

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA 1



Faculté des sciences de la nature et la vie

Département de biotechnologie

Mémoire

Présenté Pour l'obtention du Diplôme de master en biotechnologie

Option : biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et des produits naturels.

Thème :

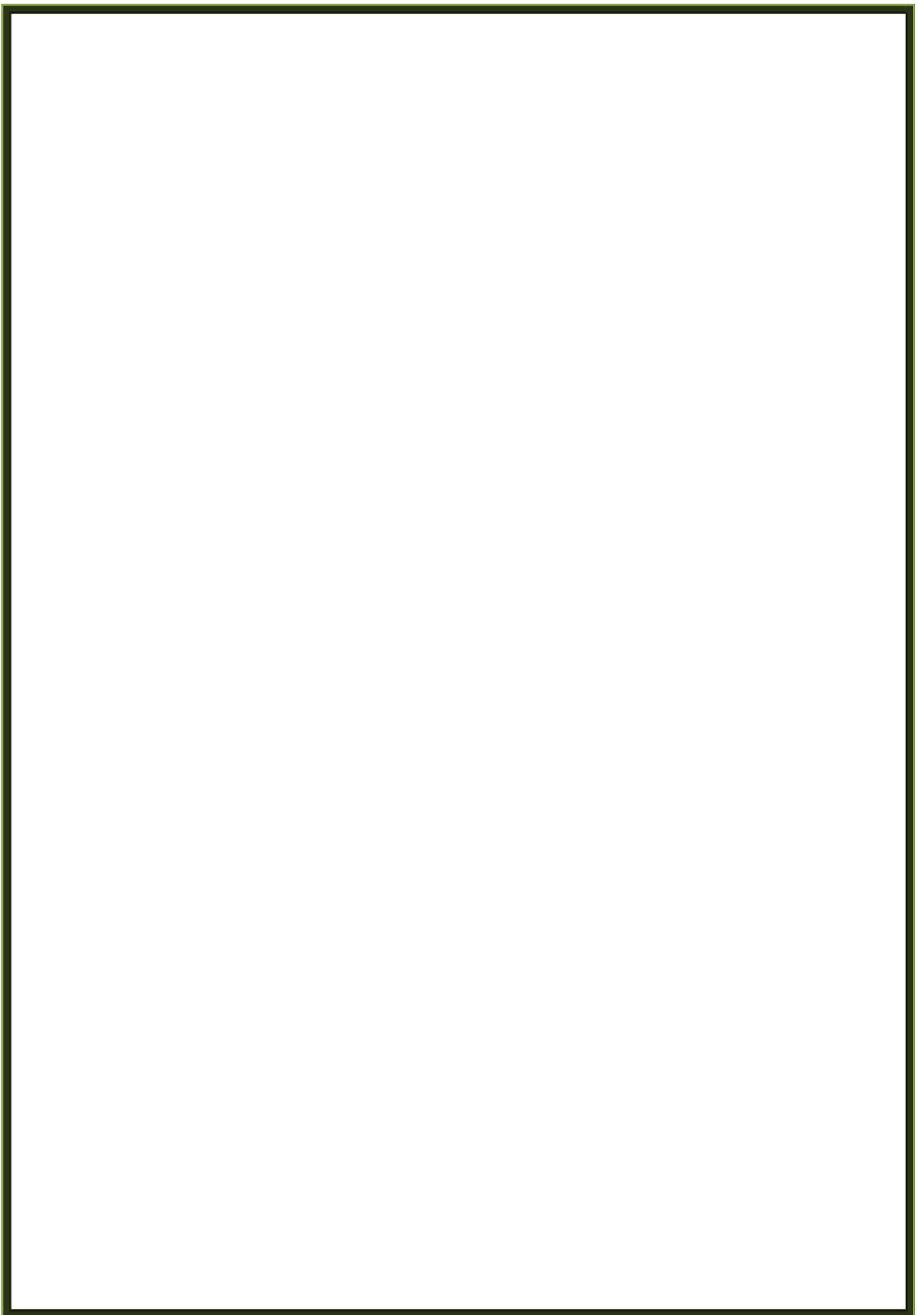
**Evaluation de l'activité biologique des extraits
polyphénoliques de feuilles d'*Olea europea*
*var .oleaster***

Présenté par : *Ibrir Nabila*

Jury

Mme Houmani.	Pr	Présidente	U.S.D.B
Mr Bendali.A	M.A.A	Examineur	U.S.D.B
Mme Ayachi.N	M.A.A	Examinatrice	U.S.D.B
Mme Belguendouz.R	M.C.B	Promotrice	U.S.D.B

Année universitaire : 2014/2015



Dédicace

Je dédie ce mémoire :

*A mes chers parents, pour leur amour, leur soutien et tous leurs
sacrifices ;*

A ma fierté, ma chère sœur Afaf ;

A mon bien aimé, mon frère Riyadh et sa femme Manel ;

A toute ma famille ;

A mes très chers amis ;

*A toute personne qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un
encouragement ;*

Je dis « Merci »

Nabila.

Remerciements

Je remercie tout d'abord **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont :

Je tiens à remercier infiniment mon encadreuse Mme **Belguendouz.R**, maitre de conférences B à L'Université de Blida pour sa sympathie, son soutien et son expérience qui m'ont été particulièrement précieux au cours de la réalisation du thème et de mon master. Merci pour votre orientation et la confiance que vous m'avez accordée tout au long de ce parcours.

A Mme. **Houmani.Z**, Professeur à l'Université de Blida et responsable d'option, qui m'a accueilli au sein de son laboratoire. Je lui témoigne ma profonde reconnaissance, pour ses précieux conseils, ses orientations bienveillantes et ses encouragements toute au long de ma spécialité.

Je me fais un agréable devoir de remercier vivement les membres de jury pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail et d'en être les rapporteurs.

Je remercie Mr **Bendali .A**, Maitre de conférences à l'université de Blida, de m'avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail, merci pour votre qualité d'enseignement.

Je remercie infiniment Mme **AYACHI .N**. de m'avoir permis d'effectuer une partie de mon stage au sein de laboratoire du CRD, pour m'avoir dirigé, pour sa disponibilité, sa gentillesse, ses explication.

Je remercie également tous les enseignants qui nous ont assuré les cours de master tout au long de ces trois semestres, Merci pour votre disponibilité et encouragements.

Je tien vivement à remercier toute l'équipe du laboratoire central de l'hôpital franz-fanon, Dr.**Mahfod**, DR.**Arezki** et les ingénieurs du laboratoire qui m'ont été d'une grande aide.

Je profite de cette page pour dire merci à mes proches et ma famille qui ont toujours Été là quand ça n'allait pas, a Lokman, merci d'exister, tout simplement...

Au terme de ce travail, j'aimerais pouvoir remercier tous ceux qui de loin ou De près m'ont apporté leurs amours et leurs encouragements. Un spécial remerciement a **Barghout .N**.

Merci

Résumé

Le présent travail a porté sur l'extraction des polyphénols des feuilles d'olivier spontané (*Olea europea var oleaster*) récoltées de deux régions différentes 'Chrea et Soumaa et cela durant deux périodes (novembre à décembre) et (février à mars) afin de déterminer les facteurs influençant la richesse en composé phénoliques et, l'évaluation de leurs effets thérapeutiques (antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobienne).

La teneur et le rendement des feuilles d'olivier sauvage dépendent de la région et de l'altitude et de la période de l'année. La teneur en période de (novembre à décembre) de la région de Chrea (0,916 EAG /g), est supérieure à celle de de la région de Soumaa (0,463 EAG/g), cependant en période de (février à mars) la région de Soumaa (0,48EAG/g) est supérieure à celle de la région Chrea (0,09EAG/g). Ces polyphénols ont provoqué un taux de réduction significatif de l'œdème avec 42,33% pour la région de Soumaa et 40,09% pour la région de Chraa en première période. Ces taux sont plus élevés que ceux provoqué par le produit de référence (Diclofinac®) (38,72%).

Par ailleurs, l'activité antioxydante des extraits polyphénoliques des feuilles de l'olivier spontané a montré un excellent pouvoir antioxydant, supérieur à celui de la vitamine C. En outre, une faible activité antimicrobienne a été notée au cours de cette étude avec ces extraits polyphénoliques des deux régions.

Mots clés : *Olea europea var oleaster*, polyphénols totaux, composition chimique, activité anti-oxydante, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne.

Summary

This work focused on the extraction of polyphenols of spontaneous olive leaf (*Olea europea oleaster*) harvested from two different regions 'Chrea, high atlases of Blida' and 'Soumaa low atlas of Blida' and that during two periods (1st period: November to december) and (2nd period: February to March) for the purpose of determining these factors (climate influence the wealth of phenolic compound of spontaneous olive leaf, and evaluation of therapeutic effects of these phenolic compounds where we treated antioxidant activity, anti-inflammatory activity and antimicrobial activity).

The results show that the content and yield of wild olive leaves of the first period Chrea region (0.916 EAG / g) is greater than that of the region Soumaa first period (0.463 EAG / g) and the 2nd period of the Soumaa region (0,48 EAG / g) is greater than that of the region Chrea 2nd period (0,09EAG / g). It also shows a significant reduction rate of edema with 42.33% for Soumaa region, first period and 40.09% for the Chrea region first period respectively and the results are even higher than the rate of reduction marked by the reference product (diclofinac®) 38.72%.

Moreover, the results of antioxidant activity showed an excellent anti-radical power of methanol extracts of the leaves of the wild olive tree. In addition, low antimicrobial activity was noted during this study with the extracts of the leaves of the olive tree spontaneous of Chrea region and Soumaa.

Key words: *Olea europea var oleaster*, total polyphenols, chemical composition, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity.

ملخص

العمل الحالي يهدف الى استخلاص المادة الفينولية من أوراق الزيتون البري (*Olea Europea Var Oleaster*) التي تم جمعها من منطقتين مختلفتين " جبال الشريعة والصومعة "، وهذا على امتداد فترتين [نوفمبر- ديسمبر] و [فبراير الى شهر مارس]، وذلك لتحديد العوامل المؤثرة في المستخلصات الفينولية، وتقيم تأثير هذه الأخيرة في عدة نشاطات بيولوجية.

مردود مستخلصات أوراق الزيتون البري يرجع الى الفترة والمنطقة في فترة (نوفمبر – ديسمبر) لمنطقة الشريعة (0,916 EAG/ g) مرتفعة بالنسبة لمنطقة الصومعة (0,463 EAG/g)، لكن في الفترة الممتدة من (فبراير – مارس) منطقة (0,48 EAG/g) مرتفعة مقارنة بمنطقة الشريعة (0,09 EAG/g)، هذه المستخلصات الفينولية تثبت في انخفاض يعتبر الورم بنسبة (42.33 %) لمنطقة صومعة و (40.09 %) لمنطقة شريعة لفترة الأولى.

هذه النسب مرتفعة مقارنة مع مادة (diclofinac ®) (38.72 %) من ناحية أخرى، نشاطات التأكسدية لهذه المستخلصات الفينولية لأوراق الزيتون البري، أظهرت قدرة عالية مقارنة مع فيتامين س , من جهة أخرى تم ملاحظة نشاط ضعيف في نشاط المضاد للبكتيريا مع هذه المستخلصات الفينولية لكنتي المنطقتين.

مفتاح الكلمات: *Olea Europea Var Oliaster* – فينول- محتوى كيميائي – نشاط مضاد للالتهاب – مضاد للمكروبات.

Sommaire

Résumé

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction... ..1

Chapitre I : Etude de la plante

1 .Historique, répartition et classification :

1.1. Historique.....3

1.2. Aire de répartition3

1.3. Classification botanique de l'olivier5

2. Aspect Morphologique.....5

2.1. Feuilles.....6

2.2. Fleurs.....7

2.3. Fruits7

2.4.Racines.....8

3.Sous-espèces.....9

4.Cycle végétatif..... 10

5. Exigences pédoclimatiques de l'olivier..... 11

5.1. Le climat11

5.1.1. Les températures.....11

5.1.2. La pluviométrie.....11

5.1.3. L'hygrométrie.....11

5.1.4. La lumière.....	12
5.1.5. Le vent.....	12
5.1.6. Le Sol.....	12
6. Olivier sauvage : (<i>Olea europea var sylvestris</i>)	
6.1 .Généralités.....	13
6.2.Classification.....	14
6.2 .1.Noms vernaculaires.....	14
6.3.Répartition géographique.....	15
6.4.Description botanique.....	16
6-5.Composition chimique de l'oléastre.....	16
6.6.Principaux constituants des feuilles d'olivier.....	17
7. Usage thérapeutique.....	18
7-1.Médicaments à base de feuille d'olivier.....	18
7.2. Propriétés pharmacologiques de la feuilles d'olivier.....	18
7.2.1.Activité antioxydante.....	18
7.2.2.Activité anti-inflamaatoire.....	20
7.2.3.Activité antimicrobienne.....	20
Chapitre II : Métabolites secondaires	
1. Généralités.....	20
1.1. Les composés phénoliques	21
1-1.1.Tanins.....	21
1.1.2 Quinones.....	22
1.1.3 Coumarines.....	22

1.1.4 Flavonoïdes.....	22
1-2.Les composés azotés.....	22
1.2.1. Alcaloïdes.....	22
2. Activité biologiques des polyphénols.....	23

CHAPITRE III : Matériel et Méthodes

1.Présentation de site d'étude.....	25
2.Materiel	26
2.1.Materiel biologique	26
2.1.1.Materiel végétal.....	26
2.1.2.Materiel microbiologique	26
2.2.Materiel non biologique	26
3. Methodes de travail.....	26
3.1. lieu de travail.....	26
3.2. Préparation de la poudre	26
3.3.Methode d'extraction et dosage des polyphénols (PP).....	27
3.3.1.Extraction	27
3.3.2.Détermination du rendement.....	29
4. Activité anti-inflammatoire.....	30
4.1. Principe.....	30
4.2. Protocole expérimentale.....	30
5. Evaluation de l'activité anti-oxydante	32
5.1. Expression de Résultats	33

6. Evaluation de l'activité antimicrobienne	34
6.1. Isolement des colonies	34
6.2. Préparation de l'inoculum.....	34
6.3. Préparation de disques.....	34
6.4. Préparation de milieu de culture.....	34
7. Analyse chromatographique par HPLC : (chromatographie en phase liquide à haute performance)	35

Chapitre IV: Résultats et discussions

1. Résultats	36
1.1 Détermination du rendement des extraits en polyphénols.....	36
1.2. Détermination de la teneur des feuilles en polyphénols totaux (PPT).....	37
1.3 Composition chimique.....	38
1.3.1. Analyse chromatographique par HPLC: (chromatographie en phase liquide à haute performance).....	38
1.4. L'activité anti-oxydante par le Piégeage du radical libre DPPH.....	41
1.5. Activité anti-inflammatoire.....	44
1.6. Activité antimicrobienne.....	47
CONCLUSION	49

Référence bibliographique

Annexe

Liste des figures

Figure 01 : carte oléicole mondiale	3
Figure 02 : Olivier	5
Figure 03 : Feuilles d'Olivier.....	6
Figure 04 : Fleurs d'Olivier.....	7
Figure 05 : Fruit d'Olivier.....	8
Figure 06 : Les limites de l'olivier sauvage et la distribution moderne de la production d'olive dans la région Méditerranéenne.....	15
Figure 07 : Oléastre.....	16
Figure 08 : Schéma explicatif de l'effet protecteur des polyphénols de l'huile d'olive contre les radicaux libres.....	19
Figure 09 : Effets biologiques des polyphénols.....	24
Figure 10 : Situation géographique des zones d'échantillonnage.....	25
Figure 11 : protocole d'extraction des polyphénols et leur utilisation.....	28
Figure 12 : Gavage des souris à l'aide d'une seringue - Injection de la solution de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche des souris - coupure des pattes postérieures.....	31
Figure 13 : protocole expérimental de l'activité antioxydante.....	33
Figure 14 : Présentation du rendement des polyphénols totaux chez l'olivier spontané selon la région et la période.....	37
Figure 15 : Présentation de la variation des teneurs en polyphénols totaux (PPT) chez les feuilles d'olivier spontané selon la région et la période. [g EAG/g].....	38
Figure 16 : Pourcentage d'inhibition pour l'échantillon (1^{ERE} p-R ₁) et la vitamine C.....	42

Figure 17: Pourcentage d'inhibition pour l'échantillon (2 ^{EmE} p-R _I) et la vitamine C.....	42
Figure 18: Pourcentage d'inhibition pour l'échantillon (1 ^{ere} p-R _{II}) et la vitamine C.....	43
Figure 19 : Pourcentage d'inhibition pour l'échantillon (2 ^{eme} p-R _{II}) et la vitamine C.....	43
Figure 20 : pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les lots traité.....	45
Figure 21 : Effet anti-inflammatoire des polyphénols, action sur les molécules d'adhésion endothéliales.....	46

Liste des tableaux

Tableau I : Cycle végétative de l'olivier.....	10
Tableau II : principaux constituants des feuilles d'olivier.....	17
Tableau III : présentation des microorganismes étudiés	26
Tableau IV : Rendement en polyphénols totaux des feuilles de <i>Olea europea</i> var.oléastre...36	
Tableau V : Principaux composés contenus dans les polyphénols totaux des feuilles d'olivier spontané de différentes régions.....	40
Tableau VI : diamètre des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes traitées par les quatre extraits polyphénoliques de feuilles d'oléastre.....	47

Durant ces dernières années, une recrudescence d'intérêt est à remarquer concernant les effets biologiques des plantes dans la lutte contre différentes pathologies. La nature constitue un immense gisement de molécules actives d'origine végétale, et les ressources de la flore sont loin d'être totalement inventoriées et explorées. Dans le monde entier, on continue aujourd'hui à rechercher des plantes susceptibles d'être utilisées comme base de nouveaux traitements.

L'olivier (*Olea europae* L., Oléacées), arbre dont la culture millénaire est traditionnelle dans le bassin méditerranéen, est symbolique de paix et de fécondité. Son fruit, son huile et ses feuilles fournissent d'innombrables bienfaits dans la prévention de plusieurs maladies telles que l'athérombose, le cancer, l'hypertension artérielle (Ghedira, 2008). Ses utilisations sont nombreuses et reconnues : dans le domaine de la nourriture pour la préparation culinaire des plats délicieux, dans le domaine de phytothérapie comme antigrippale contre la toux et le rhume, dans le domaine du chauffage et l'éclairage, dans le domaine de cosmétologie et en parfumerie pour le soin de la peau, les cheveux et les dents (Goodyer, 2000) et aussi pour la décoration (arbre ornementale, fabrication des produits artisanales) etc. (Gut, 2008).

L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans doute la production de l'huile d'olive. 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. L'olivier est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques. (Bisignano, 1999)

En Algérie, l'olivier est largement utilisé par les populations locales. Les propriétés médicinales de l'olivier sont surtout attribuées aux feuilles. L'utilisation de ces dernières en phytothérapie par la population locale se fait à l'état naturel (infusion ou décoction).

Certains composés phénoliques extraits à partir de feuilles d'olivier par diverses méthodes, tels que l'extraction solide-liquide traditionnelle ou assistée par ultrasons ou bien par solvant pressurisés ont fait l'objet de plusieurs recherches *in vitro* et *in vivo* afin de déterminer leurs effets biologiques.(Benlemlih, Ghanam, 2012).

Jusqu'à présent, les diverses activités biologiques de l'oleuropéine et hydroxytyrosol, les principaux composants actifs dans la feuille d'olivier, ont été identifiés dans plusieurs études. L'oleuropéine a été signalé comme étant un agent antimicrobien, vasodilatateur hypoglycémiant, hypotenseur, anti-inflammatoire, antirhumatisme, anti-athérogène et antipyrétique. Beaucoup de ces caractéristiques pharmacologiques sont dus à son action antioxydante. En outre, plusieurs études ont prouvé les propriétés antioxydantes, hypoglycémiantes, antithrombotiques, hypocholestérolémiantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes de l'hydroxytyrosol issu de l'hydrolyse de l'oleuropéine. (Benlemlih, Ghanam, 2012).

La valorisation de l'effet thérapeutique des extraits de feuilles *d'olea europea* est une des thématiques développées au laboratoire de recherche de Biotechnologies des Plantes Aromatiques et Médicinales (BPAM). Dans ce cadre plusieurs travaux ont abouti à montrer l'importance des polyphénols aussi bien de par leur quantité que de par l'importance de leurs propriétés biologiques, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne, activité antioxydante, notamment l'activité hypo-glycémiant (Daya, 2014).

Dans ce contexte, cette thématique a pour objectifs d'étudier la variation de la composition chimique et de quelques activités biologiques des polyphénols présents dans les feuilles de l'olivier spontané selon la région, l'altitude et la période d'échantillonnage.

Dans un premier temps le travail sera principalement axé sur une recherche bibliographique sur la description de l'olivier, la composition chimique et les travaux réalisés sur les activités biologiques de ses extraits.

En deuxième partie, la présentation du matériel et les méthodes de travail utilisés dans l'extraction des polyphénols totaux et l'évaluation des activités biologiques.

En fin et en troisième partie, nous présentons les résultats obtenus suivis de discussions et une conclusion.

1. Historique, répartition et classification

1.1. Historique

L'arbre est cultivé depuis le IV^e millénaire avant JC en Afrique du Nord, Phénicie et Syrie. Il se diffuse ensuite dans d'autres territoires de méditerranée orientale (Palestine, Égypte, Chypre) (BROTHWELL, 1969), grâce aux échanges commerciaux des Phéniciens. Les Grecs participent aussi à l'extension de l'aire oléicole avec leurs colonies d'Émilie et de Provence. L'olivier se répand donc au gré des grandes vagues civilisatrices. Les Romains permettent ensuite une grande extension des oliveraies et un essor des échanges d'huile d'olive apparaît une 1^{ère} spécialisation oléicole dans certaines provinces comme la Bétique (Andalousie) ou l'Apulie (Pouilles) (MAHBOULI, 1974).

1.2. Aire de répartition



Figure 01 : Carte oléicole mondiale (COI, 2013)

L'olivier est l'un des rares arbres qui occupent une place importante dans l'arboriculture fruitière méditerranéenne. Actuellement, il est considéré comme un élément majeur de l'économie agricole dans certains pays de cette région et surtout dans notre pays. Ses vertus nutritives et curatives ne sont pas à démontrer vu que son huile est utilisée en consommation directe, et aussi dans les domaines de la médecine et de la cosmétologie.

Dans le monde, l'olivier est considéré comme une espèce caractéristique de la région méditerranéenne car l'implantation des oliveraies en Europe méditerranéenne est limitée au Nord au 45^{ème} degré de latitude, limite imposée par les froids hivernaux et les fréquentes gelées printanières, c'est-à-dire qu'il ne dépasse pas le cap du Sud de la France, de la Yougoslavie, ainsi que certaines superficies des territoires de la Grèce, Portugal, et autres pays de la rive Nord de la méditerranée (LOUSSERT, et BROUSSE, 1978).

Dans la rive Sud de la méditerranée en Afrique du Nord, l'olivier n'est pratiquement plus cultivé au-delà du 30^{ème} degré de latitude, limite imposée par les rigueurs du climat présaharien vers le Sud (LOUSSERT, et BROUSSE, 1978).

Globalement, l'aire de répartition de l'olivier forme une bande étroite et relativement régulière le long des rivages Nord et Est de la Méditerranée, qui s'y interrompt au niveau de l'Egypte; couvre la région septentrionale de la Tunisie et de l'Algérie, s'étale enfin, largement au Maroc et dans la péninsule Ibérique en débordant sur une partie de leur façade atlantique, atteignant l'Archipel des Iles Canaries (LOUSSERT, et BROUSSE, 1978).

En Algérie, l'oliveraie se répartit sur trois zones oléicoles importantes : la zone de la région Ouest, représentant 31 400 hectares répartis entre 5 wilayas: Tlemcen, Ain Timouchent, Mascara, Sidi Belabes et Relizan. Cette zone représente 16,40 % du verger oléicole national (CHAUX, 2010).

La zone de la région centrale du pays, de loin la plus importante, couvre une superficie de 110200 hectares répartis entre les wilayas d'Ain Defla, Blida, Boumerdès, Tizi Ouzou, Bouira et Bejaia : cette zone représente 57,5 % du verger oléicole national.(Choux, 2010).

La région du centre, Kabylie (Bouira, Bejaia et Tizi-Ouzou) détient à elle seule près de 44% la superficie oléicole nationale, il s'agit surtout des vergers extensifs situés sur des sols à forte déclivité, ce qui constitue une contrainte à tout recours à l'intensification.(Sekour, 2012)

La zone de la région Est, est représentée par des oliveraies de 49900 hectares, représentant 26,1 % du patrimoine national, et répartis entre les wilayas de Jijel - Skikda – Mila et Guelma.(sekour, 2012)

Même avec ces superficies assez importantes et malgré l'importance du patrimoine oléicole, qui constitue 40 % du verger arboricole national, et qui occupe 2,5e la S.A.U du pays, cette culture ne participe pas suffisamment aux besoins de la consommation nationale en huile, car elle ne représente que 4 % des besoins en huile d'olive, de ce fait le recours aux importations massives d'huile à graines est important.(sekour, 2012)

1.3. Classification botanique de l'olivier

Comme le troène, le lilas et le frêne, l'olivier appartient à la famille des Oléacées qui compte parmi elle une vingtaine de genres différents. L'olivier est du genre *Olea* qui comprend une huitaine d'espèces dont l'*Olea Europaea* qui nous intéresse principalement. Celle-ci se divise en deux sous-espèces :

Olea Europaea Sylvestris ou *Oléastre*, c'est-à-dire l'olivier sauvage, et *Olea Europaea Sativa* ou l'olivier cultivé.(Zghidi hbaib, 2013)

2. Aspect morphologique

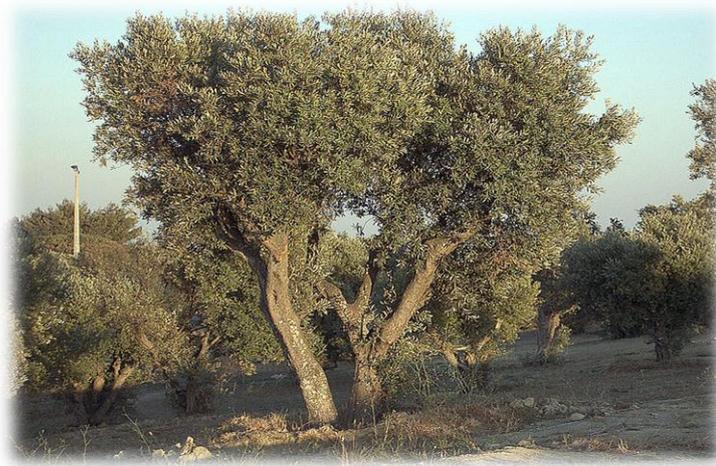


Figure 2 : Olivier.(Zghidi hbaib, 2013)

L'olivier est très rameux, au tronc noueux, au bois dur et dense, à l'écorce brune crevassée, il peut atteindre quinze à vingt mètres de hauteur, et vivre plusieurs siècles.

Cependant, sous l'action d'animaux de pâture, ou dans des zones extrêmement ventées, ou exposées aux embruns, il conserve une forme buissonnante, de défense, et maintient la forme d'une boule compacte et impénétrable, lui donnant l'aspect d'un buisson épineux. Dans

la plupart des modes de culture, les oliviers sont maintenus à une hauteur de trois à sept mètres afin de faciliter leur entretien et la récolte des fruits. (Zghidi hbaib, 2013)

2.1. Feuilles

Les feuilles sont opposées, ovales allongées, portées par un court pétiole, coriaces, entières, enroulées sur les bords, d'un vert foncé luisant sur la face supérieure, et d'un vert clair argenté avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure. Le feuillage est persistant, donc toujours vert, mais cela ne veut pas dire que ses feuilles sont immortelles. Elles vivent en moyenne trois ans puis jaunissent et tombent, principalement en été. 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, permettant ainsi la survie de l'arbre au détriment de la production fructi-florale. C'est grâce à sa feuille que l'olivier peut survivre en milieu aride. Quand il pleut, les cellules foliaires s'allongent pour emmagasiner l'eau. Et, en cas de sécheresse, les feuilles se rétractent et bloquent l'activité de photosynthèse au détriment des fruits. .(Zghidi hbaib, 2013)



Figure 3 : Feuilles d'Olivier.(Dr liagre, 2010)

2.2. Fleurs

Les fleurs sont blanches avec un calice, deux étamines, une corolle à quatre pétales ovales, et un ovaire de forme arrondie qui porte un style assez épais et terminé par un

stigmate. Cet ovaire contient deux ovules. Les fleurs sont regroupées en petites grappes de dix à vingt, poussant à l'aisselle des feuilles au début du printemps sur les rameaux âgés de deux ans. La plupart des oliviers sont auto-fertiles, c'est-à-dire que leur propre pollen peut féconder leurs propres ovaires.

La fécondation se fait principalement par l'action du vent et la période de fertilité ne dure qu'une petite semaine par année. S'il ne pleut pas trop durant cette période, 5 à 10 % des fleurs produiront des fruits pour une bonne production.



Figure 4 : Fleurs d'Olivier. (Herault, 2011)

2.3. Fruits

Le fruit, l'olive est une drupe, dont la peau (épicarpe) est recouverte d'une matière cireuse imperméable à l'eau (la pruine), avec une pulpe (mésocarpe) charnue riche en matière grasse stockée durant la lipogenèse, de la fin août jusqu'à la véraison. D'abord vert, il devient noir à maturité complète. Le noyau très dur, osseux, est formé d'une enveloppe (endocarpe) qui se sclérifie l'été à partir de la fin juillet, et contient une amande avec deux ovaires, dont l'un est généralement stérile et non-fonctionnel: cette graine (rarement deux) produit un embryon, qui donnera un nouvel olivier si les conditions sont favorables. (Zghidi hbaib,2013)

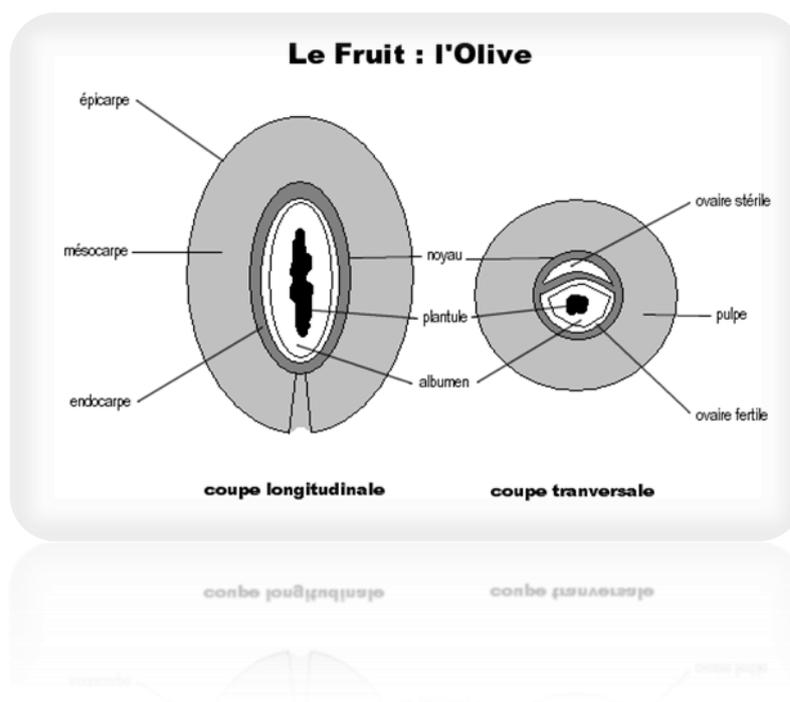


Figure 5 : Fruit d'Olivier.(Zghidi hbaib,2013)

2.4 .Racines :

Lors de la germination du noyau, le jeune plant développe une racine pivotante. Puis en croissant, l'olivier développe un système racinaire essentiellement peu profond 60 à 100 cm à développement latéral, dont les racines principales débordent peu l'aplomb du feuillage, alors que les racines secondaires et les radicelles peuvent explorer une surface de sol considérable. Le chevelu racinaire se limite en général au premier mètre de sol et est particulièrement développé dans les zones plus humides. Au-delà du premier mètre poussent des racines permettant l'alimentation de l'arbre en cas de sécheresse. Seules les radicelles émises au cours de l'année permettent l'absorption de l'eau. Les racines de l'olivier sont capables d'extraire de l'eau en exerçant une importante force de succion de l'ordre de - 25bars sur le sol, contre - 15 bars en général pour les autres espèces fruitières, lui permettant de prospérer là où d'autres se flétriraient. Pour limiter la concurrence hydrique entre les oliviers, l'espacement entre les arbres doit tenir compte des ressources en eau : la plantation sera plus rapprochée dans les oliveraies irriguées et plus espacée dans les vergers en culture pluviale soumis à la sécheresse.(Zghidi hbaib,2013)

3. Sous-espèces

L'olivier méditerranéen, *olea europaea* L. subsp. *Europaea* (Bassin Méditerranéen), est encore subdivisé en deux variétés, subsp. *europaea* var. *europaea* pour l'olivier domestique, et subsp. *europaea* var. *silvestris* (Mill.) Lehr pour l'oléastre, ou olivier sauvage. Cette subdivision est cependant discutable, divers travaux ont pu montrer l'absence de frontière entre les populations sauvages et les formes cultivées, aussi bien sur le plan génotypique que phénotypique (Zeghidi Hbaib, 2013).

Cependant, des travaux récents, publiés fin 2012, ont abouti à mettre en évidence, clairement, la différence entre l'Oléastre et l'Olivier cultivé (Zeghidi Hbaib, 2013).

Les travaux ont porté sur l'analyse anatomique fine comparée de charbons de bois archéologiques et de bois d'olivier cultivé carbonisés. La filiation de l'Olivier cultivé (*Olea europaea europaea europaea*) est claire : il descend de l'Oléastre (*Olea europaea europaea silvestris*).

4. Cycle végétatif

Tableau I : Cycle végétative de l'olivier.

Phases Végétatives	Début	durée	manifestations
<i>Repos végétatif</i>	décembre-janvier	1-3 mois	Activité germinative arrêtée ou ralentie
<i>Introduction florale</i>	février	-	Les fruits se développeront sur le bois poussé l'année précédente (> taille)
<i>Reprise de la végétation</i>	Fin février	20-25 jours	Émission d'une nouvelle végétation de couleur claire
<i>Apparition de boutons floraux</i>	mi-mars	18-23 jours	Inflorescences de couleur verte, blanchâtres à maturité
<i>Floraison</i>	de début mai à mi-juin	7 jours	Fleurs ouvertes et bien apparentes, pollinisation et fécondation
<i>Fructification</i>	fin mai-juin	-	Chute des pétales, hécatombe précoce des fleurs et des fruits
<i>Développement de fruits</i>	seconde moitié de juin	3-4 semaines	Fruits petits mais bien apparents
<i>Durcissement du noyau</i>	juillet	7-25 jours	Fin de la formation des fruits devenant résistants à la coupe et à la section
<i>Croissance des fruits</i>	août	1,5-2 mois	Augmentation considérable de la taille des fruits et apparition des lenticelles
<i>Début de maturation</i>	de mi-octobre à décembre	-	Au moins la moitié de la surface du fruit vire du vert au rouge violacé
<i>Maturation complète</i>	de fin octobre à décembre	-	Fruits avec une coloration uniforme violette à noire

L'olivier ne produit naturellement qu'une année sur deux en l'absence de taille, et la production s'installe lentement, progressivement, mais durablement : entre 1 et 7 ans, c'est la période d'installation improductive, dont la durée peut doubler en cas de sécheresse; jusqu'à 35 ans, l'arbre se développe et connaît une augmentation progressive de la production; entre 35 ans et 150 ans, l'olivier atteint sa pleine maturité et sa production optimale. Au-delà de 150 ans, il vieillit et ses rendements deviennent aléatoires. (Zeghidi Hbaib, 2013)

5. Exigences pédoclimatiques de l'olivier

5.1. Le climat :

Bien que l'olivier fût introduit dans les quatre coins du monde, sa culture et ses exigences sont associées à la zone méditerranéenne, cette dernière est caractérisée par un hiver doux et humide et un été sec et chaud.

Comme l'olivier ne peut pas résister à des températures inférieures à -15°C , cette isotherme délimite sa zone de culture en latitude (entre 22° et 45° dans l'hémisphère nord et de l'équateur au 37^{ème} parallèle dans l'hémisphère sud).(Zeghidi Hbaib, 2013)

5.2. Les températures :

L'olivier est un arbre des pays à climat méditerranéen où les températures varient entre 16°C et 22°C (moyenne annuelle des températures). Il aime la lumière et la chaleur, supporte très bien les fortes températures, même en atmosphère sèche, et ne craint pas les insulations. De même il craint le froid, les températures négatives peuvent être dangereuses particulièrement si elles se produisent au moment de la floraison (Hannachi, 2007). Il est aussi apte à bien supporter les températures élevées de l'été si son alimentation hydrique est satisfaisante (enracinement profond nécessaires en climat présaharien).

5.3. La pluviométrie :

Pour une croissance et un développement favorable de l'olivier, la pluviométrie se situe entre 450 et 600 mm bien répartie dans le temps. Cependant, la période chaude et sèche de l'été caractérisant le climat méditerranéen coïncide avec la sclérisation du noyau exigeant des besoins élevés en eau, ce qui nécessite un apport externe par irrigation pour faire augmenter la quantité et améliorer la qualité de production. (Baldy, 1990).

5.4. L'hygrométrie :

Les fortes humidités de l'air peuvent être néfastes pour la croissance de l'arbre. Aussi, elles favorisent les maladies cryptogamiques comme elles gênent la pollinisation anémophile ; c'est pour cette raison que cette culture est à éviter à proximité immédiate de la mer (au moins 10 km). Par contre, la variété Hamra est assez tolérante à l'excès d'humidité. :(Hannachi, 2007)

On note que les fortes hygrométries, la grêle et les gelés printanières sont autant des facteurs défavorables à la floraison ainsi qu'à la fructification.

5.5. La lumière :

Avec une bonne exposition au soleil, l'olivier donne des meilleurs rendements. Par ailleurs, les coteaux bien exposés au soleil (versant sud) présentent un meilleur développement.

La lumière est un facteur déterminant au cours de la floraison. Selon (Daoudi, 1994), l'évolution florale est inhibée sur les arbres qui ne reçoivent pas assez de lumière.

5.6. Le vent :

La pollinisation chez l'olivier est essentiellement anémophile. De ce fait, le vent joue un rôle primordial dans la production.

Malgré son importance, l'olivier craint les vents chauds qui peuvent causer des brûlures sur les arbres et le dessèchement des stigmates au moment de la floraison ce qui engendrerait la destruction de la récolte.

5.7. Le Sol :

L'olivier connu pour sa plasticité, est cultivé dans toutes sortes de types de sol, le plus souvent dans des terrains pauvres là où les autres cultures n'auraient pas pu être envisagées. Néanmoins, il préfère les sols légers à texture sableuse permettant le développement en profondeur et en largeur des racines. Selon Lousert et Brousse, (1978) , la profondeur du sol nécessaire à l'arbre doit être au minimum 1 à 1,5 m; C'est la structure et la texture du sol qui détermine la perméabilité, la capacité de rétention ainsi que la dynamique de l'eau dans le sol et son aération.

Selon une étude réalisée par (Amrouche et al, 1999) les principales caractéristiques d'un bon sol pour l'olivier sont :

Argile (%) : 15 - 30 Profondeur : 80 cm

Limon (%) : 10 - 25 Perméabilité : Moyenne

Sable fin (%) : 10 - 25 Hygrométrie : Nulle

Sable grossier (%) : 20 - 30 PH : 7 - 8

6. Olivier sauvage : (*Olea europaea* var. *sylvestris*)

6-1 .Généralités

Les produits végétaux sauvages récoltés ont généralement une valeur soit de consommation, de subsistance ou commerciale. Parmi eux, on retrouve les arbres d'oliviers sauvages, connus sous le nom oléastres (*Olea europaea* subsp *europaea* var *sylvestris*) (Campbell et Luckert., 2002). Les populations d'oliviers sauvages sont distribuées dans différents environnements, avec des altitudes différentes et des sols qui peuvent être une source très importante de sa résistance aux stress abiotiques tels que la sécheresse, le sel, le vent et la baisse de température (Aranda., 2011). Pour les botanistes, l'olivier normal est appelé *Olea europaea* subsp *europaea* var *europaea*, alors que l'oléastre est de variété *sylvestris*. L'olivier est cultivé tandis que l'oléastre est sauvage. L'olivier peut s'échapper des cultures et revenir à un état apparemment sauvage.

Depuis l'antiquité, l'olivier a façonné le paysage méditerranéen (Doveri et Baldoni., 2007). Il est connu chez les phéniciens depuis la haute antiquité ; il est désigné par le mot *zeitoun*, ce mot est couramment employé dans le vocabulaire Amazigh (Boudribila., 2004). Cependant, l'olivier sauvage est désigné par le mot *zebbouj*, *berb* (Jacques-Meunié., 1982). Cette appellation est celle utilisée dans notre langage. L'olivier cultivé (*O. europaea* L. var. *Sativa*) a été dérivé de la domestication de l'olivier sauvage ou l'oléastre (*O. europaea* L. subsp. *sylvestris*), car ils sont semblables à la forme sauvage (Zohary, 1973).

L'olivier sauvage africain *Olea europaea* ssp. *Cuspidata* est un arbre précieux de la forêt afro-montagnarde sec, capable de se régénérer naturellement (Aerts, 2006). Les formes sauvages de l'olivier (oléastres), sont toujours membres du maquis naturel (Green., 2002). L'utilisation de la population d'oliviers sauvages peut être également une autre alternative pour la reproduction d'olive (Guerin, 2003).

6-2.Classification :

Taxonomie de l'olivier selon Cronquist (1981) :

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* ssp. L. *Sylvestris* Miller).

Olea europaea L. ssp. *Oleaster* Hoffm. et Link (= *O. europaea* L. ssp. *sylvestris* Miller).

6-2-1. Noms vernaculaires :

L'oléastre (olivier sauvage):

_ *Azemmour*, désigné sous cette appellation dans le haut Atlas au Maroc (Boudribila et al, 2004).

_ Ar. *zebbouj*, berb. *Azemmour* (Jacques-Meunié, 1982) ;

_ Ar. *zenbotidje*, berb. *Tazebboujt* (De Candolle, 1883).

L'olivier greffé : ar. *zitoun*, berb. *Tazemmourt* (De Candolle, 1883).

6.3. Répartition géographique

L'olivier est originaire des régions tropicales et chaudes, en particulier les zones côtières de la Méditerranée orientale, du Liban, parties maritimes de l'Asie Mineure, et le Nord de

l'Iran jusqu'à l'extrémité sud de la mer Caspienne (FAO/WHO, 2003). L'aire d'extension de la culture de l'olivier définit l'aire biogéographique de la sphère méditerranéenne et du climat méditerranéen (Ghedira, 2008) .

L'olivier pousse en zone semi-aride à climat tempéré, sur des sols bien drainés avec un pH au-dessous de 8,5, et sont raisonnablement tolérants aux sols légèrement salins. Ils montrent une rusticité au froid et une tolérance aux températures aussi basses que $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Doveri et Baldoni, 2007) .

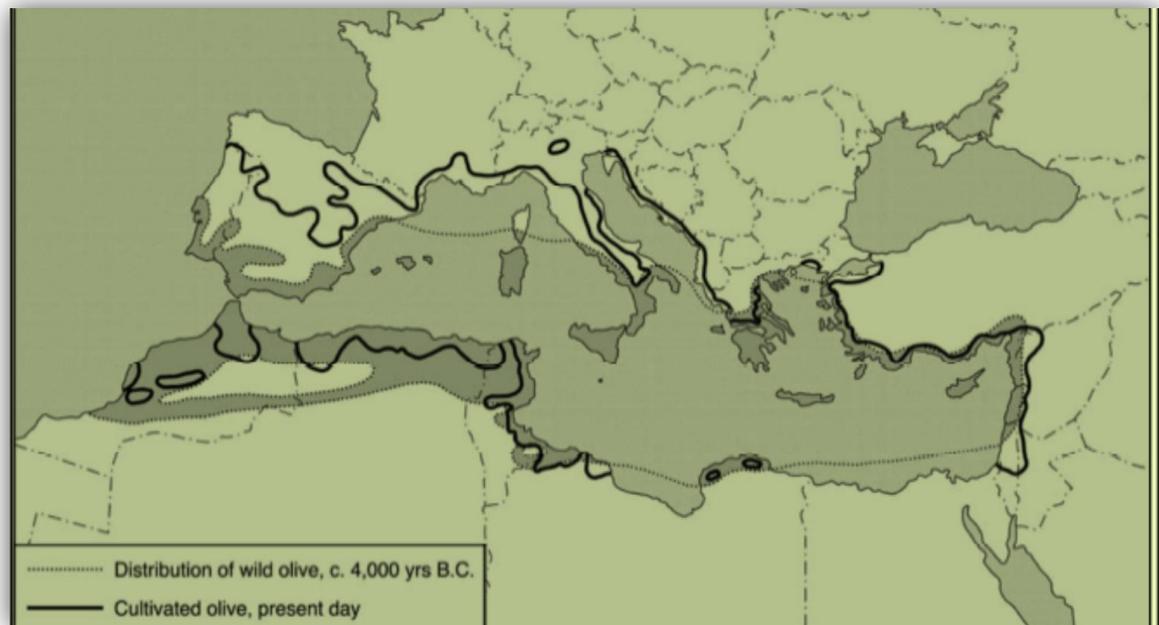


Figure 6: Les limites de l'olivier spontané et la distribution moderne de la production d'olive dans la région Méditerranéenne (Zohary, 1995).

6.4. Description botanique :



Figure 7 : Oléastre (Terral et Arnold-Simard, 1996)

L'oléastre diffère de l'olivier cultivé par la présence des pousses courtes et épineuses, des fruits de petite taille avec moins de mésocarpe, une faible teneur en huile et par un stade juvénile long (Terral et Arnold-Simard, 1996).

Les populations d'olivier sauvage sont limitées à quelques secteurs isolés des forêts natales de la Méditerranée, où le pollen peut être distribué par le vent et les oiseaux (Lumaret, 2004).

6.5. Composition chimique de l'oléastre

L'étude faite par Dabbou. (2011), sur la comparaison de l'huile d'olive et celle d'oléastre, montre qu'elles sont étroitement apparentées. La composition en acides gras de ces deux huiles est qualitativement identique. En outre, l'oléastre s'avère intéressant parce qu'il produit une huile de bonne qualité en termes de composés mineurs (phénols et composés volatils) comparée à l'huile d'olive.

L'huile d'olive vierge est majoritairement constituée de triglycérides (98-99%), avec une faible proportion d'autres composés. Les acides gras dominants des triglycérides sont les acides gras mono insaturés (AGMI) dont l'acide oléique (C 18:1), l'acide palmitique (C 16:0), l'acide stéarique (C 18:0), et les acides gras polyinsaturés (AGPI) dont l'acide linoléique (C18:2) et l'acide linoléique (C 18:3) (Salas 2000).

Les composés mineurs (alcools, composés polyphénoliques, la chlorophylle, caroténoïdes, stérols, tocophérols et les flavonoïdes) contribuent à la qualité organoleptique, le goût, la saveur et à la valeur nutritive, ce qui peut distinguer les huiles d'olive provenant de différentes régions de production (Doveri et Baldoni, 2007). Des études récentes ont montré que les olives contiennent des antioxydants en abondance (jusqu'à 16 g / kg), représentée par actéosides, hydroxytyrosol, tyrosol et les acides phénolpropioniques ainsi que d'autres composés réputés d'être des agents anticancéreux (par exemple le squalène et des terpénoïdes) (Owen, 2004).

6.6 .Principaux constituants des feuilles d'olivier :

<i>Parties utilisées</i>	Fraction ou famille chimique	Constituants chimiques
<i>Feuilles</i>	<i>Triterpènes</i>	.Acide oléanolique, acide maslinique, acide hydroxy- oléanolique
	<i>Flavonoïdes</i>	. Lutéoline, kaempférol, myricétine, quercétine, apigénine .Rutoside, quercitrine et des glucosides de l'apigénine et de la lutéoline
	<i>Sécoiridoïdes</i>	. Oleuropéoside, 11-déméthyl-oleuropéoside, oléoside, diméthylester oléoside, ligustroside, oleurosides et desaldéhydes séco-iridoïdiques non hétérosidiques (oléacéine)
	<i>Acides phénols</i>	.Acide caféique, acide caféoylquinique (ac. chlorogénique), acide p-coumarique, verbascoside

Tableau II : principaux constituants des feuilles d'olivier .

7. Usage thérapeutique de l'olivier

7.1. Médicament à base de feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier peuvent s'utiliser en tisane (infusion) : utiliser environ 7 gr de feuilles d'olivier pour une Tass... (Annexe 1).

- En médecine: Les feuilles contiennent du cinchonidine, une quinoléine alcaloïde aux propriétés antipaludiques. Les feuilles, l'écorce et les fruits contiennent aussi l'oleuropéine, possédant des activités antioxydantes, hypotensive, hypoglycémiant, hypocholestérolémiant et antiseptique (Ghedira, 2008).

-L'olivier sauvage (ou l'olivier de l'Ethiopie) : a des feuilles d'une nature astringente qui pilonnées en petits morceaux et ainsi appliquées sont capables de limiter l'érysipèle (Infections cutanées streptococciques), l'Herpès, escarboucles (tumeurs malignes), ulcération gangreneuse.

-Le jus et la décoction des feuilles : ont le même effet. Le jus appliqué arrête l'éruption du sang.

L'humidité qui sort du bois brûlé vert, de l'olivier : guérit les pellicules, les maladies parasitaires de la peau et les lichens (maladie papuleuse de la peau) .

-L'huile d'olive sauvage : est astringente mais présente un choix pour une bonne santé.

Elle est commode pour les maux de tête et la chute des cheveux (alopécie). Elle est utilisée contre les maladies cutanées parasitaires.

-L'huile d'olive sauvage : est utilisée comme rince-bouche pour les gencives, elle calme les douleurs dentaires (Goodyer, 2000)

7.2. Propriétés pharmacologiques de la feuille d'olivier

7.2.1. Activité antioxydante

Ces dernières années, l'intérêt porte aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (Sanchez-Moreno, 2002 ; Maarc., 2004 ; Huang, 2005).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) (Rice-Evans. 1995; Bartosz , 2003).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphénylpicrylhydrazyle (Sharma, et Bhat ., 2009).

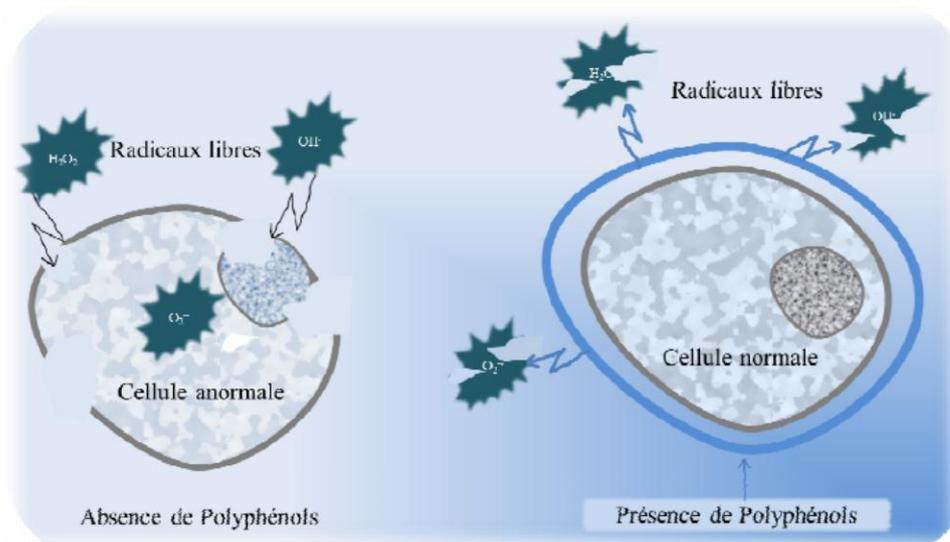


Figure 8: Schéma explicatif de l'effet protecteur des polyphénols de l'huile d'olive contre les radicaux libres (Benlemlih et Ghanam, 2012).

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (Tabart .., 2009 ; De Gauleja., 1999 ; Huali 2008).

7.2.2. Activité anti-inf lammatoire

Visioli *et al.* (1998) ont montré que l'oleuropéine augmente l'oxyde nitrique (NO) de production macrophages ont contesté avec lipopolysaccharide par l'induction de la forme inductible de la synthase de l'oxyde nitrique à une enzyme, ce qui augmente l'activité fonctionnelle de ceux-ci cellules immunocompétentes. Il est bien connu que l'oleuropéine provoque des effets anti-inflammatoires par activité lipoxygénase inhibant et la production de leucotriènes B4 (De la Puerta .; 1999).

7.2.3. Activité antibactérienne

L'émergence de microorganismes pathogènes multi résistants, due à l'usage abusif et inapproprié des antibiotiques, pose actuellement un problème de santé publique particulièrement préoccupant. En effet, la résistance des bactéries aux antibiotiques rend quelque fois le traitement thérapeutique inefficace, et met le praticien dans des situations délicates, surtout lorsque la vie du malade est en cause. La solution de ce problème s'avère donc urgente et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens.

Le recours aux plantes médicinales aux propriétés antimicrobiennes constitue alors une des plus intéressantes pistes à explorer. C'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antimicrobienne des feuilles de l'olivier sauvage (*Olea europaea sylvastris* .), plante réputée pour son usage en médecine traditionnelle et ses vertus thérapeutiques diversifiées (fébrifuge, anti-infectieuse, hypotensive, hypoglycémiant).

1. Généralités

Les métabolites secondaires sont des molécules nécessaires à la défense de la plante contre les agressions extérieures. Ils sont produits en très faible quantité, et présentent une grande variété structurale (plus de 200 000 structures définies) (Hartmann., 2007). Les produits naturels sont les principales sources de molécules bioactives (Priva et Aparna., 2012). Parmi les métabolites secondaires bioactifs présents dans les plantes : -Les composés phénoliques : tanins, quinones, coumarines, flavonoïdes -Les composés azotés : alcaloïdes -Les terpènes.

1.1. Les composés phénoliques

Durant ces dernières années, plusieurs chercheurs se sont intéressés aux composants phénoliques à cause de leur pouvoir à piéger les radicaux libres et les bienfaits potentiels de leur consommation sur la santé humaine (Manach, 2004). Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point en commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH (Hennebelle, 2004).

Les composés phénoliques diffèrent dans leur structure selon le nombre et la position deshydroxylations et méthylations du cycle aromatique (Bourgou, 2008). On les retrouve dans de nombreux fruits, légumes, le café, les prunes, les myrtilles, le raisin et les pommes. Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chorogénique (Bossokpi., 2002).

1-1.1.Tanins

Les tanins sont un groupe diversifié de métabolites secondaires des plantes qui ont deux caractéristiques communes : tous sont des polyphénols et tous ont la capacité de fixer les protéines. Cependant, l'étude des effets nutritionnels des tanins est complexe parce que les plantes contiennent une grande diversité de tanins. Certains tanins produisent des effets toxiques tandis que d'autres bénéficient de la santé et de la nutrition (Harvey., 2006).

1.1.2. Quinones

Les quinones sont des composés intéressants qui ont des caractéristiques uniques et plusieurs rôles importants. Ils sont largement distribués dans la nature, y compris dans les tissus animale et végétale. Ils ont un rôle important dans la chaîne de transport d'électrons pour maintenir les fonctions biologiques des plantes et des animaux. En plus de ces rôles biologiques, les quinones ont été utilisées dans une grande variété de pratique clinique.

1-1.3. Coumarines

Les coumarines et leurs dérivés sont des produits naturels qui sont largement utilisés pour des fins pharmaceutiques, agricoles et cosmétiques (Moussaoui et Bensalem., 2007) . Ils ont des activités anti-thrombotiques, anti-inflammatoires et vasodilatatrices (Cowan., 1999). Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (Anderson, 1996).

1.1.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large des composés polyphénoliques. Ils sont classés en flavonols, flavones, flavanones, chalcones, flavanes, isoflavones, flavanols et anthocyanes. Du fait de leurs propriétés antioxydantes, liées à leur structure polyphénolique, les flavonoïdes ingérés avec nos aliments sont réputés pour protéger l'organisme contre les effets délétères des apports environnementaux oxydants (Stoclet, 2011).

1.2. Les composés azotés

1.2.1. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotées et à caractère alcalin. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), ils représentent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. Ils ont joué un rôle important dans la découverte des médicaments (morphines, quinine cocaïne, atropine...) et dans le développement de l'industrie pharmaceutique (Omulokoli, 1997). L'étude de leur mécanisme d'action a conduit à les employer comme réactifs biologiques en neurochimie et en chimiothérapie. Ils sont dotés aussi d'un pouvoir antioxydant (Roué., 2011).

2 .Activité biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques sont connus par leurs rôles physiologiques très important aussi bien dans le règne végétal qu'animal. En raison de leur structure, les composés phénoliques sont capables de se fixer sur certaines enzymes et protéines, et de modifier ainsi les équilibres enzymatiques : ils joueraient un rôle dans les chaînes d'oxydo-réduction et modifieraient certaines réactions concernant la croissance, la respiration et la morphogénèse.

Dans le règne végétal, ces substances sont souvent impliquées dans les mécanismes de défenses élaborés par les végétaux contre la prédation par des insectes, des herbivores et contre les infections et les agressions microbiennes multiples (Lo Scalzo, 1994 ; Uccella, 2001). Outre, les composés phénoliques seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation... (Ozkaya et Celik, 1999 ; Malik et Bradford, 2006). Les composés phénoliques sont aussi responsable des propriétés sensoriels des plantes tel que la couleur, le goût et parfois l'odeur.

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent des activités biologiques qui les rendent bénéfiques à la santé humaine (Fig 9). Beaucoup d'études indiquent que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives) (Leong et Shui, 2002).

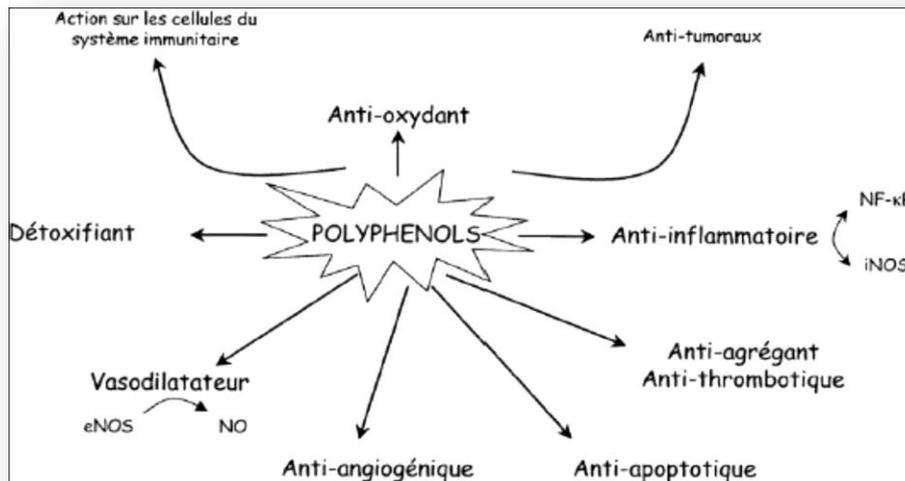


Figure 9 : Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les activités biologiques relatives à ce type de composés sont relativement diversifiées. Chaque classe chimique de polyphénols semble être utilisée pour ses vertus spécifiques (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leur activité antimicrobienne et antioxydante, cette dernière est d'un intérêt général avec les récentes découvertes sur la prévention des cancers (Karakaya, 2004). Certains d'entre eux, tel que les coumarines, possèdent des propriétés antiinflammatoires (Fylaktakidou, 2004). D'autres, tel que les lignanes, possèdent des propriétés cytostatiques (Habtemariam, 2003). Les flavonoïdes, une vaste famille de composés phénoliques, protègent les tissus végétaux contre les rayons UV. La principale activité leur étant attribuée est une propriété « Vitaminique P » : ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et les rendent plus résistants. Certains possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, anti-allergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémians, diurétiques, antibactériens, antiviraux et parfois cytostatiques. Ils agissent aussi parfois comme piègeurs de radicaux libres et comme inhibiteurs enzymatiques.

Les composés des autres familles de ce groupe (anthocyanosides, tannins et polyacétates) présentent fréquemment des propriétés thérapeutiques similaires à celles des flavonoïdes et des composés phénoliques en général (Bruneton, 1993).

1. Présentation du site d'étude (origine de la plante)

Les feuilles d'olivier spontané récoltées pour notre étude proviennent de deux régions différentes appartenant à la wilaya de Blida, située dans le Tell central.

Cette région est caractérisée par une pluviométrie généralement plus importante dans les montagnes que dans la plaine. Les précipitations sont amples aux mois de décembre, de janvier et de février.

Le premier site choisi pour l'échantillonnage est située à Soumaa au pied de l'atlas blidéen (R1), Située à 153 mètres d'altitude et le 2eme (R2) au Sommet de l'atlas blidéen «Chrea» (1ere station 'Beni Ali'), située à une altitude de 700m. (Fig. 10).

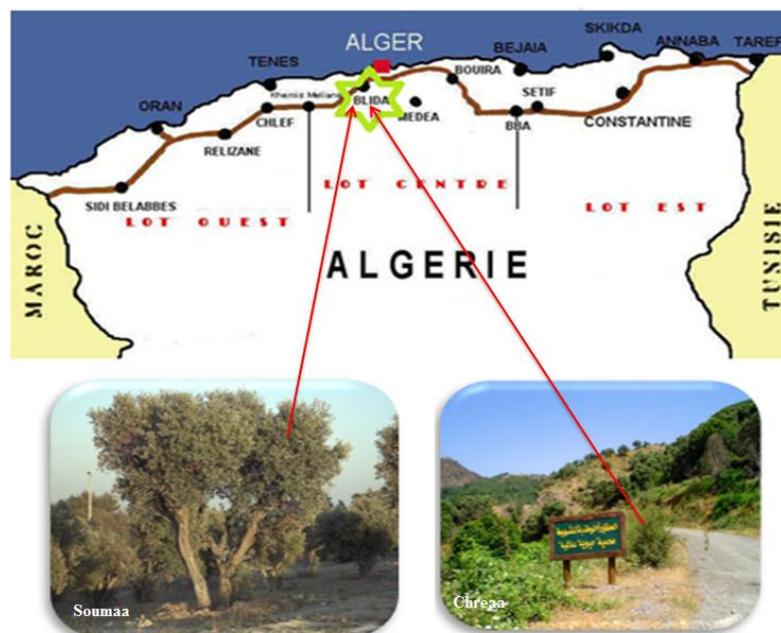


Figure 10 : Situation géographique des sites d'échantillonnage.

2. Matériel

2.1 Matériel biologique

2.1.1. Matériel végétal

La récolte des feuilles était effectuée à 10h du matin, juste après évaporation de la rosée. Ces échantillons sont mis dans des sacs en plastique étiquetés et ramenés au laboratoire pour subir différents techniques et traitements.

2.1.2. Matériel microbiologique

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques des feuilles obtenus, 4 souches cités dans le tableau ci-dessous sont utilisés:

Tableau III : Présentation des microorganismes étudiés

Microorganismes testés	Gram	Références
Bactéries	Gram -	Escherichae coli 25923
	Gram -	Pseudomonas aeruginosa 27853
	Gram +	Staphylococcus aureus 25923
Levure		Candidas albicans Isolé d'un patient

2.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé renferme l'appareillage, la verrerie et les produits chimiques sont présentés en (annexe 3).

3. Méthodes de travail

3.1. Lieu de travail expérimental

Les extractions des polyphénols sont effectuées au sein du laboratoire de recherche de biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales du département de biotechnologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1.

L'évaluation de l'activité antioxydant et de l'activité anti-inflammatoire des extraits polyphénoliques sont réalisés au niveau du laboratoire de l'institut pasteur d'Alger, et le centre de recherche et de développement (CRD) SAIDAL d'el Harrach, Alger.

Tandis que l'évaluation de l'activité anti microbienne est faite au laboratoire central du CHU de Blida « Franz fanon ».

3.2. Préparation de la poudre végétale

Les échantillons de feuilles d'olivier spontané sont séchés au laboratoire, à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante. Cette matière végétale sèche a été réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique à hélice de type « moulin à café électrique», la poudre obtenue est tamisée pour homogénéisation et pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant d'extraction afin de faciliter l'extraction des molécules de l'intérieur des tissus cellulaires végétaux, ensuite conservée dans des flacons en verre fumé afin de protéger les molécules de se dégrader par la lumière.

3.3. Méthode d'extraction et dosage des polyphénols PP

3.3.1. Extraction

Au laboratoire, 30g de poudre de feuilles d'olivier sont mesurés et mélangés dans un erlenmeyer avec 200ml de méthanol, laissé macérer pendant 15jours avec une agitation temporaire, Suivi de filtrations (la 1ere sur mousseline, la 2Eme et la 3eme sur papier filtre) afin de récupérer le solvant renfermant les polyphénols, qui est par la suite évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide à 40C°. (Fig.11).

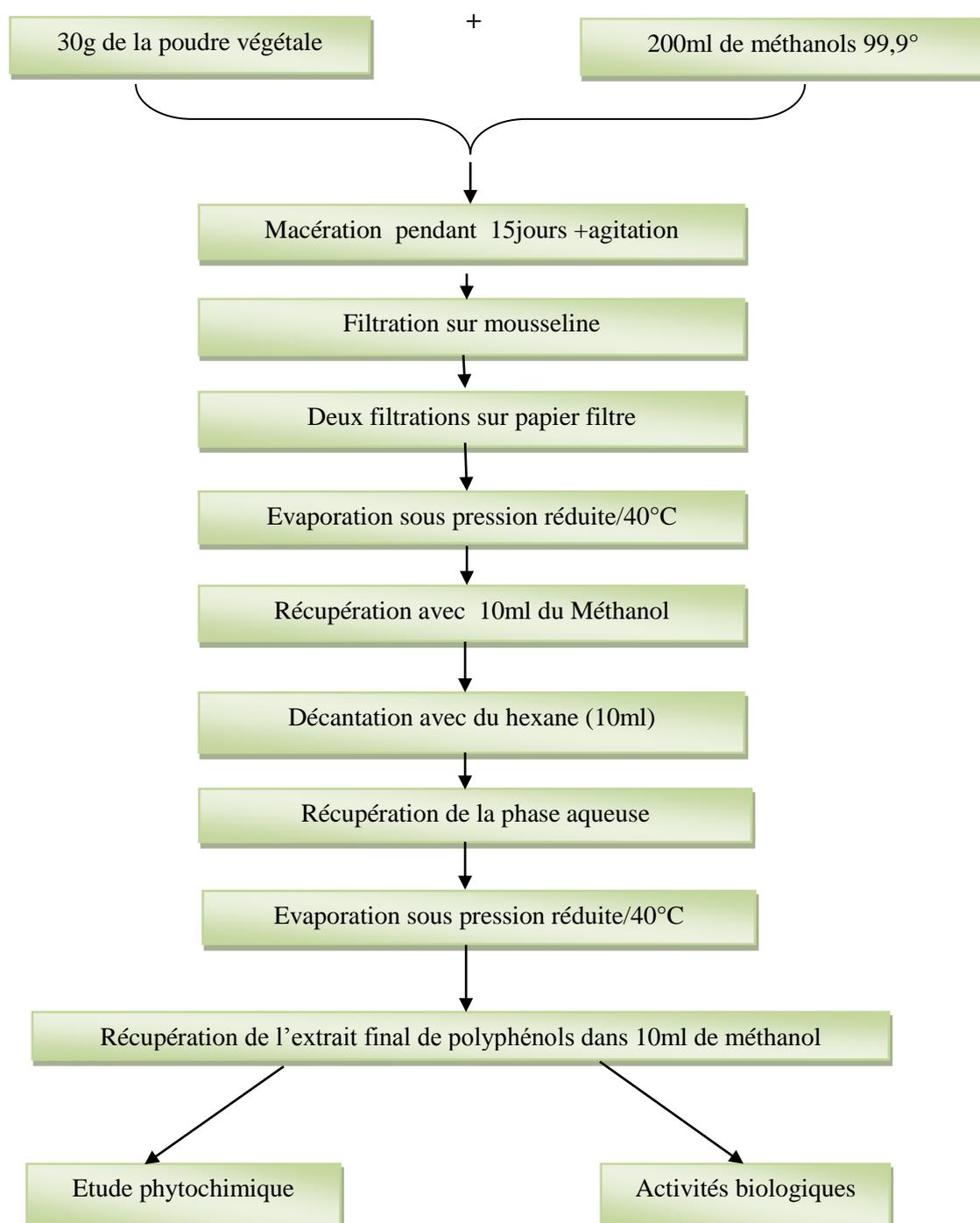


Figure 11: Protocole d'extraction des polyphénols (Boumaza 2009). (Modifier)

3.1.2. Détermination du Rendement en polyphénols totaux PPT

Le calculé du rendement des extraits en polyphénols totaux a été déterminé par la formule décrite par Mahmoud, (2013).

$$R(\%) = (M_{ext} / M_{éch}) 100$$

Avec : R : le rendement en %

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation en mg.

$M_{éch}$: la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

3.1.3. Dosages des phénols totaux

La quantification des polyphénols totaux est basée sur la réaction de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est choisie pour les raisons suivantes :

- c'est une méthode bien standardisée, elle répond aux critères de faisabilité et de reproductibilité;
- la disponibilité du réactif de Folin;
- la grande longueur d'onde (760nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré (Huang, 2005).

- Principe

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMo12O40) qui est réduit lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23) (Ribéreau-Gayon, 1968).

L'absorption est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux (Charpentier et Boizot, 2006).

Ce dosage basé sur le couplage du *Folin-Ciocalteu* avec les composants phénoliques du matériel végétal a été effectué par un spectrophotomètre à UV visible.

- Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Un polyphénol témoins : l'acide Gallique pour la réalisation de la gamme d'étalonnage en milieu aqueux.

A partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 0.5 g/1, des solutions filles sont ainsi préparées de concentration allant de 0.05 g/1, 0,1g/1, 0,15 g/1, 0,2g/1, 0,25g/1, jusqu'à 0.5 g/1 .

On dilue 0.5ml de chacune de ces solutions dans 5ml d'eau distillé.

Puis on ajoute 0.5ml de Réactif de Folin et on laisse reposer 3mn.

On ajoute ensuite 0.5ml de la solution saturée de Na_2CO_3 à 10%.

La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre de Shimadzu 1601 (voir annexe 2) à une longueur d'onde de 750 nm, contre un blanc sans la solution d'acide gallique ce qui nous permet de tracer la courbe d'étalonnage (figure : annexe 3) (Singleton.1999).

- Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en g équivalent d'acide gallique/g de poudre, en utilisant l'équation de régression de la courbe d'étalonnage tracée avec de l'acide gallique comme référence.

4. Activité anti-inflammatoire: (test de Levy) (Culot, 1972)

4.1. Principe

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire provoquant un œdème qui peut être réduit par un produit anti-inflammatoire.

4.2. Protocole expérimentale

4.2.1. Préparation de la solution de carragénine

La carragénine est préparée à 1% : 1g de carragénine est dilué dans 100ml d'eau distillée.

4.2.2. Préparation de la solution du produit de référence (Diclofinac®)

Pour la préparation de cette solution à la dose de 1200mg/60kg (VIDAL, 2008) avec le médicament Diclofinac : Le poids moyen des souris est de 20g, et chacune d'elles reçoit 0.5ml de médicament à raison de 0.4mg/Souris de Diclofinac®, dose du médicament à administrer pour chaque souris.

4.2.3. Mode opératoire

Pour réaliser ce test il faut suivre les étapes suivantes :

- La veille du test 3 lots de 6 souris sont mis à jeun ensuite le jour suivant:

- ❖ Lot témoin T : qui reçoit l'eau distillée (0.5 ml d'eau distillée/souris)
- ❖ Lot essai E₁ : qui reçoit l'extrait de polyphénolique (0.5 ml d'extrait/souris)
- ❖ Lot essai E₂ : qui reçoit le Diclofinac® (0.5 ml du produit de référence

Diclofinac®/souris). (Fig.12).

- Après 30 mn, on injecte un volume de 0.025 ml de la solution de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de tous les animaux.

- Après 4heures de temps, on scarifie les animaux par rupture de la nuque. (ou dans notre cas avec du chloroforme) et on coupe les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et on les pèse sur une balance analytique. (Fig.12).



Figure 12 : a- Gavage des souris à l'aide d'une seringue. b- Injection de la solution de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche des souris. c- coupure des pattes postérieures.

4.2.4.Méthode de calcul du pourcentage de réduction des œdèmes

Les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et de la patte droite sont calculées pour chaque lot. Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% œdème) est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{Moyenne des poids de la patte droite}} \times 100$$

Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 10$$

5.Evaluation de l'activité antioxydante des extraits polyphénoliques

Pour le test anti-radicalaire, nous avons utilisés le 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH). L'activité de piégeage des radicaux libres par les polyphénols extraits est mesurée selon le protocole décrit par Benhamou. (1999) et KIM. (2003) . Le DPPH, radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés.

Pour ce test, nous préparons une solution de DPPH à une concentration de 0.04mg/mL. En parallèle, deux autres solutions chacune à base d'un des deux extraits végétaux sont préparées à une concentration de 1mg/mL.

A partir de ces solutions mères, cinq dilutions sont préparées à des concentrations de 0,1 mg/mL ; 0,2 mg/mL ; 0,3 mg/mL ; 0,5 mg/mL et 0,7 mg/mL. A 100µL de chaque dilution est ajoutée 2mL de la solution de DPPH. Nous préparons aussi un tube témoin comportant 100µL de méthanol et 2mL de DPPH. Les tubes sont ensuite incubés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30mn. Enfin, un tube standard est préparé avec la vitamine C (0,15 mg/mL).

L'absorbance est lue chaque 30 secondes durant 5 min. à 517 nm. L'effet éboueur des polyphénols est exprimé en pourcentage de DPPH° réduit en partant de 100% du témoin (DPPH° seul)

5.1. Expression des résultats

L'absorbance de chaque tube est lue à 517 nm 30mn, à l'abri de la lumière. La concentration d'inhibition des radicaux libres(CI) exprimée en pourcentage est calculée selon la formule suivante :

$$CI(\%) = (A_0 - A_1 / A_0) 100$$

A_0 : absorbance du témoin

A_1 : absorbance pour chaque dilution.

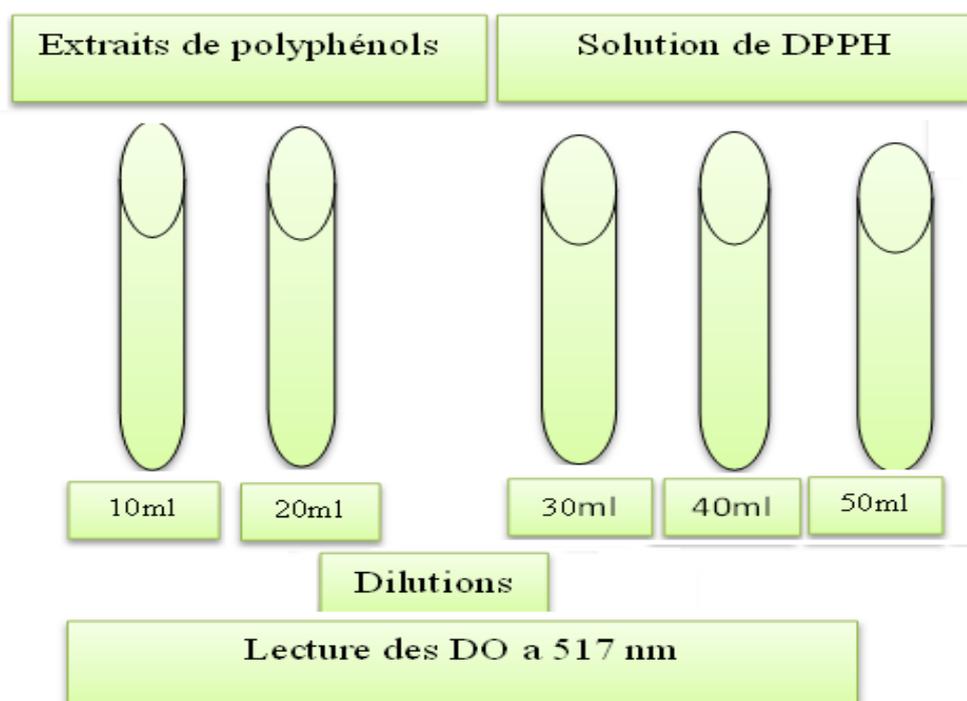


Figure 13 : Protocole expérimental de l'activité antioxydante.

6. Evaluation de l'activité antibactérienne

Le teste de sensibilité **bactérienne** in vitro a été étudié par la méthode de diffusion en milieu solide décrites par Athamena.,(2010) ;bouharb; Guedadba; (2014).

6.1. Isolement des colonies (repiquage des souches)

Les bactéries ont été cultivées sur gélose nutritif par la méthode de quadrants afin d'isoler les colonies, les boites sont incubés a 37°C pendant 24h. La levure a été cultivé sur gélose sabouraud puis incubés a 37°C pendant 48h.

6.2. Préparation de l'inoculum

Des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant 2,5 ml d'eau physiologique stérile, afin d'avoir des suspensions ayant une turbidité voisine à celle de 0,5 Mcfarland correspondante a 10^6 UFC /ml.

6.3. Préparation des disques

Les disques de papier Wattman n°1 de 6mm de diamètre, stérilisés auparavant (120°C pendant 15min), imbibés par solution des polyphénols. Des disques imbibés d'eau et d'éthanol sont utilisés comme contrôle négatif, l'ampicilline et la pénicilline-G sont utilisés comme contrôle positif pour les bactéries.

6.4. Préparation de milieu de culture

Les géloses de muller-hilton et sabouraud fondues sont coulées sur boites de pétrie.

a- Ensemencement bactérienne :

Les boites de pétri stérilisés a 45°C, sont ensemencés par les suspensions bactériennes (100µl), les disques sont déposer sur la surface de la gélose, les boites ensuite sont incubées.

L'activité antibactérienne a été déterminée à l'aide d'une règle pour mesurer le diamètre de la zone d'inhibition.

7. Analyse chromatographique par HPLC : (chromatographie en phase liquide à haute performance)

Les extraits ont été filtrés avant injection au diamètre de 0,2 μ m. L'analyse a été effectuée par un appareil HPLC de type Agilent 1260, munie d'un détecteur à barrette de diodes (DAD: Diode Array Detectors). La colonne utilisée est une colonne en gel de silice de type C18 (250mm, 4.6mm, 5 μ m). La phase mobile consiste en deux phases : solvant A: 0.2% Acide acétique, solvant B: Acétonitrile. Les composés phénoliques ont été élués à un volume de 5 μ l avec un débit de 1ml/min à une température de 22 \pm 0.8°C. La durée de l'élution est de 30 minutes avec A : 95% et 5% du solvant B. trois longueur d'ondes ont été choisies : λ = 270nm, λ = 320nm et λ = 370nm.

Des standards ont été injectés dans les mêmes conditions expérimentales. Ils permettent l'identification des pics des composés phénoliques en comparant les temps de rétention.

1. Résultats

1.1. Détermination du rendement des extraits en polyphénols

Les résultats du rendement des extraits de feuilles de l'olivier en polyphénols totaux est présenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau IV: Rendement en polyphénols totaux des feuilles de *Olea europea* var. oléastre.

<i>Paramètre</i>	<i>1^{ere} p-R_I</i>	<i>2^{eme} p-R_I</i>	<i>1^{ere} p-R_{II}</i>	<i>2^{eme} p-R_{II}</i>
<i>Poids de la poudre végétale(g)</i>	30	30	30	30
<i>Rendement (%)</i>	10,43	17	14,83	12,4

- *1^{ere} p-R_I*: extrait 1(feuille d'olivier sauvage de la région de somaa 1ree période (novembre à décembre)
- *2^{eme} p-R_I*: extrait 2(feuille d'olivier sauvage de la région de somaa, 2eme période,(février au mois de mars)
- *1^{ere} p-R_{II}*: extrait 3(feuille d'olivier sauvage de la région de chrea, 1ere période (novembre à décembre).
- *2^{eme} p-R_{II}*: extrait 4(feuille d'olivier sauvage de la région de chrea, 2eme période (février au mois de mars).

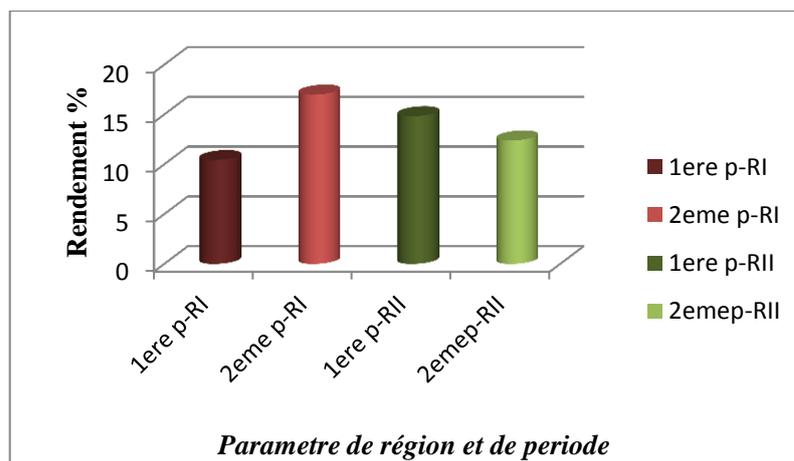


Figure 14: Présentation du rendement des polyphénols totaux chez l'olivier spontané selon la région et la période.

La figure 14 montre une différence qu'on ne peut négliger par rapport au rendement des polyphénols (PP) des feuilles de l'olivier sauvage selon la région et selon la période. Le meilleur rendement est obtenu par l'échantillon de feuilles d'olivier sauvage de la région de Soma récolté en période (février au mois de mars) (17%), suivi de celui des feuilles d'olivier sauvage de la région de chrea récolté (en période qui s'étale entre novembre et décembre) (14,83%). Les rendements les plus faibles sont obtenus par les échantillons de feuilles d'olivier sauvage de la région de chrea en période (février au mois de mars), et les feuilles d'olivier sauvage de la région de soma en période (de novembre à décembre). (Fig.14).

1.2 .Détermination de la teneur des feuilles en polyphénols totaux (PPT) :

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux, sont exprimés en gramme d'équivalent d'acide gallique (EAG/g) de poudre.

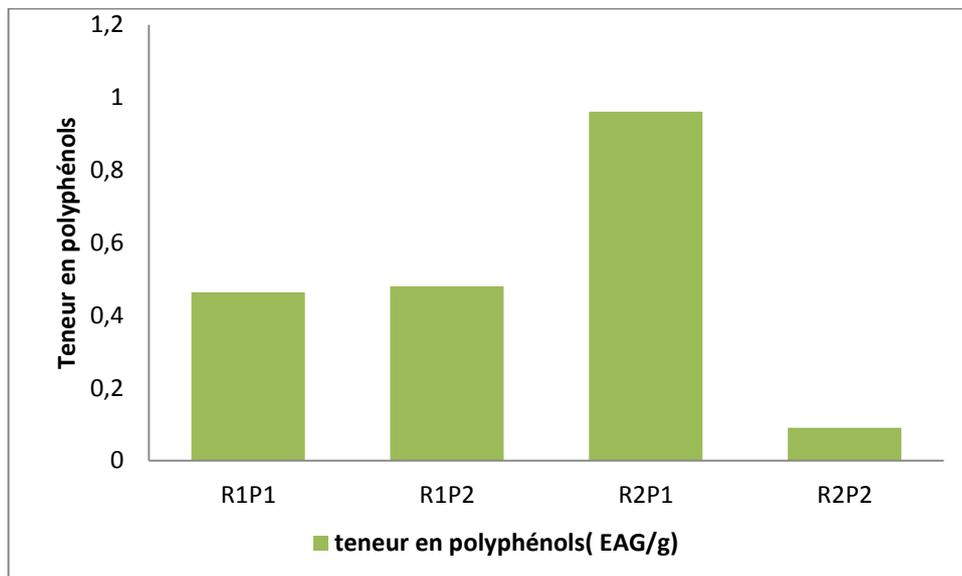


Figure 15 : Présentation de la variation des teneurs en polyphénols totaux (PPT) chez les feuilles d'olivier spontané selon la région et la période. [g EAG/g].

Selon la figure 15, les teneurs les plus élevées ont été enregistrées chez l'extrait 3 (région de Chrea, période qui s'étale de novembre à décembre) avec 0,961 EAG/g, suivi par l'extrait de la région de Soumaa, 2ème période qui s'étale de février à mars) avec (0,48 EAG/g) et la région de Soumaa, première période allant de novembre à décembre avec 0,463 EAG/g). Cependant, l'extrait de la région de Chrea de la 2ème période (février à mars) a montré une teneur plus faible de 0,09 EAG/g).

1.3. Composition chimique

1.3.1. Analyse chromatographique par HPLC: (chromatographie en phase liquide à haute performance)

La HPLC a été utilisée pour la séparation et la quantification de différentes molécules des extraits polyphénoliques.

Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau N° :V avec les composés identifiés et les composés majoritaires non identifiés.

Nous remarquons que l'extrait R1P1 (période de novembre à décembre, Souma) des feuilles d'olivier spontané, contient 32 composés à $\lambda = 270\text{nm}$. A cette longueur d'onde nous avons identifié de l'acide gallique (area % = 2,5225 à 2,595 min), l'acide ascorbique (area % = 2,145 à 9,797 min). Néanmoins, d'autres composés majoritaires n'ont pas pu être identifiés par manque de standards. (Annexe 4)

L'extrait R1P1 (période de novembre à décembre, Souma) des feuilles d'olivier spontané, contient 23 composés à $\lambda = 320\text{nm}$ dont aucun n'a été identifié (manque de standards). (Annexe 4)

Les résultats d'analyse de l'extrait R1P1 (période qui s'étale de novembre à décembre, Souma) des feuilles d'olivier spontané, contiennent 12 composés à $\lambda = 370\text{nm}$ dont aucun n'a été identifié (manque de standards). (Annexe 4)

Les résultats d'analyse par HPLC montrent que l'extrait R1P2 (région de Souma, de février à mars) des feuilles d'olivier spontané, contient 43 composés à $\lambda = 270\text{nm}$. A cette

longueur d'onde nous avons identifié de l'acide gallique (area % =2,317 à 10,365min). nous avons identifié aussi de LA catéchine (area%= 7,21875 à 0,564 min). Néanmoins d'autres composés majoritaires qui n'ont pas pu être identifiés par manque de standards. (Annexe 4)

Les résultats d'analyse montre que l'extrait R1P2 (région de souma, de février a mars) des feuilles d'olivier spontané, contient 36 composé à la longueur d'onde λ =320nm et qui ne sont pas identifiés par manque de standards).(Annexe 4)

Les résultats d'analyse montre que l'extrait R1P2 (région de souma, de février a mars) des feuilles d'olivier spontané, contient 21 composé à λ =370nm. A cette longueur d'onde nous avons identifié du phénol (area % =1,7101 à 2,434 min). Cependant d'autres composés majoritaires n'ont pas pu être identifiés par manque de standards. (Annexe 4)

Les résultats d'analyse montre que l'extrait R2P1 (région de chrea, de novembre a décembre) des feuilles d'olivier spontané, contient 25 composé a λ =270nm, dont aucun n'a était identifier (manque de standards). (Annexe 4)

Les résultats d'analyse montre que l'extrait R2P1 (région de chrea, période de novembre adécembre) des feuilles d'olivier spontané, contient 22 composé à λ =320nm. A cette longueur d'onde nous avons identifié de la Rutine (area%=9,4133 à 11,056 min) du phénol (area%=1,7074 à 12,018min). Cependant d'autres composés majoritaires n'ont pas pu être identifiés par manque de standards. (Annexe 4) ;

Les résultats d'analyse montrent que l'extrait R2P1 (région de chrea, période de novembre à décembre) des feuilles d'olivier spontané, contient 8 composés à λ =370 nm. A cette longueur d'onde nous avons identifié du phénol (area%=1,6458 à 2,536 min) et d'autres composés majoritaires qui n'ont pas pu être identifiés par manque de standards. (Annexe 4).

Les résultats d'analyse montre que l'extrait R2P2 (région de chrea, periode de février à mars) des feuilles d'olivier spontané, contient 9 composé a λ =270nm, à λ =320 contient 23 composé qui n'ont pas pu être identifier suite au manque de standards et à λ =370nm 16 composants, un seul composé de phénol (area% =1,6245 a 2,535min) est déterminé.(Annexe 4)

1.4. L'activité anti-oxydante par le Piégeage du radical libre DPPH

Le radical DPPH est généralement l'un des composés le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse [Bozin, 2008].

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH et en fonction des concentrations des extraits et illustrés dans les figures ci-dessous .

Les résultats de l'activité antioxydante ont montré que tous les extraits polyphénoliques des feuilles de l'olivier spontané ont un pouvoir antiradicalaire vis à vis de DPPH avec un effet meilleur ou proche que celui de l'acide ascorbique (vitamine C). Et ceci quel que soit la période, la région et l'altitude.

Selon (SA. Van Acker, MN. Tromp, GR. Haenen, 1995), les polyphénols sont des antioxydants puissants capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules. De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux, qui peuvent produire des radicaux à l'état libre par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss. Cet effet est peut être due à la richesse de l'extrait en composés phénoliques. En effet, le taux des polyphénols totaux, déterminé précédemment dans ces extraits (10,43%-17%) par gramme de matière sèche est important. Dans l'extrait de la feuille d'olivier, l'oleuropéine s'est avéré le composé phénolique majeur, la rutine, la vanilline et l'acide caféique sont des composés mineurs (Lee., 2009).

En fait, l'oleuropéine, en lui-même un antioxydant puissant, a conféré à l'extrait méthanolique un effet antioxydant intéressant et remarquable. Les conclusions de Lee (2009) sur la particularité de l'effet antioxydant des composés contenus dans les extraits de feuilles d'olivier, concordent avec ceux de Benavente-Garcia (2000), qui montrent la richesse des feuilles d'olivier en composés phénoliques à effet synergique élevé, comme les oleurosides (oleuropéine et verbascoside), les flavones (lutéolinee, diosmétine, apigénin-7-glucose, lutéolin-7-glucose et diosmétin-7-glucose), les flavonols (rutine), flavan-3-ols (catéchine), et les substituts des phénols (tyrosol, hydroxytyrosol, vanilline, acide vanillique et

acide cafféique).Ceci explique nos résultats pertinents dont la confirmation se trouve dans les résultats d'analyses chimique par HPLC.

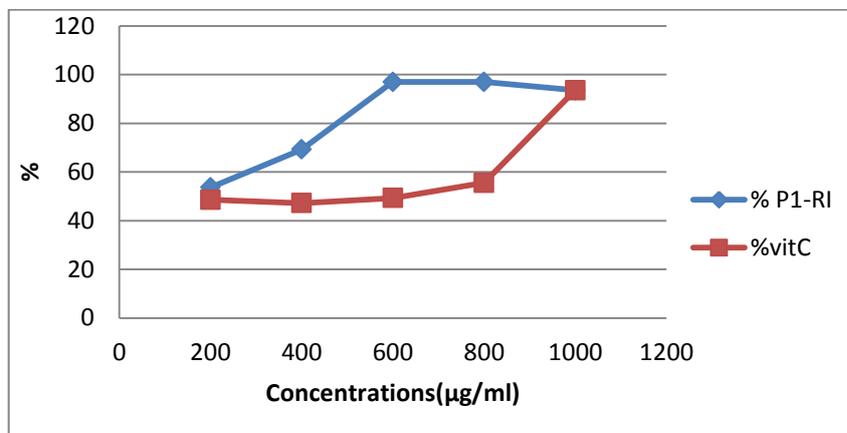


Figure 16 : Pourcentage d'inhibition pour l'échantillon (1^{ERE} p-R₁) et la vitamine C.

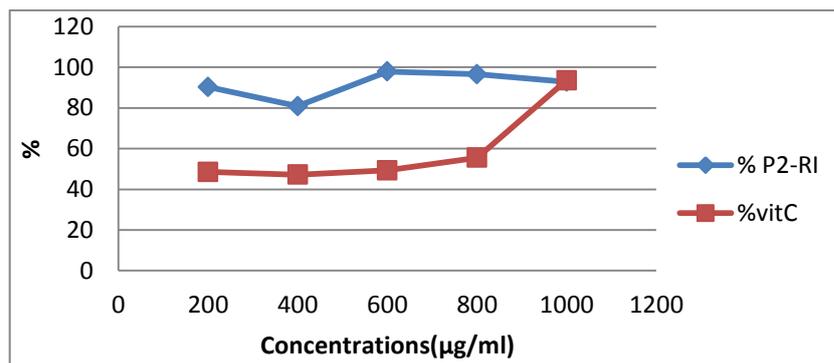


Figure 17: Pourcentage d'inhibition pour l'échantillon (2^{EmE} p-R₁) et la vitamine C.

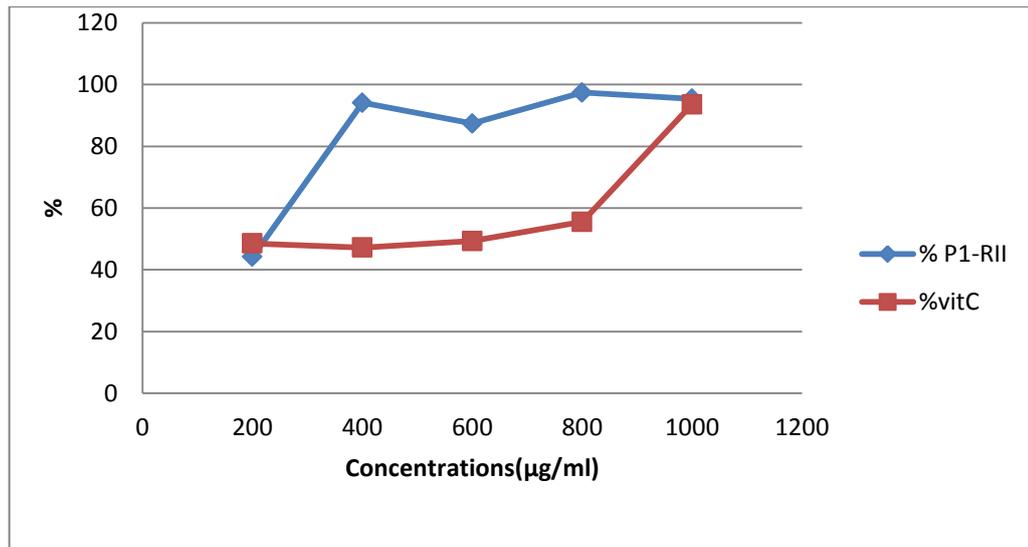


Figure 18: Pourcentage d’inhibition pour l’échantillon (1^{ère} p-R_{II}) et la vitamine C.

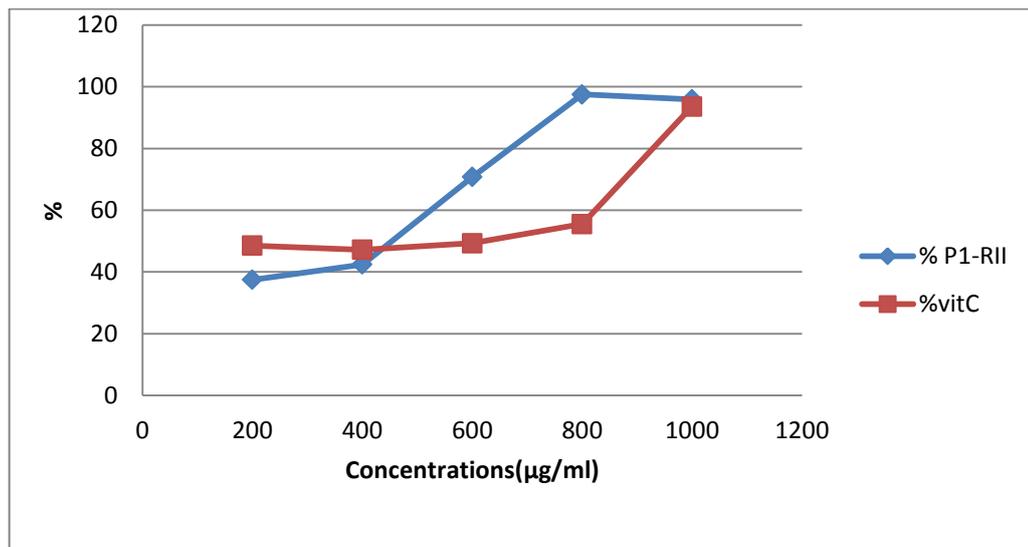


Figure 19 : Pourcentage d’inhibition pour l’échantillon (2^{ème} p-R_{II}) et la vitamine C

Discussion

La différence de résultats marqués par les différents extraits en rendement et en concentration en polyphénols totaux, est due au facteur région, période d’échantillonnage et au facteur altitude. D’autres facteurs sont signalés par Fabbri, tel que la nature de sol, le

climat et période de l'année qui peuvent caractériser la composition chimique d'une plante. Elle peut être liée aussi aux conditions opératoires incluant la nature du solvant (Schultz et Ambroscheit, 1989. La température d'extraction, les solvants utilisés, la structure de la matière solide, l'agitation. (Dibert 1989; Leybros et Frémeaux 1990). Le rôle de l'agitation se traduit par le maintien en suspension et l'homogénéisation du milieu, il permet aussi de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide liquide et d'augmenter le coefficient de transfert (Dibert 1989; Leybros et Frémeaux 1990).

Les résultats de la teneur sont en concordance avec ceux obtenus par Boudhioua et al (2008) qui ont étudié l'effet de la variété d'olivier sur les polyphénols extraits de feuilles. Ces auteurs suggèrent que cette variation est due aux changements climatiques et aux facteurs édaphiques.

La composition chimique des polyphénols est largement influencée par la localisation géographique et les conditions environnementales. (rotondi., 2014). Les composés phénoliques sont très variables, tant sur le plan quantitatif que qualitatif. L'origine géographique a une forte influence sur le développement de certains phénols (Vinha A.F .,2005).Un autre facteur très important est la variété. De nombreuses études ont montré que certaines variétés d'olives étaient plus riches en composés phénoliques que d'autres (Gomez., 2008 ; Tura., 2008 ; Tura, 2007 ; Vinha., 2005).

1.5.Activité anti-inflammatoire

Le criblage de l'activité anti-inflammatoire est réalisé par le test de la carragénine. Cet agent phlogogène induit au niveau de la patte des souris un œdème considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et paramètre important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés. Cette technique a été sélectionnée en raison de sa simplicité d'exécution et en raison de sa reproductibilité.

L'évolution de l'œdème suite à une injection de la carragénine évolue selon le temps et se divise en deux phases : la première phase se situe entre 0 et 30min ; la deuxième phase est de 1 à 4h. Des études antérieures ont indiqué que la troisième heure après administration

de la carragénine présente un effet maximal (KIRKOVA., 1992).

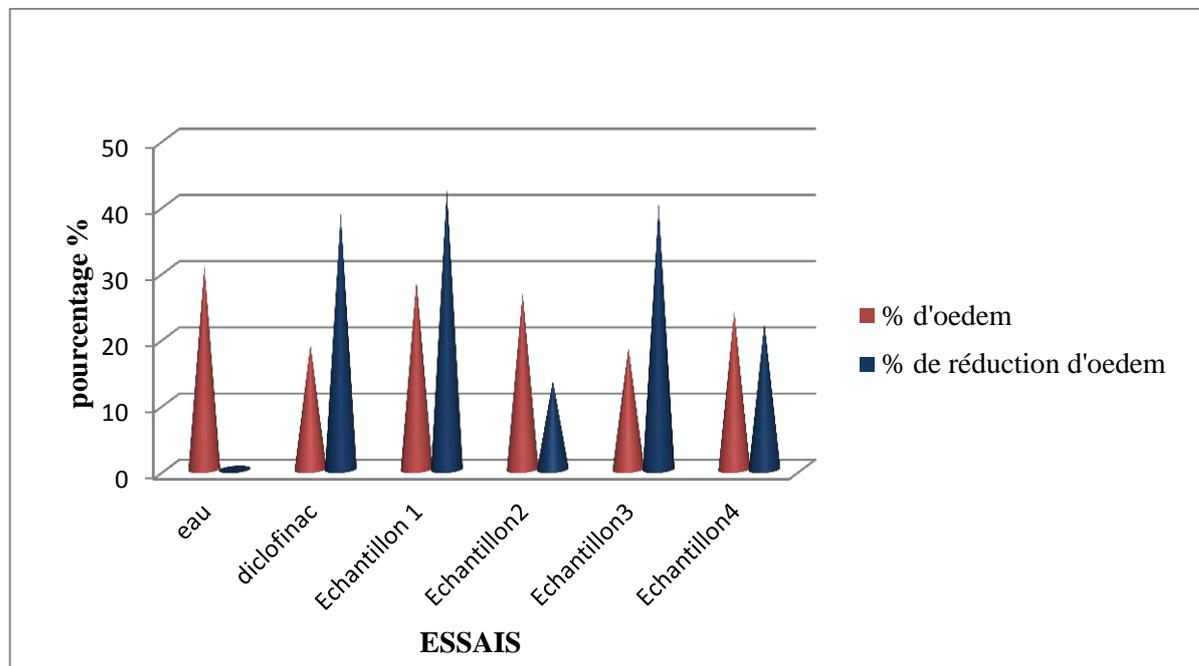


Figure 20 : pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les lots traité.

Echantillon 1 : R1P1

Echantillon 2 : R1P2

Echantillon 3 : R2P1

Echantillon 4 : R2P2

D'après la figure 30, nous remarquons que le lot traité avec de l'eau physiologique (témoin) est celui qui présente le pourcentage d'œdème le plus élevé (30,90%) en comparaison avec les 5 autres lots, 18,90% pour Diclofinac®, 28,71% pour R1P1 et 26,73% pour R1P2, 18,51% pour R2P1 et 24,03% pour R2P2.

Egalement, nos résultats montrent que les polyphénols totaux (PPT) de nos extraits administrés par voie orale marquent une réduction significative de l'œdème des pattes gauches postérieures avec 42,33% pour R1P1 et 40,09% pour R2P1 respectivement, suivis par 22,23%

de R2P2 et 13,49% de R1P2. les taux des deux extraits R1P1 et R2P1 se montre plus élevé que le taux de réduction marqué par le produit de référence (diclofénac®). ce dernier induit une réduction de l'œdème de 38,72%.

Les résultats ont indiqués que nos extraits ont présenté une activité anti-inflammatoire significativement plus élevée que celle du control positif (Diclofénac®) pour la 1^{ère} période (novembre adécembre) et une activité plus faible pour la 2^{ème} période (février au mois de mars). Cette différence de résultats entre extraits peut expliquer que la composition est largement influencée par la localisation géographique, la date d'échantillonnage et les conditions environnementales de la plante. (Rotondi., 2014).

La réponse inflammatoire au cours de l'athérogènes comprend l'adhésion des leucocytes, des monocytes et des lymphocytes à l'endothélium. L'adhésion de ces cellules est facilitée par les molécules d'adhérence intercellulaire 1 (ICAM-1), les molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1) et le facteur E-sélection (Dell'Agli., 2006). Carluccio (2003) ont rapporté que des doses physiologiquement pertinentes de composés phénoliques extraits de l'huile d'olive extra vierge réduisent l'expression des ICAM-1 et des VCAM-1 sur la surface des cellules (fig. 21). Un mélange de polyphénols d'olive, y compris l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et le tyrosol a aussi permis une diminution des taux d'ARNm de VCAM-1, du facteur E-sélection et l'activité du promoteur du gène codant pour l'ICAM-1 (Carluccio., 2003). (Fig.21).

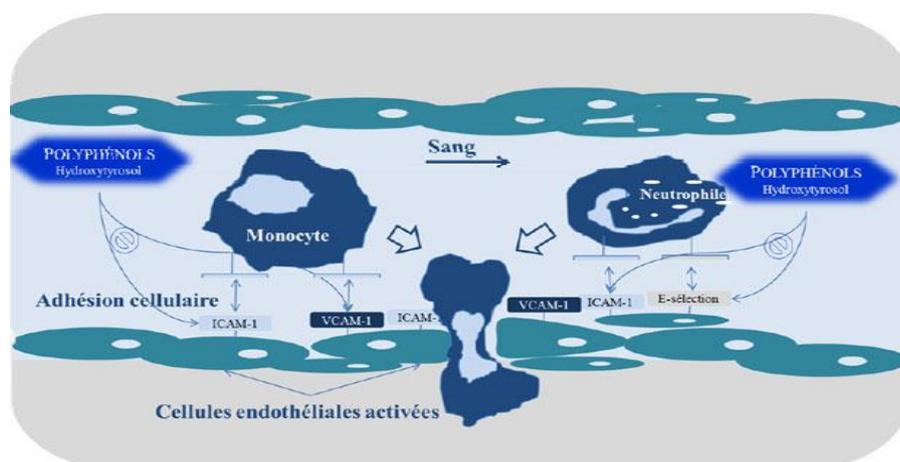


Figure 21 : Effet anti-inflammatoire des polyphénols, action sur les molécules d'adhésion endothéliales

1.6. Activité antimicrobienne

Les tests in vitro des activités antimicrobiennes d'extrait brut de feuilles d'olivier spontané vis-à-vis des quatre souches pathogènes ont été évalués qualitativement et quantitativement par la présence ou l'absence des zones d'inhibition. Les résultats sont représentés dans le Tableau ci-dessous :

Tableau VI: diamètre des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes traitées par les quatre extraits polyphénoliques de feuilles d'oléastre.

Microorganismes testés	Souches	Délution	ZI/mm				Sensibilité			
			R ₁ P ₁	R ₁ P ₂	R ₂ P ₁	R ₂ P ₂	R ₁ P ₁	R ₁ P ₂	R ₂ P ₁	R ₂ P ₂
Levure	<i>Candida albicans</i>	-	–	–	–	–	r	r	r	r
			–	–	–	–	r	r	r	r
Bactérie	<i>Escherichia coli</i>	-	–	–	–	–	r	r	r	r
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	–	–	–	–	r	r	r	r
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	6,7	–	6,8	7,4	≈	r	≈	≈

Le diamètre des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition :

r : résistance

– : aucune zone d'inhibition pour l'extrait pur.

≈ : sensibilité très faible

Les résultats obtenus pour ces composés sont comparables à ceux de l'eau et de méthanol comme contrôle négatif, et un antibiotique « l'ampicilline et la pénicilline-G » utilisé comme un témoin positif qui a marqué une zone d'inhibition de 9,9 mm.

Chebaibi, (2007), signale que les feuilles d'*Olea europea* L. possèdent des composés ayant des propriétés antimicrobiennes importantes, sur plusieurs espèces dont

Staphylococcus aureus et *Pseudomonas aeruginosa*. Selon Brahim (2013), l'hydrolyse d'oleuropeine donne une aglycone connue comme agent antimicrobien.

D'autre part, une étude effectuée sur l'activité antibactérienne des huiles végétales (huile de tournesol, huile de maïs, huile de coton, huile d'olive), a montré qu'aucune de ces huiles végétales comestibles étudiées n'avait cette capacité, sauf l'huile d'olive issue de fruits (Medina 2006). Sudjana. (2009) ont testé un extrait de feuilles d'olivier contre 122 espèces microbiennes. Ils ont constaté que cet extrait exerce un effet antimicrobien trop restreint, car parmi l'ensemble des micro-organismes testés, uniquement *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori* et *Staphylococcus aureus* ont exhibé une certaine sensibilité envers cet extrait. Ce qui est confirmé dans notre étude pour *S.aureus* marque une faible sensibilité à trois extraits (le R1P1, R2P1 et R2P2) avec une ZI de (6,8 -6,8- 7,4). En outre, les activités antimicrobiennes de ces extraits sont difficiles à corréler à un composé spécifique en raison de leur complexité et de leur variabilité. Néanmoins, certains chercheurs (Wendakoon CN, Sakaguchi M (1995)) ont signalé qu'il existe une relation étroite entre la composition chimique en éléments les plus abondants et l'activité antimicrobienne. Cependant nos résultats ne nous laissent deux explications significatives, qui sont : soit ces extraits à faible activité antimicrobiennes pourraient être dus aux conditions d'incubation ou de contamination au laboratoire au cours de la manipulation. (Lee OH, Lee BY, 2010), où, à nos extraits qui ne renferment pas assez de composés à activité antimicrobienne.

Pour la différence observées entre les différents extraits, pourraient être dues aux à la période d'échantillonnage, l'altitude et la région qui commandent la répartition des différents composés d'un extrait polyphénolique de feuilles à l'autre, liées aux changements tout au long du cycle végétatif de la plante ainsi que les conditions environnementales qui prévalent dans les régions méditerranéennes Wendakoon CN, Sakaguchi M. Les facteurs environnementaux tels que la géographie, la température, la longueur du jour, les éléments nutritifs, etc. devraient être examinés pour leur rôle clé dans la composition chimique des extraits obtenus à partir des feuilles d'oliviers. Ces facteurs influent sur les voies de

biosynthèse de la plante et, par conséquent, la proportion relative des composés principaux caractéristiques. Cela conduit à l'existence de chémotypes différents qui distinguent les extraits de différentes origines. (Kim J, Marshall MR, Wei.,1995).

Cette étude rentre dans le domaine de la valorisation de l'olivier spontané, qui est largement utilisé en médecine traditionnelle en raison de leur richesse en substances thérapeutiques. Nous nous sommes intéressés dans notre travail à étudier la richesse des feuilles d'olivier en polyphénols totaux, leur composition chimique et l'activité antioxydante et antimicrobienne dans deux régions différentes (Chéreaa, Soumaa), et durant deux périodes de l'année (novembre-décembre) et de (février-mars).

A partir des résultats obtenus, nous concluons que les feuilles spontanées de la région de Soumaa période allant de février à mars, ont donné un rendement plus élevé (17%) suivi par les feuilles spontanées de la région de Chrea de la période allant de novembre à décembre avec un rendement de 14,43. Toutefois, les feuilles spontanées de la région Chrea de la période allant de février à mars, marquent un rendement plus élevé (12,4%) que celui des feuilles spontanées de la région de Soumaa, période (novembre-décembre).

En matière de teneur en polyphénols totaux, les feuilles d'olivier spontanées de la région de Chrea de la période (novembre-décembre) ont montré une teneur plus élevée de 0,961 EGA/g, suivies par les résultats des feuilles d'olivier spontanées de la région de Soumaa, période (février-mars) et cela avec 0,48 EAG/g, ensuite les résultats de la région de Soumaa, en période de novembre-décembre, avec 0,463 EAG/g et la plus faible teneur était marquée chez les feuilles d'olivier spontanées de la région de Chrea, en période de février-mars et avec 0,09 EAG/g.

Pour les activités biologiques, un taux de réduction significatif de l'œdème des pattes gauches postérieures de 42,33% obtenu par l'extrait polyphénolique R1P1 (région de Soumaa, période étalée entre novembre à décembre) et 40,09% pour R2P1 (région de Chrea, période de novembre à décembre) respectivement. Les taux des deux extraits R1P1 et R2P1 se montrent plus élevés que le taux de réduction marqué par le produit de référence (diclofinac®) qui est de 38,72%.

Par ailleurs, l'activité antioxydante des extraits polyphénoliques des feuilles de l'olivier spontané est importante. Tous les extraits phénoliques semblent avoir un effet meilleur que celui de l'acide ascorbique. En outre, une faible activité antimicrobienne a été notée au cours de cette étude, avec les extraits des feuilles d'olivier spontanées de la région Chrea et Soumaa.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que les feuilles *d'Olea europea oleaster* semblent avoir des effets biologiques pertinents, principalement en activité anti-inflammatoire et l'activité anti-oxydante.

Comme perspectives, il sera judicieux de poursuivre ce travail par des études complémentaires d'analyses chimiques et d'autre activité biologiques, pour une évaluation complète de cette plante noble. En outre, il sera important, pour asseoir sur des bases scientifiques, de bien cerner les effets thérapeutiques de d'oléastre vis-à-vis des maladies diverses, et ce, en déterminant les mécanismes d'action de ses différents composants polyphénoliques.

-A-

A.Puppo, Effect of flavonoids on hydroxyl radical formation by Fenton-type reactions; influence of the iron chelator. *Phytochemistry*, 31 (1992) 85-88

Aerts, R., November, E., Van der Borgh, I., Behailu, M., Hermy, M., Muys, B. Effects of pioneer shrubs on the recruitment of the fleshy-fruited tree *Olea europaea* ssp. *Cuspidata* in Afromontane savanna. *Applied Vegetation Science* 9, 2006; 117–126.

Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the
Amrouche M (1999) Contribution à l'étude des ressources phytogénétiques oléicoles algériennes : recherche de la variabilité phénotypique au sein de la variété Chemlal dans la région de TAZMALT – AKBOU. Thèse. ing. Agr. Univ. Tizi-Ouzou. 136P.

Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg T. Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.*28, 1996; 65-180. antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*,

Aranda, S., Montes-Borrego, M., Jiménez-Díaz, R.M., Landa, B.B.(2011) Microbial communities associated with the root system of wild olives (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris*) are good reservoirs of bacteria with antagonistic potential against *Verticillium dahliae*. *Plant Soil* 343, 2011; 329–345.

-B-

Baldy, C. (1990). . Le climat de l'olivier : zonation, limites climatiques. *Ecologia Mediterranea* (16), 113-121. <http://prodinra.inra.fr/record/106244>..

Belarbi M., Bendimered S., Sour S., Soualem Z., Baghdad C., Hmimed S., Chemat F., Comparison of the chemical composition and the organoleptic profile of virgin olive *113* (4),1202. *113*, 1226-1233.180

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., Del Rio, J. A., (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L-leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462.

Benlemlih M, Ghanam J (2012). Polyphénols d'huile d'olive trésors santé,

Bennani-Kabchi N.,Cherrah Y.,EL Bouayadi F.,Kehel L.AND Marquie G. (2000).effet thérapeutique des feuilles d'*Olea europea* var.oleaster sur le métabolisme glucidolipidique

chez le rat des sables(*psammomy obesus*) obèse prédiabétique .*Annales pharmaceutiques françaises*,58 :271-277 .

Bennani-Kabchi N., Fdhil H., Cherrah Y., (1999). Effects of *Olea europaea var. oleaster* Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Progr. Lipid Res.* 39, p: 151-

Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Uccella N, Saija A.1999. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol.* Vol. 51. (1999). pp. 971-4.

Bossokpi Igor Passi Lysette. Etude des activités biologiques de fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae), thèse de pharmacie 2002, Bamako page 133.

Boudhioua N., Ben Slimen I., Bahloul N. et Kechaou N (2008). Etude du séchage

Boudribila M-M., (2004). Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et

Bourgou Soumaya, Ksouri Riadh, Bellila Amor, Skandrani Ines, Falleh Hanen,

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igić, R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*, 2008 ; 111, 925–929.

BROTHWELL, DON H and PATRICIA T “Food and antiquity” 153-157, Edition Frederick A, Praeger 1969.

Bruneton, J., (1993). Pharmacognosie. Technique et documentation-Lavoisier, Paris, p.278.

-C-

Campbell et Luckert., 2002,People and Plants Conservation Series, 262p, Earthscan Publications, London, UK 2002, 1-85383-809-8.

CHAUX C, Rapports de la station expérimentale de Sidi-Aich(Algérie) et du conseil de Chem. 59 (16), p: 8667-8669.

Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbial. Rev* 12 (4), 1999; 564-582.

Cronquist A., (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. Clarendon Press, Oxford.

-D-

Dabbou S., Dabbou S., Selvaggini R., Urbani S., Taticchi A., Servili M., Hammami M., 2011. Comparison of the chemical composition and the organoleptic profile of virgin olive oil from two wild and two cultivated Tunisian *Olea europaea*.

Daya Romaiassa, 2014 .Evaluation des polyphénols des feuilles et fruits d'*olea europea* et *olea europea olaster*, et leur effet sur le diabète

DAOUDI L., 1994 – Etude des caractères végétatifs et fructifères de quelques variétés d'olives locales et étrangères cultivées à la station expérimentale de Sidi-Aiche (Bejaia), Thèse de Magistère, Inst, Nat, Agr, El-Harrach, 130p.

De Candolle A., (1883). Origines des plantes cultivées. Ed., Librairie Germer Bâillère, Paris.

De la Puerta R., Guttierrez VR., Hoult JRS (1999). Inhibition of leukocyte 5-

Dibert K., (1989). contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile, Congrès Français du Génie des Procédés. 2. s.l. : s.n., 7 p.

Doveri S., Baldoni L., (2007). Olive in Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Ed C. Kole. Volume 4: Fruits and Nuts, p: 253-264.

-F-

FAO/WHO, (2003). www.fao.org/docrep/x1880f/x1880f03.htm.

Fylaktakidou, K.C., Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E., Nicolaidis, D.N., (2004). Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/ antioxidant activities. *Curr. Pharm. Des.* 10 (30), 3813-3833.

-G-

Ghedira K., (2008). L'olivier. *Phytothérapie.* 6, p: 83-89.

Goudyer A., (2000). The greek herbal of Discorides, illustrated by Byzantine A. Ed. IBIDIS

Green P. S., A revision of *Olea*. (*Oleaceae*). *Kew Bull.* 57, 2002 ; 91-140.

Guerin, J., Mekuria, G., Burr, M., Collins, G., Sedgley, M. Selection of olive cultivars. *Acta Horti:* 622, 2003; 231–234.

Gut B., (2008). Trees in patagonia. Ed. B irkhäuser Basel, Germany. p: 283.

-H-

Habtemariam, S., (2003). Cytotoxic and cytostatic activity of erlangerins from *Commiphora*

Hannachi H., M' sallem M., Benalhadj S., El-Gazzah M. (2007). Influence du site géographique sur les potentialités agronomiques et technologiques de l'olivier (*Olea europaea*) en Tunisie. *C.R. Biologies* 330, p 135-142.

Hartmann Thomas. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* Volume 68, Issues 22–24, 2007; 2831–2846.

Hartmann Thomas. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* Volume 68, Issues 22–24, 2007; 2831–2846.

Harvey Mueller. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health, *J. Sci. Food Agric*: 86, 2006; 2010–2037.

Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér*, 1, 2004; 3-6. *International*, 8 (3), 121-137.

-J-

Jacques-Meunié D., (1982). Le Maroc saharien des origines à 1670, Klincksieck, Paris. 2

-K-

Karakaya, S., (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44 (6), 453-64.

Kim J, Marshall MR, Wei C (1995) Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *J Agric Food Chem* 34:2839–45 .l'expérimentation et des recherches agronomiques Alger. l'acide chlorogénique du café vert. LYON, Claude Bernard LYON I. Engineer's Handbook. leaves in hypercholesterolemic insulin-resistant sand rats. *Thérapie*. 54(6), p : 717-723.

-L-

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, O.H., Lee, B.Y., Lee, J., Lee, H.B., Son, J.Y., Park, C.S., Shetty, K., Kim, Y.C., (2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, 100, 6107-6113.

Leong, L.P., Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.* 76, 69-75. lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem Pharmacol.*; 57: 445–449.

Lo Scalzo, R., Scarpati, M.L., Verzebnassi, B., Vita, G., (1994). *Olea europaea* chemical repellent to *Dacis oleae* females. *J. Chem. Ecol.*, 20, 1813-1923.

LOUSSERT R, et BROUSSE G, « L'olivier » Edition Moissonneuve et Larose Paris 1978.

Lumaret R., Ouazzani N., Michuad H., Vivier G., Deguilloux M-F., Di Giusto F., (2004).

-M-

MAHBOULI A, «l'économie oléicole dans le méditerranéen-Options méditerranéennes »24 ,39-34-1974 et 12^e congrès international des industries agricoles et alimentaires – Athènes, Avril 1974.

Manach C, Scalbert A, Morand C & Jimenez L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 2004; 727-747.

Manel Zeghidi Hbaib , <https://fr.scribd.com/doc/137103359/Olea-europaea>, on Apr 20, 2013.

Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Ann. Cardiol. Angéiol.* 51, 304-315. *Mediterranean basin. Heredity* . 92, p: 343-351.

Moussaoui Younes, Bensalem Ridha. Catalyzed Knoevenagel reactions on inorganic solid supports: Application to the synthesis of coumarine compounds, *C. R. Chimie* 10, 2007; 1162

Marzouk Brahim. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C. R. Biologies*, 2008; 48-55.

-O-

Omulokoli E., Khan B. and Chhabra S.C. Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*; 56, 2000; 133-137. *organisation sociale. AWAL.* n° 29, p : 17-31.

Owen R-W., Haubner R., Wurtele G., Hull W.E., Spiegelhalder B., Bartsch H., (2004).
Ozkaya, M.T, et Celik, M., (1999). Quantitative analysis of phenolic compounds in olive cuttings. *Acta Horticulturae*, 474, 477-480.p: 372.par infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne. *Revue des Energies Renouvelables* Polyphénols aux actions antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, anti-âge et protectrices cardio-vasculaires. Embourg, Belgique : marco pietteur, éditeur,ISBN 978-2-87211-117-6. Press. p: 35-145.

-P-

Priya Alphonso and Aparna Saraf, Chemical profile studies on the secondary metabolites of medicinally important plant *Zanthoxylum rhetsa* (Roxb) DC using HPTLC, 2012 ; 1293.

Priya Alphonso and Aparna Saraf, Chemical profile studies on the secondary metabolites of medicinally important plant *Zanthoxylum rhetsa* (Roxb) DC using HPTLC, 2012 ; 1293.

-R-

Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M., Pridham J.B (1995). relation to Holocene bioclimatic changes. *Quaternary Res.* 46, p: 176-85. *Research*, 22, 375-383.Rochelle, Université de La Rochelle.

Rotondi A.,BendiniA.,Cerretani L.,Mari M.,Lercker G.and Gallina Toschi T. 2004.effet of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of cv.nostrana di brisghella extra virgin olive oil.*Journal of Agriculture and food chemistry*,52:3649-3654.

Roué M. Contribution de la flore bactérienne associée au métabolisme secondaire de l'éponge calcaire *Clathrinaclathrus*. Doctorat de l'université Pierre et Marie Curie, 2011.

-S-

SA. Van Acker, MN. Tromp, GR. Haenen, WJ. Van Der Vijgh, and A. Bast, Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 214 (1995) 755-759

Salas J-L., Sanchez J., Ramli U-S., Manaf A-M., Williams M., Harwood J-L., (2000). – 1169.New York, McGraw-Hill Book Co: 247-289. oil from two wild and two cultivated Tunisian *Olea europaea*. *Chemistry and Biodiversity. Olives and olive oil in cancer prevention.* Eur J Cancer Prev. 13, p: 319-326.

Sanchez-Moreno C (2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology*

Sharma Om P., Bhat T.K (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry, SMSTS'08 Alger 111 – 116.*

Stoclet J.-C., Schini-Kerth V. Dietary flavonoids and human health. *Annales Pharmaceutiques Françaises* Volume 69, 2011; 78–90.

Sudjana AN, D’Orazio C, Ryan V, et al. (2009) Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int J Antimicrob Agents* 33: 461–3 .

-T-

Tabart J., Kevers C., Pincemail J., Defraigne J., Dommes J (2009)., Comparative
Terral JF., Arnold-Simard G., (1996). Beginnings of olive cultivation in eastern Spain in
 The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical*
 University Press, New York, USA. p:1262.

-V-

Visioli F., (2011). Oleaster oil positively modulates plasma lipids in humans. *J.Agric. Food*

Visioli F., Bellosta S., Galli C (1998). Oleuropein, the bitter principles of olives,
 Vol 8, p: 189-202.vol. 990 p.

-W-

Wendakoon CN, Sakaguchi M, (1995) Inhibition of amino acid decarboxylase activity of
Enterobacter aerogenes by active components in spices. *J Food Prot* 58:2803(antibactérienne)

-Z-

Zohary D., (1973). Domestication of plants in the Old World. The origin and spread of

Zohary D., (1995). Olive. *Olea europaea* (oleaceae) In: Smartt J. and Simmonds N.W. (eds),

ANNEXE 1

✓ *Médicaments a base de feuille d'olivier :*

<p>Arkogélules Olivier® Laboratoire Arkopharma</p>	<p>Gélules (275 mg, titrant à 6 % en oleuropeoside)</p>	<p>Indications : médicament avisée diurétique : il est traditionnellement utilisé pour faciliter les fonctions d'élimination rénale d'eau ; pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive.</p> <p>Posologie usuelle : Médicament réservé à l'adulte : 1 gélule, 3 fois par jour à prendre au moment des repas avec un grand verre d'eau ; la posologie peut être portée à 5 gélules par jours si nécessaire.</p> <p>Précaution d'emploi : Ne pas utiliser en cas d'allergie à l'un de ses constituants. Interactions médicamenteuses : pas d'interactions médicamenteuses recensées.</p>
<p>BOP ® Laboratoire PPDH (olivier, bouleau)</p>	<p>Comprime enrobé. Composition (par comprimé) : – olivier, extrait aqueux sec de feuilles (65 mg), – bouleau, extrait aqueux sec de feuilles (65 mg)</p>	<p>Indication : médicament de phytothérapie, traditionnellement utilisé pour favoriser l'élimination rénale d'eau.</p> <p>Posologie usuelle : Réservé à l'adulte, 2 comprimés le matin, 2 à midi, 2 le soir.</p> <p>Mises en garde et précautions : En raison de la présence de saccharose, ce médicament est contre-indiqué en cas d'intolérance au fructose, de syndrome de malabsorption du glucose et du galactose ou de déficit en sucrase-isomaltase. Il est préférable de ne pas utiliser ce médicament pendant la grossesse.</p>

Annexe 2

Tableau : l'absorbance des différent extarits :

Absorbance	R ₁ P ₁	R ₁ P ₂	R ₂ P ₁	R ₂ P ₂
PPT feuilles d'olivier sauvage	0,348	0,348	0,349	0,347

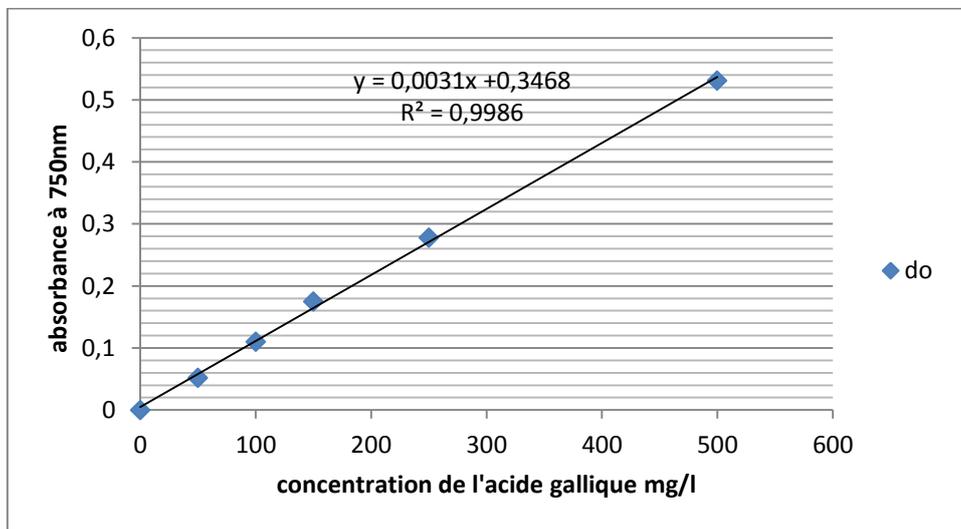


Figure : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau : les teneur en polyphénols pour les différents extraits.

extraits	R ₁ P ₁	R ₁ P ₂	R ₂ P ₁	R ₂ P ₂
Teneur en polyphénols	0,463	0,48	0,961	0,09

Annexe 4

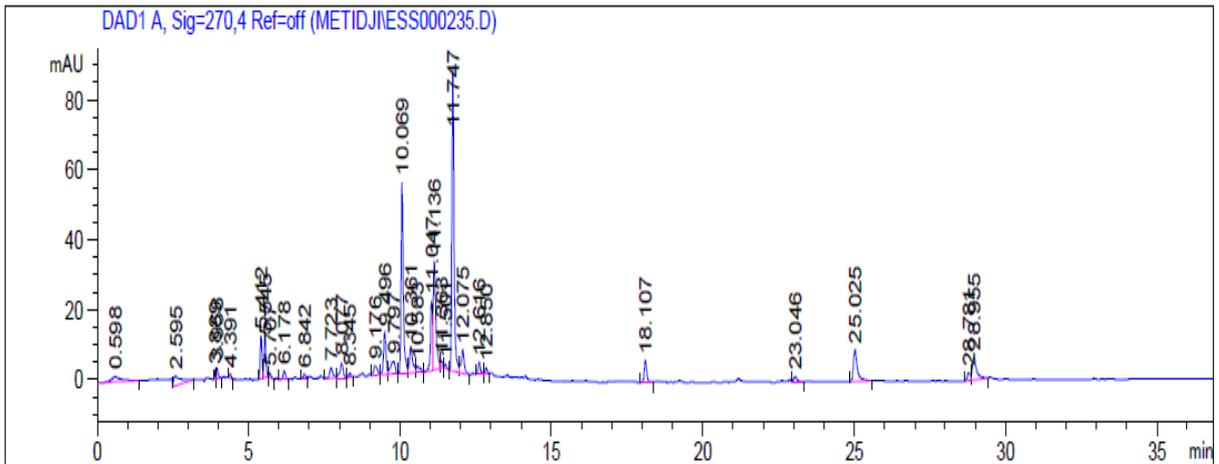


Figure: Chromatogramme HPLC à 270nm DE L'échantillon n°1 (R1P1)

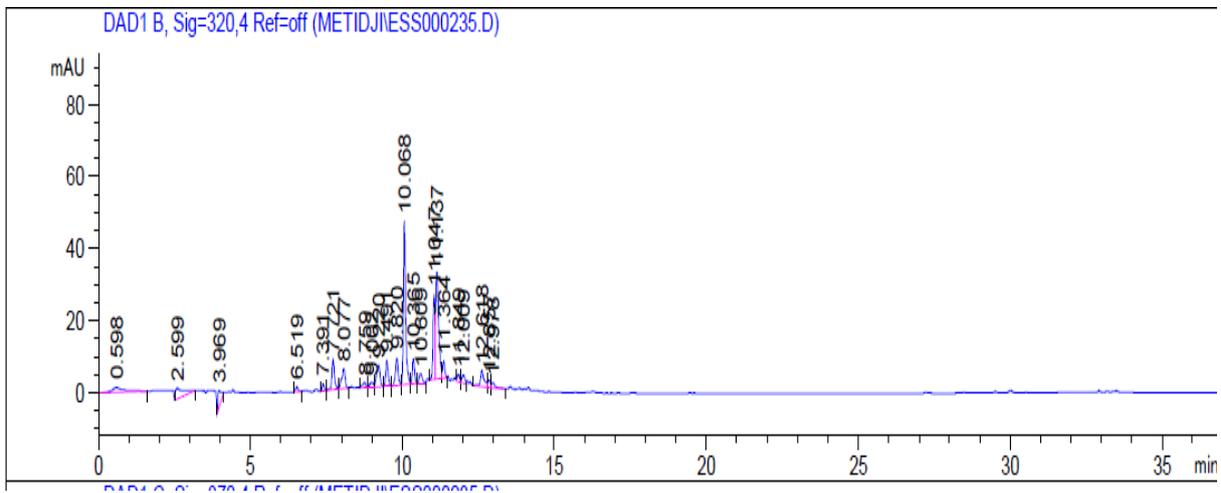


Figure : Chromatogramme HPLC à 320nm de l'échantillon n°1(R1P1).

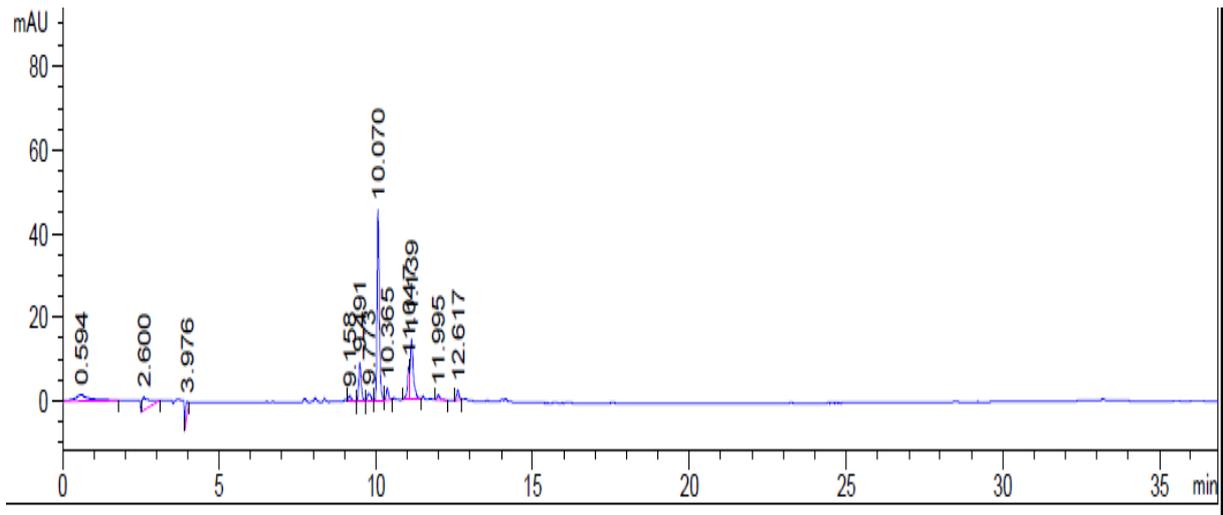


Figure: Chromatogramme HPLC à 370nm de l'échantillon n°1(R1P1).

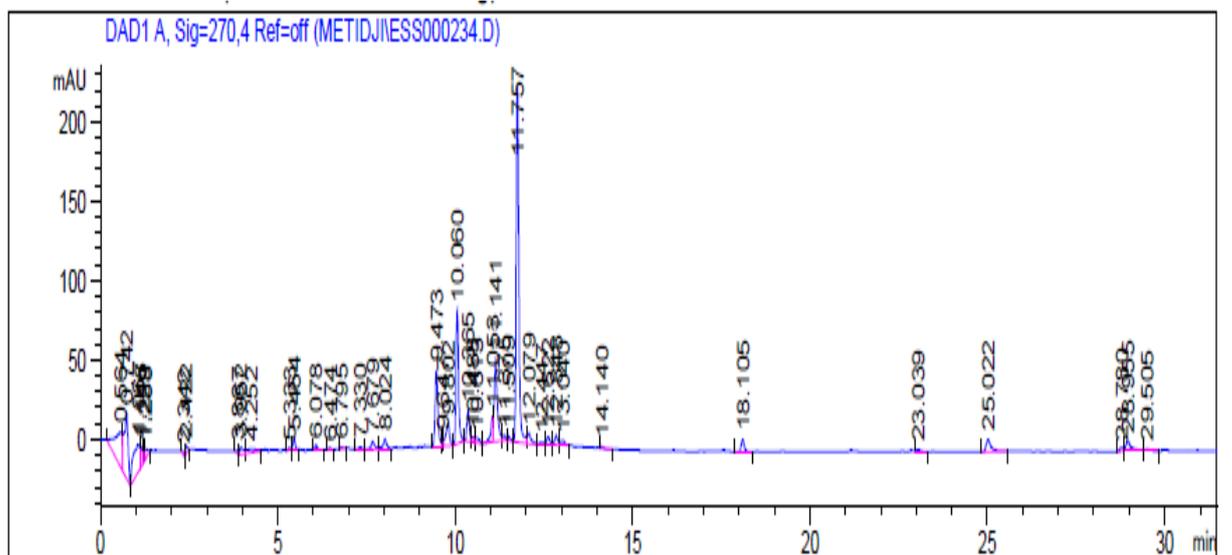


Figure: Chromatogramme HPLC à $\lambda=270\text{nm}$ de l'échantillon n°2(R1P2).

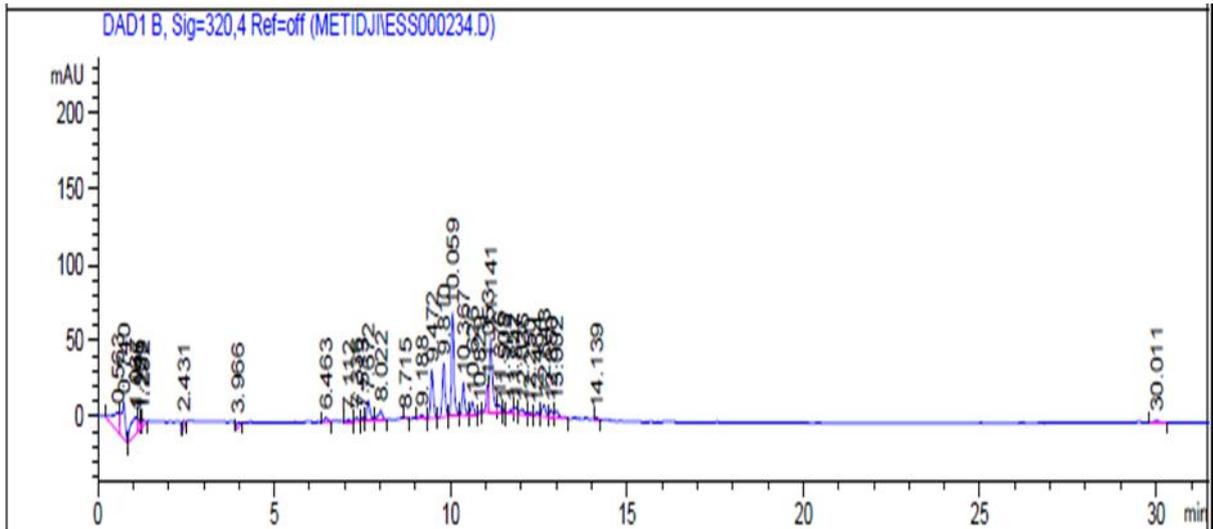


Figure: Chromatogramme HPLC à $\lambda=320\text{nm}$ de l'échantillon n°2(R1P2).

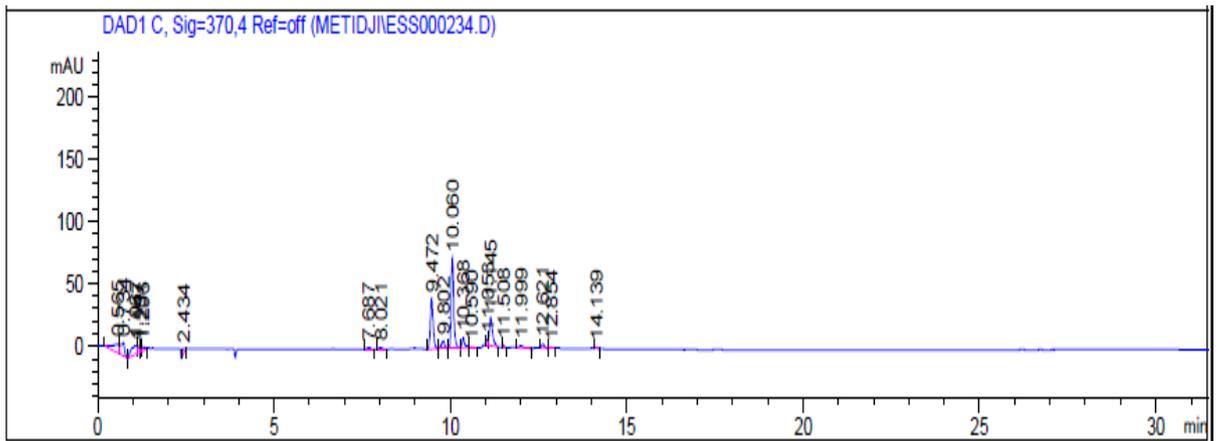


Figure : Chromatogramme HPLC à 370nm de l'échantillon n°2(R1P2).

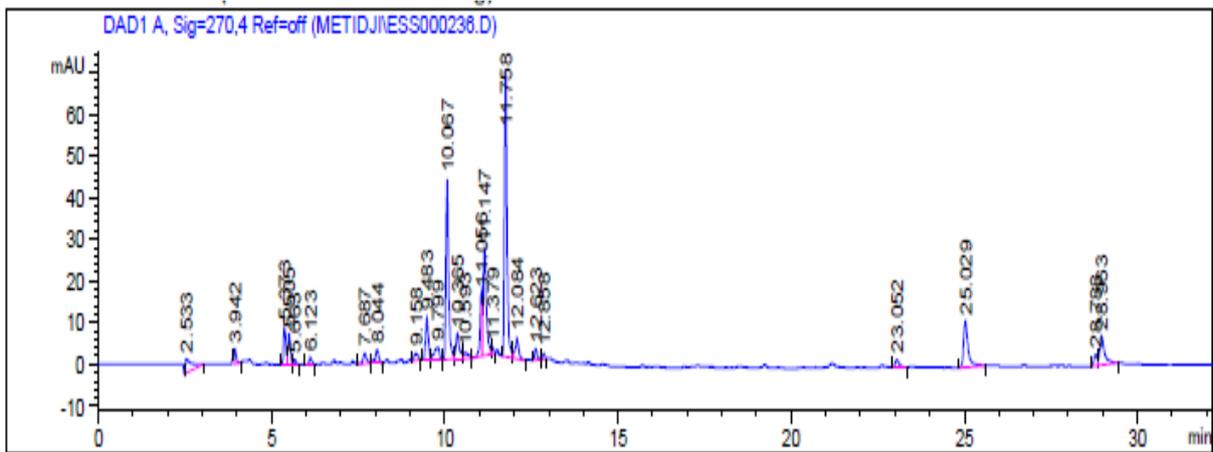


Figure : Chromatogramme HPLC à 270nm de l'échantillon n3(R2P1).

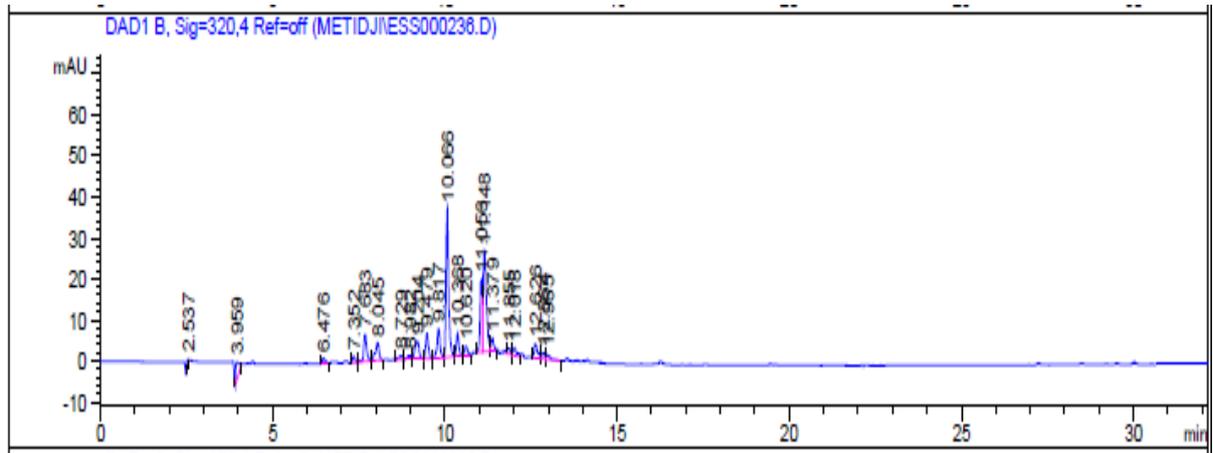


Figure: Chromatogramme HPLC à $\lambda=320\text{nm}$ de l'échantillon n°3(R2P1).

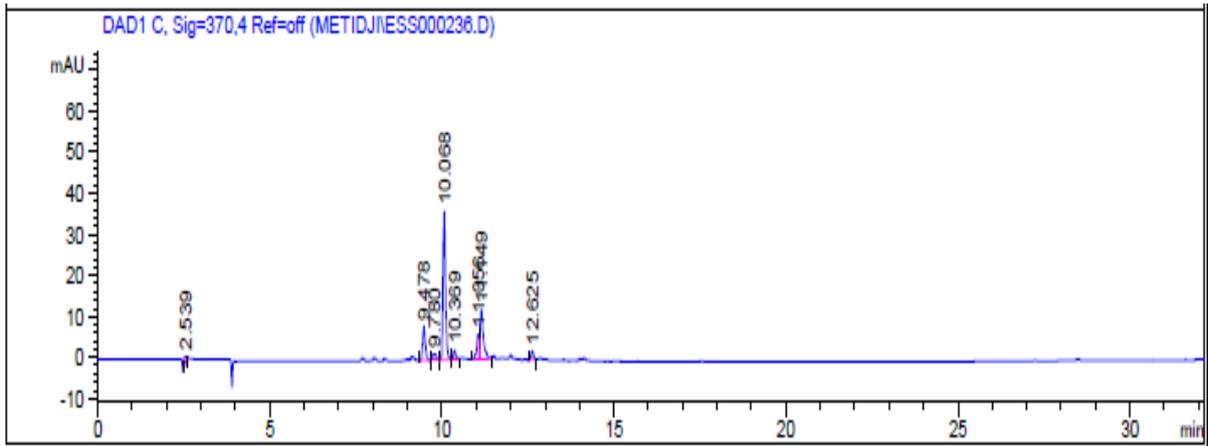


Figure : Chromatogramme HPLC à $\lambda=370\text{nm}$ de l'échantillon n°3(R2P1).

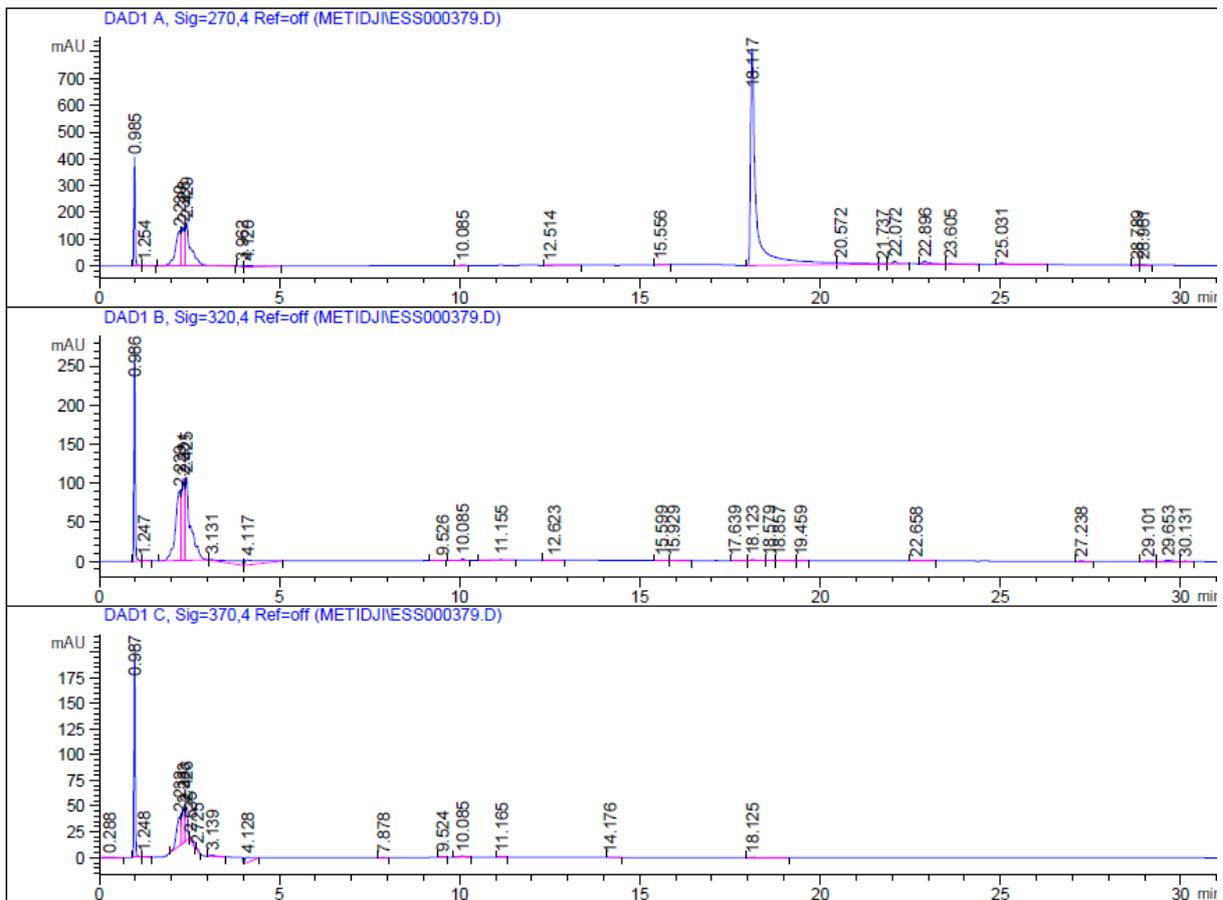


Figure: Chromatogramme HPLC à $\lambda=270\text{nm}$ et $\lambda=320\text{nm}$ et $\lambda=370\text{ nm}$ de l'échantillon n°4 (2RP2).

Annexe 3

1. Matériel utilisé au cours de notre expérimentation :

• Equipement:

- Balance de électronique
- Étuve $50\pm 5^{\circ}\text{C}$, 37° et 25°C
- Rota vapeur
- Broyeur électrique
- Spectrophotomètre UV-visible
- Réfrigérateur (4°C)
- Agitateur magnétique
- Cage pour souris .
- Balance analytique
- Mousseline
- Papier filtre
- Papier aluminium

• Verreries :

- Becher
- Ballon (100 ml et 500 ml et 1L)
- Éprouvettes (25 ml, 50 ml, 100 ml et 500 ml)
- Flacons en verre
- Entonnoir en verre
- Cuvette de spectrophotomètre en verre
- Ampoule à décanter
- Erlen Mayer

• Réactifs et solution

- Méthanol / Folin Ciocalteu
- Hexane / DPPH
- Chloroforme
- Acide gallique

Annexe 5

✓ Préparation des solutions :

- Préparation de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) 10%
Dissoudre 10g dans un volume de 100ml d'eau distillée.

✓ Dilutions à partir de la solution mère :

pour avoir des solutions diluées à partir d'une solution mère, appliquer la règle ($C_1 V_1 = C_2 V_2$).

C_2 : concentration de la solution diluée que l'on veut préparer (par exemple $C_2 = 100 \mu\text{g/ml}$)

V_2 : le volume connu de la solution diluée (par exemple $V_2 = 1000 \mu\text{l}$).

C_1 : Concentration de la solution mère ($C_1 = 200 \mu\text{g/ml}$).

V_1 : le volume inconnu de la solution mère qu'il faut prélever et ajuster à $1000 \mu\text{l}$ avec l'eau distillée pour avoir une concentration finale de $100 \mu\text{g/ml}$.

Application : $V_1 = C_2 V_2 / C_1$

$V_1 = 100 \cdot 1000 / 200 = 500 \mu\text{l}$.