



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature
et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Biotechnologie

Référence

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

MÉMOIRE DE MASTER

Présenté et soutenu par :
SALEM Nourelhoda et SAKER ILhem

Le : mercredi 29 juin 2022

***Contribution à l'étude de l'activité antioxydant de
l'extrait éthanolique des feuilles de l'olivier
(Olea europaea.L).***

Jury :

Mme. BOUATROUS Yamina	MAA	Biskra	Président
Mme. FATITI Nabila	MAA	Biskra	Rapporteur
Mme NEFOUCI Fatima	MAA	Biskra	Examineur

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

*Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :
A ALLAH le tout puissant qui m'a permis d'être ce que je suis aujourd'hui.
Car l'homme propose mais ALLAH dispose. Seigneur, veuillez toujours
Diriger mes pas.*

*Nous tenons à adresser mes très sincères remerciements à Notre promoteur de
Mémoire Mme. **Nabila FETITI** qui nous a guidé dans notre
Travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très
Patient avec nous, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.
Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement à Les membre
De jury Dr Nefouci Fatima Et Bouatrous Yamina. Qui ont accepté de juger Notre travail.*

*Sans oublier de remercier
Notre Département, l'équipe de bibliothèque de biologie, les travailleurs de
l'administration et les agents de la faculté.*

*Mes remerciements vont également à tous mes enseignants, pour les informations
Et les aides au cours des années de mes études, surtout les enseignants du département de
biologie.*

À tous les étudiants de master de la promotion 2022.

*À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la
réalisation de ce travail.*

Dédicace

Je remercie beaucoup Allah, Seigneur des mondes, et après avoir prié

Muhammad, que les prières et la paix de Dieu soient sur lui

On dit que si tu veux quelque chose et que tu y crois, tu l'auras

Ma carrière universitaire s'est terminée après l'épuisement et les difficultés...

et me voilà en train de conclure mon mémoire de fin d'études avec toute son

activité

Je dédie ce travail à ma mère bien-aimée, à mon cher père.

Je remercie mes frères, Nabil, Rezak, Touhami, et mes sœurs, chahra, Ikram

Mes remerciements vont à ma grand-mère, mes oncles maternels, mon cousin

Kholoud, et ma tante Louiza

Ainsi qu'à toute ma famille et mes amies « houda, safa, Yamina »

A tous les collègues de ma promotion mes amis, et je prie Dieu de vous

protéger et de prolonger votre vie.

E à la Fin je dédie ce travail à moi-même

Ilhem

Dédicace

*Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed paix et salut sur lui le
Sceau des prophètes ainsi que ses compagnons pour nous avoir apporté la
religion de l'Islam*

Je dédie ce modeste travail

A la plus belle créature que Dieu a créée sur terre...

A cette source de tendresse, de patience et de générosité et platitude

A ma mère

A mon cher père

A mon mari Abdelmounam

A mes deux frères Oussama et Abderrahmane

A mes deux soeurs Amina et Ikhlas

Ma deuxième famille, ma tante est Rabiha et mon oncle Mohammed

A tout ma famille de côté père et mère

A mes amies (Djazia, Yasmine et mimi,samah,ikram)

A mes collègues (Ilhem, Safa et Yamina) et tous les étudiants de notre

Nour elhoda

Sommaire

Remerciements	
Dédicace.....	
Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures	II
Liste des Abréviations	III
Introduction	1

Chapitre 1 : L'olivier.

1.1. Historique de l'olivier	3
1.2. Systématique et classification	3
1.3. Description botanique et caractères morphologiques	4
1.3.1. Description	4
1.3.2. caractères morphologiques.....	5
1.4. Répartition géographiques.....	5
1.4.1. Dans le monde.....	5
1.4.2. En Algérie.....	7

Chapitre 2 : Les radicaux libres et les antioxydants.

2.1. Capacité antioxydant.....	8
2.2. Le stress oxydatif.....	8
2.3. Origine du stress oxydatif.....	8
2.4. Les radicaux libre et Les antioxydants.....	8
2.5. Mécanisme d'action des antioxydants.....	9

Chapitre 3 : Matériel et Méthodes.

3.1. Collecte du matériel végétal	13
3.2. Préparation du matériel végétal	13
3.3. Méthode d'analyse	14
3.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	15
3.4. Évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits	15
3.4.1. Piégeage du radical DPPH.....	15
3.4.2. Pouvoir réducteur (FRAP).....	16

Chapitre 4 :Resultants et Discussion.

4.1.Rendements des extraits bruts	18
4.2. Détermination de la teneur en polyphénols totaux	19
4.3. Evaluation du potentiel antioxydant des extraits	
4.3.1.Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)	22
4.3.2. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP).....	23
Conclusion.....	26
Bibliographie.....	
Annexes	
Résumés.....	

Liste des Tableaux

Tableau 1: Régions de récolte des feuilles *d'Olea europaea*
L.....13

Tableau 2: Effet antioxydant (CI50) sur les radicaux DPPH des différents extraits *d'Olea europaea*
.L.....22

Tableau 3 : Effet antioxydant (CI50) sur la réduction de fer des différents extraits des feuilles *d'Olea europaea.*
L.....23

Liste des Figures

Figure 1 :Distribution géographique de l'olivier.....	6
Figure 2 : Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008)	7
Figure 3 : Réaction du DPPH avec un antioxydant.....	9
Figure 4 : Réaction de la super oxyde dismutase SOD.....	10
Figure 5 : Réaction de la glutathion peroxydase GPx.....	10
Figure 6 : Structure de l'hydroxy toluène butyle ou BHT.....	11
Figure 7 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	15
Figure 8 : Rendements des extraits bruts éthanoliques.....	19
Figure 9 : Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS) des différents extraits obtenus.....	21

Liste des Abréviations

- **FAO** : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture = Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
- **DPPH** : 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl.
- **FRAP** : Pouvoir réducteur.
- **FPP** : Farnésylpyro phosphate.
- **GGPP** : Geranylgeranylpyro phosphate.
- **GPP** : Géranylpyrophosphate.
- **GPx** : Glutathion peroxydase.
- **CI50** : Concentration inhibant 50%.
- **SOD** : super oxyde dismutase.
- **Cat** : catalase.
- **EAA** : equivalent acide ascorbique.
- **V/V** : volume par volume.
- **EE** : Extrait éthanolique.
- **EA** : Extrait aqueux.
- **TAC** : Capacité antioxydante totale ou test du phosphomolybdate.
- **BCB** : Test d'inhibition du blanchiment du β -carotène.

- **%** : Le pourcentage d'inhibition
- **A0** : Absorbance de la réaction de contrôle contenant tous les réactifs sauf l'extrait (T= 0 min)
- **A** : Absorbance de l'échantillon contenant une dose d'extrait testée (T= 30 min).

Introduction

L'olivier (*Olea europaea. L*) est l'arbre emblématique de la méditerranée. Dès l'antiquité, il a joué un rôle très important dans la vie des populations méditerranéennes qui le considèrent comme symbole de paix, de solidarité et de volonté ainsi que du commerce et de l'économie. Par ailleurs, l'huile d'olive est un constituant majeur de la « diète méditerranéenne » vu son importance nutritionnelle. Cet arbre béni est l'un des principaux vecteurs de l'entretien du territoire parce qu'il a toujours été présent depuis plusieurs millénaires sur le pourtour méditerranéen. Actuellement, plus que 750 millions d'ha sont cultivés en olivier dont 95% se situent dans le bassin méditerranéen (**Trabelsi ;2020**).

L'olivier présente une grande diversité génétique avec près de 1 250 variétés cultivées dans 54 pays qui, d'ailleurs, ont été incluses dans la base de données du germoplasme de l'olivier de la FAO. La plus grande partie de ces cultivars vient des pays du Sud de l'Europe comme l'Italie (583 cultivars), l'Espagne (183 cultivars), la France (88 cultivars) et la Grèce (52 cultivars). Vu la richesse de ce germoplasme, l'olivier est un cas exceptionnel entre les cultures horticoles et sa biodiversité qui peut représenter une source riche de variabilité pour l'amélioration génétique de cette plante ((Belajet *al*, 2010) Cité par (**Dhia ,2018**)).

L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques. En effet, l'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie remonte à très loin dans l'histoire. L'olivier est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques. Certains composés identifiés dans les extraits de feuilles, tels que les composés phénoliques sont doués d'activités biologiques extrêmement importantes (**Djenane, et al. ,2012**).

Les polyphénols constituent une famille de composés qui sont omniprésents dans le règne végétal. Les nombreuses propriétés de ces composés relatives à la santé, largement décrites dans des études épidémiologiques, sont principalement fondées sur leurs activités antioxydants : ils peuvent piéger les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et sont même des chélateurs de certains ions métalliques. Désormais, l'usage des flavonoïdes connaît un intérêt explosif, en particulier celui des anthocyanines, qui sont utilisés comme suppléments alimentaires potentiels, ce qui a contribué à la découverte du pouvoir antioxydant de ces substances (**EL-haci, et al. ,2012**).

Objectif Ce présent travail, consiste en une contribution à l'évaluation de la teneur en polyphénols totaux contenus dans l'extrait éthanolique des feuilles d'olivier (*Olea europaea. L*) à l'évaluation de l'activité antioxydant de cet extrait.

Notre travail est organisé en deux parties :

Partie théorique comporte de chapitre 1 : l'olivier et chapitre 2 : les radicaux libres et les antioxydants et partie experimental comporte de chapitre 3 : matériel et méthodes et chapitre 4 : resultants etdiscussion

Chapitre 1 : L'olivier

1.1. Historique et Origine de l'olivier

Il est assez difficile d'affirmer à quelle époque est né l'olivier. Des fossiles de feuilles datant de six millions d'années ont été découverts à Mongardino, en Italie, et des restes d'arbres du XIIème millénaire avant Jésus-Christ (av-J-C) en bordure du Sahara. En Méditerranée orientale, des feuilles fossilisées datées de 37000 ans av-J-C ont été trouvées à Santorin, île de la mer Egée ((Fouin et Sarfati, 2002) cite par (Smail ,2013)).

Depuis l'antiquité, l'olivier a toujours été un symbole de paix, de prospérité, de sagesse et d'abondance. Etant l'arbre sacré, il était interdit de le couper. Cultivé depuis l'antiquité, associé à diverses civilisations, l'olivier constitue de nos jours le trait d'union entre les pays méditerranéens. Dans la religion islamique, le Coran parle de « cet arbre sacré », et produit de l'huile et un condiment (Sourate XXII « les croyants, verset 20 ») et Sourate XXIV « la lumière, vé L'origine mythologique de l'olivier fait toujours de cet arbre un don de dieu. D'après (Besnard G., 2005) l'origine de l'olivier reste toujours incertaine, mais la thèse la plus fréquemment retenue désigne la Syrie et l'Iran comme lieux d'origine. Il est généralement admis que le berceau de l'olivier fut l'Asie mineure et aussi la Grèce, les Cyclades et les Sporades. rset 35 ».

Au troisième millénaire avant le Christ, il est cultivé en Syrie, en Palestine, puis au Gré des conquêtes et de l'expansion commerciale, on le retrouve en Sicile, Italie, Tunisie, Algérie au Maroc et dans le midi de la France. Selon le Conseil Oléicole Internationale (COI., 1998), on découvrit en 1957 dans la zone montagneuse du Sahara Central (Tassili dans le Hoggar en Algérie), des peintures rupestres réalisées au IIe millénaire avant J .C avec des hommes couronnés de branches d'olivier témoignant ainsi de la connaissance de cet arbre au cours de ces époques anciennes.

La propagation de l'olivier s'est faite par les grecs, les romains et les arabes au cours de leur colonisation (Benrachou ,2013).

1.2. Systématique et classification

- Embranchement : Phanérogames
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones

- Série : Terebinthales
- Ordre : Ligustrales
- Famille : *Oléacées*
- Genre : *Olea* (Tournefort)
- Espèce : *europaea* (Linné)
- Sous-espèce : *sativa*

Le genre *Olea* se compose lui-même de 30 espèces différentes réparties sur les 5 continents. Certaines classifications décomposent l'espèce *Olea europaea* en deux sous-espèces : *Olea europaea* L. subsp. *Europaea* ou olivier cultivé, constituée par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage ou par greffage et *Olea europaea* L. , subsp. *Oleaster* Fiori, entité taxonomique couramment dénommée oléastre. Ce dernier est parfois classé comme une variété botanique de l'espèce *Olea europaea*.L. var, *sylvestris* Mill, ou comme une espèce à part entière *Olea oleaster*. Dans la végétation spontanée, l'oléastre se présente sous la forme d'un buisson épineux à fruits généralement petits. Cette forme est répandue autour de la Méditerranée.

Les phytosociologies observent que l'oléastre est une des composantes de l'association végétale dénommée "oleo-lentiscetum". Cette association est présente naturellement sur pratiquement tout le pourtour méditerranéen (Granier ,1999).

1.3. Description botanique et caractères morphologiques

1 .3.1. Description

L'olivier fait partie de la famille des oléacées, il était et il est toujours principalement cultivé pour ses olives bien qu'il a aujourd'hui intègre le statut d'arbre d'ornement. C'est un arbre moyennement trapu (moyenne de 2m) qui peut pour certain sujet atteindre les 15 mètres de hauteur (Wagner,1999). L'olivier peu vivre plus de 1000 ans, son tronc tourmenté et noueux porte à sa base de nombreux rejets dans sa condition

Mi- sauvage. Le bois d'olivier est brun clair veiné de marbrures sombres, il est apprécié par les ébénistes et les sculpteurs.

Les feuilles de l'olivier ne tombent jamais, (durée de vie, trois ans) leur situation sur le rameau est dite "opposée", le pétiole est court. La face supérieure des feuilles est luisante vert foncé, tandis que la face inférieure présente un aspect argenté dû à la pruine, ses fleurs

blanches forment des grappes courtes. Le fruit, l'olive, est une drupe avec une pulpe charnue riche en matière grasse. D'abord vert, il devient noir à maturité complète, vers octobre novembre. Il est constitué de trois parties : épicarpe, Mésocarpe (pulpe), Endocarpe (paroi de noyau) dont une section transversale couplée à la composition physique et chimique rapportées. Le noyau (amandon) est très dur, osseux, contient une graine, rarement deux. Les fleurs blanches, à corolle en tube portant quatre lobes ovales, sont groupées en grappes dressées et apparaissent à l'aisselle des feuilles vers mai-juin (**Manallah ,2012**).

1.3.2. La caractérisation morphologique

Est basée sur la description de l'arbre, de la feuille, du fruit et du noyau. Les caractères relatifs au noyau sont les plus discriminants entre les variétés. Ces derniers sont relativement moins influencés par l'environnement et ils permettent, par conséquent, plus de distinction entre les variétés d'olivier. Ces caractères sont les suivants :

1. Le port de l'arbre qui peut être, selon les variétés, dressé, étalé ou retombant,
2. La feuille : la longueur, la largeur, la forme qui est déterminée par le rapport longueur sur largeur, la courbure longitudinale du limbe, la courbure transversale du limbe et en fin la brillance de la face supérieure de la feuille,
3. Le fruit : la forme, la symétrie du profil, la base, le sommet, le mamelon, la position du diamètre transversal maximal, la densité des lenticelles, les dimensions des lenticelles et la localisation initiale de la véraison,
4. Le noyau : la forme, la symétrie du profil, la symétrie de la face, la base, le sommet, le mucron, la position du diamètre transversal maximal, la surface, le nombre de sillons fibrovasculaires et leur distribution sur le noyau (**C.O.I, 1997**).

1.4. Répartition géographique

1.4. 1. Dans le monde

Bien que l'olivier soit présent dans les quatre continents, environ 95% de la production Mondiale de l'huile d'olive provient du Bassin méditerranéen. L'olivier est considéré comme une espèce caractéristique de la région méditerranéenne. On le rencontre surtout entre le 25^{ème} et 45^{ème} degré de latitude, dans l'hémisphère nord aussi bien que sud. On le trouve même dans Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et

jusqu'en Chine (Benhayoun et Lazzeri, 2007). La figure (01) montre la répartition de l'olivier dans le monde

La production mondiale d'huile d'olive fluctue en fonction des conditions climatiques, et de la bisannualité de la récolte. Cette production mondiale est également l'influencée de la production d'huile d'olive de l'Italie, et de l'Espagne qui représentent environ deux tiers de la production mondiale. En effet l'Espagne produit à peu près 41 % de la production mondiale, et l'Italie produit 18 % de la production mondiale. Viennent ensuite les autres Producteurs comme la Grèce qui représente 12,1 %, le Portugal qui représente 1,7 % et La France avec 0,2 %. Cela fait de l'Europe le principal continent producteur d'huile d'olive, Car elle présente environ 75 % de la production mondiale. ((Onfaa ,2016) Cité par (Himour ,2018)).

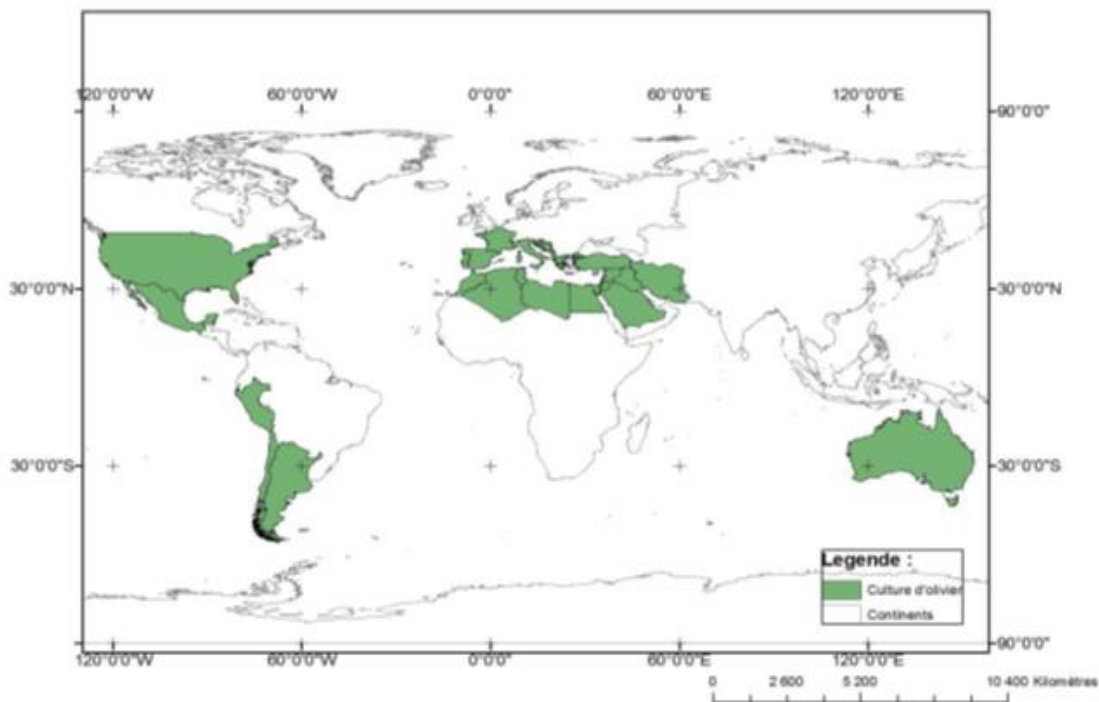


Figure 1 : Distribution géographique de l'olivier (Pagnol, 1975 modifiée)

1.4. 2. En Algérie

L'Algérie, à l'instar des autres pays du bassin méditerranéen, renferme d'importantes ressources oléicoles. Elle offre à l'olivier un milieu bioécologique plus favorables. En effet, la

culture de l'olivier est traditionnelle en Algérie ; elle représente l'activité arboricole la plus dominante du pays du point de vue superficie. La superficie totale du verger nationale selève à 310000 hectares pour plus de 34 millions d'arbres, dont 15 millions sont en production répartie dans trois régions : le Centre, l'Est et l'Ouest avec respectivement 54,3 %, 28,3 % et 17 % de la surface totale. en 2010, les prévisions de superficies oléicoles portent sur 309 500 ha. La plupart des oliveraies (80%) sont situées dans des zones de montagne, sur des terrains accidentés et marginaux, peu fertiles (Fig. 2). Le reste des oliveraies (20%) sont situées dans les plaines occidentales du pays essentiellement au niveau de trois wilayas (Mascara-Sig-Relizane) ((Mendil et Sebai, 2006) cité par (Smail ,2013))

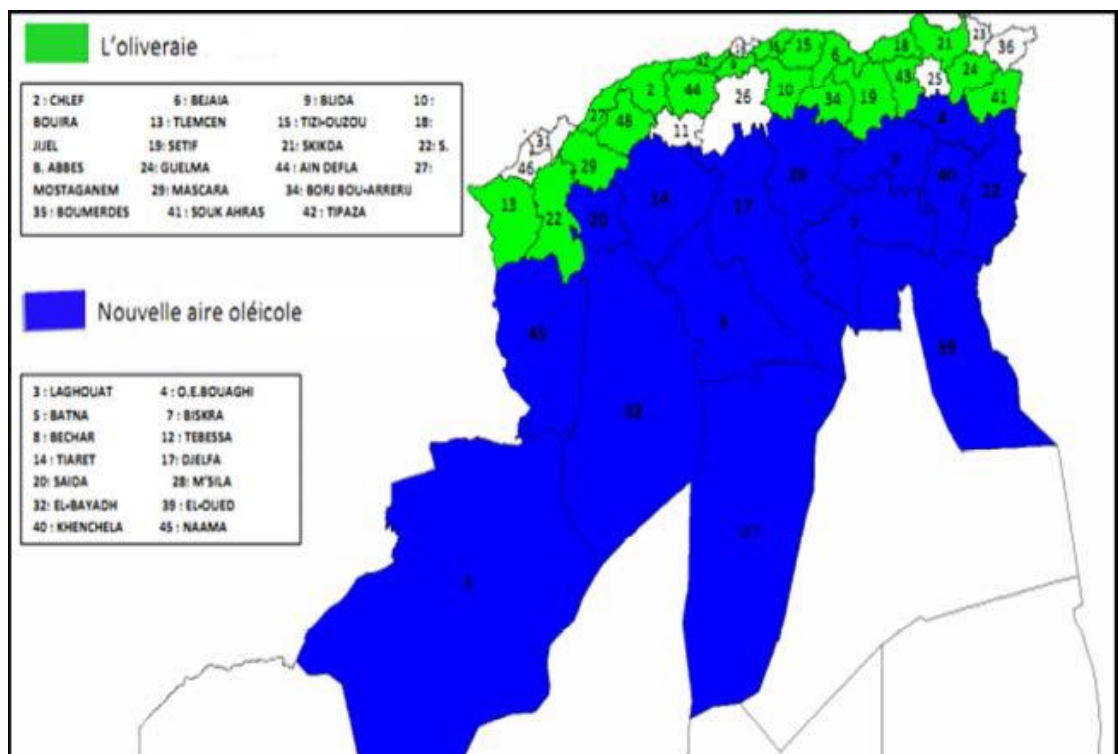


Figure 2 : Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008)

L'oléiculture dans la wilaya de Batna se présente par deux types, l'une traditionnelle localisée dans les zones montagneuses de la région et l'autre récente rentre dans le cadre des différents programmes de développement de cette filière d'arboriculture (PNDA, FNRDA, FNDA et PPDRI), l'oléiculture occupe actuellement 34% de la surface réservée à l'arboriculture fruitière avec 7.500 hectares contre 1062 hectares en 2000 ((DSA, 2011)cité par (Smail ,2013)).

Chapitre 2 :
Les radicaux libres et les
antioxydants

2.1. Capacité antioxydant

Du fait de leur haute réactivité, les espèces oxygénées réactives (EOR) sont responsables de nombreux dommages vis-à-vis des constituants cellulaires. Cette production d'espèces délétères est généralement équilibrée par leur consommation à vitesse égale par le système antioxydant endogène. La rupture de l'équilibre entre espèces pro- et anti-oxydantes est désignée par le terme de stress oxydant.

2.2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif apparaît donc quand un déséquilibre se forme dans la balance

Anti/pro-oxydants. C'est seulement à ce moment que les ERO vont exercer leur action

Délétère sur l'organisme. Les radicaux libres sont responsables de dommages sur toutes les

Molécules biologiques comme les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les

Hydrates de carbone (Favier, 2003)

2.3. Origine du stress oxydatif

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles

Pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement

maitrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance

antioxydants/ peroxydant est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en

antioxydants ou par suite d'une surproduction de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé

Stress oxydatif. Il est maintenant admis que le phénomène de stress oxydant est impliqué dans

l'étiologie de nombreuses maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, Huntington),

de désordres pathologiques (syndrome d'ischémie reperfusion), mais également dans les

phénomènes de vieillissement (Favier,2003)

2.4. 1. Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés,

Ce qui le rend extrêmement réactif (Vansant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de

leurs D'après Dacosta (2003), les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps

Humain sont : l'anion superoxyde (O_2^-) ; le radical hydroxyle (OH^-) ; le radical alcoxyle

($RO\cdot$) ; l'oxyde nitrique ($NO\cdot$), et le radical hydroperoxyde ($HOO\cdot$). Il existe des mécanismes

de

Défense cellulaires qui détruisent les radicaux oxygénés (peroxydases cellulaires) ou qui

piègent les radicaux libres (molécules antioxydants) (Himour ,2018).

2.4.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives. ((Behera et al., 2006) cité par (Clément, 2009)).

Les antioxydants naturels ou synthétiques sont utilisés pour prévenir de nombreuses maladies (cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, diabète...) et le vieillissement, dus à la formation exagérée des radicaux libres. Les antioxydants sont également utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement ou la décoloration qui est souvent due à l'oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux. (Méda, 2005).

2.5. Mécanisme d'action des antioxydants

Dans les conditions dites physiologiques, il y a un équilibre entre la production des radicaux libres et les mécanismes endogènes de défense antioxydant constituée par le système enzymatique (catalase, peroxydase dismutase, glutathion peroxydase), les vitamines A, E et C et les polyphénols apportés par l'alimentation et les plantes. Ainsi le rôle déterminant de la peroxydase dismutase SOD dans le système de défense antioxydant de l'organisme est connu depuis 1968. L'ion peroxyde O_2^-

- est le point de départ de la chaîne de production des radicaux libres. Or dès ce stade précoce, la SOD inactive l'ion O_2^-

- en le transformant en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Celui-ci est rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en dioxygène O_2 et en molécules d'eau H_2O . L'activité antioxydant de ces molécules est déterminée in vitro par plusieurs méthodes telles que celle du DPPH. Selon Méda (2005).

La réaction avec une molécule RH peut s'écrire :

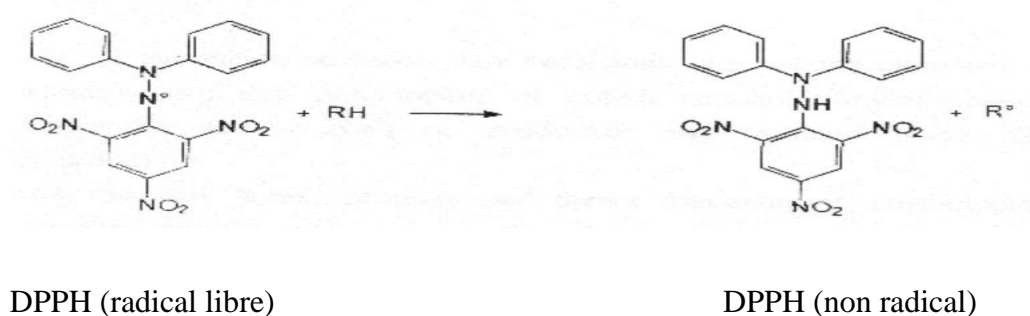


Figure 3 : Réaction du DPPH avec un antioxydant

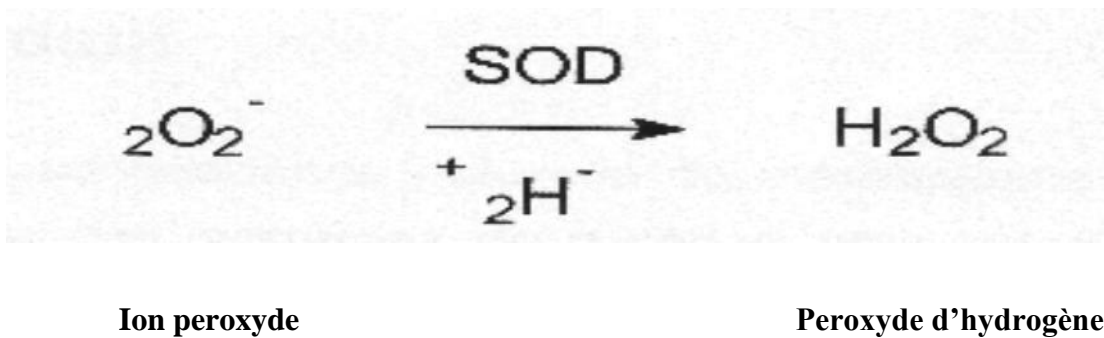


Figure 4 : Réaction de la super oxyde dismutase SOD

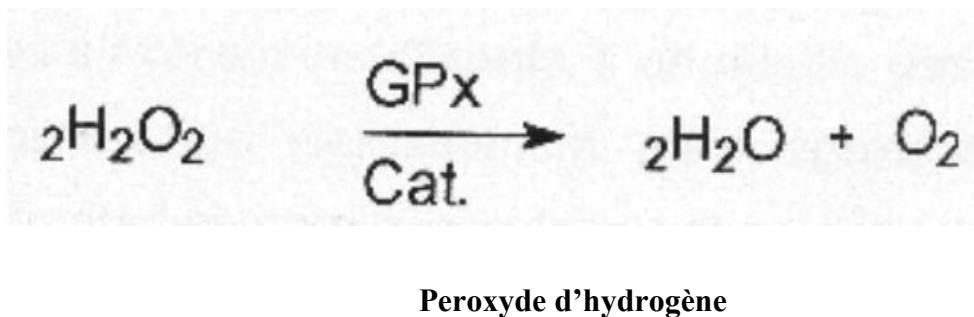


Figure 5 : Réaction de la glutathion peroxydase GPx

Mécanisme d'action des antioxydants dans le processus d'inactivation de l'ion Résistants aux processus technologiques, les antioxydants doivent être stables dans le produit fini. Les molécules à bas potentiel redox sont aptes à ralentir, retarder ou prévenir les processus d'oxydation. Ils sont en fait des agents de prévention ou de terminaison capables d'éviter ou de piéger les radicaux libres.

L'action préventive bloque l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec L'oxygène ou en déviant de l'aliment les effets de lumière ou des rayonnements. (Özer et al, 2007 ; Kordali et al., 2005).

En tant qu'agents de terminaison (piégeage de radicaux), les antioxydants transforment les radicaux en composés plus stables par résonance Mésoamérique et bloquent la phase de propagation. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'hydrogène (H•) souvent aromatique comme les composés phénoliques. Des travaux récents ont montré aussi que les huiles essentielles possèdent des propriétés antioxydants dues à la présence de certains mono

terpènes hydrocarbonés agissant en synergie et des composés phénoliques volatils. (Özer et al., 2007 ; Kordali et al., 2005)

Deux composés antioxydants de référence

Deux composés antioxydants de référence à l'hydroxy toluène butyle ou BHT et la β -carotène seront utilisés dans nos travaux pour l'évaluation de la capacité anti oxydative des extraits et des huiles essentielles.

- L'hydroxy toluène
- Butylé ou BHT

L'hydroxy toluène butyle ou BHT est un additif alimentaire. Il s'agit du : 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol ou 2,6-Bis (1,1-diméthyléthyl) -4-méthylphénol.

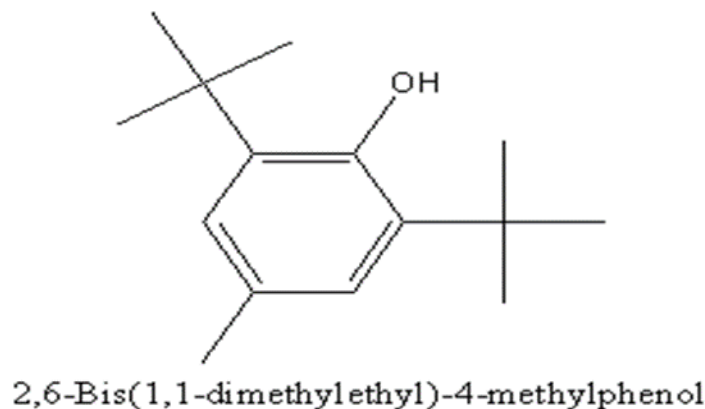


Figure 6 : Structure de l'hydroxy toluène butylé ou BHT

Le BHT est un puissant antioxydant synthétique et controversé. Il semble que trop peu d'études ait été faite à son sujet.

Il résiste aux hautes températures qui peuvent se produire durant la fabrication du produit, contrairement à certains antioxydants naturels comme la vitamine E. Il est utilisé dans l'industrie agro-alimentaire et cosmétique. Il serait métabolisé en cas d'ingestion et soupçonné d'être allergène Et cancérigène. Les contaminants possibles seraient les cendres sulfuriques, l'arsenic et les métaux lourds. Il est noté E 321 par l'Union européenne. Il se présente sous forme de cristaux ou poudres incolores à jaune pâle. (Vansant, 2004).

- **Le β -carotène**

1,1'-(3,7,12,16-tétraméthyl-1,3,5,7,9,11,13,15,17-octadécanonaène-1,18-diyl) bis [2,6,6-triméthylcyclohexène].

La β -carotène est un pigment de la famille des caroténoïdes, pigment jaune orangé qui donne leur couleur vive à des fruits et des légumes (carottes, melons, abricots, mangues, poivrons rouges, épinards). Il possède de précieuses propriétés antioxydants et peut notamment neutraliser les radicaux libres. La β -carotène est aussi connu sous le nom de provitamine A, car il a la particularité de pouvoir se transformer en vitamine A dans le corps (**Vansant, 2004**)

Chapitre 3 :

Matériel et Méthodes

Au vu de la situation épidémiologique sanitaire cette année (Covid 19), nous n'avons pas la capacité de la réaliser la pratique et nous nous sommes appuyés sur l'analyse d'article.

3.1. Collecte du matériel végétal

Pour effectuer ce travail on a choisi les feuilles de la plante *d'Olea europaea* de variété sauvage Récoltées dans différentes régions de l'Est algérien (Batna, Mila, Skikda, Biskra)

En décembre 2018 (Tableau 1). Leur reconnaissance botanique a été réalisée au niveau du laboratoire de botanique médicale (CHU Batna).

Tab 1. Régions de récolte des feuilles *d'Olea europaea L.*

Plante	Lieu de récolte	Etage Bioclimatique	Altitude (m)	Latitude (Nord)	Longitude (Est	Période de récolte
E1	Batna	Semi-aride	831m	35° 51' 40	6°00' 04	Décembre 2018
E2	Mila	Semi-aride	486m	36°27' 00	6°16' 00	
E3	Skikda	Humide	00-75m	37°00' 23	6°33' 39	
E4	Biskra	Saharien	87m	33°43' 44	5°22' 50	

3.2. Préparation du matériel végétal

A. Séchage

Après lavage des feuilles d'olivier, afin de les débarrasser de la poussière et d'autres impuretés, elles sont aussitôt séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité.

B. Broyage

Une fois séchées, les échantillons sont broyés à l'aide d'un moulin électrique (poudre de couleur verte) et conservés à une température de +4°C jusqu'à l'utilisation.

C. Extraction des polyphénols (solide – liquide)

La méthode d'extraction solide-liquide utilisée par macération d'une masse de 90 g de chaque échantillon est ajoutée à 900 ml d'éthanol à 70% (v/v). Après agitation pendant 48 h sur une plaque agitatrice.

D. Filtration

Les mélanges sont filtrés à l'aide d'un papier-filtre. Les filtrats obtenus sont concentrés. Les extraits sont filtrés.

E. Evaporation

Évaporé à sec sous pression réduite. Les expériences sont répétées trois fois. Le rendement d'extraction a été mesuré par rapport au poids total de la poudre végétale.

3.3. Méthode d'analyse

3.3.1. Dosage des polyphénols totaux

D'après (ADDAB et al, (2020); Kostas Kiritsakis et al, (2009) ; Maria Chiara Di Meo et al (2021) ; Chengcheng Zhang et al, (2022).

- Le dosage des phénols totaux consiste à mélanger 10µl d'échantillon avec 150 µl de solution de Folin Ciocalteu (6%).
- Au-delà de 3 minutes, on ajoute 50 µl de solution saturée de bicarbonate de sodium (0,6M).
- L'ensemble est mélangé sur un agitateur de type vortex.
- Le mélange est incubé à température ambiante et à l'ombre durant 2h.
- Ensuite, une lecture de l'absorbance à 725 nm est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre, toutes les déterminations ont été effectuées trois fois.
- L'acide gallique est utilisé comme standard pour préparer une gamme étalon dans la gamme de concentrations 0.6-0.05 mg/ml (Figure7).

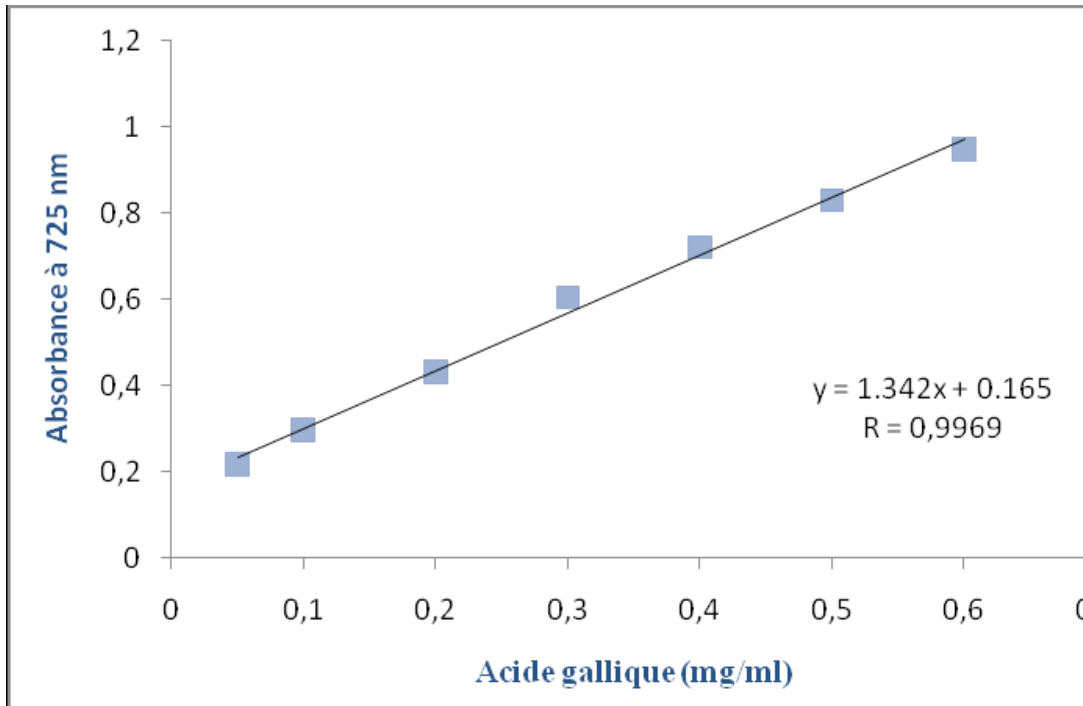


Figure 7 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

3.4. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits

3.4.1. Piégeage du radical DPPH

D'après ADDAB et *al*,(2020) ; Aziza Lfitat et *al*, (2021) ;Marwa EzzEl-Din Ibrahim et *al*,(2022) ; Jose Manuel Silvan et *al*, (2021) .

La technique au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est largement employée pour évaluer l'activité anti-oxydante. Le DPPH est un radical libre, stable et caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515 nm. La substance anti-oxydante agit en transférant un électron ou un atome d'hydrogène ce qui conduit à la réduction du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration jaune pâle. Ce passage, de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction de DPPH.

Protocole

- Préparée une solution de DPPH : soluble 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol
- Un volume de 40 µl des solutions d'extraits et de l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique sont ajoutés à 160 µl de DPPH.
- Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min en présence de concentrations croissantes (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13 et 1.56 µg/ml). De chaque extrait, sept dilutions 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 et 1/64 ont été préparées à partir d'une solution mère (0.5 mg/1ml Me OH), et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH a été mesurée par un spectrophotomètre UV-Visible à 517 nm contre un blanc de méthanol.
- Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol. L'opération est répétée trois fois.

L'activité anti-radicalaire est déterminée selon l'équation suivante :

$$\% = (A_0 - A/A_0) \times 100.$$

La valeur de la concentration inhibitrice CI50 représente la dose de l'extrait qui neutralise 50% des radicaux de DPPH.

3.4.2. Pouvoir réducteur (FRAP)

D'après ADDAB et *al*, (2020) ; J.E. Hayes et *al*, (2010) ; Isabel C.F.R. Ferreira et *al*, (2006) ; Patricia Goldschmidt Lins et *al*, (2018)

Le procédé FRAP est basé sur la réduction des ions fer (III) de (Fe^{3+}) à l'ion fer (Fe^{2+}). Cette méthode évalue.

Le pouvoir réducteur des composés la présence de Les agents réducteurs (AH) dans les extraits de plantes provoquent une réduction Du complexe Fe^{3+} /ferricyanure à la forme ferrique. Par conséquent, Fe^{2+} est Surveillance de l'augmentation de la densité des couleurs Bleu cyan dans un milieu réactionnel à 700 nm.

En fait, le système $FeCl_3 / K_3Fe(CN)_6$ est une méthode Sensibilité des décisions "semi-quantitatives "Concentration d'antioxydants impliqués dans la réaction Redox. Différentes

concentrations d'extrait Dissoudre dans de l'eau distillée (1 ml) et 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium [K₃Fe (CN)₆] (1 %). Ou alors Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes.

Puis ajouter 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%). Entier Centrifuger à 3000 rpm pendant 10 minutes. Enfin 2,5 ml mélanger le surnageant de chaque concentration avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de FeCl₃, 6 H₂O (0,1%). Absorption mesuré avec un spectrophotomètre UV visible 700nm. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif. L'expérience a été répétée 3 fois. La valeur IC₅₀ est Défini comme la concentration de l'antioxydant correspondant.

Chapitre 4 :

Résultat et Discussion

4.1. Rendements des extraits bruts

Nous observons que l'extrait éthanolique E1 enregistre un rendement important de l'ordre de 35.89 %, suivi par l'extrait E3 à raison de 30.60 %. En ce qui concerne les extraits E2 et E4, les valeurs de rendements ont été enregistrées de l'ordre respectif de 27.91 % et 25.28 % (Figure 8). à partir des feuilles d'olivier récoltées dans la région de Tizi Ouzou (Algérie) des quantités importantes en polyphénols ont pu être récupérées de l'ordre de 38.74% pour l'olivier sauvage et de 35.72% pour l'olivier cultivé et obtenus par macération d'une quantité de 5g des feuilles dans 100 ml du méthanol pendant 5 jours (Arab et al ,2013). Selon l'étude de Madani (2017) portant sur la plante *Olea europaea L.* en utilisant les trois méthodes : Décoction, infusion et macération, des rendements d'extraction respectifs de 20.4%, 19.08 % et 16.04% ont été obtenus. Cette disparité au niveau des résultats pourrait être due à plusieurs paramètres : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon. De plus, la période et le lieu de récolte influencent le rendement d'extraction (Madani ,2017).

Des études ont rapporté que les hauts rendements sont habituellement obtenus avec l'éthanol et le méthanol et leur mélange avec l'eau (Santos et al ,2012) ; en effet, l'eau joue un rôle essentiel dans le processus d'extraction des polyphénols en augmentant leur diffusion dans les tissus végétaux.

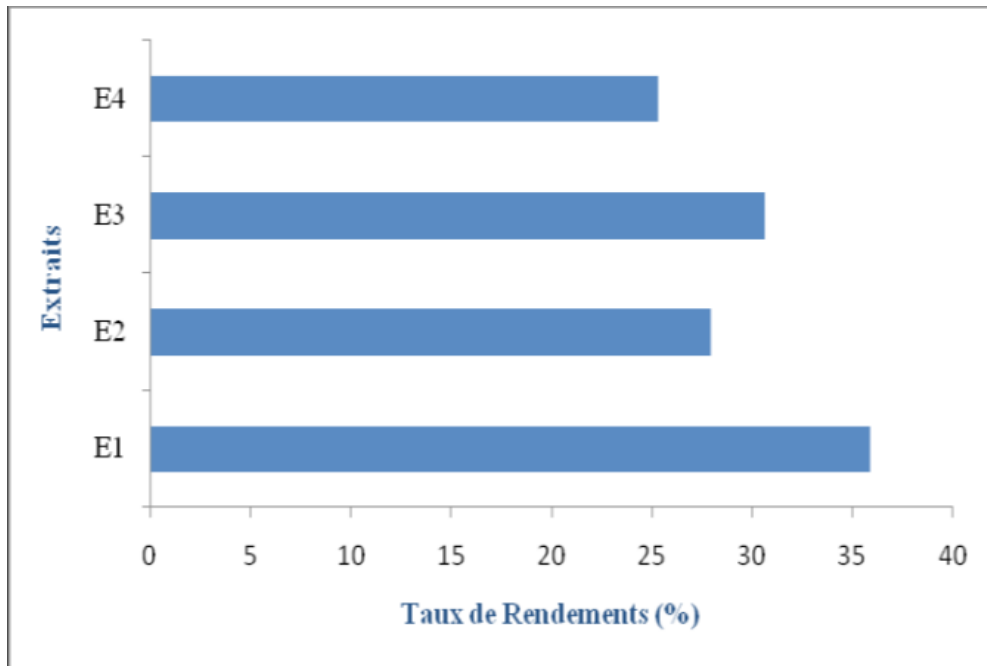


Figure 8 : Rendements des extraits bruts éthanoliques

Dans une étude menée par Marwa Ezz El- Din Ibrahim et *al* (2022) le rendement maximal des extraits des feuilles d'olivier en utilisant le méthanol comme solvant, les feuilles d'olivier ont montré un rendement maximal de 24,65 %

En revanche selon d'étude Aziza Lfitat et *al* (2021) qui ont utilisé extraction par : l'eau distillée, méthanol et l'acétate d'éthyle, les rendement pour l'extrait aqueux > 8,44 % pour l'extrait méthanolique > 5,5 % pour l'acétate d'éthyle. D'acétate d'éthyle, montrant une tendance à la baisse du rendement lorsque la polarité du solvant diminue.

Pour ce qui est de Karim ARAB et *al* (2013) a été Le rendement en polyphénols obtenu à partir de 5g des feuilles est de 38,74% pour l'olivier sauvage et de 35,72% pour le cultivé étaient 18,29 %.

4.2. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Les résultats de cette étude montrent que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement entre les quatre extraits des feuilles étudiées *d'O. Europaea* ; en effet, l'extrait E2 possède la teneur la plus élevée, avec une valeur de 420.36 ± 0.94 mg EAG/g de matière végétale sèche. Pour les autres extraits E1, E3 et E4, les quantités des phénols totaux varient entre 396.84 ± 0.78 à 368.45 ± 0.88 mg EAG/g MS (Figure 9). L'extraction est suivie par des dosages quantitatifs des polyphénols totaux sur les quatre extraits qui révèlent que l'extrait de Mila est relativement plus riche (420.36 mg GAE/g MS), suivi de l'extrait de

Batna (396.84 mg GAE /g MS), puis de l'extrait de Biskra (380.69 mg GAE/g MS) et enfin de l'extrait de Skikda (368.45 mg GAE/g MS). Faten et al. (2013) ont réalisé des dosages quantitatifs de l'extrait des feuilles de l'olivier de deux variétés Chemlali et Nebjmel en Tunisie, ils ont montré que la teneur en polyphénols totaux des feuilles de Chemlali qui varie de 219.85 en octobre à 464.27 mg/100 g en janvier est supérieure à celle de la variété de Nebjmel qui varie de 197.60 en octobre à 270.53 mg/100 g en janvier (**Brahmi et al ,2013**).

Dans notre étude la récolte des feuilles *d'O.europaea* de la variété sauvage a été réalisée au mois de décembre, ce qui confirme que le maximum de composés phénoliques a été obtenu dans la phase terminale de la croissance des feuilles, c'est-à-dire le mois de décembre, montrant ainsi la richesse de notre variété en polyphénols totaux. Nos résultats concordent avec ceux de Bouabdallah (2014).

Cette variabilité des teneurs en polyphénols pourrait également dépendre de la zone géographique de la récolte (**Garcia-Gómez et al ,2003**).

Lors de certaines études portant sur la détermination des teneurs en polyphénols totaux de l'olivier, les auteurs ont révélé que la composition des feuilles des oliviers en composés bioactifs varie selon l'origine, le mode de séchage, le temps, le type de solvant d'extraction et les conditions de stockage (**Baccouri et al ,2007**).

Les teneurs en polyphénols totaux varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué aux facteurs climatiques et environnementaux (**Alupului ,2012**).

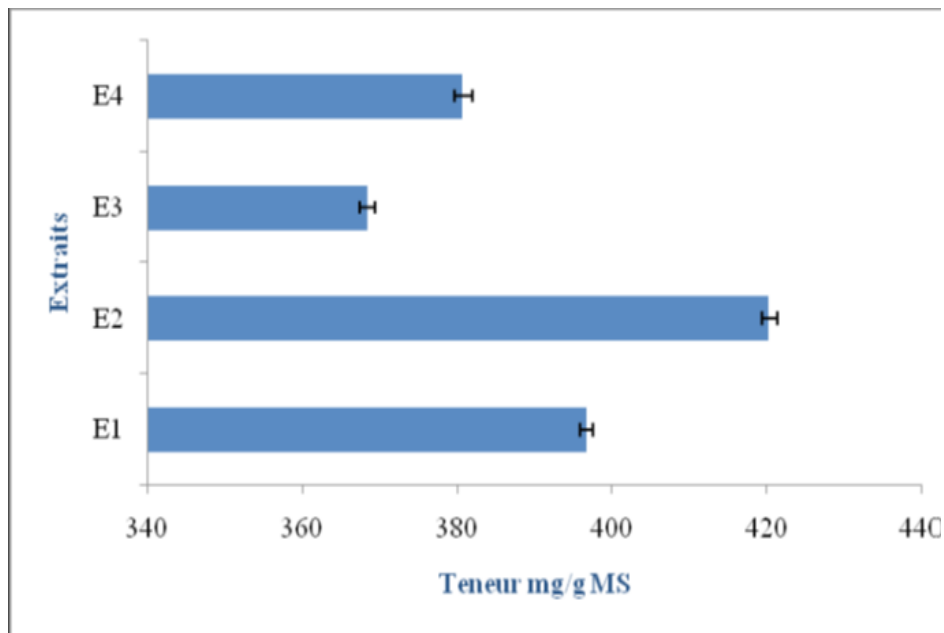


Figure 9 : Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS) des différents extraits obtenus

Dans une étude menée par Kostas Kiritsakis et *al* (2009) la concentration des principaux composés phénoliques présentes dans l'extrait de feuille d'olivier des trois cultivars testés, était entre 55,79 mg à 61,96mg.

Les quantités de phénols déterminées dans le présent travail sont nettement inférieures. Les différences observées peuvent être liées à l'utilisation de différents cultivars et à différentes procédures d'extraction.

Mais pour dans une étude menée par Maria Chiara Di Meo et *al* (2021) Aucune différence significative dans les valeurs TPC des feuilles d'olivier extraites avec différents solvants au cours de la même période de récolte n'a été trouvée, mais des différences significatives ont été observées avec l'utilisation d'un solvant spécifique dans différentes récoltes, nous concluons que les valeurs de TPC ont été influencées par le cultivar et le moment de la récolte. En revanche selon d'étude Chengcheng Zhang et *al* (2022 a) à en règle générale, les composés phénoliques identifiés par spectrométrie de masse ne représenteront pas tous les polyphénols. En conséquence, nous avons étudié le TPC dans les feuilles d'olivier en utilisant les techniques colorimétriques de chlorure d'aluminium et de dosage Folin-Ciocalteu. Le TPC dans les feuilles d'olivier étaient de 7,76 à 8,79 mg GAE / g DW. Par contre Ki-Wan Ko et *al* (2009) a été trouvé la teneur en phénol total était de 257,48mg dans 100 g d'extrait de feuille d'olivier.

4.3. Evaluation du potentiel antioxydant des extraits

4.3.1. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

-Les valeurs des CI50 (mg/ml) présentées dans le tableau 2 ont permis d'évaluer et de comparer l'efficacité des extraits. CI50 est inversement lié à la capacité anti-oxydante d'un composé, car il montre la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de CI50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est élevée. D'après les résultats de l'analyse quantitative, l'olivier sauvage est riche en polyphénols qui sont connus pour leurs activités antioxydants. De ce fait, nous nous sommes intéressées à l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits bruts des feuilles d'*Olea europaea L.* À des fins comparatives, un antioxydant standard a été utilisé (l'acide ascorbique). Il a montré une activité anti radicalaire très puissante avec CI50 de 32.60 ± 0.98 mg/ml. Les extraits ont présenté une importante activité anti-radicalaire envers le radical DPPH. Dont E3, E1 et E2 représentent les extraits les plus actifs avec des CI50 de l'ordre 84.74 ± 1.16 mg/ml, 87.02 ± 1.31 mg/ml et 92.15 ± 0.66 mg/ml respectivement. Ces effets obtenus sont bien meilleurs que celui produit par l'extrait E4 qui présente une activité anti radicalaire plus au moins faible (ICI50 de l'ordre de 102.50 ± 0.84 mg/ml).

Tab 2 : Effet antioxydant (CI50) sur les radicaux DPPH des différents extraits

D '*Olea europaea L.*

Extraits /Standard	CI50 (mg/ml)
E1	87.02 ± 1.31
E2	92.15 ± 0.66
E3	84.74 ± 1.16
E4	102.50 ± 0.84
Acide ascorbique	32.60 ± 0.98
Les valeurs sont présentées sous forme $M \pm SD$.	

Nous avons utilisé le paramètre de l'CI50 pour classer les différents extraits avec l'acide ascorbique qui ont un pouvoir antioxydant, la faible valeur CI50 signifie la forte activité antioxydant. L'ordre de classification des extraits et de l'acide ascorbique est le suivant :

Acide ascorbique > E3 > E1 > E2 > E4. Le teste (DPPH) ont été réalisés. Modifications de l'activité antioxydant des extraits d'OL DPPH ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$ de poudre) $4.8 \pm 0.1a$.plus la réduction observée pour la teneur en polyphénols est élevée, plus l'activité antioxydant obtenue est faible. Ainsi, la stabilité des polyphénols est réduite suivie d'une activité antioxydant plus faible Selon Tamer M. El-Messery1 et al (2021). L'activité antioxydant moyenne de l'OELE était de $2220 \pm 102 \text{ mol TE/g}$ avec les dosages DPPH Dans étude, Antonio Casado-Diaz et al (2022). L'antioxydant propriétés du Moringa, des feuilles d'olivier et de leurs extraits bruts ont été déterminées à l'aide 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), et exprimés en valeurs IC50 (niveau effectif d'extrait qui inhibe à 50% la concertation initiale de DPPH). Une activité antioxydant diminuée de l'extrait de plante était indiquée par une valeur IC50 supérieure. Fait intéressant, le Moringa, olive feuilles, de $2,397 \pm 0,10$, $4,445 \pm 0,01 \text{ mg/ml}$, respectivement. Les activités antioxydants du Moringa les feuilles se sont avérées les plus élevées Marwa Ezz El-Din Ibrahim et al (2022).L'activité antioxydant des extraits de feuilles d'olivier était entre 16.8 et 33.9% selon Jose Manuel Silvan et al (2021) des études montrent que Aziza Lfitat et al (2021) des feuilles d'olivier Antioxydants standard en utilisant Activité de piégeage des radicaux DPPH (l'extrait aqueux : $1.082 \pm 0.004c$; l'extrait méthanolique : $0.723 \pm 0.002b$; l'acétate d'éthyle : $1.420 \pm 0.007d$)

4.3.2. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

Réduire le pouvoir, c'est mesurer l'activité réductrice d'antioxydant et elle est évaluée par transformation de Fe^{3+} en Fe^{2+} en donnant un électron. Les résultats obtenus dans le tableau 3 montrent que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons.

Tab 3 : Effet antioxydant (CI50) sur la réduction de fer des différents extraits des feuilles d'*Olea europaea L.*

Extraits/Standard	CI50 (mg/ml)
E1	58.28 ± 1.22
E2	59.91 ± 0.31
E3	70.34 ± 1.15
E4	62.18 ± 0.99
Ac. Ascorbique	43.17 ± 0.67
Les valeurs sont présentées sous forme $M \pm SD$	

La concentration CI50 est enregistrée pour l'acide ascorbique à 43.17 ± 0.67 mg/ml. Les extraits éthanoliques E1 et E2 sont les plus actifs avec des CI50 respectives de l'ordre de 58.28 ± 1.22 mg/ml et 59.91 ± 0.31 mg/ml, suivis par les extraits bruts E4 et E3 avec des CI50 de l'ordre de 70.34 ± 1.15 mg/ml et 62.18 ± 0.99 mg/ml, respectivement. L'efficacité de réduction du fer est de l'ordre croissant car une faible valeur de CI50 traduit une forte activité anti-oxydante selon le classement suivant : Acide ascorbique > E1 > E2 > E4 > E3. Ces résultats permettent de conclure que les extraits E1 et E2 des feuilles d'*O. Europaea* présentent une activité antioxydant proche de celle de l'acide ascorbique. Ces résultats nous permettent de conclure que l'extrait E1 et E2 des feuilles d'*O. Europaea* présente une activité antioxydant proche de celle de l'acide ascorbique. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par le test DPPH dont les extraits éthanoliques E1 et E2 ont des activités anti-oxydantes puissantes en comparaison avec l'extrait E4 ; par conséquent, la région de récolte et les facteurs environnementaux ont une influence sur la différence de l'effet antioxydant pour les deux régions des hauts-plateaux (Batna et Mila) par rapport à celle du Sahara (Biskra). Malgré la faible teneur en polyphénols de l'extrait E3 de la région côtière (Skikda), ce dernier a montré un effet antioxydant important, cela pourrait être dû à la qualité de ses composés phénoliques.

Dans l'étude de Patricia Goldschmidt Lins et al (2018) L'activité antioxydant de l'extrait mesurée par analyse FRAP était de $281,8 \pm 22,8$ mg. Autre étude de Aziza Lfitat et al (2021) montre que Antioxydants des feuilles d'olivier Réduction de l'activité électrique FRAP (l'extrait aqueux : $0.912 \pm 0.009c$ / l'extrait méthanolique : $0.580 \pm 0.005b$ / l'acétate d'éthyle : $1.310 \pm 0.016d$) par contre Ki-Wan Ko et al (2009) Le résultat du pouvoir réducteur de l'extrait d'Extrait de feuilles d'olivier elle a montré que le pouvoir réducteur était de 0,75, 1,44, et 2,78 dans 10, 100, et 1 000 $\mu\text{g} / \text{ml}$, respectivement. Le résultat du pouvoir réducteur élevé était lié au résultat des activités antioxydants élevées de L'extrait de feuilles d'olivier. En revanche selon d'étude Chengcheng Zhang et al (2022b) la valeur la plus élevé du pouvoir réducteur de l'extrait de feuilles d'olivier FRAP (mg TE/g dw) OL9 : 1228.29 ± 23.95 l et la valeur base OL1 : 385.13 ± 50.20 a. Dans étude de Isabel C.F.R. Ferreira et al (2006) Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des feuilles olive étaient supérieurs à 0,8 à 5 mg/ml Mais pour J.E. Hayes et al (2010) Le pouvoir réducteur de l'extrait de feuille d'olive(g Trolox/100 g DW) est de l'ordre de (30.1 ± 0.1) . Des études menées par Jose M. Romero-

M´arquez et al(2022)montrent que la Capacité antioxydant De l'extrait de feuilles *d'Olea Europaea* (mM trolox/g extr) est de l'ordre de (3.5 ± 0.2) .

Conclusion

À l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Le présent travail est axé sur le dosage des composés phénoliques ainsi sur l'évaluer de l'activité antioxydant des extraits obtenu par macération à partir des feuilles d'olivier. Les propriétés antioxydantes des extraits obtenus à partir des feuilles d'olivier à différentes concentrations ont été déterminées par techniques d'activité anti-radicalaire.

L'analyse quantitative des extraits éthanoliques des feuilles de la plante *O. europaea* a révélé que l'extrait de Mila était plus riche (420.36 mg GAE/g MS), suivi de celui de Batna (396.84 mg GAE/g MS), puis celui de Biskra (de 380.69 mg GAE/g MS) et enfin de l'extrait de Skikda (368.45 mg GAE/g MS). Les résultats de l'activité anti radicalaire des extraits éthanoliques ont montré que ceux de Batna et Mila possédaient le pouvoir le plus important.

Les extraits ont présenté une importante activité anti-radicalaire envers le radical DPPH. Dont E3, E1 et E2 représentent les extraits les plus actifs avec des CI50 de l'ordre 84.74±1.16 mg/ml, 87.02±1.31 mg/ml et 92.15±0.66 mg/ml respectivement. Ces effets obtenus sont bien meilleurs que celui produit par l'extrait E4 qui présente une activité anti radicalaire plus au moins faible (ICI50 de l'ordre de 102.50±0.84 mg/ml).

Les extraits éthanoliques E1 et E2 sont les plus actifs avec des CI50 respectives de l'ordre de 58.28±1.22 mg/ml et 59.91±0.31 mg/ml, suivis par les extraits bruts E4 et E3 avec des CI50 de l'ordre de 70.34±1.15 mg/ml et 62.18±0.99 mg/ml, respectivement. L'efficacité de réduction du fer est de l'ordre croissant car une faible valeur de CI50 traduit une forte activité anti-oxydante selon le classement suivant : Acide ascorbique > E1 > E2 > E4 > E3. Ces résultats permettent de conclure que les extraits E1 et E2 des feuilles d'*O.europaea* présentent une activité antioxydant proche de celle de l'acide ascorbique. Ces résultats nous permettent de conclure que l'extrait E1 et E2 des feuilles d'*O.europaea* présente une activité antioxydant proche de celle de l'acide ascorbique.

Ces résultats indiquent que les feuilles de l'olivier sauvage provenant des régions sélectionnées pour mener cette étude pourraient être considérées comme un réservoir d'antioxydant susceptible d'être utilisé dans la lutte contre les radicaux libres. L'évaluation de l'activité antioxydant in vitro des extraits a été réalisée par différentes méthodes, à savoir, le piégeage du radical libre DPPH• et le pouvoir réducteur des ions ferriques ; Nous avons

constaté que les différents extraits bruts testés présentaient des activités anti radicalaires et antioxydants intéressantes, dépendantes du contenu en polyphénols totaux.

Cependant, l'intensité de l'activité antioxydant dépend non seulement de la teneur globale en polyphénols, mais aussi de leur nature. Ces propriétés anti-oxydantes seraient probablement liées à la présence de molécules bioactives tels que les polyphénols.

Bibliographique

- **ADDAB, Naziha, Samira FETNI, Fatma HAMLAOUI, Abir ZERGUINE, et Kalthoum MAHLOUL. ,2020.** «Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'Olea europaea L. de l'Est Algérien.» la Faculté de Médecine d'Oran 579-586.
- **Alupului A.** Microwave extraction of active principles from medicinal plants. U.P.B. Science Bulletin, Series B 2012.74(2).
- **Arab K, Bouchenak O, Yahhiaoui K.** Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. Afrique science 2013.09:159 – 166.
- **ARAB, Karim, Ouahiba BOUCHENAK, et Karima YAHIAOUI. (2013).** «Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé.» Afrique SCIENCE 159 – 166.
- **Behera J. N., Rao J., 2006.**A Ni²⁺ (S = 1) Kagome Compound Templated by 1, 8-Diazacubane American of Chemistry Society 128 (29), 9334 -9335.
- **BENRACHOU, NORA. ,2013.** Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba
- **Benrachou, Nora,2013.** Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Bouabdallah A.** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (Olea europea) [thèse]. Tlemcen : Université Abou BekrBelkaïd 1; 2014. p. 57.
- **Casado-Diaz, A., Moreno-Rojas, J. M., Verdú-Soriano, J., Lázaro-Martínez, J. L., Rodríguez-Mañas, L., Tunes, I., La Torre, M., Berenguer Pérez, M., Priego-Capote, F., & Pereira-Caro, G. (2022).** Evaluation of Antioxidant and Wound-Healing Properties of EHO-85, a Novel Multifunctional Amorphous Hydrogel Containing Oleaeuropaea Leaf Extract. *Pharmaceutics*, 14(2), 349.
- **Clément, OBAME ENGONGA Louis. ,2009.** Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines. THESE DE DOCTORAT, Ouagadougou (PREBO): Pôle Régional d'Excellence en Biotechnologies de Ouagadougou (PREBO).

- **Conseil Oléicole International, 2000**, catalogue mondial des variétés d'olivier
- **Dhia, gharabi. ,2018** ; Effet du stress salin sur le comportement physiologique et morpho-biochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et introduites non greffés et greffés sur oléastre. THESE, SIDI BEL ABBES: UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES, 2.
- **Dimeo, M. C., de Cristofaro, G. A., Imperatore, R., Rocco, M., Giaquinto, D., Palladino, A., Zotti, T., Vito, P., Paolucci, M., & Varricchio, E. (2021)**. Microwave-Assisted Extraction of Olive Leaf from Five Italian Cultivars: Effects of Harvest-Time and Extraction Conditions on Phenolic Compounds and *in Vitro* Antioxidant Properties. *ACS Food Science & Technology*, 2(1), 31–40.
- **Djamal jenane, Javier YANGÜELA, Fariza DERRICHE, Lydia BOUARAB, Pedro RONCALES .(2012)**. «Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents.» *Nature & Technologie* 53-61.
- **El-Haci, I. A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., & Didi, M. A. (2012)**. Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10(5), 280–285.
- **El-Messery, T. M., Aly, E., López-Nicolas, R., Sánchez-Moya, T., & Ros, G. (2021)**. Bioaccessibility and antioxidant activity of PCL-microencapsulated olive leaves polyphenols and its application in yogurt. *Journal of Food Science*, 86(10), 4303–4315.
- **Ezz El-Din Ibrahim, M., Alqurashi, R. M., & Alfaraj, F. Y. (2022)**. Antioxidant Activity of *Moringaoleifera* and Olive *Olea europaea* L. Leaf Powders and Extracts on Quality and Oxidation Stability of Chicken Burgers. *Antioxidants*, 11(3), 496.
- **Faten Brahmi, BelighMechri, MadihaDhibi, Mohamed Hammami**. Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. *Industrial Crops and Products* 2013.49: 256–264.
- **Favier A., 2003**. Le stress oxydant. Interêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Clinique*. 108-115.
- **Fetni S, Bertella N, Ouahab A, Miguel J, Zapater M, Fernandez SDP**. Composition and biological activity of the Algerian plant *Rosa canina* L.

- **Garcia-Gómez A, Roig A, & Bernal MP.** Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresource Technology* 2003.86 (1): 59-64.
- **Granier, jean, Ctifl. ,1999.** l'olivier. 22,rue Bergère 75009 Paris.
- **Himour, Sara. ,2018.** Comportements biologique, physiologique, biochimique et l'activité biologique de quatre variétés d'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'Est Algérien. Thèse, Université des Frères Mentouri Constantine1, 5.
- **Kiritsakis, K., Kontominas, M. G., Kontogiorgis, C., Hadjipavlou-Litina, D., Moustakas, A., & Kiritsakis, A. (2009).** Composition and Antioxidant Activity of Olive Leaf Extracts from Greek Olive Cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(4), 369–376.
- **Ki-Wan Ko, Ho Jin Kang, and Boo Yong Lee. (2009).** «Antioxidant, Antimicrobial, and Antiproliferative Activities of Olive (*Olea europaea* L.) Leaf Extracts.» *Food Sci. Biotechnol* (18);818 - 821.
- **Kordali S., Cakir A., Mavi A., Kilic H., Yildirim A., 2005.** Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1408-1416.
- **Lins, P. G., Marina Piccoli Pugine, S., Scatolini, A. M., & de Melo, M. P. (2018).** In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. *Heliyon*, 4(9), e00805.
- **Madani Yousfi M.** Dosage des polyphénols et recherche d'activité anti radicalaire de feuilles d'olives [thèse]. Tlemcen : Université de Tlemcen ; 2017. p.28.
- **Manallah, Ahlem. ,2012.** Activités antioxydante et anticoagulante de polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Magister, Université Ferhat Abbas -Sétif.
- **Meda et al., 2005.** *Tropical Medicine & International Health*, Blackwell Synergy. Volume 11 Issue 2 pp 136-143.
- **Özer B. C., Özyörük H., Çelebi S. S., Yıldız A., 2007.** Amperometric enzyme electrode for free cholesterol determination prepared with cholesterol oxidase immobilized in poly (vinylferrocenium) film *Enzyme and Microbial Technology* 40(2):262-265

- **Romero-Márquez, J. M., Navarro-Hortal, M. D., Jiménez-Trigo, V., Vera-Ramírez, L., Forbes-Hernández, T. J., Esteban-Muñoz, A., Giampieri, F., Bullón, P., Battino, M., Sánchez-González, C., & Quiles, J. L. (2022).** An oleuropein rich-olive (*Olea europaea* L.) leaf extract reduces β -amyloid and tau proteotoxicity through regulation of oxidative- and heat shock-stress responses in *Caenorhabditis elegans*. *Food and Chemical Toxicology*, 162, 112914
- **Santos R D, Shetty K, Lourenco A, Miglioranza L.** Phenolic compound and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extract 2012. doi: 10.5433/1679-0359.2012v33n2p655.
- **Silvan, J. M., Guerrero-Hurtado, E., Gutiérrez-Docio, A., Alarcón-Cavero, T., Prodanov, M., & Martínez-Rodríguez, A.J. (2021).** Olive-Leaf Extracts Modulate Inflammation and Oxidative Stress Associated with Human *H. Pylori* Infection. *Antioxidants*, 10(12), 2030.
- **Smail, CHAFAA. ,2013.** Contribution à l'étude de l'entomofaune de l'olivier, *Olea europaea* et de la dynamique des populations de la cochenille violette *Parlatoria oleae* Colvée 1880 (Homoptera : Diaspididae) dans la région de Batna. Thèse, EL- Harrach: Ecole Nationale Supérieure Agronomique – EL- Harrach.
- **Vansant G., 2004.** Radicaux libres et antioxydants : Principes de base. Symposium « Antioxydant et alimentation » Institut Danone.
- **Zhang, C., Xin, X., Zhang, J., Zhu, S., Niu, E., Zhou, Z., & Liu, D. (2022b).** Comparative Evaluation of the Phytochemical Profiles and Antioxidant Potentials of Olive Leaves from 32 Cultivars Grown in China. *Molecules*, 27(4), 1292.
- **Zhang, C., Zhang, J., Xin, X., Zhu, S., Niu, E., Wu, Q., Li, T., & Liu, D. (2022).** Changes in Phytochemical Profiles and Biological Activity of Olive Leaves Treated by Two Drying Methods. *Frontiers in Nutrition*, 9.
- **Pagnol J., 1975.** L'olivier. 3eme édition, Avignon (France). Ed. Aubanel, 180p

Annexe

Titre article	DOI	Les auteurs	Publier en ligne	Nombre de page
Antioxidant Activity of Moringaoleifera and Olive Oleaeuropaea L. Leaf Powders and Extracts on Quality and Oxidation Stability of Chicken Burgers	10.3390/antiox11030496	Marwa Ezz El-Din Ibrahim Randah MiqbilAlqurashi and Fatimah Yousef Alfaraj	3 mars 2022	1-14
Composition and Antioxidant Activity of Olive Leaf Extracts from Greek Olive Cultivars	10.1007/s11746-009-1517-x	Kostas Kiritsakis • M. G. Kontominas C. Kontogiorgis; D. Hadjipavlou-Litina; A. Moustakas ; A. Kiritsakis	10 Décembre 2009	369–376
Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé	/	Karim ARAB, Ouahiba BOUCHENAK et Karima YAHIAOUI	2013	159–166
Microwave-Assisted Extraction of Olive Leaf from Five Italian Cultivars: Effects of Harvest-Time and Extraction Conditions on Phenolic Compounds and In Vitro Antioxidant Properties	10.1021/acsfoodscitech.1c00227	Maria Chiara Di Meo, Giuseppa Anna De Cristofaro, Roberta Imperatore, Mariapina Rocco, Daniela Giaquinto, Antonio Palladino, Tiziana Zotti, Pasquale Vito, Marina Paolucci, and Ettore Varricchio	Octobre 2021	A-J

Changes in Phytochemical Profiles and Biological Activity of Olive Leaves Treated by Two Drying Methods	0.3389/fnut.2022.854680	Chengcheng Zhang, Jianming Zhang ¹ , Xiaoting Xin ¹ , Shenlong Zhu, ErliNiu, Qinghang Wu ¹ , Ting Li ¹ and Daqun Liu ¹	28 avril 2022	1-14
Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'Olea europaea L. de l'Est Algérien	10.5281/zenodo.4282436	Naziha ADDAB , Samira FETNI,Fatma HAMLAOUI, Abir ZERGUINE , Kalthoum MAHLOUL	21/12/2020	579-586.
In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (Olea europaea L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes	10.1016/j.heliyon.2018.e00805	Patricia Goldschmidt Lins, Silvana Marina PiccoliPugine, Antonio M_arcioScatolini, Mariza Pires de Melo	13 September 2018	1-26
Comparative Evaluation of the Phytochemical Profiles and Antioxidant Potentials of Olive Leaves from 32 Cultivars Grown in China	10.3390/molecules27041292	Chengcheng Zhang, XiaotingXin, Jianming Zhang, Shenlong Zhu, ErliNiu, Zhongjing Zhou and Daqun Liu	15 février 2022	1-17
Bioaccessibility and antioxidant activity of PCL microencapsulated olive leaves polyphenols and its application in yogurt	10.1111/1750-3841.15893	Tamer M. El-Messery Esmat AlyRuben LÓpez-NicolasTeresa SÚnchez-MoyaGaspar Ros	Septembre 2021	1-13
Evaluation of Antioxidant andWound-Healing Properties of EHO-85, a Novel Multifunctional Amorphous Hydrogel	10.3390/pharmaceutics14020349	Antonio Casado-Diaz, José Manuel Moreno-Rojas, José Verdú-Soriano,José Luis Lázaro-Martínez,	1 février 2022	1-14

Containing <i>Olea europaea</i> Leaf Extract		LeocadioRodríguez-Mañas, Isaac Tunez 3Manuel La Torre, Miriam Berenguer Pérez, Feliciano PriegoCapote,† and Gema Pereira-Caro		
Olive-Leaf Extracts Modulate Inflammation and Oxidative Stress Associated with Human <i>H. pylori</i> Infection	10.3390/antiox10122030	Jose Manuel Silvan, Esperanza Guerrero-Hurtado, Alba Gutiérrez-Docio , Teresa Alarcón-CaveroMarin Prodanov and Adolfo J. Martinez-Rodriguez	20 décembre 2021	1-14
Antioxidant, Antimicrobial, and Antiproliferative activities of Olive (<i>Olea europaea</i> L.) Leaf Extracts	/	Ki-Wan Ko, Ho Jin Kang ¹ , and Boo Yong Lee	4 février 2009	818- 821
Phenolic compositions, and antioxidant performance of olive leaf and fruit(<i>Olea europaea</i> L.) extracts and their structure–activity relationships	/	Pu-junXie ^{a,b} , Li-xin Huang ^{a,b} , Cai-hong Zhang ^{a,b} , Yao-lei Zhang	25 mai 2015	460–471
Comparative assessment of total phenolics content and in vitro antioxidant capacity variations of macerated leaf extracts of <i>Olea europaea</i> L. and <i>Argania spinosa</i> (L.) Skeels	doi.org/10.1016/j.matpr.2020.120990	Aziza Lfitat, HindZejli , Fatima Zohra Bousraf, AbdelkamelBousselham a, Yassine El Atki , Abdelkader Gouch, BadiaaLyoussi, Abdelfattah Abdellaoui	13 février 2021	7271–7277

Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien	10.1007/s10298-012-0726-x	I.A. El-Haci , F. Atik-Bekkara , A. Didi1, M. Gherib, M.A. Didi	2012	280–285
An oleuropein rich-olive (Olea europaea L.) leaf extract reduces β -amyloid and tau proteotoxicity through regulation of oxidative- and heat shock-stress responses in <i>Caenorhabditiselegans</i>	10.1016/j.fct.2022.112914	Jose M. Romero-Márquez , María D. Navarro-Hortal , Victoria Jiménez-Trigo, Laura Vera-Ramírez, Tamara J. Forbes-Hernández, Adelaida Esteban-Muñoz, Francesca Giampierid,e,f, Pedro Bullón g, Maurizio Battinod,h, Cristina Sánchez González,I, José L. Quiles	6 Mars 2022	1-13

Résumés

Résumés

L'olivier est très répandu en Algérie et largement utilisé par les populations locales. Les propriétés médicinales de l'olivier sont surtout attribuées aux feuilles. L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques de quatre variétés sauvages de la plante *O. europaea* des régions de l'Est algérien : Batna et Mila (hautes-plateaux), Biskra (Sahara) et Skikda. L'évaluation de l'activité anti-oxydante in vitro des extraits éthanoliques de la plante *O. europaea* a été réalisée par différentes méthodes, notamment le piégeage du radical libre DPPH• et le pouvoir réducteur des ions ferriques. L'analyse quantitative des extraits éthanoliques des feuilles de la plante *O. europaea* a révélé que l'extrait de Mila était plus riche (420.36 mg GAE/g MS), suivi de celui de Batna (396.84 mg GAE/g MS), puis celui de Biskra (de 380.69 mg GAE/g MS) et enfin de l'extrait de Skikda (368.45 mg GAE/g MS). Les résultats de l'activité anti radicalaire des extraits éthanoliques ont montré que ceux de Batna et Mila possédaient le pouvoir le plus important.

MOTS CLÉS : *Olea europaea* L., extrait éthanolique, activité anti-oxydante, FRAP, DPPH.

Abstract

The olive tree is very popular in Algeria and widely used by local populations. The medicinal properties of the olive tree are mainly attributed to the leave. The objective of this study was to evaluate the antioxidant activity of ethanolic extracts of four wild varieties of the plant *O. europaea* from the regions of eastern Algeria: Batna and Mila (high plateau), Biskra (Sahara) and Skikda. The evaluation of the in vitro antioxidant activity of the ethanolic extracts of the *O. europaea* plant was carried out by different methods, in particular the trapping of the free radical DPPH• and the reducing power of ferric ions.

The quantitative analysis of the ethanolic extracts of the leaves of the plant *O. europaea* revealed that the extract of Mila was richer (420.36 mg GAE/g DM), followed by that of Batna (396.84 mg GAE/g DM), then that of Biskra (of 380.69 mg GAE/g DM) and finally of the Skikda extract (368.45 mg GAE/g DM). The results of the antiradical activity of the ethanolic extracts showed that those of Batna and Mila possessed the most important power.

KEY WORDS: *Olea europaea* L., ethanolic extract, antioxidant activity, FRAP, DPPH.

ملخص :

تحظ شجرة الزيتون بشعبية كبيرة في الجزائر ويستخدمها السكان المحليون على نطاق واسع. تعود الخصائص الطبية لشجرة الزيتون بشكل أساسي إلى الأوراق. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية لأربعة أصناف برية من نبات الزيتون البري مناطق شرق الجزائر: باتنة وميلة (الهضاب العالية)، بسكرة (الصحراء) وسكيكدة. تم إجراء تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر للمستخلصات الإيثانولية من نبات بطرق مختلفة، لاسيما محاصرة الجذور الحرة • الزيتون البري وتقليل قدرة أيونات الحديدك. أظهر التحليل الكمي للمستخلصات الإيثانولية لأوراق نبات الزيتون البري. مستخلص ميلان كان أكثر ثراء (420.36 مجم) / GAE (DM)، يليه مستخلص باتنة (396.84 مجم) / GAE (DM)

ثم باتنة (396.84 مجم) / (GAE مجم) DM، ثم بسكرة (380.69 مجم) / (GAE مجم) DM وأخيراً خلاصة سكيكدة (368.45 مجم) / (GAE مجم) DM. أظهرت نتائج النشاط المضاد للراديكالية للمستخلصات الإيثانولية أن مستخلصات باتنة وميلان تمتلك القوة الأكبر.

كلمات البحث: الزيتون البري جذور الحرة، مستخلص ميثانولي، نشاط مضاد للأكسدة