

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA



FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

Mémoire en vue de l'obtention du

Diplôme de Master en Science de la Nature et de la Vie

Option : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et des Produit Naturels

Thème :

**Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits  
phénoliques des feuilles et des fruits *d'Olea europaea*  
*oleaster***

Présenté par : **LAMI Nadia**

Soutenu le 29 octobre 2013

Devant le jury composé de :

Mr AISSAT A.	M.C.A.	U.S.D.B.	Président
Mme GHANAI R.	M.A.A.	U.S.D.B.	Examinatrice
Mme BELGUENDOZ R.	M. A.A.	U.S.D.B.	Promotrice
Mme LASSAS N.	Médecin	C.H.U.B.	Co- promotrice

**Année universitaire: 2012 - 2013**

# Remerciements

*Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Un grand merci va à Mme **LASSAS N.** responsable du laboratoire d'analyse à l'hôpital de Boufariq de m'avoir dirigé et accueilli dans son laboratoire et d'avoir mis à ma disposition les conditions matérielles nécessaires à l'achèvement de ce modeste travail.*

*J'exprime mes plus vifs remerciements, et ma reconnaissance toute particulière et gratitude à l'égard du personnel du laboratoire d'analyse physico-chimique de **SAIDAL de Médéa** pour l'aide précieuse qu'ils m'ont apportée.*

*Je ne remercierai jamais assez la responsable du Laboratoire de Recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques Mme **HOUMANI** et les ingénieurs de ce laboratoire pour leur disposition et leur encouragement.*

*Mes vifs remerciements vont à Mme **BELGUENDOZ R.** d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour ses conseils pertinents et son suivi scientifique le long de la réalisation de ce travail et surtout pour la confiance qu'elle m'a témoignée*

*J'exprime mes sincères gratitude à Mr. **AISSAT A.** pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail et à Mme **GHANAI R.** qui nous a fait l'honneur de juger ce travail.*

*Un grand merci à Mr **FERRAH Zoubir** pour son aide précieuse.*

*Tout mon amour et ma gratitude sont adressés, à mon oncle **Kuider** et sa femme **Nadia** qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances au cours de mes années d'étude.*

*Je souhaite enfin remercier **les filles** de ma promotion de la Spécialité **BPMAPN**, avec lesquelles j'ai partagé les moments les plus difficiles dans la réalisation de cette étude. Sans oublier notre délégué **Youcef** pour sa disposition et ses services rendus durant toute mes années d'études qu'ils trouvent ici le témoignage de mes remerciements les plus amicaux*

# *Dédicace*

*A mes chers parents  
qui m'ont aidé à être ce que je suis, avec tant d'amour et d'affection.*

*A mes chères sœurs, Fella et Cherifa, ainsi qu'à leurs petites familles  
Pour leur aide et leur soutien moral.*

*A ma petite sœur Zola*

*A tout(e) mes amis (es) ; Dahbia, Nawel, Zaki et amina ; & tous ceux qui m'ont  
consacré temps, patience et conseils surtout dans les moments difficiles.*

*Spéciale dédicace à ma chère Soumia pour son amitié et ses conseils*

*A toute ma famille et à tous ceux qui ont contribué un jour à mon  
Éducation, Je dédie ce modeste travail.*

## Résumé

Dans le cadre de la valorisation des produits d'*Olea europaea oleaster*, nous avons entrepris une étude dans l'objectif est d'évaluer la variation des composés phytochimique selon les organes, leurs états sanitaires, le mode d'extraction et l'activité antibactérienne vis-à-vis de *S. aureus* ATCC 6538/P, *S. aureus* ATCC 29523, *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25929, *E. coli* ATCC 10536, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella tiphy*, *Pseudomonas aerogenosa* et *Klebseila pneumoniae*. Les résultats obtenus, après avoir établie deux extractions phénoliques différentes des fruits, des feuilles saines et des feuilles infestées par une cochenille diaspine, montrent que la teneur en polyphénols des fruits (0,0433 ; 0,0498 g EAG /g de poudre) est supérieure à celles des feuilles saines et infestées et que la teneur en polyphénols des feuilles infestés est supérieure (0,0423 ; 0,0324 g EAG/ g de poudre) à celle des feuilles saines. Un meilleur taux en polyphénols des feuilles, est obtenu par macération dans le méthanol 80% et le meilleur taux en polyphénols des fruits est obtenu par macération dans le méthanol 100%. Les analyses phytochimique montres la présence des saponines dans les feuilles infestées seulement. Les résultats obtenus relatifs à l'activité antibactérienne montrent une différence d'activité des extraits. Les *S. aureus* ATCC 6538/P et *S. aureus* ATCC 29523 se montrent sensibles aux extraits méthanoïques (80%) des feuilles saines et des feuilles infestées, et les extraits méthanolique (100%) des fruits et des feuilles infestées. Contrairement à la souche clinique *Staphylococcus aureus* qui s'est montré résistantes.

**Mots clés :** *Olea europaea oleaster*, cochenilles diaspine, fruits, feuilles, polyphénols, activité antibactériennes.

## مصخل

في سيقا تقييم منتجات زلاتيون لابي ( *Olea europaea oleaster* ) بدساره تهفد إلى دقتير تباين لامريكات لابنايته من حث الأضعاء، لاهتم لاصحية، رطيقه الاستصلاح و افلاعيه المضاده لبلتكيريا لابنسبه إلى *S. aureus* (ATCC 6538/P, ATCC 29523), *Pseudomonas aerogenosa* ATCC *S. aureus*, *Salmonella tiphy*, .27853, *E. coli* (ATCC 25929, ATCC 10536), *E. coli*, *Pseudomonas aerogenosa* و *Klebsiella pneumoniae* . لانتائج لاملصد عليها، بعد قلايام سابترخج لامريكات فلانيولييه رطبيقتين خمتقلين من زلاتيون، الأكارو لسلامييه و الأكارو لامصابه طساويه قرشلا رشقاويه، تيبين أن حمىو لابلويينيول في زلاتيون (0.0433، 0.0498 غ EAG / غ من لامقوحس) هو أعلى من حمىو الأكارو لاصحية و لامصابه و محتىو لابلويينيول في الأكارو لامصابه (0.0423، 0.0324 غ EAG / غ من لامقوحس) أعلى من حمىو الأكارو لاصحية. لانعقي في لاثيمانول 80% يعطي فالض سنقي للبلويينيول في الأكارو و لانعقي في لاثيمانول 100% يعطي أفضل سنبة للبلويينيول في زلاتيون. التلاحيل لابنايته تيبين و دوج لاصابوين في الأكارو لامصابه طقف. لانتائج لاعتمقله ابلفعاليه المضاده للبيكتيريا ظنهر قر فلا في لانطاش بين لامستلخصات. لاسلاتان *S. aureus* ATCC 6538/P و *S. aureus* ATCC 29523 ظنهارن ساسحيه للمستصلخ ملاتيانيلو (80) % قارولأ الصحيه اولأورقا لامصابه و للمستصلخ لاثيمانيلو (100%) زلاتيون اولأكارو لامصابه. لعي عكللاسلاسه طلايبه *S. aureus* لاتي أنتبذواقمه.

**الكلمات الداله:** زلاتيون لابي ( *Olea europaea oleaster* ) ، قرشلا رشقاويه، زلاتيون، الأوراق، لابلويينيول، افلاعيه المضاده للبيكتيريا.

## Abstract

In the context of the valuation of *Olea europaea oleaster* products, we initiated a study aims to assess the variation of phytochemical compounds organs, their health statements, the method of extraction and antibacterial activity towards *S. aureus* ATCC 6538/P, *S. aureus* ATCC 29523, *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25929, *E. coli* ATCC 10536, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella tiphy*, *Klebseila pneumoniae*and, *Pseudomonas aerogenosa*. The results after two different phenolic extractions established on fruit, healthy leaves and leaves infested by Scale insect show that the polyphenol content of fruits (0.0433, 0.0498 g EAG / g of powder) is higher than those of healthy and infested leaves, and that the polyphenol content of infested leaves is higher (0.0423, 0.0324 g EAG / g of powder) than healthy leaves. A better rate of polyphenols in leaves is obtained by soaking in methanol 80% and the highest rate of polyphenols in fruits is obtained by soaking in 100% methanol. The phytochemical analysis showed the presence of saponins in the infested leaves only. The results relating to the antibacterial activity show a difference in activity of the extracts. *S. aureus* ATCC 6538/P and *S. aureus* ATCC 29523 are sensitive to methanolic extracts (80%) of healthy leaves and infested leaves and to methanol extracts (100%) of fruit and of infested leaves. Unlike *S. aureus* clinical strain which has proved resistant.

**Key words:** *Olea europaea oleaster*, Scale insect, polyphénols, fruit, leaves, antibacterial activity.

## Liste d'abréviation

$\leq$  : Inférieur ou égale

$\geq$  : Supérieur ou égale

**ATCC**: American Type Culture Collection

**CMI**: Concentration minimal inhibitrice.

**EAG**: Equivalent d'Acide Gallique

**FeCl<sub>3</sub>**: Chlorure de fer

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**HCl** : Acide chlorhydrique

**INRA** : Institut Nationale de la Recherche Agronomique.

**MeOH** : Méthanol

**Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>**: Molybdène.

**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniac

$\emptyset$  : Diamètre

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**USDB** : Université Saad DAHLEB de Blida

**UV**: Ultra-violet

**W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>**: Tungstène.

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Oléastre .....	4
<b>Figure 2</b> : Feuilles d'oléastre .....	5
<b>Figure 3</b> : Fleure d' <i>Olea europaea</i> L.....	5
<b>Figure 4</b> : Fruit ou olive d' <i>Olea europaea</i> L. A : coupe transversale ; <i>n.</i> : noyau ; <i>pu.</i> : Pulpe ; B : coupe longitudinale ; <i>ép.</i> : épicarpe ; <i>més.</i> : Mésocarpe charnu ; <i>end.</i> : Endocarpe sclérifié ; <i>alb.</i> : Albumen ; <i>em.</i> : Embryon. ....	6
<b>Figure 5</b> : Distribution de l'oléastre dans le bassin méditerranéen. ....	7
<b>Figure 6</b> : Schéma représentatif de la structure chimique de l'oleuropéine .....	14
<b>Figure 7</b> : a : Feuilles d'oléastre ; b : Fruits d'oléastre .....	17
<b>Figure 8</b> : <i>Olea europaea oleaster</i> à l'université de Blida .....	17
<b>Figure 9</b> : Poudres obtenues après broyage des échantillons séchés (a : Fruits sains ; b : Feuilles saines ; c : Feuilles infestés). ....	18
<b>Figure 10</b> : Matériels utilisés pour le teste de l'activité antibactérienne .....	26
<b>Figure 11</b> :A : Cochenilles avec bouclier vu sous la loupe G x4,6 ; B : cochenille diaspine débrasée de son bouclier vu sous la loupe G x 6. ....	28
<b>Figure 12</b> : Variation de la teneur en polyphénols selon l'état sanitaire des feuilles et le mode d'extraction. ....	30
<b>Figure 13</b> : Variation de la teneur en polyphénols des fruits selon la méthode d'extraction. .	31
<b>Figure 24</b> : Variation de la teneur en polyphénols selon l'organe, l'état sanitaire et le mode d'extraction.. ....	32
<b>Figure 15</b> : Spectres FTIR de l'analyse des poudres végétales .....	36
<b>Figure 16</b> : Variabilité du diamètre d'inhibition des extraits issus de la macération méthanolique 80% de la poudre de fruits, de feuilles saines et de feuilles infestées sur les deux souches de <i>staphylococcus</i> .. ....	38

**Figure 17 :** Variabilité du diamètre d'inhibition des extraits issus de la macération méthanolique 100% de la poudre de fruits, de feuilles saines et de feuilles infestées sur les deux souche de *staphylococcus*.....40

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Les principales classes de composés phénoliques . . . . .	13
<b>Tableau 2 :</b> Les composés phénoliques de l'olive. . . . .	14
<b>Tableau 3:</b> Activité biologique de certains composés phénoliques . . . . .	14
<b>Tableau 4:</b> Bactéries utilisées dans l'évaluation de l'activité bactérienne . . . . .	19
<b>Tableau 5:</b> Teneur en eau des feuilles et des fruits d'oléastre. . . . .	29
<b>Tableau 6:</b> Rendement de l'extraction par méthanol 100% . . . . .	29
<b>Tableau 7 :</b> Résultats d'identification de métabolites secondaires dans le fruit d'oléastre. .	33
<b>Tableau 8:</b> Résultats d'identification de métabolites secondaires dans les feuilles saines et les feuilles infestées d'oléastre. . . . .	34
<b>Tableau 9:</b> Diamètres des zones d'inhibitions des extraits obtenues par méthanol 80% . . . .	37
<b>Tableau 10 :</b> Diamètres des zones d'inhibitions des extraits obtenues par méthanol 100%. .	39
<b>Tableau 11:</b> Résultat de la CMI de l'extrait issu de la macération de la poudre des fruits et des feuilles infestées dans le MeOH 100% sur <i>staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. . . . .	40

# Glossaire

**Alcoolature** : Médicament résultant de l'action dissolvante de l'alcool sur une ou plusieurs plantes fraîches.

**Allélopathie** : Est l'ensemble des interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante sur une autre au moyen de métabolites secondaires.

**Anthocyane** : Composé hétérocyclique oxygéné lié à deux noyaux benzéniques.

**Antibiotique** : Une molécule qui bloque ou détruit une bactérie est dite antibiotique.

**Béchuque et Antitussif** : Qui lutte contre la toux sèche et l'irritation.

**Coumarine** : composé hétérocyclique oxygéné insaturé comportant une fonction cétone et un noyau benzénique.

**Diurétique** : Substance qui augmente la production d'urine.

**Fébrifuge** : Produit faisant baisser la fièvre.

**Hypolipémiante** : Substance qui diminue le taux du cholestérol sanguin.

**Infection communautaire** : Infection non hospitalier causé par des flores endogènes, transmises par voie aérienne, par voie transcutané ou par voie digestive.

**Infection nosocomial** : Une infection contractée dans un établissement de santé.

**L'antibiogramme** : Est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

**La génine**: Composé formé au cours de l'hydrolyse d'un hétéroside (aglycone).

**Stéroïdes** : Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes (lipides à 30 atomes de carbones).

# Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Glossaire

Introduction. . . . . 1

## Partie bibliographique

### Chapitre I : Données bibliographique sur la plante « *Olea europaea oleaster* »

I.1. Généralité sur l'oléastre . . . . .	3
I.2. Historique et origine . . . . .	3
I.3. Description botanique de l'oléastre . . . . .	4
I.3.1. port . . . . .	4
I.3.2. Les feuilles . . . . .	5
I.3.3. La fleur . . . . .	5
I.3.4. Le fruit . . . . .	5
I.4. Systématique . . . . .	6
I.5. Propagation de l'oléastre . . . . .	6
I.6. Ecologie . . . . .	7
I.6.1. La température et l'eau . . . . .	8
I.6.2. Le sol. . . . .	8
I.7. Les ravageurs d'olivier . . . . .	8
I.8. Composition chimique de l'olivier . . . . .	8
I.8.1. De la feuille . . . . .	8
I.8.2. Du fruit . . . . .	9
I.9. Utilisation médicinale des feuilles . . . . .	9
I.10. Utilisations médicamenteuses des fruits . . . . .	10
I.11. Autre utilisation de l'Oléastre.. . . . .	10
I.12. Etudes antérieurs sur l'Oléastre . . . . .	10

## **Chapitre II : Les métabolites secondaires**

II.1. Généralité sur les métabolites secondaires .....	11
II.2. Classification des métabolites secondaires .....	11
II.2.1. Les alcaloïdes .....	11
II.2.2. Les terpénoïdes .....	12
II.2.3. Les composés phénoliques .....	12
II.2.3.1. Classification des composés phénoliques .....	12
II.2.3.2. Localisation des composés phénoliques dans la plante .....	13
II.2.3.3. les composés phénoliques rencontrés chez l'olivier .....	14
II.2.3.4. Rôles des composés phénoliques .....	15
II.2.3.5. Activité antibactériennes des polyphénols .....	16

## **Partie expérimentale**

### **Matériels et méthodes**

<b>I. Matériels</b> .....	17
I.1. Matériel végétale .....	17
I.1.1. La récolte des fruits et feuilles .....	17
I.1.2 Préparation des poudres .....	18
I.2. Matériel bactériologique .....	18
I.3. Matériel non biologique .....	19
<b>II. Méthodes</b> .....	20
II.1. Détermination de la teneur en eau des feuilles et fruits d'oléastre .....	20
II.2 Extraction des composés phénoliques .....	20
II.2.1. Extraction par Méthanol à 80% .....	20
II.2.2. Extraction par méthanol 100% .....	20
II.3. Détermination du rendement de l'extraction .....	21

II.4. Dosage des polyphénols . . . . .	21
II.5. Identification de quelques métabolites secondaires . . . . .	22
II.6. Analyse spectroscopique des poudres végétales par FTIR . . . . .	23
II.7. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits . . . . .	25
II.8. Détermination de la CMI . . . . .	26

## **Résultats et Discussion**

<b>I. Interprétation des résultats</b> . . . . .	28
I.1. Reconnaissance du ravageur de l'olivier . . . . .	28
I.2. Détermination de la teneur en eau . . . . .	29
I.3. Détermination du rendement des extraits en polyphénols . . . . .	29
I.4. Détermination de la teneur en polyphénols . . . . .	29
I.5. Résultat des analyses phytochimique des poudres de fruits et de feuilles d'oléastre . . . . .	32
I.5.1. Résultats pour le fruit . . . . .	32
I.5.2. Résultats pour les feuilles saines et les feuilles infestées . . . . .	33
I.6. Résultat d'analyse chromatographique des poudres végétales par FTIR . . . . .	35
I.7. Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits . . . . .	37
I.7.1. Teste d'efficacité antibactérienne des extraits par diffusion des disques . . . . .	37
I.7.2. Résultats de la concentration minimale inhibitrice . . . . .	40
<b>II. Discussion</b> . . . . .	41
<b>Conclusion</b> . . . . .	44

## **Références bibliographie**

## **Annexes.**

# **Introduction**

## Introduction

La pratique de l'utilisation des plantes, par tout les peuples et à travers tous les continents, pour se soigner date de la préhistoire (**KAROU et al., 2005**). Selon l'OMS, environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles des plantes (**SAVITHRAMA et al., 2011**) où la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales (**BIYITI et al., 2004**).

Cet intérêt pour la médecine traditionnelle est toujours croissant (**BIDIE et al., 2011**), actuellement plus de 120 composés provenant de plantes sont utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel (**BERUBE-GAGNON, 2006**). Néanmoins, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale (**KAROU et al., 2005**), malgré que les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité (**YANO et al., 2006**).

En Algérie comme dans les autres pays en voie de développement, les maladies infectieuses et parasitaires constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité (**BASLI et al., 2011**). La situation est plus préoccupante du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à plusieurs antibiotiques ce qui constitue un problème de santé important à l'échelle mondiale (**BENBRINIS, 2012**), d'où l'importance d'orienter les recherches vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments (**BOUHDID et al.**).

Selon **COWAN (1999)**, les polyphénols sont des principaux composés antimicrobiens des plantes, possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes (**DJENNANE et al., 2012**). De plus, Les métabolites secondaires, dont font partie les composés phénoliques, contiennent des substances très recherchées par les industries du cosmétique, pharmaceutique et phytothérapeutique. (**HAMMOUDI et al., 2012**).

Dans ce cadre, notre travail rentre dans le volet de la valorisation de l'oléastre (feuilles et fruits), arbre naturel des aires méditerranéennes, qui n'est pas exploité, en Algérie, dans d'autres domaines à part l'alimentation des animaux domestiques lorsqu'ils sont libérés dans la nature. Cette sous espèce est considéré comme étant une plante aromatique, médicinale et

un réservoir de composés naturels à effet bénéfique (SAIT, 2012), dont certains sont doués d'activités biologiques extrêmement importantes (DJENNANE et *al.*, 2012).

Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette étude, une synthèse bibliographique est présentée sur la phénologie et les caractéristiques botaniques de l'oléastre, sa composition chimique et ses effets thérapeutiques.

La deuxième partie expérimentale, est consacrée à l'étude phytochimique des poudres de fruits et feuilles, ainsi que l'impacte de l'infestation de l'oléastre par une cochenille diaspine, sur la variation quantitative des polyphénols et celle de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques.

**Partie**  
**bibliographique**

**Chapitre I**  
**Données**  
**bibliographique sur**  
**la plante**

### I.1. Généralité sur l'oléastre

Selon AIT YOUCEF (2006), *Olea europaea* L., var. *oleaster* DC., *Olea europaea*. Var. *sylvestris* ou *Olea sylvestris* Mill., sont les noms qu'on attribue scientifiquement à l'olivier sauvage communément dénommé oléastre en français. « Zebboudj, (زبوج) » en arabe Algérien et « Azeboudj » en berbère (OULEBSIR, 2010).

L'oléastre, dont le fruit est oléagineux, est un arbre indigène en Afrique du Nord qui pousse à l'état naturel comme la vigne et l'amandier (BOUDRIBILA, 2004), il se caractérise par des feuilles réduites et par un fruit résiduel non comestible (BENNANI-KABCHI et al. 2000).

L'arbre appartient à la famille des *Oléacées* (BARTOLINI et PETRUCCELLI ; 2002), dans l'ordre botanique des *Ligustrales* qui comprend près de 30 genres et 500 espèces comme le jasmin, le lilas, le forsythia, le frêne, le troène...etc. Le genre *Olea* comprend lui seul environ 35 espèces (LESPINASE et LETERNE, 2005) repartit sur les 5 continents (ARGENSON et al., 1999). L'olivier sauvage (*oleaster*), qui possèdent une grande diversité génétique, et l'olivier cultivé (*sativa*), dont le polymorphisme est beaucoup plus faible, relèvent de la même espèce (*Olea europea*) depuis les travaux du naturaliste suédois Cari Von Linné au XVIIIe siècle (LANGER, 2009 et BENHAYOUN et LAZZERY, 2007).

L'olivier sauvage est présent sous deux formes, non distinguables morphologiquement, soit indigène, soit féral dérivant de descendant ensauvagé d'olivier. Il est caractérisé par une lenteur de croissance et le passage tardif en phase de production ainsi qu'une remarquable longévité (BESNARD et BERVILLE, 2000; LUMARET et al., 2004).

### I.2. Historique et origine

L'olivier était déjà présent bien avant que l'homme n'apparaisse sur la planète (BENHAYOUN et LAZZERY, 2007), les premières traces découvertes de l'oléastre, dans le bassin méditerranéen, remontent au Tertiaire, il y a plus de 3 millions d'années. La présence de l'olivier sauvage se découvre en Afrique du Nord dès le dixième millénaire (LANGER, 2009), des incertitudes demeurent en ce qui concerne le ou les pays qui auraient donné naissance à cet arbre : l'Asie Mineure ou l'Afrique (FAURE, 2004).

Selon **LANGER, (2009)**, grâce a des recherches menées par les équipes de l'INRA de Montpellier, l'oléastre aurai eu son apparition à l'Afrique de l'Est au Miocène, entre -20 millions et -10 millions d'années, et non plus l'Orient comme l'a été si souvent dit et redit, écrit et imprimé.

En Algérie, l'oléastre véritable aurait existé depuis le 12<sup>em</sup> millénaire avant notre ère. De ce point de départ jusqu'au phéniciens (4000 à 3000 avant J. C.) aucune indication ne permet d'en comprendre l'évolution (**MENDIL et SEBAI, 2006**).

### **I.3. Description botanique de l'oléastre**

C'est un arbuste buissonnant de 6 m de haut à feuillage argenté (**POLAISE, 2007**), il a la particularité de posséder des rameaux épineux, presque quadrangulaires (**POLAISE, 2009**), des feuilles plutôt petites et plus arrondie et des fruits petit très amers (**ISAGER et SKYDSGAARD, 1995**).



**Figure 1 : Oléastre (LE DRIANT, 2012)**

#### **I.3.1. Le port**

Un port souvent plus dense, très ramifié et épineux (**VANDER VOSEN et MKAMILO, 2007**) Les troncs lisses et droits indiquent que les arbres sont encore jeunes. Le tronc est recouvert d'une mince écorce gris cendré à brun foncé, cet amincissement rend les troncs sensibles au moindre accident climatique. (**LANGER, 2009 ; FAURE, 2004**)

### I.3.2. Les feuilles

Les feuilles sont opposées, simples, persistantes et entières (VANDER VOSEN et MKAMILO, 2007), de forme ovale ou ovale lancéolée, un peu étroites, 2 à 5 fois plus long que large ; elles sont lisse de couleur verte à la face supérieure, de couleur vert-gris claire et argenté à face inférieure. Leur odeur est nulle et leur saveur est amère (AIT YOUCEF, 2006)



**Figure 2** : Feuilles d'oléastre (LE DRIANT, 2012)

### I.3.3. La fleur

Les fleurs sont blanches, petites, en tube à quatre lobes. Elles comportent deux étamines et deux carpelles. Regroupées en petits grappes denses axillaires dressées au sommet des rameaux ce qui constituent l'inflorescence (AIT YOUCEF, 2006).

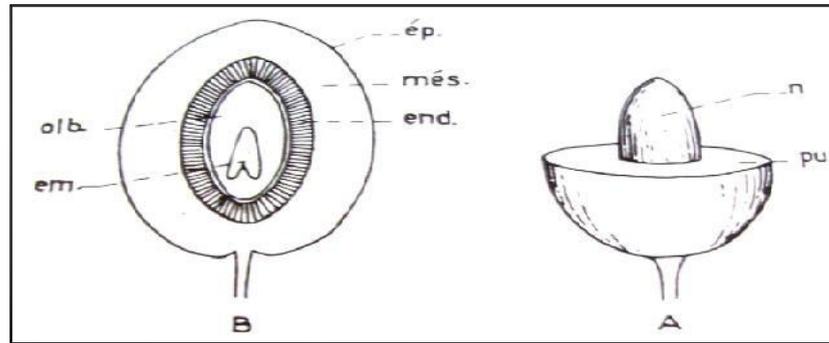


**Figure 3** : Fleure d'oléastre (LE DRIANT, 2012)

### I.3.4. Le fruit

Le fruit est une drupe de forme ovoïde 5 à 10 mm de long, de couleur verte puis rougeâtre puis noire à maturité ; son noyau est fusiforme épais, très résistant (AIT YOUCEF, 2006) et

un mésocarpe huileux moins épais (VANDERVOSEN et MKAMILO, 2007).



**Figure 4** : Fruit ou olive d'*Olea europaea* L. A : coupe transversale ; *n.* : noyau ; *pu.* : Pulpe ; B : coupe longitudinale ; *ép.* : épicarpe ; *més.* : Mésocarpe charnu ; *end.* : Endocarpe sclérifié ; *alb.* : Albumen ; *em.* : Embryon (PARIS et MOYSE, 1971).

#### I.4. Systématique

Selon GHEDIRA (2008), la classification de l'oléastre dans la systématique est la suivante :

Embranchement : *Magnoliophyta*.

Sous embranchement : *Magnoliophytina*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Oleaceae*

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea* L.

Sous espèce : *Olea europaea* subsp. *Europaea* var. *sylvestris*.

#### I.5. Propagation de l'oléastre

L'olivier sauvage ou oléastre est un élément typique de la végétation arbustive méditerranéenne. Il est présent dans tout les pays d'Afrique du Nord, les pays du Proche et

Moyen Orient ainsi que dans la plus part des pays de l'Europe méridionale. Il pousse dans les maquis de la zone littorale, sur des sols schisteux, ou il forme des fourrée dense (**VANDER VOSEN et MKAMILO. 2007 ; AIT YOUCEF, 2006**), il peut aussi être rencontré dans les zone semi-aride comme dans le Sud de l'Espagne et en Afrique du Nord où il se trouve sur des rives de cours d'eau temporaires (**DURAND et TERRAL 2010**).



**Figure 5:** Distribution de *Olea* dans le bassin méditerranéen (**GHEDIRA, 2008**).

En Algérie, l'oléastre pousse surtout sur les pelouses, dans les garrigues et les forêts claires; sur le littoral, il participe à la constitution de ce qu'on appelle les « brousses littorale ». Il se retrouve aussi au nord du Sahara où il est rare (**AIT YOUCEF, 2006**).

L'olivier sauvage se reproduit sexuellement et les graines sont dispersées par le vent et les oiseaux. Les variétés actuelles d'oliviers sont probablement issues de cet olivier sauvage, à force de taille, de soin et de sélection. (**ALCANTARA et Rey, 2003**)

## **I.6. Ecologie**

L'olivier sauvage est bien adapté au climat méditerranéen à saisons marquées, caractérisé notamment par des conditions thermiques et hydriques estivales très stressantes pour les végétaux. (**VAN DER VOSEN et MKAMILO, 2007 ; DURRAND et TERRAL, 2010**).

### **I.6.1. La température et l'eau**

L'oléastre occupe les régions les plus chaudes de la Méditerranée (**CARRION et al., 2009**), une température moyenne annuelle comprise entre 16 et 22°C lui convient parfaitement. Il supporte le froid mais pas le gel prolongé qui peut détruire ses bourgeons en très peu de temps (**BENHAYOUN et LAZZERY, 2007**).

La physiologie xérophytes des oliviers les rend hautement tolérants aux longues périodes de stress hydrique. (**VAN DER VOSEN et MKAMILO, 2007**)

### **I.6.2. Le sol**

L'olivier n'est pas exigeant quand au sol, il pousse dans tout type de sol avec une préférence pour un sol légèrement calcaire. Les terrains idéaux se situent sur les pentes orientées au sud des coteaux et piémonts, avec des sols légers et caillouteux (**BENHAYOUN et LAZZERY, 2007**).

## **I.7. Les ravageurs d'olivier**

L'olivier peut souffrir des déprédations d'une bonne quinzaine d'insectes spécifiques de cet arbre (**COUTIN, 2003**). Selon **ARGENSON et al., (1999)** ces insectes, comme la cochenille noire (*Saissetia oleae*), la Teigne de l'olivier (*Prays oleae*), la mouche de l'olivier (*Bactrocera oleae*)..., sont responsables de nombreux dégâts causées à l'arbre, dont :

- La fonction chlorophyllienne des feuilles peut être stoppée
- Chute des feuilles et des fruits.
- La consommation des organes floraux rend toute la fécondation impossible.
- Déformation de la feuille et du fruit.

## **I.8. Composition chimique de l'olivier**

### **I.8.1. De la feuille**

La feuille séchée renferme 8 à 10% d'eau, 4 à 5 % de matières minérales, une cire, du mannitol (2 à 3%). Les constituants les plus intéressants sont :

- Des pigments flavoniques : flavone : lutéoline et son glucoside en 7 ; une calcone, l'olivine et son diglucoside
- De la choline a été mise en évidence
- Des dérivés triterpéniques abondants (3-4 %). l'acide oléanolique en été isolé pour la première fois (sous le nom d'oleanol) cette acide triterpéniques comporte un hydroxyle en 3, un carboxyle en 28. il est accompagné d'acide crataegolique et d'un alcool, l'homoonestranol. Ces substances existent en partie sous forme d'hétérosides (saponosides).
- Un hétéroside amer, l'oleuropéine ou oleuropéoside, isolé des feuilles en 1908, mais dont la structure n'a été totalement élucidée que ces dernières années (**PARIS et MOYSE, 1971**). Cet oleuropéine est impliquée dans le système de défense naturelle de l'arbre (**BARDOULAT, 2005**).

### **I.8.2. Du fruit**

Le fruit dispose d'un contenu variable en huile qui est de 8-15% Ce contenu est variable selon la localisation géographique et les conditions environnementales. (**HANNACHI et al., 2008**). En outre, l'olive verte fraîche renferme : de l'eau (40 à 45%), de matière minérale (2%), des glucides, des protides et d'oleuropéoside (10-20%, 5 à 10% et 2% respectivement). La teneur en ces composés diminue en cours de maturation, alors que la teneur en huile augmente progressivement. (**PARIS et MOYSE, 1971**).

### **I.9. Utilisation médicinale des feuilles**

Considérées autrefois comme fébrifuges, comme beaucoup de drogues amères, elles ont surtout des propriétés hypotensives à l'oleuropéoside, leur action hypoglycémiant par voie buccale a été également mise en évidence mais les propriétés diurétiques sont les plus discutées. Les feuilles ont, aussi, été utilisées comme pansement pour nettoyer les blessures (**VANDERVOSEN et MKAMILO. 2007 ; PARIS et MOYSE, 1971**).

Une étude conduite en 2003 a mis en évidence l'efficacité d'un extrait aqueux de feuilles d'olivier, à différentes concentrations, contre plusieurs souches bactériennes néfastes pour l'homme. D'autres résultats d'études, conduite sur plusieurs actifs de l'huile d'olive également présents dans la feuille d'olivier, ont indiqué que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol

se montrent efficaces contre les germes responsables d'infection respiratoire et intestinale chez l'homme. (BARDOULAT, 2005)

En Algérie, comme pratiquement dans tous les pays maghrébins, les feuilles sont employées, en plus de leur activité hypotensive, en usage externe pour traiter certains maladies et inflammations buccales. On utilise les feuilles sous forme d'infusé, alcoolature et surtout d'extrait (AIT YUCEF, 2006 ; PARIS ET MOYSE, 1971).

#### I.10. Utilisations médicamenteuses des fruits

L'huile d'oléastre, bien plus chère en raison du faible rendement, est très recherchée pour les usages médicinaux. Elle est utilisée en Maroc et en Tunisie en usage interne et par voie orale, comme médicament de la constipation chronique et des affections hépatiques. Employée aussi, additionnée à d'autre produit, comme antitussif et béchique et pour le traitement de la tuberculose. En usage externe, elle est utilisée comme remède des états grippaux, dans les traitements des otites et comme adoucissant dans les cas d'engelures (AIT YUCEF, 2006).

#### I.11. Autre utilisation de l'Oléastre

Le bois de la variété sauvage de l'olivier est réputé pour fournir un excellent charbon de bois (AIT YUCEF, 2006).

#### I.12. Etudes antérieurs sur l'oléastre

Une étude faite par BENNANI-KABCHI et al., (2000) à montré une efficacité de l'activité hypolipémiante et hypoglycémiant des feuille d'*Olea europaea oleaster* sur des rats de sable soumis à un régime hypocalorique.

Une autre étude menée par KOUNTOUN et al.,(2007) à montré que les polyphénols d'olive possèdent une bonne efficacité antioxydante sur l'homme, après avoir analysé le plasma et l'urine des volontaires à qui on leur a fait consommé 20 olives.

CHEBAIBI et al., (2007), suggère que les feuilles d'*Olea europaea* L. possèdent des composés ayant des propriétés antimicrobienne importante, sur plusieurs espèces dont *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

# **Chapitre II**

## **Les métabolites secondaires**

## II.1. Généralité sur les métabolites secondaires

Les composés produits par les plantes ont été séparés en métabolites primaires et secondaires. Par définition, les métabolites primaires sont des molécules qui existent dans toutes les cellules végétales et sont nécessaires à la vie de la plante. Toutefois, les métabolites secondaires ont une répartition limitée, dans la plante elle-même comme parmi les différentes espèces végétales. Ils ont d'abord été considérés comme des produits de rebut, mais on sait maintenant que les métabolites secondaires sont importants pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent (**RAVEN et al., 2000**).

Les métabolites secondaires ne sont pas également répartis parmi les plantes. Ils sont typiquement produits dans un organe, tissu ou type cellulaire spécifique à des stades particuliers du développement. En outre, leur concentration dans la plante varie souvent dans de grandes proportions au cours d'une période de 24 heures (**RAVEN et al., 2000**).

En raison de leur valeur au plan économique ou médicale, les chercheurs en chimie organique ou ceux qui s'intéressent aux substances naturelles, ont étudié les métabolites secondaires depuis des siècles (**HOPKINS, 2003**). La plus part des métabolites secondaires interviennent dans la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopatiques ou pour attirer les agents chargés de pollinisation ou de la dissémination des fruits (**JUDD et al., 2002**). Beaucoup fonctionnent comme des signaux chimiques qui permettent à la plante de répondre aux contraintes environnementales (**RAVEN et al., 2000**).

## II.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. (**ALI et al., 2001**)

### II.2.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine, l'intérêt qu'on leur porte reposait traditionnellement sur leur action physiologique et psychologique particulièrement violente chez l'homme. Ce sont des composés azotés au goût amer qui ont des propriétés chimiques basiques (**RAVEN et al., 2000**).

### II.2.2. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes appelé aussi terpènes, existent chez toutes les plante et représentent de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits. Le tèrepeoïde le plus simple est un hydrocarbure, l'isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>). On peu classer tout les terpénoïdes en fonction du nombre de leurs unités isoprène. Les terpénoïdes jouent de multiples rôles chez les plantes. Certains sont des pigments photosynthétiques (caroténoïdes) ou des hormones (les gibbérellines, l'acide abscissique), tandis que d'autres sont utilisés en tant que composants structuraux des membranes (les stérols) (**RAVEN et al., 2000**).

D'autres composés terpéniques, qui sont les saponosides (saponines), sont des terpènes glycosylés. Ils peuvent être des stéroïdes glycosylés, des stéroïdes alcaloïdes glycosylés ou des hétérosides triterpéniques (**HOPKINS, 2003**).

### II.2.3. Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent un groupe important de métabolites secondaires, environ 10,000 composés ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques la tyrosine et surtout de la phénylalanine (**GUIGNARD, 2000**). Ils englobent une vaste gamme de composés possédant tous un groupement hydroxyle (-OH) attaché à un cycle aromatique. Ils sont présents dans presque toute les plantes (**RAVEN et al., 2000**).

Une des caractéristiques des composées phénoliques est de montrer une répartition très inégale chez les différentes espèces végétales et, pour une même espèce, selon la variété et le stade d'évolution physiologique. Les variations sont également considérables selon la nature des tissus et des cellules composant le végétale (**MACHEIX et al, 2005**).

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans notre alimentation, ils sont à l'origine de l'astringence de certains aliments et de l'amertume que d'autres laissent sur la langue. Ils son aussi en partie, responsables de la couleur mi-jaune mi-brune de certains fruits et légumes (**Anonyme, 2002**).

#### II.2.3.1. Classification des composés phénoliques

Les composés phénolique peuvent être regroupés en de nombreuses classes (**Tableau 1**) qui

se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques...) (MACHEIX *et al.* 2005).

**Tableau 1** : Les principales classes de composés phénoliques (MACHEIX *et al.* 2005)

Squelette carboné	classe	Exemple	Origine (exemple)
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféïques, féruïque Scopolétine, esculétine	Pomme de terre, Pomme Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols</li> <li>• Antocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul> Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, péïlargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéïne	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins		Raisin rouge, kaki

### II.2.3.2. Localisation des composés phénoliques dans la plante

Les polyphénols sont produits à différents endroits de la cellule et emmagasinés surtout dans les vacuoles et sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre. (RAVEN *et al.*, 2000), leur répartition montre également des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement.

A l'échelle de la plante entière, il faut signaler que certains composés phénoliques ne sont accumulés que dans des organes bien définis. Par exemple, chez certaines espèces, les anthocyanes sont abondants dans les fruits murs, alors qu'ils n'apparaissent qu'exceptionnellement dans les autres organes de la plante (MACHEIX *et al.* 2005).

### II.2.3.3. Les composés phénoliques rencontrés chez l'olivier

Les composés phénoliques présents dans les fruits et les feuilles d'*Olea europaea* L. varient en termes qualitatifs et quantitatifs au cours du développement et de la maturation (BRAHMI *et al.* 2013).

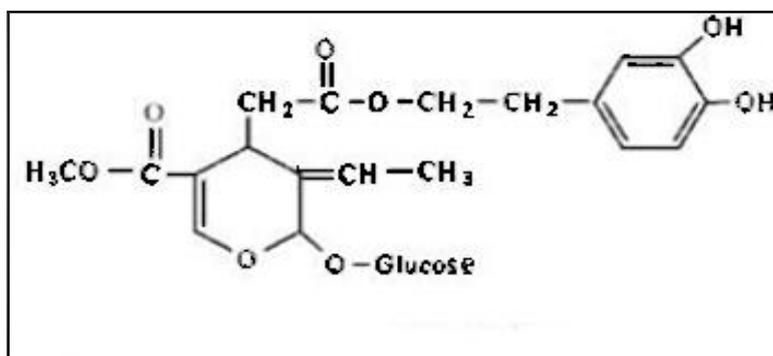
#### a. Les composés phénoliques des fruits

Selon BSANÇON *et al.*, (2000), l'olive présente des composés phénoliques très divers (Tableau 2) et des teneurs en ces composés très variables (1 et 10g par Kg d'olives).

**Tableau 2 :** Les composés phénoliques de l'olive selon BSANÇON *et al.*, (2000)

Composé phénolique		Exemple
Alcools phénoliques		tyrosol et hydroxytyrosol
Acides phénols libres	De la série benzoïque	Acide protocatéchique, gallique, vanillique et acide syringique
	De la série cinnamique	p-coumarique, caféique, sinapique
Dérivés estérifiés	De l'acide caféique	Verbascoside
	De l'acide élénolique	Oleuropéine glycosylée ou non
Des flavonoïdes	Flavones	Lutéoline
	Flavonols	Quercétine et kaempférol glycosylés ou non

Le composé phénolique majeur de ce fruit est l'oleuropéine, composé responsable de son amertume (BSANÇON *et al.*, 2000). Selon BRAHMI *et al.* (2013), l'hydrolyse d'oleuropéine donne une aglycone connue comme agent antimicrobien.



**Figure 6:** Schéma représentatif de la structure chimique de l'oleuropéine (MACHEIX *et al.*, 2005)

### b. Les composés phénoliques des feuilles

Les principaux composants actifs dans la feuille d'olivier sont connus comme étant : l'oleuropéine et ces dérivés tels que hydroxytyrosol et tyrosol, ainsi que l'acide cafeique, l'acide p-coumarique, l'acide vanillique, la vanilline, le lutéoline, la diosmétine, la rutine, la lutéoline-7-glucoside, l'apigénine-7-glucoside et diosmétine-7-glucoside (**BRAHMI et al., 2013**).

#### II.2.3.4. Rôles des composés phénoliques

Les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant partie de l'alimentation animale (**BAHORUN, 1997**). Ces substances sont dotées de certaines activités résumées dans le tableau n°3.

**Tableau 3:** Activité biologique de certains composés phénoliques (**BAHORUN, 1997**)

Polyphénols	Activités
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, Antifongiques et Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes

De plus, les composés phénoliques peuvent intervenir généralement dans :

- Certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance... etc.)
- Les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique, soit directement dans la nature soit lors de la conservation (après récolte)

- Les critères de qualité qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux et des produits qui dérivent par transformation.
- Les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques, pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini.
- La protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leur propriété anti oxydante (**MACHEIX et al, 2000**).

#### **II.2.3.5. Activité antibactériennes des polyphénols**

Selon **SAIT (2012)**, plusieurs études sur les polyphénols révèlent leur activité antibactérienne. Bien que les effets antibactériens des composés phénoliques soient bien établis, leur mécanisme d'action n'est pas encore élucidé, plusieurs hypothèses ont été proposées afin d'éclaircir leur activité (**BOSKOU, 2009**).

Il a été démontré que le mécanisme de toxicité s'effectue, soit par la privation des ions métalliques (fer, magnésium), soit par des interactions non spécifiques tel que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires, afin d'inactiver l'adhésion des microorganismes ou bien les enzymes, ou autres interactions pour inactiver des transporteurs protéiques membranaires ou découplage des réactions énergétiques, ce qui conduit à la dénaturation de la membrane cytoplasmique entraînant une fuite des constituants cellulaires (**SAIT, 2012**).

Après leur adsorption à la surface de la bactérie, l'action des composés phénoliques sur la bactérie se fait selon les trois étapes qui suivent (**BRUNETON, 1999**):

- Saturation des sites de la paroi cellulaire.
- Saturation des sites de la membrane cytoplasmique;
- Pénétration dans le cytoplasme.

# **Partie expérimentale**

# **Matériels et méthodes**

## I. Matériels

### I.1. Matériel végétale

Le matériel utilisé au cours de notre étude consiste en : les fruits, les feuilles saines et les feuilles d'*Olea europaea oleaster* (Figure 7) infestées par une cochenille diaspine. Les feuilles infestées ont été choisi parce que nous supposons que l'infestation conduit a avoir des teneurs élevées en polyphénols.



**Figure 7:** a : Feuilles d'oléastre ; b : Fruits d'oléastre (LAMI, 2013)

#### I.1.1. La récolte des fruits et feuilles

Une récolte au hasard de fruits sains, de feuilles saines et de feuilles infestées a été effectuée le 19 Mars 2013 à 9h 30min à l'université Saad DAHLEB de Blida, sur un arbre situé dans le périmètre sud de la faculté d'agronomie (Figure 8). La température lors de la récolte été comprise entre 14 et 18°C.



**Figure 8:** *Olea europaea oleaster* à l'université de Blida (LAMI, 2013).

### I.1.2. Préparation des poudres

Les échantillons récoltés ont été nettoyés des impuretés (poussière, cochenilles pour les infestées), séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité sous une température ambiante pendant 15 jours pour les feuilles et 20 jours pour les fruits.

Ces échantillons ont été réduits en poudres à l'aide d'un broyeur électrique de cuisine puis tamisés afin d'obtenir des poudres homogènes (figure 9), qui seront conservées dans des sacs en papier propre, mis dans des bocaux en verre au réfrigérateur pour une prochaine utilisation.



**Figure 9** : Poudres obtenues après broyage des échantillons séchés (a : Fruits sains ; b : Feuilles saines ; c : Feuilles infestées). (LAMI, 2013)

### I.2. Matériel bactériologique

Le test de la sensibilité bactérienne à nos extraits est effectué sur un nombre de bactéries responsables de certaines maladies infectieuses qui sont illustrées dans le tableau n° 3.

Les bactéries étudiées sont des souches cliniques ou de référence, obtenues par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Boufarik (L.M.H.B), le laboratoire de stérilité de SAIDAL antibiotical Médéa (L.S.S.A.M) et le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Médéa (L.M.H.M.)

**Tableau 4:** Bactéries utilisées dans l'évaluation de l'activité bactérienne

Les bactéries utilisées	Caractéristiques des bactéries		
	Gram	Provenance	Pouvoir pathogène
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538/p	Gram+	(L.S.S.A.M)	Infections communautaires et nosocomiales (NAUCIEL, 2000).
<i>Staphylococcus aureus</i> (souche clinique isolée à partir d'urine d'un malade)		(L.M.H.B)	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			
<i>E. coli</i> ATCC 25929	Gram-	(L.S.S.A.M)	Pathogène pour l'appareil urinaire, capables de causer des dommages au niveau de la muqueuse digestive (AVRIL et al, 2000)
<i>E. coli</i> (souche clinique isolée à partir d'un pu d'un malade)			
<i>E. coli</i> ATTC 10536			
<i>Salmonella tiphy</i> (souche clinique)		(L.M.H.M.)	Gastroentérites et la fièvre typhoïde (CATSAROS, 2007)
<i>Pseudomonas aerogenosa</i> (souche clinique)			
<i>Pseudomonas aerogenosa</i> ATCC 27853			
<i>Klebseila pneumoniae</i> (souche clinique isolé d'un pu de malade)			
	(L.M.H.B)	Infections urinaires, Broncho-pneumopathies, Bactériémies infections intra-abdominales et infections des sites opératoires (ARCHAMBAUD et CLAVE, 2008)	

### I.3. Matériel non biologique

Les appareils, les réactifs et la verrerie utilisés pendant notre expérimentation sont représentés dans l'annexe 1.

## II. Méthode

### II.1. Détermination de la teneur en eau des feuilles et fruits d'oléastre

Les fruits et Les feuilles fraîchement récoltés, ont été mis à l'étuve sous une température de 70°C pendant plusieurs jours, jusqu'à sa stabilisation de leur poids sec. La teneur en eau est calculée par la formule décrite par **BOUTERFAS et al., (2013)** et exprimé en pourcentage (%) de matière sèche :

$$H (\%) = (M1 - M2)/M1 \times 100$$

Avec : **H** : taux d'humidité exprimé en pourcentage (%)

**M1** : poids de l'échantillon en gramme après la récolte (matière fraîche)

**M2** : poids de l'échantillon en gramme après le séchage (matière sèche).

### II.2. Extraction des composés phénoliques

L'extraction à été réalisé au niveau du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques à la faculté des sciences agro-vétérinaires.

Nous avons effectué deux d'extractions, différentes une avec le méthanol 80% et l'autre avec le méthanol 100%. Les processus d'extraction et d'évaporation sont réalisés à l'abri de la lumière.

#### II.2.1. Extraction par Méthanol à 80%

Pour effectuer cette extraction, nous avons suivie le protocole décrit par **N'GUESSAN et al. (2011)**. 15 g de poudre fine ont été macérés dans 300 ml de MeOH à 80 % (v / v) pendant 24 heure sous agitation permanente. Après filtration sur mousseline, les filtrats hydrométhanoliques sont conservés au réfrigérateur pendant 48 h, puis filtrés sur Büchner et enfin concentrés sous pression réduite à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Figure 1, annexe N°2). Les extraits obtenus dont le volume est de 20 ml sont conservés stérilement à 4°C.

#### II.2.2. Extraction par méthanol 100%

L'extraction à été effectué selon la méthode établie par **BOUMAZA, (2009)**, dont le volume du solvant et la quantité de la poudre ont été choisis selon nos besoins.

Faire macérer pendant 15 jours 20g de poudres végétales dans 200ml de MeOH absolu (96°) avec une agitation de temps en temps. Ces extraits sont filtrée sur mousseline et deux fois sur papier filtre, puis concentré au Rotavapor à 40° C jusqu'à l'obtention d'une poudre colée sur les parois internes du ballon.

Les extraits secs obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement de l'extraction, puis récupéré avec 30 ml d'eau distillé bouillante et conservé par la suite dans des bouteilles stériles à 4°C.

### II.3. Détermination du rendement de l'extraction

Le rendement à été déterminé par la formule décrite par MAHMOUDI *et al.*, (2013):

$$R (\%) = M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}} 100$$

Avec : **R** : le rendement en %

**M<sub>ext</sub>** : la masse de l'extrait après évaporation en mg

**M<sub>éch</sub>** : la masse sèche de l'échantillon végétal en mg

### II.4. Dosage des polyphénols

Pour effectué le dosage, nous avons utilisé la méthode de Singleton *et al.*, (1999) rapportée par HAMMOUDI *et al.* (2012), en utilisons le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est un mélange d'acide phosphotungstique et phosphomolibdique de couleur jaune, qui peu être réduit par les phénols en oxyde de tungstène et de molybdène de coloration bleu ( $\lambda_{\text{max}} = 725\text{-}760 \text{ nm}$ ) (COLLIN *et* CROUZET, 2011)

- **Principe**

En milieu basique, le réactif de Folin Ciocalteu oxyde les groupements oxydables des composés phénoliques présents dans l'échantillon. Les produits de réduction (oxydes métalliques  $W_8O_{23}$  et  $Mo_8O_{23}$ ) de couleur bleue, présentent un maximum d'absorption dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de phénols présents dans l'échantillon (VEILLET, 2010).

- **Mode opératoire**

Nous avons filtré 2 ml de chaque extrait à l'aide de micro-filtres ( $\varnothing = 0,45 \mu\text{m}$ ) suivie des dilutions appropriées pour les échantillons les plus concentrés, avant de passer au dosage.

A partir d'une solution mère aqueuse préparée d'acide gallique de concentration massique 1g/l, des solutions filles sont préparées à des concentrations allant de 0.2 g/l jusqu'à 0.8 g/l.

50  $\mu\text{l}$  de chaque solution et des extraits phénoliques, sont introduits dans des tubes à essais, 100  $\mu\text{l}$  de réactif de Folin-Ciocalteu et 1 ml d'eau distillée sont ajoutés. Après 10 minutes, on ajoute 500  $\mu\text{l}$  ml de carbonate de sodium à 20% (m/v). Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible type LAMBDA 25 PERKIN ELMER (Figure 2, annexe N°2), à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc.

Le dosage des composés phénoliques contenus dans nos extraits est répété deux fois.

- **Expression des résultats**

La teneur des composés phénoliques a été estimée, en utilisant l'équation de régression de la courbe d'étalonnage tracée avec de l'acide gallique comme référence, et calculée par la formule suivante :

$$P = (A / y) \cdot (V_{\text{réq}}/Ech) \cdot f \quad (\text{SAIDAL antibiotic})$$

Avec : **P** : La teneur des composés phénoliques en g EAG/g de poudre végétale.

**A** : L'absorbance de l'extrait à 765nm.

**y** : L'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

**V<sub>réq</sub>** : Le volume d'eau utilisé pour la récupération de l'extrait en ml.

**Ech**:L'échantillon de poudre utilisé pendant l'extraction en g

**f** : Facteur de dilution

## II.5. Identification de quelques métabolites secondaires

Les testes d'identification ont été réalisés au niveau du laboratoire physico-chimie de SAIDAL antibiotic Médéa.

Les solutions à analyser sont un infusé à 5% préparé par 5g de poudre mélangé avec 100 ml d'eau distillée bouillante suivie d'une filtration. Le filtrat est utilisé pour les différentes testes phytochimique.

- **Les saponines**

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 ml de chaque solution dans des tubes à essai. Les tubes sont agités fermement pendant 2 minutes puis laissés au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (KARUMI *et al.*, 2004)

- **Les tanins**

Dans un tube à essai contenant 1 ml de chaque l'infusés, ajouter 1 ml d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre (EKOUMOU, 2003).

- **Terpénoides**

Ajouter 2 ml d'infusé à 2 ml d'anhydride acétique et 2 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré. La formation d'un anneau bleu-vert indique la présence des tèrpenoide (AYOOLA *et al.*, 2008).

- **Flavonoïdes**

A l'infusé à 5%, nous avons ajouté 5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  puis 5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu-violacée en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyane (EKOUMOU, 2003)

**Réaction à la cyanidine:**

Nous avons Introduis dans un tube à essai 5ml d'infusé, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes); puis quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool iso amylique.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavanones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (la génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques (EKOUMOU, 2003).

- **Les coumarines**

3 ml d Hydroxyde de sodium NaOH à 10% sont ajoutés à 2 ml de chaque infusés. La formation d'une couleur jaune indique la présence des coumarines (SAVITHRAMMA *et al.*, 2011).

- **Les stéroïdes**

1 ml de chaque infusés est dilué dans 10 ml de Chloroforme et un volume égal d'Acide sulfurique concentré est ajouté par les cotés des éprouvettes. L'apparition d'une couleur rouge et la couche d'acide sulfurique montre une couleur jaune avec une fluorescence verte, indique la présence des stéroïdes (SAVITHRAMMA *et al.*, 2011)

## **II.6. Analyse spectroscopique des poudres végétales par FTIR**

Les poudres végétales des trois échantillons ont été analysées par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ou spectroscopie FTIR, pour identifier les groupements chimiques contenus dans les différent échantillons.

- **Principe**

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier permet d'obtenir des informations sur la nature des liaisons chimiques et peut être employée pour l'identification de composés. En effet, cette technique, sensible aux vibrations des liaisons présentant un moment dipolaire, produit des spectres comportant des bandes d'absorption dont la position est caractéristique des liaisons mises en jeu car dépend de la masse des atomes et de la force de la liaison (CHLIQUE, 2011).

- **Mode opératoire**

Préparer des pastilles avec 100 mg de KBr, séché à l'étuve à 105, et de 10mg de la poudre végétale a analysée. L'analyse des pastilles préparées se fait par une lecture des spectres d'absorptions à l'aide d'un spectromètre de TEBSOR 27 BRUKER (Figure 3, annexe N°2). Les spectres sont enregistrés entre 4000 et 400cm<sup>-1</sup>.

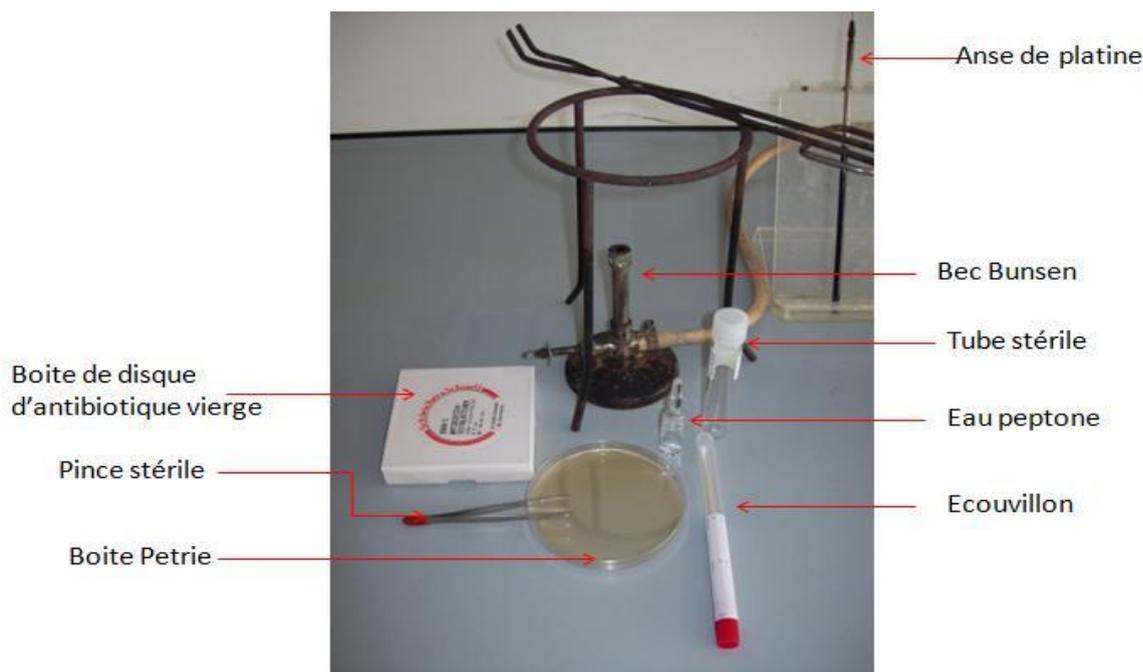
## II.7. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits

Le teste à été effectuer au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Boufarik et au laboratoire de stérilité de SAIDAL de Médéa.

L'activité antibactérienne à été évalué par la méthode de diffusion en milieu solide (Gélose), dont le principe consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour d'une source d'antibiotique déposée à la surface de la gélose (ATEFEIBU, 2002). Les étapes opératoires sont les même utilisés dans la réalisation d'un antibiogramme.

- **Mode opératoire**

- Couler la gélose Mueller Hinton (MH) dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm et les faire séchées avant emploi.
- A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum, puis frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- Les disques de 9 mm de diamètre, imbibés d'extraits à raison de 20 µl par disques, sont déposés et presser légèrement sur la gélose inoculée, à l'aide d'une pince stérile. Une fois appliqués les disques ne doivent pas être déplacés. Faire incuber les boites à 35°C pendant 18 à 20 heures. (RAHAL, 2005).



**Figure 10 :** Matériels utilisés pour le teste de l'activité antibactérienne (LAMI, 2013).

### Lecture des résultats

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition. L'inhibition se traduit par l'apparition d'un halo translucide autour du disque (CHEBAIBI *et al.*, 2011). Le classement des extraits selon les zones d'inhibitions est comme suit :

- Très fortement inhibiteur :  $\text{Ø} \geq 30$  mm.
- Fortement inhibiteur :  $21 \text{ mm} \leq \text{Ø} \leq 29$  mm.
- Modérément inhibiteur :  $16 \text{ mm} \leq \text{Ø} \leq 20$  mm.
- Légèrement inhibiteur :  $11 \text{ mm} \leq \text{Ø} \leq 16$  mm.
- Non inhibiteur lorsque  $\text{Ø} \leq 10$ . (MUTAI *et al.*, 2009)

### II.8. Détermination de la CMI

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures. (KABLAN *et al.*, 2008) Pour déterminer la CMI nous avons suivis les étapes suivantes :

- Préparer des doubles dilutions des extraits à tester dans l'eau physiologique, avec des doses allant de 1/2 à 1/32.
- Faire fondre la gélose de Muller Hinton, ajouter 2ml de chaque dilution dans des boîtes de pétrie puis additionner 18 ml de la gélose Muller Hinton fondue et homogénéiser le mélange par des mouvements rotatoires, puis laisser sécher le milieu de culture ainsi préparé.
- Ajuster l'inoculum bactérien comme décrit dans les étapes du teste antibactérien, puis l'ensemencer en strie sur les géloses séchées à l'aide d'une anse de platine.
- Préparer un témoin avec une gélose Muller-Hinton sans aucun extrait.
- Faire incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Le MIC a été pris comme la plus faible concentration qui ne permet aucune croissance des bactéries utilisées (NAHAL *et al.*, 2012).

# **Résultats et discussion**

## I. Interprétation des résultats

### I.1. Reconnaissance du ravageur de l'olivier

L'infestation observée sur les feuilles est due à une cochenille diaspine, identifiée par les critères morphologiques suivants :

Les *Coccoidea*, communément appelés «cochenilles» ou vulgairement «poux de plantes» sont des insectes piqueurs suceurs. Elles sont regroupées dans différentes familles, parmi ces familles nous avons celle des *Diaspididae* ou diaspines (PANIS, 1979). Les femelles sont toujours aptères, avec un corps aplati, et protégé par un vaste bouclier cireux pourvu de glandes sécrétant de la cire qui les soude à la plante hôte en plus du voile ventral qui sépare le corps de la femelle et permet une très forte adhésion au substrat.

Morphologiquement, Les cochenilles sont généralement minuscules et mesurent entre 0.5 et 20 mm, La femelle est généralement de forme globuleuse arrondie, ovale ou circulaire. et toujours aptère, à tête et thorax fusionnés. Le mâle est pourvu de deux paires d'ailes dont l'une est sous forme de crochets. Se caractérisent par leur vie fixée. Mais les larves sont mobiles à l'éclosion ainsi que les mâles adultes lors de leur apparition. Elles présentent un revêtement protecteur caractéristique: le bouclier est issu de deux sécrétions complémentaires; l'une est émise par les glandes tégumentaires, sous forme de longs filaments blancs. L'autre d'origine malpighienne, est émise sous forme de substance anale agglomérant entre eux les filaments. La formation du bouclier débute dès que la cochenille se fixe, et insère ses stylets dans la plante-hôte pour s'alimenter. La forme du bouclier se détermine conformément au corps de la cochenille et par ses mouvements et sa croissance. L'observation périodique du bouclier permet de suivre l'évolution de la cochenille d'une part et, il permet de distinguer à la fois les stades et les sexes d'autre part (ANONYME, 1978).



**Figure 11:** **A** : Cochenilles avec bouclier sur vu sous la loupe G x 4,6 ; **B** : Cochenille diaspine débrasée de son bouclier vu sous la loupe G x 6. (LAMI, 2013)

### I.2. Détermination de la teneur en eau

Après séchage des échantillons dans l'étuve, les teneurs en eau sont déterminés et les résultats sont présentés dans le tableau N° 5.

**Tableau 5:** Teneur en eau des feuilles et des fruits d'oléastre

Paramètre	Feuilles	Fruits
Poids frais (g)	10	10
Poids sec (g)	4,13	6,34
Teneur en eau (g)	5,87	3,66
Teneur en eau (%)	58,7	36,6

Les feuilles ont montrés une teneur en eau supérieure à celle des fruits.

### I.3. Détermination du rondement des extraits en polyphénols

Après avoir calculé le rendement, les résultats sont présentés dans le tableau N°6.

**Tableau 6:** Rendement de l'extraction par méthanol 100%

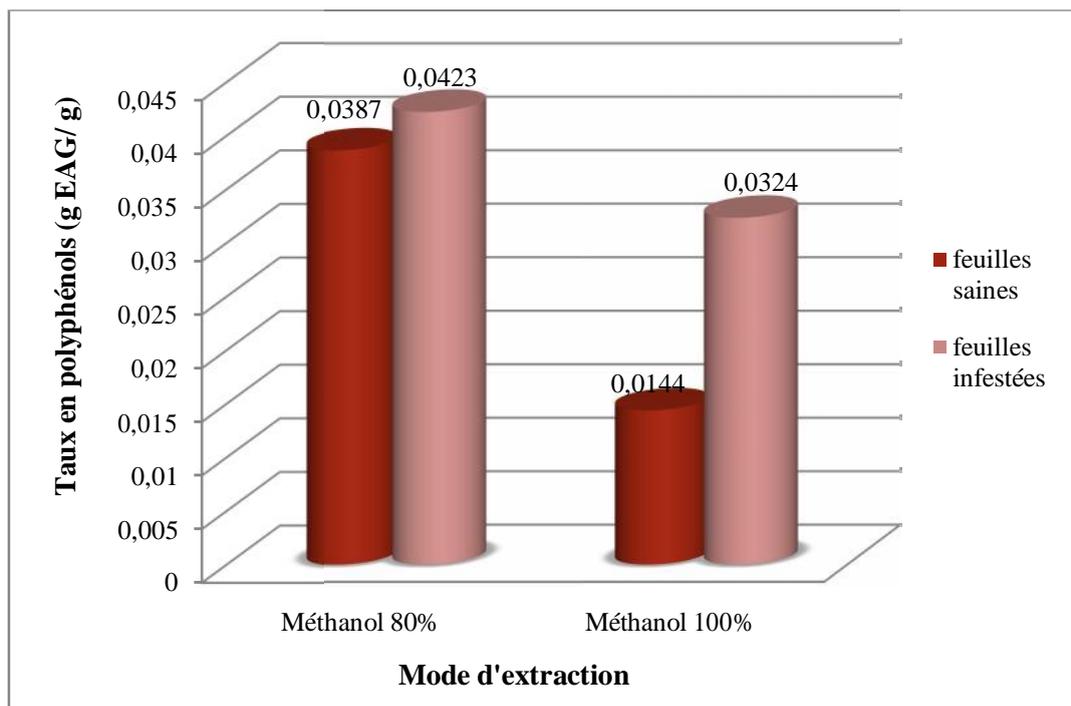
Paramètre	Fr	Fs	Fi
Poids de la poudre végétale (g)	20	20	20
Poids de l'extrait (g)	5,8	5	4
Rendement (%)	29	26,5	20

Fr : Fruit sain, Fs : feuille saine, Fi : feuille infestée

Nous constatons que les feuilles infestées ont un plus faible rendement (20%) que celui des feuilles saines (26,5%) et celui des fruits sains (29 %). Ces résultats montrent l'impacte des infestations par les ravageurs sur le contenu des organes.

### I.4. Détermination de la teneur en polyphénols

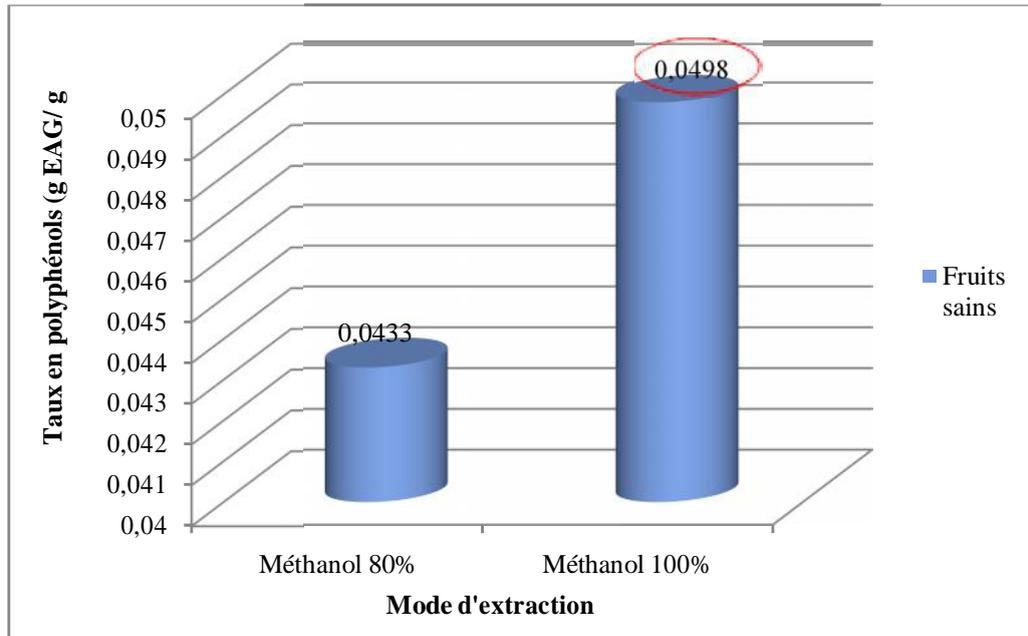
En se basant sur les valeurs d'absorbance des divers extraits (Tableau annexe N°3) ayant réagi avec le réactif de Folin-Ciocalteu, et l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure annexe N°4) on a pu calculer la teneur en polyphénols des extraits. Les résultats sont représentés en graphe dans la figure N°12, la figure N°13et la figure N°14.



**Figure 12:** Variation de la teneur en polyphénols selon l'état sanitaire des feuilles et le mode d'extraction.

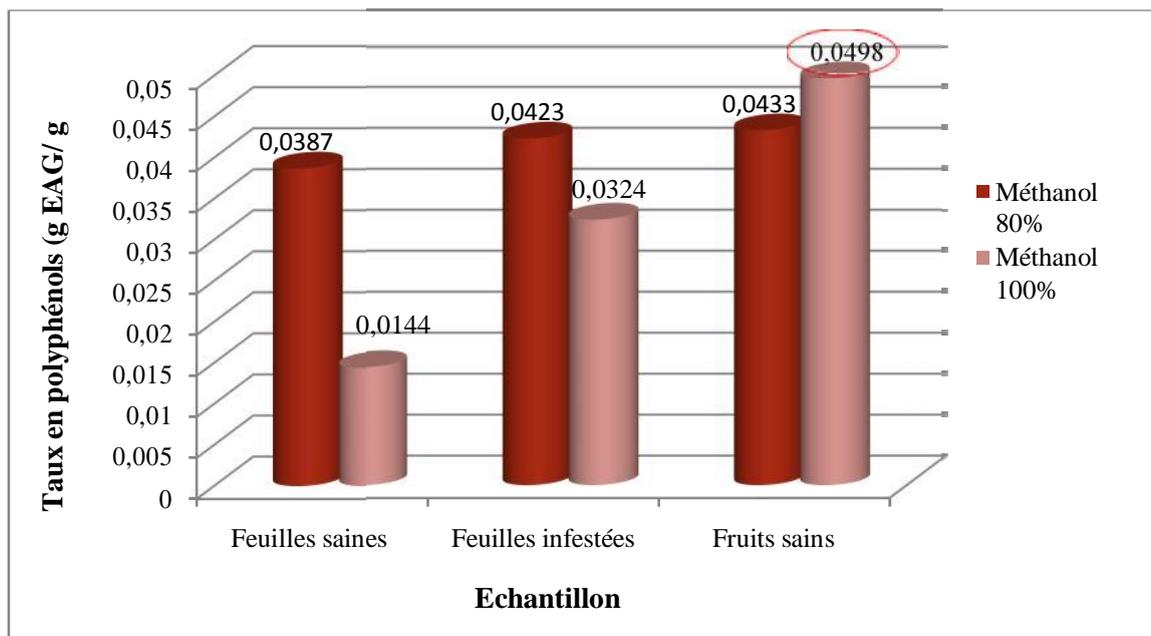
D'après la figure N°12, la teneur en polyphénols, obtenue par les deux types d'extractions dans les feuilles infestées [(0,0423 ; 0,0324) g EAG / g], est supérieure à celle des feuilles saines [(0,0387 ; 0,0144) g EAG / g].

On remarque aussi que l'extraction par le méthanol (80%) permet l'obtention des teneurs en polyphénols supérieures à celle obtenues par le méthanol (100%) pour les deux types de feuilles.



**Figure 13:** Variation de la teneur en polyphénols des fruits selon la méthode d'extraction

Les résultats mentionnés dans la figure N°13, montrent que la méthode d'extraction par le méthanol (100%) permet l'obtention de la meilleure teneur en polyphénols (0,0498 g EAG /g de poudre). Par contre les résultats obtenus par les autres échantillons (feuilles saines et feuilles infestées) indiquent le contraire.



**Figure 14 :** Variation de la teneur en polyphénols selon l'organe, l'état sanitaire et le mode d'extraction.

La figure N°14, montre que le fruit d'oléastre possède des teneurs en polyphénols supérieures à celles de feuille saine et de feuille infestée, surtout celles obtenues par l'extraction par le méthanol 100%.

### **I.5. Résultat des analyses phytochimique des poudres des fruits et des feuilles d'oléastre**

Les réactions d'identifications des composés chimiques issus du métabolisme secondaire, se base sur basent sur l'observation à l'œil nu du virage ou de l'apparition de couleur après ajout d'un réactif, ou la formation de mousse dans nos solutions préparées.

Les résultats obtenus sont présenté en photos dans le tableau N° 7 et le tableau N° 8.

#### **1.5.1. Résultats pour le fruit**

D'après les résultats du tableau N°7, nous remarquons la présence de tanins, de flavonoïdes dont les flavones, flavanones et la génine, des anthocyanes et de coumarines.

**Tableau 7** : Résultats d'identification de métabolites secondaires dans le fruit d'oléastre

Métabolite secondaire		Avant test	Après test	Interprétation
Les saponines				<b>Absence</b>
Les tanins				<b>Présence</b>
Les terpénoïde				<b>Absence</b>
Les Flavonoïdes	flavones			<b>Présence</b>
	flavanones			<b>Présence</b>
	flavonols, flavanonols			<b>Absence</b>
	La génine			<b>Présence</b>
	hétérosides flavoniques			<b>Absence</b>
Les anthocyanes				<b>Présence</b>
Les stéroïdes				<b>Absence</b>
Les coumarines				<b>Présence</b>

Fr : Fruit sain.

### 1.5.2. Résultats pour les feuilles saines et les feuilles infestées

Les réactions d'identification de composés chimiques dans la poudre des feuilles saines et des feuilles infestés d'olivier sauvage, sont représentées dans le tableau N°8.

**Tableau 8:** Résultats d'identification de métabolites secondaires dans les feuilles saines et les feuilles infestées d'oléastre

Les composés recherchés		Avant test	Après test		Interprétation	
			Fs	Fi	Fs	Fi
Les saponines					<b>Absents</b>	<b>Présence</b>
Les tanins					<b>Présence</b>	<b>Présence</b>
Les tèrepenoïde					<b>Absence</b>	<b>Absence</b>
Les flavonoïdes	flavones				<b>Présence</b>	<b>Absence</b>
	flavanones				<b>Absence</b>	<b>Absence</b>
	lavonols, flavanonols				<b>Absence</b>	<b>Absence</b>
	La génine				<b>Présence</b>	<b>Absence</b>
	hétérosides flavoniques				<b>Absence</b>	<b>Présence</b>
Les anthocyanes					<b>Présence</b>	<b>Présence</b>
Les stéroïdes					<b>Présence abondante</b>	<b>Faible présence</b>
Les coumarines					<b>Présence</b>	<b>Présence</b>

Les résultats obtenus par les analyses phytochimique, indiquent la présence des saponosides dans les feuilles infestées et l'absence de ces mêmes composés dans les feuilles saines.

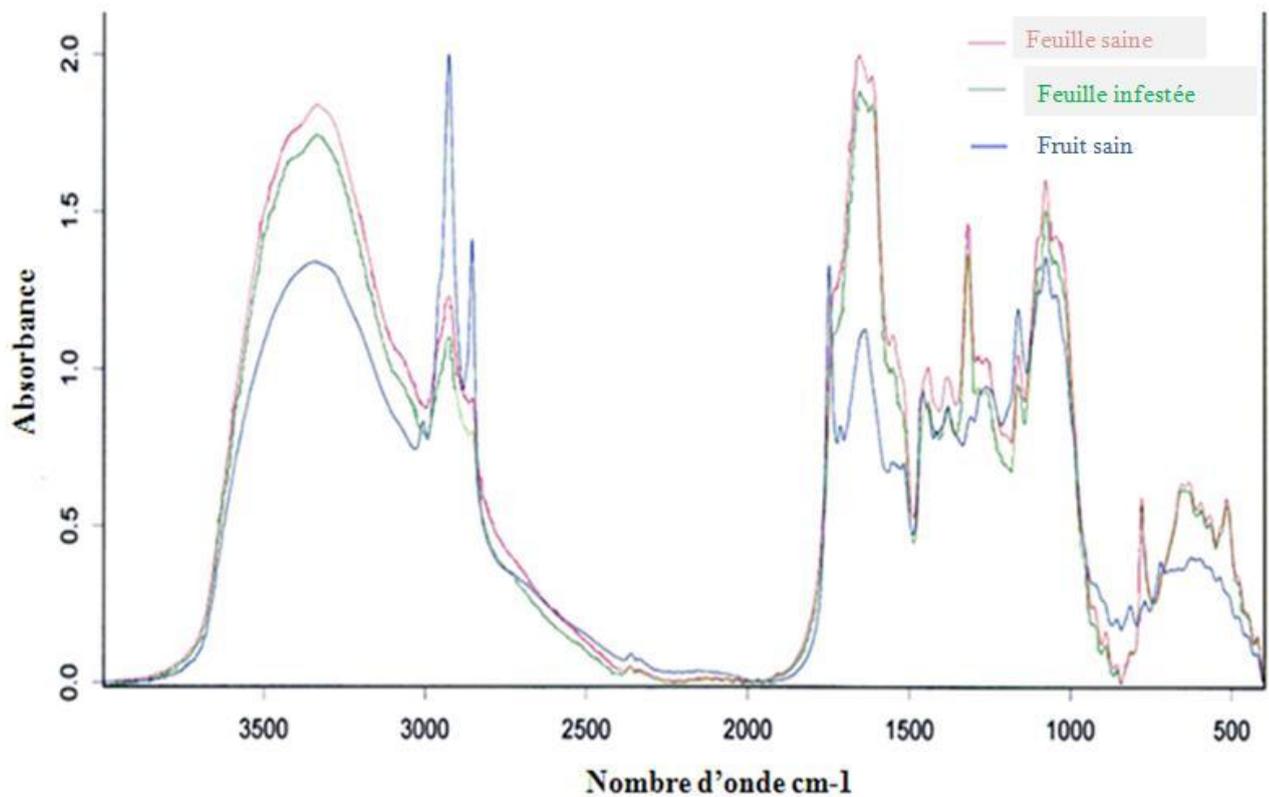
On outre, les feuilles saines renferment des flavonoïdes, tel que les flavones, alors que les feuilles infestées contiennent uniquement des hétérosides flavoniques. On note aussi que les stéroïdes se trouvent en abondance dans les feuilles saines plutôt que dans les feuilles infestées en raison de l'intensité de la couleur verte observée dans la solution.

Les autres substances, comme les tanins, l'anthocyane et les coumarines, sont présent dans les deux échantillons.

### **I.6 Résultat d'analyse chromatographiques des poudres végétales par FTIR**

L'analyse par FTIR a été utilisée pour identifier les groupements chimiques présents dans les trois poudres.

La figure N°15 représente les spectres enregistrés, à l'aide d'un appareil FTIR, de l'analyse des trois poudres on prenant le KBr comme un blanc.



**Figure 15:** Spectres FTIR de l'analyse des poudres végétales.

On observe sur les spectres des poudres, de feuilles saines, de feuilles infestées et de fruits sains, la présence de bandes d'absorption dans les domaines :

- 3340 à 3330, 1660 à 1630 et 1160 à 1070 $\text{cm}^{-1}$ , caractéristiques des groupements Amides.
- 2930 à 2850, 1455 à 1370  $\text{cm}^{-1}$  caractéristique des groupements Alcanes.
- 1320 à 1260  $\text{cm}^{-1}$  caractéristique des groupements Acides carboxyliques.
- 780 à 510  $\text{cm}^{-1}$  caractéristiques des groupements Halogénure.

Seule la poudre du fruit présente un spectre d'absorption à 1740  $\text{cm}^{-1}$  caractéristiques des groupements Cétones.

**Remarque :** par manque d'étalons nous ne pouvons pas identifier la composition exacte de nos échantillons.

## I.7 Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques

### I.7.1 Teste d'efficacité antibactériennes par diffusion des disques

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits sont présentés dans le tableau N°9 et le tableau N° 10.

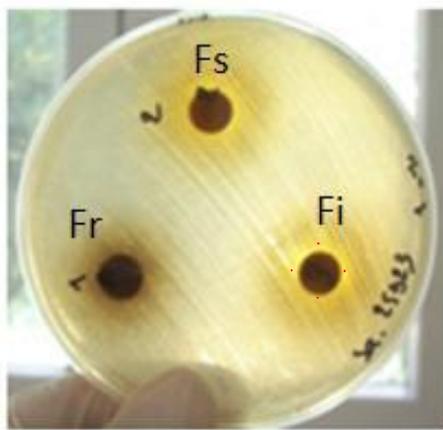
**Tableau 9:** Diamètres des zones d'inhibitions des extraits obtenues par méthanol 80%.

Souches testées	Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
	Fruits sains	Feuilles saines	Feuilles infestées
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538/p	5	16,5±0,5	18±2
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0	10,5±0,5	11,5±1,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (souche clinique)	0	0	0
<i>E. coli</i> ATCC 25929	0	0	0
<i>E. coli</i> ATCC 10536	0	0	0
<i>Pseudomonas aerogenosa</i> ATCC 27853	0	0	0
<i>E. coli</i> (souche clinique)	0	0	0
<i>Pseudomonas aerogenosa</i> (souche clinique)	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (souche clinique)	0	0	0
<i>Salmonella typhi</i> (souche clinique)	0	0	0

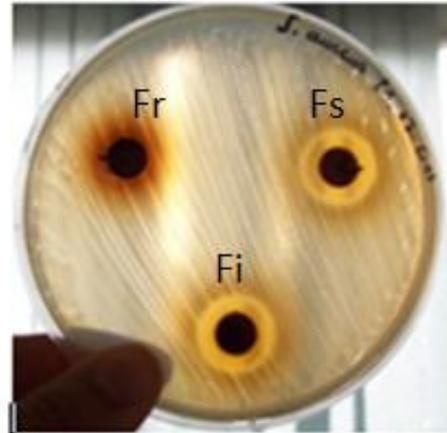
Selon le tableau N°9, huit souches testées n'ont présentées aucune sensibilité vis-à-vis de tous les extraits, y compris la souche clinique *S. aureus*.

Les extraits issus de la macération méthanolique (80%) des poudres de feuilles saines et de feuilles infestées, sont considérés comme étant modérément inhibiteurs vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P, mais le diamètre obtenu par l'extrait phénolique des feuilles infestées est plus élevé (18±2 mm) que celui obtenu par les feuilles saines (16,5±0,5 mm). Tandis que ces même extraits sont considérés comme non inhibiteur ou légèrement inhibiteur vis-à-vis de la souche *S. aureus* ATCC 25923 donnant des diamètres égaux à 10,5±0,5mm et 11,5±1,5 mm respectivement.

L'extrait des fruits n'a prouvé aucune efficacité antibactérienne sur les deux souches précédentes (Figure N°16).



*Staphylococcus aureus*  
ATCC 25923



*Staphylococcus aureus*  
ATCC 6538/P

**Figure 16 :** Variabilité du diamètre d'inhibition des extraits issus de la macération méthanolique 80% de la poudre de fruits, de feuilles saines et de feuilles infestées sur les deux souches de *Staphylococcus*.

**Tableau 10** : Diamètres des zones d'inhibitions des extraits obtenues par méthanol 100%.

Souches testées	Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
	Fruits sains	Feuilles saines	Feuilles infestées
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538/p	23,5±0,5	0	20,5±1,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11,5±0,5	0	14,5±1,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (souche clinique)	0	0	0
<i>E. coli</i> ATCC 25929	0	0	0
<i>E. coli</i> ATCC 10536	0	0	0
<i>Pseudomonas aerogenosa</i> ATCC 27853	0	0	0
<i>E. coli</i> (souche clinique)	0	0	0
<i>Pseudomonas aerogenosa</i> (souche clinique)	0	0	0
<i>Klebseila pneumoniae</i> (souche clinique)	0	0	0
<i>Salmonella tiphy</i> (souche clinique)	0	0	0

Fr : Fruit sain, Fs : feuille saine, Fi : feuille infestée

Les résultats du tableau N° 10 montrent que l'extraction des polyphénols par le méthanol 100% offre un extrait fortement inhibiteur ( $\emptyset = 23,5\pm 0,5$  mm) issu de la poudre de fruit. En revanche, l'extrait obtenu de la poudre de feuilles infestées est modérément inhibiteur ( $\emptyset = 20,5\pm 1,5$  mm) et légèrement inhibiteur ( $\emptyset = 14,5\pm 1,5$  mm), par rapport à celui des feuilles saines qui est nul sur *S. aureus* ATCC 6538/P. et *S. aureus* ATCC (Figure N°16).

Les autres souches testées n'ont prouvé aucune sensibilité vis-à-vis des trois extraits, y compris la souche clinique *S. aureus* qui est la plus résistante par rapport aux deux souches précédentes.



**Figure 17 :** Variabilité du diamètre d'inhibition des extraits issus de la macération méthanolique 100% de la poudre de fruits, de feuilles saines et de feuilles infestées sur les deux souche de *Staphylococcus*.

### I.7.2 Résultats de la concentration minimale inhibitrice

Les résultats de la CMI des extraits issus de la macération de la poudre des fruits et la poudre des feuilles infestées dans le MeOH 100% sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sont présentés dans le tableau N°11.

**Tableau 11:** Résultat de la CMI de l'extrait issu de la macération de la poudre des fruits et des feuilles infestées dans le MeOH 100% sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

La souche testée	Dose de l'extrait MeOH 100% poudre des fruits sains					Dose de l'extrait MeOH 100% poudre des feuilles infestées				
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) : Résultat négatif.

D'après les tableaux N°11, aucune concentration des deux extraits utilisés (l'extrait MeOH 100% poudre des feuilles infestées et, Dose de l'extrait MeOH 100% poudre des fruits sains) n'a inhibé la croissance de la souche bactérienne *S. aureus* ATCC 25923.

## II. Discussion générale

L'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie remonte très loin dans l'histoire. Elles font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques (**DJENNANE et al., 2012**)

Selon **PARIS** et **MOYSE (1971)**, l'environnement, la localisation géographique, le stade de maturité et la période de récolte sont des paramètres qui influent sur la teneur en eau de différentes parties de plante. En effet, la teneur en eau de nos fruits récoltés le mois de Mars est plus faible (36,6%) et la teneur en eau de nos feuilles est plus forte (58,7%) par rapport à celles rapporté par ce même auteur (40 à 45% et 8 à 14% respectivement).

Le rendement en polyphénols c'est avéré plus élevé dans les fruits (29%) que dans les feuilles (26,5%), du faite que les fruits sont très riche en huile (**HANNACHI et al., 2008 ; SAIT, 2012**) et les feuilles saines ont prouvé un rendement (26,5%) supérieur à celui des feuilles infesté (20%). Ce qui montre l'impacte des infestations par les cochenilles sur le fonctionnement du métabolisme secondaire de la plante.

Selon **MACHEIX et al, (2005)** la répartition des polyphénols est faite de façon inégale dans la plante. Nos résultats montrent que la teneur en ces composés se diffère d'un organe à un autre.

L'extrait des feuilles infestées a montré une teneur en polyphénols supérieure (0,0423 et 0,0324 g EAG/ g de poudre) à celui des feuilles saines (0,0387 et 0,0144 g EAG/ g de poudre). En effet, **LENOIR (2011)** rapporte que les feuilles infestées synthétisent des polyphénols et d'autre métabolites pour se défendre contre les insectes nuisibles.

Les fruits d'olivier sont connu par leur richesse en polyphénols contenus dans l'huile, qui lui confèrent son goût si particulier à la fois amère et fruité (**TURA et al., 2007**). Ce qui concorde avec nos résultats qui ont révélé la présence de polyphénols dans nos fruits égale à 0,0433 et 0,0498 g EAG/ g de poudre.

La variabilité des taux de polyphénols est aussi due au processus, au solvant utilisé et au temps de l'extraction (**SRIPAD et al., 1982**). C'est ce que nous avons remarqué, lorsqu'on a utilisé deux méthodes d'extraction différentes, avec les qu'elles nous avons obtenue des taux de polyphénols, dans les extraits méthanolique 80% de feuilles saines et infestées (0,0387 et 0,0423 g EAG/ g) supérieurs à ceux obtenus par le méthanol 100% (0,0144 et 0,0387 g EAG/ g de poudre). En revanche le taux de polyphénols dans l'extrait méthanolique 100% de la

poudre de fruit est supérieur à celui obtenu par le méthanol 80%. Cette différence est liée la nature chimique de l'organe.

Après le calcul du rendement et le dosage des polyphénols des feuilles saines est infestées macéré dans le méthanol 100%, nous avons remarqué que là où le rendement est plus élevé, la teneur en polyphénols est plus faible. Ce qui nous laisse supposer que l'extraction a permis d'extraire d'autres composés non phénolique.

Certaines substances synthétisées par les plantes sont, nécessaires pour leurs activités fondamentales, tandis que d'autres, appelées métabolites secondaires, sont impliqués dans le processus de Co- évolution entre les plantes et autres organismes (CHAIEB, 2010). La présence des polyphénols à été mise en évidence dans les feuille et fruits de l'olivier par plusieurs auteurs (DEKANSKI et al., 2009 ; NAHAL BOUDERBA et al., 2012 ; BSANÇON et al., 2000 ; BRAHMI et al., 2013). Ce qui concorde avec nos résultats où nous avons pu prouver la présence des polyphénols dans le fruit et les feuilles (saines et infestées), tel que : les tanins, les flavonoïdes, les anthocyanes et les coumarines.

Compte aux saponosides nous avons observé leur présence (formation de mousse) uniquement dans les feuilles infestées. Les saponines sont impliquées dans la défense des plantes contre les insectes et les ravageurs (CHAIEB, 2010). Ils constituent une classe importante de produits naturels qui se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes (CAULIER et al, 2011 ; KOUGAN NKWOKAP, 2010). Ils possèdent une large gamme de propriétés pharmacologiques notamment anti-inflammatoires, antifongiques et antibactériennes (CAULIER et al, 2011).

L'évaluation de l'activité antibactérienne de nos extraits, a montré une efficacité des extraits méthanolique (80%) ,des feuilles saines et des feuilles infestées, et les extraits méthanolique 100% ,des fruits et feuilles infestées, sur deux souches bactériennes (*S. aureus*). Cela est peut être du à la présence des composé phénolique ou non dans ces extraits, qui peuvent avoir un effet antibactérien spécifique à ces espèces référencées.

L'extrait méthanolique 80% de la poudre des fruits n'a prouvé aucune efficacité antibactérienne, malgré que le taux de polyphénols dans cet extrait est supérieur à ceux des deux autres extraits issus de la même macération (méthanol 80%). Cela nous permet de dire que les polyphénols contenus dans l'extrait des fruits ne possèdent pas un effet antibactérien.

Les souches sensibles sont *Staphylococcus aureus* ATCC6538/p et en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, NAHAL BOUDERBA et *al.*, (2012) et DJENNANE et *al.*, (2012) ont aussi montrés l'efficacité de l'extrait aqueux de feuilles d'*Olea europaea* L. sur *Staphylococcus aureus* et sur d'autres souches bactérienne.

La souche clinique *Staphylococcus aureus* n'a prouvé aucune sensibilité à nos extraits, ce qui nous laisse supposer que c'est une nouvelle souche résistante à certain composé tel que nos extraits.

Les autres souches testées (*Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25929, *E. coli* ATTC 10536, *E. coli*, *Salmonella tiphy*, *Pseudomonas aerogenosa* et *Klebseila pneumoniae*) n'ont prouvé aucune sensibilité vis-à-vis de nos extraits.

D'après les résultats de l'évaluation de la concentration minimale inhibitrice, on peu dire qu'aucune dilution des deux extraits utilisés (l'extrait méthanolique 80% des feuilles infestées et l'extrait méthanolique 100% des fruits sains) n'a inhiber la croissance de la bactérie testé. Se qui nous laisse supposé que la concentration minimale inhibitrice est inférieure ou égale à la concentration des extrait méthanolique 100% des fruits et des feuilles infestés (CMI  $\leq$  0,0423 g EAG/ g de poudres et CMI  $\leq$  0,0498 g EAG/ g de poudres).

# **Conclusion**

### Conclusion

Cette étude rentre dans le domaine de la valorisation de l'olivier sauvage, plante très économique, dans le but de produire des biomolécules à activité biocide. Dans ce contexte, deux aspects principaux sont visés par ce travail, le premier est l'étude de la variation des propriétés phytochimique d'*Olea europea var. oléaster* selon l'organe, l'état sanitaire de l'organe et le mode d'extraction des polyphénols. Les extraits phénoliques sont obtenus par macération dans l'alcool à 100% et dans l'alcool à 80%.

L'identification des groupements chimiques des échantillons était effectuée par Chromatogramme de type FTIR (à infra rouge). Les groupements identifiés chez les feuilles et le fruit sont :

- Les groupements Amides: dans les bandes d'absorption (3340 à 3330, 1660 à 1630 et 1160 à 1070) cm<sup>-1</sup>.
- Les groupements Alcanes : dans les bandes d'absorption (2930 à 2850, 1455 à 1370) cm<sup>-1</sup>.
- Les groupements Acides carboxyliques : dans les bandes d'absorption (1320 à 1260) cm<sup>-1</sup>.
- Les groupements Halogénure : dans les bandes d'absorption (780 à 510) cm<sup>-1</sup>.
- Les groupements Cétoniques sont trouvés uniquement dans le fruit, avec un spectre d'absorption de 1740 cm<sup>-1</sup>.

Le screening phytochimique révèle la présence de tanins, de flavonoïdes (falvones, flavonones et génines), d'anthocyanes et de coumarines dans le fruit. Les saponosides, les hétérosides flavoniques sont présent dans les feuilles infestées, alors que les feuilles saines renferment des flavonoïdes (flavones) et les stéroïdes. Les tanins, les anthocyanes et les coumarines, sont présent dans les deux feuilles saines et infestées.

Le deuxième aspect est de nature biologique, qui a été mis en évidence par un test biologique antibactérien.

L'effet antibactérien de ces extraits est mis en évidence par la méthode des disques, en présence de trois espèces bactériennes pathogènes à savoir :

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538/p, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* (souche clinique), *Escherichia coli* 25929, *E. coli* ATTC 10536, *E. coli* (souche

clinique), *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aerogenosa* (souche clinique), *Klebsiella pneumoniae* (souche clinique) et *Salmonella typhi* (souche clinique). Les huit dernières souches sont résistantes aux deux types d'extrait polyphénoliques testés. L'agent antibactérien le plus actif contre les souches de référence de *S. aureus*, est l'extrait méthanolique 100% de fruits suivi de celui des feuilles infestées avec une CMI insuffisante pour limiter sa croissance. Chez les feuilles, l'extrait méthanolique (80% et 100%) issus de feuilles infestées a un meilleur pouvoir antibactérien. Ce qui montre l'influence positive des infestations de ravageurs, tel que *Parlatoria* sp sur l'olivier var. *oleaster*, sur la synthèse de molécules biocides nouvelles chez les végétaux.

Partant de ces résultats, il est nécessaire :

- D'approfondir l'étude phytochimique en utilisant des techniques plus performantes (HPLC, RMN...) en présence des étalons, pour une identification fiable et certaine des molécules responsables de l'activité anti-*Staphylococcus aureus* présente dans les extraits de l'olivier.
- Etablir d'autres tests biologiques plus détaillés et plus avancés.
- Appliquer les techniques biotechnologiques dans le domaine de production des métabolites secondaires à fin de tirer le maximum de ces molécules, et les utilisées pour l'intérêt de la santé humaine, animale ou végétale.

# **Références bibliographique**

1. **AIT YOUCEF, (2006).** Plantes médicinales de Kabylie, Edition IBIS PRESS, paris pp 233-238.
2. **ALCANTARA J. M. et REY P. J., (2003):** Conflicting selection pressures tree. *Olea europaea*. Journal of Evolutionary biology, 16:1168-1176.
3. **ALI N.R.A., JULISH WD, KUSUNI, K. C. et LINDEQUIST U. (2001).** Screening of Yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities. Journal of ethnopharmacology. 74: 173-179.
4. **ANONYME (2002).** Bulletin inter pour l'Afrique, au sud du Sahara N°17. Institut National des Ressources Phytogénétique. P12.
5. **ANONYME, (1978).** Généralité sur les cochenilles diaspinés. I. N. R. A Antibes. Polycop. 27.
6. **ARCHAMBAUD M et CLAVE D., (2008).** Fiche technique *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae*, Fiche technique bactériologie 83 Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. 4 P.
7. **ARGENSON C., REGIS S. M., JOURDAN J. et VAYESSE P., (1999).** l'olivier. Ed Ctifl. P.204.
8. **ATFEIBU E. S. I., (2002).** Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'*Accacia nilotica* Var *adansoni*. Tees doctorat en pharmacie. Université de Dacar. 37 P.
9. **ATHAMENA S. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cunrimum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse magistère biologie. Université EL-HADJ LAKHDAR-BATNA. P. 88.
10. **AVRIL J L, DABERNAT H, DENIS F et MONTEIL H (2000).** Bactériologie Clinique. 3<sup>ème</sup> édition Ellipses (Ed) Paris P602.
11. **AYOOLA G.A., COKER H.A.B., ADESGUN S.A., ADEPOJU-BELLO A. A., OBAWEYA K. ENZENIA E.C. et ATANYBAYLA T.O. (2008).** Phytochemical Screening and antioxydant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in south Western Nigeria. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. Vol: 7 (3) pp 1019-1024.
12. **BAHORUN T, (1997).** Substance naturelle active : la flore mauricienne , une source d'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius. PP 83-94.

- 13. BARDOALAT M. (2005).** L'olivier trésor de santé. Alpen Edition. P. 95. ISBN-13 :9782914923293.
- 14. BARTOLINI G. et PETROCCELLI R. (2002).** Classification, origine and history of the olive. Food and Agriculture Organization of the united nation. Rome. P 74. ISBN: 92-5-104831-2.
- 15. BASLI A., CHIBAN M., MADANI K. et OUKIL M. (2011).** Activité anti bactérienne des polyphénols extrait d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *origanum glandulosum* Desf. Springer-veriag France. Phytothérapie 10 : PP 2-9.
- 16. BENBRINI S. (2012).** Evaluation des activités antioxydant et antibactérienne de extrait de *Santolina chamaecyparissu*. Thèse de magistère en biochimie 84 P.
- 17. BENHAYOUN G, LAZZERIY. (2007).** L'olivier en méditerranée du symbole a l'économie. Ed L'harmattan. 139p. ISBN : 978-2-296-03636-2.
- 18. BENNANI-KAPCHI N. FDHIL H. CHERRAH Y., BUAYADI F., KEHEL L., ET MARKIE G., (2000).** Effet thérapeutique des feuilles d'*Olea europaea* var. *oleaster* sur le métabolisme glucido-lipidique chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) obèse pré diabétique. Masson, Paris, Ann Pharm Fr, 58 :271-277 ;
- 19. BERUBE-GAGNON (2006) in ATHAMENA S. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cunrimum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse magistère biologie. Université EL-HADJ LAKHDAR-BATNA. P. 88.
- 20. BESANÇON P, DEBOSQUE S, DELPEUCH F , DESCOMPS B, GERBER M , LEGER C L , PADILLA M et PUYGRENIER M., (2000).** Alimentation méditerranéenne et santé : actualités et perspectives, Edition John Libby Eurotext. Paris. P 177.
- 21. BESNARD G. AND BERVILLÉ A. (2000).** Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea Europaea* L. subsp *europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris série III 323: 173-181.
- 22. BIDIE A.P., N'GESSAN J.D., DJAMAN A.J. (2011) :** Activité antioxydante de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. science et nature. vol 8 n°1 : PP 1-11.

- 23. BIYITI L F., MEKOO D. J. L., TAMEZ V. et AMVAN ZOLLO P.H. (2004).**  
Recherche d'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises.  
Pharm. Med. Afr. Vol 13. PP 11-20.
- 24. BOSKOU D. (2009).** Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil in Olive oil: minor constituents and Health. Ed. CRC press. pp 11-44.
- 25. BOUDRIBILA M.M., (2004).** Les anciens amazighs avant les phéniciens.  
Edition Awal. 29p.
- 26. BOUHDID S. IDAOMAR M., ZHIRI A., BAUDOUX D., SENHADJI SKLIL N. et ABRINI D.** L'effet antibactérien in vitro de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* vis-à-vis de souche d'origine clinique. PP
- 27. BOUMAZA A., (2009).** Effet de l'extrait méthanolique de *zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Thèse magister en biologie cellulaire et moléculaire. Université de Constantine. 125 P.
- 28. BOUTERFAS K., MEHDADI Z., LATRECH A., HAZEN Z., ET BOUREDJA N., (2013).** Quantification de quelque polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. les technologies de laboratoire vol.8, N°31 PP 34-41.
- 29. BRAHMI F. , MECHRI B., PHIBI M., HAMMANI M. (2013).** Variation in phenolic compounds an antiradical xavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. Industrial Crops and Products 49: PP.256 -264
- 30. BRUNETON J. (1999).** Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales. Technique et documentation. 3<sup>em</sup> édition. Lavoisier. Paris, P. 1120.
- 31. CARRION Y., NTIMOU M. et BADAL E. (2009).** *Olea Europaea* L. in the north Mediterranean basin during the pleniglacial and the early- middle Holocene. Quaternary science Review: 29. PP. 952-968.
- 32. CATSAROS C., (2007).** Le grand livre des QCM de culture générale ; T2 ; Ed. Letudiant ; P. 321; ISBN : 978-2-84624-806-8
- 33. CEULIER G., VANDDYCK S., GERBAUX P., EECKHAUT I. et FLAMMANG P. (2011).** Etude de la diversité des sapanine parmi les holothuries de la famille des holothurides (*Holothuridae*) . la Bêche-de-mer, Bulletin de la CPS n°31. PP. 48-54.

34. **CHAIEB, I. (2010).** Saponins as insecticides: a review. *Tunisian Journal of Plant Protection* 5. PP. 39-50.
35. **CHEBAIBI A., RHAZI FILALI F., AMINE A., et ZERHOUNI M. (2011).** Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum*) sur des bactéries multi résistance aux antibiotiques. Springer-Verlag France. *Phytothérapeuticien*. 9. PP.158-164
36. **CHEBAIBI A., RHAZIFILAI F., LAHLOU AMINE I., CHAHLAOUI A., et KASMI H.L. (2007).** Etude de l'activité anti microbienne des feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L.). Journée scientifique « Ressources naturelles et antibiothérapie ». Faculté des sciences Kenitra.
37. **CHLIQUE C. (2011).** ; Préparation et caractérisation de poudres et céramiques (oxy) sulfures pour applications en optique passive et active. Thèse doctorat en chimie. Université de Rennes.
38. **COLLIN S. et CROUZET J. (2011).** Polyphénols et procédés. Edition LAVOISIER. ISBN :978-2-7430-1338-7 P 338.
39. **COUTIN R., (2003).** Les insectes de l'olivier. *INSECTS* n°130. PP 19-22.
40. **COWAN M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microb. Rev.* Vol. 12. pp. 564-582. In GENNANE et al. (2012),
41. **DEKANSKI, D., JANICJEVIC-HUDOMAL, S., TADIC, V., MARKOVIC, G., ARSIC, I., et MITROVIC D. M. (2009),** Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. *Journal of Serbian Chemical Society*, 74 (4), 367-377.
42. **DJENNANE D., YANGUELA J., DERRICHE F., BUARAB L., ET RONCALES P. (2012).** Utilisation des composé des feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technologie*, n°7, PP. 53-61.
43. **DURAND A. et TERRAL J-F. (2010).** Regarder autrement le charbon de bois archéologique: l'exemple de l'irrigation des plantations d'oliviers en France méridionale et en Catalogne (IXe-XVesiècle). "Archéologie du Midi Médiéval. P22
44. **EKOUMOU, (2003) :** Étude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse doctorat. Université de Bamako. P148.

45. **FABBRI A., BARTOLINI G., LAMBARDI M., et KAILIS S. (2004).** Olive propagation manual. (Landlinks Press) CSIRO Publishing P. 152. ISBN : 978-0643066762
46. **FAURE J., (2004).** L'olivier dans tous ses états. France Europe Eds. P. 151 : 2-84825-081.
47. **GHEDIRA K., (2008) :** L'olivier. phytothérapie Springer Vol 6 : PP 83-89.
48. **GUIGNARD, (2002)** biochimie végétale. Etude de l'impact de la nutrition azote et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. INRA. Nancy université.
49. **HAMOUDI R., HADJ MHAMMED M., RAMDAN F. et KHODIR A. A. (2012).** Activité anti bactérienne des extraits phenolique de la plante *Teucrium polium geyrii*. Algerian journal of arid environnement vol 2n°1 : PP 49-55.
50. **HANNACHI H., BRETON C. MSALLEM M., BEN EL HADJ S., et GAZZA M. AND BERVILLÉ A. (2008).** Differences between native and introduced olive cultivars as revealed by morphology of drupes, oil composition and SSR polymorphisms: a case study in Tunisia. Scientia Horticulturae, 116. PP.280-290.
51. **ISAGER S. et SKYDSGAARD J. F., (1995).** Ancient Greek agriculture and introduction. Ed. Routledge P.234.
52. **JUDD W.S. CAMPBELL D., SKELLO E. A. et STEVEN P. (2002) :** Botanique systématique : perspective phylogénétique de Boeck université 1er Ed. P 911.
53. **KABLAN B. J., ADIKO M. et ABROGOUA1 D. P., (2008).** Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Cote d'Ivoire. Springer, Phytothérapie 6: 282–288.
54. **KAROU D., DIKO M. H., SIMPORE J., YAMEAGO S., SANON S. et TRAORE A. S. (2005):** Activité antioxydante et antibactériennes des polyphénols extraits de plante médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso, maîtrise des procédés en vue d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments, l'utilisation des OGM, analyses des risque en agroalimentaire
55. **KARUMI Y., ONYEYILI P. A., et OGUGBUAJA V. O., (2004) :** Identification of Active Principales of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract. J. Med. Sci 4(3). PP 179-182.

- 56. KOUGAN NKWOKAP (2010)** : Isolement et caractérisation des saponosides de trois plantes de la famille des *Araliceae* et *Dracaeraceae* et évaluation de leur activité cytotoxique sur cellule tumorales. Thèse doctorat en pharmacie université de Bourgogne.
- 57. KOUNTOUN A. M., MYLONA. A., KALIORA A.C. et ANDUKOPOALOS N. K. (2007)**. Bioavailability of the phenolic compounds of the fruits( drupes) of *Olea europea* (olives) impact on plasma antioxidant status..
- 58. LANGER P. (2009)**: L'olivier. Ed Edisud. P 127 ; ISBN: 978-2-7449-0782-1.
- 59. LE DRIANT F., (2012)**. Site internet <http://www.florealpes.com>. Consulter le 23 Octobre 2013.
- 60. LENOIR L. (2011)**. Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de doctorat en nutrition. Université d'Auvergne. P.290.
- 61. LESPINASSE J. M. et LETERME E. (2005)** : De la taille de la conduite des arbres fruitiers, Ed. Educagréd éditions, 220 P. ISBN : 2-84444-387-7.
- 62. LUMARET R., OUAZZANI N., MICHUAD H., VIVIER G., DEGUILLOUX M. F. et DI GIUSTO F. (2004)**. Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean basin. *Heredity*, 92: 343-351.
- 63. MACHEIX J. J., FLEURIET A et ALLEMAND J.C. (2005)**. Les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économique). Ed Technique et Documentation. Lavoisier. P 192.
- 64. MAHMOUDI S, KHALI M et MAHMOUD N. (2013)** : Etudes de l'extraction des composés phénolique de différente partie de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus* L.) « nature et technologie » B- science Agronomie et biologique n°9 Pp 35-40.
- 65. MENDIL M. et SEBAI A. (2006)**. Catalogue des variétés Algérienne de l'olivier en Algérie, N°1840. P.104.
- 66. MUTAI C., BII C., VAGIAS C., ABATIS D., et ROUSSIS V., (2009)**. Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol 123, PP. 143-148.
- 67. N'GUESSAN A. H. O., DELIKO C. E. D., MAMYRBEKOVA- BEKRO J. A. et BEKRO Y. A. (2011)** : Teneurs en composé phénolique de 10 plantes

- médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en cote d'ivoire. Revue de génie industriel. PP 55-61.
- 68. NAHAL BOUDERBA N., KADI H., MOGHTET S., MEDDAH B. et MOUSSAOUI A., (2012).** Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Olea Europaea* Leaves from Algeria. The Open Conference Proceedings Journal, 2012, 3, pp 66-69
- 69. NAUCIEL C. (2000).** Bactériologie médicale. Ed Elsevier Masson (Ed) Paris P. 276.
- 70. OULEBSIR R. (2010):** L'olivier en Kabylie entre mythe et réalités, Ed : Harmattan, Paris. P ISBN978-2-296-0588.
- 71. PANIS (1979) in MOUANDZA M.C., (1990).** Inventaire des cochenilles et de leurs ennemis naturels sur agrumes, fluctuation des populations de quatre diaspines, *Lepidosaphes beckii*, New *Lepidosaphes golverui*, *Parlatoria pergondei* Comstock, *Parlatoria ziziphi* Lucas dans la Mitidja. Ths. Ing. Agr ; INNES. Blida, 140p.
- 72. PARIS R. MOYSE H. 1971:** Matière médicale Ed Masson 3édition. P 509.
- 73. POLAISE J. M. (2007).** La culture des oliviers. Edition Arthemis. P 95
- 74. POLESE J. M. (2009).** Olivier pas à pas. , Ed Edisud . p95.
- 75. RAHAL K. (2005).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. Selon les recommandations de l'OMS. 4em édition. Institut pasteur. Algérie. P 94.
- 76. RAVEN. P.H., EVERT R. F. et EICHHORN S. E. (2000)** Biologie végétale. Ed Deboech, Paris. P. 924. ISBN : 27445-0102-6
- 77. SAIT S., (2012) :** Activité antioxydante et antibactérienne des huiles d'oléastres (*Olea europaea* var. *oleaster*) de la région de Bejaïa. Thèse Magister en microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université de Bejaïa. P.76.
- 78. SAVITHRAMMA N., LINGA RAO M. et SUHROLATA D. (2011):** Screening of medicinal plants for secondary metabolites. Midale East Journal of Scientific Research Vol 8: PP 579-584.
- 79. SINGLETON V. L., ORTOFER R., LAMUELA-RAVENTOS R. M., (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means

of Folin Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology. Orlando. Academic Press: PP.152-178.

- 80. SRIPAD G., PRAKASH V. ET NARASINGA RAO M. S., (1982):** Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *J. Biosci.*, Vol. 4, Number 2, pp. 145-152.
- 81. TURA D., GIGLIOTTI C., PEDO S., FAILLA O., BASSI D. AND SERRAIOCCO A. (2007).** Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europea* L.) and correlations with oxidative stability. *Scientia Horticulturae*, 112: 108–119.
- 82. VAN DER VOSSEN H.A.M. ET MKAMILO G.S. (2007).** Oléagineux « Ressources végétales de l’Afrique tropicale volume 14 » Fondation Prota. Pays-Bas. ISBN : 90-5782-195-0 [P 261].
- 83. VEILLET S., (2010)** Enrichissement nutritionnel de l’huile d’olive : entre tradition et innovation. Thèse doctorat université d’Avignon. P 160.
- 84. YANO et al., (2006). In ATHAMENA S. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cunrimum cuminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l’évaluation de l’activité biologique. Thèse magistère biologie. Université EL-HADJ LAKHDAR BATNA. P. 88.

# **Annexes**

## Annexe N° 1

### Appareillage

- Bain marie.
- Etuve.
- Incubateur à 35°C
- Vortex.
- Broyeur.
- Balance pour peser la poudre végétale.
- Agitateur. Verrerie

et accessoires

- Entonnoirs, poire et flacons.
- Erlen et ballons
- Papier filtre
- Filtre Buchner.
- Bec bunsen.
- Boîte de pétri.
- Pipette pasteurs.
- Pince de laboratoire.
- Portoirs pour les tubes.
- Ecouvillon.

**Tableau : Composition chimiques des milieux de cultures utilisés**

<b>Milieu Muller Hinton</b>	<b>Gélose nutritive</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Infusion de viande de bœuf : 300,0 ml</li><li>• peptone de caséine : 17,5 g</li><li>• amidon de maïs : 1,5 g</li><li>• agar : 17,0 g</li><li>• pH = 7,4</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• extrait de viande 1,0g</li><li>• extrait de levure 2.5g</li><li>• peptone 5,0g</li><li>• chlorure de sodium 5,0g</li><li>• Agar 15,0g</li><li>• pH = 7,0</li></ul>

**Annexe N°2 :**



**Figure 1 : Evaporateur rotatif**



**Figure 2: Spectrophotomètre UV/Visible**



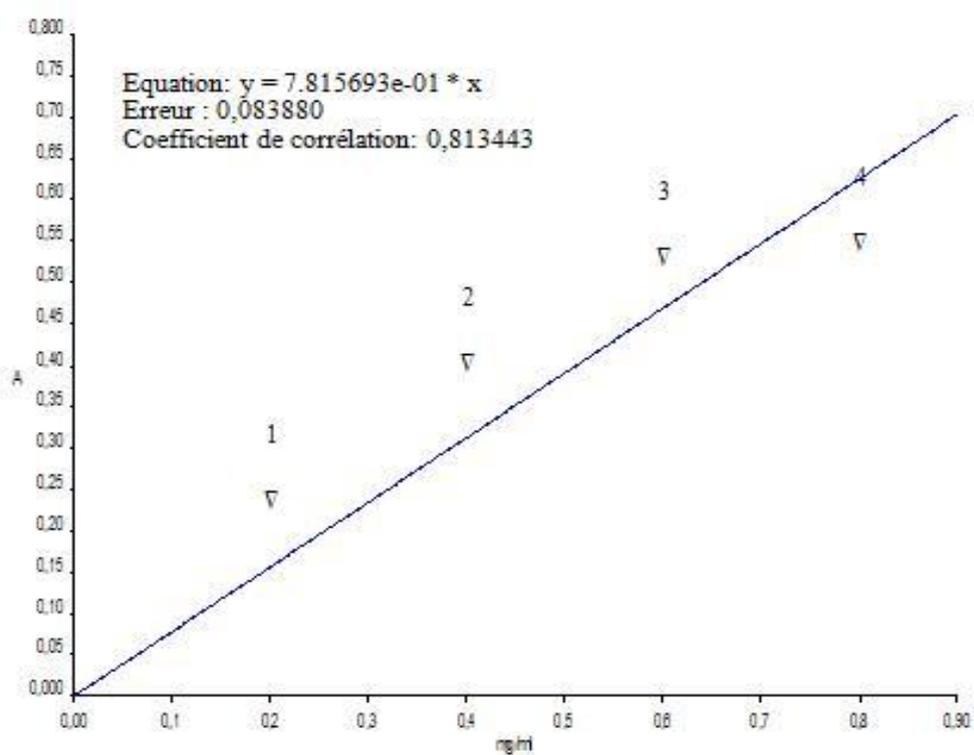
**Figure 3 : Spectromètre Infra Rouge à Transformer de Fourier (FTIR).**

### Annexe N° 3

**Tableau:** L'absorbance des différents extraits

Extraction	Absorbance		
	Fr	Fs	Fi
Méthanol 80%	0,634	0,567	0,620
Méthanol 100 E2	0, 647	0,187	0,421

### Annexe N°4



**Figure :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### Annexe N°4

**Tableau :** les teneur en polyphénols selon les organes et le mode d'extraction

Extraction	Feuilles saines	Feuilles infestées	Fruits sains
Méthanol 80%	0,0387	0,0423	0,0433
Méthanol 100%	0,0144	0,0324	0,0498