

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE POPULAIRE.
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi ousou.
Faculté des Sciences Biologique et des Sciences Agronomique.
Département de biochimie-microbiologie



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme en master académique en sciences biologiques
Option : Biochimie Appliquée

Thème

*Etude de quelques activités biologiques
d'extraits végétaux*

Réalisé par : RAHMI Ouahiba et KARA Zina

Devant le jury composé de :

Président :	Mr HOUALI Karim	Professeur	UMMTO
Promotrice :	Mme TAZDAÏT Rym	MCB	UMMTO
Co-promoteur:	Mr TAZDAÏT Djaber	MCB	UMMTO
Examineurs:	Mme ZENNIA Saliha	MCB	UMMTO
	Mr BOUAZZA Belaid	MAB	UMMTO

2014-2015

Remerciements

On remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la force, la patience, et la volonté pour réaliser ce mémoire « El hamdoulillah »

Au moment où s'achève ce travail, permettez-nous de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de mémoire nous ont dirigées, soutenues aidées et encouragées

On tient à remercier Mme TAZDAÏT R. Maître de Conférences à l'UMMTO pour avoir encadré ce travail. On la remercie pour sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses conseils ainsi que pour ses qualités relationnelles.

Nos vifs remerciements vont à Mr TAZDAÏT D. Maître de Conférences à l'UMMTO pour la codirection de ce mémoire, pour ses conseils avisés, son aide précieuse ainsi que sa disponibilité.

Nous exprimons notre reconnaissance à Mr HOUALI K., Professeur à l'UMMTO, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

On exprime nos respectueux dévouements aux membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'examiner ce travail :

*Mme ZENNIA S., Maître de Conférences à l'UMMTO et Mr BOUAZZA B.,
Maître Assistant à l'UMMTO*

Nous remercions tous les enseignants ayant participé à notre formation tout au long de notre cursus

Merci à toute l'équipe du laboratoire de microbiologie et toute l'équipe du laboratoire physico-chimique II pour toute leur aide et leur soutien

Enfin, que tous ceux et celles qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de notre profonde sympathie.

OUAHIBA ET ZINA

DEDICACES

Je rends grâce à ALLAH le TOUT PUISSANT pour tous les bienfaits dont il m'a comblé. Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je dédie mon travail :

A mon très cher Papa, autant de phrases, éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude, ma reconnaissance ainsi que l'amour que j'éprouve pour toi, tes conseils m'ont toujours guidée vers la réussite,

A ma très chère mère, symbole d'amour inconditionnel, symbole de tous les sacrifices, aucune dédicace ne saurait exprimer l'affection et l'amour que j'éprouve pour toi,

*A mon unique sœur SAMIA que j'aime beaucoup,
A mes très chers frères : NOURDDINE, YUCEF ET MOUSSA*

A toute ma grande famille, oncles, tantes, cousins et cousines,

A mon binôme Zina et sa famille

A tous mes amis(e)

A toutes la promotion de master 2014- 2015

Ainsi à toutes personnes qui m'ont encouragé ou aidé au tout long de mes études.

OUAHIBA

DEDICACES

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

A ceux qui m'ont encouragé dans mes moments les plus difficiles

A ceux qui m'ont fait confiance, qui m'ont soutenue sans faille dans tous mes

Projets et qui ont toujours accepté mes choix

A mes chers parents : Kaci et Yamina.

A toute la famille, mes frères : Sadek, Abderrahmane, Abdéslam, Lamine.

A Ma sœur unique : Lila ainsi que mes petits neveux : Badredin et Ayoub.

*A tous mes chers amis et toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours
scolaire et académique.*

A toute la promotion de master 2014-2015, je dis Merci.

ZINA

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I. Etude bibliographique

1. La datte	2
1.1. Morphologie du fruit	2
1.2. Composition chimique de la pulpe de la datte.....	3
1.2.1. Les sucres	4
1.2.2. Les protéines	4
1.2.3. Les lipides.....	4
1.2.4. Les vitamines.....	5
1.2.5. L'eau.....	5
1.2.6. Les éléments minéraux	6
1.2.7. Les fibres	6
1.2.8. Les enzymes	6
1.2.9. Les composés phénoliques	7
1.2.10. Composés mineurs	8
1.3. Utilisation du palmier dattier en pharmacopée traditionnelle	8
2. L'olivier	8
2.1. Feuilles de l'olivier	9
2.1.1. Intérêts des feuilles d'olivier pour la santé humaine	12
2.1.2. Autres intérêts des feuilles d'olivier.....	12
3. Les surfactants.....	14
3.1. Classification	16
3.1.1, Classification chimique	16
3.1.1.2. Tensioactifs anioniques	16
3.1.1.3. Tensioactifs cationiques	16
3.1.1.4. Les tensioactifs amphotères	16
3.2. Les saponines.....	17

3.2.1. Composition des saponines	17
3.2.2. Classification des saponines	17
3.3. Isolement de saponines.....	18
3.4. Activités biologiques des saponines.....	18
4. Les prébiotiques.....	19
4.1. Sources naturelles de prébiotique	19
4.2. Rôles des prébiotique	20

Chapitre II. Matériel et méthodes

1. Matériel	
1.1. Matériel biologique	21
1.2. Produits chimiques	22
1.3. Petit matériel et verrerie	22
1.4. Appareillages	23
1.5. Milieux de culture.....	23
2. Méthodes	
2.1. Préparation des extraits aqueux et méthanoliques.....	23
2.2 Recherche de biosurfactants	24
2.3. Etude de l'activité antimicrobienne.....	24
2.4. Etude de l'activité antifongique.....	25
2.5.Etude de l'activité prébiotique.....	25

Chapitre III. Résultats et discussion

1. Eude de l'activité biosurfactante	27
2. Etude des activités antibactériennes et antifongiques	28
3.Etude de l'activité prébiotique.....	31
Conclusion.....	38
Références bibliographiques	39
Annexes	

Liste des abréviations

ATTC : Américain Type Culture Collection.

DO : Densité Optique.

FOS: Fructo-oligosaccharides.

GOS: Galactose oligosides.

HIV:virus de l'immunodéficience humaine.

HLB:Hydrophilic-Lipophylic Balance.

MH: Mueller-Hinton.

MRS: *Man Rogosa Sharpe*.

p/v: poids /volume.

TOS: Transgalactoseoligosides.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Photographie de la variété de dattes Deglet Nour.....	2
Figure 2: Coupe longitudinale d'une datte	3
Figure 3: Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'olivier pour la consommation humaine	14
Figure 4: Schéma simplifié d'un agent tensioactif	15
Figure 5: Composition des saponines.	17
Figure 6 : Résultats de la recherche de l'effet moussant dans les feuilles d'oliviers (a), dattes (b), olives noires (c) et vertes (d).....	27
Figure 7 : Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS	31
Figure 8: Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence de l'extrait des feuilles d'oliviers	32
Figure 9 : Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence de l'extrait de dattes de la variété Deglet-Nour.....	33
Figure 10 : Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence de l'extrait des olives vertes	33
Figure 11: Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence de l'extrait des olives noires	34
Figure 12: Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence de l'extrait de maïs	34
Figure 13: Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence de l'extrait de riz	35
Figure 14: Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence de spiruline	36
Figure 15: Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence d'extrait d' <i>Ulvafaciata</i>	36
Figure 16: Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS en présence de la fraction glucidique de <i>Rhodella violacea</i>	37

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Teneur en sucres de quelques variétés de dattes algériennes.....	4
Tableau II. Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour	4
Tableau III. Composition de la datte en vitamines	5
Tableau IV. Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région Fliache (Biskra), en % du poids frais	5
Tableau V. Composition de la pulpe de datte en sels minéraux.....	6
Tableau VI. Teneur en composés phénoliques de quelques variétés de dattes algériennes.....	7
Tableau VII. Quelques variétés d'oliviers cultivées en Algérie	9
Tableau VIII. Composition chimique globale des feuilles d'oliviers.....	10
Tableau IX. Composition en acides aminées des feuilles d'oliviers fraîches	11
Tableau X. Composition en minéraux des feuilles d'oliviers	12
Tableau XI. Indications cliniques des extraits des feuilles d'oliviers	13
Tableau XII. Les différents types de tensioactif	15
Tableau XIII. Résultats de la recherche des biosurfactants	27
Tableau IVX. Détermination des diamètres des zones d'inhibition	28
Tableau VX. Détermination des diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la souche <i>Aspergillus niger</i> en présence des extraits étudiés.....	29

INTRODUCTION

Introduction

Le règne végétal est constitué d'un assemblage polyphylétique d'organismes photosynthétiques dotés de cellules ayant une paroi cellulosique. Il est formé de deux lignées, l'une d'algues (algues vertes, brunes, etc.) et la seconde de plantes terrestres.

La plupart des espèces végétales possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Elles sont utilisées aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Le manque de médicaments essentiels, l'insuffisance des soins de santé, le coût élevé des médicaments et les habitudes socioculturelles des populations expliquent le recours aux pratiques traditionnelles à base de plantes médicinales. Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. En effet, les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes sont isolés et étudiés, car les plantes sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

Parmi les plantes médicinales fréquemment employées en Algérie pour leurs valeurs nutritionnelles et médicales, il y a le palmier dattier et l'olivier. Ces derniers sont utilisés traditionnellement pour combattre diverses pathologies ; la datte est connue pour être utilisée pour soigner des pathologies du système oesophago-gastro-intestinaux, des pathologies du système broncho-pulmonaire, des affections oculaires, l'anémie, etc. Les feuilles d'oliviers sont réputées pour être utilisées pour combattre le paludisme (malaria), désinfecter les blessures cutanées, etc.

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence certaines activités biologiques (biosurfactante, antibactérienne, antifongique et prébiotique) d'extraits végétaux représentés par des plantes (olivier, palmier dattier, riz et maïs) et des algues (spiruline, *Rhodella violacea* et *Ulva fasciata*).

CHAPITRE I :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. La datte

La datte est le fruit du palmier dattier, produit dans les régions sahariennes et considéré comme un aliment de grande importance pour la population habitant ces régions.

L'Algérie possède un patrimoine en palmiers dattiers riche et diversifié, essentiellement localisés dans les zones de la partie sud du pays. Près de 58,14% de la production nationale des dattes est localisée dans les wilayas d'El-Oued (29,54%) et de Biskra (28,6%). La variété Deglet-Nour occupe la première place et représente 52,87% de la production totale des dattes (Amellal, 2008).

La variété DegletNour (Fig. 1), réputée pour ses qualités nutritionnelle et gustative, est la variété la plus commercialisée à l'échelle nationale et internationale. C'est une datte demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de datte du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A maturité la datte est d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant (BOUDRAR *et al.*, 1997). Les autres variétés (30% de la production nationale) sont de moindre importance économique ; elles sont destinées généralement à l'alimentation animale. Les plus répandues sont les variétés Ghars, Degla-Beïda et Mech-Degla (PACKER, 2001).



Figure 1: Photographie de la variété de dattes Deglet Nour

1.1. Morphologie du fruit

La datte est une baie contenant une seule graine, elle est constituée d'un mésocarpe charnu, protégé par un fin péricarpe et entouré d'un endocarpe parcheminé (Barreveld, 1993).

Selon ESPIARD (2002), La datte est constituée de deux parties :

- Une partie comestible représentée par la pulpe (mésocarpe).
- Une partie non comestible ayant une consistance dure représentée par le noyau. Le noyau représente 10 à 30% de poids de la datte, il est constitué d'un albumen protégé par une enveloppe cellulosique (Figure 2).

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Leur couleur brune est plus ou moins foncées. Le fruit est généralement de forme plus ou moins ellipsoïdale

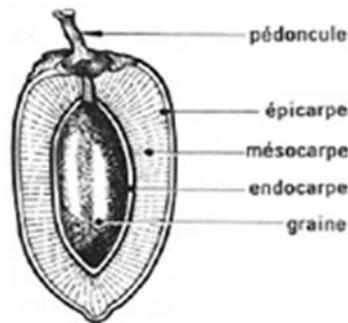


Figure 2 : Coupe longitudinale d'une datte(DAAS AMIOU, 2009)

1.1. Composition chimique de la pulpe de la datte

La datte est constituée d'une partie charnue, la chair ou la pulpe et d'un noyau. C'est un fruit de grande valeur alimentaire et très énergétique (4 à 5 fois plus calorique que les autres fruits) (MUNIER, 1973).

La pulpe de la datte représente une proportion de 80à95% du poids total du fruit, selon la variété et les conditions pédoclimatiques. Elle se distingue et sa forte teneur en sucres (YAHIAOUI, 1998).

1.2.1. L'eau

La teneur en eau des dattes évolue en fonction du stade de maturation. L'humidité décroît des stades verts aux stades mûrs. D'une manière générale, la teneur moyenne en eau des dattes varie de 10 à 40% de poids frais (Tableau I), ceci la classe dans les aliments à humidité intermédiaire (BOOIJ *et al.*, 1992).

Tableau I. Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région Fliache (Biskra) (KHENFER, 2004).

Variétés	Consistance	Teneur en eau (% du poids frais)
Deglet-Nour	Demi-molle	22,6
Ghars	Molle	25,4
Mech-Degla	Sèche	13,7

1.2.2. Les sucres

Le sucre constitue le composant le plus important qui entre dans la composition de la datte. Il varie généralement en fonction de la variété (Tableau II), de la consistance et des stades de maturation avec des proportions qui peuvent atteindre jusqu'à 60% du poids de la pulpe fraîche en saccharose et 17 à 80% pour les sucres réducteurs (SIBOUKEUR, 1997).

- Les dattes molles (taux d'humidité supérieur ou égal à 30%) à sucres inverti (fructose, glucose).
- Les dattes demi-molles (de 20 à 30% d'humidité) occupant une position intermédiaire.
- Les dattes sèches (moins de 20% d'humidité) à saccharose. (NOUI, 2001).

Tableaux II. Teneur en sucre de quelques variétés de dattes algériennes.

Constituants par rapport à la matière sèche (%)	Ghars (molle)	Deglet-Nour (demi-molle)	Mech-Degla (sèche)
Sucres totaux	85,28	71,37	80,07
Sucres réducteurs	80,68	22,81	20,00
Saccharose	04,37	46,11	51,40

1.2.3. Les protéines

Les dattes sont caractérisées par une faible teneur en protéines. Ces derniers varient entre 0,38 et 2,5% du poids sec (NOUI, 2001).

FAVIER *et al.* (1995) ont étudié la composition en acides aminés de la datte. Les résultats de leur étude ont démontré la présence d'acides aminés essentiels : isoleucine, leucine, méthionine, phénylalanine, tryptophane, valine, thréonine, et d'acides aminés non-essentiels : arginine, histidine, alanine, acide aspartique, acide glutamique, tyrosine, cystéine, glycofolle, lysine, proline et sérine.

1.2.4. Les lipides

Il y a 7 à 13% d'acides gras dans la date de la variété Deglet-Nour (YAHIAOUI, 1998). Leur répartition est illustrée dans le tableau III.

Tableau III. Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour (YAHIAOUI, 1998).

Acides gras	Teneur en pourcentage de matière grasse
Acide linoléique (C18 :3)	12,30
Acide linoléique (C18 :2)	11,47
Acide oléique (C18 :1)	10,74
Acide stéarique (C18 :0)	10,47
Acide palmitique (C16 :0)	07,89
Acide myristique (C14 :0)	08,66

1.2.5. Les éléments minéraux

La datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium, le magnésium, le phosphore et le calcium (BENCHELAH et MAKKA, 2008).

Tableau IV. Composition de la pulpe de datte en sels minéraux (BENFLIS, 2006 ; AL FARSI *et al.*, 2007).

Sels minéraux	Teneur de la pulpe (mg/100g)
Sodium	27-70
Potassium	600-1600
Calcium	20-150
Magnésium	32-170
Phosphore	34-120
Cuivre	0,2-1,9
Fer	1,5-8
Zinc	0,25-1
Manganèse	0,5-1
Sélénium	0,36-0,53

1.2.6. Les vitamines

La datte ne constitue pas une source importante de vitamines. La fraction vitaminique de la datte se caractérise par des teneurs appréciables de vitamines du groupe B (Tableau V). Ce sont des précurseurs immédiats des coenzymes indispensables à toutes les cellules vivantes (VILKAS, 1993).

Tableau V. Composition de la datte en vitamines (Favier *et al.*, 1995)

Vitamines	Teneur en mg
B3	1,7
B5	0,8
B2	0,10
B6	1,15
PP	0,03
Vitamine C	présente en très faible quantité
Folates (B9)	0,028

1.2.7. Les fibres

Les fibres sont des substances insolubles non nutritives. Elles constituent 2 à 6% du poids de la datte. Elles sont composées de cellulose, hémicellulose, lignines, ligno-cellulose et protéines insolubles. Durant le processus de maturation, ces substances sont graduellement dégradées, par les enzymes en composés plus solubles, ce qui rend le fruit plus mou (BARREVELD, 1993).

La proportion de cellulose diminue chez les variétés de haute qualité comme Deglet-Nour, et peut augmenter jusqu'à 10% dans d'autres variétés communes particulièrement farineuses Ghars, Degla-Beïda et Mech-Degla (BEN ABBES, 2011).

Selon des études réalisées par BENCHABANE *et al.*, (2000) sur les composés pariétaux de deux variétés de dattes algériennes Ghars et Deglet-Nour, les composés de la paroi végétale sont à leurs minimums au stade mûr (Tamr). La paroi cellulaire de la datte mûre est pauvre en pectine (3%) mais riche en fibres (6 à 8%), plus particulièrement en hémicelluloses.

La lignine est un composé important de la paroi de la datte ; elle intervient avec la pectine, la cellulose et l'hémicellulose dans la modification de la fermeté de la datte au cours de la maturation.

1.2.8. Les enzymes

Les enzymes de la datte jouent un rôle important dans les processus de conversion se produisant pendant la formation et la maturation du fruit. Les activités de quatre enzymes ont un effet particulier sur la qualité de la datte mûre (YAHIAOUI, 1998). Il s'agit de :

- **L'invertase** : elle est responsable de l'inversion du saccharose en sucres réducteurs (glucose et fructose).
- **La cellulase** : Elle décompose la molécule de cellulose en chaînes plus courtes.
- **La pectine méthylestérase** : Elle convertit les substances pectiques insolubles en pectines plus solubles. Elle contribue, ainsi, au ramollissement du fruit.
- **La polyphénoloxydase** : Elle est responsable de l'oxydation des composés phénoliques conduisant au brunissement de la datte (KHALI et SELSELET-ATTOU, 2007).

1.2.9. Les composés phénoliques

L'étude menée par MANSOURI *et al.* (2005) sur sept variétés de dattes algériennes à savoir : Deglet-Nour, Tazizaout, Ougherouss, Tantboucht, Tafiziouine, Tazerzait et Akerbouche a révélé une teneur phénolique variant de 2,49 à 8,36mg/100g du poids frais (Tableau VI). La variété Tantboucht présente la valeur la plus élevée suivie par la variété Deglet-Nour, tandis que les variétés Tazizaout et Ougherouss renferment les valeurs les plus basses.

Tableau VI. Teneur en composés phénoliques de quelques variétés de dattes algériennes (MANSOURI *et al.*, 2005).

Variétés	Teneur en mg / 100g du poids frais
Tazizouat	2,49
Ougherouss	2,84
Akrbouche	3,55
Tazarzait	3,91
Tafiziouine	4,59
Deglet- Nour	6,73
Tantboucht	8,36

1.2.10. Composés mineurs

Bien que les composés mineurs ne représentent que 5 % des constituants de la datte, ils influent sur la qualité du fruit. Ils sont représentés par les acides organiques (acide citrique, l'acide malique, etc.) et les pigments (caroténoïdes et chlorophylle) (BENCHABANE, 1996).

1.3. Utilisation du palmier dattier en pharmacopée traditionnelle

Le palmiers dattier est considéré comme plante médicinale utilisée pour traiter les pathologies suivantes :

- Pathologies du système oesophago-gastro-intestinal ;
- Pathologies du système broncho-pulmonaire ;
- Affections oculaires (ALBERT, 1998 ; JACCOT et CAMPILLO, 2003).

D'autres vertus thérapeutiques, ont été rapporté par BELGURDJ *et al.* (2008) :

- Retablisement de l'utérus après accouchement et stimulation de la lactation ;
- Fortifiant pour le bébé ;
- Regulation de hypertension artérielle ;
- Traitement de l'anémie et hydratation de la peau.

2. L'olivier

L'olivier est une plante aromatique et médicinale. Il est largement cultivé dans le bassin méditerranéen depuis l'antiquité. L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques. En effet, l'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie remonte à très loin dans l'histoire (DJENANE *et al.*, 2012).

Le tableau VII illustre quelques variétés d'oliviers cultivées en Algérie.

Tableau VII. Quelques variétés d'oliviers cultivées en Algérie (YAKOUB, 2005).

Variétés	Types
Chemlal	Variétés à huile
Azerradj	Variétés à olive de table
Aberkane	Variété mixte (à huile et d'olive de table)
Limli	Variétés à huile
Sigoise	Variété mixte (à huile et d'olive de table)
Rongettes	Variétés à l'huile
Blabquette	Variétés mixte

La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon DEYSSON (1979) est la suivante :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Scrophulariales*

Famille : *Oleaceae*

Genre : *Olea*

Espèce : *europaea*

Sous-espèce : *europaea*

2.1. Feuilles de l'olivier

Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques, notamment l'oleuropéine. Ces composés possèdent, entre autres, des pouvoirs antioxydant, anticancéreux, antimicrobien qui les rendent très importants pour les domaines de la santé et l'industrie agroalimentaire (BISIGNANO, 1999).

Cette biomasse est produite en grande quantité durant la récolte et la taille des oliviers (25 kg de feuilles).

Les feuilles fraîches d'olivier sont caractérisées par une matière sèche aux alentours de 50%. La composition chimique des feuilles d'oliviers varie en fonction de nombreux facteurs, que sont la variété, les conditions climatiques, l'époque de prélèvement et l'âge des plantations (MAYMONE *et al.* 1950). Le tableau VIII montre la composition chimique globale des feuilles d'oliviers. La matière organique est constituée par des protéines, des lipides, des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tel que la cellulose et l'hémicellulose).

Tableau VIII. Composition chimique globale des feuilles d'oliviers (exprimé en g par 100g).

Composition(%)	Boudhrioua <i>et al.,2009)</i>	Erbay et Icier,2009	Martin- Garcia <i>et al., 2006</i>	Garcia- Gomez <i>et al., 2003</i>	Fegros <i>et al.,1995</i>
Eau	46,2-49,7a	49,8 a	41,4 a	nd	44,0 a
Protéines	5,0-7 ,6a	5,4 a	7,0 b	nd	nd
Lipides	1,0-1,3a	6,5 a	3,2 b	6,2 b	nd
Minéraux	2,8-4.4 a	3,6 a	16.2 b	26,6 b	9,2 b
Carbohydrates	37,1-42,5 a	27,5 a	nd	nd	nd
Fibres brutes	nd	7,0 a	nd	nd	18,0 b
Celluloses	nd	nd	nd	19,3 b	11,4 b
Hémicellulose	nd	nd	nd	25,4 b	13.3 b
Lignine	nd	nd	nd	30.4 b	14.2 b
Polyphénols totaux	1,3-2,3 b	nd	2.5 b	nd	nd
Tannins solubles	nd	nd	Nd	nd	03 b
Tannins condensés	nd	nd	0,8 b	nd	1,0 b

a : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'oliviers,
b : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'oliviers,
nd : valeur non déterminée.

La teneur en protéines est faible mais sa composition en acides aminés est particulièrement diversifiée (tableau IX).

Tableau IX. Composition en acides aminés des feuilles d'oliviers fraîches (MARTIN-GARCIA et MOLINA-ALCOIDE, 2008).

Acides aminés	Concentration (g par Kg d'azote total)
Acide aspartique	27,5
Acide glutamique	35,1
Sérine	44,5
Glycine	79,6
Arginine	25,4
Thréonine	162,0
Alanine	46,8
Proline	73,8
Tyrosine	84,2
Valine	32,3
Méthionine	74,8
Cystéine	5,3
Isoleucine	1,6
Cystéine	58,8
Leucine	104
Phénylalanine	51,8
Lysine	19,1
Acides aminés essentiels	547
Acides aminés non essentiel	379
Acides aminés totaux (sans tryptophane)	926

La composition en minéraux des feuilles d'oliviers est présentée dans le tableau X ; le fer est la plus abondant avec une concentration de 273 g/ Kg de matière sèche (AOUIDI, 2012).

Tableau X. Composition en minéraux des feuilles d'oliviers (FEGEROS *et al.*, 1995).

Minéraux	Concentration (g par Kg de matière sèche)
Calcium (Ca)	12,7
Phosphore (P)	2,1
Magnesium (Mg)	1,9
Potassium (K)	6,3
Fer (Fe)	273,8
Cuivre (Cu)	10,7
Zinc (Zn)	21,3
Magnésium (Mn)	50,0

2.1.1. Intérêts des feuilles d'oliviers pour la santé humaine

Depuis l'antiquité, les feuilles d'oliviers sont employées en phytothérapie. Les grecques, les utilisaient pour désinfecter les blessures cutanées. Ils leurs attribuaient des vertus antiseptiques et la propriété de combattre toutes sortes d'infections. Au XIX^{ème} siècle, les feuilles d'oliviers ont été utilisées pour combattre le paludisme (malaria), Ces usages sont tombés en désuétude pendant un certain temps en raison de l'omniprésence des antibiotiques, Cependant, les professionnels modernes de la santé ont commencé à utiliser l'extrait de feuilles d'oliviers, en 1995, les premiers résultats furent très positifs. Depuis, il a été démontré que les feuilles d'oliviers possèdent de nombreux avantages thérapeutiques contre de nombreuses maladies et des vertus dans le maintien de la santé globale.

Quelques propriétés médicinales des feuilles d'oliviers sont présentées dans le tableau XI.

2.1.2. Autres intérêts des feuilles d'oliviers

Actuellement, et avec l'évolution de la technologie et l'amélioration des connaissances, les domaines d'utilisation des feuilles d'olivier ont été élargis et diversifiés, Les feuilles d'olivier sont utilisées pour l'extraction des composés d'intérêt tels que le mannitol, les stérols, les alcools gras et les composés phénoliques, principalement l'oleuropéine, les flavonoïdes et les composés triterpéniques (AOUIDI, 2012).

Les feuilles d'oliviers sont utilisées comme ingrédient dans la formulation d'énormément de produits cosmétiques et diététiques, tel que les savons et les crèmes (TADASHI, 2006).

Tableau XI. Indications cliniques des extraits des feuilles d'oliviers.

Activité	Références
Anti-oxydante	ALTIOK <i>et al.</i> , 2008 ; BRIANTE <i>et al.</i> , 2002 ; HAYES <i>et al.</i> , 2010 ; KIRITSAKIS <i>etal.</i> , 2010
Anti-microbienne	SUDJANA <i>et al.</i> .,2009 ; LEE <i>et al.</i> , 2010 ; MARKIN <i>et al.</i> , 2003
Anti-viral (HIV)	LEE-HANG <i>et al.</i> , 2003 ; BAO <i>et al.</i> , 2007
Antifongique	KORUKLUOGLU <i>et al.</i> , 2008
Gastro-protective	DEKANSKI <i>et al.</i> , 2009
Hypo-glycémiante	KOMAKI <i>et al.</i> , 2003 ; GONZALEZ <i>et al.</i> , 1992
Anti-athérogène (prévention contrel'athérosclérose)	SOMOVA <i>et al.</i> , 2003
Hypo-lipidimique	JEMAI <i>et al.</i> , 2008
Radio-protective	JULIAN CASTILLO <i>et al.</i> , 2010 ; BENAVENTE-GARCIA <i>et al.</i> , 2002
Neuro-protective	MOHAGHEGHI <i>et al.</i> , 2011
Hypo-tensive	SUSALIT <i>et al.</i> , 2011 ; KHAYYAL <i>et al.</i> , 2002
Anti-cardiovasculaire	SINGH <i>et al.</i> ,2008 ; FONOLLA <i>et al.</i> , 2010 ; SCHEFFLER <i>et al.</i> ,2008
Anti-cancérigène	KIMURA et SUMIYOSHI, 2009 ; BOUALLAGUI <i>et al.</i> ,2011

En industrie alimentaire, elles sont principalement utilisées pour l'amélioration de la qualité et la conservation des aliments tels que les viandes (HAYES *et al.*, 2009) ; l'olive de table (LALAS *et al.*, 2011) et les huiles(figure 3)(BOUAZIZ *et al.*, 2008).

D'autres voies de valorisation des feuilles d'olivier, récemment démontrées, concernent le domaine de la dépollution, elles sont utilisés comme sorbant pour enlever le cadmium de milieu aqueux (HAMDAOUI, 2009); de la sidérurgie, elles sont utilisés pour Inhibée la corrosion acide de l'acier (EL-ETRE *et al.*, 2007) et de la synthèse biochimique en utilisant la hydroperoxide-lyase des feuilles d'olivier pour la synthèse de note verte (BEN AKACHA et GARGOURI, 2009).



Figure3 : Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'oliviers pour la consommation Humaine.

3. Les surfactants

Les tensioactifs ou surfactants ("Surface Active Agent") sont des molécules, d'origine naturelle (biosurfactants) ou synthétique, possédant d'une part une chaîne à caractère lipophile (ou queue hydrophobe) et d'autre part un groupement à caractère hydrophile (aussi appelé tête polaire) comme illustré sur la figure 4. Ces composés amphiphiles, diminuent la tension superficielle d'un liquide, la tension interfaciale entre deux liquides ou celle entre un liquide et un solide (BENHATHAT, 2006).

Le groupe polaire est un groupe fonctionnel qui comporte des hétéroatomes d'oxygène, de soufre, d'azote ou de phosphore. Ce sont ces hétéroatomes qui produisent une forte interaction avec les solvants polaires, particulièrement l'eau.

Le groupe apolaire est, en général, une chaîne hydrocarbonée ancrée directement sur le groupe polaire ou par l'intermédiaire d'un noyau aromatique, Dans des cas très particuliers, le groupe apolaire peut contenir des groupes silicones ou fluorocarbonés (SALAGER, 2002).

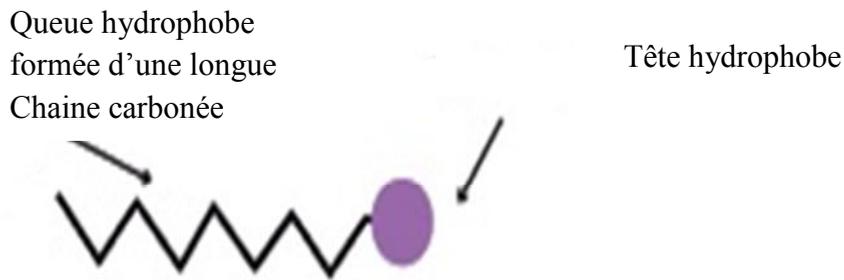
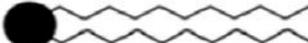
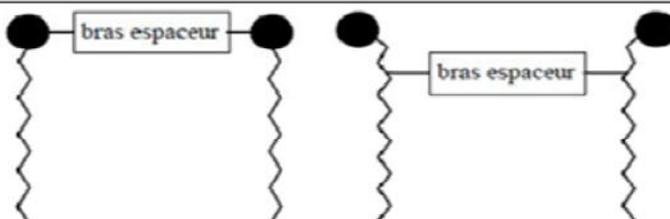


Figure4 : Schémas simplifié d'un agent tensioactif

Les tensioactifs sont subdivisés en plusieurs catégories selon le nombre et la disposition des pôles hydrophiles et hydrophobes au sein de la molécule (Tableau XII).

Tableau XII. Les différents types de tensioactif (SALAGER, 2002).

Structure du tensioactif	Nom
	Monocaténaire
	Bicaténaire
	Tricaténaire
	Bolaforme simple
	Bolaforme double chaîne
	Géminés
	<i>tête polaire, hydrophile</i> <i>chaîne apolaire, hydrophobe</i>

3.1. Classification

Les tensioactifs peuvent être classés en fonction de :

- la nature de leur tête polaire (non ionique, anionique, cationique ou amphotère) ;
- la longueur de la partie lipophile qui permet de classer les tensioactifs en agents mouillants (C8-C10), détergents (C12-C16), émulsionnants ou adoucissants ;
- leur origine, naturelle ou synthétique (NOIRET *et al.*, 2002).

3.1.1. Classification chimique

On distingue quatre types de tensioactifs suivant la nature de la partie hydrophile : non-ioniques, anioniques, cationiques et amphotères (WEST et HARWELL, 2010).

3.1.1.1. Tensioactifs non ioniques

Les tensioactifs non ioniques ne comportent aucune charge nette. Ils ne donnent aucun ion en solution aqueuse. Leur caractère hydrophile provient de la présence de groupements polaires de type éther, alcool, carbonyle ou amine (AGACH, 2012).

3.1.1.2. Tensioactifs anioniques

Les tensioactifs anioniques possèdent un ou plusieurs groupes fonctionnels s'ionisant en phase aqueuse pour donner des ions chargés négativement.

3.1.1.3. Tensioactifs cationiques

Les tensioactifs cationiques possèdent un ou plusieurs groupements s'ionisant en solution aqueuse pour donner des ions tensioactifs chargés positivement (CARMONA-RIBEIRO *et al.*, 2006).

3.1.1.4. Les tensioactifs amphotères

La recherche de nouveaux produits a naturellement conduit le chimiste à associer les charges anioniques et cationiques dans une seule et même espèce chimique « zwitterionique ». Selon le pH, elles peuvent libérer un ion positif ou négatif. Les tensioactifs amphotères ont une balance hydrophile-lipophile (HLB) élevée. Ils sont donc utilisés comme détergents. Ils présentent un caractère moins agressif que les tensioactifs anioniques et sont recommandés pour les peaux fragiles. Les dérivés de la bétaine et les phospholipides sont les tensioactifs zwitterioniques les plus rencontrés (LARPENT, 1993).

3.2. Les saponines

Les saponines ou saponosides sont une classe spécifique de métabolites secondaire trouvés dans le règne végétal. Ces tensioactifs naturels se trouvent, en quantité variable, dans plusieurs plantes ayant un goût amer. Ils servent à protéger la plante contre les insectes.

Ces substances sont stockées de façon non-toxique dans la plante. L'attaque du pathogène, en cassant les cellules, met en contact le composé et une enzyme qui va le déglycosyler, on obtient alors un aglycone toxique pour les pathogènes (les bactéries et les champignons) (SPARG *et al*, 2004).

Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau (GAUTHIER, 2008).

3.2.1 .Composition des saponines

Les saponines sont composées de deux entités : un noyau lipophile (aglycone, sapogénine) et d'une ou plusieurs chaînes de sucre hydrophiles (glycone) variables selon le type de saponines, La chaîne glucidique est composée de pentoses, d'hexoses ou d'acides glucuroniques (Figure 5).

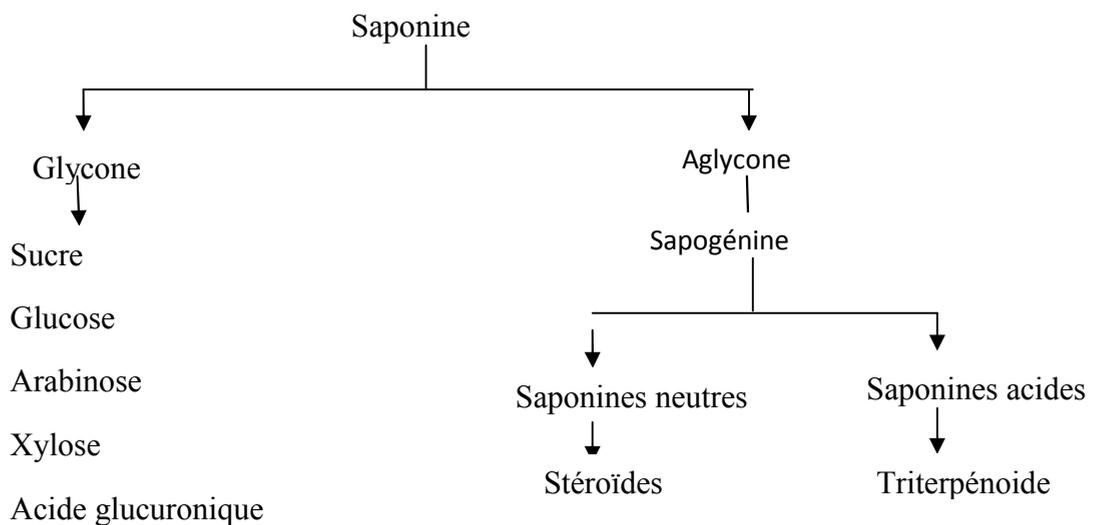


Figure5 : Composition des saponines (BRUNETON, 1999).

3.2.2. Classification des saponines

En se basant sur la nature de leur squelette aglycone, les saponines peuvent être classées en deux groupes :

Le premier groupe est constitué par des saponines stéroïdiennes, qui se rencontrent presque exclusivement dans les monocotylédones angiospermes,

Le deuxième groupe est les saponines triterpénoïdes, qui sont les plus communs. Ils sont retrouvés chez les dicotylédones angiospermes (SPARG *et al.*, 2004).

Les saponines triterpéniques qui sont des génines. contenant trente atomes de carbone (C_{30}) sont acides et les stéroïdes qui sont des génines à vingt-sept atomes de carbone (C_{27}) sont neutres (BOUMAZA, 2011).

Quelques auteurs distinguent un troisième groupe appelé amines stéroïdiennes, qui est classé par certains auteurs comme des alcaloïdes stéroïdiennes (SPARG *et al.*, 2004),

3.3. Isolement de saponines

Les saponines ne peuvent être isolées d'une matrice végétale en une seule étape sauf pour de rares exceptions. Étant donné qu'elles se retrouvent sous la forme de mélanges complexes, plusieurs séparations sur différents supports solides doivent être effectuées pour parvenir au résultat escompté. De plus, la forte polarité, la relative fragilité et les différences structurales mineures entre des composés de masse moléculaire élevée (>1000 g/mol) font qu'il est souvent long et difficile d'obtenir une saponine pure et homogène. Aussi, ces molécules cristallisent très mal en raison de leurs propriétés hygroscopiques et, par le fait même, ne donnent que très rarement des points de fusion nets et sans décomposition,

L'extraction des saponines se fait habituellement à l'aide d'alcools comme le méthane ou l'éthanol à différentes concentrations dans l'eau (GAUTHIER, 2008).

3.4. Activités biologiques des saponines

Bien que leurs fonctions à l'intérieur des plantes ne soient pas entièrement comprises, il a été démontré que les saponines jouent un rôle essentiel dans la protection des plantes contre les espèces pathogènes (FRANCIS *et al.*, 2002).

Reconnues pour avoir un fort potentiel pharmacologique, les saponines ont été intensivement étudiées au cours des dernières années. La communauté scientifique a démontré un intérêt marqué envers cette classe de métabolites secondaires afin d'accélérer le processus lié à leur développement biopharmaceutique (FRANCIS *et al.*, 2002). En effet, les saponines à génines stéroïdiques et triterpéniques exercent, entre autres, des activités biologiques très variées telles qu'hémolytique, hypocholestérolémique, immunostimulant, anti-inflammatoire, antifongique, antibactérienne, antiparasitaire, cytotoxique et antitumorale (RAO *et al.*, 2000; FRANCIS *et al.*, 2002; SPARG *et al.*, 2004).

4. Les prébiotiques

Le concept de prébiotique a été élaboré en 1995. Il correspond à l'impact de certains constituants de l'alimentation, de type « fibres alimentaires » (principalement des oligosaccharides ou polysaccharides), qui échappent à la digestion dans la partie haute de l'intestin, mais peuvent être fermentés sélectivement par certaines bactéries ; cet effet étant associé à une amélioration de certaines fonctions physiologiques de l'hôte. À ce jour, les groupes bactériens concernés sont essentiellement les bifidobactéries (on parle alors d'effet bifidigène) et les autres bactéries lactiques,

Pour être considéré comme prébiotique, un ingrédient alimentaire doit :

- être ni hydrolysé ni absorbé dans le tractus gastro-intestinal ;
- être sélectif pour un nombre limité de bactéries endogènes ;
- modifier la microflore intestinale en améliorant sa composition ;
- induire des effets intestinaux ou systémiques bénéfiques pour la santé de l'hôte.

Les prébiotiques peuvent être des sucres non digestibles, des peptides ou des protéines et même des lipides qui, en raison de leur structure ne sont pas absorbés dans l'intestin grêle (FAVRE ,2004).

4.1. Sources naturelles de prébiotique

Les prébiotiques les plus connus et déjà utilisés sont les fructanes – fructo-oligosaccharides (FOS), oligofructose, inuline – et d'autres oligosides de galactose et transgalactose (GOS et TOS) et le « polymère amidon résistant ». De nombreux autres glucides pourraient revendiquer l'appellation de prébiotiques (xylo-oligosaccharides, isomalto-oligosaccharides, gluco-oligosaccharides etc.), Des sucres alcools pourraient aussi avoir des propriétés prébiotiques, Certains prébiotiques sont naturellement présents dans les aliments et d'autres ajoutés dans des aliments à visée fonctionnelle ou dans des suppléments alimentaires (GENESTIE, 2006).

4.2. Rôles des prébiotiques

Les prébiotiques ont comme intérêt majeur d'augmenter la croissance des bactéries commensales natives favorables à l'hôte sans avoir besoin d'apporter une souche extérieure qui comporterait un risque pathogène pour l'hôte, Des cas d'infections ont été répertoriés chez des patients immunodéprimés lors d'études sur l'action anti-inflammatoire des probiotiques, Les prébiotiques s'affranchissent donc de ce risque et vont simplement agir sur le microbiote

déjà présent chez l'hôte, en accentuant naturellement la croissance des bactéries bénéfiques et en inhibant la croissance des bactéries potentiellement pathogènes.

Les prébiotiques peuvent augmenter la production par la flore intestinale d'importants facteurs anti-inflammatoires, Par exemple l'oligofructose est capable d'accroître la production de butyrate dont la conséquence est une guérison plus rapide et de moindres dommages causés par un phénomène inflammatoire, Des études sur des patients atteints de la maladie de Crohn, de rectocolites hémorragiques ou encore d'entéocolites nécrosantes ont montré de nettes améliorations au niveau clinique lors d'une prise de prébiotique (GROSDEMANGE, 2014).

CHAPITRE II :

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Notre travail expérimental a été réalisé dans deux laboratoires : le laboratoire commun d'analyses physico-chimiques et le laboratoire commun de microbiologie de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques, de l'université Mouloud Mammeride Tizi-Ouzou.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique consiste en des extraits végétaux et des souches bactériennes.

1.1.1. Extraits végétaux

1.1.1.1. Feuilles d'oliviers

1.1.1.1.1. Extraits secs des feuilles d'oliviers

Des feuilles fraîches d'oliviers *azerradj*, variété cultivée en Algérie et en particulier dans la région de Tizi-Ouzou, ont été cueillies en pleine période de floraison (Avril2015), dans la région de Draa El Mizan (Tizi-Ouzou), à une altitude de 500 m du niveau de la mer. La collecte des feuilles était effectuée le matin, juste après évaporation de la rosée. Après récolte, les feuilles étaient transportées au laboratoire lavées avec de l'eau de robinet puis de l'eau distillée, égouttées à l'aide d'un tamis et séchées à température ambiante à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 15 jours. Les feuilles, ont été ensuite broyées manuellement à l'aide pilon et mortier.

1.1.1.2. Dattes

1.1.1.2.1. Extraits secs de dattes

Pour cette étude, la variété de dattes choisie est la variété Deglet-Nour pour sa large consommation à travers le territoire algérien ainsi que sa disponibilité sur le marché. Elle a été achetée au niveau du marché de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Pour la préparation des extraits secs, les dattes sont lavées, débarrassées des noyaux, coupées en petits morceaux et laissées sécher à l'étuve à 40°C.

1.1.1.3. Olives noires et vertes

1.1.1.3.1. Extraits secs d'olives noires et extraits secs d'olives vertes

Les fruits ont été achetés au niveau du marché de la wilaya de Tizi-Ouzou. Elles ont été lavées, débarrassés des noyaux, coupés en petits morceaux et laissés sécher à l'étuve à 40°C.

1.1.1.4. Autres extraits

Les autres extraits utilisés dans le cadre de la présente étude ont été fournis par notre promotrice Madame TAZDAÏT. Ces derniers n'ont été utilisés que pour l'étude de l'activité prébiotique. Il s'agit de :

- deux extraits de plantes : maïs et riz ;
- trois extraits d'algues : spiruline, *Ulva ciata* et fraction glucidique de *Rhodella violacea*.

1.1.2. Souches

Des souches bactériennes et fongiques ont été procurées par le laboratoire de microbiologie de la faculté. Il s'agit de :

- *Aspergillus niger*.
- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- *Lactobacillus rhamnosus*.

1.2. Produit chimique

- Méthanol (sigma aldrich).

1.3. Petit matériel et verrerie

- Mortier en porcelaine ;
- Tubes à essais ;
- Tubes secs ;
- Béchers ;
- Entonnoir ;
- Fioles jaugées ;
- Eprouvette ;
- Barreaux magnétiques
- Boîtes de Pétri ;
- Pipettes Pasteur ;
- Disques d'antibiotiques.
- Ecouvillons stériles.

1.4. Appareillage

- Agitateur magnétique (Rühromag, HANNA) ;
- Autoclave WEBECKE. P: 2,5BAR, T: 138°C (Webeco).
- Bain-marie (Mettler, GERMANY)
- Balance de précision (KERN 770, Allemagne) ;
- Etuve UM200 (Mettler, France).
- Incubateur à 37°C (Mettler, France).
- Incubateur à 25°C (Nüve, Allemagne).
- Micropipette.
- Thermomètre (Alla).
- Plaque chauffante (Selecta).
- Spectrophotomètre UV-visible (UV-9200, Ukraine).

1.5. Milieux de culture

La gélose nutritive a été utilisée comme milieu de culture (repiquage) pour les souches *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La gélose Mueller-Hinton a été utilisée comme milieu de culture pour réaliser l'antibiogramme pour les souches *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La gélose Sabouraud a été utilisée comme milieu de culture pour le repiquage et l'antifongogramme de la souche *Aspergillus niger*.

Le bouillon MRS (Man Rogosa et Sharpe) a servi comme milieu de culture pour la souche *Lactobacillus rhamnosus*.

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits aqueux et méthanoliques

Les extraits végétaux aqueux et méthanoliques n'ont servi qu'à l'étude des activités antibactériennes et antifongiques.

2.1.1. Extraits aqueux des feuilles d'oliviers, dattes, olives vertes et noires

4g d'extrait sec (feuilles d'oliviers, dattes, olives vertes et noires) sont additionnés à 40 ml d'eau chaude (45°C) de façon à obtenir une concentration de 10% (p/v). L'infusion est laissée reposer pendant 24 h à l'obscurité et à température ambiante. Après agitation à l'aide d'un agitateur magnétique, deux filtrations successives sont effectuées sur papier Wattman

n°1. Une solution aqueuse d'extrait brut est ainsi obtenue. Celle-ci est conservée au réfrigérateur dans un flacon hermétique à l'abri de la lumière.

2.1.2. Extraits méthanoliques des feuilles d'oliviers, dattes, olives vertes et noires

2g d'extrait sec (feuilles d'oliviers, dattes, olives vertes et noires) mis à macérer avec 40 ml de méthanol pendant 72h heures à l'air libre. Une agitation manuelle d'environ 10 min chaque heure est effectuée quotidiennement (durant la journée).

2.2. Recherche de biosurfactants

2.2.1. Principe

Un biosurfactant est agent mousseux. Pour mettre en évidence sa présence dans les extraits, une solution faite d'extrait dans de l'eau est agitée vigoureusement. La présence du biosurfactant se manifeste par l'apparition d'une mousse persistante.

2.2.2. Mode opératoire

2 g d'extrait (feuilles d'oliviers, dattes, olives noires ou olives vertes) sont mis dans un bécher, dans lequel, on y ajoute 20 ml d'eau distillée pour réaliser une décoction pendant quelques minutes. Après refroidissement, la décoction est filtrée et 2 ml du décocté est prélevé et introduit dans un tube à essai. Après agitation, l'apparition d'une mousse persistante indique la présence de biosurfactants.

2.3. Etude de l'activité antibactérienne (test de sensibilité)

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose en utilisant deux souches bactériennes référencées, à savoir, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pour cela, à partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement (gélose nutritive), quelques colonies bien isolées sont récupérées à l'aide d'une anse en platine et en semoncées dans 10 ml d'eau physiologique stérile (Annexe I), afin d'obtenir une densité optique de l'ordre de 0,08 à 0,1.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne et essoré en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube. L'ensemencement est effectué en stries serrées, sur gélose Mueller-Hinton (Annexe II) de haut en bas, puis l'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'écouvillon est passé sur la périphérie de la gélose pour finir l'ensemencement.

D'autre part, des disques de papier Wattman, de 6 mm de diamètre, sont imprégnés de 20 µl d'extraits végétaux par disque. Ces disques imprégnés sont déposés sur la surface de la gélose préalablement inoculée.

Dans chaque boîte de Pétri, deux disques imprégnés d'extraits végétaux sont déposés. L'ampicilline a été utilisée comme témoin positif.

Les boîtes de Pétriensemencées ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure de l'éventuelle zone d'inhibition.

2.4. Etude l'activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique a été effectuée par la méthode de diffusion sur gélose en utilisant la souche *Aspergillus niger*. Pour cela, à partir d'une culture pure de 72 H sur milieu d'isolement (gélose Sabouraud), quelques colonies bien isolées sont récupérées à l'aide d'une anse en platine etensemencées dans 10 ml d'eau physiologique stérile, afin d'obtenir une densité optique de l'ordre de 0,08 à 0,1.

Le prélèvement se fait avec un écouvillon stérile, qui est trempé dans la suspension fongique, puis essoré sur la paroi interne du tube à essais. L'ensemencement est effectué en stries serrées, sur gélose Sabouraud, de haut en bas, puis l'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'écouvillon est passé sur la périphérie de la gélose pour finir l'ensemencement.

Par ailleurs, des disques de papier Wattman, de 6 mm de diamètre, sont imprégnés de 20 µl d'extraits végétaux par disque. Ces disques imprégnés sont déposés sur la surface de la gélose préalablement inoculée.

Dans chaque boîte de Pétri, deux disques imprégnés d'extraits végétaux sont déposés. Les boîtes de Pétri sont incubées à 25°C pendant 72 heures.

Après incubation, le diamètre d'inhibition autour des disques est mesuré et les valeurs sont exprimées en mm.

L'activité antifongique est appréciée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

2.5. Etude de l'activité prébiotique

L'étude de la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* en présence des différents extraits a été effectuée dans des tubes à essai stériles. Dans chaque tube contenant 10 ml de bouillon MRS (Annexe III) et 20 mg de poudre de *Lactobacillus rhamnosus* lyophilisé, est déposé 20 mg d'un extrait végétal. Un tube témoin était préparé de la même manière mais

sans extrait végétal. Tous les tubes sont incubés à 37°C. Des prélèvements sont réalisés à différents intervalles de temps : 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 24h, 25h, 37h 38h, 39h, 48h, 72h. La croissance est estimée par mesure de l'absorbance à 600nm.

Chapitre III :

Résultats et discussion

1. Etude de l'activité biosurfactante

L'étude de l'activité biosurfactante n'a concerné que la recherche de la présence d'une mousse dans les extraits aqueux de dattes, feuilles d'oliviers et olives noires et vertes.

La présente étude a révélé qu'après agitation, la mousse persistante dans les tubes plus de 10 min et avec une hauteur de plus d'un centimètre, indiquant la présence d'un biosurfactant ne concerne que les feuilles d'oliviers (tableau XIII). Ce biosurfactant est probablement de type saponine.

Tableau XIII. Résultats de la recherche d'un biosurfactant.

Les échantillons	Hauteur de mousse (cm)
Feuilles d'oliviers	1,5
Olives vertes	-
Olives noires	-
Dattes	-

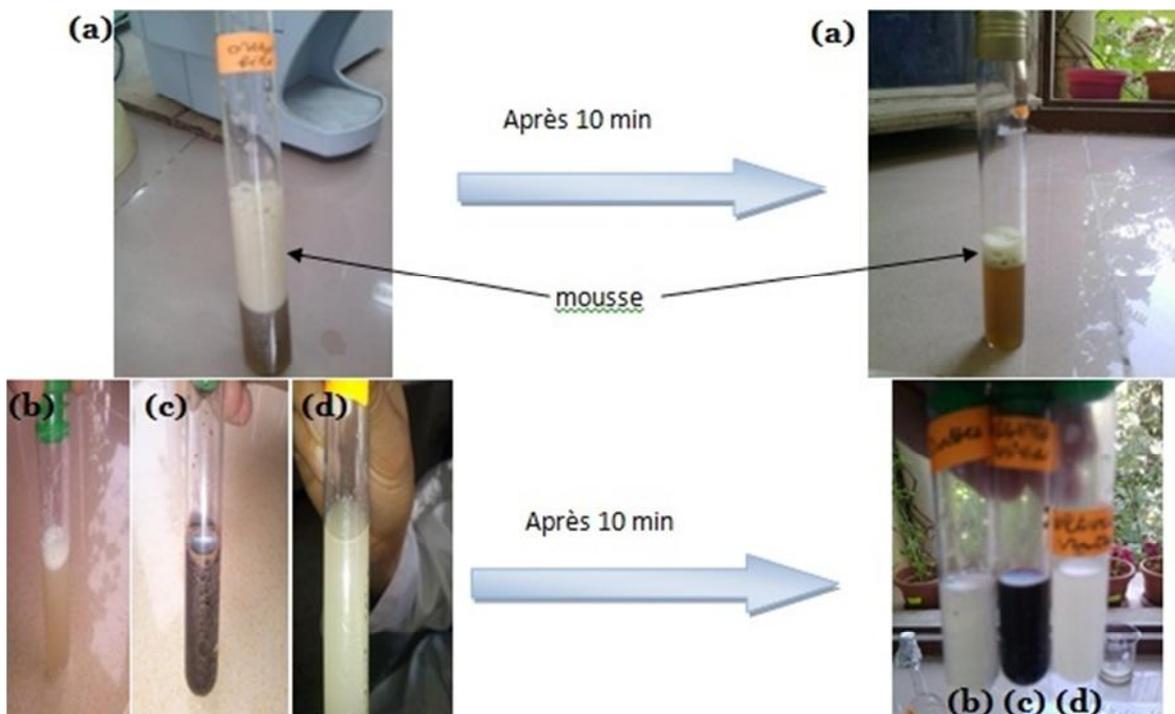


Figure 6 :Résultats de la recherche de l'effet moussant dans les feuilles d'oliviers (a), dattes (b), olives noires (c) et vertes (d).

2. Etude des activités antibactériennes et antifongiques

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antibactérien de produits naturels extraits des plantes. C'est dans ce contexte que le présent travail a étudié l'activité antibactérienne des fractions aqueuses et méthanoliques extraites des feuilles d'oliviers, olives vertes, olives noires et dattes vis-à-vis de deux souches bactériennes, à savoir, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. L'ampicilline a été utilisée comme témoin positif. Les résultats, indiquant les diamètres de la zone d'inhibition, représentant la grandeur du halo formé par les bactéries inhibées par l'antibiotique ou les extraits étudiés (Annexes IV), sont regroupés dans le tableau IVX.

Tableau IVX. Détermination des diamètres des zones d'inhibition (en mm)

Extrait	Fraction	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Feuilles d'oliviers	Aqueuse	8	15
	Méthanolique	11,5	16,5
Olives vertes	Aqueuse	< 6	7
	Méthanolique	7	7
Olives noires	Aqueuse	6,5	7
	Méthanolique	< 6	< 6
Dattes	Aqueuse	< 6	< 6
	Méthanolique	9	11
Antibiotique	Ampicilline	< 6	12

Du tableau IX, on observe que les souches bactériennes réagissent différemment à l'antibiotique testé. En effet, la souche *Staphylococcus aureus* présente une zone d'inhibition de 12 mm de diamètre, témoignant d'une sensibilité à l'ampicilline. Par contre, la souche *Escherichia coli* est résistante à l'ampicilline car aucune zone d'inhibition n'est apparue.

L'étude de l'activité antifongique a été réalisée en testant les fractions aqueuses et méthanoliques extraites des feuilles d'oliviers, olives vertes, olives noires et dattes vis-à-vis de la souche *Aspergillus niger*. Les résultats (tableau VX) sont indiqués en diamètres de zones d'inhibition, représentant la grandeur du halo formé par *Aspergillus niger* dont la croissance est inhibée par les extraits étudiés (Annexe IV).

Tableau VX. Détermination des diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la souche *Aspergillus niger* en présence des extraits étudiés

Extrait	Fraction	Diamètre (mm)
Feuilles d'oliviers	Aqueuse	12
	Méthanolique	15
Olives vertes	Aqueuse	< 6
	Méthanolique	< 6
Olives noires	Aqueuse	< 6
	Méthanolique	< 6
Dattes	Aqueuse	<6
	Méthanolique	15

De même, il existe des variations de sensibilité des bactéries et champignon testés vis-à-vis des extraits.

En ce qui concerne les extraits des feuilles d'oliviers, la fraction méthanolique semble plus active par rapport à la fraction aqueuse. Plusieurs études ont démontré que l'oleuropéine est un des composés phénoliques des feuilles d'oliviers ayant des propriétés antimicrobiennes (AZIZ *et al.*, 1998 ;BISIGNANO *et al.*,1999 ; MARKIN *et al.*,2003 ; MEDINA *et al.*, 2007). Il serait donc probable que les résultats obtenus dans ce travail découlent de la présence de l'oleuropéine dans les différents extraits de feuilles d'oliviers utilisés.

La fraction aqueuse des dattes variétés Deglet-Nour n'a donné aucune zone d'inhibition avec les souches testées en dépit de leurs teneurs considérables en composés phénoliques supposé avoir un effet antibactérien (SIBOUKEUR *et al.*, 2001). Il est évident que ces extraits sont très riches en sucres y compris le glucose qui est le substrat de choix pour les divers microorganismes ce qui est peut être à l'origine de la multiplication bactérienne massive autour des disques. Cela a été confirmé par SIBOUKEUR *et al.* (2001) qui ont affirmé que le moût élaboré à partir des dattes est un milieu riche en sucres, convenant à la culture du champignon *Aspergillus niger* et des bactéries (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*).

Pour la fraction méthanolique de la variété de dattes Deglet-Nour, les résultats ont montré une sensibilité des trois souches testées. Il est à noter que la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (DIDRY *et al.*, 1982). C'est l'exemple de l'implication des composés phénoliques du palmier dattier dans la réaction de défense de cette plante contre les maladies

Infectieuse due à un champignon tellurique *Fusariumoxysporum* sp. (DAAYF *et al.*, 2003). Ceci pourrait expliquer l'apparition des zones d'inhibition dans les extraits méthanolique de Deglet-Nour.

Sachant que la plupart des familles de molécules de base du monde vivant sont définies par leurs structures chimiques. La plupart de ces molécules sont des composés à solubilité nulle ou faible dans l'eau mais, par contre, élevée dans les solvants organiques non polaires (méthanol, chloroforme, cyclohexane, éther éthylique, acétone...). Parmi ces molécules, on cite les lipides et les métabolismes secondaires (flavonoïdes et les tanins) qui appartenant à la famille des polyphénols et ces derniers sont responsables de l'activité antibactérienne et cela peut s'expliquer par l'apparition de zones d'inhibition lors de l'utilisation de l'extrait méthanolique. La fraction aqueuse, quant à elle, va contenir tous les composés hydrosolubles, essentiellement, les sucres.

Les souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus niger* ont montré une résistance à tous les extraits aqueux et méthanoliques des olives vertes et noires. Ceci est peut-être dû au fait que les fruits utilisés ne sont pas frais. En effet, les fruits utilisés ont été achetés. Ces derniers subissent des traitements au cours de leur préparation qui peut influencer la composition chimique, particulièrement, en composés oleuropéine, composante principale des fruits d'oliviers (VALESCO et DOBARGANES, 2002).

Selon VALESCO et DOBARGANES (2002), la modification de quelques composés chimiques (oleuropéine) peut être due à plusieurs facteurs, dont :

- les variétés d'oliviers ;
- l'âge de l'olivier ;
- les conditions pédologiques ;
- la technique d'extraction ;
- la technique de traitement.

D'après les résultats obtenus, on remarque, qu'en général, la sensibilité de la souche de *Staphylococcus aureus* est supérieure à celle d'*Escherichia coli*. Ceci peut être expliqué selon les études de WENDAKON et SAKAGUCHI (1995), qui ont stipulé que les bactéries à Gram positif sont généralement les plus sensibles aux effets inhibiteurs des extraits végétaux. La résistance des bactéries à Gram négatif est attribuée à la présence d'une membrane externe imperméable aux composés lipophiles. L'absence de cette barrière chez les bactéries à Gram positif permet le contact direct des constituants hydrophobes des extraits avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne, entraînant une

augmentation de la perméabilité aux ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux ou l'altération des systèmes enzymatiques bactériens.

3. Etude de l'activité prébiotique

Dans la présente étude, la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* dans le milieu MRS a été suivie par la mesure de la densité optique à 600 nm. La courbe obtenue est représentée par la figure 7. Il paraît clair que la phase stationnaire dure environ 5h. Cette première phase est suivie par la phase exponentielle de croissance pour atteindre une densité optique maximale de 1,8. La phase de déclin, qui peut être expliquée par l'épuisement des nutriments et/ou de l'accumulation des substances toxiques, débute après 20h de croissance et dure environ 52H.

Il est à noter que la croissance bactérienne ne peut durer que quelques heures en présence des conditions convenables dans un milieu non renouvelé. Cette croissance se fait grâce à un ensemble de réactions biochimiques assurant la transformation de la matière organiques afin de produire des métabolites et des biomolécules en utilisant des biocatalyseurs (BENGUIAR *et al.* , 2015).

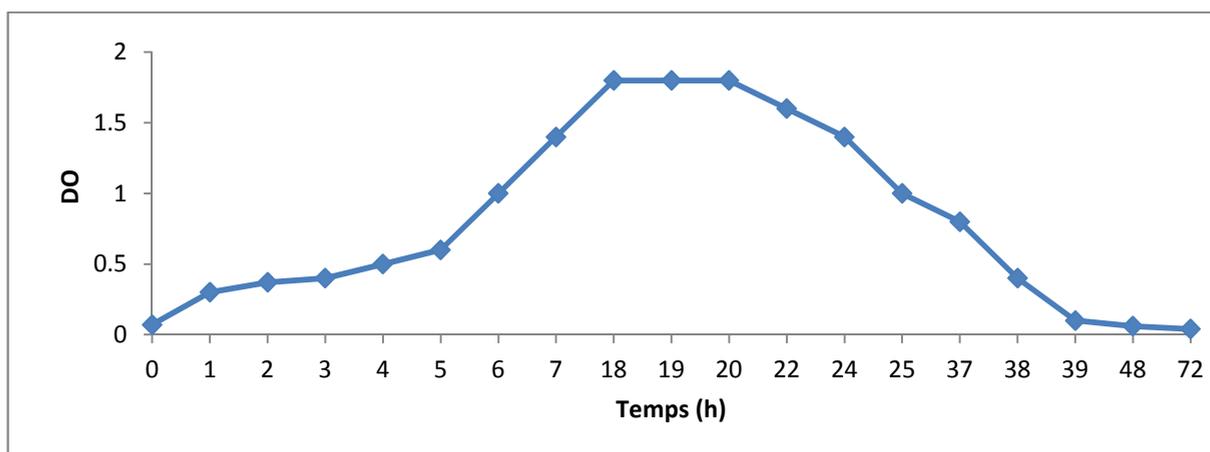


Figure 7 : Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS.

L'évolution de la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence des extraits de feuilles d'oliviers est représentée sur la figure 8. Un phénomène de diauxie peut être observé. En effet, il y a apparition de deux phases stationnaires, l'une au bout de 18h de croissance et une seconde au bout de 37h, avec une densité optique maximale de 2,4. Ceci indique un potentiel prébiotique de l'extrait des feuilles d'oliviers.

Les feuilles d'oliviers sont composées de fibres alimentaires, telle que la cellulose. Celle-ci peut être hydrolysée en monomères de D-glucose grâce à des biocatalyseurs sécrétés

par cette souche probiotique. Ces monomères peuvent être utilisés par la souche probiotique pour entamer une deuxième phase exponentielle de croissance.

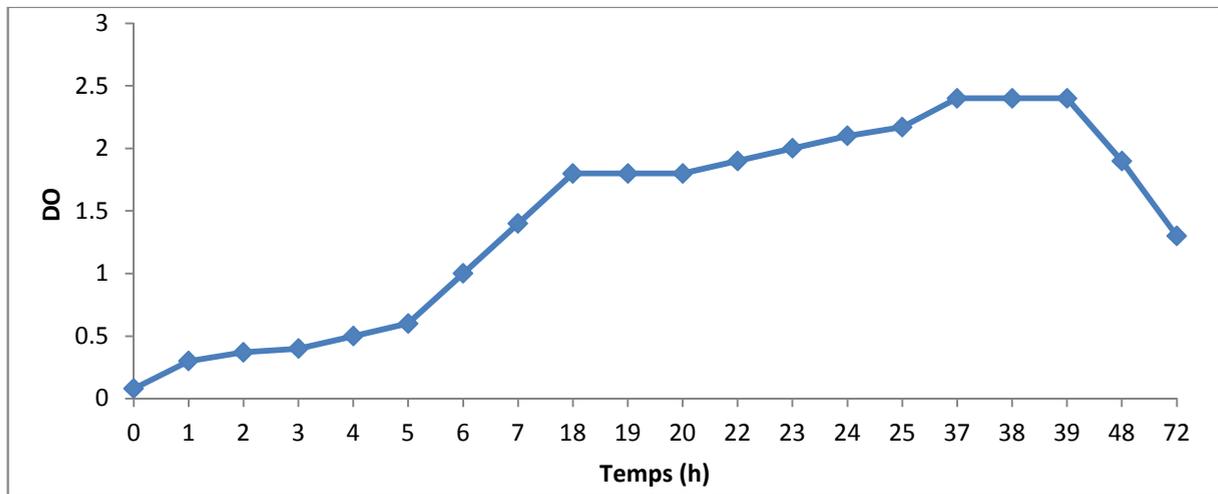


Figure 8 : Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de l'extrait des feuilles d'oliviers.

De même, un phénomène de diauxie apparaît en présence d'extraits de dattes de la variété Deglet-Nour. En effet, la figure 9 montre la présence d'une deuxième phase logarithmique de croissance ainsi qu'une seconde phase stationnaire qui débute après 22h de croissance avec une densité optique maximale de 2,2. Ce regain de croissance s'explique par la teneur des dattes en sucres réducteurs, essentiellement du glucose, du fructose, du saccharose (glucose et fructose) et de l'hémicellulose (plusieurs unités de glucose) facilement assimilables (BOUDJELAL et NANCIB, 2001). En effet, en plus du glucose, il a été démontré que la souche *Lactobacillus rhamnosus* est capable de fermenter le fructose pour produire d'importantes quantités d'acides lactique, acétique et formique, ainsi que de l'éthanol (FOROUHANDEH, 2010).

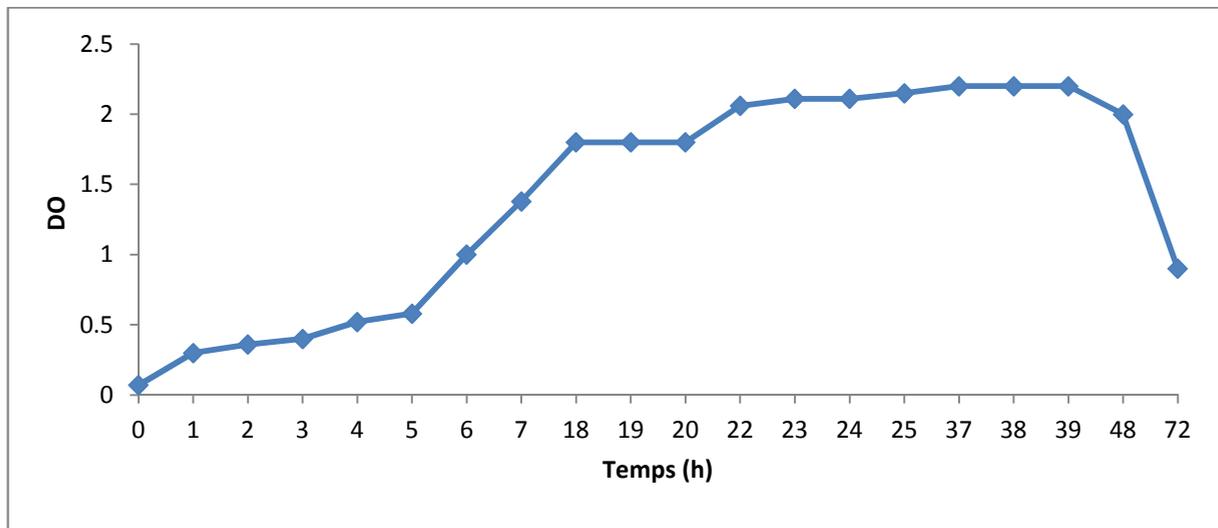


Figure 9 : Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de l'extrait de dattes de la variété Deglet-Nour.

Par contre, les olives vertes et noires n'ont démontré aucun effet prébiotique (figures 10 et 11). Cela peut s'expliquer par l'absence de substrats, facilement assimilable par le probiotique permettant d'entamer une seconde phase logarithmique de croissance.

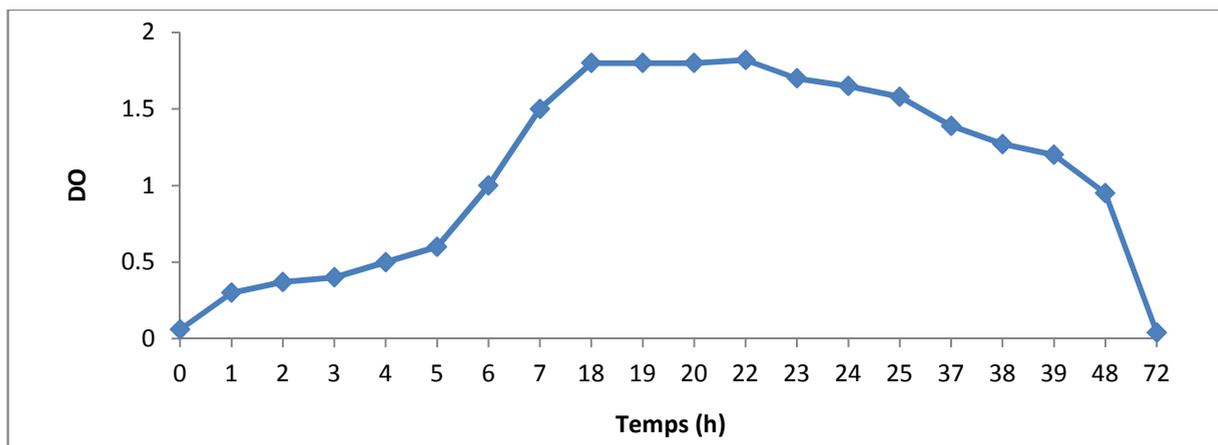


Figure 10 : Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de l'extrait des olives vertes.

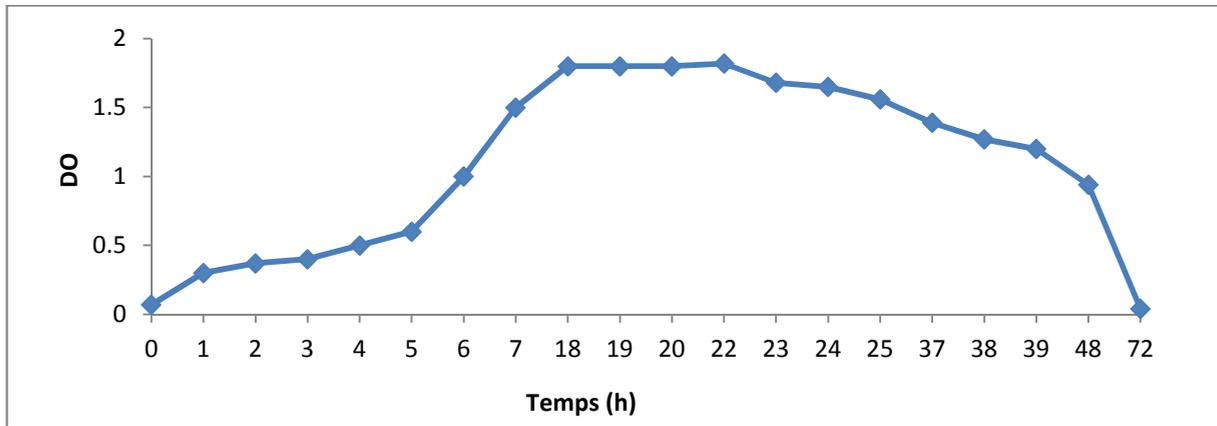


Figure 11 : Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de l'extrait des olives noires.

Le phénomène de diauxie peut être aussi observé en présence de l'extrait de maïs (figure 12). En effet, il y a une deuxième phase logarithmique de croissance qui débute après 22h de croissance pour atteindre une densité optique maximale de 2,19.

Il a déjà été démontré que le maïs est constitué d'amidon (LE GRAND, 1989). La croissance en présence de l'amidon s'explique par le fait probable que le glucose libéré suite à l'hydrolyse partielle de l'amidon, est ensuite métabolisé ultérieurement et utilisé en tant que source de carbone.

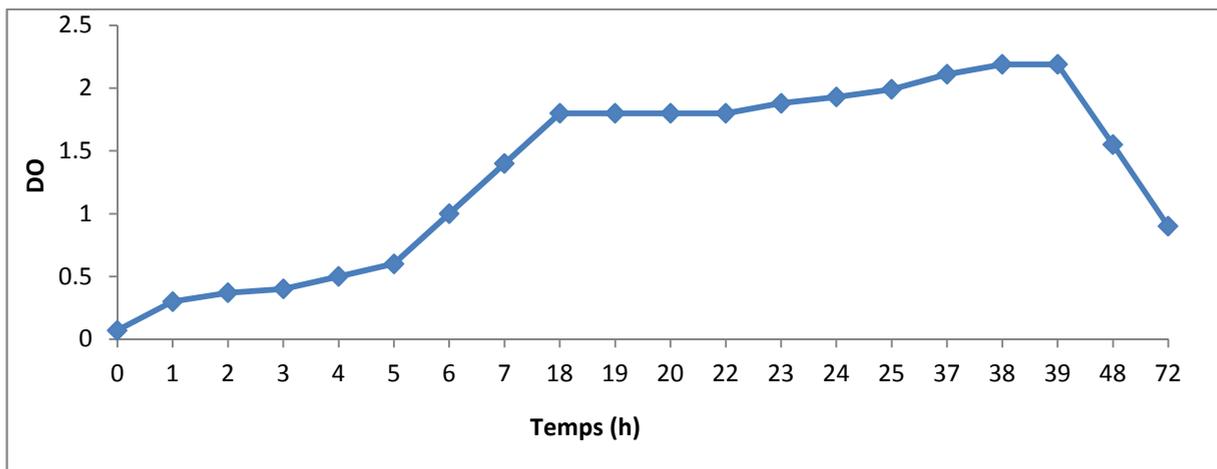


Figure 12 : Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de l'extrait de maïs.

L'extrait de riz a aussi démontré une activité prébiotique car, après 37h de croissance (figure13), il y a apparition d'une deuxième phase exponentielle de croissance pour atteindre une densité optique maximale de 2,36.

Le riz est riche en amidon (NGOM, 2004). La croissance en présence de l'amidon s'explique par le fait probable que le glucose libéré suite à l'hydrolyse partielle de l'amidon, est ensuite métabolisé ultérieurement et utilisé en tant que source de carbone.

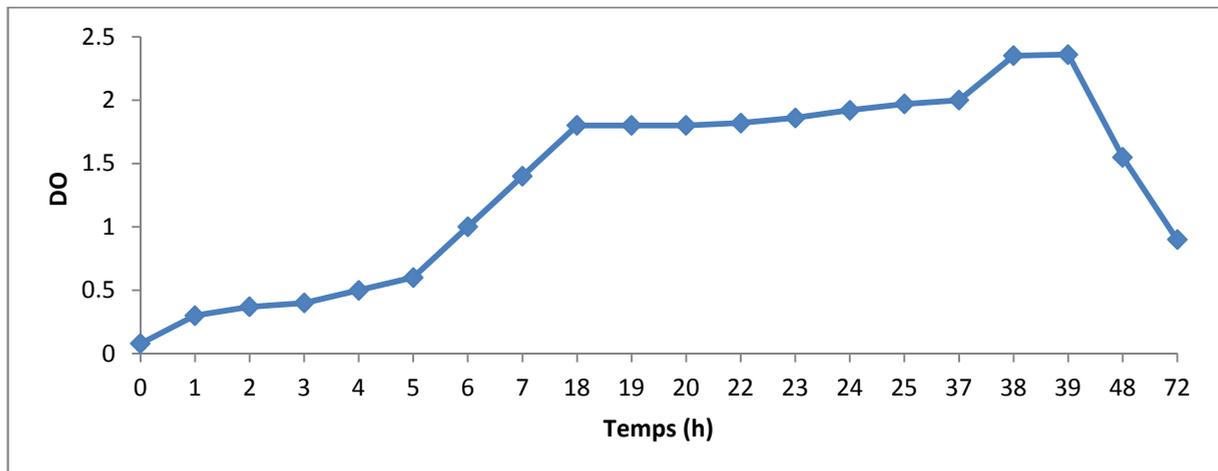


Figure13 : Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de l'extrait de riz.

L'évolution de la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de spiruline est représentée sur la figure 14. Un phénomène de diauxie peut être observé ; il est représenté par l'apparition d'une deuxième phase stationnaire au bout de 37h, avec une densité optique maximale de 2,19. Ceci indique un potentiel effet prébiotique de la spiruline.

La spiruline est constituée principalement de glucides dont le rhamnose 9% ; glycogène 0,5%, le glucane 1,5% et glucosamine 2%. Les oses simples ne sont présents qu'en très faibles quantités ; il s'agit du glucose, du fructose et du saccharose (QUILLET, 1975). La croissance de *Lactobacillus rhamnosus* peut être attribuée à la fermentation des monomères issus de l'hydrolyse partielle de ces glucides. En effet, les glucides représentent 15 à 25% du poids de la spiruline (FARQUET et HURNI, 2006 ; SHEKHRAM *et al.*, 1987).

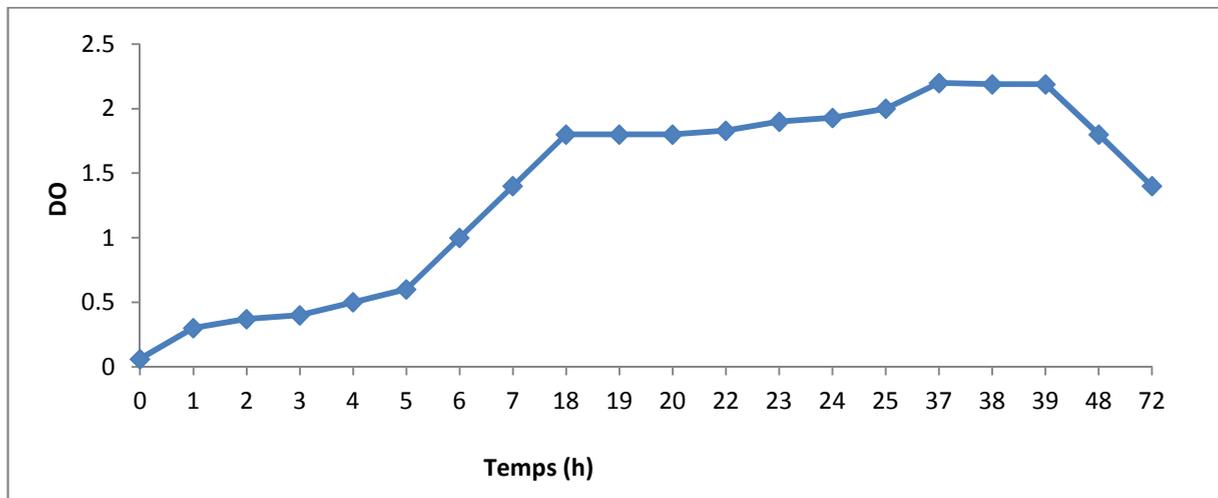


Figure 14: Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de spiruline.

Une deuxième phase logarithmique de croissance (figure 15) est apparue lors de la culture de *Lactobacillus rhamnosus* en milieu MRS d'*Ulva faciata*. La densité optique maximale atteinte était de 2,21.

La croissance de *lactobacillus rhamnosus* en présence d'*Ulva faciata* peut être attribuée à sa composition en polysaccharides (Ulvan) qui peuvent être hydrolysés en monomères (rhamnose, galactose, glucose et xylose) pour être fermentés par cette souche probiotique (DEVAKI *et al.*, 2009).

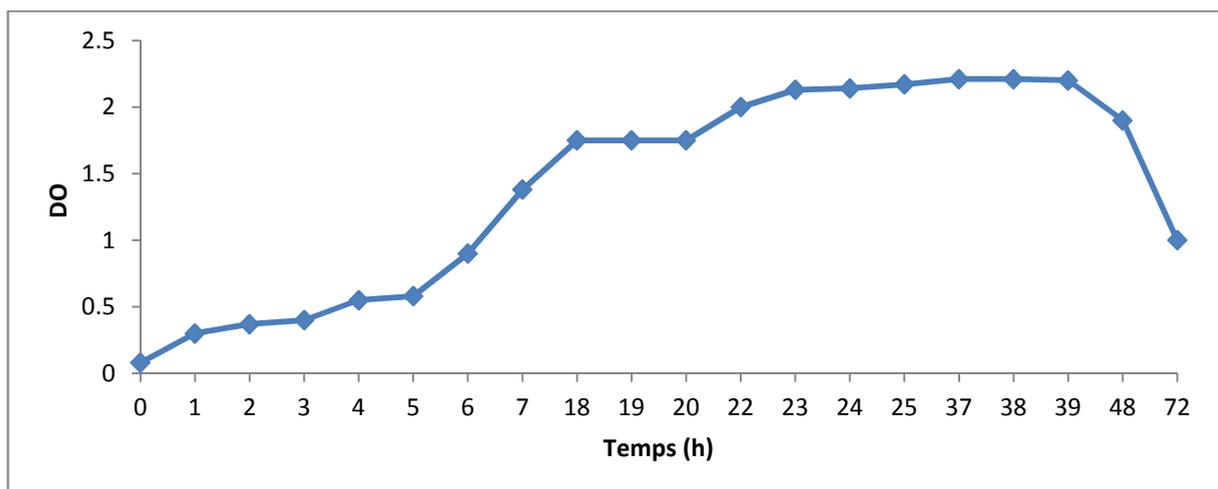


Figure 15: Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence d'extrait d'*Ulva faciata*.

La croissance de *Lactobacillus rhamnosus*, en bouillon MRS et en présence de la fraction glucidique de *Rhodella violacea*, a montré un phénomène de diauxie (figure 16), représenté par une deuxième phase logarithmique de croissance, qui débute après 37h de croissance avec une densité optique maximale de 2,37.

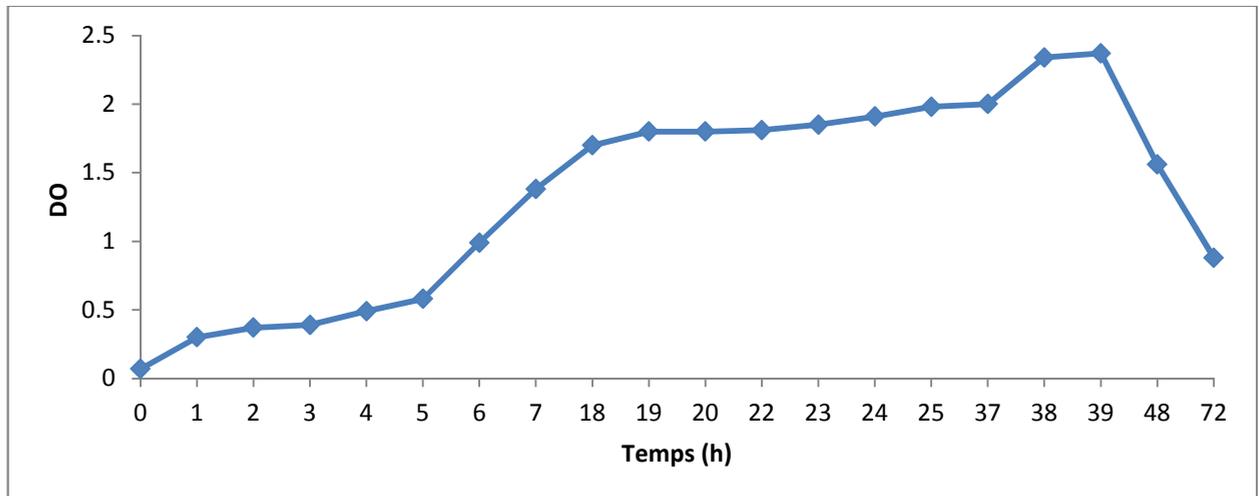


Figure 16: Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence de la fraction glucidique de *Rhodella violacea*.

La croissance de *lactobacillus rhamnosus* en présence de la fraction glucidique de *Rhodella violacea* peut être expliquée par l'utilisation de cette dernière comme source de carbone dans le processus de fermentation.

CONCLUSION

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines, à savoir la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient du fait que, d'une part, les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le présent travail, un certain nombre d'extraits végétaux ont été testés vis-à-vis de quelques activités biologiques, à savoir, l'activité biosurfactante, l'activité antibactérienne, l'activité antifongique et l'activité prébiotique.

La présente étude a démontré que parmi les extraits végétaux testés, seul l'extrait des feuilles d'oliviers possède probablement des molécules de type saponines responsable de l'activité biosurfactante.

L'étude de l'activité antibactérienne a été faite sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* selon la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les résultats ont indiqué que l'extrait méthanolique de dattes et les extraits aqueux et méthanolique des feuilles d'oliviers possèdent une activité antibactérienne.

L'étude de l'activité antifongique a porté sur la souche *Aspergillus niger*. Celle-ci a démontré une sensibilité vis-à-vis des extraits aqueux et méthanolique des feuilles d'oliviers et de l'extrait méthanolique des dattes.

L'activité prébiotique a été évaluée par l'étude de la cinétique de croissance de la souche probiotique *Lactobacillus rhamnosus* dans le milieu MRS en présence des différents extraits végétaux. Nous avons démontré un phénomène de diauxie, en présence des extraits de plantes (feuilles d'oliviers, dattes, riz et maïs) et d'algues (spiruline, fraction glucidique *Rhodella violacea* et *Ulva fasciata*) testés, dû aux teneurs en monosaccharides (glucose et fructose), oligosaccharides (saccharose et rhamnose) et/ou en polysaccharides (cellulose, amidon, glycogène) qui servent de source d'hydrates de carbone fermentescibles pour la croissance et la production d'énergie.

L'ensemble des résultats obtenus, bien qu'ils soient très prometteurs, ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement actives. Il serait intéressant d'étendre l'éventail des tests biologiques et de caractériser les composés actifs présents dans chaque extrait végétal testé. Une étude *in vivo* compléterait ce travail.

*Références
bibliographiques*

- ✚ **AGACH M. (2012).** Synthèse et étude des propriétés structurales, physico-chimique et fonctionnelles d'oligoesters tensioactifs branchés d'acide succinique biosourcés et de glycérol. Thèse de Doctorat de l'université Lille, France.
- ✚ **AL FARSI M., ALASALVAR C., MORRIS A., BARON M., SHAHIDI F. (2005).** Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun dried date (*Phoenix dactylifera L.*) varieties grown in Oman. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 7592-7599.
- ✚ **ALBERT L. (1998).** La santé par les fruits. Ed. Veechi, Paris. 44-74.
- ✚ **AL-SHAHIB W., MARSHALL R.J. (2003).** The fruit of the date palm: it is possible use as the best food for the future? *Int. J. Food Sci. Nutr*, 54,247-259.
- ✚ **ALTIOK E., BAYCIN D., BAYRAKTAR O., ULKU S.(2008).** Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea L.*) by adsorption on silk fibroin. *Sep. Purif. Technol*, 62(2), 342-348.
- ✚ **AOUIDI F. (2012).** Etude et valorisation d'olivier *Olea Europoea* dans l'industrie Agro-alimentaire. Thèse de Doctorat. Université du Carthage en Génie Biologique, Tunisie, p 136.
- ✚ **AZIZ N.H., FARAG S.E., MOUSA L.A., ABO-ZAID M.A. (1998).** Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*, 93, 43-54.
- ✚ **BAO J., ZHANG D.W., ZHANG J.Z.H., LEE HUANG P., LIN HUANG P., LEE-HUANG S. (2007).** Computational study of bindings of olive leaf extract (OLE) to HIV-1 fusion protein gp41. *FEBS Letters*, 581 (14), 2737-2742.
- ✚ **BARREVELD W.H. (1993).** Date palm products. FAO Agricultural Services Bulletin N° 101, FAO. Rome.
- ✚ **BELGUEDJ M. (2002).** Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-Est. Algérien, Ed. 3D. Alger.
- ✚ **BEN ABBES F. (2011).** Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes «*Phoenix dactylifera L.*». Mémoire de Magister en Génie des procédés pharmaceutiques, Université Ferhat Abbas, Sétif.
- ✚ **BEN AKACHA N., GARGOURI M. (2009).**Enzymatic synthesis of green notes with hydroperoxide-lyase from olive leaves and alcohol-dehydrogenase from yeast in liquid /gas reactor. *Process Biochemistry*, 44 (10), 1122-1127.
- ✚ **BENAVENTE-GARCIA O., CASTILLO J., LORENTE J., ALCARAZ M., (2002).**Radio protective Effects *in vivo* of Phenolics Extracted from *Olea europaea L.*

Leaves against X-Ray-Induced Chromosomal Damage: Comparative Study Versus Several Flavonoids and Sulfur-Containing Compounds. *J. Med. Food*, 5(3), 125-35.

- ✚ **BENCHABANE A. (1996).** Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte". *Options méditerranéennes*, série A, N° 28. Séminaires méditerranéens. Ed. IAM, Zaragoza, Espagne.
- ✚ **BENCHABANE A., KECHIDA F. et BELLAL M. M. (2000).** Caractérisation des substances pectiques et évaluation des autres composés pariétaux au cours de la maturation de deux variétés de datte d'Algérie. *Ann. Inst. Natl. Agron*, 21(1-2), 33-39.
- ✚ **BENCHELAHA.C., MAKHA M. (2008).** Les Dattes, intérêt et nutrition, *Phytothérapie(Ethnobotanique)*, 6, 117 -121.
- ✚ **BENFLIS S. (2006).** Caractéristiques biochimiques de l'extrait de datte variété sèche « Mech-Degla». Mémoire d'Ingénieur en Sciences Agronomiques, Université El-Hadj Lakhdar, Batna.
- ✚ **BENHATHAT A. (2006).** Synthèse des Tensioactifs de la classe des Imidazolines, Mémoire de Magister en Génie des procédés chimique et pharmaceutique, Université M'Hamed Bougera, Boumerdes.
- ✚ **BENGUIARR., BENARABAR., RIAZIA. (2015).** Effet de l'extrait de caroube sur la croissance de deux candidats probiotiques: *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus rhamnosus*. *Nature&Technologie, B-Sciences Agronomiques et Biologiques*, N° 13, 22 -27.
- ✚ **BISIGNANO G., TOMAINO A., LO CASCIO R., CRISAFI G., UCCELLA N., SAIJAA. (1999).** On the *in vitro* antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol, *Pharm. Pharmacol.*, 51(8), 971-974.
- ✚ **BOOIJ I., PIOMBO G., RISTERUCCI J.M., COUPE M., THOMAS D., FERRY M. (1992).** Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). *Fruits*, 47(6) : 667-678.
- ✚ **BOUALLAGUI Z., HAN J., ISODA H., SAYADI S. (2011).** Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (1), 179-184.
- ✚ **BOUAZIZ M., FKI I., JEMAI H., AYADI M., SAYADI S. (2008).** Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108, 253-262.

- ✚ **BOUDHRIOUA N., BAHLOUL N., BEN SLIMEN I., KECHAOU N. (2009).** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products*, 29, 412–419.
- ✚ **BOUDRAR C., BOUZID L., NAIT LARBI H. (1997).** Etude des fractions minérale et glucidique de la datte *Deglet-Nour* au cours de la maturation. Mémoire d'Ingénieur en Sciences Agronomiques, INRA. El-Harrach. Alger.
- ✚ **BOUMAZA D. (2011).** Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inulaviscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran, Mémoire de magister en Chimie Organique, Université d'Oran.
- ✚ **BOUDJELAL A., NANCIBN. (2001).** Production d'Acide Lactique par *Lactobacillus Rhamnosus* sur Milieu à Base de Jus de Dattes. *Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse*, 41-46.
- ✚ **BRIANTE R., LA CARA F., FEBBRAIO F., PATUMI M., NUCCI R., (2002).** Bioactive derivatives from oleuropein by a biotransformation on *Olea europaea* leaf extracts. *Journal of Biotechnology*, 93, 109–119.
- ✚ **BRUNETON J. (1999).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. Éditions Technique & Documentation, Paris.
- ✚ **CARMONA-RIBEIRO A., VIEIRA D.B., LINCOPAN N. (2006).** Cationic surfactants and lipids as anti-infective agents. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 5(1), 33.
- ✚ **CHAIEB, I. (2010).** Les saponines comme insecticides : un avis. *Journal tunisien de la protection des végétaux*, 5(1), 39-50. Laboratoire de la protection des végétaux, INRAT 2080 Ariana, Tunisie.
- ✚ **DAAS AMIOUR S. (2009).** Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera l.*) et évaluation *in vitro* de leur activité biologique. Mémoire de Magister en Biochimie appliquée, Université El-Hadj Lakhdar, Batna.
- ✚ **DAAYF F., EL BELLAJ M., EL HASSNI M., ELHADRAMI I. (2003).** Elicitation of soluble phenolics in date palm (*Phoenix dactylifera*) callus by *Fusarium oxysporum* fsp. *albedinis* culture medium. *Environ. Experiment. Botan*, 49, 41- 47.
- ✚ **DEKANSKI D., JANICIJEVIC-HUDOMAL S., TADIC V., MARKOVIC G., ARSIC, I., MITROVIC D. M. (2009).** Phyto chemical analysis and gastro protective

activity of an olive leaf extract. *Journal of the Serbian chemical society*, 74 (4), 367-377.

- ✚ **DEVAKI T., SATHIVEL A., BALAJI RAGHAVENDRAN H.R. (2009).** Stabilization of mitochondrial and microsomal function by polysaccharide of *Ulva lactuca* galactosamine induced hepatitis in rats, *Chemico-Biological Interactions*, 177(2), 83–88.
- ✚ **DEYSSON J. (1979).** Botanique générale T2 : Organisation et classification des plantes vasculaire, Paris.
- ✚ **DJENANE D.J., YANGÜELA J., DERRICHE F., BOUARAB L., RONCALES P. (2012).** Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technologie*, 07, 53-61.
- ✚ **DIDRY N., PINKAS M., TORCK M. (1982).** La composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *Gaindelia*. *PI. Med. Phytother.*, 16, 7-15.
- ✚ **EI-ETRE A.Y. (2007).** Inhibition of acid corrosion of carbon steel using aqueous extract of olive leaves. *Journal of Colloid and Interface Science*, 314, 578-583.
- ✚ **ERBAY Z., ICIER F. (2009).** Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 91, 533-541.
- ✚ **ESPIARD E. (2002).** Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc, Lavoisier, 147-155.
- ✚ **FALQUET J., HURNI J.P.(2006).** Spiruline, Aspects Nutritionnels. Antenna Technologies, p41.
- ✚ **FAVIER J.C., IRELAND R.J., TOQUE C., FEINBERG M. (1995).** Répertoire général des aliments. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, INRA, p 897.
- ✚ **FAVRE G. (2004).** Prébiotiques et probiotiques : ont-ils un réel intérêt pour la santé ? Rôle du pharmacien dans leur conseil à l'officine. Thèse Doctorat en pharmacie, Université Joseph Fourier de Grenoble, France.
- ✚ **FEGEROS K., ZERVAS G., APSOKARDOS F., VASTARDIS J., APOSTOLAKI E. (1995).** Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*, 17, 9-15.
- ✚ **FONOLLA J., DIAZ-ROPERO P., DE LA FUENTE D.E., QUINTELA J.C. (2010).** MS358 one-month consumption of an olive leaf extract enhances

cardiovascular status in hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis Supplements*, 11(2), 182.

- ✚ **FOROUHANDE H., VAHED. HEJAZI M.S., NAHAEI M.R., DIBAVAR M.A. (2010).** Isolation and phenotypic characterization of *Lactobacillus* species from various dairy products. *Current Research in Bacteriology*, 3, 84-88.
- ✚ **FRANCIS G., KEREM Z., MAKKAR H.P.S., BECKER K. (2002).** The biological action of saponins in animal systems: a review. *Brit. J. Nutr.*, 88,587-605.
- ✚ **GARCIA-GOMEZ A., ROIG A., BERNAL M.P. (2003).** Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresource Technology*, 86, 59-64.
- ✚ **GAUTHIER C. (2008).** Amélioration du comportement biopharmaceutique de triterpènes naturels anticancéreux par synthèse de saponines mono- et bidesmosidiques. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Environnement, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.
- ✚ **GENESTIE B. (2006).** Optimisation de la production d'arabinoxyle oligosaccharides d'intérêt biologique à partir de sons de céréales : Approches méthodologiques, Thèse de Doctorat de l'université de Limoges, France.
- ✚ **Gonzalez M., Zarzuelo A., Gamez M.J., Utrilla M.P., Jimenez J., Osuna, I. (1992).** Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Medica*, 58(6), 513-515.
- ✚ **GROSDEMANGE A.(2014).** Impact du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'enfant. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie. Université de Lorraine, France.
- ✚ **HAMDAOUI O. (2009).** Removal of cadmium from aqueous medium under ultrasound assistance using olive leaves as sorbent. *Chemical Engineering and Processing*, 48, 1157-1166.
- ✚ **HAYES J.E., STEPANYAN V., ALLEN P., O'GRADY M.N., KERRY J.P. (2010).** Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Science*, 84 (4), 613-620.
- ✚ **HAYES J.E., STEPANYAN V., ALLEN P., O'GRADY M.N., O'BRIEN N.M., KERRY J.P. (2009).** The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat Science*, 83 (2), 201-208.
- ✚ **JACCOT B., CAMPILLO B. (2003).** Nutrition humaine. Ed. Masson, Paris, p 311.

- ✚ **JEMAI H., BOUAZIZA M., FKI I., EL FEKI A., SAYADI S. (2008).** Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chemico-Biological Interactions*, 176, 88-98.
- ✚ **JULIÁN CASTILLO J., ALCARAZ M., BENAVENTE-GARCÍA O. (2010).** Antioxidant and Radioprotective Effects of Olive Leaf Extract. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 951-958.
- ✚ **KHALI M., SELSELET ATTOU G. (2007).** Effect of heat treatment on polyphenol oxidase and peroxidase activities in Algerian stored dates. *Afr.Biotechnol.*, 6(6):790-794.
- ✚ **KHAYYAL M.T., EL-GHAZALY M.A., ABDALLAH D.M., NASSAR N.N., OKPANYI S.N., KREUTER M.H. (2002).** Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (*Olea europaea*) in L-NAME induced hypertension in rats , 52(11), 797-802.
- ✚ **KHENFAR B. (2004).** Contribution à l'étude de quelques caractéristiques morphologiques de quatre cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) dans la région de Droh (Wilaya de Biskra). Mémoire d'Ingénieur en Sciences Agronomiques. Université El Hadj Lakhdar, Batna.
- ✚ **KIMURA Y., SUMIYOSHI M. (2009).** Olive Leaf Extract and Its Main Component Oleuropein Prevent Chronic Ultraviolet B Radiation-Induced Skin Damage and Carcinogenesis in Hairless Mice, *Journal of Nutrition*, 139 (11), 2079-2086.
- ✚ **KIRITSAKIS K., KONTOMINAS M.G., KONTOGIORGIS C., HADJIPAVLOU-LITINA D., MOUSTAKAS A., KIRITSAKIS A. (2010).** Composition and Antioxidant Activity of Olive Leaf Extracts from Greek Olive Cultivars, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 87 (4), 369-376.
- ✚ **KOMAKI E., YAMAGUCHI S., MARU I., KINOSHITA M., KAKEHI K., OHTA Y., TSAKADA Y. (2003).** Identification of Anti-Amylase Components from Olive Leaf Extracts. *Food Sci. Technol. Res*, 9(1), 35-39.
- ✚ **KORUKLUOGLU M., SAHAN Y., YIGIT A. (2008).** Antifungal properties of olive leaf extracts and their phenolic compounds. *Journal of Food Safety*, 28 (1), 76-87.
- ✚ **LALAS S., ATHANASIADIS V., GORTZI O., BOUNITSI M., GIOVANOUDIS I., TSAKNIS J., BOGIATZIS F. (2011).** Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves. *Food Chemistry*, 127(4), 1521-1525.
- ✚ **LARPENT C. (1993).** Tensioactifs. *Techniques de l'ingénieur*, Vol. K 342, 1-15.

- ✚ **LEE O.H., LEE B.Y. (2010).** Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101(10), 3751-3754.
- ✚ **LEE-HUANG S., ZHANG L., HUANG P.L., CHANG Y.T., HUANG P.L. (2003).** Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment, *Biochemistry and Biophysics Research Communications*, 307(4), 1029-1037.
- ✚ **LE GRAND D., (1989).** Les sous-produits des céréales : Composition chimique et valeur énergétique des sons de maïs, mil, sorgho. Mémoire de stage en productions animales en régions chaudes. LEMVT, INA-PO, ENVA.
- ✚ **MANSOURI A., EMBAREK G., KOKKALOU E., KEFALAS P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chem*, 89 ,411- 426.
- ✚ **MARKIN D., DUEK L., BERDICEVSKY I. (2003).** *In vitro* antimicrobial activity of olive leaves, *Mycoses*, 46(3-4), 132-136.
- ✚ **MARTIN GARCIA I., YANEZ RUIZ D., MOUMEN A., MOLINA ALCALDE E. (2006).** Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var. *europaea*), leaf fermentation in continuous fermentors. *Small Ruminant Research*, 61, 53-61.
- ✚ **MARTIN-GARCIA A.I., MOLINA-ALCAIDE E. (2008).** Effect of different drying procedures on the nutritive value of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaves for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 142, 317-329.
- ✚ **MAYMONE B., SBLENDERIO A., CECI GINESTRELLI D. (1950).** Recherche de la composition chimique, la digestibilité et la valeur nutritive des feuilles d'olives (*Olea europaea*). *Food Chem*, 4, 1-19.
- ✚ **MEDINA E., BRENES M., ROMERO C., GARCIA A., CASTRO A. (2007).** Main Antimicrobial Compounds in Table Olives. *J. Agric. Food Chem*, 55, 9817-9823.
- ✚ **MOHAGHEGHI F., BIGDELI M. R., RASOULIAN B., HASHEMI P., RASHIDI M.P. (2011).** The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood–brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia, *Phytomedicine*, 18 (2-3), 170-175.
- ✚ **MUNIER P. (1973).** Le palmier dattier. Ed. Maisonneuve, Paris, p 221.

- ✚ **NGOM S. (2004).** Ebauche d'un référentiel sur la composition chimique et valeur nutritive des matières premières utilisables en alimentation des volailles au Sénégal. Thèse de doctorat en chimie et biochimie des produits naturels. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal.
- ✚ **NOIRET N., BENVEGNU T., PLUSQUELLEC D. (2002).** Surfactants from renewable resources. *Actualité Chimique*, 70,11-12.
- ✚ **NOUI Y. (2001).** L'optimisation de la production de la biomasse "*Saccharomyces cerevisiae*" cultivée sur un extrait de datte. Mémoire d'ingénieur en Sciences Agronomiques, Batna.
- ✚ **PACKER L. (2001).** Flavonoids and other polyphenols. Ed Academic Press, California, p 483.
- ✚ **QUILLET M. (1975).** Recherches sur les substances glucidiques élaborées par les spirulines. *Ann. Nutr. Aliment*, 29, 553-561.
- ✚ **RAO A.V., GURFMKEI D.M. (2000).** The bioactivity of saponins: Triterpenoid and steroidal glycosides. *Drug Metab. Drug Interne.*, 17,211-235.
- ✚ **SALAGER J.L. (2002).** SURFACTANTS - TYPES and USES. Vol .50, 3-4.
- ✚ **SCHEFFLER A., RAUWALD H.W., KAMPA B., MANN U., MOHR F.W., DHEIN S. (2008).** *Olea europaea* leaf extract exerts L-type Ca²⁺ channel antagonistic effects, *Journal of Ethnopharmacology*, 120(2), 233-240.
- ✚ **SHEKHARAM K.M., VENKATARAMAN L.V., SALIMATH P.V. (1987).** Carbohydrate Composition and Characterization of Two Unusual Sugars from the Blue Green Alga *Spirulina-Platensis*. *Phytochemistry*, 26, 2267-2270.
- ✚ **SIBOUKEUR O. (1997).** Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. Thèse de Magister en Sciences Agronomiques, INRA. El Harrach, Alger.
- ✚ **SIBOUKEUR O., OULD EL HADJ M.D., ZARGATF.(2001).** Contribution à l'étude de la Production d'Acide Citrique par *Aspergillus niger* Cultivée sur Moût de Dattes de la Variété Ghars. *Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse*, 93-96.
- ✚ **SINGH I., MOK M., CHRISTENSEN A.M., TURNER A.H., HAWLEY J.A. (2008).** The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 18, 127-132.
- ✚ **SOMOVA L.I., SHODE F.O., RAMNANAN P., NADAR A. (2003).** Antihypertensive, anti-atherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated

from *Olea europaea*, subspecies *Africana* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2-3), 299-305.

- ✚ **SPARG S.G., LIGHT M.E., VAN STADEN J. (2004).** Biological activities and distribution of plant saponins, *J. Ethnopharmacol*, 94, 219-243.
- ✚ **SUSALIT E., AGUS N., EFFENDI I., TJANDRAWINATA R.R., NOFIARNY D., PERRINJAQUET-MOCCHETTI T., VERBRUGGEN M. (2011).** Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: Comparison with Captopril, *Phytomedicine*, 18(4), 251-258.
- ✚ **TADASHI U. (2006).** Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese. Application: JP 2006191845 A 20060727, 7 p.
- ✚ **VALESCOJ.DOBARGANES C. (2002).** Oxydative stability of virgin olive oil. *European. J. lipid. Sci and Techn*, 104,661-676.
- ✚ **WENDAKOON C.N., SAKAGUCHI M. (1995).**Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *J. Food Prot*, 58, 280-283.
- ✚ **WEST C.C., HARWELL J.H. (1992).**Surfactants and subsurface remediation, *Environ. Sci. Techno*, 36, (12), 2324-2330.
- ✚ **YAHIAOUI K. (1998).** Caractérisation physico-chimique et l'évolution du brunissement de la datte Deglet-Nour au cours de la maturation. Thèse de Magister en Sciences Agronomiques. INRA. El Harrach, Alger.
- ✚ **YAKOUB-BOUGDAL S. (2005).** Morphogenèse *in vitro* du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) et de l'olivier (*Olea europea L*) variété Chemlal. Thèse de Doctorat d'état ES-Science en biologie végétale. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

Annexes

Annexe I

Préparation de l'eau physiologique

- Dissoudre 2,7 de la poudre de NaCl dans 300 ml d'eau distillée ;
- Faire bouillir avec agitation continue jusqu'à dissolution complète ;
- Autoclaver à 121°C pendant 15 min.

Annexe II

Préparation du milieu de culture Mueller-Hinton

- Dissoudre 31g de la poudre de la gélose Mueller-Hinton (Scharlau) dans 1litre d'eau distillée ;
- Faire bouillir avec agitation continue jusqu'à dissolution complète ;
- Autoclaver à 121°C pendant 15 min.

Annexe III

Préparation du bouillon MRS

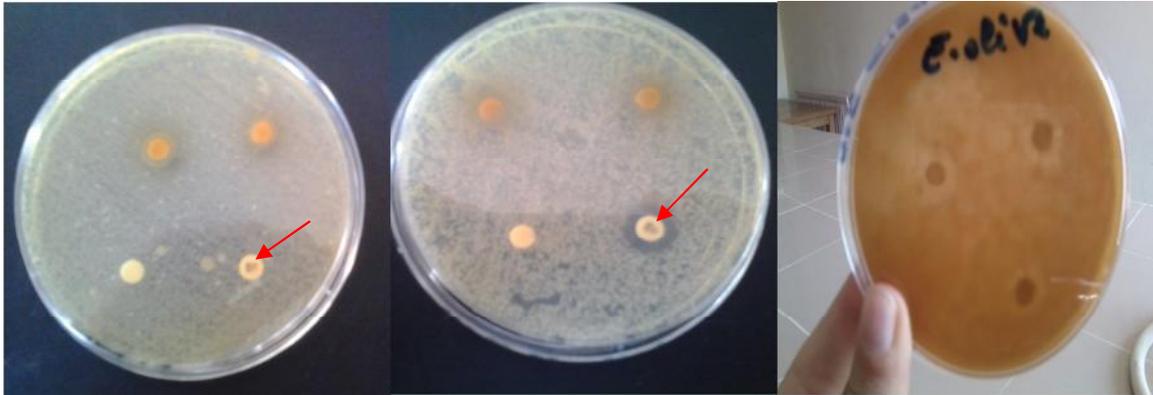
- Dissoudre 13,82g de la poudre du bouillonMRS (BioKar)dans 250ml d'eau distillée ;
- Faire bouillir avec agitation continue jusqu'à dissolution complète ;
- Autoclaver à 121°C pendant 15 min.

Annexe IV

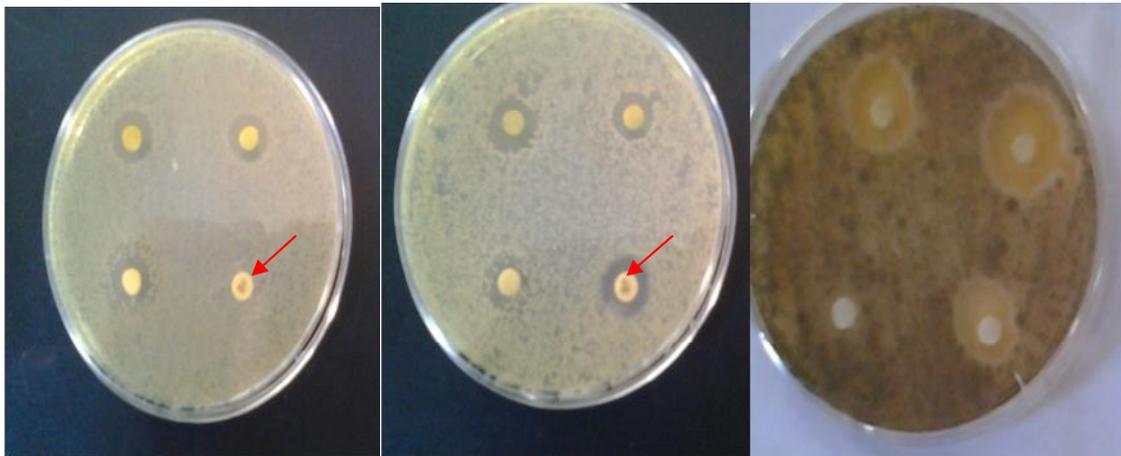
E.coli

S.aureus

A.niger



Extrait aqueux des feuilles d'oliviers



Extrait méthanolique des feuilles d'oliviers

→ Antibiotique (ampicilline)

A. niger



Extrait aqueux des dattes

Extrait méthanolique des dattes