



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

الجلفة-جامعة زيان عاشور

Université Ziane Achour -Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم الغذائية

Département de Sciences Alimentaire

## Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Mastère Agronomie

Spécialité: Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

# Contribution à l'étude de l'activité anti-oxydante des extraits de feuilles d'olivier

Présenté par : MORZOUGLAL Djamila

**RABOUH Khadra**

Soutenu le 21 / 10 /2019, devant le jury :

M <sup>me</sup> GHAZI M.	Université de Djelfa	Présidente.
M <sup>f</sup> LAHRECHE T	Université de Djelfa	Promoteur.
M <sup>me</sup> KHEMKHAM A.	Université de Djelfa	Examinatrice.
M <sup>me</sup> BENMOUAFEKI F	Université de Djelfa	Examinateur.

Année Universitaire : 2018/2019

## **REMERCIEMENTS**

*Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose.*

*Seigneur, veille toujours diriger nos pas.*

*Nous remercions à mon Promoteur M<sup>r</sup>*

**LAHRECHE T.** *qui a fait preuve*

*d'abnégation, de générosité et de disponibilité infallible. Ses précieux conseils, ses remarques pertinentes m'ont été d'un apport inestimable*

*nous remercions M<sup>me</sup>*

**GHAZI M.** *d'avoir fait*

*l'honneur accepter de présider le jury de ce modeste travail.*

*Nous remercions également les membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce travail*

*Comme nous remercions tout le personnel du laboratoire de biologie .*

*.Au demeurant, nous exprim ici toute ma profonde gratitude à toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin et directement ou indirectement durant ,avant et après cette belle aventure même si elle n'était pas du tout une sinécure*

**MORZOUGLAL.D.**

**RABOUH.K.**

## ***DEDICACE***

*Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed paix et salut sur lui le  
seau*

*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 crée sur terre...*

*A cette source de tendresse, de patience et de générosité etplacitude*

*A ma mère !*

*A mon cher père*

*A mes frères*

*A mes deux sœurs*

*A tout ma famille de coté père et mère*

*A tous mes amies, mes collègues et tous les étudiants de notre*

*Promotion*

**MORZOUGLAL. D.**

## **DEDICACE**

*Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed paix et salut sur lui le  
seau*

*des prophètes ainsi que ses compagnons pour nous avoir apporté la religion  
de l'Islam*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes personnes les plus chères: mes parents*

*A me sœurs*

*A tout ma famille*

*A mes professeurs au cours de ma carrière universitaire*

*A mes amis et collègues et à tous ceux qui m'ont aimé en Dieu*

**RABOUH. Kh**

## *Sommaire*

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

**Introduction..... 1**

### **Synthèse bibliographique**

#### **Chapitre I : Feuille d'olivier**

<b>I.1.L'olive.....</b>	<b>3</b>
I.1.1.Définition.....	3
I.1.2. Classe botanique.....	3
I.1.3. Situation de l'oléiculture dans le monde.....	4
I.3.1. Situation de l'oléiculture en Algérie.....	5
I.1.4. Description botanique.....	5
<b>I.2. Feuille d'olivier.....</b>	<b>6</b>
I.1. Description.....	6
I.2. Composition chimique de la feuille d'olivier.....	6
I.2.1. Composition chimique globale des feuilles d'olivier.....	6
I.2.2. Composés phénoliques.....	7
I.2.2.3. L'oleuropéine.....	8
<b>I.3. Les feuilles d'olivier et la santé humaine.....</b>	<b>8</b>
<b>I.4. Valorisation des feuilles d'olivier.....</b>	<b>9</b>
<b>I.5. Domaines d'utilisations des feuilles d'olivier.....</b>	<b>9</b>
I.5.1.Domaine de l'alimentation animale.....	9
I.5.2.Domaine thérapeutique.....	9
I.5.3.Domaine pharmaceutique.....	10
I.5.4.Domaine cosmétologique.....	10
I.5.5.Industries Alimentaires.....	10

#### **Chapitre II : Radicaux libres et antioxydants**

**II.1. Les radicaux libres..... 11**

II.1.1. Définition.....	11
II.1.2. Production des radicaux libres.....	11
II.1.3. Le stress oxydant.....	11
II.1.4. Conséquences de stress oxydant.....	11
<b>II.2. Les antioxydants</b> .....	11
II.2.1. Définition.....	11
II.2.2. Classification des antioxydants.....	12
II.2.2.1. Les antioxydants endogènes.....	12
II.2.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques.....	12
II.2.2.1.2. Les protéines antioxydantes.....	13
II.2.2.2. Les antioxydants exogènes.....	13
II.2.2.2.1. Les oligo-éléments.....	13
II.2.2.2.2. Les vitamines.....	13
II.2.2.2.3. Les composés phénoliques.....	13
II.2.3. Propriétés biologiques des composés phénoliques.....	15
II.2.4. Propriétés biologiques des composés flavonoïde.....	16
II.2.5. Méthodes d'évaluation de la présence d'antioxydants dans les plantes.....	17
II.2.6. Présentation du test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).....	17

## **Partie expérimentale.**

### **Chapitre III: Matériels et méthodes**

<b>III.1. Matériels</b> .....	19
III .1..Appareillages utilisés.....	19
III. 2. Produits et réactifs utilisés.....	19
III- 3- Matériel végétale.....	20
III .3.1. Préparation du matériel végétal.....	21
III .3.1. a) Séchage.....	21
III .3.1. b) Broyage et tamisage.....	21
III .3.1.c) Macération (extraction solide/liquide).....	22
III -3-1- d) Evaporation.....	23
<b>III.2. Méthodes d'analyses</b> .....	23
III .2.1. Détermination du rendement.....	23
III .2.2. Dosage des polyphénols.....	24

III .2.3.Dosage des flavonoïdes.....	24
III.2.4..Activité antioxydante.....	25

## **Chapitre IV :Résultats et discussion**

<b>IV.1.Le rendement d'extraction</b> .....	26
<b>IV.2.Composition chimique</b> .....	26
IV.2.1.Teneur en polyphénols totaux.....	26
IV.2.2. Teneur en flavonoïdes totaux.....	28
<b>IV.2.3. Activité antioxydante</b> .....	29
<b>Conclusion</b> .....	31
<b>Références bibliographiques</b>	

## *Liste des abréviations*

% : Pourcentage

°C : degré Celsius.

AlCl<sub>3</sub> : Chlorure d'aluminium

BHA : Butylhydroxyanisole

DPPH : Radical 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl

g : Gramme

AG : Acide galique

H<sub>2</sub>O : Eau distillée

IC<sub>50</sub> : Concentration inhibitrice 50%

Kg : Kilogramme

mg GAE/g : milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

mg QE/g : milligramme équivalent Quercétine par gramme de matière sèche

NaNO<sub>2</sub> : Nitrite de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

OH: Hydroxyde de sodium

OH: Radical hydroxyle

PI : Pourcentage d'inhibition

## *Liste des figures*

Figure1 : Oliveraie de la région de Dar Chioukh	4
Figure2 : Zone de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le monde	4
Figure3 : Zones de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le bassin Méditerranéen	5
Figure4 : Feuille d'olivier	6
Figure 5: Structure de l'acide gallique (A), d'un exemple de tannins hydrolysables (B) et de l'acide ellagique (C)	14
Figure 6: Structure de base des flavonoïdes	15
Figure7 : Olivier« Olea europaea s »de la région de Dar Chioukh	21
Figure8 :Broyats de feuilles d'Oliver	22
Figure 9 :filtration sur papier Whatman	22
Figure10: évaporateur rotatif Bushi	23
Figure11:l'extrait de feuille d'Oliver	24
Figure12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols	27
Figure13 : Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes	28
Figure14: Comparaison entre l'activité antioxcidydante de l'extrait brut des feuilles d'olivier et de l'acide ascorbique	30

## *Liste des tableaux*

Tableau I : Composition chimique global des feuilles d'olivier.....	7
Tableau 2 : Les mécanismes d'action et indications cliniques des extraits des feuilles d'olivier.....	9
Tableau 3: Principales classes des flavonoïdes avec quelques exemples.....	16
Tableau 4 : Appareillage utilisé dans notre étude.....	19
Tableau 5: Produits et réactifs utilisés.....	20

# Introduction

## **Introduction :**

Depuis des siècles, les produits naturels constituent une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs utilisés pour soigner de nombreuses maladies (MPIANA ET AL., 2009 ; SALOUFOU ET AL., 2017). Nombre de travaux ont été réalisés sur des propriétés biologiques d'extraits de certaines plantes et ont permis la découverte de nombreux principes actifs utilisés en médecine moderne pour la synthèse de médicaments (GBENOU ET AL., 2011). Récemment, l'intérêt a augmenté considérablement avec la découverte des antioxydants pour les utiliser dans l'alimentation ou les applications pharmaceutiques, qui peuvent protéger le corps humain contre les radicaux libres et retarder la progression des maladies chroniques. En effet, plusieurs composés antioxydants extraits des plantes ont été identifiés comme un chélateur des radicaux libres ou de l'oxygène actif (GUIMARÃES ET AL., 2010).

Les feuilles d'Oliver, en particulier, sont une source riche en phénols et contiennent une grande quantité de flavonoïdes naturels en comparant avec la portion comestible (Ma et al., 2009).

L'olivier (*Olea europaea* L.) est une espèce largement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité. L'utilisation la plus courante de l'olivier est sans doute la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques (BISIGNANO ET AL., 1999). Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques.

En effet, l'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie remonte à très loin dans l'histoire. L'olivier est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques (BISIGNANO ET AL., 1999). Certains composés identifiés dans les extraits de feuilles d'olivier, tels que les composés phénoliques sont doués d'activités biologiques extrêmement importantes (BISIGNANO ET AL., 1999).

Ce présent travail, consiste en une contribution à l'évaluation de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes contenus dans l'extrait éthanolique des feuilles d'olivier (*Olea europaea sylvestris*) obtenus par macération et à l'évaluation de l'activité antioxydante de cet extrait par évaluation du pouvoir piègeur vis-à-vis d'un radical libre relativement stable (DPPH).

Notre travail est organisé en deux parties ;

La première est une synthèse bibliographique qui comporte deux chapitres ;

Chapitre I : Feuille d'olivier,

Chapitre II : Les radicaux libres et les antioxydants.

La deuxième partie est une étude expérimentale qui consiste au dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes et à l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait des feuilles de l'olivier.

**synthèse**  
**bibliographique**

# **Chapitre I:**

## **Feuille d'olivier**

## **I-1-L'olivier**

### **I-1-1- Définition**

L'olivier est un arbre polymorphe, de taille moyenne, très rameux, au tronc noueux, au bois dur et dense, à l'écorce brune crevassée, il peut atteindre quinze à vingt mètres de hauteur, et vivre très longtemps. Il s'adapte aux conditions extrêmes de l'environnement, mais exige une intensité lumineuse importante et un sol aéré (GHEDIRA, 2008).

L'olivier, arbre typiquement méditerranéen, se caractérise par un fruit, l'olive, dont l'huile est un composant essentiel du régime méditerranéen (GHEDIRA, 2008).

### **I-1-2- Classe botanique**

L'olivier est un arbre cultivé pour son fruit, l'olive, qui donne une huile recherchée « l'huile d'olive ». Cette dernière, mais aussi les olives de table, sont des éléments importants de la diète méditerranéenne et sont consommées en grande quantité dans le monde entier.

La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon CRONQUIST (1981) est la suivante :

Règne: *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Scrophulariales*

Famille : *Oleaceae*

Genre : *Olea*

Espèce: *Olea europaea*

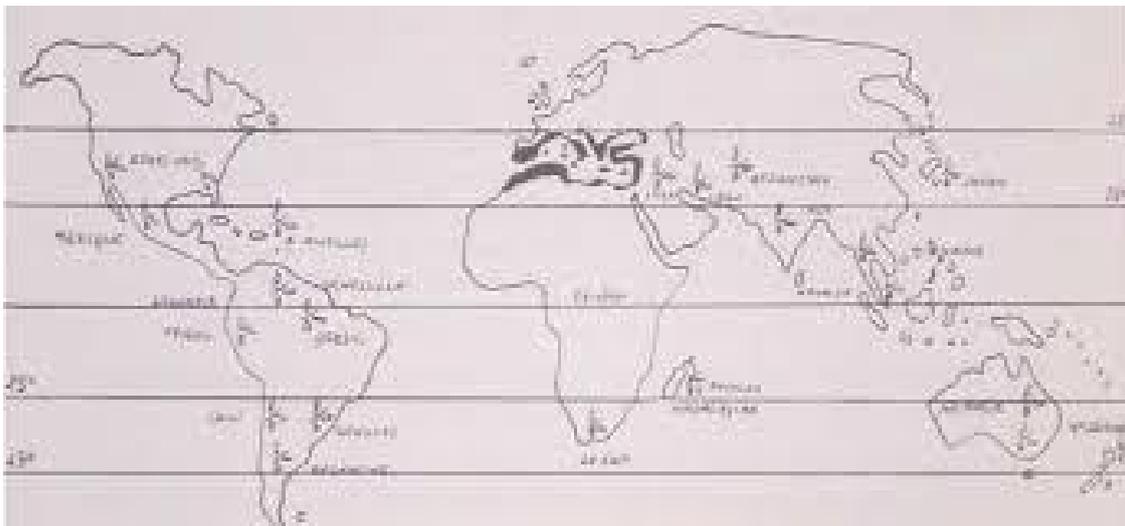
Sous-espèce: *europaea*



**Figure. 1.** Oliver de la région de Dar Chioukh (Original)

### **I-1-3- Situation de l'oléiculture dans le monde**

La zone naturelle de répartition géographique de l'olivier dans le monde se situe principalement entre le 26 ° et le 45 ° degré de latitude nord et sud (Figure 2), ce qui explique son introduction avec succès en Chine, au Japon, aux Etats Unis (Californie) et au Mexique pour l'hémisphère nord et en Australie, en Afrique du Sud et dans divers pays de l'Amérique du Sud pour l'hémisphère Sud. (VERDIER,2003).



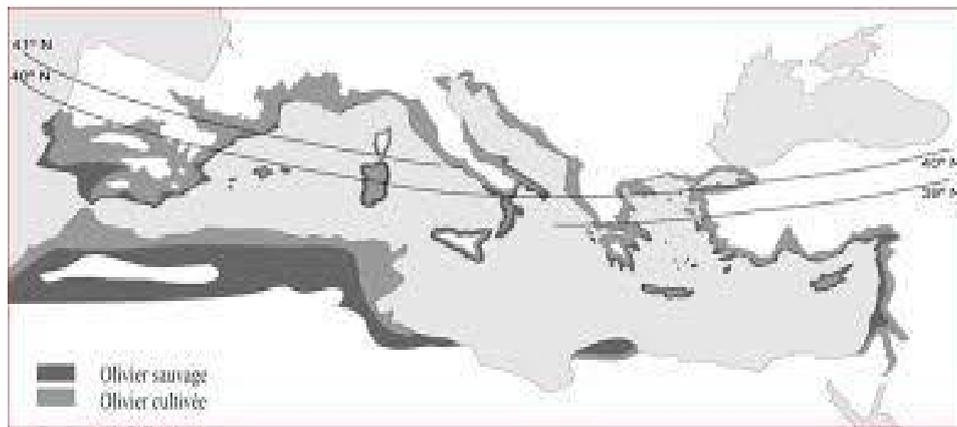
**Figure. 2.** Zone de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le monde (PAGNOL, 1996).

En Afrique, l'olivier est cultivé par ordre d'importance en Tunisie, Maroc, Algérie, Libye, Egypte, Afrique du Sud et Angola (VERDIER, 2003).. Les pays d'Europe qui cultivent l'olivier sont par ordre d'importance : L'Espagne, l'Italie, la Grèce, le Portugal,

l'Albanie, Chypre, la France, la Slovénie et Malte (VERDIER, 2003).. Au Moyen Orient et en Asie, les pays cultivateurs d'olivier sont par ordre d'importance Turquie, Syrie, Palestine, Liban, Israël, Jordanie, Irak, Iran et Chine.

En Amérique, l'olivier est cultivé par ordre d'importance en Argentine, Mexique, Chili, Pérou, Uruguay, Brésil et Etats Unis (Californie) (VERDIER, 2003).. L'Australie fait partie des nouveaux producteurs. Cependant, environ 97% des 850 millions d'oliviers, qui couvrent une superficie de 9500000 hectares, dans le monde poussent en région méditerranéenne (VERDIER, 2003).

Le bassin méditerranéen reste une zone privilégiée par rapport au reste du monde pour la culture de l'olivier grâce à son climat adéquat tant au niveau de la température mais aussi au niveau de l'hydrométrie (Figure 3).



**Figure. 3.** Zones de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le bassin Méditerranéen (GHEDIRA, 2008)

### **I-1-3- Situation de l'oléiculture en Algérie :**

L'oléiculture en Algérie s'étend sur une superficie de 383 443 ha, avec un nombre de 50 369 990 d'oliviers dont 44 664 333 en masse et 5 705 657 en isolés. Le nombre d'oliviers en production est de 30 527 175 arbres soit 61% du nombre total d'oliviers (DSASI, 2014). Le verger oléicole national représente 4,54 % de la surface agricole utile (8 465 040 ha). L'oléiculture est concentrée dans la région Centre avec 160 515 ha suivie de la région Est avec 132 439 ha, la région Ouest avec 73 032 ha soit 41,86%, 34,54%, 19,05% respectivement de la superficie complantée en olivier. Le Sud est la partie prenante du développement de l'oléiculture qui a un impact sur le développement de l'oléiculture au niveau national, il occupe un taux de 4,55% avec 17 457 ha (DSASI, 2014)

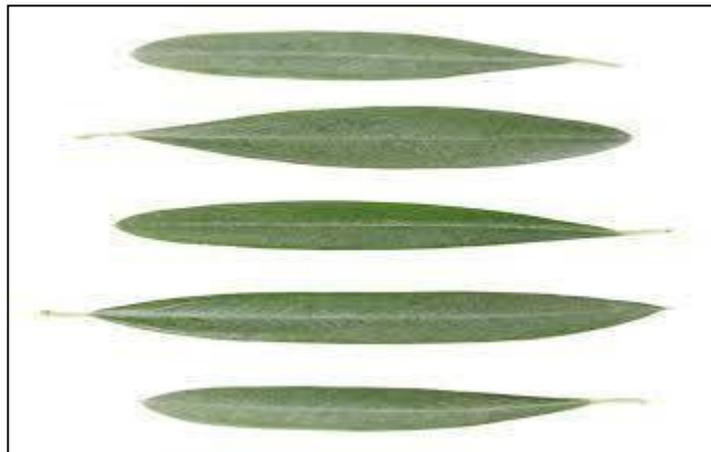
#### **I-1-4-. Description botanique :**

L'olivier est un arbre vivace au feuilles persistantes, dur, gris-vert et ayant une forme allongée (METZIDAKIS, 1997). Les fleurs sont déposées en grappes sur une longue tige (l'olivier produit deux sortes de fleurs, une parfaite qui contient les deux sexes male et femelle et une staminée) (Bernie et al., 2006). Le tronc est gris-vert et lisse jusqu'à sa dixième année, il prend une couleur gris foncé (RUGINI et al., 1998). Le système racinaire s'adapte à la structure des sols, il reste à une profondeur de 500 à 700 cm et se localise principalement sous le tronc (Maillard, 1975 ; (LOUSSERT ET BROUSSE , 1978).

#### **I-2- Feuille d'olivier :**

##### **I-2-Description :**

Les feuilles sont opposées, coriaces, simples, entières, subsessiles avec un pétiole court. Le limbe est lancéolé et se termine par un mucron. Les bords du limbe s'enroulent sur eux- mêmes. La face supérieure de la feuille est vert- grisâtre, lisse et brillante (ARGENSON ET al., 1999).



**figure.4.**Feuille d'olivier

#### **I-2- Composition chimique de la feuille d'olivier**

La composition chimique des feuilles d'olivier varie en fonction de nombreux facteurs : la variété, Les conditions climatiques, de l'âge des plantations ainsi que l'époque de récolte (Nefzaoui, 1995).

##### **I-2-1- Composition chimique globale des feuilles d'olivier:**

les différents composés chimiques sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau I** : Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimé en g/ 100g).

<b>Composition en %</b>	<b>GARCIA-GOMEZ et al. (2003).</b>	<b>MARTIN-GARCIA ET al. (2006)</b>	<b>BOUDHRIOUA et al. (2009).</b>	<b>BOUDHRIOUA et al. (2009).</b>
Eau	Nd	41,4	46,2- 49,7 a	49,8 a
Protéines	Nd	Nd	5,0-7,6 a	7,0 b
Lipides	6,2 b	3,2 b	1,0- 1,3 a	6,5 a
Minéraux	26,6 b	16,2 b	2,8- 4,4 a	3,6 b
Glucides	Nd	Nd	37,1- 42,5 a	27,5 a
Fibres brutes	Nd	Nd	nd	7,0 a
Cellulose	19,3 b	Nd	nd	Nd
Hémicellulose	25,4 b	Nd	nd	Nd
Lignine	30,4 b	Nd	nd	Nd
Polyphénols totaux	Nd	2,5 b	1,3- 2,3 b	Nd
Tannins solubles	Nd	Nd	nd	Nd
Tannins condensés	Nd	0,8 b	nd	Nd

**a** : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

**b** : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

**nd** : valeur non déterminée

### **I -2-2- Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont définis comme des métabolites secondaires très intéressants pour la santé humaine à cause de leurs propriétés antioxydants (Talhaoui et al., 2015). Les feuilles contiennent plusieurs classes comme les flavonoïdes, secoirido des, hydroxytyrosol (TALHAOUI et al., 2015). La teneur en composés phénoliques dans les feuilles d'olivier est très variable ; elle varie de 2,8 mg/g MS (ALTIOK et al., 2008) à 250 mg/g MS (MYLONAKI et al., 2008).

#### **I -2-2-1- Monomères phénoliques:**

Selon Altiok et al, ( 2008), les monomères phénoliques sont représentés par :

- Acides phénoliques tels que : acide caféique, acide vanillique et acide syringique.

- Alcools phénoliques tels que : tyrosol et hydroxytyrosol.
- Des flavonoïdes tels que : apigénine, lutéoline, rutine.

### **I -2-2-2- Polymères phénoliques**

Les polymères phénoliques sont représentés par :

- **Les tannins** : sont des composés naturels des végétaux, ayant une capacité de se complexer fortement avec les hydrocarbures et les protéines. Les tannins sont classés en deux groupes majeurs : les tannins solubles et les tannins condensés (GARRO-GALVEZ et al., 1997).

Selon FERGEROS et al. (1995), ces deux groupes représentent, respectivement 0,3 et 1% /MS.

- **La lignine** : les teneurs en lignine varient de 14,2% /MS à 30,4% /MS (FERGEROS et al., 1995 ;GARCIA-GOMEZ ET al., 2003).

### **I -2-2-3- L'oleuropéine**

Oleuropéine , un composé Secoiridoïdes, est présent dans l'ensemble *Olea europaea*L. L'olivier et ses produits dérivés (huile d'olive, margines et grignons). Il est le plus abondant biophénols et le composé bioactif majeur dans feuilles d'olivier. Plusieurs auteurs ont rapporté que les feuilles d'olivier sont source utile pour l'extraction de l'oléuropéine (SAVOURNIN et al., 2001;. Bouaziz et Sayadi, 2003; Japon-Lujan et al., 2006). L'oleuropéine possède de nombreuses effets bénéfique sur la santé humaine. Ainsi cette molécules est utilisée pour ces propriétés antioxydants (BENAVENTE- GARCIA ET AL., 2000), antimicrobiens (PEREIRA et al., 2007), antiviraux (MICOL et al., 2005), et antiinflammatoires (VISIOLI et al., 1998). En outre, l'oleuropéine possède un effetcardioprotecteur (Andreadou et al., 2006) et neuroprotectrice (Omar S.H., 2010). Desétudes in vitro ont démontré que l'oleuropéine agit comme un composé anti-tumoral (Hamdi et Castellon, 2005), inhibe l'activité du facteur d'activation des plaquettes (ANDRIKOPOULOS et al., 2002) et peut-être un modulateur du métabolisme. Ilaméliore aussi le métabolisme des lipides pour se protéger contre les problèmes d'obésité (POLZONETTI et al., 2004).

### **I-3- Les feuilles d'olivier et la santé humaine**

Les différents effets des feuilles d'olivier sont rapportés dans le tableau suivant.

**Tableau 2** : Les mécanismes d'action et indications cliniques des extraits des feuilles d'olivier.

<b>Mécanismes d'action et indications cliniques</b>	<b>Références bibliographiques</b>
Activité vasodilatateur	ZARZUELO et al., 1991.
Activité antioxydante	BENAVENTE-GARCIA et al., 2000 ; BRIANTE et al., 2002 ; ALTIOK et al., 2008 ; HAYES et al., 2010.
Action antvieillessement	AKEMI et al., 2001 (brevet) ; TADASHI, 2006 (brevet).
Activité antiviral (contre HIV)	LEE-HANG et al., 2003 ; BAO et al., 2007.
Activité antimicrobienne	MARKIN et al., 2003 ; PEREIRA et al., 2007
Activité antivirale (contre VHSV)	MICOL et al., 2005.
Activité antiallergique	MASATAKa et al., 2007.
Activité antifongique	KORUKLUOGLU et al., 2008.
Activité anti-cardiovasculaire	SCHEFFLER et al.,2008 ;SINGH et al., 2008 ; FONOLLA et al., 2010
Activité gastro-protective	DEKANSKI et al., 2009.
Activité anti-cancérogène	Kimura et Sumiyoshi, 2009 ; BOUALLAGUI et al., 2011
Activité anti-inflammatoire	MILJKOVIC et al., 2009.
Activité neuro-protective	MOHAGHEGHI et al., 2011.

#### **I -4- Valorisation des feuilles d'olivier**

Les feuilles d'olivier doivent être valorisées et considérées comme une richesse et ne doit pas être utiliser comme un sous produits.

##### **I -4-1- Domaines d'utilisations des feuilles d'olivier**

###### **I-4-1-1-Domaine de l'alimentation animale**

Les feuilles sont utilisées dans l'alimentation des moutons et chèvres (DELGADO-PERTINEZ et al., 2000 ; (MARTIN-GARCIA et al., 2003). Elle sont également utilisées dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes (BOTSOGLOU et al., 2010).

#### **I-4-1-2-Domaine thérapeutique**

La consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé (GIAO et al., 2007). Les feuilles d'olivier sont dotées d'un pouvoir anti- inflammatoire, antifongique et antimicrobien (TALHAOUI et al., 2015).

#### **I-4-1-3- Domaine pharmaceutique**

La valorisation concerne l'extraction des tocophérols et de l'oleuropéine, ainsi que la production de l'hydroxytyrosol (DE LUCAS et al., 2002 ; BOUAZIZ et SAYADI, 2003). D'autres substances extraite des feuilles d'oliviers sont également aussi valorisée, tels que les flavonoïdes (Yuhong et al., 2006 ), le mannitol (GHOREISHI et al., 2009), les stérols et les alcools gras (OROZCO-SOLANO et al., 2010).

#### **I -4-1-4- Domaine cosmétologique**

les feuilles d'olivier sont largement utilisées dans la formulation des produits cosmétiques (TADASHI, 2006 ; THOMAS et al., 2006). Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, constituent une richesse déjà largement exploitée par des produits cosmétiques

#### **I -4-1-5- Industries Alimentaires**

Les feuilles peuvent être utilisées comme ingrédients dans la formulation d'aliments pour les hyper-glycémiques (KOMAKI, 2003). Stabilisant de l'huile de tournesol (FARAG et al.2007), et de l'huile d'olive (BOUAZIZ et al., 2008).

# **Chapitre II :**

## **Radicaux libres et antioxydants**

## **Les radicaux libres**

### **II.1.1. Définition**

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (JACQUES et ANDRE., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (MARTINEZ-CAYUELA, 1995).

### **II.1.2. Production des radicaux libres**

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O<sub>2</sub> pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respiration oxydative. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (RLO). (Chu et al., 2010)

Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories ; les sources endogènes ou les RL sont des produits des réactions de l'organisme, et les sources exogènes tel que le tabagisme, les radiations UV, les médicaments, les réactifs chimiques, les solvants industriels et la pollution (PASTRE, 2005).

### **Le stress oxydant**

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (BOYD et al., 2003).

### **Conséquences du stress oxydant**

Des concentrations élevées en ERO peuvent être un important médiateur de dommages des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines (VALKO et al., 2006).

Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré...etc. Est aussi l'un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies multifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (FAVIER, 2003).

## Les antioxydants

### Définition

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloquer de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants (TANG et HALLIWELL, 2010).

Selon (VALKO et al. 2006), un antioxydant devrait à la fois :

- Agir spécifiquement sur les radicaux libres ;
- Chélater les métaux de transition ;
- Agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer ;
- Agir à des concentrations physiologiques relativement faibles.

### Classification des antioxydants

#### II.2.2.1. Les antioxydants endogènes

##### II.2.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques

L'organisme possède des enzymes qui peuvent métaboliser les ERO (MORENA et al., 2002) . Les plus connues sont:

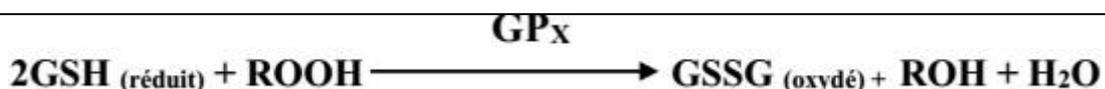
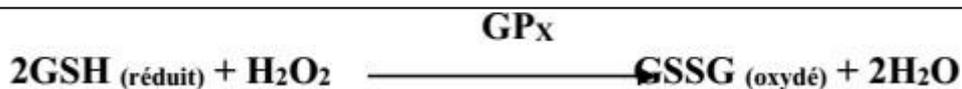
- La superoxydedismutase (SOD)

Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et en oxygène.



- La glutathion peroxydase

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (VALKO et al., 2006).



- La catalase

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes (VALKO et al., 2006).

Elle permet de convertir deux molécules de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>.



#### **II.2.2.1.2. Les protéines antioxydantes**

La transferrine, la ferritine et la céruléoplasmine jouent un rôle antioxydant par chélation des ions (CURTAY et ROBIN, 2000; PINCEMAIL et al., 2002). Ces chélateurs forment des complexes ou des composés de coordination avec les métaux. Ils inhibent ainsi le cycle redox du métal ont construit des complexes métalliques insolubles (CILLARD et CILLARD, 2006).

#### **II.2.2.2. Les antioxydants exogènes**

##### **II.2.2.2.1. Les oligo-éléments**

Les oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc, le sélénium et le manganèse (PASTRE, 2005).

##### **Les vitamines**

Les vitamines sont des molécules organiques requises en faible quantité indispensable pour le fonctionnement des voies métaboliques des êtres vivants. Elles réagissent sous forme de coenzyme (BARATI ELBAZ et Le MARECHAL, 2008).

##### **Les composées phénoliques**

##### **II.2.2.2.3.1. Définition**

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzoïque au quel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (BRUNETO, 1999).

##### **Classification**

- **Les acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont constitués de deux sous-groupes : Les acides hydroxybenzoïques, qui ont en commun la structure en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> et les acides

hydroxycinnamiques, des composés aromatiques avec une chaîne latérale à trois carbones (C6-C3) (BALASUNDRAM et al., 2006).

- **Les tannins**

Le terme « tannin » a été utilisé à l'origine pour décrire des substances végétales capables de transformer des peaux d'animaux en cuirs (COWAN, 1999; KHANBABAEE et REE, 2001; BENNICK, 2002; KOIVIKKO, 2008; RAHIM et KASSIM, 2008). Aujourd'hui, le terme est largement utilisé pour décrire un sous-groupe de composés phénoliques qui sont produits sous forme de métabolites secondaires, par une multitude d'espèces végétales diversifiées. Leur poids moléculaire est de plus de 500 Daltons, ils sont solubles dans l'eau avec la capacité de précipiter les protéines (HAGERMAN et al., 1998; COWAN, 1999; TOTH et PAVIA, 2001; BENNICK, 2002; KOIVIKKO et al., 2005; KOIVIKKO, 2008).

**a) Les tannins hydrolysables**

Les tannins hydrolysables sont des esters d'un sucre simple (glucose ou xylose principalement) et d'acides phénoliques. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (acide ou alcaline) ou enzymatique. Les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique dans le cas des gallotannins et l'acide ellagique dans le cas des ellagitannins (figure5) (ZIMMER et CORDESSE, 1996 ; DERBEL et GHEDIRA, 2005).

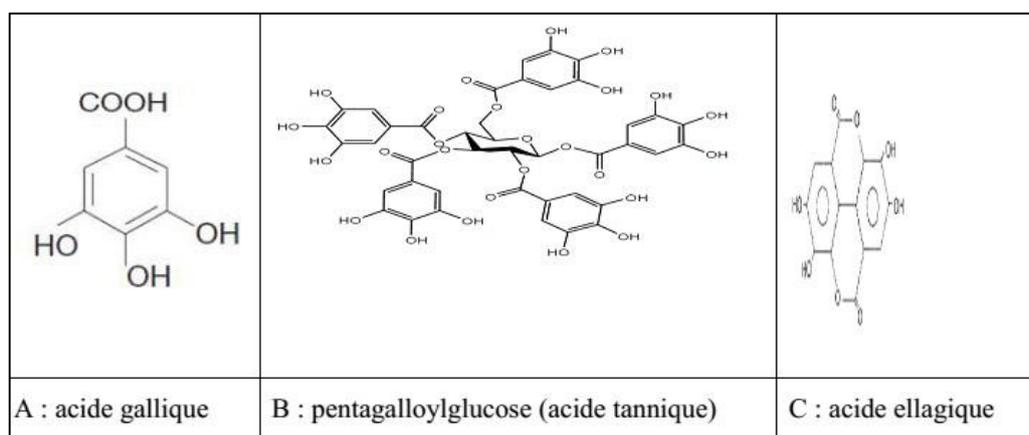


Figure 5: Structure de l'acide gallique (A), d'un exemple de tannins hydrolysables (B) et de l'acide ellagique (C) (DERBEL et GHEDIRA, 2005 ; NICHOLSON et VERMERRIS, 2006).

**b) Les tannins condensés**

Les tannins condensés sont des polymères d'unités flavaniques, le plus souvent liées entre elles par des liaisons C4-C8. Les précurseurs sont des flavan-3-ols et des flavan- 3,4 diols (ZIMMER et CORDESSE, 1996)

- **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (GHEDIRA , 2005), qui possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisée pour former le cycle C (figure 5) (BRUNETON, 1999)

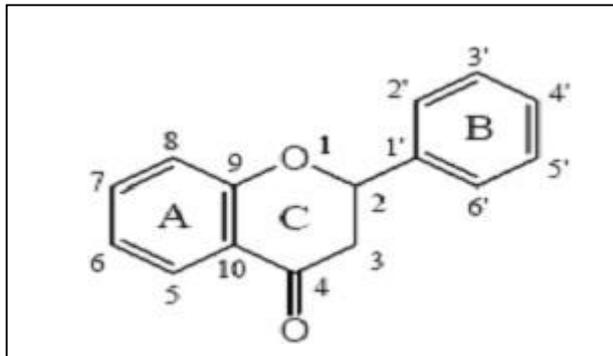


Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes (SARAF et al., 2007).

### Propriétés biologiques des composés phénoliques

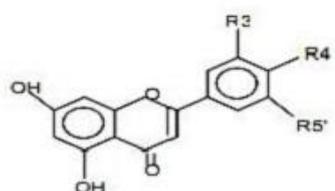
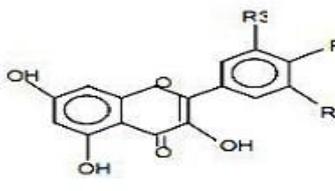
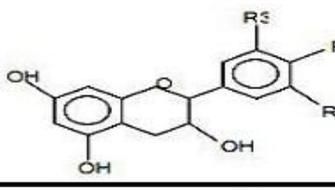
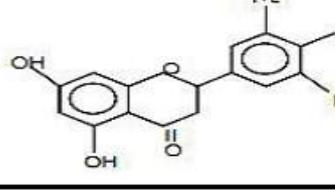
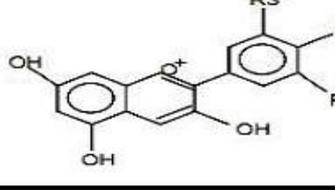
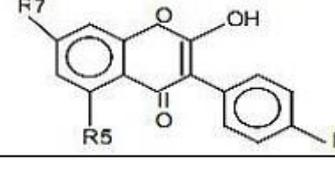
Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique. Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydantes synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). Les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (BOUNATIROU et al., 2007).

Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (MAKOI et NDAKIDEMI, 2007).

Les pigments non azotés sont impliqués dans le processus de pollinisation. Ils attirent l'attention des insectes pollinisateurs, ou servent au contraire à dissuader les formes pour éloigner les prédateurs. D'autres sont des inhibiteurs d'enzymes et interviennent dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies (BRUNETON, 1999).

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (BRUNETON, 1999)

Tableau 3: Principales classes des flavonoïdes avec quelques exemples (ARUOMA et al., 2003).

Classes	Structure chimique	R3'	R4'	R5'	Exemples
<b>Flavones</b>		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH <sub>3</sub>	H	Diosmétine
<b>Flavonols</b>		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
<b>Flavanols</b>		OH	OH	H	Catéchine
<b>Flavanones</b>		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
<b>Anthocyanidines</b>		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
<b>Isoflavones</b>		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidzeine

### Propriétés biologiques des composés flavonoïdes

Les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique depuis plusieurs décennies. D'abord à cause de leur importance dans la physiologie des plantes et de leurs rôles dans la pigmentation, mais aussi parce qu'ils sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes (MANACH et al., 2004). Ils ont également pour fonction de protéger ces dernières contre les pathogènes d'origine virale ou bactérienne, les prédateurs comme les insectes (BRAVO, 1998).

Les flavonoïdes, en particulier, sont impliqués chez les plantes dans le transport d'électrons lors de la photosynthèse, et ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons ultraviolets en agissant comme antioxydant (HAVSTEEN, 2002).

Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (TU et al., 2007).

Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes (DI CARLO et al., 1999).

### **Méthodes d'évaluation de la présence d'antioxydants dans les plantes**

Les antioxydants présentent une grande diversité moléculaire agissant contre les processus d'oxydation de différentes manières. Ainsi, afin de mesurer l'activité antioxydante d'une molécule, on peut coupler plusieurs tests. Par exemple, on retrouve le test au radical libre DPPH• (2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyle) ainsi que le test au radical libre ABTS• qui est obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylBenzoThiazoline-6-Sulfonique)). Ces deux tests sont les plus utilisés mais on peut également retrouver d'autres méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) et FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter). Dans cette thèse, pour étudier la capacité d'antioxydant des extraits des plantes, le test au DPPH a été utilisé. (ABDULMAJED K et al., 2005)

### **Présentation du test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)**

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre stable qui agit en se combinant avec d'autres radicaux libres. Ce composé a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité des composés phénoliques. Il s'agit d'un test largement utilisé car il est simple et relativement reproductible.

Le radical possède un électron libre sur un atome du pont d'azote. La délocalisation de cet électron se traduit par la coloration bleu-violette caractéristique du réactif. Cette délocalisation permet également au DPPH• de rester sous forme de monomères et d'être stable à température ambiante.

L'évaluation de l'activité antioxydante peut être exprimée ensuite soit par la détermination de la réduction relative du radical DPPH• à un temps donné

(pourcentage de DPPH consommé) en mesurant l'absorbance du mélange réactionnel par rapport à un témoin, soit par la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de DPPH (CE50). Egalement, les mesures de la cinétique de la réduction du radical DPPH• (diminution de l'absorbance DPPH) permettent d'évaluer la vitesse de transfert de l'hydrogène de l'antioxydant vers le radical DPPH et de le neutraliser. Ainsi, les études de la cinétique nous permettent de calculer le temps nécessaire pour diminuer la concentration initiale de DPPH de 50% (T CE 50) La capacité antioxydante est rapportée par rapport à un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique, le BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou le Trolox (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylique), correspond à l'analogue de la vitamine E soluble en milieu aqueux. Dans cette thèse, la comparaison se fait par rapport au Trolox (AHMAD N et al .,2012).

# **Etude expérimentale**

# **Chapitre III**

## **Matériel et méthodes**

## **Matériel et méthodes:**

Notre étude a été réalisée dans la période s'étalant du début du mois Avril à la fin du mois de Mai 2019 au sein du laboratoire Projet Fin d'Etude (PFE) du département de biologie, Université Ziane Achour – Djelfa.

Elle se divise en deux parties :

La 1<sup>ère</sup> partie : dosages quantitatifs des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

La 2<sup>ème</sup> partie : évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait en utilisant la technique : piégeage du radical libre DPPH.

### **III .1.Matériels**

#### **III.1.1.Appareillages utilisés :**

En plus du matériel régulièrement utilisé dans le laboratoire (verrerie, balance électronique, agitateur, ..... ) nous avons utilisé un appareillage résumé dans le tableau suivant.

Tableau 4 : Appareillage utilisé dans notre étude.

<b>Appareillage utilisé</b>	<b>Marque</b>
Moulin	Moulinex
Rotavapeur	Bushi
Etuve	Memmert
Spectrophotomètre UV	Beckman
Réfrigérateur	Iris

#### **III .1.2.Produits et réactifs utilisés :**

L'ensemble des produits et réactifs utilisés lors des expériences est récapitulé dans le ci-dessus.

**Tableau 5 : Produits et réactifs utilisés**

<b>Produit ou réactif</b>	<b>Formule chimique</b>
Eau distillée	H <sub>2</sub> O
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH
Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
Acétone,	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O
Chlorure d'hydrogène	HCl
Magnésium	Mg
Chlorure d'Aluminium	AlCl <sub>3</sub>
Carbonate de sodium	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>
Réactif de Folin-Ciocalteu	/
Acide ascorbique	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>
Acide gallique	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>
Quercétine	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>

### **III .1.3.Matériel végétale :**

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes (feuilles) d'olivier (figure 7).

L'identification botanique a été réalisée par Dr. GUIT. B. spécialiste en botanique  
Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie - Université de Ziane Achour, Djelfa.

La récolte des feuilles d'olivier nouvellement récoltées a été effectuée au mois de mars  
2019 au niveau de la ferme pilote Naas Hassan, Dar Chioukh - Wilaya de Djelfa.



**Figure7** : Olivier« *Olea europaea L.* »de la région de Dar Chioukh  
(original)

### **III.1.3.1. 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 et tamisage:**

Une fois séchées, les feuilles d'olivier subissent un broyage à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, puis elle est rendue homogène par tamisage (0.5mm de diamètre) (Figure 8).

La poudre ainsi obtenue a été conservée soigneusement dans un endroit sec et à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.



**Figure 8:** Broyats de feuilles d'olivier

**acération (extraction solide/liquide) :**

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans un solvant pendant une période donnée, pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes) (HAMIA et al., 2014).

Le protocole utilisé pour la macération des feuilles d'olivier est celui de ROSS et RAIN (1977) rapportée par HARBORNE (1998) avec quelques modifications ;

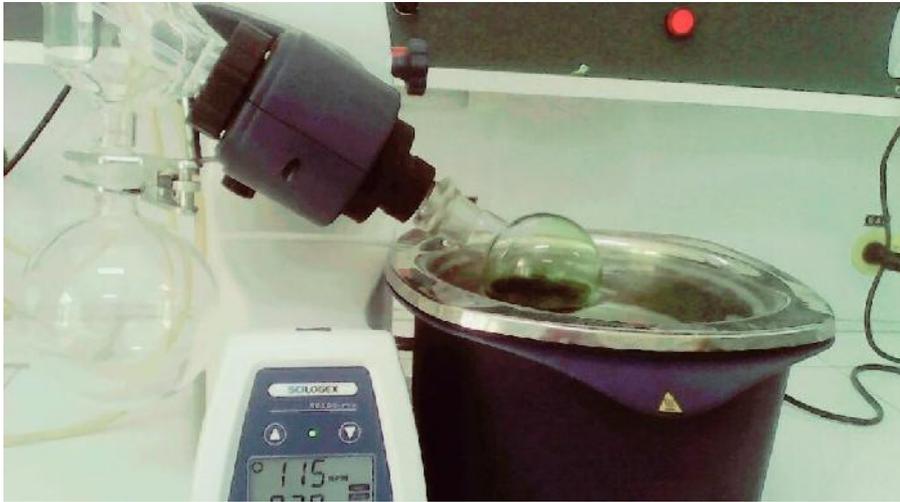
- 10g de broyat de feuilles d'olivier sont repris dans un erlenmeyer avec 100ml d'éthanol pure ;
- Le mélange subi une macération et une agitation magnétique pendant 24 h à l'obscurité et à température ambiante ;
- Après 24h, une filtration est réalisée sur papier Whatman n°1 (Figure 9) ;



**Figure 9 :**filtration sur papier Whatman n°1

#### d-Evaporation

Le filtrat récupéré est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif Bushi (figure10) qui permet d'éliminer le solvant sous vide.



**Figure10** : évaporateur rotatif Bushi

Le protocole utilisé pour l'évaporation des filtrats est celui décrit par MICHIELS et al. (2012) :

- Placer le filtrat dans le ballon d'évaporation ;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ( $T^{\circ} = 45^{\circ}C$ ) ;
- Retirer le ballon du rota-vapeur et attendre qu'il soit froid ;
- Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction ;
- Recueillir les extraits de chaque échantillon dans un flacon en verre marron, fermer hermétiquement et conserver au froid ( $+4^{\circ}C$ ) jusqu'à leurs analyses.

### III.2. Méthode d'analyse

#### III .2.1. Détermination du rendement :

Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{(P1 - P2)}{E} * 100$$

Où :

R : le rendement en (%) ;

P1 : le poids de l'extrait après évaporation du solvant en (g) ;

P2 : le poids du ballon vide en (g) ;

E : le poids de l'échantillon initial en (g).



**Figure11** :l'extrait de feuille d'Oliver

#### **Dosage des polyphénols:**

Le dosage des polyphénols contenus dans l'extrait a été réalisé selon la méthode décrite par VERMERRIS et NICHOLSON (2006) :

*Préparation de la solution de référence d'acide Gallique* :5g d'Acide Gallique + 10ml éthanol+100ml eau distillée.

La solution standardisée d'acide Gallique a été diluée de manière à avoir les différentes concentrations (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 et 1.0ml).

200  $\mu$ l de la solution de référence et de l'extrait (1g/ml) ont été mélangés avec 500  $\mu$ l du réactifFolinCiocalteu (FC). Le mélange a été agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix (10) minutes.

Puis 300 $\mu$ l de la solution saturée de  $\text{Na}_2\text{NO}_3$  à 20% ont été ajoutés. Le mélange subi une agitation puis laisse reposer 120mn à l'obscurité et à température ambiante.

L'absorbance a été mesurée à 750 nm par un spectrophotomètre UV.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans l'extrait de feuilles d'olivier sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g).

### Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes de nos extraits est réalisé par la méthode colorimétrique décrite par ZHISHEN et al.,(1999).

Une solution de référence de quercétine a été préparée (0,1mg/ml). Puis différentes concentrations ont été réalisées (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 et 1.0ml).

200µl de chaque dilution et de l'extrait ont été dilués avec 800µl d'eau distillée ;

Puis 100µl de NaNO<sub>3</sub> à 5% ont été ajoutés. Le mélange a subi une agitation puis laissé reposer 5 minutes à l'obscurité. ;

Par la suite, 100µl de Chlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> à 10% ont été ajoutés. Après agitation, le mélange a subi un repos de 6 minutes à l'obscurité et à température ambiante ;

En fin, 500µl d'Hydroxyde de sodium NaOH à 1M ont été ajoutés suivi immédiatement de 300µl d'eau distillé ;

L'absorbance a été mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme référence.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme de la matière végétale sèche (mg QE/g).

### Activité antioxydante (Piégeage du radical libre DPPH) :

500µl d'une solution de DPPH (3,0mg/100mlà vérifier de méthanol) fraîchement préparée dans le méthanol est ajouté à 2000µl des différentes concentrations réalisés par dilution de l'extrait dans l'éthanol (31. 25 – 1000µg/ml). Le contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 2000µl de méthanol avec 500µl de la solution méthanolique de DPPH. Après agitation et incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre UV )ATOUI et al., 2005(.

Le pourcentage d'inhibition PI est calculé selon la formule suivante :

$$PI(\%) = \frac{(AC - AE)}{AC} * 100$$

Avec :

A C: absorbance du contrôle ;

A E: absorbance de l'extrait.

# **Chapitre IV:**

## **Résultats et discussion**

## Résultats et discussion

### Le rendement d'extraction

Les extraits éthanoïques obtenus après évaporation étaient de couleur vert foncé avec une consistance pâteuse. Ces extraits ont été pesés pour déterminer le rendement moyen d'extraction.

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initial de la plante soumise à l'extraction (HARBORNE ,1998).

Les résultats du rendement d'extraction par macération des composés phénoliques rapportés en pourcentage (g d'extrait pour 100 g de plantes séchées) ont montrés que les extraits organique des feuilles d'Oliver représentés par la moyenne de trois mesure, été de  $21,32 \pm 4,23\%$  (poids/poids).

Nos résultats sont inférieurs à ceux reportés par ALBANO et MIGUEL (2010) et VERMERIEUS et NICHOLSON (2006) qui ont obtenus un rendement d'extraction de 25 et 30 % , respectivement. Par contre, nos résultats sont supérieures à ceux reportés par ALTIOK et al. (2008) qui ont obtenus un rendement d'extraction de 13,5 %.

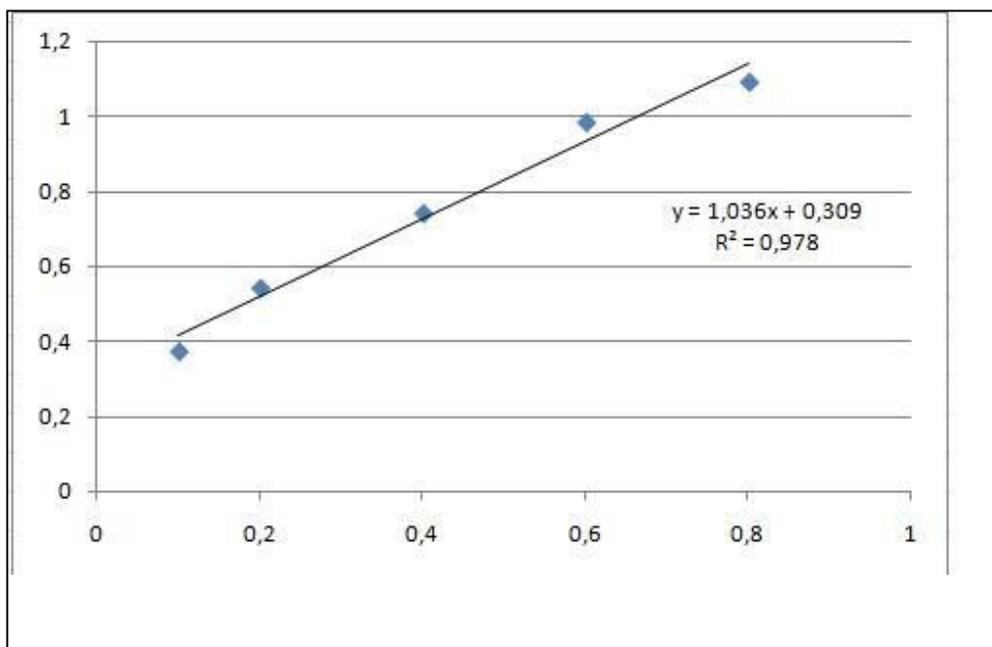
Cette variation dans les valeurs du rendement d'extraction est probablement due à la methode et la condition d'extraction telle que la température (  $40^{\circ}\text{C}$ ) et le solvant utilisé (Hydroacétone).

### Composition chimique

#### Teneur en polyphénols totaux :

Les polyphénols sont des molécules synthétisée par les végétaux et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (HE et al.,2008).

La figure représente la droite de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux contenus dans notre extrait de feuilles d'olivier. La formule de la régression linéaire de cette courbe est  $y = 1,036x + 0,309$  avec un coefficient  $R^2$  égal à 0,978.



**Figure12:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

Le résultat obtenu pour le dosage des polyphénols est exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g),

Différents auteurs ont reportés des teneurs en polyphénol des extraits de feuilles d'olivier; MADANI YOUSFI (2017) ont obtenus des teneurs en polyphénols de 124 mg EAG/ g, KARIM et TOUATI (2016) ont obtenus des teneurs en polyphénols de 10,2 mg EAG/ g extraits de feuilles d'olivier, alors que BOUABDALLAH (2014) et Faten et al. 2013 ont reportés des teneurs en polyphénols des extraits de feuilles d'olivier de 3,38 et 2,20 mg EAG/ g, respectivement,

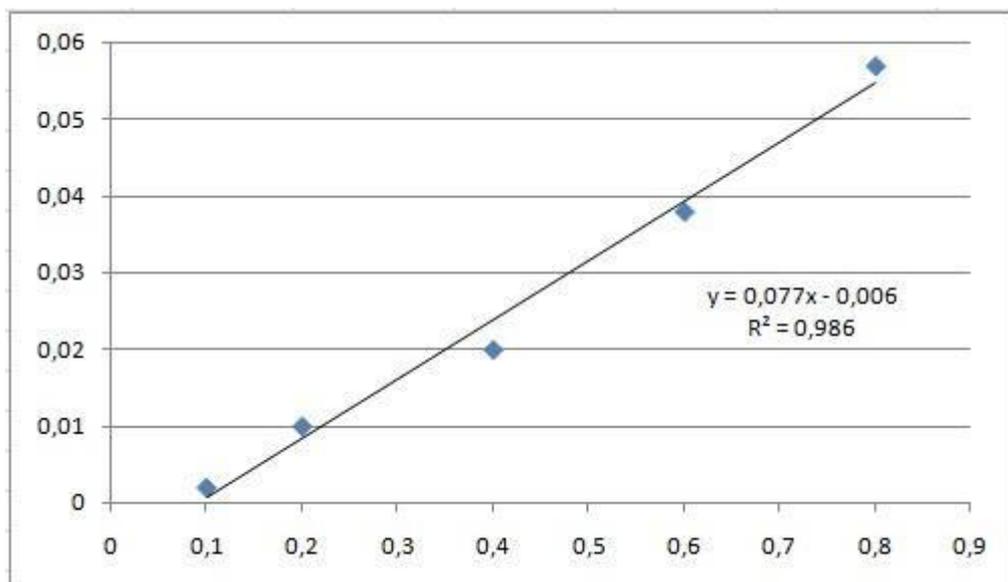
Cependant, la teneur en polyphénols totaux contenu dans notre extrait été de  $0,425 \pm 0,008$  mg EAG/g d'extrait.

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs: Facteurs climatiques et environnementaux ...etc. (Ebrahimi et al., 2008) ; Le patrimoine génétique (Miliauskas et al., 2004) ; la période de la récolte (Miliauskas et al., 2004) ; le stade de développement de la plante (Miliauskas et al., 2004) ; la méthode d'extraction (Lee et al., 2003). La méthode de quantification peut également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux et flavonoïdes (Lee et al., 2003)

### Teneur en flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénolique. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs.

La quercétine a été utilisée comme standard dans cette courbe avec une équation de la régression linéaire de  $y = 0,077x - 0,006$  et un coefficient de détermination  $R^2$  égal à 0,986



**Figure13:** Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

La quantités des flavonoïdes totaux dans notre extraits est une rapportées en milligramme d'équivalents quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g d'extrait). Notre résultats d'extrait éthanolique de feuilles d'olivier montre une concentrations de  $0,107 \pm 0,003$  mg EQ/g d'extrait.

Nos résultats sont inférieurs à ceux reportés par MADANI YOUSFI (2017). qui a obtenu une concentrations en flavonoïdes de 98,75 g EQ/g d'extrait, aussi nos résultats sont inférieurs à ceux reportés par KARIM et TOUATI (2016) et BOUABDALLAH (2014) qui ont obtenus des teneurs en flavonoïdes de 0,46 et 0,65 mg EQ/g d'extrait, respectivement .

Cette déférences entre entre le nos resultat et le résultats de ( BOUABDELLAH,2014) peu explique par la période de la récolte le stade de développement de la plante (Miliauskas et al., 2004) ;

#### **IV.2.3..Activité antioxydante :**

L'activité antiradicalaire de l'extrait de feuille d'Oliver vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage, de la couleur violette à la couleur jaune.

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter des substances actives à des basses concentrations.

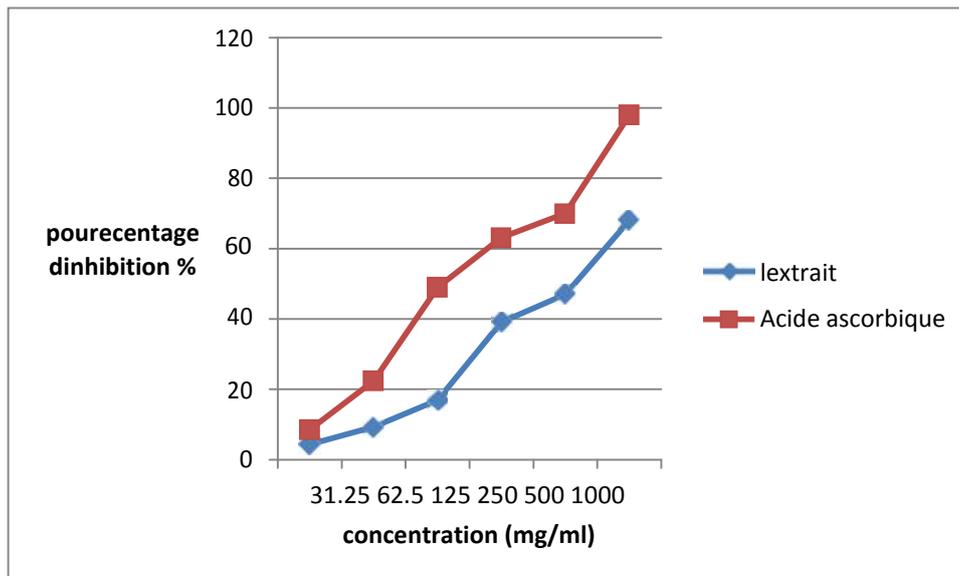
A cet effet, il a été employé pour le criblage des activités antiradicalaire de l'extrait (YI et al., 2008). les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (YOSHIDA et al., 1989).

Les valeurs de l'activité antioxydante d'extrait brut de feuilles d'olivier ont été étudiées et comparées avec celles de l'acide ascorbique.

La figure 15 représente la courbe de l'activité antioxydante de l'extrait de feuilles d'olivier et l'acide ascorbique.

D'après la figure nous constatons que le pourcentage d'inhibition augmente avec la concentration.

Le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique est supérieur au pourcentage d'inhibition de l'extrait de feuilles d'olivier. L'IC 50 diminue avec l'augmentation de l'activité anti oxydante. Les valeurs IC 50 obtenus dans notre travail étaient de 625 et 125 µg/ml pour l'extrait et l'acide ascorbique, respectivement . Nous notons que l'IC 50 de l'acide ascorbique est inférieur à l'IC 50 de l'extrait. Ce qui signifie que l'acide ascorbique présenté la meilleure activité antioxydante par rapport aux extrait des feuilles de l'oliviers. Cependant, ce ci ne permet pas d'exclure la présence d'une activité antioxydante relativement bonne pour notre extrait.



**Figure.14.** Comparaison entre l'activité antioxydante de l'extrait brut de feuilles d'olivier et de l'acide ascorbique

# **Conclusion**

## Conclusion

Le présent travail est axé sur le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes ainsi sur l'évaluer de l'activité antioxydante des l'extrait obtenu par macération à partir des feuilles d'olivier dans la région de Djelfa.

Les propriétés antioxydants des extraits obtenus à partir des feuilles d'olivier à différentes concentrations ont été déterminées par techniques d'activité anti-radicalaire.

les résultats obtenus sont les suivantes :

- Un rendement d'extraction de 21,32 %
- Une teneur en composés phénoliques de 0,425 mg EAG/g
- Une teneur en flavonoïdes de 0,107 mg EQ/g
- Une activité antioxydante présentée par le IC 50 égale à 625  $\mu\text{g/ml}$  qui est inférieur que l'acide ascorbique mais cela n'empêche pas que notre extrait a une activité antioxydante notable.

Comme conclusion générale, on peut dire que les feuilles d'olivier peuvent être utiliser en bioindustrie, notamment en bio-agroalimentaire, comme antioxydant de bonne qualité.

## Références bibliographiques

- **ABDULMAJED K., MCGUIGAN C. AND HEARD C. M.(2005).** Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. Free Radic. Res )39(: 491-498.
- **AHMAD N., FAZAL H., ABBASI B. H., ANWAR S. AND BASIR A.(2012).** DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). Toxicol.Ind. Health.
- **AKEMI M., MASAMICHI I., MASANORI O. AND NORIAKI O.)2001(.** Cosmetic for protecting and improving aged skin having AGEs degrading activity/Cosmetic having AGEs degrading activity and effective in protecting and improving aged skin. Patent Written in Japanese. JP 99-300806 19991022, pp. 5.
- **ALTIOK E., BAYCIN D., BAYRAKTAR O. AND ULKU S. )2008(.** Isolation of polyphénols from the extracts of olive leaves (*Olea europea* L.) by adsorption on silk fibroin. Separation and purification Technology, 62(2): 342-348.
- **ARGENSON C., REGIS S., JOURDAIN J.M. AND VAYSSE P. )1999(L"olivier.Eds** .Centre technique interprofessionnel des fruits et légume (Ctifl), Paris, 204 pages
- **ARUOMA O.I., BAHORUN T. AND JEN L.S. (2003).** Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. Mutation Research.)544(: 203-21.
- **BALASUNDRAM N., SUNDRAM K. AND SAMMAM S. (2006).** Phenolic compounds in plants andagri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry.99:191-203.
- **BAO J., ZHANG D.W., ZHANG J.Z.H., LEE HUANG P., LIN HUANG P. AND LEE-HUANG S. )2007(.**Computational study of bindings of olive leaf extract (OLE) to HIV-1 fusion protein gp41. FEBS Lettres, 581 (14): 2737-2742.
- **BARATI ELBAZ ET LE MARECHAL, (2008)..**Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*.Phytochemistry, )43( : 309 - 311.
- **BENAVENTE-GARCIA O., CASTILLO J., LORENTE J., ORTUNO A. AND DEL RIO J. A. )2000(.**Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L-leaves. Food Chemistry, 68(4): 457-462.
- **BISIGNANO G, TOMAINO A, LO CASCIO R, CRISAFI G, UCCELLA N, SAIJA A. )1999(.**On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol.J Pharm Pharmacol.Vol. 51.(1999).pp. 971-4.

- **BORTOLOMEAZZI R., SEBASTIANUTTO N., TONIOLO R. AND PIZZARIELLO A.(2007).** Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem.* 100: 1481-1489.
- **BOTSOGLOU E., GOVARIS A., CHRISTAKI E. AND BOTSOGLOU N.)2010(.** Effect of dietary olive leaves and/or  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry,* )121(: 17-22.
- **BOUABDALLAH A .(2014).** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen
- **BOUALLAGUI Z., HAN J., ISODA H. AND SAYADI S. )2011(.** Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology,* 49 (1): 179-184.
- **BOUAZIZ M. AND SAYADI S. )2003(.** Hight yield extraction of oleuropein from chemlali olives and leaves and bioconversion to hydroxytyrosol. *Polyphénols actualités,*) 23(: 11-15.
- **BOUAZIZ M., FKI I., JEMAI H., AYADI M. AND SAYADI, S.)2008(.** Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. *Food Chemistry,* )108(: 253-262.
- **BOUDHRIOUA N., BAHLOUL N., BEN SLIMEN I. And KECHAOU N. )2009(.**Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves.*Industrial Crops and Products,* )29(: 412–419
- **BOUNATIROU S., SMITI S., MIGUEL M.G., FALEIRO L., REJEB M.N., NEFFATI M., COSTA M.M.,FIGUEIREDO A.C., BARROSO J.G .,et PEDRO L.G. (2007).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et link.*Food Chemistry,* **105,** 146-155.
- **BOYD B., FORD C., KOEPKE M.C., GARYK., HORN E., MCANALLEY S., AND MCANALLEY B.(2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonnesanté. *Glycoscience & Nutrition.*4 (6):7.
- **BRAVO L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.,* **56** (1), 317-333.
- **BRETON C , MEDIAL F , PINATEL C , BERVILLE A ., (2006).** De l'olivier à L'oleastre :Origine et

- **BRIANTE R., LA CARA F., FEBBRAIO F., PATUMI M. AND NUCCI R. )2002(.** Bioactive derivatives from oleuropein by a biotransformation on *Olea europaea* leaf extracts. *Journal of Biotechnology*, )93(: 109– 119.
- **BRUNETON J. ; (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3ème Ed. Lavoisier. Paris, 199-388.
- **CHU W. L , LIM Y.W, RADHAKRISHNAN A . K. & LIM P. E. (2010).** Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementar and alternative Medicine*, **10(59):2-8**
- **CILLARD J. ET CILLARD P. (2006).** Mécanises de la peroxydation lipidique et des antioxydations. *OCL*, volume13, numéro 1, 24-29.
- **COWAN, N.M.(1999).** Plant product as antimicrobial agent.*Clinical Microbiology Reviews*.**12(4):564-582.**
- **CRONQUIST A., (1981).**An integrated system of classification of flowering plants.*Columbia Univesity Press.Diseases*, 18, 127-132.
- **CURTAY J.-P. ET ROBIN J.M. (2000).** Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info*.
- **DE LUCAS A., MARTINEZ DE LA OSSA E., RINCON J., BLANCO M.A. AND GRACIA I. )2002(.** Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. *The Journal of Supercritical Fluids*, 22 (3): 221-228.
- **DEKANSKI D., JANICIJEVIC-HUDOMAL S., TADIC V., MARKOVIC G., ARSIC I. AND MITROVIC D. M. )2009(.**Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74 (4): 367-377.
- **DELGADO-PERTINEZ M., GOMEZ-CABRERA A. AND GARRIDO A. )2000(.**Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemical composition and in vitro studies. *Animal Feed Science and Technology*, )87(: 187-201.
- **DERBEL S. ET GHEDIRA K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et Nutrition*. **1** :28-34.
- **DI CARLO G., MASCOJO N., IZZO A.A., CAPASSO F. (1999).** Flavonoids: olei and new aspects of a class of naturaJ therapelltic drllgs. *Life Sci.*, **65**, 337-353.
- **ERBAY Z. AND ICIER F.)2009(.** Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*,) 91(: 533-541

- **FARAG R.S., MAHMOUD E.A. AND BASUNY A.M. )2007**(. Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science & Technology*,) 42(: 107-115.
- **FAVIER A.(2003)**. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108 -115.
- **FEGEROS K., ZERVAS G., APSOKARDOS F., VASTARDIS J. AND APOSTOLAKI E. )1995**(. Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*, )17(: 9-15.
- **FONOLLÁ J., DÍAZ-ROPERO P., DE LA FUENTE D.E. AND QUINTELA J.C. )2010**(. MS358 one-month consumption of an olive leaf extract enhances cardiovascular status in hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis Supplements*, 11(2): 182
- **GARCIA A., BRENES M., GARCIA P., ROMERO C. AND GARRIDO A. )2003**(. Phenolics content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*, 216 (6): 520-525.
- **GARCIA-GOMEZ A; ROIG A. AND BERNAL M.P. )2003**(. Compostion of the solid fraction of olive mill waste water with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresource Technology*, )86(: 59-64.
- **GARCIA-GOMEZ A; ROIG A. AND BERNAL M.P.)2003**(. Compostion of the solid fraction of olive mill waste water with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresource Technology*, )86(: 59-64.
- **GBENOU JD, AHOUNOU JF, LADOUNI P, AGBODJOGBE WKDD, TOSSOU R, DANSOU P, MOUDACHIROU M. )2011**(. Propriétés antiinflammatoires des extraits aqueux de *Sterculia setigera* Delileet du mélange *Aframomum melegueta* K. Schum – Citrus
- **GHEDIRA K. (2005)**. Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, (4): 162-169.
- **GHEDIRA K., (2008)**. L'Olivier. *Phytothérapie*, 6(2), 83-89.
- **GIAO M.S., GONZALEZ-SANJOSE M.L., RIVERO-PEREZ M.D., PEREIRA C.I., PINTADO M.E. AND MALCATA F.X.( 2007)**. Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of Science Food & Agriculture*,) 87(: 2638-2647.
- **GUIMARÃES R., BARROS L., BARREIRA J.C.M., SOUSA M. J., CARVALHO A.M. ET FERREIRA I.C. (2010)**. Targeting excessive radical with peels and juice of citrus fruits grapefruit, lemon and orange. *Food Chemistry*, )48(: 99-106.

- **HAGERMAN A.E., RICE M.E. AND RITCHARD N.T. (1998).**Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin16 (4f8) catechin (procyanidin). *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **46**: 2590-2595.
- **HAMIA C., GUERGAB A., RENNANE N.E., BIRACHE M., HADDAD M., SAIDI M. ET YOUSFI M. (2014).**Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressum*. *Annales des Sciences et Technologie*, (47): 33-38.
- **HAVSTEEN B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeutics*, **96**, 67-202.
- **HAYES J. E., STEPANYAN V., ALLEN P., O'GRADY M.N. AND KERRY J.P. )2010(.** Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Science*, 84 (4): 613-620.
- **HE Z., XIA W. and CHEN J .(2008).** Isolation and structure elucidation of phenolic compounds in Chinese olive (*Cunilium album L.*) fruit . *European Food Research and Technology*, **226.**, 1191-1196.
- **KOMAKI E., YAMAGUCHI S., MARU I., KINOSHITA M., KAKEHI K. OHTA Y. AND TSAKADA, Y.) 2003(.**Identification of Anti-Amylase Components from Olive Leaf Extracts. *Food Science. Technology. Research.*, 9(1): 35-39.
- **KIMURA Y. AND SUMIYOSHI M. )2009(.**Olive Leaf Extract and Its Main Component Oleuropein Prevent Chronic Ultraviolet B Radiation-Induced Skin Damage and Carcinogenesis in Hairless Mice. *Journal of Nutrition*, 139 (11): 2079-2086.
- domestication de l'*Olea europaea L.* dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers agricoles*,
- **KORUKLUOGLU M., SAHAN Y. AND YIGIT A.)2008(.** Antifungal properties of olive leaf extracts and their phenolic compounds. *Journal of Food Safety*, 28 (1): 76-87.
- **LEE-HUANG S., ZHANG L., HUANG P.L., CHANG Y.T. AND HUANG P.L. )2003(.** Anti-HIV activities of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochemistry and Biophysics Research Communications*, 307(4): 1029-1037.
- **LOUSSERT R . ET BROUSSE G ., (1978) .L'olivier .Ed . Maisonneuve et Larose , Paris .447 .**
- **MA Y-Q , CHEN J-C, LIU D-H ET YE X-Q. (2009).** Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* )16(: 57–62.

- **MADANI YOUSFI M., (2017).** Dosage des polyphénols et recherche d'activité antiradicalaire de feuilles d'olives. Mémoire de Master. Université de Tlemcen-
- **MAILLARD R., (1975).** L'olivier .Maison des agriculteurs .Ed .Invuflec . Paris, 147
- **MAKOI J.H.J.R., NDAKIDEMI P.A. (2007).** Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. African Journal of Biotechnology, **6**(12), 1358-1368.
- **MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., JIMENEZ, L. (2004).** Polyphénols: food sources and bioacvailability. American Society for Clinical Nutrition.**79**.727-747.
- **MARKIN D., DUEK L .AND BERDICEVSKY I. )2003(.** In vitro antimicrobial activity of olive leaves. Mycoses, 46(3-4): 132-136.
- **MARTINEZ-CAYUELA M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease.Biochem.)**77**(: 147-161.
- **MARTIN-GARCIA I., YANEZ RUIZ D., MOUMEN A. AND MOLINA ALCALDE E. )2006(.** Effect ofpolyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaf fermentation in continuous fermentors. Small Ruminant Research, 61: 53-61.
- **MASATAKA K., NOBUHIKO K. AND TADAKAZU H. )2007(.**Antiallergic agent. Patent Written in Japanese. JP 2007182403 A 20070719. 8pp.
- **METZIDAKIS I T, (1997).** Proceedings of the third international symposium on Olive growing:
- **MICHIELS JA, KEVERS C, PINCEMAIL J, DEFRAIGNE JO, DOMMES J. (2012).**Extraction conditions can greatly influence antioxidantcapacity assays in plant food matrices. Food Chemistry, (130):986–993
- **MICOL V., CATURLA N., PÉREZ-FONS L., MÁ S V., PÉREZ L. AND ESTEPA A. )2005(.** The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). Antiviral Reshearch., 66(2-3):129-36.
- **MILJKOVIC D., DEKANSKI D., MILJKOVIC E., MOMCILOVIC M. AND MOSTARICA -STOJKOVIC M.)2009(.** Dry olive leaf extract ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. Clinical Nutrition,) 28(: 346-350.
- **MOHAGHEGHI F., BIGDELI M. R., RASOULIAN B., HASHEMI P. AND RASHIDI M.P.)2011(.**

- **MORENA, M., MARTIN-MATEO, M., CRISTOL, J. P ET CANAUD, B. (2002).** Stress oxydant, hémoïncompatibilité et complication de la dialyse au long cours. Néphrologie.)5( : 201-208.
- **MPIANA PT, BALANGANAYI EK, KANANGILA AB, KALONDA EM, NGBOLUA KN, TSHIBANGU DST, ATIBU EK, LUMBU JBS.)2009(.** Activité antirépanocytaire et thermodégradation des anthocyanes extraits de *Sterculia quinqueloba* et *Ficus capensis*. Int. J. Biol. Chem. Sci., 3(3): 551-560.  
<http://ajol.info/index.php/ijbcs>
- **MYLONAKI S., KLIASSOS E., MAKRIS D.P. AND KEFALAS P. )2008(.**Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. Anal. Bioanal. Chemistry, 392(5): 977-985.
- **NEFZAOUI A. )1995(.**Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. Advanced course. Syria 12-23 March 1995.
- **OROZCO-SOLANO M., RUIZ-JIMÉNEZ J. AND LUQUE DE CASTRO M.D. )2010(.**Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1217: 1227-1235.
- **PAGNOL J., (1996).** L'Olivier. Aubanel Ed, France.
- **PASTRE, J.O.C. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 120p.
- **PEREIRA A. P., FERREIRA I.C.F.R., MARCELINO F., VALENTÃO P., ANDRADE P.B., SEABRA R., ESTEVINHO L., BENTO A. AND PEREIRA J.A. )2007(.**Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. Molecules, )12( : 1153-1162.
- **RUGINI E., (1998).**Somatic embryogenesis and plant regeneration in olive (*Olea europaea* L.).Plant Cell Tiss. Org. Cult. 14(3)207-214.
- **SALOUFOU KI, BOYODE PB, SIMALOU O, ELOH K, MELILA M, KPEGBA K, NOVIDZRO KM, GASLONDE T, MICHEL S.)2017(.**Identification de deux phytostérols biologiquement actifs de l'extrait cyclohexanique des feuilles de *Ficus* sur (*Moraceae*). Int. J. Biol. Chem. Sci., 11(5): 2510-2520. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i5.44>
- **SARAF S., ASHAWAT S. M. AND SARAF S. (2007).** Flavonoids: A nutritional protection against oxidative and UV induced cellular damages. Pharmacognosy reviews, 1(1).

- **SCHEFFLER A., RAUWALD H.W., KAMP, B., MANN U., MOHR F.W. AND DHEIN, S. )2008**(. *Olea europaea* leaf extract exerts L-type Ca<sup>2+</sup> channel antagonistic effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(2): 233-240

- **SINGH I., MOK M., CHRISTENSEN A.M., TURNER A.H. AND HAWLEY J.A.)2008**(.The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function.*Nutrition, Metabolism & Cardiovascular*

**-STATISTIQUES AGRICOLES ET DES SYSTEMES D'INFORMATION (DSASIMADR)., 2014.**

The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood–brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia *Phytomedicine*, 18 (2-3): 170-175.

- **TADASHI U. )2006**(.Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture.Patent written in Japanese.Application: JP 2006191845 A 20060727, 7 pp.

- **TALHAOUI N., TAAMALLI A., GOMEZ-CARAVACA A. M., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A. and SeguraCarretero A. )2015**(. Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*,) 77(: 92–108.

- **TANG S. Y. ET HALLIWELL B.(2010)**. Medicinal plants and antioxydants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **394**:1-5.

- **THOMAS D., ANEMONE T., MARIANNE W-L. AND ARMIN W. )2006**(.Cosmetic and dermatological composition for the treatment of aging or photodamaged skin.Patent written in German.EP 2005- 20052 20050915, 40 pp.

- **TOTH B.G. AND PAVIA H. (2001)**.Removal of dissolved brown algal phlorotannins using insoluble polyvinyl polypyrrolidone (PVPP). *Journal of Chemical Ecology*, 27 (9): 1899-1910.

- **VALKO M., RHODES C.J.,MONCOL J. , IZAKOVIC M. ET MAZUR M.(2006)**. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.*Chemico-Biological Interactions*. )**160**(:1-40

- **VERDIERE., (2003)**. L'Huile d'olive. [www.FAO.org](http://www.FAO.org), consulté le 13/02/2016.

- **VERMERRIS W, NICHOLSON R. (2006 )**. Isolation and Identification of Phenolic Compounds, *Phenolic Compound Biochemistry*. Dordrecht : Springer.

- **YOSHIDA, T., MORI, K., HATANO, T., OKUMURA, T., UEHARA, I., KOMAGOE, K., FUJITA, Y., & OKUDA, T. (1989).** Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radicals scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37, 1919–1921.
- **YUHONG L., QINGSHENG L., HUIQING K., CHEN Z., XIONG L., QIUYAN L. AND MEILING L. (2006).** Study on using microwave to extract flavonoid antioxidants from olive leaves. *Shipin Keji*, (8): 111-114. Journal written in Chinese.
- **ZARZUELO A., DUARTE J., JIMÉNEZ J., GONZALEZ M. AND UTRILLA M.P. (1991).** Vasodilator effect of olive leaf. *Planta Medica*, 57(5): 417-419. 15(4):329-336. *Acta Horticulture, Crete, Chania & Greece*. 1(474).
- **ZIMMER N. ET CORDESSE R. (1996).** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRA productions animales*, 9(3) :167-179.

## Résumé :

Le travail présenté dans ce mémoire vise à définir une méthode simple pour l'extraction des composés phénoliques totaux des feuilles d'oliviers et étudier leur pouvoir antioxydant.

Une analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes de l'extrait éthanolique est réalisée, montrant des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes

Le rendement d'extraction obtenue de 21,32 % .et le teste de l'activité antioxydant effectuée par la méthode de piégeage de radicaux libres DPPH ,est montrée que l'extrait de feuille d'Oliver possède une activité antioxydante par le IC 50 égale à 625 µg/ml.

les feuilles d'olivier peuvent être utilisées en bioindustrie, notamment en agroalimentaire, comme antioxydant de bonne qualité.

**Les mots clés :** feuilles d'olivier , activité antioxydante , flavonoïdes , polyphénols

## Summary :

The work presented in this thesis aims to define a simple method for the extraction of total phenolic compounds from olive leaves and to study their antioxidant capacity.

A quantitative analysis of the polyphenols and flavonoids of the ethanolic extract is carried out, showing contents of total polyphenols and flavonoids

The extraction yield obtained of 21.32% and the test of the antioxidant activity carried out by the free radical scavenging method DPPH, is shown that the Oliver leaf extract has an antioxidant activity by the IC 50 equal to 625 µg / ml.

olive leaves can be used in bioindustry, especially in bio-agribusiness, as a good quality antioxidant.

**Keywords:** olive leaves , antioxidants activity , flavonoids, polyphenol

حديث

ها

. 21.32 ها .

DPPH

بده

/ 625 IC 50

ية: