



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

جامعة زيان عاشور - الجلفة

Université Ziane Achour – Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم الفلاحية و البيطرية

Département des Sciences Agronomiques et Vétérinaires

Projet de Fin D'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en

Filière: Science Alimentaires

Spécialité: Agro-Alimentaire et Contrôle de Qualité

*THEME*

## Extraction des composés phénoliques de feuilles d'olivier (région de Djelfa) et étude de leurs activités anti-oxydantes

Présenté par: M<sup>elle</sup> BELMIHOUB Mayar  
M<sup>elle</sup> GHABANI Ouarda Roumila

Examiné le :

Par le jury composé de:

Président	CHIEB.T	M.C.B	Université de Djelfa Ziane Achour
Encadreur	AISSAOUI .R	M.C.A	Université de Djelfa Ziane Achour
Co- Encadreur	REBHI A. E	M.C.B	Université de Djelfa Ziane Achour
Examinatrice	BRAHIMI .S	M.A .A	Université de Djelfa Ziane Achour

Année universitaire: 2021/2022

## ***Remerciements***

*Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme ma formation et pourvoir réaliser ce mémoire.*

*je remercie mon Promoteur de mémoire, Mme. Aïssaoui Ragadia et Ce Promoteur Mr. Rebhi Abed Alghani d'avoirs acceptés de m'encadrer dans la conception et l'élaboration de ce travail, et je remercie, le Prof Lahrech Tala pour son orientation, ses encouragements, son soutien et ses conseils.*

*Aussi, je remercie tout l'équipe de l'administration.*

## *Dédicace*

*A ceux qui m'ont donné sans rien en retour, a ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les plus difficiles, et ceux à qui je dois tant A mes chers parents ❤️ pour leur amour et toute l'affection qu'ils m'ont donnée et leur soutien moral, je vous dois tous mon succès, bonheur et ma grande joie. Et mon mari ♥️KHALED♥️ qui était toujours a mes coté et me donne la force pour continuer ❤️ A mes très chères sœurs najoua et mes frères karim et hamani et A toute la famille Je le dédie aussi a mon partenaire et ma copine mayar ❤️ tous mes amis et particulièrement : rachida, sonia, sara, sabiana, amira, rima, feriel, najoua, amira, lina et samira*

**OUARDA**

## *Dédicace*

*Je dédie entièrement ce travail a mon père Mustapha et a ma mère mimouna Qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours universitaire et pour leur amour et toute l'affection qu'ils m'ont Et mes frères Marwan Ibrahim, Abdul el-Kader , Muhannad, Loudjen habibti , Riyad, Razan, Rawan, mon oncle Abdul Hamid et sa femme. Fatiha et moi n'oublierons pas mon grand-père décédé Abdelkader (labqaa) et ma grande mère Oum saud et fatna et toutes mes tantes et tantes et tous ceux qui étaient à mes côtés et m'ont soutenu Mohammad et Sabah et tous les professeurs le professeur rebhi et madame aïssaoui et le profe Radwan et moi n'oublierons pas tous mes amis dans la vie universitaire et le premier ma ma copine warda , Amira et Rachida et ithar Abir Jalila Iness Lina Mériem kawther ikhles Ikram djawida Bouchra Zohra .souzan Zineb Djamila et toutes la famille belmihoub et Boumaza*

**MAVAR**

## Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : degré Celsius.

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

BHA : Butylhydroxyanisole

DPPH : Radical 2,2-diphényl-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

EAG/ mg EXS : Equivalents d'acide gallique par milligramme d'extraits sec

EQ/ mg EXS : Equivalents de la quercétine par milligramme d'extraits sec

UV : Ultraviolet

µl : Microlitre

A : Absorbance

A<sub>0</sub> : absorbance de control.

A1 : absorbance d'échantillon

R% : rendement

QE: équivalent en quercétine

## Liste des Tableaux

Tableau 1:Composition chimique global des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100 g) selon plusieurs auteurs.....	11
Tableau 2:Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche).....	11
Tableau 3: Structures chimiques des composés phénoliques les plus abondants des feuilles d'olivier. ....	20
Tableau 4 :Appareillage utilisé dans l'étude.....	34
Tableau 5: Produits et réactifs utilisés.....	34
Tableau 6: Rendement d'extraits de plante .....	49
Tableau 7: Absorbances adapté avec la gamme de concentration d'acide gallique.....	52
Tableau 8: Courbe d'étalonnage de quercétine .....	53

## Liste des figures

Figure 1: Classification systématique de la famille des Oleaceae et répartition géographique des taxons. (SLAHI K, 2016) .....	7
Figure 2: carte oléicole mondiale (HADDOU, 2017) .....	8
Figure 3: Répartition des zones géographiques de l'oléiculture algérienne.....	9
Figure 4: Exemple de quelques acides phénoliques de la série cinnamique (JOHN <i>et al.</i> , 2014).....	18
Figure 5: Structure de base des flavonoïdes (SARAF <i>et al.</i> , 2007).....	19
Figure 6: Valorisation de sous-produits oléicoles (DERMECHE <i>et al.</i> , 2013).....	22
Figure 7: Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'olivier pour la consommation humaine (BAHLOUL <i>et al.</i> , 2009). .....	23
Figure 8: la poudre de la feuille d'olive .....	33
Figure 9:Le protocole d'extraction et analyse qualitative et dosage quantitatif .....	35
Figure 10: Le mélange laissé sur agitateur pendant 24 heures.....	36
Figure 11: Filtration après 24 heures.....	37
Figure 12: évaporateur rotatif Bushi.....	37
Figure 13 : Evaporation du filtrat par un lyophilisateur. ....	38
Figure 14: La quantité après évaporation .....	38
Figure 15: solution d'extrait (filtrat obtenir) .....	39
Figure 16: filtration de solution extrait.....	39
Figure 17: agitation de solution pendant 20 minutes.....	40
Figure 18: préparation de solution FeCl <sub>3</sub> .....	40
Figure 19: l'alcool chlorhydrique .....	41
Figure 20: La solution standardisée d'acide Gallique.....	42
Figure 21: solution de Folin-Ciocalteu.....	42
Figure 22: Solution Na <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> .....	42
Figure 23: les 03 solution standard.....	43
Figure 24: les solutions phénols totaux .....	44
Figure 25: dosages des flavonoïdes .....	45
Figure 26: solution DPPH.....	46
Figure 27: solution d'acide ascorbique .....	46
Figure 28: solution d'extrait .....	47
Figure 29 : le test piégeage du radical DPPH.....	47
Figure 30: résultat de test saponiside positifs.....	50
Figure 31 : résultat de test tanins .....	50



Figure 32: résultat de test polyphénols .....	51
Figure 33: résultat changement de couleur des extraits vers le rose-orange. ....	51
Figure 34: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	52
Figure 35: Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes. ....	53
Figure 36: Comparaison entre l'activité anti-oxydante de l'extrait brut de feuilles d'olivier et de l'acide ascorbique.....	54

## Tableau des métiers :

Liste des abréviations.....	1
Liste des Tableaux .....	
Liste des figures .....	
Introduction Générale : .....	1

### Partie théorique

#### Chapitre I

##### L'olivier

I.1.L'olivier .....	5
I.1.1.Historique : .....	5
I.1.2.Description botanique.....	6
I.1.3.Classification et systématique : .....	6
I.1.4.l'olivier dans le monde.....	8
I.1.5.l'olivier en Algérie.....	8
2. Feuilles d'olivier .....	10
2.1. Caractéristiques physiques et chimiques des feuilles d'olivier .....	10
2.2. Utilisations pharmacologiques.....	13
2.2.1. Activité antimicrobienne.....	13
2.2.2. Activité antioxydante .....	13
2.2.3. Activité anticancéreuse .....	13
2.2.4. Activité antinociceptive .....	14
2.2.5. Activités antidiabétiques .....	14
2.2.6. Troubles cardiovasculaires.....	14
2.2.7. Activité hypolipidémique.....	14
2.2.8. Activités neuroprotectrices .....	15

#### Chapitre II

##### Composés phénolique des feuilles d'Oliver

1-Les composés phénoliques : .....	17
2-Classification des composés phénoliques .....	17
3-Les acides phénoliques .....	17
4-Les tannins .....	18
5-Les flavonoïdes :.....	18
6-Biosynthèse des composés phénoliques : .....	19
7-La voie de Shikimate : .....	19

8-La voie de l'acide malonique.....	19
9-Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques.....	20
10- Profil bioactif des feuilles d'olivier.....	21
11-Valorisation de sous-produits oléicoles :.....	21
12- Déshydratation des feuilles d'olivier .....	24
12-Méthodes d'extraction et d'analyse des composés phénoliques.....	25
12-1- Techniques d'extraction conventionnelles .....	26
12-1-1- L'extraction solide-liquide (SLE) .....	26
12-1-2- L'extraction liquide-liquide (LLE) .....	26
12-2- Techniques d'extraction avancées.....	27
12-2-1- Extraction assistée par ultrasons .....	27
12-2-2- Extraction assistée par micro-ondes (MAE) .....	27
12-2-3- Extraction liquide sous pression (PLE).....	28
12-2-4- Extraction de fluide supercritique (SFE) .....	29
13-Méthodes d'identification et de quantification des composés phénoliques.....	29
13-1 Méthode colorimétrique.....	29
13-2- Méthodes chromatographiques.....	30
13-3- Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	30
13-4- Méthodes couplées .....	30

## PARTIE :

### EXPERIMENTALE

#### Chapitre III

##### Matériel et Méthode

1- Matériel végétal : .....	33
1-1- _Récolte de la plante : .....	33
1-2-Broyage et tamisage: .....	33
2- Appareillages utilisés :.....	34
3-extraction (solide liquide) macération : .....	36
3-1- Macération :.....	36
3-2-Evaporation : .....	37
3-3-Lyophilisateur :.....	38
3-4 - Rendement des extraits d'Olea :.....	38
4- Analyse qualitative (test phyto-chimique) :.....	39
4 -1. Préparation des filtrats :.....	39
5- Dosage quantitatif :.....	41

5-1 - Dosage des poly-phénols totaux :.....	41
5-2-Dosage des flavonoïdes :.....	44
5-3- Evaluation de l'activité antioxydante par le test du DPPH : .....	45

#### Chapitre IV:

#### Résultats et discussion

1-Résultats.....	49
1-1-Le rendement d'extraction : .....	49
1-2. Analyse qualitative : .....	49
1-2.1. Mise en évidence Test des saponosides :.....	49
1-2-2- Mise en évidence des tanins :.....	50
1-2-3- Mise en évidence des poly-phénols totaux: .....	50
1-2-4- Mise en évidence des flavonoïdes :.....	51
1-3. Dosage quantitatif :.....	51
1-3.1. Dosage de polyphénols totaux :.....	51
1.3.2. Dosage des flavonoïdes :.....	52
1-4. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits :.....	53
2- Discussion :.....	55
2-1- Rendement :.....	55
2-2- Dosage de polyphénols totaux et de flavonoïdes : .....	55
2-3- Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits : .....	56
Conclusion Générale :.....	58
Références bibliographiques : .....	61
Résumé	

# **Introduction Générale**

### **Introduction Générale :**

Il y a plusieurs siècles, les plantes avaient un rôle clé en médecine pour maintenir la santé humaine (**MACHIEX *et al.*, 2005**).

Ils utilisaient des matériaux naturels pour rechercher de nouveaux produits actifs et efficaces à utiliser dans le traitement de nombreuses maladies (**MPIANA *et al.*, 2009 ; SALOUFOU *et al.*, 2017**). Ces plantes ont une grande force dans le traitement. Après avoir fait plusieurs expériences et travaux sur de nombreux extraits de plusieurs plantes différentes, des éléments actifs ont été découverts qui dits alors actifs (principes actifs), (**HIRASA et TAKEMASA, 1998**), Ils ont été utilisés dans la médecine moderne et l'installation de nouveaux médicaments efficaces, (**GBENOU *et al.*, 2011**) et ils se sont récemment intéressés à la découverte d'antioxydants à utiliser dans les matériaux alimentaires, pharmaceutiques et médicaux grâce auxquels le corps humain peut être protégé contre le développement de maladies (**GUIMARÃES *et al.*, 2010**).

Les feuilles d'olivier font partie de ces plantes qui ont fait l'objet d'expérimentations car elles contiennent notamment et une riche source de phénols qui sont utilisés comme antioxydants et sont également utilisés dans des effets bénéfiques sur la santé (**HIRASA et TAKEMASA, 1998**), et contiennent une quantité importante de flavonoïdes naturels (**Ma *et al.*, 2009**).

L'olivier faisait partie des plantes auxquelles les Algériens accordaient une grande attention. Ils étaient largement cultivés le long de la mer Méditerranée. Ils étaient plus répandus dans la production d'huile d'olive, qui est utilisée dans le domaine de l'alimentaire, du traitement et de la cosmétique (**BISIGNANO *et al.*, 1999**), l'Algérie présente une grande diversité notamment dans son utilisation des méthodes thérapeutiques idéales pour l'attention, en raison de leurs différences de cultures.

Dans notre sujet, nous avons parlé de l'olivier et nous nous sommes concentrés sur les feuilles d'olivier en particulier, qui ont de grandes propriétés médicinales. Les feuilles d'olivier sont devenues une recherche scientifique pour de nombreux biologistes et chercheurs. Il possède un stock abondant de composés naturels tels que les composés phénoliques qui sont d'une grande importance, ainsi

queles flavonoïdes naturels que l'on retrouve dans l'extrait de feuille d'olivier (**HAMZAA *et al.*, 2010**).

Notre travail contribue à connaître la teneur de l'extrait de feuille d'olivier et à évaluer les poly-phénols et flavonoïdes qu'il contient à partir de l'extrait de feuille d'olivier Ce que nous avons obtenu grâce au processus d'extraction par trempage et d'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'extrait en évaluant la force de confinement en organisant notre travail en deux parties théoriques et appliquées.

# **Partie théorique**



# **Chapitre I**

## **L'olivier**

## **I.1.L'olivier**

### **I.1.1.Historique :**

L'olivier (*Olea europaea*) est un arbre produit naturel méditerranéen. Image de la vie et de la dureté, c'est aussi une histoire morale d'harmonie. Il peut arriver à 15 à 20 mètres de hauteur et vivre assez longtemps, dans certains cas jusqu'à 1 000 ans ou plus.

L'olivier craint la glace, le collant et les arrosages démesurés. Pour les arbres jeunes, les températures ne doivent pas descendre en dessous de - 10°C. Les arbres plus établis bénéficiant d'un sol appauvri peuvent faire jusqu'à - 20°C. L'olivier supporte bien la chaleur jusqu'à 40°C dans l'ensemble. Là encore, au-dessus de cette température, il commence à perdre son produit naturel. Pour avoir une bonne fructification, vous voulez vraiment une belle lumière du jour d'été. L'olivier penche vers des sols légers qui canalisent rapidement l'eau. Il aime les sols pauvres, caillouteux et légèrement calcaires. Le vide-poches a fréquemment un belvédère **(GUISOUS, 2019)**.

L'olivier est l'un des arbres développés les plus établis de la planète. Le début de l'olivier a fait l'objet de nombreuses discussions. Des fossiles datant de l'époque tertiaire (il y a assez longtemps) ont démontré la présence d'un ancêtre de l'olivier en Italie. Des fossiles de feuilles d'olivier ont été trouvés dans les magasins pliocènes de Mongardino (Italie), restes fossilisés dans les couches du Paléolithique supérieur du Nord L'Afrique, morceaux d'oléastres et centres de fouilles énéolithiques en Espagne **(AGGOUN-ARHAB, 2016)**.

Il paraît certain que l'olivier a existé assez longtemps dans la localité qui concerne l'ancienne Perse et la Mésopotamie, puis son développement s'est répandu dans la "faucille mûre", région enveloppant l'Égypte, la Syrie, la Palestine et la Phénicie. La toile de fond historique de l'olivier converge avec celle des civilisations nées autour du bassin méditerranéen **(AGGOUN-ARHAB, 2016)**.

Le développement de l'olivier le long de la Méditerranée remonte au quatrième millénaire avant notre ère. L'olivier a été présenté au XVI<sup>e</sup> siècle dans quelques communes **(LAHOVAZI et MADANI, 2017)**.

### I.1.2. Description botanique

Extrêmement branchu, il a un tronc tordu et une écorce cassée de couleur terreuse. Ses feuilles, persistantes en hiver, sont inverses, ovales, étirées, portées par un pétiole court, rugueux, entières, relevées sur les bords, d'un vert terne brillant sur la face supérieure et d'un vert clair luisant à nervure médiane distendue sur le dessous. Ses fleurs printanières, regroupées en petits groupes, sont blanches avec un calice, deux étamines, une corolle à quatre pétales ovales et un ovaire ajusté. Ses produits bio, les olives, d'abord vertes, deviennent foncées à maturité (**GUISSOUS, 2019**).

### I.1.3. Classification et systématique :

L'olivier est un arbre persistant et persistant, qui peut atteindre un niveau expérimenté allant jusqu'à 15 m et une largeur de 9 m. L'olivier a une durée de vie qui dépasse de loin celle du cèdre, son espérance de vie dépasse pour la plupart plus de 500 ans, quelques arbres au nord de 2 000 ans ont été enregistrés. L'olivier prend autant de temps qu'il en faut pour se développer. Certes, dans les meilleures circonstances, les produits naturels n'apparaissent qu'après la septième année. Puis, à ce point, sa création s'incrémente avec constance entre la septième et la trente-cinquième année. A cet âge, il se développe et accouche de manière routinière jusqu'à l'âge de cent cinquante ans, moment où il entre peu à peu dans sa période de sénescence. (**SLAHI K, 2016**)

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Embranchement: Spermaphytes (Phanérogames) Sous-embranchement:

Angiospermes

Classe: Dicotylédones (ou Thérébinthales)

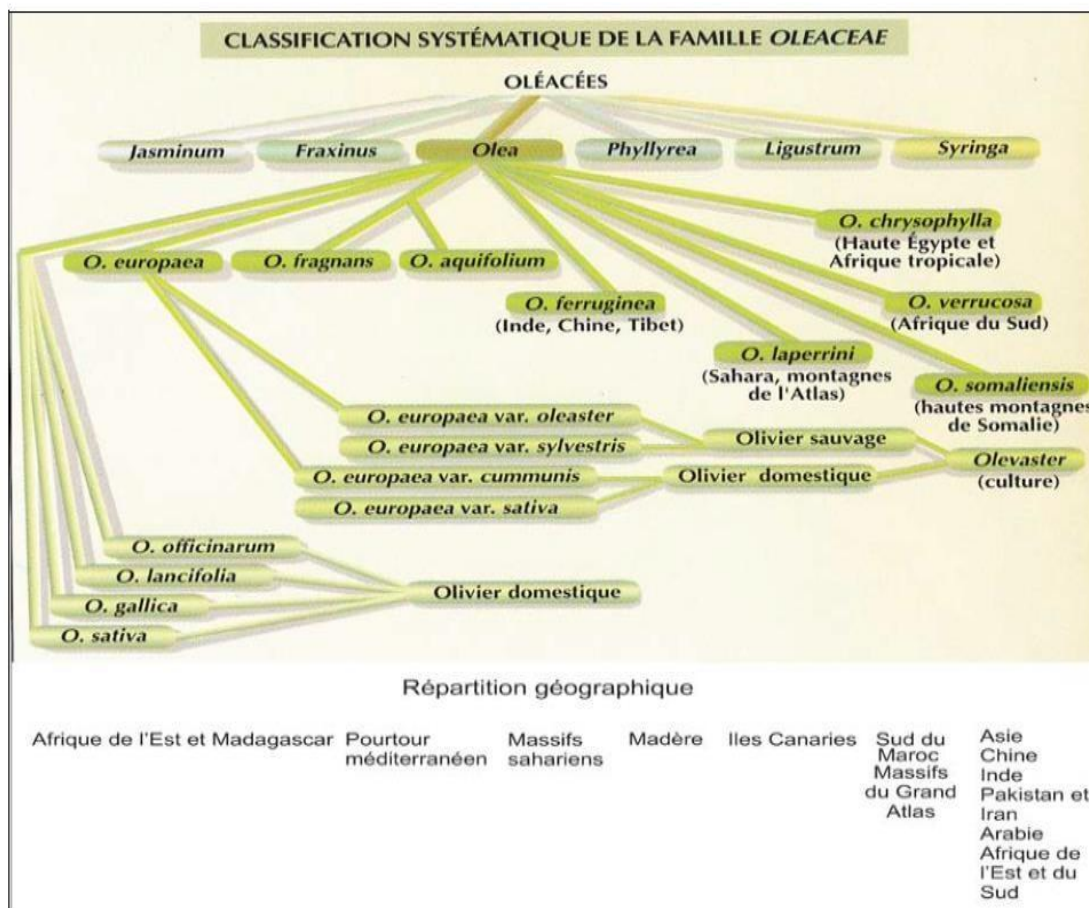
Sous –classe: Astéridées (ou Gamopétales)

Ordre: Gentianales (ou Lingustrales)

Famille: Oleaceae

Genre: *Olea*

Espèce: *Olea europea* L. (**SLAHI K, 2016**)



**Figure 1:** Classification systématique de la famille des Oleaceae et répartition géographique des taxons. (SLAHI K, 2016)

Selon SALHI ( 2016) , le nombre chromosomique de base  $N = 23$  est caractéristique de toutes les espèces du genre *Olea*. Le nombre de  $2n=46$  .

La famille des Oléacées comporte 25 genres, le genre *Olea* serait lui-même composé de 30 espèces différentes parmi lesquelles on trouve, *Olea europaea* L. avec deux sous espèces :

- *Olea oleaster* (oléastre): qui se présente sous une forme spontanée comme un buisson épineux et à fruit ordinairement petit.
- *Olea sativa* (oliviercultivé) : il est constitué par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage ou par greffage . (SLAHI K, 2016)

#### I.1.4. l'olivier dans le monde

L'olivier est aujourd'hui développé dans toutes les localités du globe entre les portées 30° et 45° des deux côtés de l'équateur, depuis les Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), jusqu'en Australie et dans la mesure où la Chine, à travers le Japon et l'Afrique du Sud. Il existe actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés sur toute la planète, mais le bassin méditerranéen est resté sa première terre, avec près de 95% des forêts d'oliviers du monde (HADDOU, 2017).



**Figure 2:** carte oléicole mondiale (HADDOU, 2017)

#### I.1.5. l'olivier en Algérie

L'Algérie est l'une des nations hyper méditerranéennes dont l'environnement est propice au développement de l'olivier où il est l'une des principales espèces de produits bio au niveau public. (Meziani et Chachoua, 2018)

Le développement oléicole algérien est composé d'environ 32 millions, répartis sur une superficie d'environ 328 884 hectares, soit 34,09% de la plantation arboricole publique. (Meziani et Chachoua, 2018)

L'olivier, à travers ses différents éléments de lutte contre la désagrégation, de valorisation des terres horticoles et de fixation des populations dans les régions de montagne, s'étend sur tout l'espace public. (Meziani et Chachoua, 2018)

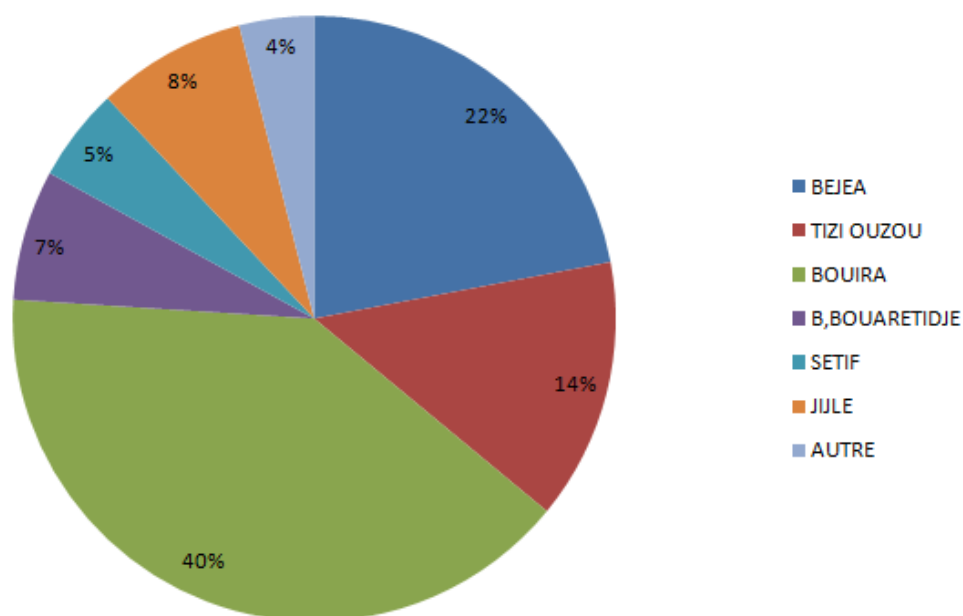
### I.1.5.1. Superficies en cultures et nombre d'arbres en Algérie

Le dénombrement des oliveraies algériennes présente des défis extraordinaires. Près de 50 % des arbres, tout d'abord, sont établis à peu près en confinement, à une épaisseur inférieure à 50 arbres par hectare. Cet état dispersé n'est pas vraiment utile pour un stock exact.

### I.1.5.2. Répartition des olivettes en Algérie

D'après Meziani et Chachoua (2018), il se concentre notamment dans trois principales régions : la région du Centre (54%), la région de l'Est (29%) et la région de l'Ouest (17%). Pour la région centre, l'essentiel du verger oléicole de cette zone (95%) est occupé par les wilayas de Béjaïa, Tizi-Ouzou et Bouira.

Les wilayas de Guelma, Sétif, Jijel et Skikda détiennent 68% du verger oléicole de la région Est ; et les wilayas de Mascara, Sidi Bel abbés, Relizane et Tlemcen représentent 71% du verger oléicole de la région Ouest. (Meziani et Chachoua , 2018)



**Figure 3:** Répartition des zones géographiques de l'oléiculture algérienne.

### **I.1.5.3.L'avenir de la culture de l'olivier en Algérie**

L'extension clé de la culture de l'olivier, pour si souhaitables qu'elle soit, ne peut pas être envisagée sans certaines précautions, s'il paraît chimérique d'entamer une lutte directe avec l'huile de graines, du moins devons nous chercher à limiter l'écart qui sépare les prix de revient. (MISSAT ,2012)

## **2. Feuilles d'olivier**

Les feuilles de l'olivier sont de forme opposée, oblongue et ovale, portées par un court pétiole. Trognon , coriaces, totales, frisées sur les bords, vert foncé brillant sur la face supérieure, et d'un vert argenté clair avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure. face antérieure. Le feuillage est persistant, donc toujours vert, mais cela ne signifie pas que ses feuilles sont immortelles. Elles vivent en général trois ans puis jaunissent et tombent, principalement en été. (Ghedira K, 2008.)

### **2.1. Caractéristiques physiques et chimiques des feuilles d'olivier**

La chimie des feuilles d'olivier varie en effet en relation avec de très nombreux facteurs :

La quantité, les circonstances climatiques, l'âge des plantations ainsi que le moment de la récolte (Nefzaoui, 1991).

Les éléments chimiques sont regroupés comme suit

- Généralement, la matière sèche (MS) des feuilles vertes est d'environ 50 à 58%, celle des feuilles sèches d'environ 90%.
- La teneur en matière azotée totale (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%. La solubilité de La solubilité de l'azote est faible, entre 8 et 14%, selon la proportion de bois.
- La teneur en matières grasses (MG) est supérieure à celle du fourrage et oscille autour de 5 à 7%, mais celle des constituants pariétaux et en particulier de la lignine est constamment élevée (18 à 20%) élevé (18 à 20%)
- La feuille d'olivier est riche en triterpènes, en flavonoïdes, en secoiridoïdes dont l'oleuropeoside et de phénols. (Civantos, 1983).

La composition en minéraux des feuilles d'olivier est présentée dans le Tableau 2. Le minéraux le plus abondant dans les feuilles est le fer avec une concentration de 273 g/ Kg de matière sèche.

**Tableau 1:**Composition chimique global des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100 g) selon plusieurs auteurs. (AOUIDI ,2012)

Composition (en %)	Boudhrioua et al., 2009	Erbay et Icier, 2009	Martin-Garcia et al., 2006	Garcia-Gomez et al., 2003	Fegeros et al., 1995
Eau	46,2-49,7 a	49,8 a	41,4 a	nd	44,0 a
Protéines	5,0-7,6 a	5,4 a	7,0 b	nd	nd
Lipides	1,0-1,3 a	6,5 a	3,2 b	6,2 b	nd
Minéraux	2,8-4,4 a	3,6 a	16,2 b	26,6 b	9,2 b
Carbohydrates	37,1-42,5 a	27,5 a	nd	nd	nd
Fibres brutes	nd	7,0 a	nd	nd	18,0 b
Cellulose	nd	nd	nd	19,3 b	11,4 b
Hémicellulose	nd	nd	nd	25,4 b	13,3 b
Lignin	nd	nd	nd	30,4 b	14,2 b
Polyphénols totaux	1,3-2,3 b	nd	2,5 b	nd	nd
Tannins solubles	nd	nd	nd	nd	0,3 b
Tannins condensés	nd	nd	0,8 b	nd	1,0 b

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

**Tableau 2:**Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche) (AOUIDI ,2012)

Minéraux	Concentration
Calcium (Ca)	12,7
Phosphore (P)	2,1
Manganèse (Mg)	1,9
Potassium (K)	6,3
Fer (Fe)	273,0
Cuivre (Cu)	10,7
Zinc (Zn)	21,3
Magnésium (Mn)	50,0



### **Métabolites primaires :**

Selon nombreux facteurs comme la variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations et plusieurs autres facteurs la composition chimique des feuilles et fruits sont variés (Nefzaoui, 1995).

Les feuilles fraîches de l'olivier sont caractérisées par une matière sèche aux alentours de 50%. Elles sont particulièrement riches en carbohydrates avec une quantité varie de 37 à 42.5 mg/g, matière organique est constituée par des protéines (5.0 à 7.6 mg/g), des lipides entre (1.0 et 1.3 mg/g), des monomères et polymères phénoliques varient de (1.3 à 2.3 mg/g), le composant minéraux le plus abondant dans les feuilles est le fer avec une concentration de 273 g/ Kg de matière sèche (Nefzaoui, 1995).

Concernant les fruits de l'olivier, Selon Maillard (1975) l'olive, est une drupe, à mésocarpe charnu riche en matière grasse reformant un noyau se composent de 24.2 % d'eau, 56.40 % lipides, 6.8 % protides, 9.9 % glucides, et 2.66 % cendres, la coque du noyau se compose de 4.2 % d'eau, 5.25 % lipides, 15.6 % protides, 70.3 % glucides, et 4.16 % cendres. Pour l'amende, il se compose de 6.2 % d'eau, 12.26 % lipides, 13.8 % protides 65.6 % glucides, et 2.16 % cendres.

### **Métabolites secondaires**

Composés biosynthétisés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal (**Guillaume et Charrouf Z, 2005**). Ce sont les molécules nécessaires aux plantes pour se défendre contre les agressions extérieures. Leur rendement est très faible et présentent une grande variété structurale (plus de 200 000 structures définies).

**Selon Hartmann, (2007)**. Les métabolites secondaires comportent trois types de composés :

- ✚ Les composés phénoliques ou aromatiques : tanins, quinones, coumarines, flavonoïdes.
- ✚ Les composés azotés : alcaloïdes.
- ✚ Les composés terpéniques et leurs dérivés.

## 2.2. Utilisations pharmacologiques

### 2.2.1. Activité antimicrobienne

Selon **PEREIRA *et al.*, (2007)** On a examiné l'effet antimicrobien de l'extrait aqueux de feuilles d'olivier contre les organismes suivants : *Bacillus subtilis*, *Cryptococcus neoformans*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Des mesures antimicrobiennes plus puissantes ont été observées contre *S. aureus* et *E. coli* que contre les autres agents pathogènes.

### 2.2.2. Activité antioxydante

Le véritable antioxydant que l'on découvre dans les olives est l'oleuropéine, qui permet de diminuer l'oxydation du cholestérol LDL et de mettre les fibres nerveuses à l'abri des dégâts causés par l'oxygène. Le LDL oxydé est la forme la plus nocive du cholestérol et peut commencer à causer des dommages aux tissus des vaisseaux sanguins, favorisant ainsi la formation d'athérosclérose. (**CHIMI *et al.*, 1995**).

### 2.2.3. Activité anticancéreuse

Les composantes de d'oleuropaea ont montré de forts effets anticancéreux sur plusieurs types de cancers. Des activités antiprolifératives et apoptotiques de l'érythrodiol ont été étudiées dans les cellules ht-29 de carcinome colorectal humain (

D'après **CASABURI *et al.*, (2013)** les éléments de l'oleuropaea ont présenté de forts effets anticancéreux sur différents types de cancers. Les agents antiprolifératifs et apoptotiques de l'érythrodiol ont été analysés sur des cellules de carcinome colorectal humain ht-29.

Il a ralenti la prolifération cellulaire sans causer de toxicité à une dose de 100 mM dans des cellules de type adénocarcinome du côlon. Des recherches similaires ont été menées sur des exemples d'extraits méthanoliques et aqueux de feuilles d'olivier contre des cellules cancéreuses et endothéliales. Ces extraits se sont avérés utiles pour empêcher la division cellulaire du cancer du sein humain (MCF-7), du carcinome réservoir mou urinaire humain (T-24) et des cellules capillaires endothéliales du cerveau bovin.

Selon **FABIANI *et al* (2002)** L'hydroxytyrosol est un puissant agent antitumoral car il assure la protection des cellules contre 550 40. Olivharmful les effets nocifs du peroxyde d'hydrogène, l'ADN des effets nocifs du peroxy nitrite, et peut arrêter la division cellulaire à la phase G1 et provoquer l'apoptose. L'acide maslinique (un triterpénoïde isolé du noyau et des feuilles d'olivier) a présenté de fortes activités antitumorales contre les cellules cancéreuses du côlon HT29. (**BIANCHI *et al.*, 1994**).

#### **2.2.4. Activité antinociceptive**

Des recherches sur les activités antinociceptives des extraits d'olive chez les rats Wistar ont montré que des extraits à des doses de (50 à 200 mg/kg) ont provoqué de puissants effets analgésiques, et la prise de ce médicament (200 mg/kg) dans le péritoine a permis une réduction significative des douleurs lors du test au formol. (**ESMAEILI-MAHANI *et al.*, 2010**).

#### **2.2.5. Activités antidiabétiques**

Dans une ancienne étude, il a été découvert que l'effet antidiabétique des feuilles d'olivier est en relation de façon directe avec la présence d'acide oléanolique et d'oleuropéine (**SATO *et al.*, 2007**). Dans une étude précédente, il a été constaté que le rôle antidiabétique de la feuille d'olivier est principalement lié à la teneur en acide oléanolique et en oleuropéine. (**JEMAI *et al.*, 2009**).

#### **2.2.6. Troubles cardiovasculaires**

Selon **VISIOLI ET GALLI, (1994)** les substances telles que l'oleuropéine présente dans les olives réduisent le risque de maladies cardiovasculaires en évitant l'oxydation des LDL, ce qui réduit la production de plaques d'athérome.

#### **2.2.7. Activité hypolipidémique**

Les effets hypolipidémiques et les activités hypoglycémiques des feuilles d'olivier ont été expérimentés sur des espèces animales de référence. L'oleuropéine a été décrite comme un élément fonctionnel, dont le mode opératoire est la stimulation de la libération d'insuline induite par le glucose et la stimulation de la captation de glucose dans le sang marginal (**MUSHTAQ *et al.*, 2020**).

### 2.2.8. Activités neuroprotectrices

Divers scientifiques ont étudié l'effet de l'acide maslinique (un terpénoïde présent dans la feuille d'olivier) sur les rats diabétiques. Les rats ont été injectés avec de la streptozotocine pour l'induction de la mort neuronale. Une importante activité neuroprotectrice a été présentée par l'acide maslinique de manière dose-dépendante. **(MUSHTAQ *et al.*, 2020).**

Une précédente recherche montre que l'oleuropéine et l'extrait de feuilles d'olivier sont utiles pour le traitement de la maladie de Parkinson (Pasban-Aliabadi *et al.*, 2013). L'aglycone d'oleuropéine diminue la formation dans le cerveau d'agrégats amyloïdes toxiques et, par conséquent, réduit le risque de maladie d'Alzheimer. **(DIOMEDE *et al.*, 2013).**

## **Chapitre II**

### **Composés phénolique des feuilles d'Oliver**

## 1-Les composés phénoliques :

Grâce à quelque 9000 structures connues à ce jour, les polyphénols sont une importante source d'énergie. Les polyphénols sont une importante classe de métabolites secondaires de petit poids moléculaire dans le règne végétal (AKOWAUH *et al*, 2004). Ce sont des composés qui ont un ou plusieurs groupes hydroxyle directement attachés à un cycle aromatique. Le phénol est la structure sur laquelle repose l'ensemble du groupe, le noyau atomique est représenté par le benzène (VERMERRIS et NICHOLSON, 2006). Les polyphénols sont habituellement présents sous forme d'esters ou de glycosides plutôt que sous forme libre (VERMERRIS et NICHOLSON, 2006).

## 2-Classification des composés phénoliques

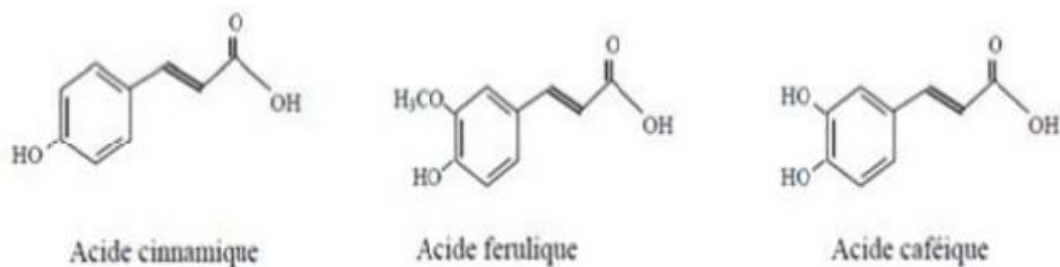
Les composés phénoliques sont formés d'un cycle aromatique avec une ou plusieurs familles hydroxyle et des fonctions (ester, ester méthylique, glycoside, etc.). Les composés phénoliques sont regroupés en de nombreuses catégories qui se différencient par la simplicité du réseau de base, le niveau de modification de ce réseau (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation) et les nombreuses possibilités de relations de ces composés avec d'autres molécules, à savoir les glucides, les lipides, les protéines et d'autres métabolites secondaires phénoliques ou non phénoliques (NACZK et SHAHID, 2006).

## 3-Les acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent la base la plus élémentaire des composés phénoliques et sont répartis en deux principaux groupes : les acides hydroxybenzoïques (C6-C1), dérivés de l'acide benzoïque, et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3), dérivés de l'acide cinnamique. (John et al, 2014)

Les acides phénoliques qui découlent de l'acide benzoïque (figure 4) sont très fréquents, tant sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou d'hétéro latéraux (JOHN *et al*, 2014).

Les acides phénoliques issus de l'acide cinnamique sont fréquemment estérifiés. Les plus fréquents (figure 5) sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide ferrulique, l'acide p-coumarique et l'acide sinaptique. (John et al, 2014)



**Figure 4:** Exemple de quelques acides phénoliques de la série cinnamique (**JOHN *et al.*, 2014**)

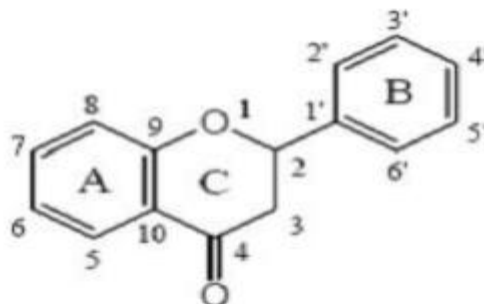
#### 4-Les tannins

Les tanins sont des produits phénoliques hydrosolubles dont le poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 daltons et qui ont, en plus des caractéristiques classiques des phénols, la possibilité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. Les tannins peuvent être répartis en deux groupes principaux en vertu de leur structure (**HAGERMANE, 2002**).

#### 5-Les flavonoïdes :

Selon **GHEDIRA, (2005)** les flavonoïdes sont un ensemble de plus de 6000 molécules naturelles du règne végétal, dont le squelette de base à 15 atomes de carbone est constitué de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois éléments (structure C6-C3-C6). La chaîne C3 entre les anneaux A et B est généralement recyclée pour former l'anneau C (figure 5) (**BRUNETON, 1999**).

En accord avec leur composition moléculaire, ils peuvent être divisés en classes différentes. Les groupes majeurs sont les flavanols, les flavones, les flavanones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanidines (**MACHEIX *et al.*, 2006** , **MOHAMMEDI, 2012**).



**Figure 5:** Structure de base des flavonoïdes (SARAF et al., 2007).

## 6-Biosynthèse des composés phénoliques :

Selon MACHAEIX *et al.*, (2006). du côté de la biosynthèse, les substances phénoliques proviennent de deux voies métaboliques. deux voies métaboliques : la voie du shikimate, la plus commune, qui permet la fabrication d'acides phénoliques, de flavonoïdes et de lignines, et la route du polyacétate. à la constitution d'acides phénoliques, de flavonoïdes et de lignines et la filière des polyacétates polyacétates qui est à l'origine de la production de certains composés polycycliques tels que les coumarines, les xanthones et les xanthones et les quinones .

## 7-La voie de Shikimate :

D'après YAO, (2013) il est souvent la filière de biosynthèse des produits organiques et joue un grand rôle dans le réglage du métabolisme de la voie des phénylpropanoïdes (Yao). rôle essentiel dans le contrôle du métabolisme de la voie des phénylpropanoïdes

## 8-La voie de l'acide malonique

La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la production d'acétyl CoA donnant le malonate. C'est par cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes de polycétones. chaînes de polycétones, obtenues par condensation répétée des motifs "Acétate" qui se fait par la carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase ( FLEEGER et FLIPSE , 1964).



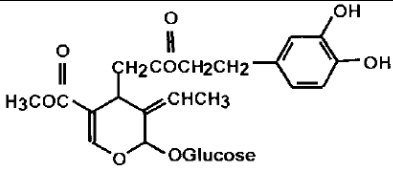
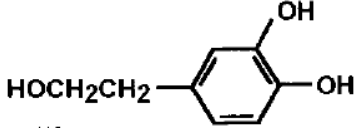
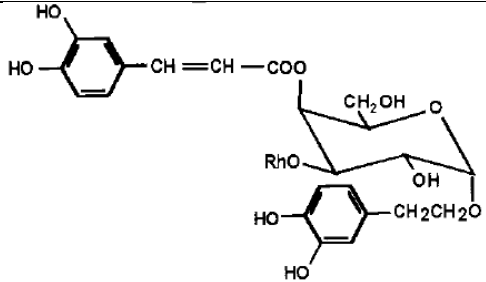
## 9-Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques

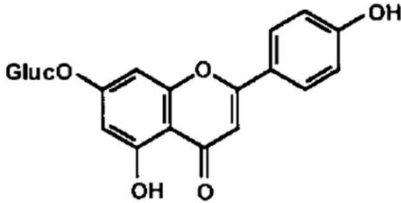
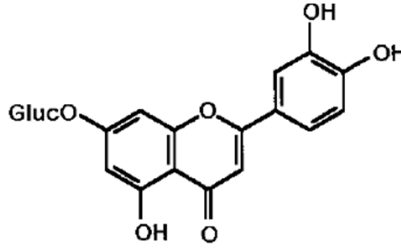
Des recherches indiquent que les feuilles d'olivier sont une source importante de composés phénoliques bioactifs (LEE *et al.*, 2009 ; BRAHMI *et al.*, 2012). Cette teneur modifie avec l'âge, la provenance, les conditions météorologiques et la culture,.....etc (BRAHMI *et al.*, 2012). Les feuilles d'olivier sont très riches en : Flavonoïdes ( quercétine...), de sécoiridoïdes (oleuropéine, ligstroside...), d'acides phénoliques tels que tels que l'acide caféique, l'acide coumarique et l'acide chlorogénique (RYAN *et al.*, 2002 ) et des terpnoïdes (acide oléanolique et alohols phénoliques tels que : tyrosol et hydroxytyrosoles) ( KHAN *et al.*, 2007).

L'oleuropéine est le plus important composé phénolique des feuilles d'olivier (RYAN *et al.*, 2002), elle est aussi responsable du goût amer des olives (ESTI *et al.*, 1998).

Elle est présente à raison de 5 à 7 mg/g de feuilles fraîches (PERRIN, 1992). Les polymères sont constitués de tanins hydrolysables et de tanins condensés et principalement de lignine (FEGROSSE *et al* 1995).

**Tableau 3:** Structures chimiques des composés phénoliques les plus abondants des feuilles d'olivier (BENAVENTE-GARCIA *et al.*, 2000).

Phenolic compound	Chemical formula
Oleuropein	
Hydroxytyrosol	
Verbascoside	

Apigenin-7-glucoside	
Luteolin-7-glucoside	

### 10- Profil bioactif des feuilles d'olivier

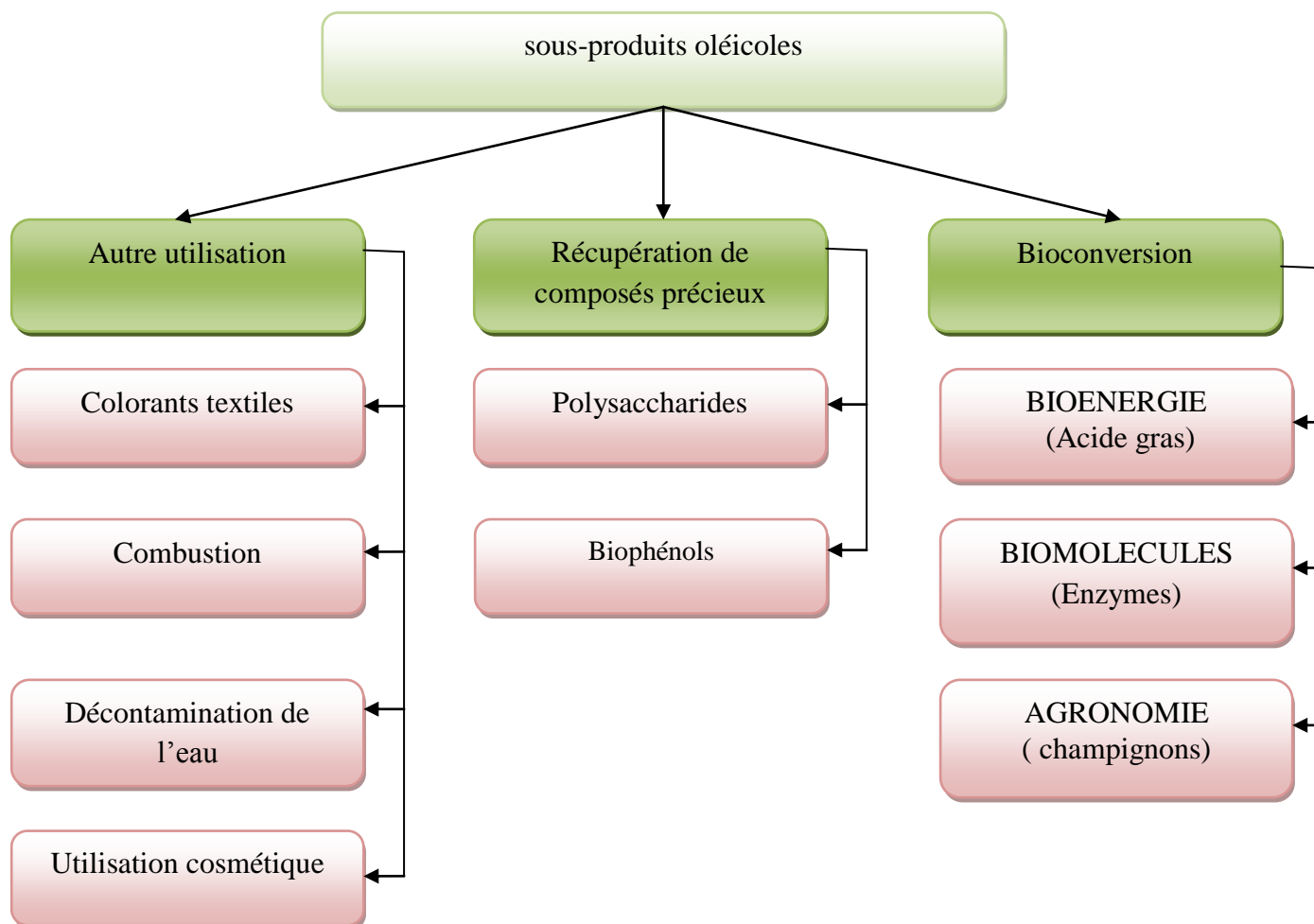
Les feuilles d'olivier contiennent plusieurs composés phénoliques tels que les sécoiridoïdes (oleuropéine, ligstroside, diméthyloleuropéine et oléoside), les flavonoïdes (apigénine, kaempférol, lutéoline) et les composés phénoliques (caféine acide, tyrosol, hydroxytyrosol). Une analyse qualitative et quantitative de la composition a été effectuée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la photodiode. La détection par réseau a révélé six composés polyphénoliques majeurs présents dans l'extrait de la feuille d'olivier : oleuropéine (24,5 %), verbascoside (1,1%), lutéoline-7-O-glucoside (1,4%), apigenin-7-O-glucoside, hydroxytyrosol (1,5 %) et tyrosol (0,7 %) (**HAYES *et al.*, 2011**).

L'huile essentielle de feuilles d'olivier est un produit très complexe, c'est un mélange contenant des aldéhydes, des cétones, des esters, des alcools, des alcènes et des alcanes. Les composants majeurs de l'huile essentielle de feuille d'olivier sont du 2-décénal-(E) (20,43 %), benzène-acétaldéhyde (4,00 %), 2-undécénal (3,71 %) et valencen (3,31 %) (**KONOZ *et al.*, 2013**).

### 11-Valorisation de sous-produits oléicoles :

Le commerce de l'olive, nonobstant sa création principale qui est l'huile, produit deux accumulations, l'une fluide (les marges) et l'autre forte (le grignon) qui adressent un niveau énorme du poids total des olives manipulées (**NEFZAOU, 1991 ; SAYADI *et al* , 2000**). De nos jours, la contamination prend une part importante dans l'effacement de la nature, les margines sont considérées comme un poison dans

l'industrie oléicole, le plus souvent rejetées dans l'habitat commun, notamment dans les cours d'eau, ce qui nécessite un traitement de dépollution et de récupération. La **figure 12** résume les principales approches pour augmenter la valeur des effets secondaires de l'olive (**DERMECHE *et al*, 2013**).



**Figure 6:** Valorisation de sous-produits oléicoles (**DERMECHE *et al*, 2013**).

Dans l'ensemble, les feuilles d'olivier étaient complètement disposées vers la nourriture créature. Néanmoins, ils sont également utilisés dans les médicaments traditionnels cultivés à la maison pour le traitement de maladies spécifiques comme la fièvre de la jungle et l'hypertension. Dans cette application, les feuilles d'olivier sont consommées sous forme de thé naturel. En tant que composant de la médication maison actuelle, des compléments alimentaires à base de feuilles d'olivier sont apparus disponibles. Ces articles sont accessibles sous forme de feuilles complètement séchées ou sous forme de poudres, de concentrés, de contenants ou

d'ampoules buvables (Figure 7). Les fabricants vendent leurs idéaux pour le bien-être humain.

Actuellement, et avec le développement de l'innovation et l'amélioration de l'information, les domaines d'application des feuilles d'olivier se sont étendus et différenciés. Les feuilles d'olivier sont utilisées pour l'extraction des accumulations d'intérêt, par exemple, le mannitol, les stérols, les alcools gras, les constructions phénoliques, principalement l'oleuropéine, les flavonoïdes et les accumulations. triterpènes.

En outre, les propriétés radio-défensives et hostiles à la maturation qui dépeignent les feuilles d'olivier les ont destinées à s'impliquer dans le secteur du maquillage. Dans ce domaine, les feuilles d'olivier sont utilisées comme fixateur dans le détail de nombreux produits réparateurs et diététiques, comme les nettoyants et les crèmes (Bahloul et al, 2009).



**Figure 7:** Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'olivier pour la consommation humaine (BAHLOUL *et al*, 2009).

Les feuilles d'olivier ont également trouvé des applications dans le secteur alimentaire. Cette ne sont pas des articles de taille mais plutôt des feuilles récoltées à la suite du lavage et du nettoyage des olives à l'entrée de l'huilerie. Leur quantité est évaluée à 5 à 6 kg de matière sèche par arbre et chaque année (NEFZAOU, 1991). Les feuilles peuvent être considérées comme des renforts cellulaires normaux pour les

entreprises agro-alimentaires et pharmaceutiques et les antibactériens en raison de leur teneur élevée en polyphénols (DJENANE, 2012).

Ils sont pour la plupart utilisés pour travailler sur la qualité et la sauvegarde des sources alimentaires comme les viandes, les olives de table et les huiles (tableau 5). D'autres approches de valorisation des feuilles d'olivier, comme récemment illustrées, concernent le domaine de la dépollution, de la sidérurgie et du mélange biochimique (BAHLOUL *et al.*, 2009).

## 12- Déshydratation des feuilles d'olivier .

L'utilisation des feuilles d'olivier comme point chaud abondant, inépuisable et peu coûteux pour la création d'articles à haute valeur ajoutée (CRUZ, 2017; TARCHOUNE *et al.*, 2019).

Étant donné que de nombreux mélanges bioactifs sont instables, sensibles à la chaleur et rapidement dégradables, l'examen de ce que les conditions de manipulation pourraient signifier pour les profils de substances et les rendements d'extraction des concentrés devrait aider les propulseurs spécialisés dans cet espace. De nombreuses études ont été diffusées ces derniers temps sur le séchage des nouvelles feuilles ( BUSTOS *et al.*, 2018 ; ERBAY et Icier., 2010 ; LIMA-CORREA *et al.*, 2017 ; PIN *et al.*, 2009).

Le choix des stratégies de séchage dépend de divers éléments qui intègrent les propriétés réelles des feuilles, la forte résistance aux attributs, l'aversion des matériaux à la température, la qualité attribuée au résultat final, les coûts énergétiques et de transport. Le séchage à air chaud est généralement utilisé dans quelques machines comme les lits fixes, les sécheurs à air, les sécheurs vibro-fluidisés et les sécheurs à ligne de transport (BABU, 2018 ; HATAMI *et al.*, 2014 ; LIMA-CORREA *et al.*, 2017).

Parmi ces choix, le séchoir à ligne de transport présente des éléments attractifs pour la manutention des feuilles, par exemple, la capacité de travailler en mode cohérent, la robotisation simple et la polyvalence ( TUSSOLINI *et al.*, 2014 ).

Son plan simple est suffisant pour traiter des feuilles de différentes tailles, formes, résistances et fermetés et l'humidité de libération peut être limitée en ajustant

la vitesse de transport et la quantité de matériau passe par le séchoir (**BABU *et al.*, 2018**).

En raison de l'arrangement hétérogène et complexe des matières organiques, la démonstration numérique du séchage des feuilles pourrait être particulièrement difficile.

Néanmoins, les modèles numériques sont précieux pour anticiper les dispersions de température et d'humidité et pour soutenir le plan et l'évaluation de l'exécution, du contrôle et de l'amélioration des interactions. Les modèles de séchage par convection peuvent être organisés fondamentalement en modèles semi-hypothétiques ou hypothétiques. La première classification dépend de l'idée de couches minces tandis que la seconde dépend de la science physique clé du séchage (**CASTRO *et al.*, 2018**).

Des modèles hypothétiques d'éléments de séchage en fonction des ajustements de masse et des économies d'énergie ont été proposés dans la rédaction pour anticiper l'humidité et la variation de température lors du séchage des lignes de transport (**SCHMALKO *et al.*, 2007**).

Ces modèles ont été validés pour le séchage des feuilles d'*Ilex paraguariensis* avec des coefficients de création de chaleur et d'échange de masse obtenus exactement à partir d'informations exploratoires (**SCHMALKO *et al.*, 2007 ; TUSSOLINI *et al.*, 2014**).

## **12-Méthodes d'extraction et d'analyse des composés phénoliques**

L'extraction est une étape indispensable au confinement des polyphénols. En raison de la complexité colossale et de la variabilité des intensifications phénoliques en ce qui concerne les extrémités, la construction synthétique, les sommes relatives dans l'exemple et la complexité des réseaux réguliers, il n'y a pas de convention d'extraction normalisée. Pour la plupart, l'extraction des polyphénols des plantes a été effectuée en utilisant des stratégies d'extraction habituelles telles que l'extraction par fluide fort (SLE) et l'extraction par fluide (LLE). Ces stratégies sont liées à l'utilisation d'un volume élevé de solvants, à de longs temps d'extraction ou à une faible sélectivité et reproductibilité (**HERRERO *et al.*, 2013**).

Les stratégies d'extraction ordinaires sont supplantées par des procédés d'extraction de pointe, ils sont jusqu'à présent les plus couramment utilisés pour récupérer les polyphénols des réseaux réguliers. Les procédures d'extraction extrêmement avancées proposées pour accomplir l'extraction des polyphénols étaient l'extraction assistée par ultrasons (UAE), l'extraction assistée par micro-ondes (MAE), l'extraction par fluide comprimé (PLE), l'extraction par liquide supercritique (SFE)

## **12-1- Techniques d'extraction conventionnelles**

### **12-1-1- L'extraction solide-liquide (SLE)**

Parmi les procédures d'extraction habituelles, l'extraction par fluide fort est la plus utilisée pour séparer les polyphénols des réseaux forts. L'exemple est mis en contact avec un soluble ou une combinaison de solvants où les analytes objectifs sont brisés. Les circonstances idéales pour extraire les polyphénols reposent sur leur solubilité dans le soluble. Il existe de nombreuses enquêtes liées à l'ESS sur les composés phénoliques de divers réseaux, par exemple les bandes de mangue, de sorgho et de melon (MALLEK-AYADI, 2017 ; KANG *et al.*, 2016 ; SHAHEEN *et al.*, 2017).

### **12-1-2- L'extraction liquide-liquide (LLE)**

Au point où l'exemple est fluide, la stratégie privilégiée est l'extraction fluide.

Cette stratégie consiste à séparer la solubilité des analytes entre deux fluides non miscibles (MARIA et ELEFThERIA,2015). En règle générale, les exemples de fluides sont solubilisés dans l'eau ( IVANOVA-PETROPULOS *et al.*, 2015 ; RODRIGUEZ-PEREZ *et al.*, 2015).

Les extractions par fluide fort (SLE) ou fluide (LLE) sont réalisées par mélange, chauffage et reflux à différentes températures et durées d'extraction. Différentes investigations ont montré que les temps d'extraction, les températures et les solvants les plus connus dans les SLE étaient de 15 min à 72 h à température ambiante à 70 °C en utilisant de l'eau, de l'éthanol/eau et du méthanol/eau comme solvants à différentes vitesses (GONTIJO *et al.* , 2017 ; MALLEK-AYADI *et al.*, 2017 ; PARIKH *et al.*, 2017 ; PLAZA *et al.*, 2018).

Pour l'extraction fluide, des corrosifs eau/acide sans fin ont été utilisés pour éliminer les composés phénoliques des vins, du miel et du sirop de canneberge (**IVANOVA-PETROPULOS *et al.*, 2015 ; RODRIGUEZ-PEREZ *et al.*, 2015**).

## **12-2- Techniques d'extraction avancées**

### **12-2-1- Extraction assistée par ultrasons**

Cette stratégie comprend le développement de cavitations acoustiques par ultrasons, favorisant l'entrée du soluble dans le réseau, ainsi que l'arrivée de polyphénols en raison des modifications apportées dans la masse cellulaire de la charpente par la cavitation des bulles (**CORBIN *et al.*, 2015**).

Les principales limites sont la récurrence et la puissance du rayonnement, le temps d'extraction, la température et la disposition des solvants. Les ultrasons à énergie focalisée augmentent la tension et la température en raison de la cavitation des poches d'air, créant une perturbation de la paroi cellulaire du réseau avec arrivée consécutive de polyphénols.

Généralement, la puissance et la récurrence utilisées pour l'extraction des polyphénols étaient de 50 à 400 W et de 20 à 60 kHz, individuellement (**HERRERO *et al.*, 2013**).

### **12-2-2- Extraction assistée par micro-ondes (MAE)**

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) a été appliquée à divers cadres pour éliminer les polyphénols (**ROUTRAY *et al.*, 2014**). Cette méthode d'extraction prend en compte une dispersion élevée des liquides car elle applique l'énergie des micro-ondes en mélange avec une température élevée et une pression contrôlée. Elle dépend des coopérations des atomes polaires dans les milieux par révolution dipolaire et conduction ionique provoquée par les micro-ondes, qui font monter l'intensité soluble.

En ce sens, la chaleur fonctionne avec la diffusion des composés phénoliques du réseau vers le soluble (**ROUTRAY *et al.*, 2014**). Pour avoir la possibilité d'assimiler les micro-ondes, le soluble ou le réseau doit contenir des particules dipolaires.



L'impact des micro-ondes repose incroyablement sur l'idée du soluble et du réseau (**FLOREZ *et al.*, 2015**).

Les principaux avantages de l'utilisation de MAE comprennent des saisons d'extraction plus limitées d'environ 1 à 3 minutes et des volumes solubles inférieurs à ceux des procédures d'extraction traditionnelles (**DAHMOUNE, 2015 ; HERRERO *et al.*, 2013**). Globalement, l'éthanol, le méthanol, l'eau, le CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO et leurs mélanges sont les solvants les plus impliqués dans l'extraction des polyphénols par MAE (**DAHMOUNE, 2015 ; MOREIRA *et al.*, 2017 ; M'HIRI *et al.*, 2015**).

### **12-2-3- Extraction liquide sous pression (PLE)**

Cela dépend de l'utilisation de températures suffisamment élevées (pour la plupart supérieures à la limite du soluble) et de tensions pour suivre l'extraction du soluble à l'état fluide (**WIJNGAARD *et al.*, 2012**). Il est également appelé extraction de fluide comprimé, extraction soluble comprimée ou extraction soluble accélérée. En appliquant une température élevée, l'interaction d'extraction s'avère plus productive grâce à des taux de dispersion plus rapides, travaillant par conséquent avec une extraction plus rapide, qui, avec une contrainte élevée, développe davantage la diffusion dans l'exemple de réseau et développe davantage la compétence d'extraction par rapport à l'utilisation de solvants similaires à l'environnement. températures (**PLAZA *et al.*, 2013**).

Les limites les plus fréquemment améliorées en PLE sont la température, l'extraction soluble, la contrainte, le temps et le débit. Le choix soluble et la température peuvent être considérés comme les plus importants. Les solvants comme l'éthanol, l'eau et leurs mélanges, ont été utilisés pour éliminer les composés phénoliques des plantes (**MACHADO *et al.*, 2017 ; ONISZCZUK *et al.*, 2019**). L'expansion des corrosifs formiques ou acides (1 % à 5 %) permet de travailler avec la solubilité des analytes dans le soluble et de décanter les polyphénols (principalement les anthocyanidines). En règle générale, des températures d'extraction de 80 à 150 ° C et des saisons d'extraction de 1 à 160 min ont été appliquées pour extraire les composés phénoliques des plantes par PLE (**ONG *et al.*, 2006**). L'utilisation de températures plus élevées (> 150 ° C) doit être minutieusement considérée comme étant due à la corruption des composés phénoliques en raison de la

façon dont ils seraient des mélanges thermolabiles, ainsi qu'à la présence de réponses de substances indésirables dans l'exemple de grille.

#### **12-2-4- Extraction de fluide supercritique (SFE)**

Il peut fonctionner avec n'importe quel soluble qui est comprimé et réchauffé sur son point de base. Il existe différents solvants qui peuvent être utilisés dans des circonstances supercritiques, mais le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) est le plus largement utilisé, même pour accomplir l'extraction des polyphénols puisque le CO<sub>2</sub> offre quelques avantages. Ce soluble a une tension de base et un point de température bas (31 ° C et 7,3 MPa), il est non nocif, non combustible, non dangereux, et il est considéré comme un soluble de qualité alimentaire, soluble écologiquement supportable, simple à obtenir, modeste, et permet d'obtenir un concentré libre soluble (**HERRERO *et al.*, 2015**).

Compte tenu de l'idée synthétique des polyphénols, le CO<sub>2</sub> ne peut pas les extraire en raison de son extrémité basse. De cette façon, des quantités limitées (5 % à 30 %) de cosolvants polaires (méthanol, éthanol et combinaisons d'éthanol et d'eau) sont utilisées avec le CO<sub>2</sub> lors de l'extraction (**SANTANA et MACEDO, 2019 ; M'HIRI *et al.*, 2015 ; DA PORTO et NATOLINO, 2017**). Le type et la quantité de cosolvant constituent peut-être la principale limite engagée dans l'extraction des composés phénoliques. L'éthanol a donné le meilleur rendement d'extraction.

### **13-Méthodes d'identification et de quantification des composés phénoliques**

#### **13-1 Méthode colorimétrique**

La stratégie colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, cette technique est exceptionnellement délicate mais pas indubitable compte tenu du fait que de nombreux autres mélanges décroissants peuvent s'en mêler, en particulier le corrosif ascorbique.

Tous les composés phénoliques végétaux s'assimilent dans les UV (brillants) et certains d'entre eux se retiennent en plus dans le perceptible. La plage de rétention résulte de la présence simultanée du ou des cycles benzéniques, des capacités hydroxyles phénoliques et des différentes liaisons doubles présentes dans la particule.

Au moment où un composé phénolique est en grande partie présent dans une matière végétale donnée, il est alors concevable d'avoir une jauge rapide de la substance de la matière à partir de la plage de rétention (UV ou perceptible) (**MACHEIX *et al.* , 2005**).

### 13-2- Méthodes chromatographiques

Des partitions chromatographiques à couche mince ou à section sont utilisées (**MACHEIX *et al.* , 2005**) largement appliquée pour le détachement et l'évaluation des composés phénoliques, comme le confirment les incroyables divisions obtenues précédemment depuis plus de 20 ans (**NACZK et SHAHID, 2006; MACHEIX *et al.* , 2005; ROGINSKY et LISSI, 2005**).

### 13-3- Résonance magnétique nucléaire (RMN)

La réverbération attractive atomique (RMN) permet d'admettre subjectivement les dessins des particules et leur climat physico-chimique sans dégrader l'exemple examiné. Cela dépend de la chance de faire résonner différents noyaux dans un champ attractif, et donc de leurs propriétés attractives et motrices (**ALONSO-SALCES *et al.*, 2010**).

### 13-4- Méthodes couplées

D'autres méthodes d'exécution supérieures sont également utilisées, on peut se référer à la chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectroscopie de masse (GC/MS) donnant également de très bons résultats, le couplage de ces procédures à divers viseurs (localisation UV à une longueur d'onde fixe, identification de grappe de diodes , la reconnaissance fluorimétrique, etc. finissent par être définitives, en travaillant davantage sur leur réactivité et leur finalité ( **SAITTA *et al.*, 2002**).

L'utilisation de la chromatographie en phase liquide combinée à la spectrométrie de la masse (LC/MS) est suggérée pour l'identification de composés phénoliques spécifiques. Sans aucun doute, cette stratégie permet l'investigation totale de la conception, mais dans l'ensemble, elle est utilisée pour décider de la masse subatomique et pour organiser la circulation des substituants sur les noyaux phénoliques (**PROESTOS *et al.*, 2006**). Pour certains créateurs, ce sont les stratégies les plus appropriées pour l'étude des flavonoïdes (**PROESTOS *et al.*, 2006**).

**PARTIE :**  
**EXPERIMENTALE**

# **Chapitre III**

## **Matériel et Méthode**

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire physico-chimie de département de biologie, Université Ziane Achour-Djelfa. Il est consacré à l'étude de l'extraction de la feuille d'olive.

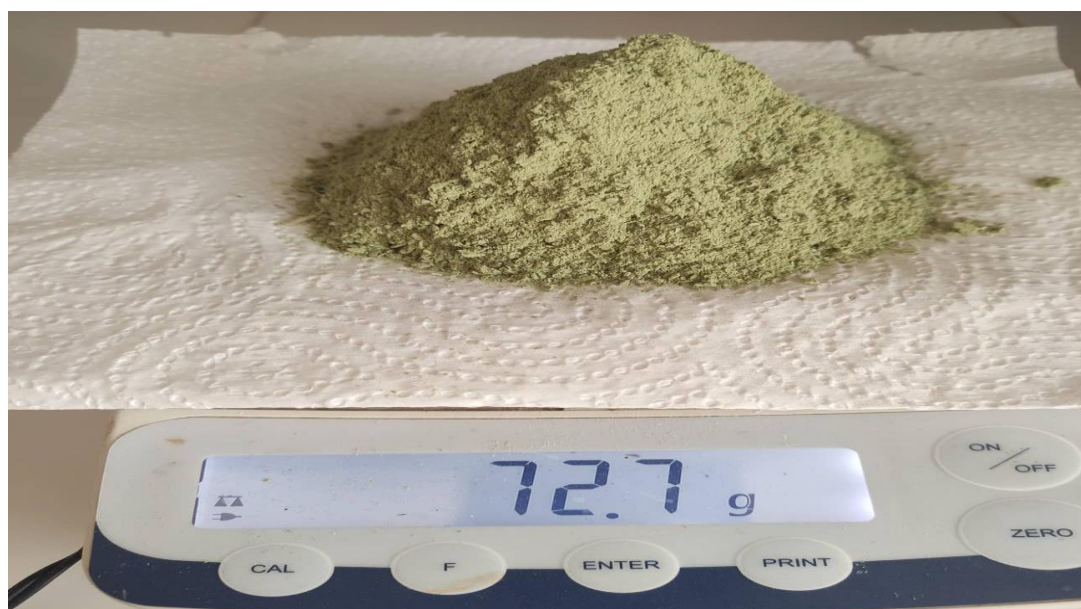
### 1- Matériel végétal :

#### 1-1- Récolte de la plante :

Ont été récoltées dans la région de Djelfa et ont été nettoyées et séchées à température ambiante après. Elles ont été ensuite pesées.

#### 1-2- Broyage et tamisage:

Broyées grossièrement les feuilles d'olivier à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, puis on l'homogénéise par tamisage et récupère dans des sacs propres.



**Figure 8:** la poudre de la feuille d'olive

## 2- Appareillages utilisés :

Nous avons utilisé l' appareillage suivant :

**Tableau 4 :**Appareillage utilisé dans l'étude

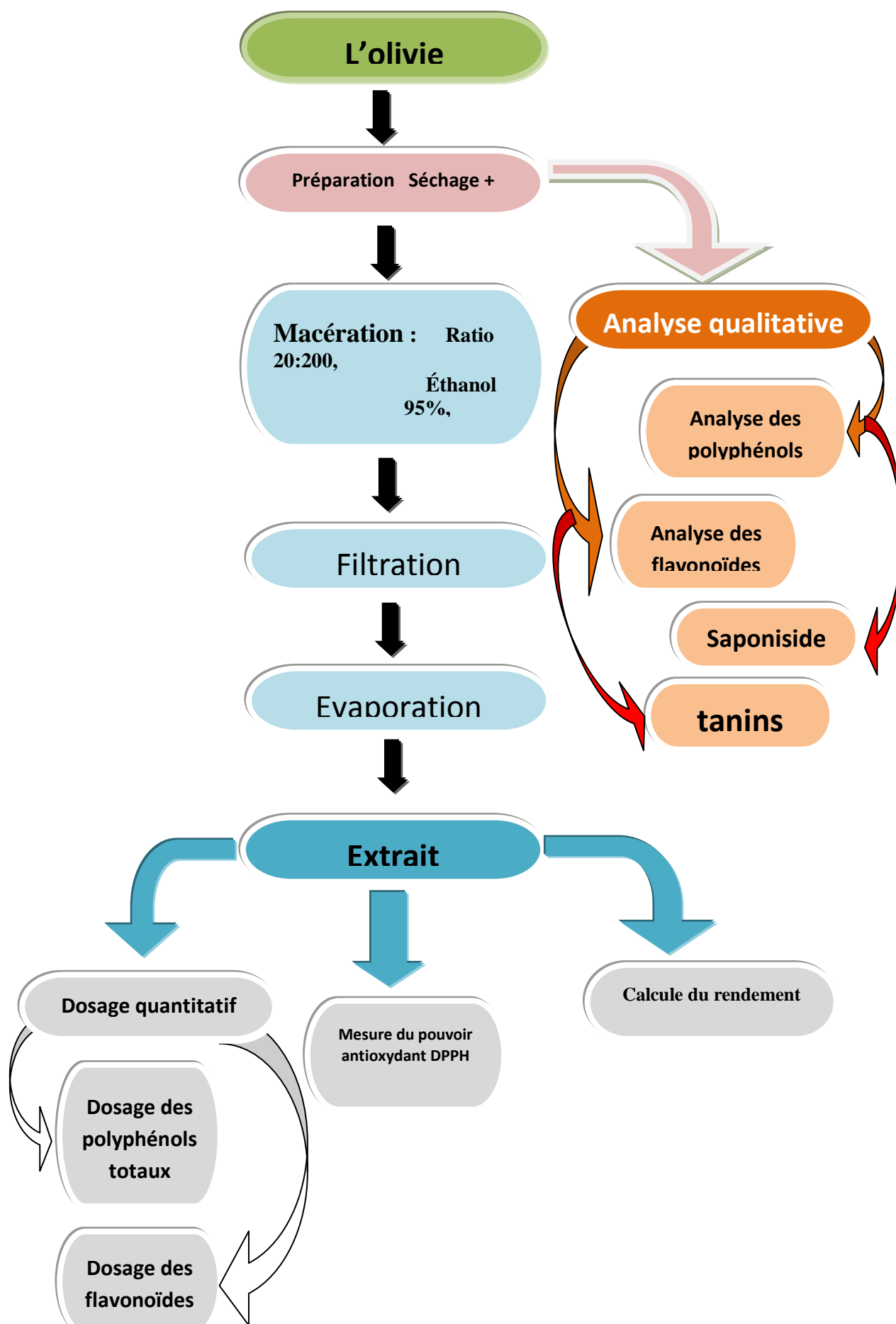
Appareillage utilisé
Moulin
Rota-vapeur
Etuve
Bain marie
Balance électronique
Lyophilisateur
Spectrophotomètre UV-Visible
Réfrigérateur
verrerie
agitateur

Et d'une autre coté L'ensemble des produits et réactifs utilisés lors des expériences est récapitulé dans le tableau ci-dessus :

**Tableau 5:** Produits et réactifs utilisés

Produit ou réactif	Formule chimique
Eau distillée	H <sub>2</sub> O
Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
Acétone	C <sub>3</sub> HO
Chlorure d'hydrogène	HCl
Magnésium	Mg
Chlorure de fer	FeCl <sub>3</sub>
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>
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>
Réactif de Folin-Ciocalteu	/

**Figure 9:**Le protocole d'extraction et analyse qualitative et dosage quantitatif





### 3-extraction (solide liquide) macération :

#### 3-1- Macération :

La macération est une opération consiste de laisser Conserver la matière végétale dans un solvant pendant un certain temps, pour extraction des principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes) (HAMIA et al, 2014).

Le mélange est trempé et agité magnétiquement pendant 24 heures à Sombre et température ambiante. Après 24 heures, on fait la filtration avec papier filtre et refaire l opération 3 fois.

#### Le protocole utilisé pour la macération des feuilles d'olivier :

L extraction des substances bioactives de l'Olea est réalisée selon protocole suivants :

- ✓ Le matériel végétal (30 g) est mis a macérer à température ambiante dans un mélange éthanol/eau (70\_30 v/v)
- ✓ placez-le sur l agitateur et laissez-le pendant 24h heures



**Figure 10:** Le mélange laissé sur agitateur pendant 24 heures

- ✓ Le macérât est ensuite filtré Sur papier filtre



**Figure 11:** Filtration après 24 heures

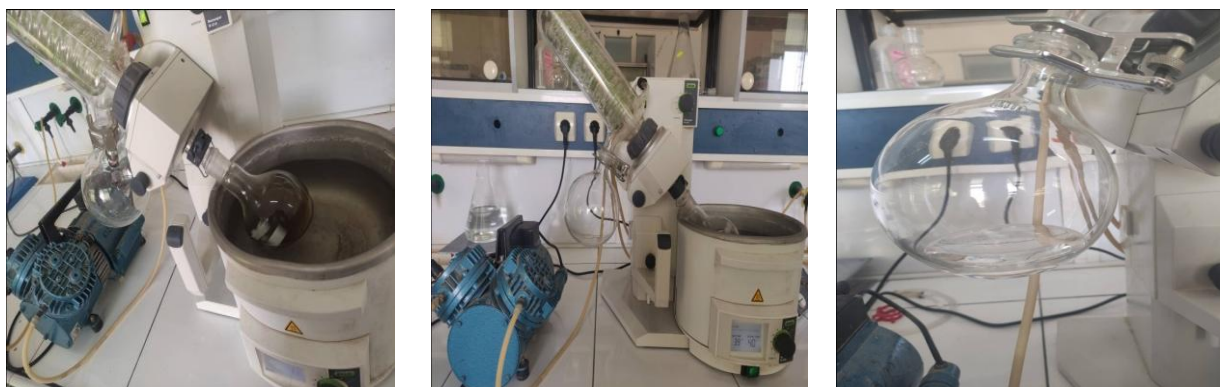
- ✓ ce procédé est répéter 3 fois pour épuiser le substrat de tous ses composés phénolique.

### 3-2-Evaporation :

Le filtrat récupéré est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif Bushi (**figure 12**) équipé met d'éliminé le solvant sous vide.

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  
( $T^{\circ} = 45^{\circ}\text{C}$ )
- 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 d'échantillon et diviser dans des 07 ballons
- Laisser au congélateur pendant 48 heures



**Figure 12:** évaporateur rotatif Bushi

### 3-3-Lyophilisateur :

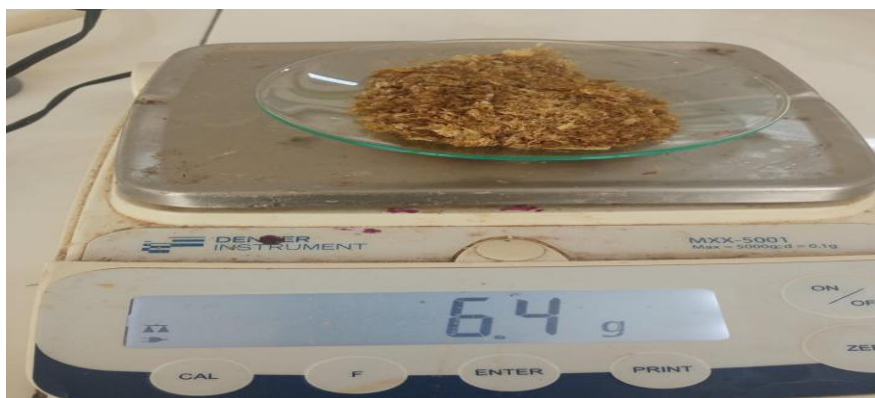
Après la congélation des ballons on éliminer tous l'eau dans notre solution avec l'appareille lyophilisateur



**Figure 13 :** Evaporation du filtrat par un lyophilisateur.

\_ Puis nous pesons ce que nous obtenons

### 3-4 - Rendement des extraits d'Olea :



**Figure 14:** La quantité après évaporation

Le rendement de chaque extrait a été déterminé selon la formule suivante :

$$R (\%) = (M / M_0) \times 100$$

R : Rendement exprimé en %

M : Masse en gramme de l'extrait sec récupéré.

M0 : Masse en gramme du matériel végétal sec.

#### 4- Analyse qualitative (test phyto-chimique) :

##### Screening phytochimique des métabolites secondaires :

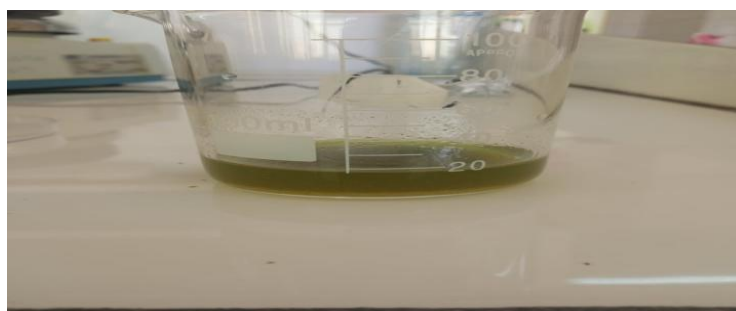
L'expertise phytochimique permet de fixer en facilité la fait ou la manque des métabolites secondaires (polyphénols) des deux extraits par des réactions de transformation de coloration ( dosage qualitatif) aspect à l'œil nu .

##### 4 -1. Préparation des filtrats :

Avant la réalisation des tests de détection de la présence ou l'absence des composés phénoliques, une préparation des filtrats à partir des broyats de chaque plante (olivier ) est réalisée selon la méthode de BOUQUET ET FOURET (1975).

Mode opératoire :

- ✓ Peser 400 mg de broyat dans un bécher 250 ml ;
- ✓ Additionner 4 ml de l'eau distillée et 12 ml d'acétone ;
- ✓ Chauffer le mélange dans un bain marie à température 60°C pendant 5 min avec agitation de temps en temps ;
- ✓ Filtrer sur un papier filtre «Type Wathman N°1», et recueillir le filtrat pour les tests phytochimiques.



**Figure 15:** solution d'extrait (filtrat obtenu)



**Figure 16:** filtration de solution extrait

### ✚ Test des saponosides :

Les saponosides sont caractérisés par un signe de mousse. Leur détection est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait (aqueux et éthanolique), ensuite l'agitation, le mélange est relax pendant 20 min et la teneur en saponosides est évaluée (Harborne, 1964).

Pas de mousse = test négatif (-) ; Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif (+)

Mousse de 1-2 cm = test positif (++) ; Mousse plus de 2 cm = test très positif (+++)



Figure 17: agitation de solution pendant 20 minutes

### ✚ Test des tanins :

Pour confirmer la présence de tanins mis en évidence, en ajoutant à 1 mL de l'extrait (aqueux, éthanolique), 1 ml d'eau et 2 gouttes de la solution de  $\text{FeCl}_3$  diluée 10 fois.

L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu verte indique la présence des tanins.

### ✚ Test des polyphénols :

Placer 2 ml du filtrat obtenu dans un tube à essai ensuite ajouter 1 à 2 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  10%.

### Solution( $\text{FeCl}_3$ ):

Pesé 0,2 g de  $\text{FeCl}_3$  et mélangé avec 2 ml d'eau distillé et agité pendant 1 minute



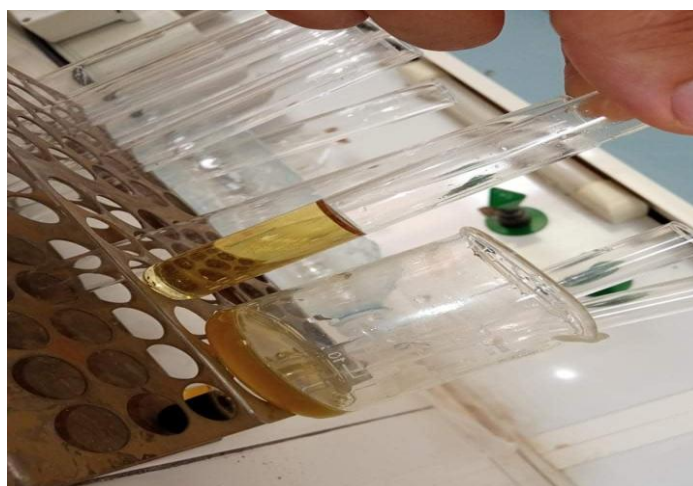
Figure 18: préparation de solution  $\text{FeCl}_3$

La présence des composés phénoliques dans les filtrats est indiquée par l'apparition d'une couleur vert noirâtre. **BÉKRO et al., (2007).**

#### **Test des flavonoïdes :**

Placer 2 ml du filtrat obtenu dans un tube à essai contenant de l'alcool chlorhydrique (4 ml éthanol + 1ml HCl concentré) puis ajouter 2 ou 3 morceaux de magnésium.

La présence des différents types des flavonoïdes dans les filtrats est indiquée par l'apparition d'une couleur rose-orange ou violacée. **BÉKRO et al., (2007).**



**Figure 19:** l'alcool chlorhydrique

## **5- Dosage quantitatif :**

### **5-1 - Dosage des poly-phénols totaux :**

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

#### **Mode opératoire :**

Préparation de la solution de référence d'acide Gallique : 1g d'Acide Gallique + 2 ml éthanol+ 20 ml eau distillée.

La solution standardisée d'acide Gallique a été diluée de manière à avoir les différentes Concentrations (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 ml).



**Figure 20:** La solution standardisée d'acide Gallique

**\_Solution de Folin-Ciocalteu 6 % :**

On a mélangé 0,25 FC avec 4,16 ml eau distillée



**Figure 21:** solution de Folin-Ciocalteu

**\_ Solution  $\text{Na}_2\text{NO}_3$  à 20%:**

Mélange de 0,5 g de  $\text{Na}_2\text{NO}_3$  avec 5 ml eau distillée



**Figure 22:** Solution  $\text{Na}_2\text{NO}_3$

Le dosage polyphénol totaux consiste à mélanger 200  $\mu$ l de solution de référence de l'extrait avec 3000  $\mu$ l de solution de **Folin-Ciocalteu 6 %**. Le mélange a été agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant (3) minute .

Puis 1000  $\mu$ l de la solution saturée de  $\text{Na}_2\text{NO}_3$  à 20% ont été ajoutés. Le mélange subi une agitation sur agitateur vortex puis laisse reposer (2h) à l'obscurité et à température ambiante.

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

\_200  $\mu$ l de la solution d'extrait [1g/ml], sont mélangés avec 1000  $\mu$ l du réactif FC et 800  $\mu$ l de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

\_Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix (10) minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV.

Les concentrations des poly-phénols totaux contenus dans les extraits feuille d olive sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard, et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/g d'extrait.



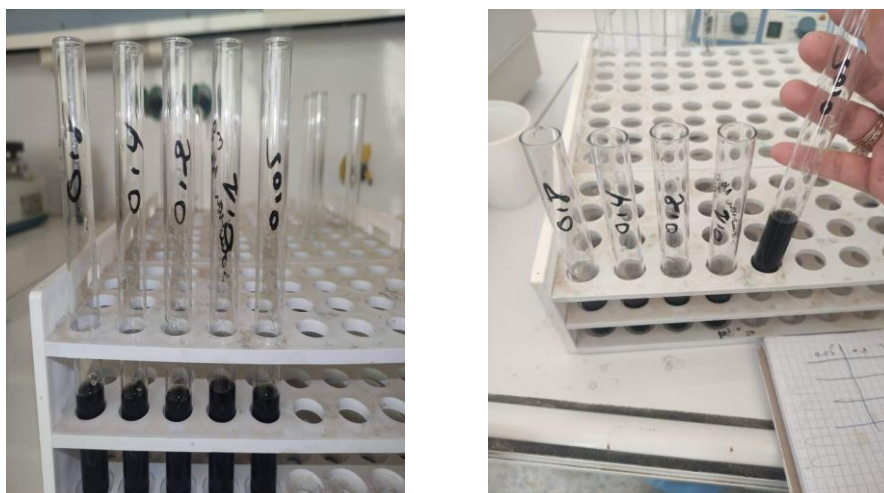
**Figure 23:** les 03 solution standard

#### **f) Préparation du Blanc:**

200  $\mu$ l d'eau distillée sont mélangés avec 1000  $\mu$ l du réactif FC et 800  $\mu$ l de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes.

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





**Figure 24:** les solutions phénols totaux

### 5-2-Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes de nos extraits est réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (BAHORUN et al., 1996).

#### Mode opératoire :

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).

#### Solution de chlorure d'Aluminium hexa hydraté ( $\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ) à 2 % :

\_ dans une fiole de 10 ml une masse de 0.2g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1mg près) de chlorure d'aluminium, est mélangée 1ml de méthanol suivi d'une agitation jusqu'à sa dissolution totale, ensuite la fiole est rempli jusqu'au trait de jauge (10ml).

\_ mélange 1000 $\mu\text{l}$  de la solution d'extrait [1g/ml], sont mélangés avec 1000 $\mu\text{l}$  chlorure d'Aluminium  $\text{AlCl}_3$  à 2%,

le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 15min. l'absorbance est mesurée à 430nm en utilisant un spectrophotomètre UV visible.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de feuille d olive ont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, et les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine /g d'extrait.



**Figure 25:** dosages des flavonoïdes

### **Préparation du Blanc :**

1000 $\mu$ l de méthanol sont mélangés avec 1000 $\mu$ l chlorure d'Aluminium  $AlCl_3$  à 2% le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 15min.

\_ En fin 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).

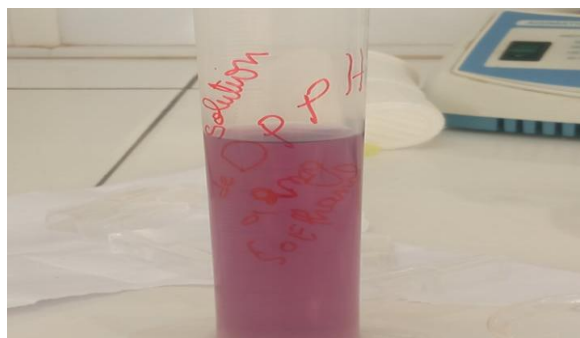
### **5-3- Evaluation de l'activité antioxydante par le test du DPPH :**

#### **Mode opératoire :**

Pour évaluer l'activité antioxydant on utilise dans l'étude de l'activité antioxydante. Le DPPH (2,2- diphenyle-1-picrylhydrazyl) selon (AMMAR et al., 2009).

#### **A) Solution de DPPH :**

Une masse **0,4 mg** (pesée à l'aide d'une balance précise à 0.1 mg près) de DPPH, est mélangée avec une quantité **5 ml** de éthanol suivi d'une agitation jusqu'à sa dissolution totale, ensuite la fiole est rempli jusqu'au trait de jauge (250ml), stocké à l'abri de la lumière et au réfrigérateur en attendant son utilisation.



**Figure 26:** solution DPPH

500µl d'une solution de **DPPH** fraîchement préparée dans le éthanol est ajouté à 2000µl des différentes concentrations réalisés par dilution de l'extrait (3mg / 3ml eau distillé ) dans l'éthanol (31. 25 – 1000µg/ml). Le contrôle négatif est préparé (3mg acide ascorbique / 3ml eau distillé ) , en parallèle, en Mélangeant 2000µl de méthanol avec 500µl de la solution éthanolique 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)**

#### **Préparation du blanc :**

préparer de 950 ml de DPPH avec 50 ml de éthanol incubé pendant 30 minute .

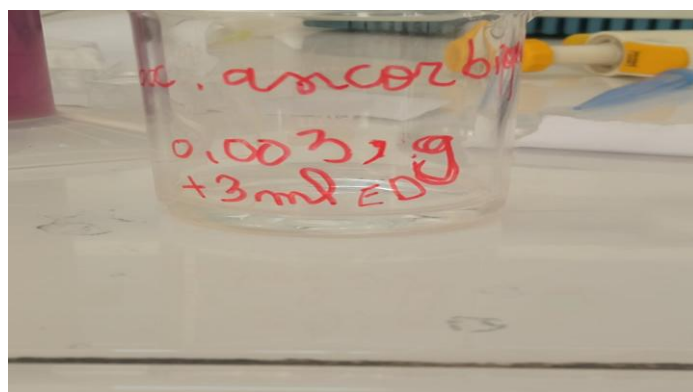
\_ Le pourcentage d'inhibition PI est calculé selon la formule suivante :

$$\text{PI \%} = \frac{\text{AC} - \text{AE}}{\text{AC}} \times 100$$

Avec :

**AC** : absorbance du contrôle ;

**AE** : absorbance de l'extrait.



**Figure 27:** solution d acide ascorbique



**Figure 28:** solution d'extrait



**Figure 29 :** le test piégeage du radical DPPH

# **Chapitre IV:**

## **Résultats et discussion**

## 1-Résultats

### 1-1-Le rendement d'extraction :

Les extraits obtenus à partir de la macération de plant de couleur vert foncé par rapport à **30 g** de feuilles d'Oliver matériel végétal en poudre sec les résultat en été exprimés en pourcentage massique .

Pour la plante, nous avons calculé le rendement moyen des extractions. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 6:** Rendement d'extraits de plante

Extrait	Rendement	Couleur
Feuille d'olive	21.66%	Marron jaune

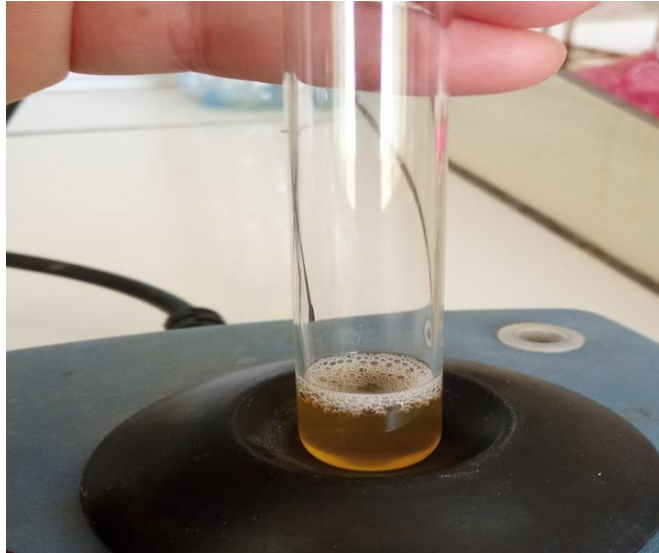
Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par apport à la masse initial de la plante soumise à l'extraction .

On conclut qu'il est difficile de comparer nos résultats avec les résultats trouvés, car le rendement dépend de la méthode de séchage et d'extraction, le temps de la récolte, les conditions dans les quelles l'extraction a été effectuée et la nature du solvant utilisée.

### 1-2. Analyse qualitative :

#### 1-2.1. Mise en évidence Test des saponosides :

La présence de saponosides quantité moyenne le test est faiblement positif , glycosides cardiaques et les quinones libres en forte quantité dans l'extrait aqueuse. Par contre on note son absence dans l'extrait éthanolique.



**Figure 30:** résultat de test saponiside positifs

#### 1-2-2- Mise en évidence des tanins :

La présence de tanins s est en forte quantité maximale par la réaction au  $\text{FeCl}_3$ . On a remarque la couleur vert foncé à un vert noirâtre.



**Figure 31 :** résultat de test tanins

#### 1-2-3- Mise en évidence des poly-phénols totaux:

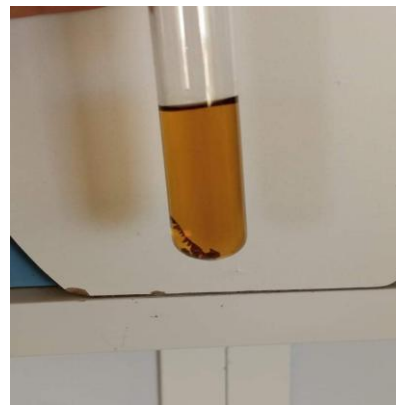
Le test de détection des poly-phénols par la réaction au  $\text{FeCl}_3$  s'est avéré positif suite à un changement de couleur des extraits du thym et romarin du vert / vert foncé à un vert noirâtre .



**Figure 32:** résultat de test polyphénols

#### 1-2-4- Mise en évidence des flavonoïdes :

Le test des flavonoïdes par la réaction à la cyanidine s'est positif suite à un changement de couleur des extraits du vert/ vert foncé changement de couleur de extrait feuille d olive du vert/ vert foncé à une couleur rose-orange



**Figure 33:** résultat changement de couleur des extraits vers le rose-orange.

### 1-3. Dosage quantitatif :

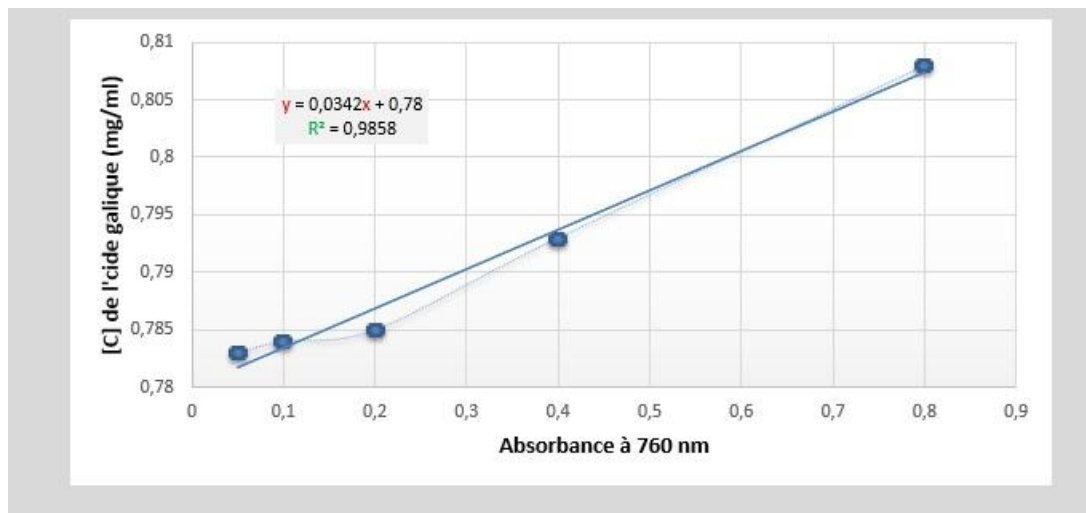
#### 1-3.1. Dosage de polyphénols totaux :

L'estimation de la teneur en poly-phénols se fait par la méthode spectrophotométrie au réactif de Folin-Ciocalteu. En utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Figure 26). La gamme de concentrations d'acide gallique utilisée pour le dosage des poly-phénols et les absorbances respectives mesurés sont représentés dans le tableau suivant :



**Tableau 7:** Absorbances adapté avec la gamme de concentration d'acide gallique.

[C] de l'acide gallique (mg/ml)	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8
Absorbance a 760 nm	0.783	0.784	0.785	0.793	0.808

**Figure 34:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

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

Les poly-phénols sont des molécules synthétisée par les végétaux et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire .

La figure représente la droite de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des poly-phénols totaux contenus dans notre extrait de feuilles d'olivier. La formule de la régression linéaire de cette courbe est  $y = 0,0342x + 0,78$  avec un coefficient  $R^2$  égal à 0,985.

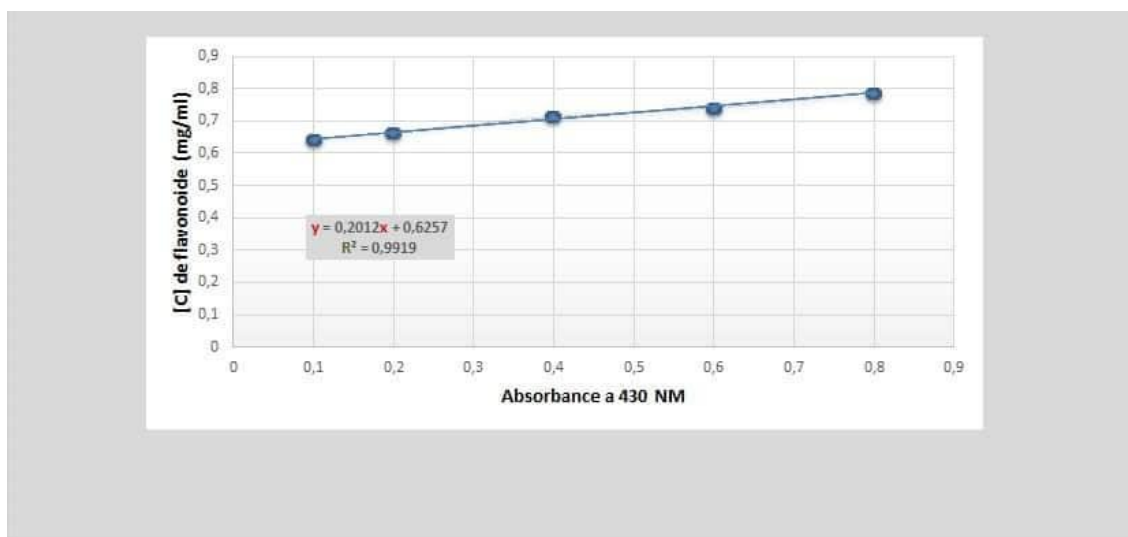
La teneur en poly-phénols totaux contenu dans notre extrait été de **(0,526 mg EAG/g d'extrait.)**

### 1.3.2. Dosage des flavonoïdes :

La mesure des taux de flavonoïdes contenus dans l'extrait a été synthétisée à partir la droite de la courbe d'étalonnage de la quercétine à différents concentration (**figure 35**)

**Tableau 8:** Courbe d'étalonnage de quercétine

[C] de flavonoïde (mg/ml)	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8
Absorbance a 430 NM	0,644	0,665	0,714	0,740	0,788

**Figure 35:** Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

La mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 430nm. Les teneurs en flavonoïdes pour les deux extraits ont été calculés à l'aide de l'équation :

$y = 0,2012x + 0,6257$  avec  $R^2 = 0,9919$  issue de la droite de la courbe d'étalonnage de la quercitrine.

La quantité des flavonoïdes tous pendant lequel nôtre extraits est une rapportées en milligramme d'équivalents quercétine par gramme de partie sèche (mg EQ/g d'extrait). Notre résultats d'extrait éthanoïque de feuilles d'olivier montre une concentrations de ( **0,5369 mg EQ/g d'extrait** ) .

#### 1-4. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits :

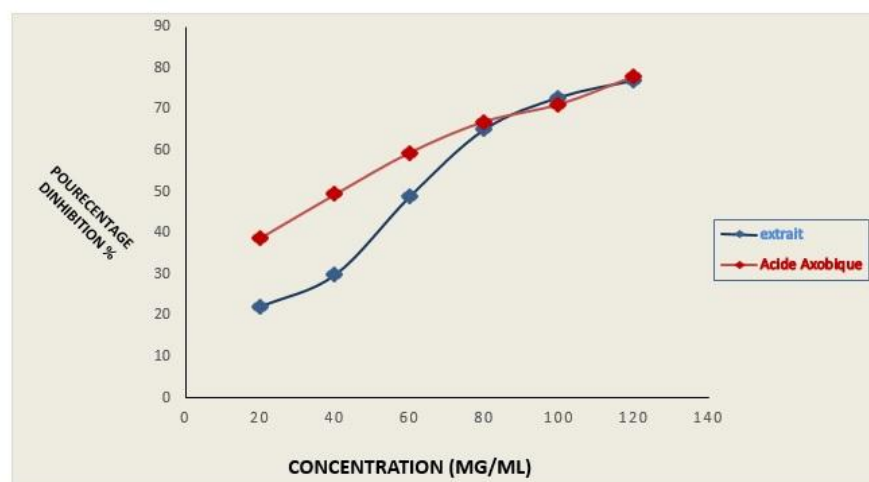
La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante d'extraits (feuille d'olive) est le test au DPPH .

L'activité anti-radicalaire de l'extrait de feuille d'Oliver avant du exprès DPPH a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm, en recherchant la réduction de ce exprès qui

s'accompagne par son passage, de la couleur violette à la couleur jaune. Le DPPH est spécifié par son adaptation à différents échantillons entre une courte durée, aussi il est assez sensible entre voir des substances actives à des basses concentrations.

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

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



**Figure 36:** Comparaison entre l'activité anti-oxydante de l'extrait brut de feuilles d'olivier et de l'acide ascorbique

## 2- Discussion :

### 2-1- Rendement :

D'après la résultat de tableau du rendement d'extraction par macération des composés phénoliques rapportés en pourcentage (g d'extrait pour 30 g de plantes séchées) représentés par la moyenne **21.66%** ont montrés que les extraits organique des feuilles d'Oliver 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 %.

renversement pendant lequel les valeurs du rendement d'extraction est potentiellement due à la méthode et la condition de préparation et d'extraction de ces composés : solvant, diluant, épuisement, température,.....etc. (**EBRAHIMZADEH et al., 2008**).

### 2-2- Dosage de polyphénols totaux et de flavonoïdes :

La teneur en polyphénols totaux contenu dans notre extrait été de (10 ,61 mg EAG/g d'extrait.) Notre résultats est similaires à ceux retrouvés **KARIM et TOUATI (2016)** ont obtenus des teneurs en polyphénols de 10,2 mg EAG/ g extraits de feuilles d'olivier, par contre **BOUABDALLAH (2014) et Faten et al. 2013** ont reportés des teneurs en poly-phénols des extraits de feuilles d'olivier de 3,38 et 2,20 mg EAG/ g, respectivement .

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**) .

– Nôtre résultats d'extrait éthanolique de feuilles d'olivier montre une concentrations de ( 0 ,5369 mg EQ/g d'extrait ) Le résultat obtenu concernant la teneur en flavonoïdes est nettement inférieurs au résultat trouvé par **HARRAR (2012)**, qui est de 6mg QE /g d'extrait méthanolique de R.alaternus et celui trouvé par **ZEGHAD (2008)**, qui est de 8.33mg QE /g d'extrait.

Donc l'extrait feuille d'olive plus faible en flavonoïdes et on peut dire que Cette déférences entre nos resultat et le résultats de **HARRAR (2012)** et **ZEGHAD (2008)**,, et peu explique par plus des facteurs liés à la plante (origine des plantes et leur variétés, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique,...etc) (**Miliauskas et al., 2004**) ; et les conditions de préparation, et d'extraction de ces composés (solvant, diluant, épuisement, température, la pression,....etc) (**EBRAHIMZADEH et al. (2008)**),

### **2-3- Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits :**

La méthode qui On utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante est : DPPH

#### **Piégeage du radical DPPH :**

L'activité anti-radicalaire 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.

A des fins comparatives, deux antioxydants standards sont utilisés à savoir ; l'acide ascorbique et l'extrait et qui ont montrés une meilleure activité anti-radicalaire par rapport à notre extrait.

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

Nos résultats montrent d'une part que l'activité anti-radicalaire de l'acide ascorbique est plus puissante que celle de l'extrait L'IC 50 diminue avec l'augmentation de l'activité anti oxydante. Les valeurs IC 50 obtenus dans notre travail étaient de 65,62 et 42,18 µg/ml pour l'extrait et l'acide ascorbique, respectivement, donc l'IC 50 de l'acide ascorbique est inférieur à de l'IC 50 de l'extrait.

Ce qui signifie que l'acide ascorbique présente la meilleure activité anti-oxydante par rapport aux extraits des feuilles de l'olivier. Nos résultats montrent une bonnes activités anti-oxydantes relativement proches de celles de produits standards utilisés (l'acide ascorbique).

# Conclusion

### Conclusion Générale :

La culture de l'olivier a indéfiniment fait partie intégrante de à nous tableau environnemental, depuis des milliers d'années, et si elle a raccompagné jusqu'à nos jours, c'est grâce à sa grande diversité, qui lui a passé d'échapper aux effets contraignants des facteurs environnementaux et humains. La présente étude a été fabrique entre légaliser les différences morphologiques et biochimiques de l'olivier (*Olea europaea* L.).

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacologie, cosmétologie et l'agriculture. Notre étude a intéressé à l'étude phyto-chimique et l'évaluation in vitro de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles d'*Olea europaea* L

D'un point de vue applicatif, les travaux de ce mémoire se sont assemblés autour d'un axe d'investigation principal qui est la valorisation des poly-phénols de l'extrait éthanoïque de feuilles d'olivier provienne de régions de Djelfa . Cette étude se focalise sur l'extraction et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes des feuilles d'olive ainsi que l'évaluation de leur activité antioxydante .

La première étape qui consistait à l'extraction des composés phénoliques nous a permis de calculer le rendement d'extrait de l'extraction par macération éthanolique de **21.66%** avec épuisement et à température ambiante.

- L'analyse qualitative réalisé par un screening phytochimique a montré la présence de plusieurs familles des composés naturelles, comme les flavonoïdes, les tanins, les saponosides
- L'évaluation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes, a révélé la présence des quantités importantes en poly-phénols et en flavonoïdes dans l'extrait en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode de trichlorure d'aluminium respectivement, révèle la présence des quantités relativement importantes . Avec une (0,526 mg EAG/g d'extrait.) et une teneur en flavonoïdes de ( 0,5369 mg EQ/g d'extrait ) .
- Le potentiel antioxydant d'extrait a été déterminé par la méthode de DPPH avec une activité antioxydant présentée par le IC 50 égale à 65,62 dont la résultats montrent que

l'extraits de plantes possèdent une bonne activité antioxydante, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention de plusieurs maladies telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires.

L'extrait de feuille d'olivier constituerait donc une source inestimable de molécules à éventuelles propriétés pharmacologiques et cosmétologiques et aussi peuvent être utilisé en bioindustrie, notamment en bio-agroalimentaire, comme antioxydant de bonne qualité. A la lumière de ces résultats il serait intéressant de :

- Compléter ce travail par une étude plus large sur d'autres activités
- Séparation et identification des molécules bioactives par des techniques plus poussées comme chromatographiques et spectrales.
- Evaluer d'autres activités comme : antidiabétiques, antimicrobiennes, anticancéreuses ... et autres ;
- Utilisation de ces composés naturels dans le secteur alimentaire en remplaçant les composés de synthèse pour la complémentation et la conservation des aliments.



# **Références bibliographiques**

**Références bibliographiques :**

1. **AGGOUN-ARHAB, M. 2016-** Caractérisation de la composition en microconstituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse : Sciences Alimentaires. Constantine : UNIVERSITE FRERES MENTOURI. 145p.
2. **AKOWAUH G.A ., ZHARI. I ., NORGYATI. I ., SADIKUN.A ET KHAMSAH S.M 2004.** The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry* , 559-566.
3. **ALONSO-SALCES R., HEBERGER K., HOLLAND M., MORENO-ROJAS J., MARIANI C., BELLAN G., RENIERO F ET GUILLOU C., 2010.** Multivariate analysis of NMR fingerprint of the unsaponifiable fraction of virgin olive oils for authentication purposes. *Food chemistry*.118(4): 956-965 .
4. **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. –
5. **AMMAR R.B., BHOURI W., SGHAIER M.B., BOUBAKER J., SKANDRANI I., NEFFATI A., BOUHLEL I., KILANI S., MARIOTTE A.M., CHEKIR-GHEDIRA L., DIJOUX-FRANCA M.G. ET GHEDIRA K., 2009-** Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus L.* (*Rhamnaceae*) : A structure- activity relationship study. *Food Chem.*; Vol. 116 (98): 258-264.
6. **AOUIDI F ,2012-** Etude de valorisation des feuilles d'olivier *olea Europaea* dans l'industrie Agro –alimentaire, THESE , Université du Carthage ,213 p.
7. **ATOUI A.K., MANSOURI A., BOSKOU G. ET KEFALAS P., 2005-** Tea and herbal infusions : Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, Vol. 89: 27–36.
8. **BABU A., KUMARESAN G., RAJ V. A. A ET VELRAJ R., 2018.** Review of leaf drying : Mechanism and influencing parameters, drying methods, nutrient preservation and

- mathematical models. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier. 90(C) :536-556 .
9. **BAHLOUL N., BOUDHRIOUA N., SLIMEN I. B ET KECHAOU N., 2009.** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products* . 29(2-3) : 412-419.
  10. **BAHORUN T., GRESSIER B., TROTIN F., BRUNET C., DINE T., LUYCKX M., VASSEUR J., CAZIN M., CAZIN J.C. AND PINKAS M., 1996-** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*, Vol. 46: 1086-1089.
  11. **Békro Y.A., Janat A., békro M , Boua B.B., trabi F.H et Éhilé E., 2007-** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de caesalpinia benthamiana (baill.) herend et zarucchi (caesalpiniaceae). *Sciences & nature*. Vol. 4 (2): 217-225
  12. **BENAVENTE-GARCIA, O., CASTILLO, J., LORENTE, J., ORTUO, A., & DEL RIO, J. A, 2000.** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L, Volume 68, Issue 4, March 2000, Pages 457-462.
  13. **BIANCHI S., BIGAZZI R., BALDARI G., SGHERRI G. ET CAMPESE V. M., 1994.** Diurnal variations of blood pressure and microalbuminuria in essential hypertension. *American Journal of Hypertension*. 7(1):23-29.
  14. **BOUABDALLAH A .2014.** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen Chemistry, (121): 17-22.
  15. **BOUQUET A. ET FOURET A., 1975-** Recherches chimiques préliminaires sur les plantes
  16. **BRAHMI, F., MECHRI, B., DABBOU, S., DHIBI, M., ET HAMMAMI, M. 2012.** The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations, [Industrial Crops and Products](#) 38(1):146– 152.
  17. **BRUNETON J. ; 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3ème Ed. Lavoisier. Paris, 199-388.
  18. **BUSTOS M. C., ROCHA-PARRA D., SAMPEDRO I., PASCUAL-TERESA S ET LENN A. E, 2018.** The influence of different air-drying conditions on bioactive

- compounds and antioxidant activity of berries. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba. 66(11): 2714-2723.
19. **CASABURI I., PUOCI F., CHIMENTO A., SIRIANNI R., RUGGIERO C., AVENA P ET PEZZI V., 2013.** Potential of olive oil phenols as chemopreventive and therapeutic agents against cancer: a review of in vitro studies. *Food research* . 57(1): 71-83.
20. **CASTRO A., MAYORGA E ET MORENO F., 2018.** Mathematical modelling of convective drying of fruits *Journal of Food Engineering* . 223 : 152-167 pages.
21. **CHIMI H., MOREL I., LESCOAT G., PASDELOUP N., CILLARD, P ET CILLARD J., 1995.** Inhibition of iron. *Toxicology in Vitro*. 9(5) :695-702.
22. **CIVANTOS L. 1983.** Valorisation des sous-produits de l'olivier, Réunion du comité technique (FAO), 143-145.
23. **CORBIN C., FIDEL T., LECLERC E. A., BARAKZOY E., SAGOT N., FALGUIERES A., RENOARD S., BLONDEAU J.-P ET FERROUD C., 2015.** Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrason Sonochem*. 26 : 176-185.
24. **DA PORTO C. ET NATOLINO A., 2017.** Supercritical fluid extraction of polyphenols from grape seed (*Vitis vinifera*): Study on process variables and kinetics. *Journal of Supercritical Fluids* . 130 : 239-245.
25. **DAHMOUNE F., MOUSSI K., NAYAK B., PERKINS L. B., MADANI K ET CHIBANE M., 2015.** HPLC/DAD Profile of phenolic compounds and antioxidant activity of leaves Extract of *Rhamnus alaternus* L. *Industrial Crops and Product*.74: 858-866.
26. **DERMECHE S. NADOUR M. LARROCHE C. MOULTI-MATI F. MICHAUD P., 2013-** Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies , Volume 48, Issue 10, October 2013, Pages 1532-1552.
27. **DIOMEDE L., RIGACCI S., ROMEO M., STEFANI M ET SALMONA M., 2013.** Oleuropein aglycone protects transgenic *C. elegans* strains expressing A $\beta$ 42 by reducing plaque load and motor deficit. *Phytochemistry*.8(3): 58-93.
28. **DJENANE D., AÏDER M., YANGÜELA J., IDIR L., GOMEZ D ET RONCALES P., 2012.** Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157: H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Journal of Meat Science* .92(4): 667-674.

29. **EBRAHIMI, A., MAURY, P., BERGER, M., SHARIATI, F., GRIEU, P., SARRAFI, A. 2008c.** Genetic improvement of oil quality in sunflower mutants under water stressed conditions. In Proceedings of the 17th International Sunflower Conference. Cordoba, Spain. June 8 –12, 2008. Edited by Velasco, L. p. 509-512.
30. **EBRAHIMZADEH M.A., POURMMORAD F. ET HAFEZI S., 2008-** Antioxidant activities of Iranian corn silk. Turkish journal of biology., Vol. 32: 43-49.
31. **ERBAY Z. ET ICIER F., 2010.** The importance and potential uses of olive leaves. Food Reviews International. (4): 319-334.
32. **ESMAEILI-MAHANI S., REZAEZADEH-ROUKERD M., ESMAEILPOUR K., ABBASNEJAD M., RASOULIAN B., SHEIBANI V., KAEIDI A ET HAJIALIZADEH Z., 2010.** Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract elicits antinociceptive activity, potentiates morphine analgesia and suppresses morphine hyperalgesia in rats. Journal of Ethnopharmacology. (1): 200-205.
33. **ESTI, M. ET CINQUANTA, L. 1998.** Phenolic compounds in different olive varieties. J. Agric. Food Chem. 46 :32-35.
34. **FABIANI R., DE BARTOLOMEO A., ROSIGNOLI P., SERVILI M., MONTEDORO G ET MOROZZI G., 2002.** Cancer chemoprevention by hydroxytyrosol isolated from virgin olive oil through G1 cell cycle arrest and apoptosis. Journal European. Cancer prevention organisation . (4): 351-358.
35. **FEGEROS, K., ZERVAS, G., APSOKARDOS, F., VASTARDIS, J., & APOSTOLAKI, E. 1995,** Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. Small Ruminant Research, 17(1), 9–15.
36. **FLEEGER J. L., ET FLIPSE I. J. 1964.** Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. Journal of Dairy Science. 47 (5): 535-538.
37. **FLOREZ N., CONDE E ET DOMONGUEZ H., 2015.** Microwave assisted water extraction of plant compounds. Chemical technology and Biotechnology . 90(4): 590-607.
38. **GBENOU JD, AHOUNOU JF, LADOUNI P, AGBODJOGBE WKDD, TOSSOUR, DANSOU P, MOUDACHIROU M. (2011).** Propriétés anti-inflammatoires des extraits aqueux de *Sterculiasetigera* Delile et du mélange *Aframomum melegueta* K. Schum – Citrus .

39. **GHEDIRA K, 2008**-L'olivier, *Phytothérapie*, 6: 83–89.
40. **GHEDIRA K., 2005**- Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, (4): 162-169.
41. **GONTIJO D. C., BRANDO G. C., GONTIJO P. C., DE OLIVEIRA A. B., DIAZ M. A. N., FIETTO L. G. ET LEITE J. P. V., 2017**. Identification of phenolic compounds and biologically related activities from *Ocotea odorifera* aqueous extract leaves. *Food chemistry* :618- 626.
42. **GUILLAUME D., CHARROUF Z. 2005**-Saponines et métabolites secondaires de l'arganie (*Argania spinosa* *Cahiers Agricultures* 14(6) :P509-516.
43. **GUIMARÃES R., BARROS L., BARREIRA J.C.M., SOUSA M. J., CARVALHO A.M. ET FERREIRA I.C. (2010)**. Targeting excessive radical withpeels and juice ofcitrus fruits grapefruit, lemon and orange. *Food Chemistry*, )48(: 99-106.
44. **GUISSOUS M,2019**- La filière oléicole en petite Kabylie: quelles innovations pour un développement durable?, THÈSE, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 234 p.
45. **HADDOU D, 2017**-L'infestation de la Teigne de l'olivier dans quelques vergers, MEMOIRE,UNIVERSITE de TLEMCEM, 76 p.
46. **Hagerman ,A. E. 2002**. Tannin chemistry. *Tannin Handbook*. 86: 104 -105.
47. **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 adpressium*. *Annales des Sciences et Technologie*, (47): 33-38.
48. **HAMZAA N., BERKEA B., CHEZEA C., AGLIB A.N., ROBINSONA P., GINC H. ET MOOREA N.2010**- Prevention of type 2 diabetesinduced by high fat diet in the C57BL/6J mouse bytwomedicinal plants used in traditionaltreatment of diabetes in the east of Algeria.*Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 128: 513–518.
49. **HARBORNE J. B. ET SIMMONDS N. W. 1964**. *Biochemistry of Phenolic Compounds*, Academic Press, London, P. 101.
50. **HARRAR A.E.N., 2012**- Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie.113p.

51. **HARTMANN T .,2007.** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* Volume68,Issues22–24, 2007; 2831– 2846.
52. **HAYES J., ALLEN P., BRUNTON N ET O’GRADY M., 2011.** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food chemistry*.126(3): 948-955 .
53. **HAYES J., ALLEN P., BRUNTON N ET O’GRADY M., 2011.** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food chemistry*.126(3): 948-955.
54. **HERRERO M., CASTRO-PUYANA M., MENDIOLA J. A. ET IBAEZ E., 2013.** Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. *Trends in Analytical Chemistry*. 43: 67-83.
55. **HIRASA K. ET TAKEMASA M., 1998-** Spice science and technology. Ed. Marcel Dekker,New York, 1184p.
56. **IVANOVA-PETROPULOS V., HERMOSÍN-GUTIÉRREZ I., BOROS B., STEFOVA M., STAFILOV T., VOJNOSKI B., DORNYEI É ET KILÀR F., 2015.** Phenolic compounds and antioxidant activity of Macedonian red wines. *Journal of Food Composition and Analysis* : 1-14.
57. **JEMAI H., EL FEKI A ET SAYADI S., 2009.** Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Food chemistry* . (19): 8798-8804.
58. **JOHN C, PENELOPE J, HASLAM S ET CRAIG M, 2014-** Self and Collective: Cognition and Social Context, vol 20, N°5, 454-463.
59. **KANG J., PRICE W. E., ASHTON J., TAPSELL L. C. ET JOHNSON S., 2016.** Identification and characterization of phenolic compounds in hydromethanolic extracts of sorghum wholegrains by LC-ESI-MSN. *Food chemistry*: 215-226 .
60. **KHAN, M .,PANCHAL ,S., VYAS ,N . 2007.** *Olea europaea*. *Phytopharmacol Review*, Vol 1, Issue 1, 382 481.
61. **KONOZ E., ABBASI A., MOAZENI R. S., PARASTAR H ET JALALI-HERAVI M., 2013.** Chemometricsassisted gas chromatographic-mass spectrometric analysis of

- volatile Components of olive leaf oil. Journal of the Iranian Chemical Society. (1): 169-179.
62. **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.
63. **LAHOUZI A et MADANI H, 2017-** Contribution à l'étude de l'entomofaune de l'olivier dans la région de Haizer (Bouira), Mémoire , 70 p.
64. **LEAVES. FOOD CHEMISTRY, 1999-68(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. JPharmPharmacol. Vol. 51..pp. 971-4.
65. **LEE ,J., KOO, N.,ET MIN, D. B. 2004.** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safty. 3:21-33.
66. **LEE, J. T. ; BAILEY, C. A. ; CARTWRIGHT, A. L., 2003.** beta-Mannanase ameliorates viscosity-associated depression of growth in broiler chickens fed guar germ and hull fractions. Poultry Sci., 82 (12): 1925-1931
67. **LIMA-CORREA R. D. A. B., SANTOS ANDRADE M. DOS., FREIRE J. T ET DO CARMO FERREIRA M., 2017.** Thin-layer and vibrofluidized drying of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.): analysis of drying homogeneity and influence of drying conditions on the composition of essential oil and leaf colour. National Agricultural. 7: 54-63.
68. **M'HIRI N., IOANNOU I., BOUDHRIOUA N. M., GHOUL M., 2015.** Effect of different operating conditions on the extraction of phenolic compounds in orange peel. Food and Bioproducts Processing. 96: 161-170 .
69. **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.
70. **Machado A. P. D. F., PEREIRA A. L. D., BARBERO G. F ET MARTÍNEZ J., 2017.** Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. Food Chemistry . 231: 1-10 .



71. **MACHEIX ,J. J., FLEURIET A., ET SARNI-MANCHADO , P. 2006.** Composés phénoliques dans la plante-structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: « Les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec &Doc. Lavoisier. 1-26.
72. **MACHEIX J.-J., FLEURIET A ET JAY-ALLEMAND C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, PPUR presses polytechniques. Edition : Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes. 192 pages.
73. **MACHEIX, J.J., FLEURIET, A. ET JAY-ALLEMAND, C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne.
74. **MAILLARD R 1975.** Lolivier. Maison des agriculteurs .Ed .Invuflec. Paris, 147 P.
75. **MALLEK-AYADI S., BAHLOUL N ET KECHAOU N., 2017.** Characterization, phenolic compounds and functional properties of Cucumis melo L. peels. Food Chemistry. 221 : 1691-1697 .
76. **MARIA T ET ELEFThERIA T,2015-** Extraction, Separation, and Identification of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil by HPLC-DAD and HPLC-MS, Antioxidants, 4, 548-562.
77. **MEZIANI W ET CHACHOUA T, 2018-** Enquête sue l'évolution de la production oléicole dans la wilaya de Bouira(subdivisions M'chedallah et Elesnam), Mémoire , UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA, 69 p.
78. **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
79. **MILIAUSKAS G, YENKUTONIS PR, VAN BEEK TA, 2004.** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plants extracts. *Food Chem.* ;85:231–237.
80. **MISSAT L,2012-** Perspectives de développement de l'olivier dans les Monts des Ksour., MEMOIRE, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, 102 p.
81. **MOHAMMEDI , Z., 2012.**Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen Algérie. p 160.

82. **MOREIRA M. M., BARROSO M. F., BOEYKENS A., WITHOUCK H., MORAIS S ET DELERUE-MATOS C., 2017.** Valorization of apple tree wood residues by polyphenols extraction: Comparison between conventional and microwave-assisted extraction. *Industrial Crops and Product* . 104: 210-220.
83. **MPIANA PT, BALANGANAYI EK, KANANGILA AB, KALONDA EM, NGBOLUA KN, TSHIBANGU DST, ATIBU EK, LUMBU JBS.(2009).** Activité antirépanocyttaire 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>
84. **MUSHTAQ A., HANIF M. A., AYUB M. A., BHATTI I. A ET ROMDHANE M., 2020.** Olive. *Medicinal Plants of South Asia* , Edition Novel sources for drug discovery: 541-555 pages.
85. **NACZK, M., ET SHAHIDI , F. 2006.** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1523-1542.
86. **NEFZAOUI A., 1991.** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. *Options méditerranéens*, 153-173.
87. **NEFZAOUI A., 1991.** Valorisation des sous-produits de l'olivier, édition : Ciheam. 16: 101-108 pages .
88. **ONISZCZUK A., OLECH M., ONISZCZUK T., WOJTUNIK-KULESZA K ET WOJTOWICZ A, 2019.** Extraction methods, LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic compounds and antiradical properties of functional food enriched with elderberry flowers or fruits. *Arabian Journal of Chemistry* . 12(8): 4719-4730.
89. **PARIKH B., PATEL V. ET WELLNESS H., 2017.** Quantification of phenolic compounds and antioxidant capacity of an underutilized Indian fruit: Rayan [*Manilkara hexandra* (Roxb.) Dubard]. *Food science and human wellness* . 6(1): 10-19.
90. **PASBAN-ALIABADI H., ESMAEILI-MAHANI S., SHEIBANI V., ABBASNEJAD M., MEHDIZADEH A ET YAGHOUBI M. M., 2013.** Inhibition of 6-hydroxydopamine-induced PC12 cell apoptosis by olive (*Olea europaea* L.) leaf extract is performed by its main component oleuropein. *Rejuvenation Research* . 16(2): 134-142.

91. **PEREIRA, A. P., I. C. FERREIRA, F. MARCELINO, P. VALENTÃO, P. B. ANDRADE, R. SEABRA, L. ESTEVINHO, A ET PEREIRA B.,2007.** Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Journal of molecules*. 12(5): 1153- 1162.
92. **PERRIN L.J., 1992.** Les composés mineurs et les anti oxygènes naturels de l 'olive et de son huile. *R.F.C.39* :25-32.
93. **PIN K. Y., CHUAH T., RASHIH A. A., LAW C., RASADAH M ET CHOONG T., 2009.** Drying of betel leaves (*Piper betle* L.): Quality and drying kinetics. *Journal of Drying Technology* . 27(1): 149-155.
94. **PLAZA M., DOMONGUEZ-RODRÍGUEZ G., CASTRO-PUYANA M ET MARINA M. L., 2018.** Polyphenols analysis and related challenges. *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications* . 177-232 pages.
95. **PRASAIN J. K., WANG C.-C ET BARNES S., 2004.** Mass spectrometric methods for the determination of flavonoids in biological samples. *Free radical biology and medicine* .37(9): 1324-1350.
96. **PROESTOS C., BOZIARIS I., NYCHAS G.-J. ET KOMAITIS M., 2006.** Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food chemistry*. 95(4): 664-671.
97. **RODRIGUEZ J., SIDDIQUI M. W., DJVILA-AVIÑA J ET GONZÁLEZ-AGUILAR G.,2011.** Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*.44(7): 1866-1874
98. **ROGINSKY V ET LISSI E. A., 2005.** Review of methods to determine chain- breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry* .92(2): 235-254.
99. **ROUTRAY W., ORSAT V., 2014.** MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *industrial crops and products*. 58: 36-45.
100. **RYAN, D., ANTOLOVICH M., HERT T ., PRENZLER P.D.LAVEE SHIMEN .ET ROBERTS K .,2002.**Identification of phenolic compounds in tissues of the novel olive cultivar hardy's mammoth. *J .Agric Food Chem*.23:6716-672
101. **SAITTA M., CURTO S. L., SALVO F., BELLA G. DI ET DUGO G., 2002.** Gas chromatographic– tandem mass spectrometric identification of phenolic compounds in Sicilian olive oils. *Analytical Chemistry*. 466(2): 335-344.

102. **SANTANA S. L. ET MACEDO G. A., 2019.** Effects of hydroalcoholic and enzyme-assisted extraction processes on the recovery of catechins and methylxanthines from crude and waste seeds of guarana (*Paullinia cupana*). *Food chemistry*. 281: 222-230.
103. **SARAF S., ASHAWAT S. M. AND SARAF S. 2007.** Flavonoids: A nutritional protection against oxidative and UV induced cellular damages. *Pharmacognosy reviews*, 1, 1,30-40.
104. **SATO T., ASHIDATE M., JINBO T ET GOSHIMA S., 2007.** Does male-only fishing influence reproductive success of the female spiny king crab, *Paralithodes brevipes*? *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 64(4): 735-742.
105. **SAYADI S. LABAT MARC, AUGUR CHRISTOPHER, RIO BERNARD, PERRAUD GAIME ISABELLE, 2000.** Biotechnological potentialities of coffee and similar with olive, two models of agroindustrial products rich in polyphenolic compounds : a review. In : Sera T. (ed.), Soccol C.R. (ed.), Pandey A.(ed.), Roussos Sevastianos (ed.). *Coffee biotechnology and quality*. Dordrecht : Kluwer, p. 517-531.
106. **SCHMALKO M. , PERALTA J. M, ET ALZAMORA S. M, 2007-** Modeling the Drying of a Deep Bed of *Ilex paraguariensis* in an Industrial Belt Conveyor Dryer Pages 1967-1975 .
107. **SHAHEEN N., LU Y., GENG P., SHAO Q ET WEI Y., 2017.** Isolation of four phenolic compounds from *Mangifera indica* L. flowers by using normal phase combined with elution extrusion two-step high speed countercurrent chromatography. *Journal of chromatography and analytical technologies in biomolecules*. 1046: 211-217 .
108. **SLAHI K, 2016-** DEPERISSEMENT DE L'OLIVIER DANS PLUSIEURS REGIONS OLEICOLES ,THÈSE, UNIVERSITÉ BLIDA 1 ,112 p.
109. **TUSSOLINI L., DE OLIVEIRA J. S., FREIRE F. B., FREIRE J. T. ET ZANOELO E. F., 2014.** Thinlayer drying of mate leaves (*Ilex paraguariensis*) in a conveyor-belt dryer: A semi-automatic control strategy based on a dynamic model. *Journal of drying technology* .(12): 1457-1465.
110. **VERMERRIS , W, NICHOLSON , R ,2006-**Phenolic Compound Biochemistry.USA: Springer , Gainesville FL 32610-3610

111. **VERMERRIS W, NICHOLSON R. (2006 )**. Isolation and Identification of Phenolic Compounds, Phenolic Compound Biochemistry. Dordrecht : Springer.
112. **VERMERRIS W, NICHOLSON R. 2006)**. Isolation and Identification of henolic Compounds, Phenolic Compound Biochemistry. Dordrecht : Springer.
113. **VISIOLI F. ET GALLI C., 1994**. Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. Journal of Life Science. (24): 1965-1971.
114. **WIJNGAARD H., HOSSAIN M. B., RAI D. K ET BRUNTON N., 2012**. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. Food Research International.46(2): 505-513.
115. **YAO N,2013-** Etude de Vulnérabilité du Secteur Agricole face aux Changements Climatiques En Côte d'Ivoire, Rapport, MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DU DEVELOPPEMENT DURABLE, COTE D'IVOIRE, 105 p.
116. **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.

## Résumé:

L'olivier fait partie des arbres les plus populaires qui font l'objet de nombreuses expérimentations et études car ils contiennent des propriétés médicinales et sont utilisés dans de nombreux domaines médicaux, pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires, en particulier les feuilles d'olivier qui contiennent des propriétés bénéfiques pour la santé humaine.

Ce travail vise à présenter l'effet de l'extrait de feuille d'olivier et nous nous sommes concentrés dans nos études sur les composés phénoliques et les flavonoïdes et en évaluant l'activité antioxydante.

Nous avons fait des tests qualitatifs sur les plantes qui ont révélé la présence de tanins, de saponizide, de flavonoïdes et de polyphénols, nous avons également déterminé la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux, et les résultats apparaissent sur les courbes ci-dessus, en plus de déterminer l'activité antioxydante du Notre étude a montré que l'extrait d'olive a un effet antioxydant et est riche en polyphénols et flavonoïdes.

## ملخص :

ان شجرة الزيتون من بين الاشجار الاكثر شعبية والتي تخضع للعديد من التجارب والدراسات وذلك لإحتوائها على خصائص طبية ويتم إستخدامها في العديد من المجالات الطبية والصيدلانية والتجميلية والغذائية وبالتحديد اوراق الزيتون التي تحتوي على خصائص مفيدة لصحة الانسان يهدف عملنا هذا إلى عرض تأثير مستخلص اوراق الزيتون وركزنا في دراساتنا على المركبات الفينولية و الفلافونويد وتقييم نشاط المضاد للأكسدة وكانت بداية الدراسة هي الحصول على مستخلص اوراق الزيتون الذي المأخوذة من مناطق الجلفة وللحصول على مستخلص اوراق الزيتون قمنا بتنتقية إستخلاص وقد قمنا ببعض الاختبارات النباتية النوعية التي كشفت عن وجود التانين والصابونيزيد و الفلافونويد والبوليفينول و حددنا كذلك محتوى مركبات البوليفينول والفلاونويد الكلي وتظهر النتائج على المنحنيات الموضحة أعلاه بالإضافة إلى تحديد النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص ودراستنا هذه اظهرت انا مستخلص الزيتون له تأثير مضاد للأكسدة وغنية بالبوليفينول والفلافونويد

## Abstract :

The olive tree is among the most popular trees that are subject to many experiments and studies because they contain medicinal properties and are used in many medical, pharmaceutical, cosmetic and food fields, specifically olive leaves that contain properties beneficial to human health.

This work aims to present the effect of olive leaf extract and we focused in our studies on phenolic compounds and flavonoids and assessing the antioxidant activity.

We have done some qualitative plant tests that revealed the presence of tannins, saponizide, flavonoids and polyphenols. We also determined the content of polyphenols and total flavonoids, and the results appear on the curves shown above, in addition to determining the antioxidant activity of the extract. Our study showed that olive extract has an antioxidant effect and is rich in polyphenols and flavonoids.