

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

Université Blida 1

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

*DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE*

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

MEMOIRE

Présenté par :

Mr. **HEBIB AMINE**

En vue de l'obtention du diplôme de Master

**Thème**

**Valorisation des feuilles  
d'olivier sauvage dans la phytothérapie**

*Soutenu le 27/09/2020, devant le jury composé de :*

<b><u>Président</u></b>	Mr Bendali Abdelaziz	MAA	Univ Blida 1
<b><u>Encadreur</u></b>	Mme Belguendouz Rachida	MCA	Univ Blida 1
<b><u>Examinatrice</u></b>	Mme Ayachi Nabila	MAA	Univ Blida 1

**Année universitaire 2019-2020**

## *Remerciements*

*En premier lieu, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volanté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à Mme Belguendouz Rachida, maitre de conférences au Département de Biotechnologie, Université de Blida 1, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mr Bendali Abdelaziz, maitre assistant au Département de Biotechnologie, Université de Blida 1, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury.*

*J'exprime également mes remerciements à Mme Ayachi Nabila, maitre assistante au Département de Biotechnologie, Université de Blida 1, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire de biotechnologie de l'Université de Blida 1 pour leur gentillesse et leurs conseils.*

*Enfin, je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à :*

*Mes très chers parents ; sans vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières et vos efforts que vous avez déployés durant toute ma vie, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que Dieu vous donne la longue vie et la bonne santé, je vous aime énormément.*

*Ma chère sœur, mon cher frère, je vous souhaite une longue vie et bonne santé, j'espère que Dieu vous garde.*

*Toute ma famille, mes Amis*

## SOMMAIRE

Remerciements	
Dedicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction .....	1
<b>CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'OLIVIER</b>	
1. Généralités sur l'Olivier .....	2
2. Historique de l'olivier .....	3
3. Classification .....	4
4. Répartition géographique .....	7
5. Description botanique .....	8
6. cycle végétatif de l'olivier .....	11
7. L'oléastre ou l'olivier sauvage ( <i>Olea europaea sp europaea var sylvestris</i> ).....	12
8. Composition chimique.....	13
8.1 Les principaux constituants connus de la feuille d'olivier.....	13
8.2 Propriétés biologiques .....	15
8.3 Utilisation traditionnelle .....	15
<b>CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES</b>	
1. Matériels .....	16
1.1 Matériel biologique .....	16
1.1.1 Matériel végétal .....	16
1.1.2 Les microorganismes .....	16
1.2 Matériel de laboratoire .....	16
2. Méthodes de travail .....	16
2.1. Extraction des polyphénols .....	16
2.2 Tests phytochimiques .....	17
2.2.1 Analyse qualitative .....	17
2.2.2 Analyse quantitative .....	18
2.2.2.1 Dosage des polyphénols .....	18
2.2.2.2 Dosage des flavonoïdes .....	18
2.3 Etude de quelques activités biologiques.....	19
2.3.1 Activité antioxydante .....	19
2.3.2 Activité antimicrobienne .....	20

## CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats de l'étude phytochimique .....	22
1.1 Rendement et teneur de l'extrait brut en polyphénols et flavonoïdes totaux .....	22
1.2. Analyse qualitative .....	23
1.3 Analyse quantitative .....	24
1.3.1 Dosage des polyphénols .....	24
1.3.2 Dosage des flavonoïdes .....	25
2. Activité biologiques .....	26
2.1 Activité antioxydante .....	26
2.2 Activité antimicrobienne.....	27
Conclusion et perspectives.....	29
Références bibliographiques	
Annexes	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Les principales variétés cultivées dans le monde.....	5
<b>Tableau 2</b> : Les différents style de taille de l'olivier.....	6
<b>Tableau 3</b> : Cycle végétatif de l'olivier.....	11
<b>Tableau 4</b> : Critères d'identification de la forme sauvage et cultivée de l'olivier.....	13
<b>Tableau 5</b> : Résultats des tests phytochimiques.....	23
<b>Tableau 6</b> : Activité antibactérienne de l'extrait d'oléastre (staphylococcus aureus).....	27
<b>Tableau 7</b> : Activité antibactérienne de l'extrait d'oléastre (Pseudomonas aeruginosa).....	28
<b>Tableau 8</b> : Activité antibactérienne de l'extrait d'oléastre (Escherichia coli).....	28

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Champs d'Olivier.....	2
<b>Figure 2</b> : Olea europaea.....	2
<b>Figure 3</b> : Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin Méditerranéen.....	7
<b>Figure 4</b> : Les pays producteurs.....	7
<b>Figure 5</b> : Carte oléicole mondiale.....	8
<b>Figure 6</b> : Feuilles d'olivier.....	9
<b>Figure 7</b> : Fleurs d'olivier.....	10
<b>Figure 8</b> : Fruits.....	10
<b>Figure 9</b> : Oléastre.....	12
<b>Figure 10</b> : Rendement et teneur et de l'extrait brut en polyphenols et flavonoids totaux.....	22
<b>Figure 11</b> : Résultats screening phytochimique.....	23
<b>Figure 12</b> : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	24
<b>Figure 13</b> : La courbe d'étalonnage de la catéchine.....	25
<b>Figure 14</b> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique.....	26
<b>Figure 15</b> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	26

## Résumé

L'olivier ou *Olea europae* L. est un des symboles du bassin méditerranéen et de son histoire depuis des millénaires. Cet arbre appartient à la grande famille des oléacées. L'olivier sauvage (*Olea europae* var. *sylvestris* L) est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Les feuilles de la plante ont été soumises à une extraction sous reflux dans l'eau/éthanol (30/70) (v/v). L'examen phytochimique qualitatif réalisé sur les feuilles d'olivier sauvage a montré la présence des Flavonoïdes, Tanins, en quantité importante, il a en outre révélé des quantités plus faibles des Anthocyanes, Mucilages, Glycosides et l'absence des alcaloïdes. L'analyse quantitative de l'extrait, a montré des résultats riches en polyphénols totaux (26,10 mg EQ /g MS) et flavonoides (6,68 mg EC /g MS). Le pouvoir antioxydant a été évalué par la technique de piégeage du radical libre DPPH. L'extrait hydroéthanolique a montré une activité élevée avec un pourcentage d'inhibition de 87 %. L'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur disques sur cinq souches bactériennes.

L'extrait hydroéthanolique d'*Olea Europeae* var. *sylvestris* L a donné des zones d'inhibitions de : 5, 6, et 7 mm sur les souches *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* respectivement.

**Mots clés** : *Olea europae* var. *sylvestris*, polyphénols, analyse phytochimique, activité biologique



# Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires, ces derniers sont doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc.

De nos jours, en Algérie, nous sommes de plus en plus confrontés à la résurgence de nouvelles maladies. Entre autres, nous pouvons citer : les maladies liées au stress oxydant. En effet, le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies (le diabète, la maladie d'alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires,.....) comme facteur déclenchant ou associé à des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes (Girodon F.,et Al ; 1997)

Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (Boudjouref M , 2011)

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve L'olivier (*Olea europaea* L.) qui est très utilisé en médecine traditionnelle

En méditerranée, deux variétés étroitement liées se distinguent, l'une cultivée (variété *europaea*) et l'autre sauvage (variété *europaea* L *sylvestris*). Ce dernier est largement distribué même dans les régions semi arides. (Chiappetta et Muzzalupo, 2012)

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le l'objectif vise à démontrer la richesse de l'olivier sauvage en polyphénols et de déterminer ses activités antioxydantes et antibactériennes.

Pour cela notre étude englobe deux parties, dont :

- La première est une synthèse bibliographique sur l'olivier, la composition chimique de ses feuilles et leurs propriétés biologiques.
- La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale, qui porte sur l'extraction, le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) des feuilles d'*europaea* L *sylvestris* L et à l'évaluation in vitro de l'activité antioxydante et antibactérienne.

# Chapitre I :

# Synthèse

# bibliographique sur

# l'olivier

## 1. Généralités sur l'Olivier :

L'olivier est cité dans le saint Coran comme étant un arbre béni, symbole de l'homme universel et l'huile d'olive, est source de la lumière divine pour guider les hommes. L'histoire de l'olivier est indissociable de celle de l'homme des pays méditerranéens. La silhouette de l'arbre et son feuillage particulier font partie intégrante de son paysage. Arbre de légende, traité avec égards et respect, il a de tout temps été au centre des préoccupations de la civilisation agraire de ces régions, fournissant nourriture, lumière, cosmétiques et médicaments. (Polese, 2007). Il véhicule de nombreux symboles : paix, fécondité, purification, force, victoire et récompense.

L'olivier est l'un des arbres les plus caractéristiques de la région méditerranéenne; il a une grande importance nutritionnelle, sociale, culturelle et économique sur les populations de cette région où il est largement distribué (CLARIDGE et WALTON, 1992). Immortel et sa durée de vie est très longue : plusieurs fois centenaires voire atteindre un millénaire. Il peut vivre jusqu'à 1000 ans et, si à cet âge canonique on le coupe, il produira immédiatement un rejet qui vivra lui aussi des centaines d'années. Il est parfaitement adapté au climat méditerranéen,

*Olea europaea* est une espèce d'arbres ou d'arbustes de la famille des Oleaceae répandue à travers l'Afrique, l'Asie et l'Europe méditerranéenne et dont une variété a été domestiquée et cultivée pour devenir l'olivier. Au cours de l'histoire de la botanique, de nombreuses sous-espèces ont été décrites.



Figure n°1: Champs d'Olivier ([www.itafv.dz](http://www.itafv.dz))



Figure n°2: *Olea europaea* (<http://powo.science.kew.org>)

➤ **Noms vernaculaires de l'olivier** (Ghedira, 2008) :

- Français : olivier
- Anglais : olivetree
- Allemand : olbaum
- Italien : ulivo
- Espagnol : olivo
- Portugais : oliveira
- Arabe : chajaret azzeitoun
- Berbere: Azemmur

## **2. Historique de l'olivier:**

Plusieurs hypothèses sur l'expansion des oliviers au cours du temps sont admises mais la plus fréquemment retenue est celle de De Candolle (1883), qui situe le berceau de l'olivier cultivé sous une forme primaire en Syrie et en Asie Mineure (Iran), il y a six millénaires. De là, de nombreuses civilisations méditerranéennes se relayèrent à travers l'histoire pour propager la culture de cet arbre de l'Est en Ouest, dans tout le Bassin circum-méditerranéen (Zohary et Spigel, 1975; Besnard et al. 2001). Au VIème, sa culture s'est étendue à tout le Bassin méditerranéen par les grecs d'abord, puis par les romains qui l'ont utilisé comme arme pacifique dans leurs conquêtes pour l'établissement des villes en fixant les habitants des steppes (Baradez, 1949; Blázquez, 1997).

En Afrique du Nord, la culture de l'olivier existait déjà avant l'arrivée des romains, car les berbères savaient greffer les oléastres (Campsfabrer,- 1953). Cependant, les romains ont permis l'extension des champs aux régions plus arides, considérées jusqu'alors comme peu propices à cette culture. C'est le cas de la région de Sufetula, l'actuelle Sbeitla en Tunisie (Barbery et Delhoune, 1982). De plus, une foule de mosaïques trouvée en Tunisie et en Algérie témoigne de l'importance de l'olivier dans la civilisation romaine (Camps-Fabrer, 1953). La colonisation française a contribué à l'extension de l'oléiculture en Afrique du Nord, telles que l'oliveraie de Sfax en Tunisie, de Sig en Algérie (Mendil et Sbari, 2006) et des oliveraies entre Meknès et Fez, au Maroc (Loussert et Brousse, 1978). C'est à partir du XVIème siècle que s'ouvre une nouvelle ère continue qui va conduire l'olivier à son extension maximale, sous l'influence de la demande croissante d'une société occidentale de plus en plus industrialisée (Fiorino et Nizzi, 1992). Avec la découverte du nouveau monde, les émigrants de la péninsule ibérique (Espagne) ont introduit l'olivier dans leurs anciennes colonies des Amériques comme l'Argentine, le Mexique, le Pérou ensuite le Chili et la Californie. Et ce n'est qu'au XIXème siècle, lors de l'apogée de la démographie et de la colonisation européennes que l'oléiculture a vu un essor rapide en s'implantant dans des régions éloignées de son lieu d'origine comme l'Afrique du Sud, l'Australie, le Japon ou la Chine (Loussert et Brousse, 1978).

### 3. Classification

L'olivier appartient à la famille des oléacées. Le genre est appelé "*Olea*" et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. L'espèce cultivée en Méditerranée est "*Olea europaea*", dans laquelle on trouve l'oléastre ou l'olivier sauvage, et l'olivier cultivé.

- La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon (Ghedira., 2008) est la suivante :

**Embranchement :** Magnoliophyta ;

**Sous embranchement :** Magnoliophytina ;

**Classe :** Magnoliopsida ;

**Sous classe :** Asteridae ;

**Ordre :** Scrophulariales ;

**Famille :** Oleaceae ;

**Genre:** *Olea* L ;

**Espèces:** *Olea europaea* L ;

**Sous-espèces :** *Olea europaea* L. ssp. *Oleaster* Hoffm. et Link (= *O. europaea* L. ssp. *Sylvestris* Miller).

- On distingue pour *Olea europaea* L. six sous espèces :






- *Olea europaea* subsp. *europaea*, sous espèce principale du complexe *Olea europaea* L.
- *Olea europaea* subsp. *cerasiformis* (Canaries, Madère).
- *Olea europaea* subsp. *cuspidata* (Afrique et Asie, de l'Iran jusqu'en Chine).
- *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Canaries)
- *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Algérie, Argentine, Niger, Soudan).
- *Olea europaea* subsp. *maroccana* (Maroc).

**Tableau n°1:** Les principales variétés cultivées dans le monde (COI, 2013).

<b>Pays</b>	<b>Principales variétés</b>
<b>Albanie</b>	Kaliniot.
<b>Algérie</b>	Chemlal ; Sigoise ; Azeradj ; Limli ; Blanquette de Guelma.
<b>Argentine</b>	Arauco.
<b>Chili</b>	Azapa.
<b>Croatie</b>	Lastovka ; Levantinka ; Oblica.
<b>Chypre</b>	Ladoelia.
<b>Egypte</b>	Aggezi Shami ; Hamed ; Toffahi.
<b>Espagne</b>	Alfafara ; Aloreña ; Arbequina ; Bical ; Blanqueta ; Callosina ; Carasqueno de la Sierra ; Castellana ; Changlot Real ; Cornicabra ; Empiltre ; Farga ; Gordal de Granada ; Gordal Sevillana ; Hojiblanca ; Lechin de Granada ; Lechin de Sevilla ; Loaime ; Lucio ; Manzanilla cacereña ; Manzanilla Prieta ; Manzanilla de Sevilla ; Mollar de Ceiza ; Morisca ; Morona ; Morrut ; Palomar ; Picual ; Picudo ; Rapasayo ; Royal de Gazorla ; Sevillena ; Verdial de Badajoz ; Verdial de Huelva ; Verdial de Velez-Malaga ; Verdiell ; Villalonga.
<b>France</b>	Aglandau ; Bouteillan ; Grossane ; Lucques ; Picholine Languedoc ; Salonenque ; Tanche.
<b>U.S.A</b>	Mission
<b>Grèce</b>	Adramitini ; Amigadalolia ; Chalkidiki ; Kalamone ; Conservolia ; Koroneiki ; Mastoidis ; Megaritiki ; Valanlia.
<b>Italie</b>	Ascolana Tenera ; Biancolilla ; Bosana ; Canino ; Carolea ; Casaliva ; Cassanese ; Cellina di Nardo ; Coratina ; Cucco ; Dolce Agogia ; Dritta ; Frantoio ; Giarraffa ; Grignan ; Itrana ; Leccino ; Majatica di Ferrandina ; Maraiolo ; Nocellara del Belice ; Nocellara Etna ; Oliarola Barese ; Oliva di Cerignola ; Ottobratica ; Pendolino ; Oisciottana ; Pizz'e Carroga ; Rosciola ; Sant Agostino ; Santa Caterina ; Taggiasca.
<b>Jordanie</b>	Rasi'i
<b>Liban</b>	Soury.
<b>Maroc</b>	Haouzia ; Menara ; Meslala ; Picholine Marocaine.
<b>Palestine</b>	Nabali Baladi
<b>Portugal</b>	Carrasquenha ; Cobrançosa ; Cordovil de Castelo Branco ; Cordovil de Serpa ; Galega Vulgar ; Maçanilha Algariva ; Redondal.
<b>Slovénie</b>	Bianchera.
<b>Syrie</b>	Abou-Satl ; Doebli ; Kaissy ; Sorani ; Zaity.
<b>Tunisie</b>	Chemlali de Sfax ; Chétoui ; Gerboui ; Meski ; Oueslati.
<b>Turquie</b>	Ayvalik ; çekiste ; çebebi ; Domat ; Erkence ; Gemlik ; Izmir Sofralik ; Memecik ; Uslu.
<b>Yugoslavie</b>	Zutica.

- Il existe différents styles d'olivier:

**Tableau n°2** : Les différents styles de taille de l'olivier ([www.olivierdeprovence.com](http://www.olivierdeprovence.com))

Style	Forme
Style Algérien en gobelet	
Style Espagnol à deux troncs	
Style à la française bifurquée	
Style Italien polyconique	
Style Tunisie du nord candelabre	

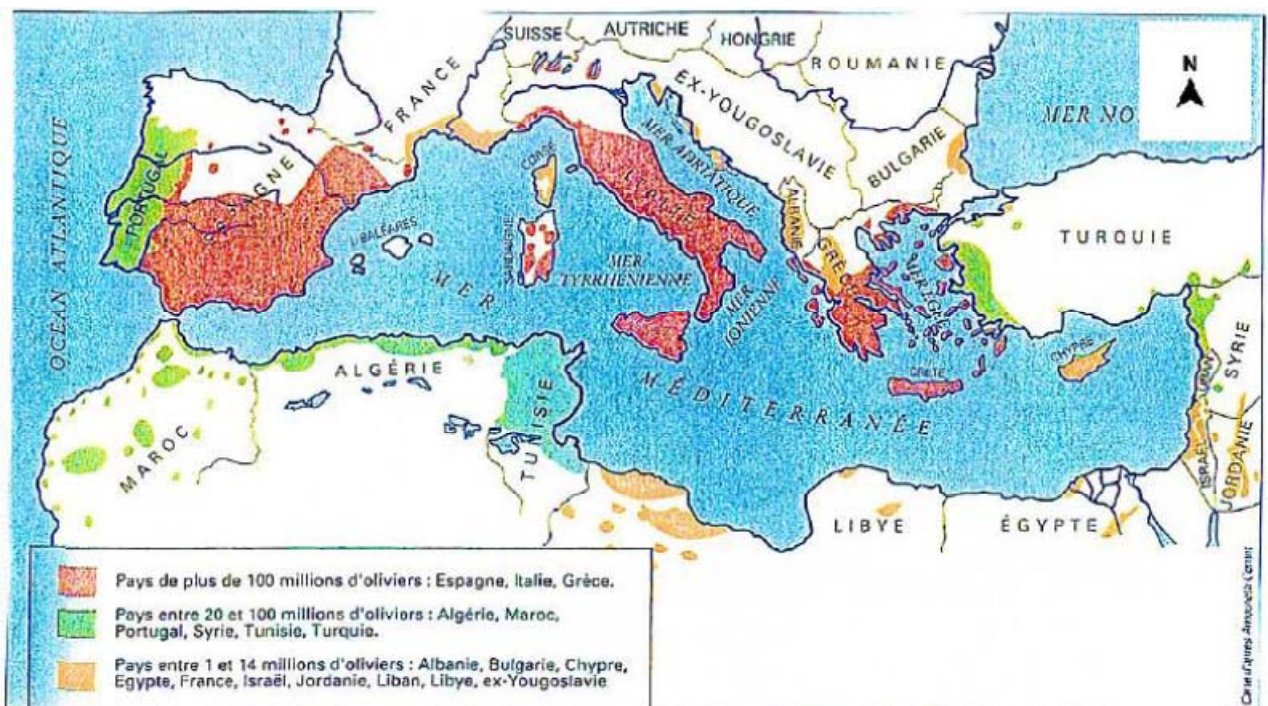


#### 4. Répartition géographique

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, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (Benhayoun et Lazzeri, 2007).



**Figure n°3** : Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin Méditerranéen (Carrion, Y et al , 2010)



**Figure n°4** : Les pays producteurs (www.afidol.org)



**Figure n°5** : Carte oléicole mondiale (COI, 2013)

## 5. Description botanique

D'après Amouretti et Brun, l'aspect général de l'olivier est celui d'un arbre toujours vert dont les dimensions et les formes sont extrêmement variables. L'olivier se distingue par sa longévité, il peut devenir plusieurs fois centenaires, voire même millénaire. Il est de 6 à 8 m de hauteur (pouvant atteindre 10 m), à tronc tortueux et à écorce grisâtre, crevassée, ses nombreux rameaux tortueux portent des feuilles persistantes. Ces dernières sont disposées de façon opposée, de forme oblongue et lancéolée, de 5 à 6 cm de long en moyenne. Elles sont de couleur vert foncé à leur face supérieure et présentent un aspect argenté, dû à la pruine, à leur face inférieure. Les fleurs, petites et blanches jaunâtres, à quatre pétales, sont réunies en grappes à l'aisselle des feuilles. Le fruit ou olive est une drupe ellipsoïde, verte puis noire à maturité, à noyau dur fusiforme. Les racines bandées et avec beaucoup de ramifications superficielles s'étendent de 2 à 3 fois la hauteur de la plante et poussent en profondeur dans les sols fertiles, jusqu'à 1,5-2 mètres.

### -Système racinaire :

Il est puissant, fasciculé après sa solide implantation issue des nodosités qui se forment à la base du tronc jouant un rôle important pour la vie de l'arbre. Continuant à grossir à mesure que l'olivier vieillit, il forme une masse énorme.

**- Le tronc :**

D'abord lisse et circulaire, gris verdâtre jusqu'à la deuxième année environ, il devient noueux et crevassé, fendu et élargi à la base. Il prend une teinte gris foncé presque noire (Pagnol, 1975).

**- Les feuilles :**

Les feuilles sont opposées, étroites, allongées, coriaces, vert-gris luisant en dessus, argentées en dessous, persistantes, mesurent de 2 à 8 centimètres de long et de 0.5 à 1.5 centimètres de large, elles restent en place trois ans et se renouvellent donc par tiers tous les ans. En cas de sécheresse, les feuilles sont capables de perdre jusqu'à 60% de leur eau, de réduire fortement la photosynthèse et de fermer les stomates permettant les échanges gazeux pour réduire les pertes en eau par évapotranspiration (Figure n°9)



**Figure n°6 :** Feuilles d'olivier ([www.masantenaturelle.com](http://www.masantenaturelle.com))

**- Les fleurs :**

Les fleurs sont discrètes, blanches, odorantes, forment des grappes courtes et serrées à l'aisselle des feuilles de l'année précédente (Boucher et *al.*, 2011) , Elles présentent un très petit calice à 4 sépales, corolle courte à quatre pétales étalés, deux étamines saillantes insérées sur le tube de la corolle. Un ovaire simple, libre, ovoïde à deux loges biovulées, surmonté d'un style simple, très court, épais, terminé par un stigmate épais, allongé, bilobé (Pagnol, 1975).



**Figure n°7** : Fleurs d'olivier ([www.olivierdeprovence.com](http://www.olivierdeprovence.com))

**- Le fruit ou drupe :**

D'abord vert, il devient noir à maturité complète, Le fruit de l'olivier est une drupe, semblable à d'autres drupes, fruits à noyau comme la pêche ou la cerise. Ses pièces composantes sont l'épicarpe ou la peau, le mésocarpe ou la chair, et l'endocarpe ou le noyau, qui se compose d'une enveloppe boisée renfermant un ou, rarement deux graines (Connor et Fereres, 2005).



**Figure n°8** : Fruits ([www.jardiner-malin.fr](http://www.jardiner-malin.fr))

## 6. Cycle végétatif de l'olivier

**Tableau n°3:** Cycle végétatif de l'olivier ([www.doc-developpement-durable.org](http://www.doc-developpement-durable.org))

Phases Végétatives	Début	Durée	Manifestations
Repos végétatif	Déc.- janv.	1-3 mois	Activité germinative arrêtée ou ralentie
Induction florale	Fév.	—	Les fruits se développeront sur le bois poussé l'année précédente (> taille).
Reprise de la végétation	Fin fév.	20-25 jours	Emission d'une nouvelle végétation de couleur claire.
Formation de boutons floraux	mi-mars	18-23 jours	Inflorescences de couleur verte, blanchâtres à maturité.
Floraison	Début mai / 10 juin	7 jours	Fleurs ouvertes et bien apparentes, pollinisation et fécondation.
Fructification	Fin mai -juin	—	Chute des pétales, hécatombe précoce des fleurs et des fruits.
Développement des fruits	seconde moitié de juin	3-4 semaines	Fruits petits mais bien apparents.
Durcissement du noyau	Juillet	7-25 jours	Fin de la formation des fruits devenant résistants à la coupe et à la section.
Croissance des fruits	Août	1,5-2 mois	Augmentation considérable de la taille des fruits et apparition des lenticelles.
Début de maturation	mi-oct. à déc.	—	Au moins la moitié de la surface du fruit vire du vert au rouge violacé
Maturation complète	Fin oct. à déc.	—	Fruits avec une coloration uniforme violette à noire

### 7. L'oléastre ou l'olivier sauvage (*Olea europaea subsp europaea var sylvestris*) :

- Le nom d'oléastre est réservé pour des formes d'apparence spontanée, en buissons souvent épineux et à fruits ordinairement petits (Chevalier, 1948). L'olivier sauvage semble bien adapté aux environnements difficiles tels que la sécheresse, le froid, le sel, les sols pauvres etc. Il est caractérisé par sa longévité où dans de nombreux cas, il peut dépasser les 1000 ans (Chiappetta et Muzzalupo, 2012)
- L'oléastre diffère de l'olivier cultivé par la présence des pousses courtes et épineuses, des fruits de petite taille, une faible teneur en huile (Breton C, 2006). Les feuilles de l'olivier sauvage sont de courte longueur, de largeur moyenne. Les fruits de la plupart des oliviers sauvages en une forme elliptique, et avec un faible poids
- L'oléastre pousse généralement sur des terrains relativement pauvres à reliefs accidentés. Dans les zones semi-arides comme dans le sud de l'Espagne et en Afrique du nord, il peut être rencontré sur les rives de cours d'eau temporaires (Durand et Terral, 2005). Il se multiplie par voie sexuée à partir des semences (graines) dispersées par le vent et les oiseaux (Spennemann et Allen, 2000; Alcantara et Rey, 2003). D'un point de vue écologique, il possède un rôle dans la protection des sols des éventuelles désertifications dues à sa résistance aux conditions environnementales défavorables (Mulas et Deidda, 1998).



**Figure n°9:** Oléastre (commons.wikimedia.org)

**Tableau n°4:** Critères d'identification de la forme sauvage et cultivée de l'olivier (Green, 2002).

Cirière Olivier	Architecture de l'arbre	Forme et taille des feuilles	Taille des fruits	Mésocarpe
<b>Sauvage</b>	Arbuste généralement dense; branches minces, courtes et épineuses	Ovale à elliptique 3 à 8 cm de long	< 1cm	Charnu mais mince
<b>Cultivé</b>	Arbre > 15 m avec plusieurs troncs	-Elliptiques lancéolées à elliptiques -Pas de dimensions précises	4 cm de long	Charnu et dense

## 8. Composition chimique :

### 8.1 Les principaux constituants connus de la feuille d'olivier

- minéraux : calcium, phosphore, magnésium, silice, soufre, potassium, sodium, fer, chlore,
- tannins,
- mannitol,
- acides organiques (malique, tartrique, glycolique, lactique),
- acides gras : acide palmitique, acide linoléique
- triterpène : acide oléanolique, acide ursolique, uvaol
- saponines,
- sécoiridoïdes : oleuropéine, 11-déméthyloleuropéine, diester méthylique (7,11) de l'oléoside, ligustroside, oléoside, aldéhydes sécoiridoïques non hétérosidiques (oléacéine),
- pigments flavoniques : flavones (lutéoline), chalcone (olivine),
- rutoside et glycosides de l'apigénol et du lutéolol,
- choline.

(Pharmacopée européenne VI édition, 2008 et [www.hippocratus.com](http://www.hippocratus.com) et [www.cat.inist.fr](http://www.cat.inist.fr))

L'acide élénolique et l'hydroxytyrosol sont des constituants que l'on peut également retrouver. Ils dérivent de l'oleuropéine suite à une métabolisation et ils agissent en synergie avec l'oleuropéine au niveau phytothérapeutique. ([www.mdidea.com](http://www.mdidea.com))

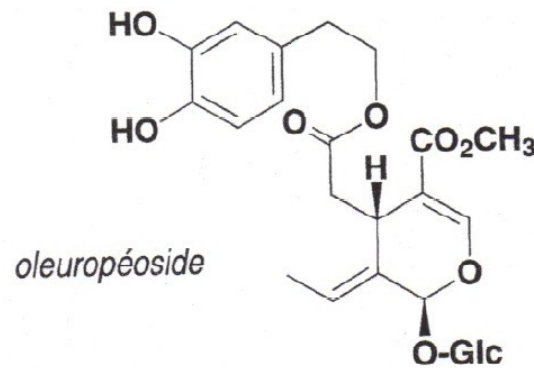
✓ **Oleuropéine**

Constituant majeur de la feuille d'olivier, l'oleuropéine représente 60 à 90 mg par g du poids sec.

Il s'agit du [(2*S*,3*E*,4*S*) – 3 – Ethylidène - 2 - (b-d-glucopyranosyloxy) - 5 (méthoxycarbonyl) - 3,4 – dihydro – 2 *H* – pyran – 4 - yl] acétate de 2 - (3,4- dihydroxyphényl) éthyle en nomenclature officielle. (Pharmacopée européenne VI édition, 2008)

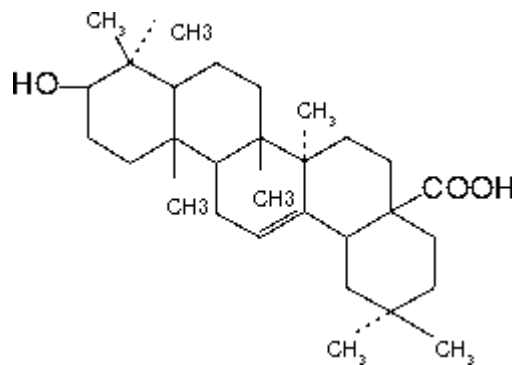
Synonyme: acide oleuropéside.

L'oleuropéine est un polyphénol de type monoterpénique.

✓ **Acide oléanolique**

Il s'agit du (4*aS*,6*aR*,6*aS*,6*bR*,8*aR*,10*S*,12*aR*,14*bS*) – 10 – hydroxy - 2,2,6*a*,6*b*,9,9,12*a* – heptaméthyl - 1,3,4,5,6,6*a*,7,8,8*a*,10,11,12,13,14*b* – tétradécahydropicéne - 4*a* - carboxylique acide.

L'acide oléanolique appartient à la famille des triterpènes du type oléanane. Cette famille est omniprésente dans le règne végétal et particulièrement dans les plantes médicinales. Il a comme synonyme acide oléanique.





## 8.2 Propriétés biologiques

Les feuilles d'olivier possèdent une énorme capacité à piéger les radicaux libres. Il est mentionné par certains auteurs que l'extrait de feuille d'olivier réduit la pression artérielle et le cholestérol du plasma chez les rats (Perrinjaquet et al 2008). De plus, les acides gras mono-insaturés disponibles dans les feuilles d'olivier tels que l'acide oléique, diminuent les lipides du plasma dont les LDL et VLDL et préviennent des maladies cardiovasculaires (Huang, C.L. et Sumpio, B.E., 2008). L'extrait de feuilles d'olivier peut contenir des traces d'éléments vitaux tels que le sélénium, le fer, le zinc, la vitamine C, le  $\beta$ -carotène et une grande partie d'acides aminés (Polzonetti V, Egidi D, Vita A, et al, 2004). Les feuilles contiennent aussi du cinchonidine, un alcaloïde quinoléique aux propriétés antipaludiques. Les feuilles, l'écorce et les fruits contiennent l'oleuropéine qui possède des activités antioxydantes, hypotensives, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antiseptiques (Ghedira K, 2008).

## 8.3 Utilisation traditionnelle

Les feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres. Ils contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs (Wainstein J et al 2013). Les feuilles d'olivier sont diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle modérée. L'extrait de feuilles est utilisé comme adjuvant dans les formes légères de diabète (au cours de la grossesse ou en cas d'obésité) (Ghedira K, 2008). Les feuilles aussi, ont été largement utilisées en tant que remède pour le traitement de la fièvre et d'autres maladies comme le paludisme. Ils ont été consommés sous forme d'un extrait, d'un ensemble de poudre de herbor ou tisane. Ces propriétés comme : antioxydantes, anti-hypertensive, anti-inflammatoire, hypoglycémique et hypocholestérolémiantes. Les feuilles possèdent également des propriétés antimicrobiennes contre certains micro-organismes tels que des bactéries, des champignons et mycoplasmes (Ghanbari Rahele, 2012).

# Chapitre II :

# Matériels & méthodes

## Préambule : Objectif du travail

L'objectif de l'étude phytochimique de l'extrait ethanologique des feuilles d'oleastre et leurs activités antioxydant et antimicrobiennes vise la mise en évidence de l'interet de leur utilisation en phytothérapie.

## 1. Matériels

### 1.1 Matériel biologique

**1.1.1. Matériel végétal :** la plante choisie est l'olivier sauvage (*Olea europea L sylvestris*) situé dans la région de bouarfa wilaya de blida. Un échantiollonnage aléatoire de feuilles a été effectué le durant les mois de fevrier et Mars de l'année 2019 à 10h.

**1.1.2 Les microorganismes :** L'activité antibactérienne de notre extrait a été évaluée sur cinq souches de référence, Il s'agit de :

- ✓ Staphylococcus aureus(ATCC 25923)
- ✓ Escherichia coli (ATCC 25922)
- ✓ Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853)
- ✓ enterobacter cloacae (ATCC 13047)
- ✓ Candida albicans (levure)

Les souches sont fournies par le laboratoire de microbiologie de l'établissement hospitalier de blida (Brahim Tirichine).

### 1.2. Matériel de laboratoire (cf. Annexe 1)

## 2. Méthodes de travail

Les feuilles collectées sont lavé avec de l'eau courante, séchés pendant 15 jours à une température ambiante et à l'abri de la lumière dans un endroit bien aéré, pour préserver au maximum l'intégrité des molécules. La matière végétale a été réduite en poudre avec un broyeur électrique. La poudre résultante est conservée à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière dans des flacons en verre fermés hermétiquement.

### 2.1 Extraction des polyphénols

L'extraction a été faite comme suit : 20g de la poudre végétale a été mélangé avec 200 ml du solvant : eau/ éthanol (30 : 70) (v/v). Après agitation (24h), L'extrait obtenu est filtré sur papier filtre, puis évaporés dans une étuve à 35 °C. Le résidu obtenu est conservé à 4° C.

## 2.2 Tests phytochimiques

### 2.2.1 Analyses qualitatifs

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante.

#### -Flavonoïdes

1 ml de chaque extrait est ajouté à 100 µl de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la couleur rouge ou orange [Karumi *et al.*, 2004]

#### -Tanins

À 1 ml de l'extrait est ajouté 200 µl de FeCl<sub>3</sub> 1 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu- noir [Karumi *et al.*, 2004].

#### - Anthocyanines

À 1 mL d'extraits, on ajoute 1 mL d'HCl (2N). L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (Debray *et al.*, 1971).

Rouge- cerise violacée : leucoanthocyanes

brun- rouge : catéchols

#### - Alcaloïdes:

10 ml de l'extrait est évaporé à sec. Le résidu obtenu est repris dans 1.5 ml d'acide chlorhydrique 2 % sous agitation au bain marie à chaud. Après refroidissement et filtration. Le filtrat est divisé en 2 volumes égaux : le tube 1 est traité par le réactif de Mayer et le tube 2 est traité par quelques gouttes du réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc et marron respectivement indique la présence des alcaloïdes [Majob, 2003].

#### -Les glycosides

Les extraits ont été dissous dans d'égaux volumes d'anhydride acétique (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) et de CHCl<sub>3</sub>. Le mélange a été transféré dans un tube à essai à sec. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a été ajouté au bas du tube. La formation d'un anneau brun rougeâtre ou violacé à l'interface des 2 liquides indique la présence de glycosides.

#### - Mucilages

Introduire 1 ml de l'extrait dans un tube à essai, puis 5 ml d'alcool absolu est ajouté. L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages

## 2.2.2 Analyses quantitatives

### 2.2.2.1 Dosage des polyphénols

Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes, etc...).

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode décrite par (Vermerius et Nicholson en 2006). Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acides phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 725 nm.

Le mode opératoire réalisé est le suivant :

- ❖ 0,1 mL de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 2% ;
- ❖ Les tubes sont agités puis incubés pendant 5 min ;
- ❖ 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange ;
- ❖ Les tubes sont ensuite incubés pendant 30 min à température ambiante ;
- ❖ La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 700 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g).

### 2.2.2.2 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très importantes en phytothérapie qui proviennent du métabolisme végétal, on les retrouve dans les différentes parties de la plante.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode décrite par Ardestani et Yazdanparast en 2007. C'est une méthode spectrophotométrique utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et la soude (NaOH). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510nm.

Le mode opératoire réalisé est le suivant :

- ❖ 500 µL de chaque extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée ;
- ❖ 150 µL d'une solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 15 % sont ajoutés au mélange ;
- ❖ Les tubes sont ensuite incubés pendant 6 min à température ambiante ;
- ❖ 150 µL de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3, 6 \text{H}_2\text{O}$ ) à 10% sont ajoutés ;
  
- ❖ Les tubes sont incubés pour une 2ème fois pendant 6 min à température ambiante ;
- ❖ 2 mL d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 4% sont ajoutés immédiatement ;
- ❖ Le volume total est ajusté à 5 mL avec l'eau distillée ;
- ❖ Les tubes sont agités, ensuite incubés pendant 15 min ;
- ❖ La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 mg/mL).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EQC/gMS).

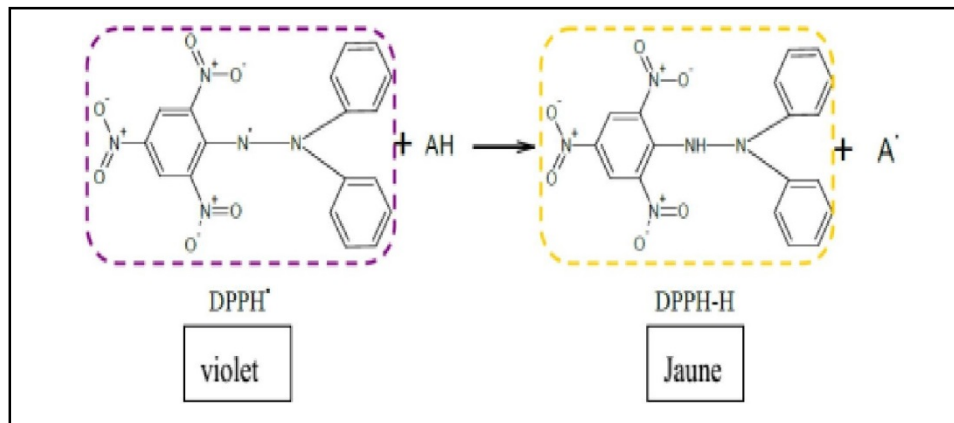
## 2.3 Etude de quelques activités biologiques

### 2.3.1 Activité antioxydante

#### ✓ Méthode du Piégeage du radical libre DPPH

Selon Hayes *et al.*, (2011), l'activité antioxydante dépend généralement sur le nombre et la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels. La structure des composés phénoliques est un facteur déterminant de leur piégeage des radicaux libres qui sont des pathogènes dans de nombreuses maladies

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006).



L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz *et al.*, 2008). Dans des tubes on introduit 4 ml de chaque extrait (dilué à plusieurs reprises) et 0,5ml de la solution du DPPH (1mM), après agitation au vortex pendant 30s, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I\% = [1 - (\text{Abs Echantillon} - \text{Abs Control négatif})] \times 100$$

où

**I %** : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;

**Abs** : Echantillon : Absorbance de l'échantillon ;

**Abs** : Control négatif : Absorbance du control négatif.

### 2.3.2 Activité antimicrobienne

#### ✓ Méthode de diffusion des disques sur gélose (antibiogramme)

- Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la plante, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé, cette méthode est l'équivalent de l'antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par nos extraits étudiés.
- Des souches de référence ont été utilisées il s'agit de: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *enterobacter cloacae*, *Candida albicans* (levure)

Des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau distillée stérile

20 afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à celle de McFarland 0.5 (10<sup>6</sup> UFC/ml).

**✓ Mode opératoire**

- Liquéfier le milieu de culture Müller-Hinton dans un bain marie à 95°C ;
- Verser aseptiquement le milieu dans les boites de pétri à raison de 15ml par boite ;
- Laisser le milieu refroidir et solidifier sur paillasse ;
- À partir d'une culture jeune de 18h à 24h en suspension ensemercer le milieu gélosé (M.H) par 1ml et étaler sur toute la surface à l'aide d'un râteau ;
- Après ¼ d'heure à l'aide d'une pince stérile les disques stériles (papier Wattman n°1) imprégnés d'une quantité d'Extrait (5ul) sont déposés à la surface d'un milieu gélosé Mueller Hinton, ensemençé (étalé) par une suspension microbienne d'une densité optique de 0.5 McFarland. Après diffusion, les boites sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et *al.*, 2006).
- la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (en mm) de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle.



# Chapitre III :

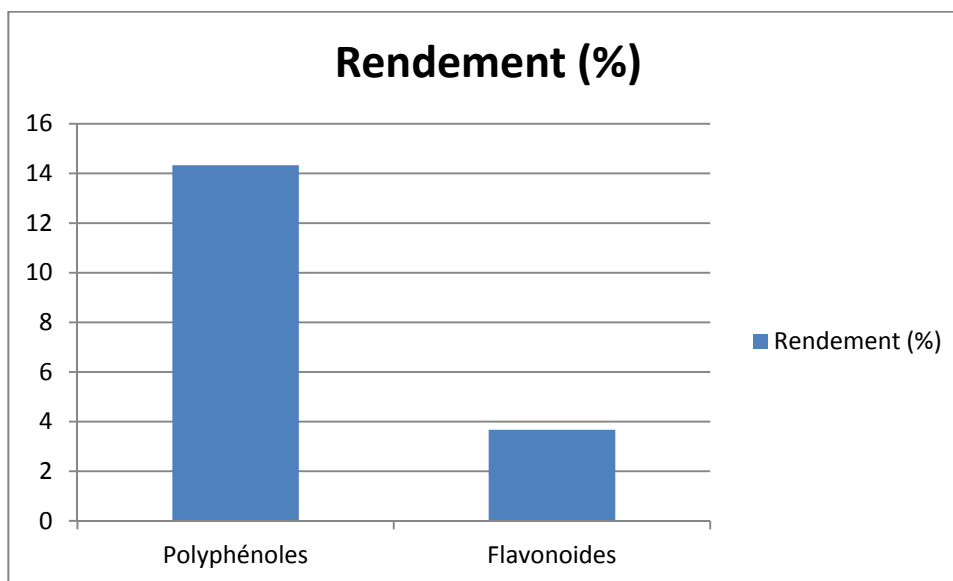
# Résultats & discussion

## 1. Résultats de l'Etude phytochimique

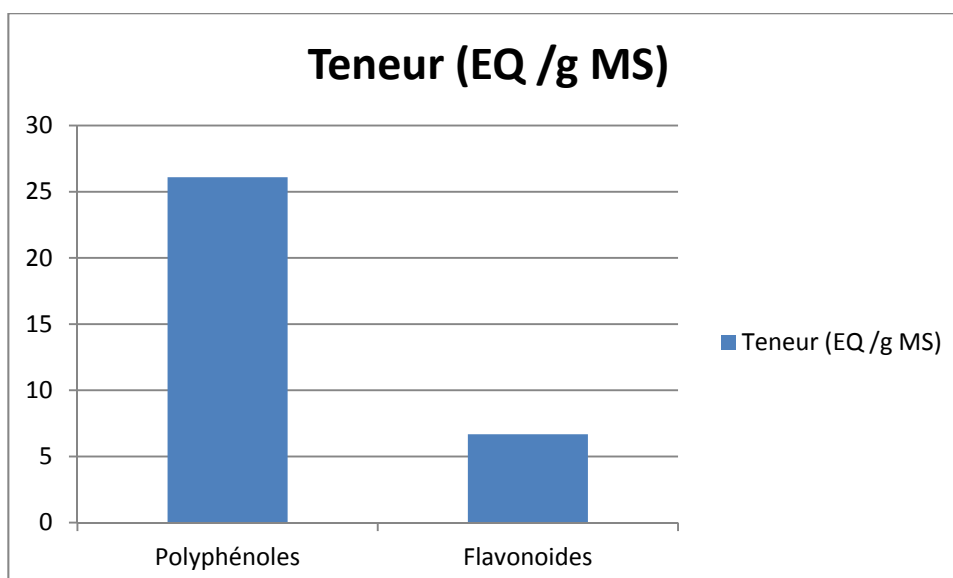
### 1.1 Rendement et teneur et de l'extrait brut en polyphenols et flavonoïdes totaux

L'eau/éthanol aux proportions (30/70) (v/v) a permis d'obtenir un rendement de 14,33% de polyphenols et 3.67% de flavonoïdes (voir Fig. 10).

Les résultats obtenus montrent que l'extrait hydroethanolique a donné un rendement (18%) proche aux résultats démontrés par Bouabdallah (2004) : l'eau/acétone aux proportions (30/70) (15 %), solvant eau/méthanol (30/70) 24% et enfin l'eau distillée (15 %).



(a)



(b)

**Figure n°10** : (a) Rendement et (b) teneur de l'extrait brut en polyphenols et flavonoïdes totaux

## 1.2. Analyse qualitative

Tableau n°5: Résultats des tests phytochimiques

Familles chimiques	Extrait Hydroéthanolique
Alcaloïdes	-
Flavonoïdes	++
Tanins	++
Anthocyanines	+
Mucilages	+
Glycosides	+

(++) : fortement présent ; (+) : présent ; (-) : negative

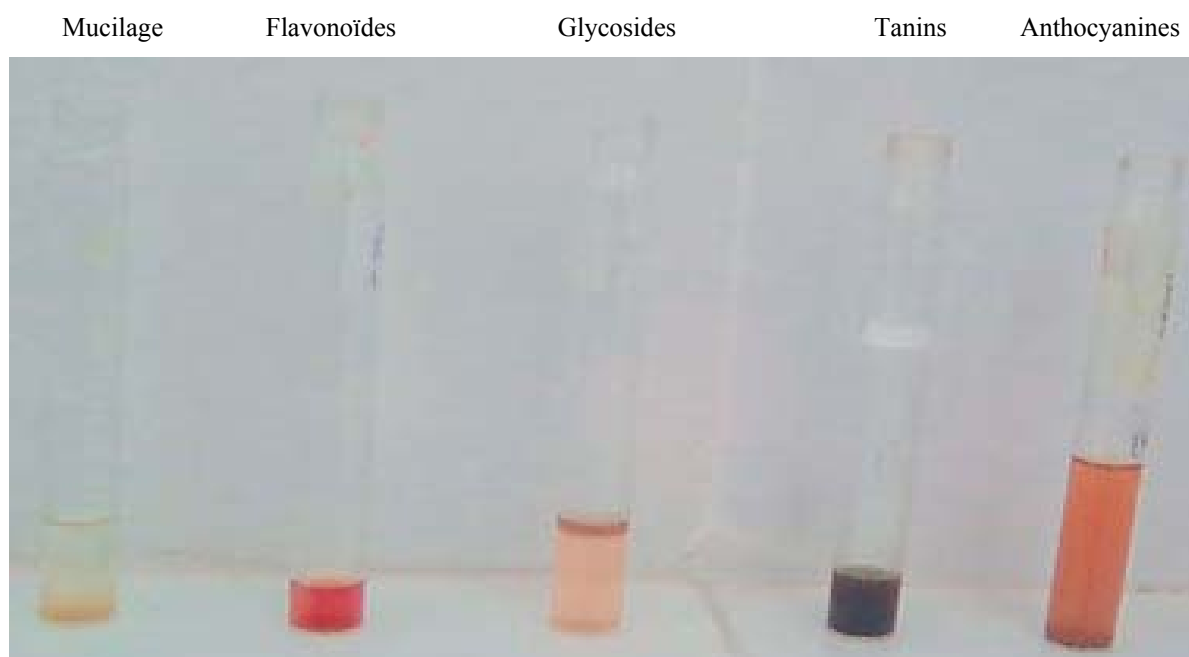


Figure n°11: Résultats screening phytochimique

D'après les résultats obtenus, nous remarquons la présence des flavonoïdes, des tanins en quantités importantes, la présence des Anthocyanines, Mucilages et des Glycosides et l'absence des Alcaloïdes

### 1.3 Analyse quantitative

#### 1.3.1 Dosage des polyphénols

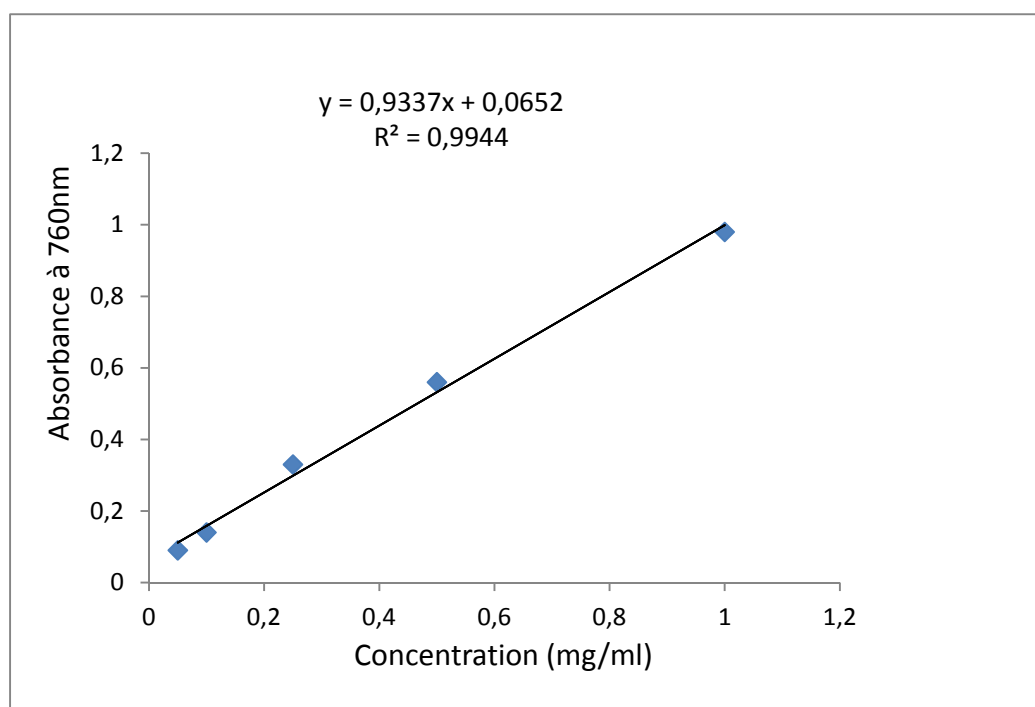
Après addition du réactif de Folin-Ciocalteu's, une couleur bleue est obtenue avec une intensité qui varie en fonction de la concentration de l'acide gallique (utilisé comme étalon).

La teneur en polyphénols est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EQ /g MS). Les taux des polyphénols des différentes phases ont été obtenus à partir de la courbe d'étalonnage.

La teneur en phénols totaux de l'extrait est de 26,10 mg EQ /g MS.

Nos résultats sont inférieurs à ceux de (Karim S and Touati S) (2016) qui ont utilisés l'eau distillé comme solvant d'extraction et ont trouvés :186 mg EAG/g de MS

La concentration en composés phénoliques est aussi influencée par la saison. Selon Toor et al. (2006), la lumière stimule la biosynthèse des polyphénols chez les plantes par l'amplification de certaines activités enzymatiques dont l'activité de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) qui joue un rôle important dans la conversion de la phényl-alanine (formée par la voie de shikimate) en acide coumarique, qui est une molécule impliquée dans la synthèse des composés phénoliques.



**Figure n°12:** La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

### 1.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) et l'étalon été la catéchine.

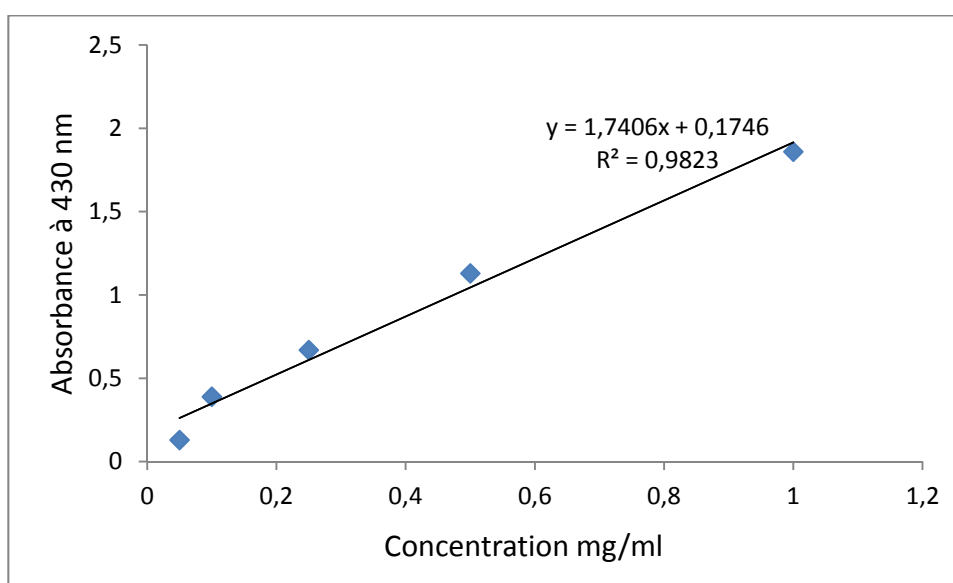
Une coloration jaunâtre a été obtenue dont l'intensité est proportionnelles à la concentration de l'extrait de la plante ce qui confirment la présence des flavonoïdes dans l'extrait des feuilles de l'Oléastre.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g de MS).

Les taux des flavonoïdes des différentes phases ont été obtenus à partir de la courbe d'étalonnage réalisé à la catéchine. La teneur en flavonoïde de l'extrait est de 6,68 mg EC /g MS.

Bouabdallah (2014) a rapporté des teneurs plus faibles en flavonoïdes dans les trois mélanges de solvants aqueux, hydrométhanolique et hydroacétonique, 46.03 mg CEQ/100 g, 99.49 mg CEQ/100 g, 79.23 mg CEQ/100 g respectivement. On déduit que le taux des flavonoïdes est influencé par la nature du solvant d'extraction.

Il existe une corrélation linéaire significative entre la teneur des extraits en flavonoïdes et en composés phénoliques. Ceci est logique étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols.



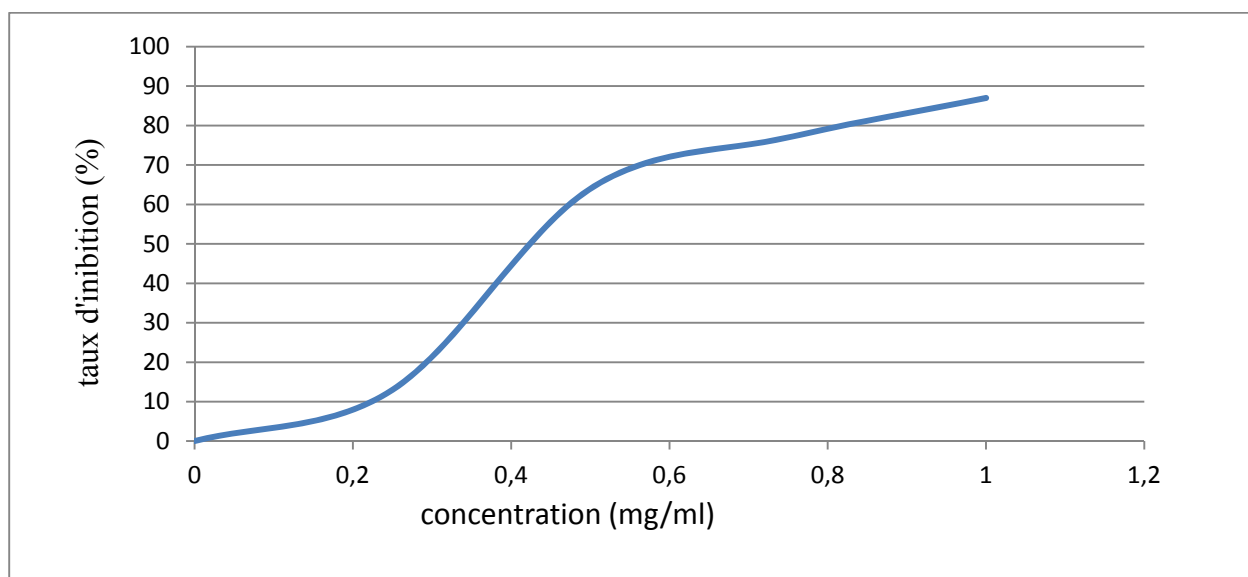
**Figure n°13:** La courbe d'étalonnage de la catéchine

## 2. Activités biologiques

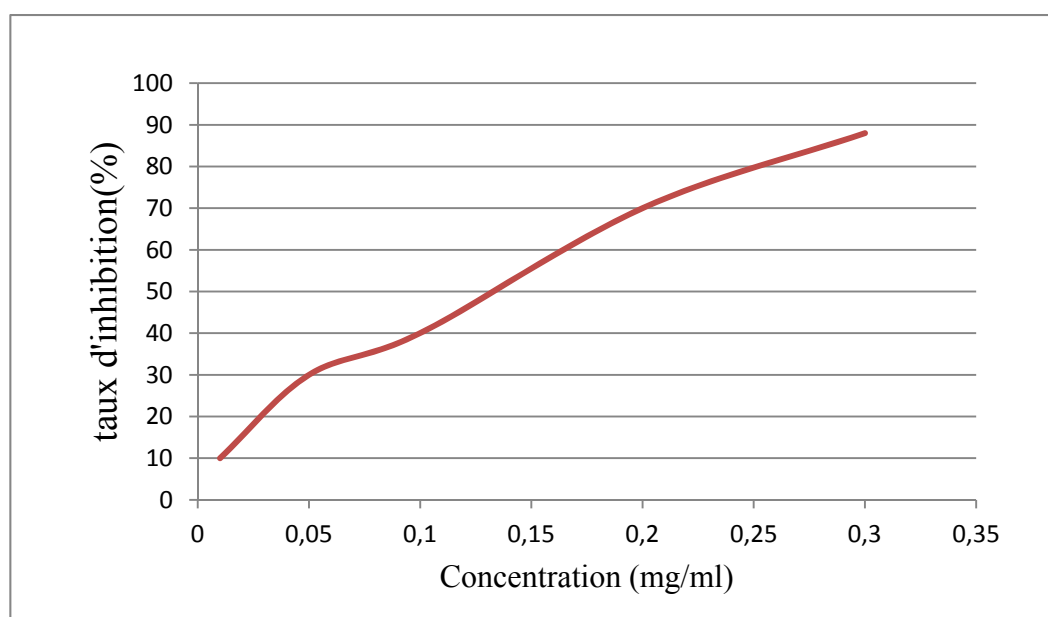
### 2.1 Activité antioxydante

Les résultats de l'activité antioxydante ont montré un pouvoir antiradicalaire de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de l'olivier sauvage vis-à-vis de DPPH proche que celui de la vitamine c. Les polyphénols sont des antioxydants puissants capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules.

On remarque, que le pouvoir antiradicalaire augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. En effet, pour 1 mg/ml, l'extrait hydroéthanolique a atteint un pourcentage d'inhibition de 87%.



**Figure n°14 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique




**Figure n°15:** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique

## 2.2. Activité antimicrobienne

- L'extrait éthanolique des feuilles d'oléastre a été testés sur 5 souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *enterobacter cloacae*, *Candida albicans* (levure)
  - l'évaluation de l'activité antibactérienne in-vitro a été mis en évidence par la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques) ;
- Nous avons remarqué que la croissance des colonies de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* est inhibée par l'extrait
- Cependant, nous n'avons pas constaté d'inhibition pour *enterobacter cloacae* et *Candida albicans* (levure)


**Tableau n°6 :** Activité antibactérienne de l'extrait d'oléastre (*Staphylococcus aureus* )

Concentrations	Après 24 H dans l'étuve à 37°	Diamètres (mm)
[50%]		2
[100%]		5

**Tableau n°7** : Activité antibactérienne de l'extrait d'oléastre (*Pseudomonas aeruginosa*)

Concentrations	Après 24 H dans l'étuve à 37°	Diamètres (mm)
[50%]		2
[100%]		6

**Tableau n°8** : Activité antibactérienne de l'extrait d'oléastre (*Escherichia coli*)

Concentrations	Après 24 H dans l'étuve à 37°	Diamètres (mm)
[50%]		3
[100%]		7

Nous avons constaté une légère diminution de croissance des germes avec un diamètre d'inhibition inférieur à 10mm.

En conclusion, l'extrait hydroéthanolique de *Olea europea L sylvestris* a un effet bacteriostatique sur *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.



# Conclusion et perspectives

Les dernières décennies sont marquées par l'intérêt particulier porté à la mise en valeur des plantes à intérêt médicinale comme source de substances bioactives naturelles. De ce fait, notre étude s'intéresse à l'identification phytochimique de l'extrait ethanologique des feuilles d'*Olea europea* var *sylvestris* et ses activités antioxydantes et antimicrobiennes. Les résultats de cette étude ont mis en évidence la présence de flavonoïdes, de tanins en quantités importantes et la présence des Anthocyanines, Mucilages, et des Glycosides, Cependant, les alcaloïdes ont été absents. L'analyse quantitative de l'extrait, a montré des résultats appréciables pour le dosage des polyphénols totaux (26,10 mg EQ /g MS) et des flavonoids (6,68 mg EC /g MS). L'activité antioxydante de cet extrait s'est avérée aussi importante que celle de l'acide Ascorbique (Pour une concentration de 1 mg/ml l'extrait hydroéthanologique à atteint un pourcentage d'inhibition de 87%). Ce qui montrent clairement que les polyphénols extraits de la feuille d'olivier sont des vrais concurrents de l'acide ascorbique et autres puissants antioxydants. De plus, ils ont l'avantage d'être d'origine naturelle. Nous avons aussi noté une activité bactériostatique de l'extrait d' *Olea europea* L *sylvestris* sur *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* avec des diamètres d'inhibition de 5,6 et 7 mm respectivement ce qui montre sa richesse en substances chimiques et qui pourraient représenter une nouvelle source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique. Ces résultats restent préliminaires et ne constituent bien évidemment qu'une première étape de recherche. Des études complémentaires, précises et approfondies, seraient nécessaires, qui se résument dans les points suivants :

- Réaliser une étude phytochimique approfondie qui consiste à la purification, l'identification, et la caractérisation des principes actifs par des techniques chromatographiques et spectrales ;
- L'évaluation d'un profil anti-oxydant global nécessite par conséquent d'avoir recours à des tests mettant en jeu différents types de radicaux libres oxygénés (RLO) et différents types de radicaux libres. Le développement de méthodes spécifiques pour chaque source de radical s'avère dès lors intéressant. Pour mieux évaluer le pouvoir antioxydant des extraits des feuilles d'olivier, des études similaires in vivo sur des modèles animales seraient intéressantes et plus prometteuse ;
- Evaluation d'autres activités biologiques, dont l'activité antimicrobienne, antifongique, antidiabétique, antitumorale ... et autres ;

- Des études cliniques réalisées chez l'Homme seront nécessaires pour révéler l'un intérêt thérapeutique des polyphénols extraits des feuilles d'olivier. Toutefois, de nombreuses études fondamentales seront encore nécessaires pour comprendre les mécanismes d'action et les effets au niveau cellulaire et intégré de ces composés.

En revanche, les systèmes technologiques industriels peuvent donc exploiter les feuilles d'olivier en tant que matière première très riche en polyphénols, afin de les employer à la place des antioxydants synthétiques dangereux.

# Références bibliographiques

- Alcantara J.M. and Rey P.J. (2003).** Conflicting selection pressures on seed size: evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16: 1168-1176.
- Amouretti M.C. et Brun J.P. (1993).** Olivier et huile dans l'antiquité : découverte archéologique récente. Colloque Aix-Toulon, Sup. 26, BCH, Athènes Paris.
- Ardestani A, Yazdanparast R (2007)** Flavonoids as potential therapeutic agents for type 1 diabetes. *Med Hypotheses* 69:4–955
- Baradez J., 1949.** Fossatum Africae. Recherches aériennes sur l'organisation des confins sahariens à l'époque romaine. Arts et Métiers Graphiques Paris, France, pp. 24-29.
- Barbery J., Delhoume J.P., 1982.** La voie romaine de piedmont Sufetula-Mascliana (Djebel Mrhila, Tunisie centrale) ». *Antiquités Africaines*, 18: 27-43.
- Benhayoun G. et Lazzeri Y (2007)** L'olivier en Méditerranée : du symbole à l'économie. Editions L'Harmattan. Paris, - p137. PP17.
- Besnard G., Breton C., Baradat P., Khadari B., Bervillé A., 2001.** Cultivars identification in the olive (*Olea europaea* L.) based on RAPDS. *J. Amer. Hort. Sci.*, 126: 668-675.
- Bouabdallah Adel., (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen
- Boucher, Ch., Yves, D., Chaux, D et Nestlé, S. (2011).** Guide des arbres et arbustes de méditerranée. Paris, 291p.
- BOUDJOUREF M.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbas, Setif. 2011.9\_28
- Breton C., Médail F., Pinatel C. and Bervillé A. (2006).** De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le bassin méditerranéen. *Cahiers Agriculteurs*, 15 (4) : 329-336.
- Camps-Fabrer H., 1974.** L'olivier et son importance économique dans l'Afrique antiqueromaine. *Options Méditerranéennes*, 24: 21-29.
- Carrion, Y., Ntinou, M. et Badal, E. (2010).** *Olea europaea* L. in the North Mediterranean Basin during the Pleniglacial and the Early–Middle Holocene. *Quaternary Science Reviews*, 29 : 952–968
- Chevalier, A. (1948).** L'origine de l'Olivier cultivé et ses variations. *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale* 28, 1–25.

- Chiappetta, A., and Muzzalupo, I. (2012).** Botanical Description. In Olive Germplasm - The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy, I. Muzzalupo, ed. (InTech).
- Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. LWT. 39:756-761.
- Claridge, M.F., Walton, M., (1992).** The European olive and its pests-management strategies. BCPC 52, 3–12.
- COI, (2013).** Conseil oléicole international
- Connor D-J. et Fereres E., (2005).** The physiology of adaptation and yield expression in olive. Hort. Rev. 34, p: 155-229.
- Debray, M., Jacquemin, H., Razafindrambo, R. (1971).** Travaux et documents de l'Orstom. (Paris, N°8).
- De Candolle A., 1883.** L'origine des plantes cultivées. Baillièrè (Ed.), Paris, France
- Durand A. and Terral J-F. 2005.** Regarder autrement le charbon de bois archéologique: l'exemple de l'irrigation des plantations d'oliviers en France méridionale et en Catalogne (IXe-XVe siècle). "Archéologie du Midi Médiéval 23-24 ; 75-92
- Fiorino P., Nizzi G.F., 1992.** La oleicultura y su expansión in olivae. (éd) Espagnole, 44: 9.
- Ghanbari Rahele, Farooq Anwar, Alkharfy Khalid M, Gilani Anwarul-Hassan and Saari Hayes J.E., Allen P, Brunton N., O'Grady M.N., Kerry J.P. 2011** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. Food Chemistry 126 ; 948–955.
- Girodon F., Blache D., Monget A.D., Lombart M., Brunet-Lecompte P., Arnaud J., Richard M.J. & Galan P., (1997).** Effect of a two-year supplementation with low doses of antioxidant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters. J Am Coll Nutr 16: 357-365.
- Karumi, Y; Onyeyili, P.A; Ogugb uaja, V.O; (2004).** Identification of active principales of balsamina (Balsam apple) leaf extract. J. Med. Scien. 4: 179-182
- Nazamid. (2012 ).** Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.)—A Review. Int. J. Mol. Sci.; 13, 3291-3340
- Ghedira K., (2008).** L'olivier. Phytothérapie. 6, p: 83-89
- Green P.S. 2002.** A revision of *Olea*. (*Oleaceae*). Kew Bulletin, 57: 91-140.
- Huang, C.L.; Sumpio, B.E. (2008).** Olive oil, the Mediterranean diet, and cardiovascular health. J. Am. Coll. Surg. 207,; 407–416.
- Loussert R. Brousse G., 1978.** L'olivier. Techniques agricoles et productions méditerranéennes. (Eds.) Maisonneuve et Larousse, Paris, France, 480 p.

- Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R. 2003.** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 77-82.
- Mendil M. et Sebai A., 2006.** L'olivier en Algérie. ITAF, Alger, Algérie, 99 p.
- Mulas M. and Deidda P. 1998.** Domestication of woody plants from Mediterranean maquis to promote crops for mountain lands. Acta Horticulturae 457: 295-301.
- Pagnol, J. (1975).** L'olivier .4 édition, 18p.
- Perrinjaquet-Moccetti T, Busjahn A, Schmidlin C, Schmidt A, Bradl B and Aydogan C. (2008).** Food supplementation with an olive (*Olea europaea* L.) leaf extract reduces blood pressure in borderline hypertensive monozygotic twins. Phytotherapy Research, 22, ; 1239-1242.
- Polese, J. M. (2012).** Olivier. Edition Artémis, 95P
- Polzonetti V., Egidi D., Vita A., et al. (2004).** Involvement of oleuropein in digestive metabolic pathways. Food Chemistry. 88, ; 1-15.
- Spennemann D.H.R. and Allen R. 2000.** From cultivar to weed: The spread of olives in Australia. Olivae, 82: 44-46.
- Toor R. K., Savage G. P. et Lister C. E. (2006).** Seasonal variations in the antioxidant composition of greenhouse grown tomatoes. Journal of Food Composition and Analysis, 19:1-10.
- Vermerius W and Nicholson R. (2006) .** Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht, ISBN:101- 4020-5163-8.
- Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z, Madar Z. 2013** Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. Natural medicine ; 01-477
- Zohary D., Spiegel R.P., 1975.** Beginnings of fruit growing in the old world.Science, 187: 319-327

## DOCUMENTS ELECTRONIQUES

[www.itafv.dz](http://www.itafv.dz)

<http://powo.science.kew.org>

[www.olivierdeprovence.com](http://www.olivierdeprovence.com)

[www.masantenaturelle.com](http://www.masantenaturelle.com)

[www.jardiner-malin.fr](http://www.jardiner-malin.fr)

[www.afidol.org](http://www.afidol.org)

[www.doc-developpement-durable.org](http://www.doc-developpement-durable.org)

[www.commonswikimedia.org](http://www.commonswikimedia.org)

[www.hippocratus.com](http://www.hippocratus.com)

[www.cat.inist.fr](http://www.cat.inist.fr)

[www.mdidea.com](http://www.mdidea.com)



# Annexes

### **Annexe 1 : Matériel de laboratoire**

#### **-Appareillages et matériels**

- Etuve.
- Balance de précision.
- Mortier et pilon.
- Agitateur.
- Bain marie.
- Verrerie: béchers, pipettes, micropipette, éprouvettes graduées, tubes à essais, entonnoir, erlenmeyers, flacons.
- Support, spatule, papiers filtres , boites de petri
- Spectrophotomètre
- Autoclave
- Bec Benzène
- Pince stérilisée
- Disques vide stériles

#### **-Solvants et réactifs :**

- Réactif de Folin-Ciocalteu , Réactif de Mayer préparé (voir annexe), réactif de Wagner ,DPPH
- HCl , AlCl<sub>3</sub>, NaOH, NaNO<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub> , Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> , CHCl<sub>3</sub> , Mg , H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> , eau distillée, éthanol.
- Milieu de culture : Mueller-Hinton , gélose nutritive

**Annexe 2** : Rendement et teneur et de l'extrait brut en polyphénols et flavonoïdes totaux

<b>Extrait</b>	<b>Rendement (%)</b>	<b>Teneur (EQ /g MS)</b>
<b>Polyphénols</b>	<b>14.33</b>	<b>26.10</b>
<b>Flavonoïdes</b>	<b>3.67</b>	<b>6.68</b>