FADI HADDOU. L’infestation de la Teigne de l’olivier dans quelques vergers. PhD thesis, 2017
121. Moktar Hamdi. Nouvelle conception d’un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de l’extraction de l’huile d’olive. Université de Provence Aix-Marseille, Provence, 1991.
122. JJ Hilliard, HM Krause, JI Bernstein, JA Fernandez, V Nguyen, KA Ohemeng, and JF Barrett. A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to dna gyrase. In *Antimicrobial resistance*, pages 59–69. Springer, 1995.
123. Hiroyuki Haraguchi, Katsuhito Tanimoto, Yuki Yoshi Tamura, Kenji Mizutani, and Takeshi Kinoshita. Mode of antibacterial action of retrochalcones from *glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*, 48(1):125–129, 1998.
124. Xiuzhen Han, Tao Shen, and Hongxiang Lou. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9):950–988, 2007.
125. Zhiyong He, Wenshui Xia, and Jie Chen. Isolation and structure elucidation of phenolic compounds in chinese olive (*canarium album* l.) fruit. *European Food Research and Technology*, 226(5):1191–1196, 2008.
126. N Heimeur, LM Idrissi Hassani, and M Amine Serghini. Les polyphénols de *pyrus mamorensis* (rosaceae). *Reviews in biology and biotechnology*, 3(1):3742, 2004.

127. Richard B Herbert. The biosynthesis of secondary metabolites. Springer Science & Business Media, 1989.
128. Jonathan M Hodgson and Kevin D Croft. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Molecular aspects of medicine*, 31(6):495–502, 2010.
129. Yao Patrick Hoekou, Komlan Batawila, Koffi Apeti Gbogbo, Damintoti Simplicie Karou, Yaovi Ameyapoh, and Comlan Souza. Evaluation des propriétés antimicrobiennes de quatre plantes de la flore togolaise utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des diarrhées infantiles. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(6):3089–3097, 2012.
130. William G Hopkins. *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, 2003.
131. DJILALI FADI HADDOU. L'infestation de la Teigne de l'olivier dans quelques vergers. PhD thesis.
132. T Hennebelle, S Sahpaz, and F Bailleul. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1):3–6, 2004.

I

133. Antonio M Inarejos-Garcia, Aurora Gomez-Rico, M Desamparados Salvador, and Giuseppe Fregapane. Influence of malaxation conditions on virgin olive oil yield, overall quality and composition. *European Food Research and Technology*, 228(4):671–677, 2009.
134. P Iserin. *Larousse encyclopédie des plantes médicinales*, edition larousse paris. 2001.
135. ITAF, (2006). *Catalogue des variétés Algériennes de l'olivier P86-87*

J

136. Tina Jerman. Olive fruit phenols in olive oil processing: the fate and antioxidant potential. PhD thesis, Univerza v Novi Gorici, Fakulteta za podiplomski studij, 2014.

K

137. Alexander M Klibanov, Tsu-man Tu, and Kevin P Scott. Peroxidasecatalyzed removal of phenols from coal-conversion waste waters. *Science*, 221(4607):259–261, 1983.
138. M Kissi, M Mountadar, O Assobhei, E Gargiulo, G Palmieri, P Giardina, and G Sannia. Roles of two white-rot basidiomycete fungi in decolorisation and detoxification of olive mill waste water. *Applied microbiology and biotechnology*, 57(1):221–226, 2001.
139. M Karapmar and JT Worgan. Bioprotein production from the waste products of olive oil extraction. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Biotechnology*, 33(3):185–188, 1983.
140. Krid S, Bouaziz M, Triki M.A, Gargouri A, Rhouma A. Inhibition of olive knot disease by polyphenols extracted from olive mill waste water. *Journal of Plant Pathology*; 93 (3): 561-568, 2011
141. Kasraoui, 2010. <http://www.kasraoui.com/Secteur-Agricole/Olivier.html>
142. Manel HAMZA KARRAY. Bioconversion enzymatique des composés phénoliques des effluents issus de l'extraction d'huile d'olive: une voie prometteuse de valorisation par la production de l'hydroxytyrosol naturel. PhD thesis, Thèse de doctorat. 181p, 2013.

143. Andrew R Knaggs. The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural product reports*, 20(1):119–136, 2003.
144. Klen T.J., Vodopivec B.M. The fate of olive fruit phenols during commercial olive oil processing: Traditional press versus continuous two- and three-phase centrifuge. *LWT -Food Science and Technology*; 49: 267-274, 2012

L

145. Dahbia Lebdiri and Souhila Berkani. Contributions à l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive produit au niveau de trois régions de la willaya de Tizi-Ouzou (Ouaguenoun, Makouda, Iboudraren) de campagne oléicole 2014-2015. PhD thesis, Université Mouloud Mammeri, 2015.
146. Shimon Lavee, L Rallo, Hava F Rapoport, and A Troncoso. The floral biology of the olive: effect of flower number, type and distribution on fruitset. *Scientia horticultrae*, 66(3-4):149–158, 1996.
147. LABOUB FATMA and NECILI ACHOURA. 2017contribution à une étude histo-chimique des feuilles d'olea europaea l. 2017.
148. Nassima Leulmi. La valorisation nutritionnelle des margines et de leur impact sur la réduction de la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. 2011.
149. Imane Lamraoui, Ilham Kadour, and Rabeh Arhab. Caractérisation microbiologique et biochimique d'une eau de végétation (margine). 2018.
150. Fatima Larfi and Akila Khiri. Optimisation des conditions d'extraction de polyphenols du vert utilise comme agent antibacterien. PhD thesis, université de bouira, 2015.
151. Andrea Lugasi. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4):119–125, 2003.
152. Inass Leouifoudi, Hicham Harnafi, and Abdelmajid Zyad. Olive mill waste extracts: polyphenols content, antioxidant, and antimicrobial activities. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2015, 2015.
153. Sarah Labane and Feriel Tadala. Evaluation de l'activité antibactérienne et dosage des polyphénols des extraits bruts des feuilles de l'olivier sauvage (*Olea europaea subsp sylvestris*). PhD thesis, Université Mouloud Mammeri, 2015.
154. Djamel LABDAOUI. Modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases: Impacts socio-économique et environnemental dans la Région de Bouira. PhD thesis, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis.
155. Ryma Labiod. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta*: activité antibactérienne, activité antioxydant et activité fongicide. PhD thesis, Thèse de Doctorat, Univ Badji Mokhtar-Annaba, 2016.
156. Firdousse Laincer, Nunzia Iaccarino, Jussara Amato, Bruno Pagano, Alessia Pagano, Giancarlo Tenore, Abderezak Tamendjari, Pierangela Rovellini, Stefania Venturini, Giorgio Bellan, et al. Characterization of monovarietal extra virgin olive oils from the province of béjaïa (algeria). *Food Research International*, 89:1123–1133, 2016
157. R Laribi, A Tamedjari, P Rovellini, L Deflaoui, L Arrar, A Aideli, and S Mettouchi. Evolution of biophenolic compounds in virgin olive oil during olive ripening of algerian cultivars. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 86:151–161, 2009.

158. Ok-Hwan Lee, Boo-Yong Lee, Junsoo Lee, Hee-Bong Lee, Jong-Youn Son, Cheon-Seok Park, Kalidas Shetty, and Young-Cheul Kim. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource technology*, 100(23):6107–6113, 2009.
159. L Lesage-Meessen, David Navarro, S Maunier, JC Sigoillot, J Lorquin, M Delattre, JL Simon, M Asther, and M Labat. Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*, 75(4):501–507, 2001.
160. Rui Hai Liu. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of nutrition*, 134(12):3479S–3485S, 2004.
161. Rui Hai Liu. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3):207-219, 2007
162. Rui Hai Liu. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American journal of clinical nutrition*, 78(3):517S–520S, 2003.
163. José Lopez-Miranda, Francisco Pérez-Jiménez, Emilio Ros, R De Caterina, L Badimon, Maria Isabel Covas, Eduard Escrich, José M Ordovas, F Soriguer, Rocio Abia, et al. Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, jaén and cordoba (spain) 2008. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 20(4):284–294, 2010
164. Salah Eddine LAOUINI. Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). PhD thesis, Université Mohamed Khider Biskra, 2014.
165. Elaichi Karima Larid Ilhem. Etude de profil chimique des polyphénols extraits à partir des margines : Essais de biodégradation et biotransformation avec la microflore indigène et sélectionnée. PhD thesis, Université BLIDA1, Faculté des Sciences, Département de Chimie.
166. Theodora-Ioanna Lafka, Vassilia Sinanoglou, and Evangelos S Lazos. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food chemistry*, 104(3):1206–1214, 2007.

M

167. Innocenzo Muzzalupo, Giuseppe Giovanni Vendramin, and Adriana Chiappetta. Genetic biodiversity of italian olives (*olea europaea*) germplasm analyzed by ssr markers. *The Scientific World Journal*, 2014, 2014.
168. JA Morillo, B Antizar-Ladislao, M Monteoliva-Sanchez, A Ramos-Cormenzana, and NJ Russell. Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(1):25–39, 2009
169. Jean-Jacques Macheix, Annie Fleuriet, and Christian Jay-Allemand. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques, 2005.
170. S Martin and R Andriantsitohaina. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, volume 51, pages 304–315. Elsevier, 2002.

171. Joachim HJR Makoi and Patrick A Ndakidemi. Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *African Journal of Biotechnology*, 6(12), 2007.
172. Abdelkader Mourida. CONTRIBUTION A L'ETUDE DES MALADIES CRYPTOGAMIQUES D'OLIVIER DANS LA REGION HENNAYA–TLEMCEM. PhD thesis, 2014.
173. Claudine Manach, Augustin Scalbert, Christine Morand, Christian Rémésy, and Liliana Jiménez. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5):727–747, 2004
174. Lynda Medjkouh, Abderezak Tamendjari, Rita C Alves, Mariana Araujo, and M Beatriz PP Oliveira. Effect of bactrocera oleae on phenolic compounds and antioxidant and antibacterial activities of two algerian olive cultivars. *Food & function*, 7(10):4372–4378, 2016.
175. Eduardo Medina, Manuel Brenes, Aranzazu Garcia, Concepcion Romero, and ANTONIO de CASTRO. Bactericidal activity of glutaraldehyde-like compounds from olive products. *Journal of food protection*, 72(12):2611– 2614, 2009.
176. Eduardo Medina, Antonio De Castro, Concepcion Romero, and Manuel Brenes. Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14):4954–4961, 2006.
177. MR Moreira, AG Ponce, CE Del Valle, and SI Roura. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*, 38(5):565–570, 2005.

N

178. Marian Naczka and Fereidoon Shahidi. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2):95–111, 2004.
179. Ez-zohra Nkhili. Polyphénols de l'alimentation: Extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Université Cadi Ayyad-Marrakech, 2009.
180. Nassima Senani-oularbi. Etude des activités anti-oxydante, antifongique et hypoglycémiantes des margines d'olives et de leur extrait phénolique. Applications sur matrice alimentaire et sur modèle murin et cellulaire. PhD thesis, Université Mouloud Mammeri, 2018

O

181. Hassan K Obied, Malcolm S Allen, Danny R Bedgood, Paul D Prenzler, Kevin Robards, and Regine Stockmann. Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4):823–837, 2005.
182. Wasila Outayeb and Farida Touabi. Activité antibactérienne et antioxydante des polyphénols extraits de sous-produits oléicoles: margines et feuilles de l'olivier (variété Chamlal). PhD thesis, Université Mouloud Mammeri, 2014.
183. Z Ozdemir. Growth inhibition of *clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *pseudomonas syringae* pv. *tomato* by olive mill wastewaters and citric acid. *Journal of Plant Pathology*, pages 221–224, 2009.
184. N Ouazzani, Roselyne Lumaret, and P Villemur. Apport du polymorphisme alloenzymatique à l'identification variétale de l'olivier (*olea europaea* L). *Agronomie*, 15(1):31–37, 1995.

185. Ouis, N. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. Thèse de doctorat. Université d'Oran 1. 223p, 2015.
186. Hassan K Obied, Bedgood Jr. D.R, Prenzler P.D, Robards K. Bioscreening of Australian olive mill waste extracts: Biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities. *Food and Chemical Toxicology*; 45: 1238-1248, 2007

P

187. A Tombesi and P Proietti. Translocation of assimilates and source-sink influences on productive characteristics of the olive tree. *Translocation of Assimilates and Source-Sink Influences on Productive Characteristics of the Olive Tree*, pages 1000–1004, 1996.
188. C. Paredes, M.P. Bernal, Asuncion Roig, J. Cegarra, and M.A. Sanchez-Monedero. Influence of the bulking agent on the degradation of olive mill wastewater sludge during composting. *International Biodeterioration Biodegradation*, 38(3):205–210, 1996.
189. Ana G Pérez, Carmen Romero, Khaled Yousfi, and José M Garcia. Modulation of olive oil quality using nacl as extraction coadjuvant. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(7):685–691, 2008.
190. J Perez, T Dela Rubia, J Moreno, and J Martinez. Phenolic content and antibacterial activity of olive oil waste waters. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 11(4):489–495, 1992.
191. C. Paredes, Asuncion Roig, MP Bernal, MA Sanchez-Monedero, and J Cegarra. Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. *Biology and fertility of soils*, 32(3):222–227, 2000.
192. Ma J Paredes, E Moreno, A Ramos-Cormenzana, and J Martinez. Characteristics of soil after pollution with waste waters from olive oil extraction plants. *Chemosphere*, 16(7):1557–1564, 1987
193. José Alberto Pereira, Ana PG Pereira, Isabel CFR Ferreira, Patricia Valentao, Paula B Andrade, Rosa Seabra, Leticia Estevinho, and Albino Bento. Table olives from portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22):8425–8431, 2006.
194. Jose Alberto Pereira, Ana PG Pereira, Isabel CFR Ferreira, Patricia Valentao, Paula B Andrade, Rosa Seabra, Leticia Estevinho, and Albino Bento. Table olives from portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22):8425–8431, 2006.

R

195. A Ramos-Cormenzana, B Juarez-Jimenez, and MP Garcia-Pareja. Antimicrobial activity of olive mill wastewaters (alpechin) and biotransformed olive oil mill wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38(3-4):283–290, 1996.
196. Rossana Roila, Raffaella Branciarri, David Ranucci, Roberta Ortenzi, Stefania Urbani, Maurizio Servili, and Andrea Valiani. Antimicrobial activity of olive mill wastewater extract against *pseudomonas fluorescens* isolated from mozzarella cheese. *Italian journal of food safety*, 5(2), 2016.

197. HP Vasantha Rupasinghe, Jeanine Boulter-Bitzer, Taehyun Ahn, and Joseph A Odumeru. Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms in vitro and aerobic microbial growth in fresh-cut apples. *Food Research International*, 39(5):575–580, 2006.
198. Alfonso Ranalli, Lucia Lucera, and Stefania Contento. Antioxidizing potency of phenol compounds in olive oil mill wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26):7636–7641, 2003.
199. Panayotis S Rodis, Vaios T Karathanos, and Antonia Mantzavinou. Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3):596–601, 2002.
200. Rejeseck F. Analyse des eaux: aspects réglementaires et techniques. Science Technologique et Environment. Bordeaux: CRDP d’aquitaine, 2003
201. Rodier. Analyse de l’eau: eaux naturelle, eaux résiduaires, eaux de mer, 8^e édition, dunod, 1996.
202. Russell Ross. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England journal of medicine*, 340(2):115–126, 19
203. Concepcion Romero, Eduardo Medina, Julio Vargas, Manuel Brenes, and Antonio De Castro. In vitro activity of olive oil polyphenols against helicobacter pylori. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(3):680–686,2007.
204. S Reghioua, F Boughachiche, H Zerizer, L Oulmi, M Kitouni, A Boudemagh, and A Boulahrouf. Activité antibactérienne d’actinomycètes rares isolés d’échantillons de sol aride du sud-est algérien. *Antibiotiques*, 8(3):147–152, 2006.

S

205. Mohamed Selmani. Influence de la période de récolte et de la station sur la qualité de l’huile d’olive. PhD thesis, Université Mouloud Mammeri, 2015
206. Mohamed Sidhoum. Contribution à l’étude pédologique et génétique de quelques variétés de l’olivier dans la wilaya de Tlemcen. PhD thesis. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen,2011
207. Souad SAOUDI. Contribution à l’étude des sous-produits oléicoles générés par les huileries dans la région de M’chedallah. PhD thesis, Université de Bouira, 2017.
208. Sami Sayadi, Nouredine Allouche, Mohamed Jaoua, and Fathi Aloui. Detrimental effects of high molecular-mass polyphenols on olive mill wastewater biotreatment. *Process Biochemistry*, 35(7):725–735, 2000.
209. Augustin Scalbert and Gary Williamson. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8):2073S–2085S, 2005
210. Isam Sabbah, Taisir Marsook, and Sobhi Basheer. The effect of pretreatment on anaerobic activity of olive mill wastewater using batch and continuous systems. *Process Biochemistry*, 39(12):1947–1951, 2004.
211. Maurizio Servili, Maura Baldioli, Roberto Selvaggini, Enrico Miniati, Alceo Macchioni, and Gianfrancesco Montedoro. High-performance liquid chromatography evaluation of phenols in olive fruit, virgin olive oil, vegetation waters, and pomace and 1d-and 2d-nuclear magnetic resonance characterization. *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 76(7):873– 882, 1999.

212. Aurora Gomez-Rico, Giuseppe Fregapane, and Maria Desamparados Salvador. Effect of cultivar and ripening on minor components in spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*, 41(4):433–440, 2008.
213. Fereidoon Shahidi and Marian Naczk. *Phenolics in food and nutraceuticals*. CRC press, 2003.
214. F Sharififar, MH Moshafi, SH Mansouri, M Khodashenas, and M Khoshnoodi. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic zataria multiflora boiss. *Food control*, 18(7):800–805, 2007.
215. G Steven Sibbett and Louise Ferguson. *Olive production manual*, volume 3353. UCANR Publications, 2005
216. Jeremy PE Spencer. Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69(2):244–260, 2010.
217. Karima Saffidine. *Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de carthamus caeruleus L. et de plantago major L.* PhD thesis, 2018.
218. A Saravanakumar, K Venkateshwaran, J Vanitha, M Ganesh, M Vasudevan, and T Sivakumar. Evaluation of antibacterial activity, phenol and flavonoid. *Pak. J. Pharm. Sci*, 22(3):282–286, 2009.
219. Aurelia N Sudjana, Carla D’Orazio, Vanessa Ryan, Nooshin Rasool, Justin Ng, Nabilah Islam, Thomas V Riley, and Katherine A Hammer. Antimicrobial activity of commercial olea europaea (olive) leaf extract. *International journal of antimicrobial agents*, 33(5):461–463, 2009.
220. M Simoes, Maria Olivia Pereira, Idalina Machado, Lucia C Simoes, and MJ Vieira. Comparative antibacterial potential of selected aldehyde-based biocides and surfactants against planktonic pseudomonas fluorescens. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(9):741–749, 2006.

T

221. A Tsioulpas, D Dimou, D Iconomou, and G Aggelis. Phenolic removal in olive oil mill wastewater by strains of pleurotus spp. in respect to their phenol oxidase (laccase) activity. *Bioresource technology*, 84(3):251–257, 2002.
222. Tovar J. Romo P. Girona J, and Motilva M.J. L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive (*Olea europaea* L cv Arbequina) fruit grown under different irrigation regimes, *Journal of the science of food and Agriculture*. 82:892-898, 2002.
223. Serpil Taka, c and Alper Karakaya. Recovery of phenolic antioxidants from olive mill wastewater. *Recent Patents on Chemical Engineering*, 2(3):230– 237, 2009.
224. T Takahashi, R Kokubo, and M Sakaino. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from eucalyptus maculata. *Letters in applied microbiology*, 39(1):60–64, 2004.
225. H Tsuchiya and M linuma. Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone g isolated from sophora exigua. *Phytomedicine*, 7(2):161–165, 2000.
226. Kellie L Tuck and Peter J Hayball. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(11):636–644, 2002.

-
227. Evagelia Tsagaraki, Harris N. Lazarides, and Konstantinos B. Petrotos. Olive mill wastewater treatment. In Vasso Oreopoulou and Winfried Russ, editors, *Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry*, pages 133–157, Boston, MA, 2007. Springer US.
228. Ahmed Tafesh, Naim Najami, Jeries Jadoun, Fares Halahliah, Herbert Riepl, and Hassan Azaizeh. Synergistic antibacterial effects of polyphenolic compounds from olive mill wastewater. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 2011

U

-
229. Uzzan A., Karleskind A. « Olive et huile d'olive » in « Manuel des corps gras ». Tome 1, Edition Lavoisier : 221-228, 1992.

V

-
230. Francesco Visioli, Claudio Galli, Francis Bornet, Alissa Mattei, Rossana Patelli, Giovanni Galli, and Donatella Caruso. Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS letters*, 468(2-3):159–160, 2000.
231. Esther Vierhuis, Maurizio Servili, Maura Baldioli, Henk A Schols, Alphons GJ Voragen, and Gianfrancesco Montedoro. Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3):1218–1223, 2001.
232. Francesco Visioli, Giorgio Bellomo, Gianfranco Montedoro, and Claudio Galli. Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*, 117(1):25–32, 1995.
233. I Vagelas, H Kalorizou, A Papachatzis, and M Botu. Bioactivity of olive oil mill wastewater against plant pathogens and post-harvest diseases. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(2):1217–1219, 2009.
234. Francesco Visioli, Donatella Caruso, Simona Grande, Raffaella Bosisio, Marco Villa, Giovanni Galli, Cesare Sirtori, and Claudio Galli. Virgin olive oil study (volos): vasoprotective potential of extra virgin olive oil in mildly dyslipidemic patients. *European Journal of Nutrition*, 44(2):121–127, 2005.
235. Claudio Galli and Francesco Visioli. Antioxidant and other activities of phenolics in olives/olive oil, typical components of the mediterranean diet. *Lipids*, 34:S23–S26, 1999.
236. Francesco Visioli, Annalisa Romani, Nadia Mulinacci, Simona Zarini, Davide Conte, Franco F Vincieri, and Claudio Galli. Antioxidant and other biological activities of olive mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8):3397–3401, 1999.
237. Jaykant Vora, Anshu Srivastava, and Hashmukh Modi. Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts. *Informatics in Medicine Unlocked*, 13:128–132, 2018.
238. Paul Vossen. Growing olives for oil. In *Handbook of olive oil*, pages 19–56. Springer, 2013
239. Vagelas I., Kalorizou H., Papachatzis A., Botu M. Bioactivity of olive oil mill wastewater against plant pathogens and post harvest diseases. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*; 23 (2): 1217-1219, 2009

W

240. Gary Williamson and Claudine Manach. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. ii. review of 93 intervention studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1):243S–255S, 2005.

Y

241. Wahiba Yakhlef and Rabeh Arhab. Caractérisation des profils phénoliques et évaluation de l'activité antibactérienne du contenu phénolique des margines monovariétales. 2019.
242. RN Yadava and Lata Tiwari. Note: A potential antiviral flavone glycoside from the seeds of *butea monosperma* o. *kuntze*. *Journal of Asian natural products research*, 7(2):185–188, 2005
243. NS Yin, SYAHRIEL Abdullah, and CHONG KHIM Phin. Phytochemical constituents from leaves of *elaeis guineensis* and their antioxidant and antimicrobial activities. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(Suppl 4):137–140, 2013.
244. Yangui T., Rhouma A., Triki M.A., Gargouri K., Bouzid J. Control of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* using olive mill waste water and some of its indigenous bacterial strains. *Crop Protection*; 27(2): 189-197, 2008

Z

245. Daniel Zohary and Pinhas Spiegel-Roy. Beginnings of fruit growing in the old world. *Science*, 187(4174):319–327, 1975.
246. Nadia Zamoum. Association de culture Olivier/Vesce/Avoine : Performance et influence sur le potassium assimilable de la rhizosphère. PhD thesis, Université Mouloud Mammeri, 2011
247. Hanaa Zbakh and Abdelilah El Abbassi. Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1):53–65, 2012.
248. N Zeghad. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*thymus vulgaris*, *rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Constantine: université Mentouri, 2009.



Les appareils



Etuve du type memmert



Centrifugeuse du type Hettich



Rotavapor du type RE100-pro



Four à moufle de type protherm



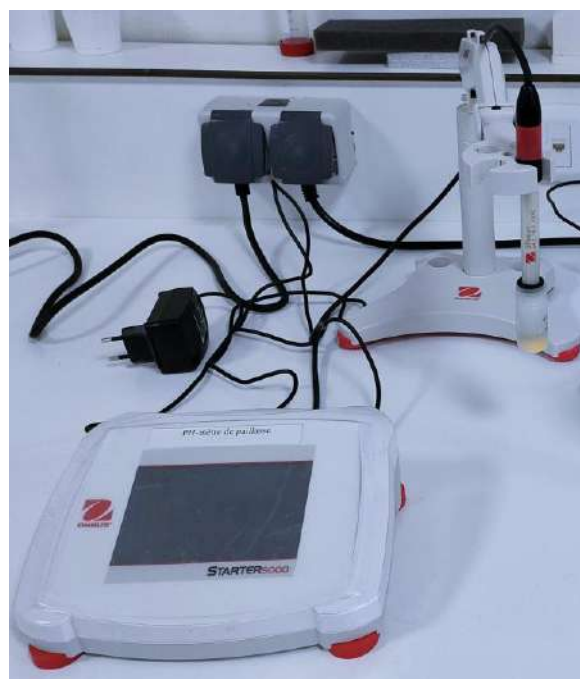
Dessiccateur



Balance du type OHAUS



Conductimètre du type OHAUS



pH-mètre du type OHAUS

Les milieux de culture

- **Gélose nutritive**

Poudre "Lab-Lemco" (extrait de viande)	05 g
Peptone bactériologique neutralisé	10 g
NaCl	05 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

pH = 7,2

- **Bouillon nutritif**

Poudre "Lab-Lemco" (extrait de viande)	05 g
Peptone bactériologique neutralisé	10 g
NaCl	05 g
Eau distillée	1000 mL

pH = 7,2

- **Mueller Hinton**

Infusion de viande de bœuf	300,0 ml
Peptone de caséine	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar	17,0 g

pH = 7,4

- **Eau physiologique (0,9%)**

- NaCl	09 g
- Eau distillée	1000 m

Résumé

Les huileries rejettent dans la nature des quantités énormes des sous-produits, particulièrement les eaux de lavage, ce qui engendre un impact négatif sur l'environnement dû à son pouvoir d'inhiber le développement des plantes et de certains microorganismes. Cependant, ils ont été considérés comme une source précieuse de composés phénoliques. Cela est dû à ses effets positifs dans de nombreux aspects, doués d'une activité antibactérienne remarquable, pouvant servir dans l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire ou en agriculture. À cette fin, l'étude est divisée en deux grands chapitres : Le 1er chapitre concerne les analyses physico-chimiques des eaux de lavage, l'extraction des substances biologiquement actives des eaux de lavage qui sont les polyphénols au moyen de l'acétate d'éthyle, et aussi le dosage de ces composants par réactif de Folin-Ciocalteu. Le 2ème chapitre concerne l'activité et l'effet synergique antibactérien de ces extraits phénoliques. Les résultats obtenus ont montré que les eaux de lavage contiennent des quantités importantes de composés phénoliques, qui se sont avérées efficaces antibactériennes sur les souches pathogènes étudiées et possèdent un effet synergique.

Mots clés :

Eaux de lavage, polyphénols, analyses physico-chimiques, l'effet synergique, activité antibactérienne.

Abstract

oil mills release huge amounts of by-products, especially washing water, into nature, which has a negative impact on the environment due to its power to inhibit the development of plants and certain microorganisms. However, they were considered to be a valuable source of phenolic compounds. This is due to its positive effects in many aspects, endowed with remarkable antibacterial activity, which can be used in the pharmaceutical industry, the food industry or in agriculture. To this end, the study is divided into two main chapters: The 1st chapter concerns the physico-chemical analyzes of the washing water, the extraction of the biological active substances of the washing water which are the polyphenols by means of acetate d 'ethyl, and also the determination of these components by Folin-Ciocalteu reagent. The 2nd chapter concerns the activity and the synergistic antibacterial effect of these phenolic extracts. The resulted obtained have shown that the washing waters close up large quantities of phenolic compounds, which have been shown to be effective antibacterial on the pathogenic strains studied and have a synergistic effect.

Keywords:

Washing water, polyphenols, physico-chemical analyzes, synergistic effect, antibacterial activity.

الملخص

تقوم مصانع الزيت بإطلاق كميات هائلة من المنتجات الثانوية ، وخاصة مياه الغسيل ، في الطبيعة ، والتي لها تأثير سلبي على البيئة بسبب قدرتها على منع نمو النباتات وبعض الكائنات الحية الدقيقة. ومع ذلك ، فقد تم اعتبارهم مصدرًا قيمًا للمركبات الفينولية. ويرجع ذلك إلى آثاره الإيجابية في العديد من الجوانب ، حيث يتمتع بنشاط ملحوظ كمضاد للجراثيم ، والذي يمكن استخدامه في صناعة الأدوية ، أو صناعة الأغذية ، أو في الزراعة. تحقيقا لهذه الغاية ، تنقسم الدراسة إلى فصلين رئيسيين: الفصل الأول يتعلق بالتحليلات الفيزيائية والكيميائية لمياه الغسيل ، واستخراج المواد الفعالة البيولوجية لمياه الغسيل وهي يتعلق الفصل الثاني Folin-Ciocalteu البوليفينول عن طريق خلاص الإيثيل ، وكذلك تحديد هذه المكونات بواسطة كاشف بالنشاط والتأثير التآزري المضاد للبكتيريا لهذه المستخلصات الفينولية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مياه الغسيل تسد كميات كبيرة من المركبات الفينولية ، والتي ثبت أنها فعالة كمضاد للبكتيريا على السلالات المسببة للأمراض التي تمت دراستها ولها تأثير تآزري.

الكلمات المفتاحية :

مياه الغسيل ، البوليفينول ، التحليلات الفيزيائية والكيميائية ، التأثير التآزري ، النشاط المضاد للبكتيريا.