

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE Science Alimentaire

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

IZZA SAMIRA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCE ALIMENTAIRE

Spécialité : Nutrition et Pathologie.

THÈME

Activité antioxydante des feuilles de l'olivier

Olea europea L. subsp europaea var. sylvestris

DEVANT LE JURY

Encadreur	MME N. BOUKEZZOULA	Grade	MAA	U. Mostaganem
Président	Mr A. CHAALEL	Grade	MCA	U. Mostaganem
Co-Encadreur	Mme D. HAMED	Grade	Ingénieur	U. Mostaganem
Examineur	Melle K. ZEROUKI	Grade	MCB	U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire des Microorganismes bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé

(LMBAFS) Année Universitaire : 2019/2020

Résumé

Olea europea, c'est une plante vivace connue depuis l'antiquité et présente plusieurs vertus médicinales. Elle est considérée comme plante dépolluante. Ainsi, elle est au vue de notre étude considérée comme une plante antioxydante .

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydante d'*Olea europea*, récoltés durant le mois mars 2020 au niveau de oued rhiou (wilaya de Relizane)., en utilisant le radical libre DPPH.

Les résultats indiquent un rendement en extrait brut de (36.75%) . Par ailleurs, se caractérise par a un taux important en Polyphénols totaux (89.41µg EA/mg d'extrait), une teneur faible en flavonoïdes de (66.06µg EQ/mg d'extrait). Les résultats de ce travail nous ont permis d'affirmer que l'activité antioxydante d'*Olea europea* revient essentiellement aux composés phénoliques.

Mots clés : *Olea europea*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH.

Abstract:

Olea europea , it is a perennial plant known since antiquity. *Olea europea* has several medicinal properties. It is considered a depolluting plant. Thus, it is within sight of our study considered as an antioxidant plant.

The objective of this work is to evaluate the antioxidant activity of méthanol water extract of *Olea europea*, harvested in March 2020 at the level of oued rhiou (wilaya of Relizane)., Using the free radical DPPH.

The results indicate a yield of crude extract is (36.75%). Furthermore, is characterized by a high level of total polyphenols (89.41 µg EA / mg of extract), a low content of flavonoids of (66.06 µg EQ / mg of extract). The results of this work have enabled us to affirm that the antioxidant activity of *Olea europea* essentially reverts to phenolic compounds.

Key words: *Olea europea*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH.

الملخص:

أوليا أوروبيا له العديد من الخصائص الطبية، يعتبر نبات مطهروبالثالي فإنه على مرأى من دراستنا تعتبر نبات مضاد للأكسدة .

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص من أوليا أوروبيا، الذي تم حصاده في مارس 2020 على مستوى واد الرهيو ولاية غليزان) باستخدام DPPH الجذري الحر.

تشير النتائج إلى أن عائد المستخلص الخام (36.75%). علاوة على ذلك ، يتميز بمستوى عال من البوليفينول الكلي (89.41 ميكروغرام EA / gm من المستخلص)، وهو محتوى منخفض من مركبات الفلافونويد (66.06 ميكروغرام EA / gm من المستخلص). لقد مكننا نتائج هذا العمل من التأكيد على أن النشاط المضاد للأكسدة في اوليا اوروبياعود بشكل أساسي إلى مركبات الفينول.

الكلمات المفتاحية: أوليا أوروبيا-البوليفينول- الفلافونويد- النشاط المضاد للأكسدة-DPPH

Remerciement

Je remercie, tout d'abord dieu tout puissant de nous avoir donné la persévérance et l'obstination de parcourir notre chemin scientifique.

Je tiens à remercier notre directeur de laboratoire de LMBAFS, le Pr RIAZI ALI, de m'avoir donné l'opportunité d'effectuer mon mémoire de fin d'étude dans son laboratoire.

Je voudrais témoigner ma reconnaissance à Mme N. BOUKEZZOULA pour sa rigueur scientifique, son exigence, sa disponibilité et ses encouragements durant la réalisation de ce mémoire, au sein du laboratoire de recherche micro-organisme bénéfiques des aliments fonctionnels et de la santé -LMBAFS- Université de Mostaganem.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire, pour leur aide et leur disponibilité surtout Mme D. HAMED.

Enfin, Je remercie toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin durant l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail...

A ma très chère mère

Qui représente pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon père

Aucune dédicace ne serait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement, et le respect que j'ai toujours eu pour lui Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit des sacrifices qui ont consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères sœurs

Amina, Hassiba et Yasmina

Je leur souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite. J'exprime ainsi mes sentiments de fraternité et d'amour.

A mes ami(e)s

Hanane, Chamousa, Fatima, Hadjer, Layla, Kawther et Cherifa pour leur encouragement permanent et leur soutien moral.

A toute ma famille

Mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousines et cousins.

Liste des abréviations

C. officinalis : *Corallina officinalis*.

DO : Densité Optique.

DPPH : Diphenyl-picrylhydrazyle.

EA : Équivalent d'acide gallique.

EAA: Équivalent d'acide ascorbique.

EQ : Équivalent de quercétine.

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH.

M : Masse.

mg : Milligramme.

nm : Nanomètre.

Rdt : Rendement.

T : Tour.

T° : Température.

UV : Radiations ultra-violettes.

µg : Microgramme.

Liste de figures

Figure 01 : *Olea europea* L (Ghedira, 2008).

Figure 02: Répartition de l'olivier dans la méditerranée (Lumaret *et al.*, 2004; Lavee., 2013).

Figure 03: Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Nkhili, 2009).

Figure 04: Structure de base des flavonoïdes (Tapas *et al.*, 2008).

Figure 05 : *Olea europea* (originale).

Figure 06 : Les différentes étapes réalisées dans l'expérimentation.

Figure 07 : Les étapes d'extraction de polyphénols

Figure 08 : Les étapes de dosage des polyphénols totaux.

Figure 09 : Structure Chimique de radical libre et non radical (Molyneux, 2004).

Figure 10 : Mécanisme réactionnel du test DPPH (Molyneux, 2004).

Figure 11: Rendement d'extraction d'*Olea europea*.

Figure 12: Courbe étalon de l'acide gallique

Figure 13: Courbe étalon de Quercétine

Figure 14: Courbe étalon d'acide ascorbique.

Figure 15: Effet antiradicalaire des extraits *Olea europea* sur la réduction du DPPH effet de l'acide ascorbique.

Liste de tableaux

Tableau 01 : Composition chimique des feuilles d'olivier sauvages " *Olea europea* var *Sylvestris*"
(Souad et Hassnaa, 2013).

Tableau 02 : Quelques classes des polyphénols (Macheix *et al.*, 2005 ; Sarni-Manchado et Cheyneir, 2006).

Tableau 03 : Teneurs en Phénols totaux, et en flavonoïdes de l'extrait brut d'*Olea europea*.

Tableau 04: Les pourcentages d'inhibition de l'extrait et l'acide ascorbique

SOMMAIRE

Résumé	
Abstract	
Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	
Chapitre I : Partie bibliographique	
I- L'olivier sauvage (<i>Olea europea Sylvestris</i>).....	03
I-1- Introduction	03
I-2- Description botanique et classification.....	03
I -2.1. Description botanique:.....	03
I- 2-2- Classification	04
I -3. Répartition géographique	05
I- 4- Composition chimique de Feuilles d'olivier sauvage.....	06
I -5- Utilisation traditionnelle	07
II- Polyphénol.....	08
II -1- Définition.....	08
II.2. Les principales classes des composés phénoliques.....	08
II.3. Activité biologique des polyphénols.....	09
II.3.1. Polyphénols en tant qu' antioxydants.....	09
II.3.2. Polyphénols et santé	10
II.3.3. Intérêts thérapeutiques des polyphénols	11
II.3.3.1- Polyphénols et cancer.....	12
II.3.3.2- Polyphénols et maladies cardiovasculaires.....	12
II.3.3.3- Polyphénols et inflammation.....	13
III- Les flavonoïdes.....	14
III-1- Définition.....	14
III-2- Effets biologiques des Flavonoïdes.....	15
III-2.1- Effets antioxydant et pro-oxydant.....	15
III.2.2 Effets Cardiovasculaires.....	15
III.2.3 Autres effets Biologique.....	16

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1. Origine de la plante.....	17
II.2. Objectifs de l'expérimentation.....	17
II.3. Extraction des polyphénols.....	18
II.4. Détermination de rendement d'extraction d'Olea europea.....	20
II.5. Dosage de polyphénols totaux.....	20
II.5.1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	20
II.5.2. Calcul des polyphénols totaux.....	21
II.6. Dosage des flavonoïdes totaux.....	22
II.6.1. Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	22
II.6.2. Calculs flavonoïdes totaux.....	22
VI. Mesure du pouvoir antioxydant d'extrait.....	22
VI.1. Évaluation de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH.....	22
VI.2. Mode opératoire.....	23
VI.2.1. Préparation du DPPH	23
VI.2.2. Préparation des échantillons.....	23
VI.3. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.....	24

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Résultats.....	25
I.1. Rendement d'extraction d'Olea europea	25
I.2. Quantification des composés phénoliques.....	26
I.2.1. La teneur en polyphénol totaux.....	26
I.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	27
I.3. Activité antioxydante	29
I.3.1. Test de réduction du radical stable le DPPH.....	29
I.3.2. Calcul des pourcentages d'inhibitions I%.....	30

Conclusion et perspectives

Références bibliographique

A decorative rectangular border with intricate, symmetrical scrollwork and floral patterns, framing the central text.

Introduction

Introduction Générale :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires, ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante (Boudjouref, 2011).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée, parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Olea europea* L, ce dernier est largement distribué surtout dans le centre de l'Algérie. Cette plante adaptogène qualifiée « d'alicament » a fait l'objet de plusieurs recherches (Loussert *et al.*, 1978), qui ont révélé sa richesse diversifiée en plusieurs composés secondaires qui lui procurent des propriétés biologiques : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et bien d'autres.

Les feuilles d'olivier, cette biomasse produite en grande quantité dans les pays méditerranéens, ne doivent pas être considérées comme un déchet encombrant, mais comme une richesse qu'on doit utiliser, car ils sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leur richesse en composés phénoliques, pouvoirs antioxydant, anticancéreux et antimicrobien qui les rendent très importants pour la santé et l'industrie agroalimentaire (Aouidi, 2012).

La valorisation de ces résidus est devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole (Aouidi, 2012).

Dans notre étude, nous allons évaluer l'activité biologique de l'espèce *Olea europea sylvestris*. l'analyse de cette espèce portera sur la recherche des principaux groupes chimiques et le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes et sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de l'olivier sauvage.

Les oliviers sauvages ou Oléastre (Zebbouj) et de variétés botaniques d'*Olea europea* (Hannachi *et al.*, 2013), sont utilisés en Algérie à des fins différentes. Les propriétés médicinales de cet arbre sont principalement attribuées aux feuilles utilisées en infusion ou en décoction (Arab & Bouchenak, 2013).

Les feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et Méditerranéens pour leurs composés bioactifs, telle que les composés phénoliques actifs dans les feuilles d'olivier non transformés comme l'Oleuropéine, l'hydroxytyrosol et d'autres flavonoïdes qui ont été identifiés (Armutcu *et al.*, 2011).

Le bassin méditerranéen reste une zone privilégiée par rapport au reste du monde pour la culture d'olivier grâce à son climat adéquat tant au niveau de la température qu'au niveau de l'hydrométrie (Ghedira, 2008).

Chapitre I



Etude

Bibliographique

Chapitre I : Partie bibliographique

I-L'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*)

I-1- Introduction

Les produits végétaux sauvages récoltés ont généralement une valeur soit de consommation, de subsistance ou commerciale. Parmi eux, on retrouve les arbres d'oliviers sauvages, connus sous le nom oléastres (*Olea europea* subsp *europaea* var *sylvestris*) (Campbell et Luckert, 2002).

Les populations d'oliviers sauvages sont distribuées dans différents environnements, avec des altitudes différentes et des sols qui peuvent être une source très importante de sa résistance aux stress abiotiques tels que la sécheresse, le sel, le vent et la baisse de température (Aranda *et al.*, 2011).

Pour les botanistes, l'olivier normal est appelé *Olea europea* subsp *europaea* var *europaea*, alors que l'oléastre est de variété *sylvestris*. L'olivier est cultivé tandis que l'oléastre est sauvage. L'olivier peut s'échapper des cultures et revenir à un état apparemment sauvage.

Depuis l'antiquité, l'olivier a façonné le paysage méditerranéen (Doveri et Baldoni, 2007). Il est connu chez les phéniciens depuis la haute antiquité ; il est désigné par le mot *Zeitoun*, ce mot est couramment employé dans le vocabulaire Amazigh (Boudribila, 2004). Cependant, l'olivier sauvage est désigné par le mot *Zebbouj*, berb (Jacques-Meunié, 1982) Cette appellation est celle utilisée dans notre langage.

L'olivier cultivé (*O. europea* L. var. *Sativa*) a été dérivé de la domestication de l'olivier sauvage ou l'oléastre (*O. europea* L. subsp. *sylvestris*), car ils sont semblables à la forme sauvage (Zohary, 1973).

I -2-Description botanique et classification

I -2.1. Description botanique

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen (Breton *et al.*, 2006), de 6 à 8m de hauteur à tronc tortueux à écorce grisâtre, crevassée peut atteindre 15 m de haut (Hans et Kothe, 2007), sa longévité multiséculaire est légendaire, la température demeure à plusieurs jours à 16 C° l'isotherme 12C° correspondrait à la limite de son air de culture (Ghedira, 2008).

L'olivier est un arbre facilement identifiable à son port à feuilles blanches à 4 pétales soudé en tube à la base (Claude et Françoise, 2007). Les feuilles, blanches argentées à la face inférieure, vertes grisâtres à la face supérieure, opposées, persistantes, coriaces, lancéolées.

Pour les fruits, olives, sont des drupes ovoïdes, vert puis noires à maturité, à noyau dur fusiforme (Ghedira, 2008). L'olivier exige un climat ensoleillé doux et sec, craint, l'excès de l'humidité, Il s'adapte aux conditions extrêmes de l'environnement, mais exige une intensité lumineuse importante (Claude et Françoise, 2007) (figure 01).



Figure 01 : *Olea europea L.*(Ghedira, 2008).

Dans le genre *Olea*, l'olive (*Olea europea L.*) possède la plus grande distribution géographique, et plusieurs sous-espèces ont été décrites (Médail *et al.*, 2001). L'aire d'extension de la culture de l'olivier (figure 01) définit l'aire biogéographique que de la sphère méditerranéenne et du climat méditerranéen (Ghedira, 2008). L'espèce *Olea L.* a été nommée par Linné. C'est l'unique espèce du bassin méditerranéen représentative du genre *Olea*.

I- 2-2- Classification :

L'olivier appartient à la famille des Oléacées. Son genre, *Olea* se compose de 33 espèces. L'olivier cultivé et l'oléastre coexistent aujourd'hui dans le bassin méditerranéen, L'oléastre (*Olea europea subsp. europea var. sylvestris*) est la forme sauvage (Breton et Bervillé, 2012).

La classification botanique de l'olivier, selon (Ghedira, 2008) :

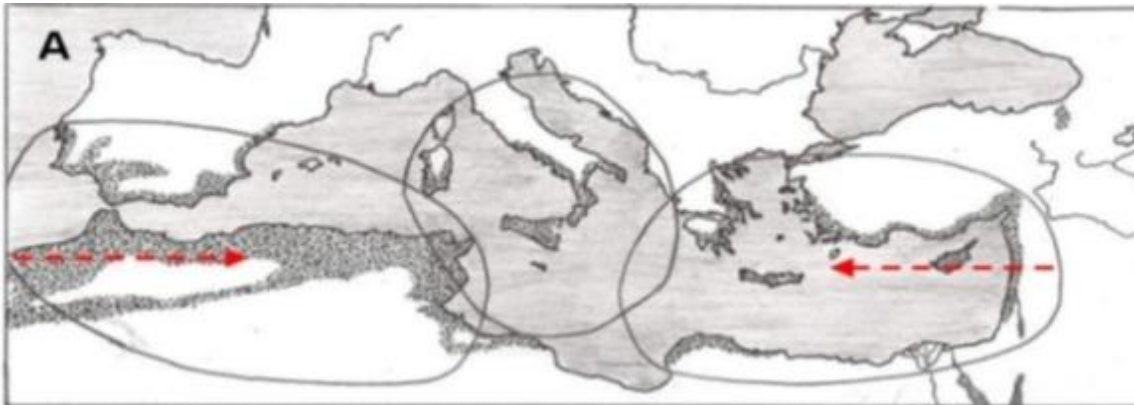
Embranchement :	Magnoliophyta
Sous-embranchement :	Magnoliophytina
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Dialypétales
Ordre :	Lamiales
Famille :	Oleaceae
Genre :	Olea
Espèce :	<i>Olea europea L</i>
Sous-espèce :	O. europea subsp. Europea var. Sylvestris

I -3. Répartition géographique

L'olivier (*Olea europea* subsp *europea* var *europea*) est l'une des plus anciennes cultures d'arbres agricoles dans le bassin méditerranéen avec une importance culturelle et économique remarquable.

En fait, à ce jour, plusieurs travaux se sont concentrés sur l'évaluation de la distribution et de la variabilité entre les olives cultivées et sauvages (Lavee, 2013). Plusieurs centaines de divers cultivars d'oliviers géographiquement existent dans le bassin méditerranéen. Ils se distinguent par la morphologie des feuilles, la forme de drupe et la couleur, la composition de l'huile et de la phénologie (adaptation avec les climats) (Breton *et al.*, 2008).

Les populations d'olivier sauvage sont limitées à quelques secteurs isolés des forêts natales de la Méditerranée figure 02(A), où le pollen peut être distribué par le vent et les oiseaux (Lumaret *et al.*, 2004). La sélection de nouveaux cultivars de la population de l'olivier sauvage devient problématique, même dans les régions où l'olivier est très répandu, dus à la diminution graduellement à cause de l'augmentation des oliviers domestiques dans les vergers figure 02(B). D'autre part, la pollinisation croisée entre les oliviers sauvages restants et les cultivars domestiques plantés pourraient conduire à une augmentation des olives sauvages (Lavee, 2013).



(A) olivier sauvage indiqué par les flèches rouges



(B) olivier en générale.

Figure 02: Répartition de l'olivier dans la méditerranée:(Lumaret *et al.*, 2004; Lavee., 2013).

I- 4-Composition chimique de Feuilles d'olivier sauvage

La matière sèche des feuilles d'olivier est de 58 ,6% (Tableau 01), sa composition en azotées totale est basse, elle est de 7,0 g /100M.S .Généralement elles contiennent des quantités remarquable en arginine, leucine et de la valine, mais des teneurs faibles en tyrosine et cystéine, pour la teneur en matières grasses (MG) elle est autour de 5 à 7% (Garcia *et al*, 2010).

Tableau 01 : Composition chimique des feuilles d'olivier sauvages " *Olea europea var sylvestris*"(Souad et Hassnaa, 2013).

Composition chimique	Teneurs %
Matière sèche	58.81
Matière grasse	3.21
Protéine	7.00
Histidine	3.80
Arginine	11.10
Arginine	4.17
Valine	9.02
Méthionine	1.82
Isoleucine	1.00
Leucine	5.33
Phénylalanine	4.31
Lysine	4.74
Acide glutamique	4.49
Serine	6.30
Glycine	4.59
Alanine	1.47
Les polyphénols totaux g	2.53
Flavonoïde	58
Oleuropéine	2.27-13.4

I -5- Utilisation traditionnelle

Les feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres. Ils contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs (Wainstein *et al.*, 2013).

Les feuilles d'olivier sont diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle modérée. L'extrait de feuilles est utilisé comme adjuvant dans les formes légères de diabète (au cours de la grossesse ou en cas d'obésité) (Ghedira, 2008). Elles sont aussi largement utilisées en tant que remède pour le traitement de la fièvre et d'autres maladies comme le paludisme, consommé sous

forme d'un extrait, d'un ensemble de poudre ou tisane.. Les feuilles possèdent également des propriétés antimicrobiennes contre certains micro-organismes tels que des bactéries, des champignons et mycoplasmes (Ghanbari *et al.*, 2012).

II-Polyphénol

II -1-Définition

Les polyphénols naturels sont des métabolites secondaires nécessaires à la défense de la plante contre les agressions extérieures. Ils sont produits en très faible quantité, et présentent une grande variété structurale (plus de 200 000 structures définies) (Hartmann, 2007) Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006).

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a une multitude d'activités biologiques dépendant de sa structure chimique, ou ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules (Lhuilier, 2007).

L'activité antioxydante des polyphénols est reconnue et pourrait expliquer leur rôle potentiel dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaire .

II -2- Les principales classes des composés phénoliques

Le terme de composés phénoliques couvre un groupe très vaste et diversifié de produits chimiques. Le Tableau 02 montre quelques classes des polyphénols en fonction du Nombre d'atomes de carbone dans la molécule.

Tableau 02: Quelques classes des polyphénols (Macheix *et al.*, 2005 ; Sarni-Manchado et Cheyneir, 2006).

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe
6	C6	Phénol simples Bensoquinones
7	C6-C1	Acide phénoliques
8	C6-C2	Acétophenones Acides phénylacétique
9	C6-C3	Acide hydroxycinnamique, Phénylropens, coumarines, isocoumarines
10	C9-C4	Naphtoquinones
13	C6-C1-C6	Xanthonnes
14	C6-C2-C6	Stilbens anthrathinones
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes, isoflavonoïdes
18	(C6-C3) ₂	Lignanes
30	(C6-C3-C6) ₂	Bi flavonoïdes
N	(C6-C3)	Lignines
	(C6)	Catichlmelagnines
	(C6-C3-C6)	Tanins condensés

II.3. Activité biologique des polyphénols

II.3.1. Polyphénols en tant qu'antioxydants

Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences. De manière générale, le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre l'exposition à des pro-oxydants et la capacité de détoxification des systèmes de défense antioxydant (enzymatique et non-enzymatique) (figure 03).

En conséquence, des dégâts souvent irréversibles interviennent dans la cellule : modifications oxydantes au niveau des lipides (AGPI), de l'ADN et des protéines. A des degrés variables, le stress oxydant est impliqué dans le développement des maladies cardiovasculaires, des cancers, du diabète ou encore des maladies neuro-dégénératives (Afonso *et al.*, 2007 ; Pincemail *et al.*, 2007).

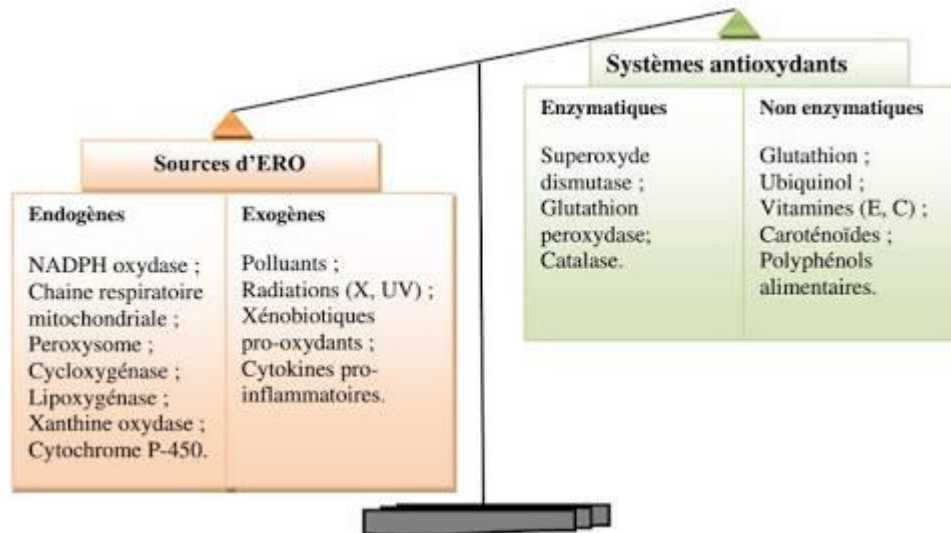


Figure 03 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Nkhili, 2009).

Les polyphénols, particulièrement abondants dans une alimentation riche en produits végétaux, pourraient jouer un rôle protecteur important. Tandis que les propriétés antioxydantes des polyphénols corroborent l'hypothèse d'un rôle positif dans la nutrition humaine et la prévention de maladies, certains auteurs invoquent l'activité pro-oxydante de ces composés *in vitro* (Fukumoto & Mazza, 2000). Seuls les polyphénols les plus réducteurs peuvent manifester cet effet en entrant dans des cycles redox qui génèrent des ERO. La feuille d'oléastre et son extrait est l'un d'un certain nombre d'espèces de plantes médicinales qui a été et continue.

II.3.2. Polyphénols et santé

Des effets protecteurs de la consommation d'aliments riches en polyphénols vis-à-vis de différentes pathologies (maladies cardiovasculaires, cancers, diabète...) ont été mis en évidence tant d'un point de vue épidémiologique qu'expérimental (Gaston, 2016). De nombreuses études se sont penchées sur l'analyse du mode d'action des polyphénols dans la prévention de ces pathologies, qui met en cause les propriétés réductrices des polyphénols et/ou leur affinité pour une grande variété de protéines (enzymes, récepteurs, facteurs de transcription). Les activités biologiques des polyphénols ont souvent été évaluées *in vitro*, avec des protéines purifiées, des extraits cellulaires et des cellules entières en culture (Vogel *et al.*, 2015).

La signification de ces effets biologiques dans le domaine de la nutrition humaine est encore loin d'être établie d'autant qu'ils mettent presque toujours en jeu les formes natives ou aglycones de polyphénols et non pas les formes conjuguées circulantes.

Pour progresser dans la démonstration *in vivo* des effets santé des polyphénols, une meilleure connaissance de la biodisponibilité des polyphénols (leur devenir après absorption éventuelle au travers de la paroi intestinale) et une combinaison d'études cliniques pertinentes sont indispensables. Le développement récent de nouveaux outils et méthodes pourrait permettre des avancées importantes dans les années à venir (Borel, 2014). C'est notamment le cas de la nutriginomique qui vise à mettre en évidence les gènes dont l'expression est régulée (à la hausse ou à la baisse) par les composants de l'alimentation. La difficulté réside ensuite dans l'analyse et l'interprétation de ces données biologiques complexes (Gaston, 2016).

II.3.3. Intérêts thérapeutiques des polyphénols :

La principale caractéristique des polyphénols sont des agents antioxydants très puissants. En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Cette même activité antioxydante permet aux polyphénols de réguler les radicaux libres bon-mauvais, comme l'oxyde nitrique qui favorise bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules de ce dernier (Akroum, 2010).

L'activité antioxydante des polyphénols peut s'exercer sur les transporteurs des lipides du sang et tout particulièrement sur le « mauvais » transporteur du cholestérol (les LDL ou les lipoprotéines de faible densité).

Les polyphénols empêchent ainsi la formation des LDL oxydés, formation qui rend place lors d'états pathologiques variés caractérisés par un stress oxydatif (Descheemaeker, 2003). Ils aident à combattre l'inflammation et réduisent la fragilité des capillaires, ils réduisent les effets du diabète et protègent la peau contre les rayons ultraviolets en diminuant les dommages causés par les rayons solaires (Spiller, 2007). De nombreuses études épidémiologiques montrent qu'une alimentation riche en polyphénols diminue le risque des maladies chroniques (Nève, 2002) dont les plus importantes sont citées ci-dessous :

1. Polyphénols et cancer

Parmi les propriétés biologiques intéressantes des polyphénols, la prévention du cancer. En effet, un certain nombre de recherches menées *in vitro* et *in vivo* ont montré que les polyphénols pourraient être utilisés comme des agents de prévention des différentes maladies cancéreuses (Stagos *et al.*, 2012).

Les effets inhibiteurs du thé vert et noir dans le traitement du cancer ont largement été étudiés. Les polyphénols du thé de type flavan-3-ol sont des composés bioactifs puissants qui interfèrent avec l'initiation, le développement et la progression du cancer par des processus critiques (Lambert et Elias, 2010).

Ils ont la capacité d'interrompre ou inverser le processus de cancérogenèse en agissant sur les molécules de réseau de signalisation intracellulaires impliquées dans l'initiation et / ou la promotion d'un cancer pour arrêter ou inverser la phase de progression du cancer. Les polyphénols peuvent également déclencher l'apoptose dans les cellules cancéreuses à travers la modulation d'un certain nombre d'éléments principaux en signal cellulaire (Link *et al.*, 2010).

2. Polyphénols et maladies cardiovasculaires

Diverses études épidémiologiques ont montré qu'il existe une corrélation inverse entre la consommation d'aliments riches en polyphénols et le risque de développement des maladies cardiovasculaires (Visiol *et al.*, 2000). Au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) évitant ainsi l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguins et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués).

Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose, qui induit l'occlusion des artères. Ainsi en prévenant athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques d'infarctus du myocarde (Akroum, 2010).

Selon des études épidémiologiques, un plus grand apport de flavonoïdes tirés des fruits et des légumes s'associe à une diminution du risque d'apparition de maladie cardiovasculaire. Les mécanismes expliquant cette observation ne sont pas clairs, mais d'après les données probantes, les flavonoïdes exerceraient leurs effets par la diminution des facteurs de risque cardiovasculaire.

D'après de récentes données probantes, certains polyphénols sous forme purifiée, y compris le resvératrol, la berbérine et la naringénine, ont des effets bénéfiques sur la dyslipidémie chez les modèles humains ou animaux, un traitement à la naringénine atténuait l'athérosclérose en corrigeant la dyslipidémie (Mulvihill et Huff, 2010).

3. Polyphénols et inflammation

L'inflammation est la réponse principale de l'organisme à une agression et est précisément régulée afin de limiter les atteintes possibles des structures de l'organisme. Cependant, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique. La plupart des pathologies chroniques possèdent une composante inflammatoire.

C'est le cas de l'obésité, du diabète de type II, des maladies cardiovasculaires et du cancer. Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation.

De nombreuses études ont pu montrer que les polyphénols et leurs métabolites agissaient également comme des modulateurs des voies de signalisation de l'inflammation. Les études menées chez l'homme sain ont montré que le suivi d'un régime riche en fruits et légumes était inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation dans le plasma, et que la consommation d'anthocyanes était associée à la diminution du taux de cytokines circulantes (Lenoir, 2011).

Des recherches récentes ont démontré que les flavonoïdes, notamment les flavonols, peuvent prévenir de la douleur musculaire en accélérant la réparation des tissus au niveau moléculaire. De manière spécifique, ils inhibent l'enzyme NOS responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique, qui est déclencheur chimique de l'inflammation.

D'autres études, affirment l'action inhibitrice de ces flavonoïdes, plus particulièrement la lutéoline, l'apigénine, catéchine sur la cyclo-oxygénase enzyme synthétiques des molécules impliquées fortement dans le processus inflammatoire (Scalbert *et al.*, 2012).

III- Les flavonoïdes

III-1- Définition

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005). Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base: deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones (fig.04) liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (Tapas *et al.*,2008).

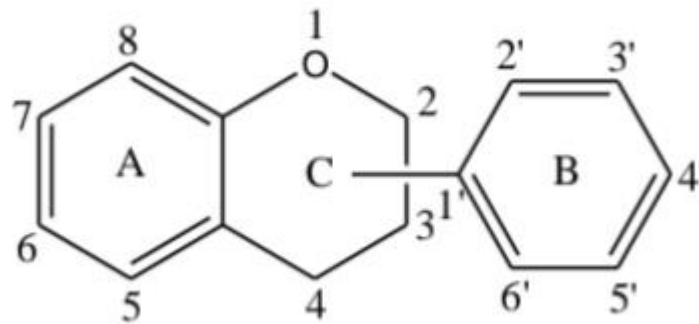


Figure 04: Structure de base des flavonoïdes (Tapas *et al.*,2008).

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes, et la liste ne cesse de croître. C'est à cause de l'apparition de nombreux modèles de substitution ; les substituants primaires (groupe hydroxyle) peuvent eux-mêmes être substitués (glycosylés ou acylés) donnant parfois des structures très complexes (D'Archivio *et al.*,2012).

Les principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes (Sadasivam et Thayumanavan, 2003). Ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle.

III-2-Effets biologiques des Flavonoïdes

III-2.1- Effets antioxydant et pro-oxydant

Les flavonoïdes sont des composés avec une activité antioxydante prononcée (Hodek *et al.*, 2002). Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur Production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Boudiaf, 2006).

Bien que les ERO participent à de nombreuses fonctions physiologiques, elles contribuent également à la pathogenèse d'un grand nombre de maladies qui possèdent un caractère radicalaire, le diabète sucré, les maladies cardiaques, la polyarthrite rhumatoïde, et neurodégénératives, pathologies articulaires, cancérogène, peuvent également accélérer le processus de vieillissement.

Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène. Physiologiquement, les radicaux libres oxygénés figurent parmi les espèces radicales les plus importantes (Migdal et Serres, 2011 ; Pisoschi et Negulescu, 2012).

Les flavonoïdes sont des antioxydants mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro oxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène.

En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro*. Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes (Milane, 2004).

III.2.2 Effets Cardiovasculaires

De nombreux travaux suggèrent que les flavonoïdes participent à la prévention des maladies cardiovasculaires ; Études faites par plusieurs auteurs (Crozier *et al.*, 2010). Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas.

Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de

l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués).

En inhibant l'oxydation des LDLs, ils limitent leur incrustation dans les parois des artères qui contribue à l'épaississement des parois et à réduire le flux de sang qui parvient au niveau des tissus. Les flavonoïdes agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (Scalbert *et al.*, 2005).

III.2.3 Autres effets Biologique

Les flavonoïdes seraient impliqués dans la prévention des cancers, Ajoutés au régime de divers animaux de laboratoire, ils limitent le développement de tumeurs induites expérimentalement par exposition à des agents carcinogènes.

Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc...) à tous les stades de la cancérogenèse (Petti et Scully, 2009). Au stade d'initiation, ils agissent y comme agents bloquants en empêchant l'activation de pro-carcinogènes, en piégeant les mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation des ADNs mutés. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agents supprimeurs de tumeurs (Ho *et al.*, 2007).

Les mécanismes impliqués peuvent là encore être très variés: prévention du stress oxydant, inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose (Petti et Scully, 2009). Inhibition de l'angiogenèse. Les preuves de leurs effets chez l'homme restent cependant encore insuffisantes.

Chapitre II



Matériel

Et Méthodes

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1. Origine de la plante

Des feuilles d'oléastre ou feuille d'olivier sauvage connu sous le nom vernaculaire «feuilles de Zebouj » ont été récoltés durant le mois de mars 2020 au niveau de oued rhiou (wilaya de Relizane) (figure 05).

La parties aérienne de la plante est utilisée fraîche après la séparation des différentes parties de la plante.



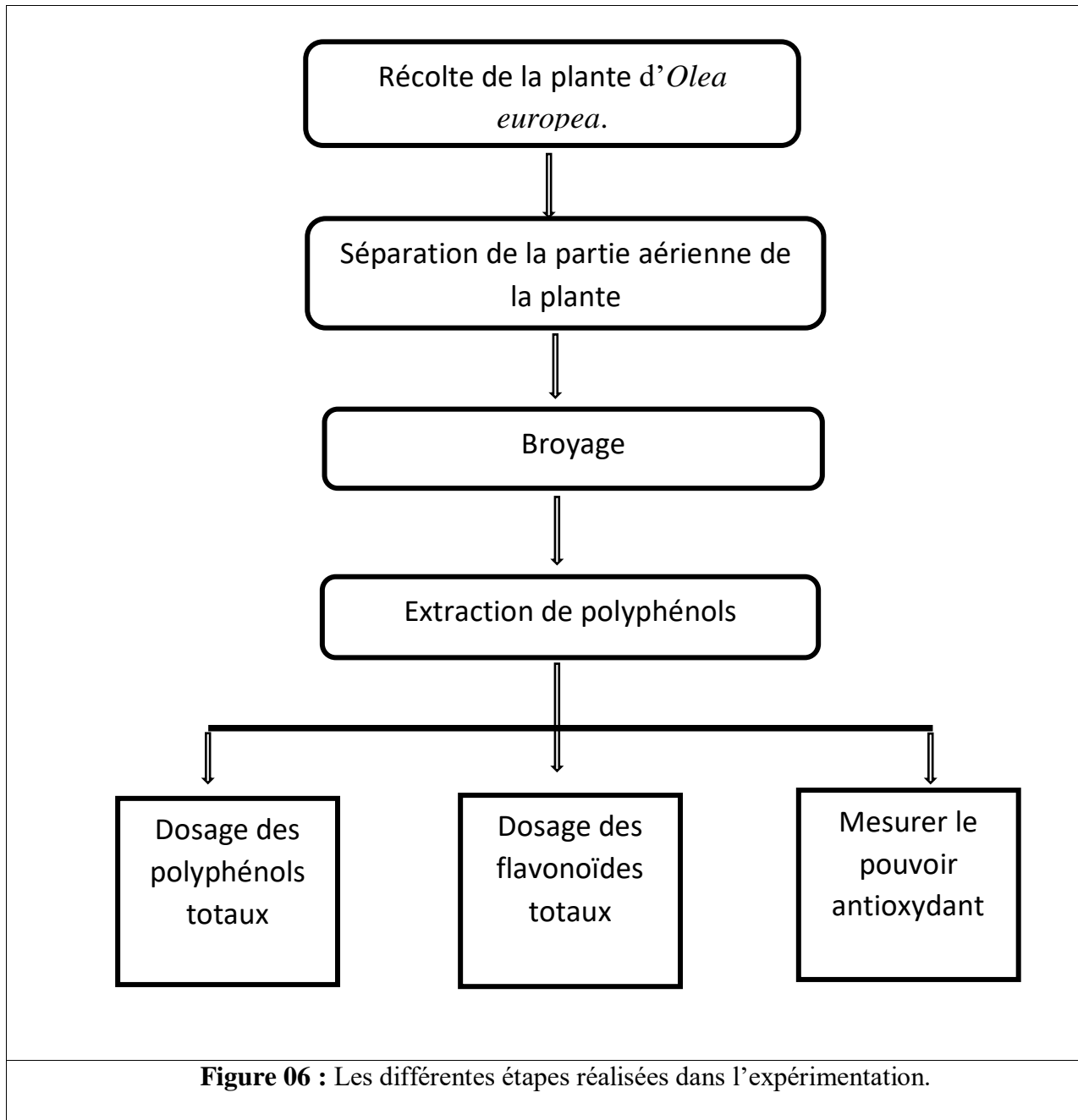
Figure 05 : *Olea europea* (originale).

II.2.Objectifs de l'expérimentation

L'objectif général de ce travail est de déterminer le contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des feuilles fraîches broyées d'*Olea europea*.

Ensuite mesurer le pouvoir antioxydant des composés phénoliques contenu dans l'extrait de la plante étudié.

Les étapes de l'expérimentation sans présentées dans la figure 06:



II.3. Extraction des polyphénols

l'extraction a été réalisée selon la méthode d'Arnok *et al.*, 2012 , un échantillon de 400g de feuilles fraîches broyées de *Olea europea* a été mélangée avec 1000 ml de méthanol pure sous agitation pendant 30 minute à température ambiantes et à l'obscurité pendant 24h.

Deux extractions ont été effectuées, la première avec le méthanol et la deuxième avec l'acétate d'éthyle. Les deux extraits ont été par la suite filtrés avec du papier Whitman (N°4) et combinés, le mélange a été évaporé avec un rotavapor à une température de 45°C (fig.7).



Une masse de 400g



Macération



solvant méthanolique 1000 ml



agitation pendant 30 min



L'obscurité pendant 24h



filtration



solution + résidus



Éthyle acétate



Agitation



filtration



On mélange les 2 solutions



Évaporation



Produit fini

Figure 07 : Les étapes d'extraction de polyphénols.

II.4. Détermination de rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction des polyphénols a été exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$RT(\%) = (P1 - P2/P3) \times 100$$

P1: poids du ballon après évaporation ;

P2: poids du ballon avant évaporation ;

P3: poids de la matière végétale de départ

II.5. Dosage de polyphénols totaux

II.5.1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été effectuée en lisant l'absorbance de la différente concentration de 0,1 au 10 µg/l, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale à une longueur de 725 nm.

II.5.2. Calcul des polyphénols totaux

Le contenu en polyphénols totaux d'*Olea europea* a été déterminé selon la méthode colorimétrique de Gufinger (1981) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu

Un volume 100µl de l'extrait est mélangé avec 4.9 ml d'eau distillée et 500µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3min, 1 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) est additionné et le mélange est complété jusqu'à 10 ml.

Le mélange est agité et incubé à l'obscurité 30 min à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 725 nm. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par (mg/g d'extrait).

$$\text{Polyphénols} = a \cdot f/C$$

a: Concentration de Polyphénols (µg Eq acide gallique/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution (×22).

C: Concentration de l'extrait.

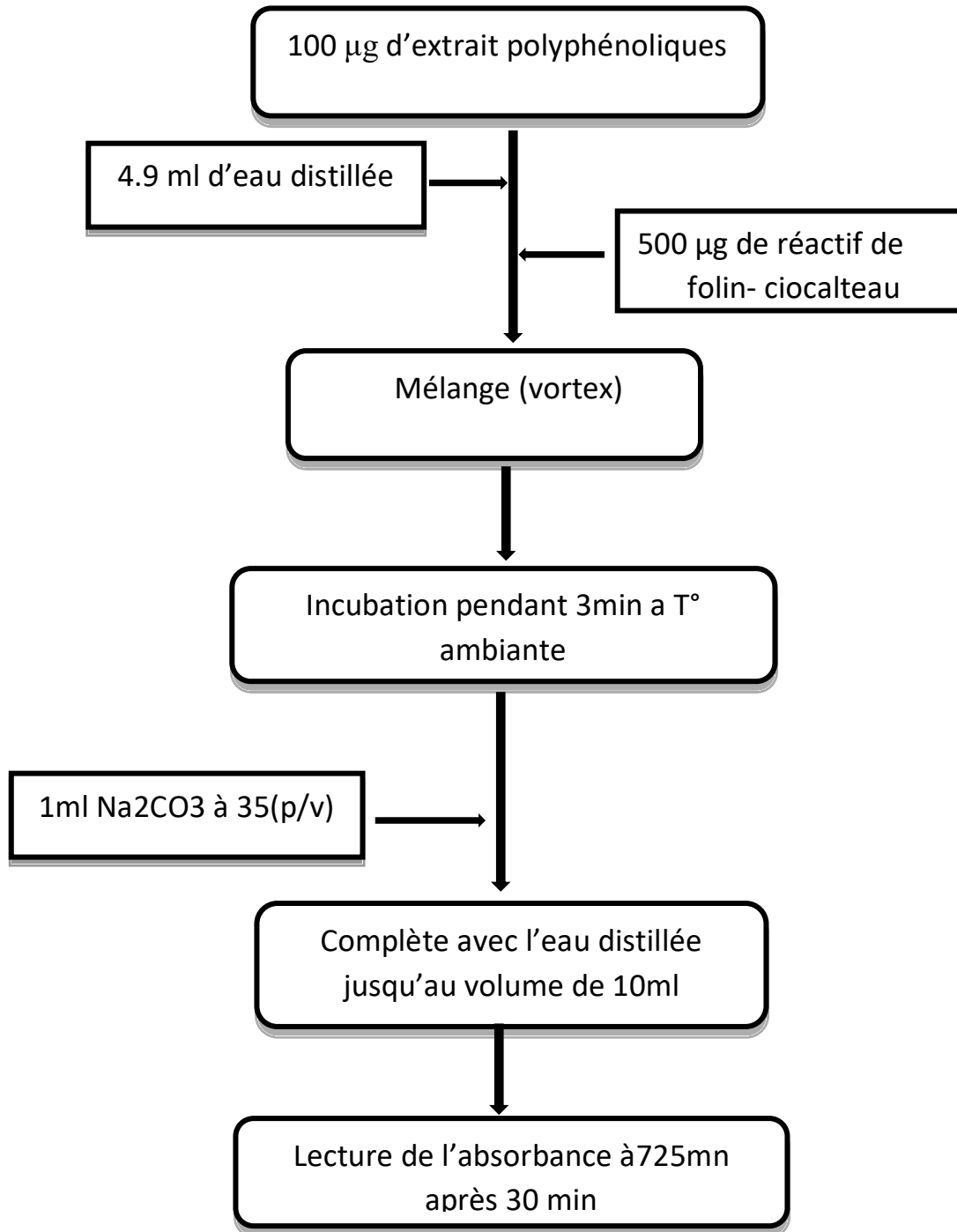


Figure 08 : Les étapes de dosage des polyphénols totaux.

II.6. Dosage des flavonoïdes totaux

II.6.1. Courbe d'étalonnage de la quercétine :

La courbe d'étalonnage de la quercétine a été effectuée en lisant l'absorbance des différentes concentrations de 0.1 jusqu'à 0.001 g/l à une longueur d'onde de 415nm.

II.6.2. Calculs flavonoïdes totaux

Le dosage est réalisé selon la méthode colorimétrique décrite par [Arvouet-Grand et al. \(1994\)](#). 500µl de chaque extrait est mélangé avec 500µl de solution de chlorure d'aluminium AlCl₃ à 2%. Ce mélange est agité et incubé 10 min à température ambiante en obscurité. Ensuite l'absorbance est mesurée à 415nm.

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents Quercétine par mg d'extrait sec (µg EQ/mg d'extrait).

$$\text{Flavonoïdes} = \frac{A \cdot f}{C}$$

A : Concentration de flavonoïdes (équivalent de catéchine/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

F : Facteur de dilution (×10).

C : Concentration de l'extrait.

VI. mesure du pouvoir antioxydant d'extrait d'olea europea :

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante, *in vitro* et *in vivo* des composés phénoliques purs ou d'extrait. Dans notre étude nous avons utilisé des tests chimiques qui mesurent la réduction du radical stable le DPPH (2,2-Diphényl- 1-picrylhydrazyl) ([Sharma et al., 2009](#) ; [Bourkhiss et al., 2010](#)).

VI.1.Évaluation de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH

La méthode du DPPH utilise un radical relativement stable, dont les antioxydants réduisent ce radical ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picrylhydrazine (Figure 09). Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage

d'inhibition du DPPH ; dont la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants donneur de proton présents dans l'échantillon (Sanchez Moreno, 2002 ; Parejo *et al.*, 2003).

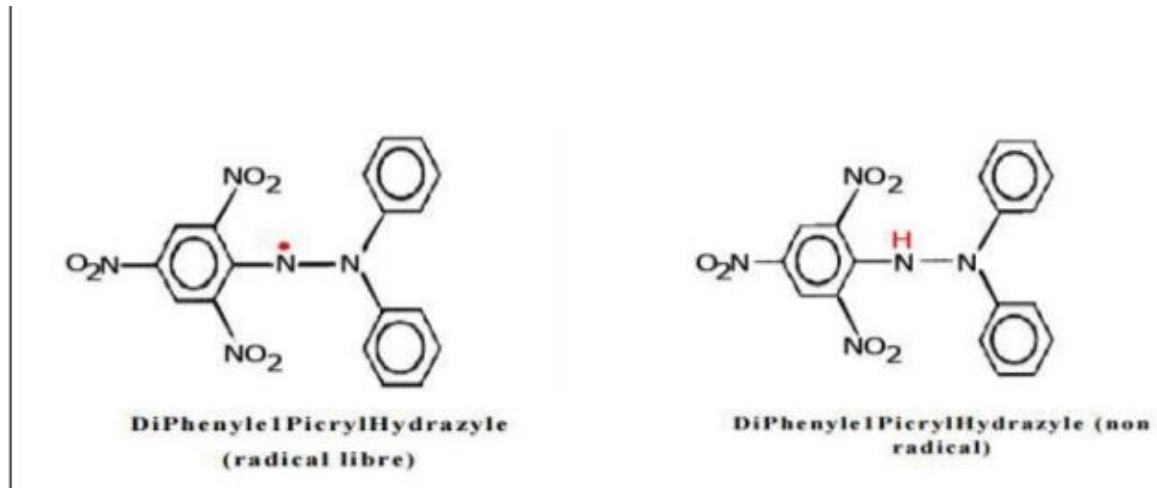


Figure 09: Structure Chimique de radical libre et non radical (Molyneux, 2004).

VI.2. Mode opératoire :

Pour évaluer l'activité antioxydant, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2- diphenyle - 1-picrylhydrazine) selon le protocole de (Dangles *et al.*, 1999).

VI.2.1.-Préparation du DPPH :

4,929 mg de DPPH (2,2- diphenyle - 1-picrylhydrazine) est dissoute dans 50 ml du méthanol pure (CH₃-OH) pour obtenir une solution de DPPH.

VI.2.2.préparation des échantillons :

0,2 g de extrait est dissout dans 2ml de méthanol (CH₃-OH), à partir de cette concentration ; on prépare 4 tubes moins concentré que le premier ; on prépare (100 ; 50 ; 20 ; 10) en ajoutant 500µL de DPPH.

Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de lumière à température ambiante pendant 30 minutes, la lecture de la densité optique à 517 nm.

Pourcentage D'inhibition du radical DPPH

$$I\% = ((Ac - At) / Ac) * 100$$

Ac : absorbance du contrôle négatif.

At : absorbance de l'extrait.

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations. Le mécanisme réactionnel du test **DPPH** est présenté dans la figure 10.

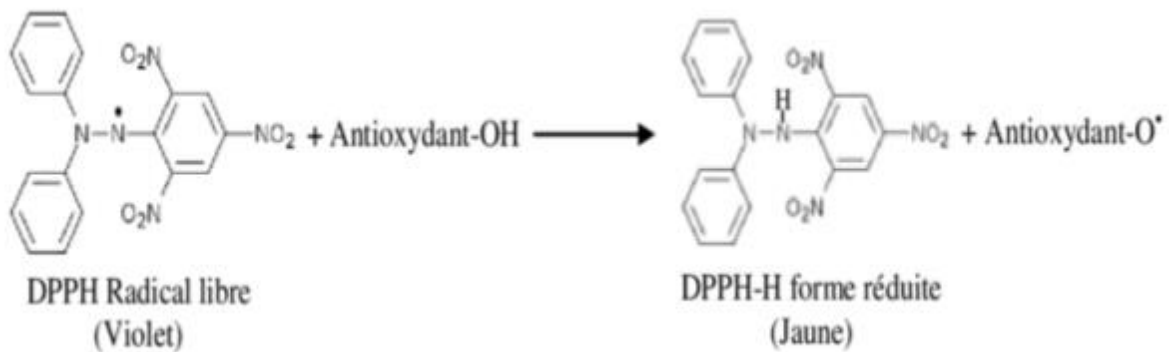


Figure 10 : Mécanisme réactionnel du test **DPPH** (Molyneux, 2004).

La valeur **IC50** est la concentration d'extrait qui assure la réduction de **50%** du **DPPH**, déterminée graphiquement par la régression linéaire, pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration (Samarth *et al.*, 2008).

VI.3. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

On prépare des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) de différentes concentrations et le même protocole est suivi pour les échantillons. Un spectrophotomètre (UV- visible) à une longueur d'onde 517 nm est utilisé pour la lecture des résultats.

Chapitre III



Résultats

ET Discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Rendement d'extraction d'*Olea europea* :

Le rendement de l'extraction se calcule par rapport la masse de polyphénols extraits et la masse de la matière premier végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante: $RT(\%) = (P1 - P2/P3) \times 100$

P1: poids du ballon après évaporation ;

P2: poids du ballon avant évaporation ;

P1: poids de la matière végétale de départ

Avec :

P1:200 g

P2:53 g

P3:400 g

Nous avons calculé le rendement de l'extraction, le résultat obtenu est représenté dans la figure suivante :

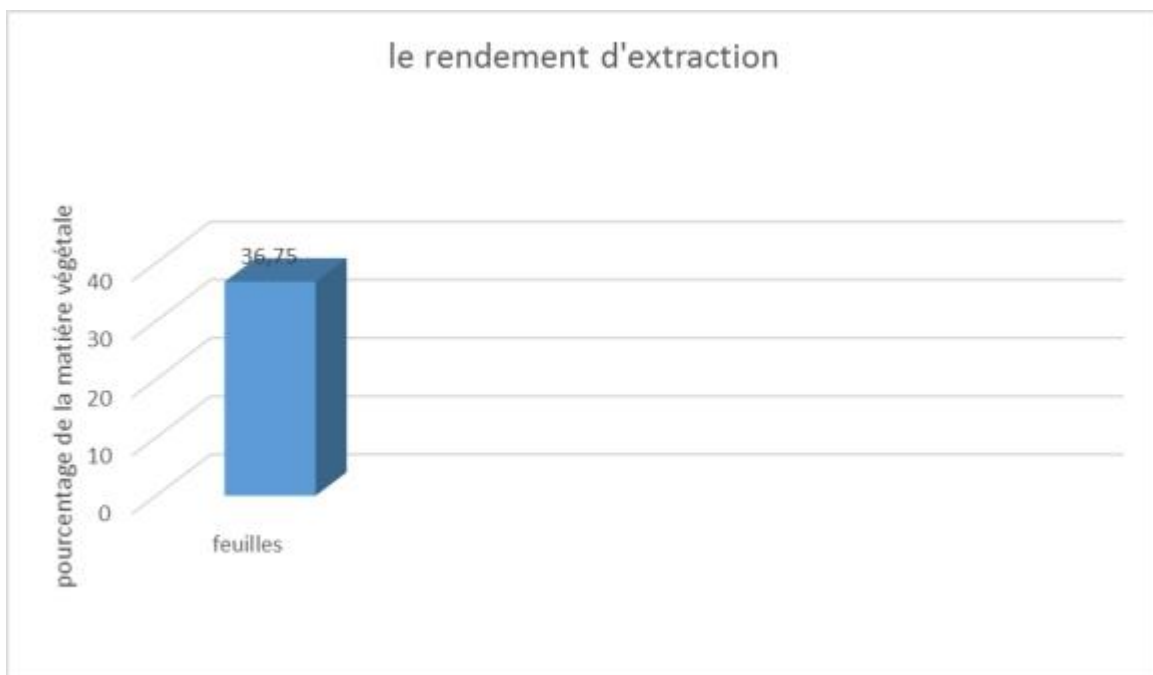


Figure 11 : Rendement d'extraction d'*olea europea*.

D'après le résultat obtenu et qui est résumé dans l'Histogramme ci-dessus (figure 11), la valeur de rendement d'extraction de l'extrait *Olea europea* est de 36,75%, supérieur à celui obtenue par (Attabi, 2012).

Le calcul de rendement d'extraction repose sur plusieurs paramètres : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Santos *et al.*, 2012). la période et le lieu de récolte influent sur le rendement d'extraction selon (Touaibia *et al.*, 2014).

I.2. Quantification des composés phénoliques

I.2.1. La teneur en polyphénol totaux

Les méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre VU-visible, ont été utilisées pour l'évaluation de la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale. la macération et le solvant utilisé sont les principaux critères à prendre en considération pour une extraction rentable (Turkmène *et al.*, 2007).

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales (Abdel-hameed, 2009).

La teneur en phénols totaux dans l'extrait est exprimée en μg . Eq acide gallique par mg d'extrait. Pour cela la courbe d'étalonnage réalisée est présentée dans la figure 12.

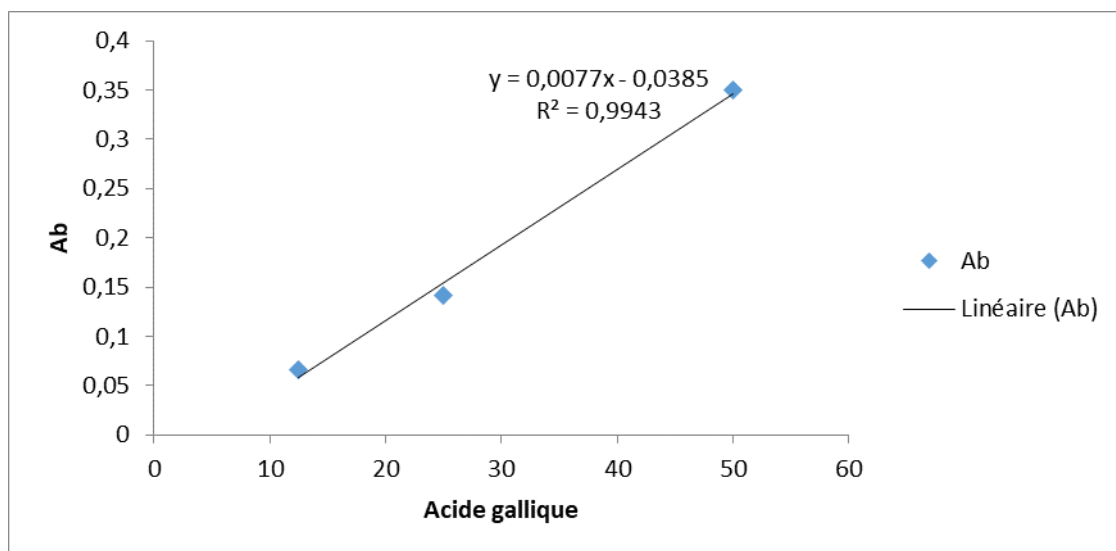


Figure 12 : Courbe étalon de l'acide gallique.

Le dosage des polyphénols a été réalisé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu à 2% est largement utilisée pour la quantification globale groupement hydroxyyles des composés phénoliques et les acides phosphotungastique et molybdique du réactif de Folin-Ciocalteu. La réduction de ce dernier provoque le changement de sa couleur du jaune verdâtre au bleu.

En effet, le réactif peut réagir avec des protéines, des sucres, l'acide ascorbique et des composés soufrés, ce qui peut influencer les résultats obtenus selon (Singleton et Rossi, 1965). En ce qui concerne notre étude, l'analyse des composés phénoliques montre que la teneur en Polyphénols enregistrée dans cette étude est de **89.41 µg. EA** par mg d'extrait.

Ces résultats sont supérieurs à ceux rapporté par (Madani *et al.*, 2017) qui ont réalisé des dosages des polyphénols et recherche d'activité anti-radicalaire de feuilles d'olives, ont montré que les teneurs en composés phénoliques et surtout le Polyphénol, changent de façon considérable d'une espèce à une autre et à l'intérieur de la même espèce, à cause des facteurs extrinsèques (température, climat...), génétiques (la variété et l'origine d'espèces), physiologiques (le degré de maturation des plant, les organes utilisés) et de la durée de stockage (Ksouri *et al.*, 2009).

I.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le contenu en flavonoïdes est également estimé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (Bahorum, 1997 ; Djeridane *et al.*, 2006). La Quercétine considérée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage et les calculs de la teneur de flavonoïde dans notre extrait, Les résultats sont exprimés en µg équivalent quercétine par mg d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (figure 13).

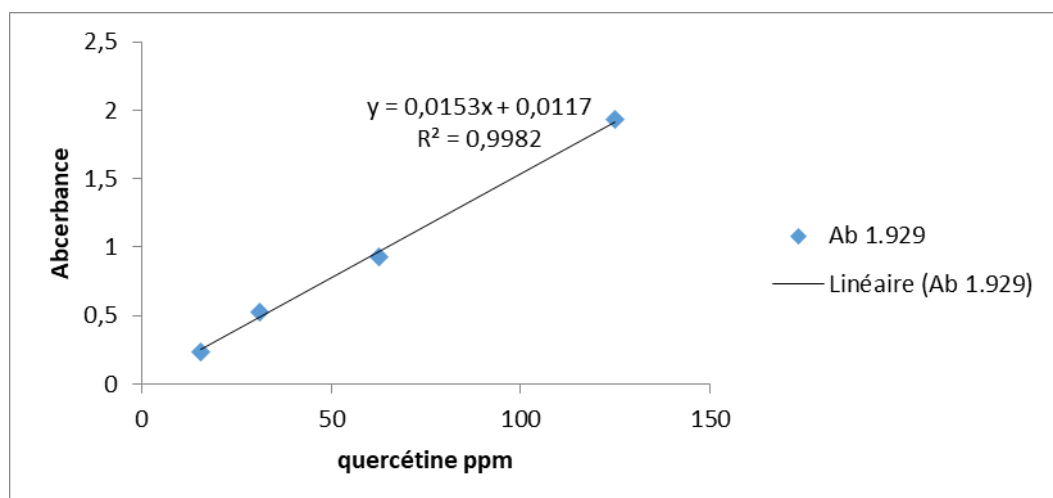


Figure 13: Courbe étalon de quercétine.

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage à la quercétine. La teneur en flavonoïdes enregistrée dans cette étude est de **66.06** µg EQ/mg extrait.

Selon (Ravel *et al.*, 2005), les méthodes de conservation et d'exposition à la lumière des plantes peuvent affecter la teneur en flavonoïdes. Par ailleurs, il est rapporté que les teneurs en flavonoïdes dans les plantes varient pour plusieurs raisons à savoir l'espèce, la saison et ainsi que les conditions géographiques .

Certains auteurs ont montré que la feuille d'olivier est caractérisée par sa richesse en composés bioactifs : les polyphénols totaux (**89.41** mg/g) (Gracia *et al.*, 2003), flavonoïdes (**66.06**mg/g) (Lee *et al.*, 2009). La composition des feuilles d'oliviers en composés bioactives change selon son origine, conditions climatiques, le mode de séchage, le temps, les types de solvants d'extraction et les conditions de stockage (Altiok, 2010).

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) et la méthode d'extraction (Lee *et al.*, 2003). La méthode de quantification peut également influencer l'estimation de la teneur des polyphénols totaux et flavonoïdes (Lee *et al.*, 2003).

Tableau 03 : Teneurs en phénols totaux, et en flavonoïdes de l'extrait brut d'*Olea europea*.

	Phénols totaux (µg EQ/mg extrait)	Flavonoïdes (µg EQ/mg extrait)
Extrait Brut	89.41	66.06

D'après ces résultats nous constatons que *Olea europea* est riche en phénols totaux (**89.41 µg EQ/mg extrait**) par rapport les flavonoïdes totaux (**66.06 µg EQ/mg extrait**). Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, réduit les possibilités de comparaison entre les études (Trabelsi *et al.*, 2010).

De ce fait le méthanol reste le meilleur solvant pour extraire ces composés, cette affinité est appuyée par plusieurs travaux (Abdille *et al.*, 2005).

I.3. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits et fractions de la feuille d'oléastre a été effectuée par une méthode. Cette méthode est basée sur l'effet piègeur des radicaux libres, évalué par le test de piégeage du radical libre DPPH.

I.3.1. Test de réduction du radical stable le DPPH

L'activité antioxydante est évalué en utilisant la méthode du test DPPH. le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydazyle est un radical de couleur violacée qui absorbe dans l'UV- visible à la longueur d'onde de 517 nm. Il fut l'un des premier radicaux libres utilisée pour étudier l'activité antioxydante des composée phénolique.

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron s'apparie.

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-H 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm.

Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu éthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non coûteux.

L'étude quantitative de vitamine C d'*Olea europea*, est réalisée par des dosages spectrophotométrie. La teneur en vitamine C est exprimé en microgramme d'équivalent l'acide ascorbique par gramme d'extrait (figure 14).

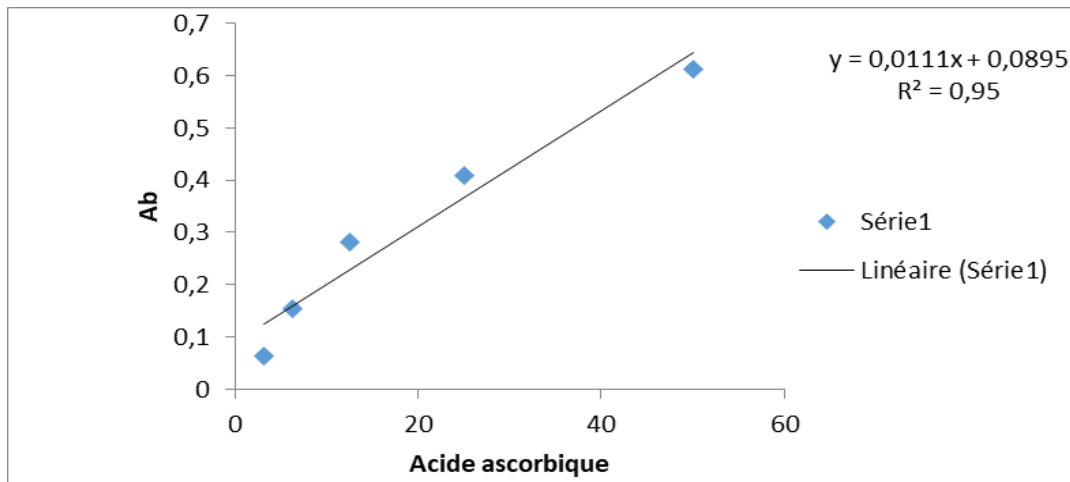


Figure 14 : Courbe étalon d'acide ascorbique.

I.3.2 .Calcul des pourcentages d'inhibitions I%

Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait méthanolique de l'oléastre *Olea europea* sont illustrés dans le tableau 04 et la figure 15.

Ces résultats sont comparés aux pourcentages d'inhibition par un puissant antioxydant (acide ascorbique) utilisé dans cette étude comme témoin positif (figure 15).

D'après le tableau 04 et la figure 15, le pourcentage d'inhibition de l'extrait varie entre **(28,12%)** et **(93,96%)**. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé **(93,96%)** est enregistré avec la concentration de l'extrait méthanolique **(3.12µg /ml)**. Par ailleurs, il est constaté, une augmentation du pourcentage d'inhibition proportionnellement à la concentration jusqu'à 15%.

Au-delà de cette concentration une diminution du pourcentage d'inhibition **(28,12%)** proportionnellement à l'augmentation de la concentration **(50µg/ml)** de l'extrait méthanolique est enregistrée. Comparativement à la littérature, les travaux de (Tefiani, 2015) a obtenu le plus grand pourcentage d'inhibition (7%) avec la concentration (1mg/ml).

Les valeurs obtenues pour notre espèce ne sont pas en accord avec ces résultats. Ceci est peut être dû à l'effet espèce qui peut influencer l'activité anti radicalaire.

Nous calculons les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I\% = ((Ac - At) / Ac) * 100$$

Ac : Absorbance du contrôle négatif.

At : Absorbance de l'extrait.

Les résultats sont représentés sur la Figure 15 et le Tableau 04.

Tableau 04: Les pourcentages d'inhibition de l'extrait et l'acide ascorbique:

Concentrations testées ($\mu\text{g/ml}$)	50	25	12.5	6.25	3.12
Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique (%)	94.51	93.96	79.25	98.07	97.80
Pourcentage d'inhibition de l'extrait DPPH (%)	28.12	58.84	77.90	92.18	93.96

Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH suit une Équation linéaire de type :

$$y = -2,308x + 98,97.$$

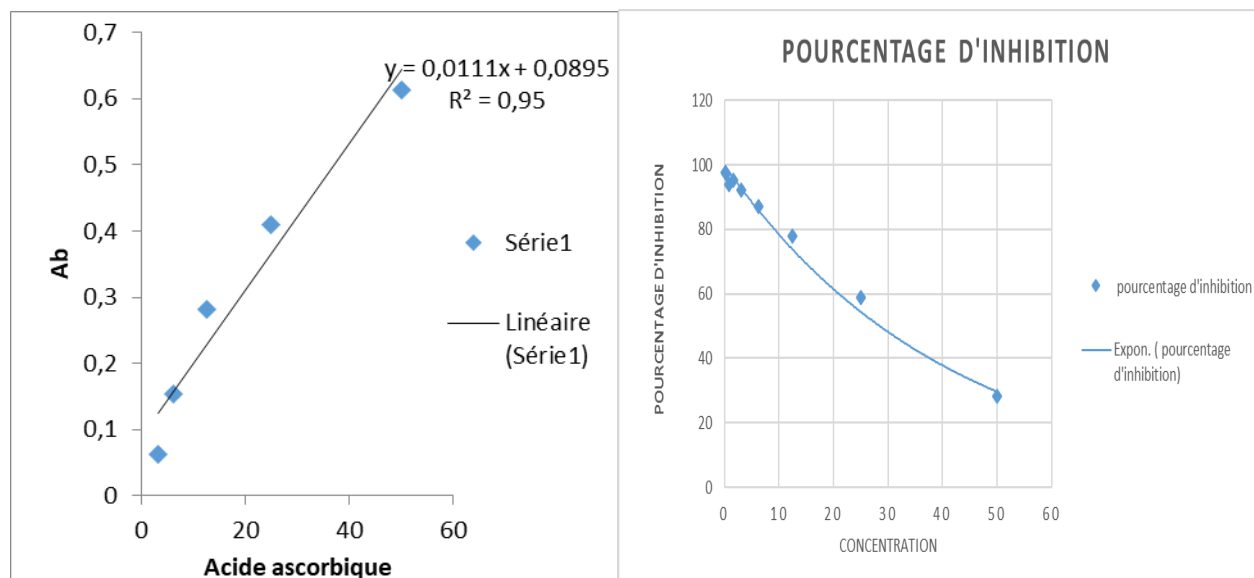


Figure 15 : Effet anti-radicalaire des extraits *Olea europea* sur la réduction du DPPH effet de l'acide ascorbique.

I.3.3 Évaluation de l'IC50

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée.

La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, est calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extrait préparé.

La concentration de l'acide ascorbique qui inhibe 50% du DPPH (IC50) est évaluée graphiquement. L'acide ascorbique présente donc un faible (IC50), ce qui est en accord avec le pouvoir anti-radicalaire élevé obtenu.

L'IC50 est déterminée à partir d'une courbe de pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH enregistrée dans cette étude est 21.66 µg /ml, cette valeur reste nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique (4496,44µg/ml).

A decorative rectangular border with intricate, symmetrical scrollwork and floral patterns, framing the central text.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore en majorité sous exploitées dans le domaine médical.

Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydant d'origine naturelle doit être à l'ordre de jour.

Ce travail avait pour objectif d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante de la plante *d'Olea europea* par la méthode colorimétrique de la région d'oued rhiou (wilaya de Relizane).

La première étape consiste à l'extraction des composés phénoliques de la plante, ceci nous a permis de calculer le rendement de l'extrait qui est de **37.6%**.

La teneur des phénols totaux est constatée dans l'extrait *d'Olea europea* étudié de **89.41 µg EQ/mg d'extrait**.

En parallèle, la quantification des flavonoïdes effectuée par la méthode (Salvin, 2003), nous a permis d'observer également une teneur dans l'extrait étudié de **66.06 µg EQ/mg d'extrait**.

Concernant l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antioxydant par la capacité de piégeage du radical DPPH, afin de localiser la fraction qui représente l'activité la plus élevée.

Nous avons constaté pour l'activité antioxydante via le test de DPPH, que l'extrait de la plante étudiée est doué d'une forte capacité de réduire le radical libre qui augmente en fonction de la concentration en (µg/ml) .

L'extrait de feuilles d'olivier a présenté l'activité anti-radicalaire plus élevée avec IC50 de **21,66µg/ml** et cette activité est presque similaire à l'acide ascorbique qui a présenté une IC50 d'ordre de **4496,44 µg/ml** dans les mêmes conditions.

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer la richesse des feuilles *d'Olea europea* en substances chimiques et qui pourraient représenter une nouvelle source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique.

Pour conclure, *Olea europea* est riche en phénols notamment en flavonoïdes, aussi se caractérise par un fort pouvoir réducteur de neutralisation des dommages cellulaires causés par les radicaux libres.

Ces molécules dont possède *Olea europea* sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention de plusieurs maladies telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires.

A decorative rectangular border with intricate, symmetrical scrollwork and floral patterns in black ink, framing the central text.

Référence bibliographique

Références bibliographiques

A

1. **Aouidi, F. (2012).**Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. Molécules, Étude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europea* dans L'industrie Agro-Alimentaire. Thèse e doctorat, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie) ; vol(12) ; pp. 1153-1162.
2. **Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, k. (2013).** L'activité Biologique des Feuilles De L'Olivier Sauvage Et Cultive. Afrique Sci. 09: 159±166.
3. **Armutcu, F., Akyol, S., Hasgul, R., Yigitoglu, M. (2011).** Biological Effects and the Medical Usage of Olive Leaves. Spat DDDPeer Rev J Complement Med Drug Discov. 1 : 159.
4. **Aranda, S., Montes-Borrego, M., Jiménez-Díaz, R.M., Landa, B.B.** Microbial communities associated with the root system of wild olives (*Olea europea* L.subsp *europea* var. *sylvestris*) are good reservoirs of bacteria with antagonistic potential against *Verticillium dahliae*. Plant Soil 343, 2011; 329–345.
5. **Afonso,V., Champy ,R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde dismutases μ rôle dans les maladies rhumatismales. Revue du Rhumatisme. 74 : 636–643.
6. **Akroum, S. (2010).** Étude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.Journal of Ethnopharmacology,(19):145-151.
7. **Arnnok ,p., Ruangviriyachai, C., Malachai, R ., Techawongstien, S. Et Chanthai,S.(2012).** Determination of total phenolics and anthocyanin contents in the pericarp of hot chilli pepper (**capsinum annuum** L). Intern. Food Research journal, (19):235-243.
8. **Attabi B(2012).** Étude comparative de l'activité antioxydante de cinq plantes médicinales 35.

9. **Abdel-Hameed, E.S.S. (2009)**. total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian ficus species leaf samples. *food chemistry*, (114):1271-1277.
10. **Altiook, E. 2010**. Recovery of phytochemicals (having antimicrobial and antioxidant characteristics) from local plants.
11. **Abdille M.H., Singh R.P., Jayaprakasha G.K., Jena B.S., (2005)**. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits, *Food Chemistry*, 90 (4). 891- 896.

B

12. **Boudjouref, m. (2011)**. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques d'*Urtica dioica* L , Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention de diplôme de master académique en Biologie, Université MOULOUD MAMMARI de Tizi-Ouzou.
13. **Boudribila M- M.,** Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et organisation sociale, *AWAL* n°29, 2004; 17- 31.
- 14 . **Breton C. et Bervillé A., 2012** : Histoire de l'olivier : arbre des temps. Ed. Quae. RD 10 : 160 p. ; 524-200.
15. **Breton Catherine, Pinatel Christian, Médail Frédéric, Bonhomme François, Berville André (2008)**. Comparison between classical and Bayesian methods to investigate the history of olive cultivars using SSR-polymorphisms.
16. **Bruneton J., (1999)**. Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier. 1120.
17. **Borel, P. (2014)**. Biodisponibilité des phytomicronutriments : Mécanismes impliqués et stratégies d'amélioration. *Innovations Agronomiques* 42 : 27-37.
18. **Boudiaf K (2006)**. Étude des effets anti-xanthine oxydoréductase et antiradicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Thèse de magistère. Département de biologie. Université Ferhat abbas. (Sétif) Algérie.
19. **Bourkhiss et al., 2010** : Parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la société*

royale des sciences de liège. 141-154.

20. Bahorum T. 1997. Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une source d'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research Council Mauritias. P 83-94.

C

21. Campbell, B. M., & Luckert, M. (Eds.). Uncovering the hidden harvest: Valuation methods for woodland and forest resources. London: Earthscan, 2002.

22. Claude M-M., Françoise D. (2007). Herbar méditerranéen. Paris, P : 9.

23. Crozier A, Del Rio D, Clifford M(2010). Bioavailability of dietary flavonoids and d'angéiologie, d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council Mauritias, p83.

D

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

25. Descheemaeker, K. (2003). Nutri-et Phytothérapie : Developpements Recents. *Edition Garant*, page 12, 46.

26. D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R. Giovannini, C. & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann. Ist. Super Sanità* **43**(4) 348- 361.

27. Dangles B. (1999). One- electron oxydation of quercetin and quercetin derivatives in protic and non protic media. *Journal of the chemical society, Perkin transaction Z*, 1387- 1395. *Dentistry*, 37: 413-423. Ed. Lavoisier. Paris, pp 43-46.

28. Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., et Vidal N. (2006) .

Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem.* 97 : 654-660.

E

29. **Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Yousefadi M., (2008)** . Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food chemistry. 110(4) p 927-931.

F

30. **Fleuriet, A., & Deloire, A. (1982)**. Aspects histochimiques et biochimiques de la cicatrization des fruits de Tomate blessés: Histochemical and Biochemical Aspects of Cicatrization of Tomato Fruit Lesions. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, 107(3), 259-268.

31. **Fukumoto, L.R., Mazza, G. (2000)**. Assessing antioxidant and prooxidant activities of Phenolic compound. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 48: 3597-3604.

G

32. **Ghedira K (2008)**. L'olivier. Phytothérapie. 6; 83-89.

Garcia, OB; Castillo, J .; Lorente, J .; Ortuno, A. (2000). Del-Rio, JA Activité antioxydante de composés phénoliques extraits de feuilles d' *Olea europea* L. FoodChem. , 68 , 457– 462. [Google Scholar]
[CrossRef]

33. **Ghanbari Rahele, Farooq Anwar, Alkharfy Khalid M, Gilani Anwarul-Hassan and Saari Nazamid**. Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europea* L.)—A Review. Int. J. Mol. Sci. 2012 ; 13, 3291-3340.

- 34. Gaston, E. (2016).** Les polyphénols du vin rouge : des propriétés pour prévenir les cancers. Thèse Pour L'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Bordeaux. HAL Id: dumas-01267044.
- 35. Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie* 3(4), 162-169.

H

- 36. Hannachi, H., Elfalleh, W., Marzouk, S. (2013).** Oil, protein, antioxidants and free radical scavenging activity of stone from wild olive trees (*Olea europea* L.). *Pak J Pharm Sci*, 26: 503±510. PMID: 23625423.
- 37. Hans W., Kothe. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. *Edition Toulouse*, P: 221.
- 38. Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68 (22-24), 2831-2846.
- 39. Hodek P, Trefil P, Stiborova M (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically.
- 40. Ho, I.S., Hannan, F., Guo, H.F., Hakker, I., Zhong, Y. (2007).** Distinct functional domains of neurofibromatosis type 1 regulate immediate versus long-term memory formation. *J. Neurosci.* 27(25): 6852--6857.

J

- 41. Jacques-Meunié D (1982).** Le Maroc saharien des origines à 1670, Klincksieck, Paris. 2vol; 990.

K

42. Ksouri R, Falleh H, Megdiche W, Trabelsi N, Hamdi B, Chaieb K, et al. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L and related polyphenolic constituents. *Food Chem Toxicol*; 47:2083–91.

M

43. Médail F, Quézel P, Besnard G., Khadari B., Systematics. (2001). Ecology and phylogeographic significance of *Olea europea* L. subsp. *maroccana* (Greuter & Burdet) P. Vargas et al., a relictual olive tree in south-west Morocco. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 137:249–266.

44. Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p. 4-5.

45. Mulvihill, E. E. & Huff, M. W. (2010). Antiatherogenic properties of flavonoids : Implications for cardiovascular health. *Can. J. Cardiol.* 26 (Suppl A), 17A-21A

46. Migdal, C., & Serres, M. (2011). Reactive oxygen species and oxidative stress. *Medecine sciences: M/S*, 27(4), 405-412.

48. Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère

49. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.

50. Madani Yousfi M (2017). Dosage des polyphénols et recherche d'activité antiradicalaire de feuilles d'olives. Département de Biologie. universite de tlemcen .P28.

51. Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231- 237.

N

52.- Nkhili Zohra (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interaction avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant; thèse Doctorat.

53. Nève, J. (2002). Nutrition et stress oxydant : Modulation de l'apport alimentaire en anti-oxydants. Optimisation of dietary intake of anti-oxidants. *Nutrition clinique et métabolisme* **16**, 292–300.

L

54. Loussert, R., et Brousse, G., (1978). L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne. G.p. Maisonneuve et Lotose, Paris. 1-3, 58, 62-77, 128-136.

55. Lavee Shimon. Evaluation of the need and present potential of olive breeding indicating the nature of the available genetic resources. *Scientia Horticulturae*, Volume 161, 2013; **333–339**.

56. Lumaret, R., Ouazzani, N., Michaud, H., Vivier, G., Deguilloux, M.F., Di Giusto, F. Allozyme variation of Oleaster populations wild olive tree *Olea europea* L. in the Mediterranean Basin. *Heredity* **92**, 2004; 343–351.

57. Lhuillier, A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook. f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambouris satrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae) (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse).

58. Lambert, J. D. & Elias, R. J. (2010). The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **501**, 65–72.

59. Link, A., Balaguer, F & Goel, A. (2010). Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochemical Pharmacology* **80**, 1771-1792.

60. Lenoir, L. (2011). Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de Doctorat : Université d'Auvergne.

61. Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**(25), 7292-7295.

62. Lee, O. H., Lee, B. Y., Lee, J., Lee, H. B., Son, J. Y., Park, C. S & Kim, Y. C. 2009. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresources*

technology, 100 (23) : 6107-6113.

P

63. Pincemail, J., Degrunne, J., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., Defraigne, J.O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolique*. 21: 66-75.

64. Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2012).Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*,

65. Petti S, Scully C (2009). Polyphenols, oral health and disease: A review. *Journal of phenolic compounds. Molecular Aspects of Medicine*, 31 : 446–467.

66. Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra,

G., Murcia, M. A., & Codina, C. (2003). Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*, 73(13), 1667-1681.

S

67. Souad O et Hassnaa B. (2013) ; Valorisation des feuilles d'olive pour l'élimination des ions Zn. mémoire de master Université de SAIDA, p 6.

68. Sarni-Manchado P and Cheynier V. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, 2006, p. 2-10.

69. Spiller, G. & Spiller, M. (2007). Tout savoir sur les fibres. *Editions le mieux-etre*, p27.

- 70. Stagos, D., Amoutzias, G. D., Matakos, A., Spyrou, A., Tsatsakis, A. M. & Kouretas, D. (2012).** Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food and Chemical Toxicology* **50**, 2155–2170.
- 71. Scalbert, A., Canach, C., Morand, C. & Rémésy, C. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **45**, 287–306.
- 72. Sadasivam, S. & Thayumanavan, B. (2003).** Molecular host plant resistance to pests. Volume 96 de Books in soils, plants and the environment. *CRC Press*, p221.
- 73. Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009).** DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205. / Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes .
- 74. Samarth R.M., Panawar M.,Soni A., Kumar M (2008).** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radio protective plant extract, *Food Chemistry*, 106,868-873.
- 75. Santos R. D., Shetty K., Lourenco A., Miglioranza L. 2012.** Phenolic compound and total antioxidant activity determination in rosemary and oreganoextract. DOI: 10.5433/1679- 0359.2012v33, N2, p655.
- 76. Singleton V.L., Rossi J.A (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, (16). 144-158.
- 77. Salvin M (2003) :** Principal component analysis as tool of characterization of quince Jam,(94),504-512.
- 78. Sanchez-Moreno C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int* 8:121-137.

T

- 79. Tapas, A. R., Sakarkar, D. M. & Kakde, R. B. (2008).** Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **7** (3), 1089-1099.
- 80. Touaibia, Mb & Chaouch, F. Z. (2014).** Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de l'espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt et Trab .(Myrtaceae)

[Evaluation of the antioxidant activity of aqueous, methanolic and ethanolic extracts of the Sahara-endemic species *Myrtus nivellei* Batt and Trab. (Myrtaceae)]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 6 (3), 407.

81. Turkmen, N., Velioglu, Y.S., Sari, F et Polat, G (2007). effet of extraction conditions on measured total polyphénol contents and antioxydant and antibacterial activites of black tea .*molecules* , (12):484-496.

82. Tefiani C. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits d'algue verte: *Ulva linza* (Doctoral dissertation, université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen-).

V

83. Vogel, P., Machado, I ., Garavaglia ,J., Zani ,V ., Souza,D., Bosco,S. (2015). Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europea L*) to human health. *Nutr Hosp.* 31(3):1427-1433 ISSN 0212-1611.

84. Visioli, F., Borsani, L. & Galli, C. (2000). Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research* 47, 419–425.

W

85. Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z, Madar Z (2013). Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Natural medicine* ; 01-477.

Z

86. Zohary D, Domestication of plants in the Old World. The origin and spread of cultivated.