

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre  
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Sciences biologiques

**Spécialité :** Biochimie Appliquée

**Par :** -CHELGUI Djihad

-RAI Soundous Manel

**Thème**

**Étude du pouvoir antioxydant des différents  
extraits des feuilles d'Olea europaea L. de la  
région de Ghardaïa**

**Soutenu publiquement le :**

**Devant le jury :**

<b>M. BELHACHEMI M.H.</b>	Maître de conférences B	Université de Ghardaïa	<b>Président</b>
<b>M<sup>me</sup>. BENSANIA W.</b>	Maître assistante A	Université de Ghardaïa	<b>Encadreur</b>
<b>M<sup>elle</sup>. ROUARI L.</b>	Doctorante	Université d'Amar Telidji	<b>Co-encadreur</b>
<b>M. BELGUIDOUM M.</b>	Maître de conférences B	Université de Ghardaïa	<b>Examineur</b>

**Année universitaire 2021/2022**

## REMERCIEMENT

*Nous tenons à remercier en premier lieu le bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, la foi et le courage pour réaliser ce travail.*

*Nous remerciant infiniment notre promotrice de ce travail: Madame BENSANIA Wafa, Maître assistante au département de biologie à l'université de Ghardaïa, qui a proposé le thème de ce mémoire pour avoir accepté de diriger notre travail par ses conseils, sa disponibilité et ses orientations.*

*Un merci très spécial à Mademoiselle Rouari Linda pour sa disponibilité, ses conseils, sa gentillesse, qu'elle trouve ici toute notre reconnaissance et notre respect*

*Nous adressons également nos remerciements à Monsieur BELGUIDOUM Mahdi Maître de conférences B au département de Biologie à l'université de Ghardaïa pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nous aimerons également remercier Monsieur BELHACHEMI Mohamed Habib Maître de conférences B au département de Biologie à l'université de Ghardaïa pour avoir accepté de présider notre jury de soutenance.*

*Nous remercions Monsieur BENSALAH Bachir ingénieur de laboratoire au département de biologie pour son aide précieuse, sa disponibilité et ses conseils, sans oublier Monsieur BENHAMDOUN Hicham officiel de magasin des produits chimique des laboratoires de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Qui est désireux de fournir les produits aux étudiants à tout moment possible.*

*Nous tenons aussi à remercier respectueusement les techniciens de laboratoire pour leur soutien lors de nos travaux au laboratoire de l'université de Ghardaïa Comme nous remercions tout le personnel du laboratoire de département de biologie à l'université de Ghardaïa.*

*Enfin toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.*

## Dédicace

*Je commence par rendre grâce à Dieu et à sa bonté, pour la patience, la Compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade et de m'avoir donné la force d'accomplir mes études. Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes parents,*

*Pour vos mains qui ont tant travaillées,  
Pour votre cœur qui m'a tant donné  
Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,  
Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,  
Pour vous qui m'avez tant aimé.*

*A ma chère sœur Fatima et mon cher frère Ibrahim*

*A mon fiancé et sa famille de leurs précieux conseils, de leurs soutiens moraux et de leurs encouragements.*

*A tout ma famille de côté père et mère pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

*A mon Binôme « soundous » qui a partagée avec moi les moments difficiles*

*A tous mes amis*

*A tous mes enseignants et à mademoiselle **Rouari Linda***

*Spécial dédicace à ma promotrice **Bensania Wafa***

*Merci d'être toujours là pour moi.*

**Dédicace**

*Je commence par rendre grâce à Dieu et à sa bonté, pour la patience, la Compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade et de m'avoir donné la force d'accomplir mes études. Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions*

*Je dédie ce modeste travail à :*

***A ma chère mère Fatima zahra***

*Les mots me manquent pour exprimer toute ma reconnaissance pour tout ce que*

*Fait pour mon bonheur et ma réussite. Que Dieu te protège et t'accorde-le bonheur, la santé et la longue vie.*

***A mon cher Père Moussa***

*Nulle expression ne peut traduire le noble sentiment que j'ai a ton égard, pour l'amour que tu m'as toujours porte, pour ta patience et ta générosité,*

*Je te dédie ce travail en témoignage de ma grande reconnaissance et mon grand amour.*

***A mon chers frère « Youcef », et mes sœurs « Nala, Nadjete , Meriem et Leila »***

***A mon cher ami Oussama***

*Merci pour les encouragements, les soutien et l'aider dans les moments difficiles.*

***A ma chère amie Rania***

*Merci pour les encouragements et les soutien moralement dans les moments difficiles.*

***A mon Binôme « Djihad » qui a partagée avec moi les moments difficiles***

*A tous mes amis*

*A tous mes enseignants et à mademoiselle **Rouari Linda***

*Spécial dédicace à ma promotrice **Bensania Wafa***

*Merci d'être toujours là pour moi.*

***Soundous Manel***

## دراسة الخاصية المضادة للأكسدة لمختلف مستخلصات أوراق شجرة *Olea europaea* L.، من منطقة غرداية

تنتمي شجرة *Olea europaea* L. إلى عائلة *Oleaceae*، وهي نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر. وكجزء من تبيين الموارد الطبيعية الجزائرية، تهدف هذه الدراسة إلى توصيف أربعة مستخلصات من أوراق الزيتون من منطقة ضاية بن ضحوة - غرداية، مع تحديد محتوياتها من المركبات الفينولية وكذلك تقييم أنشطتها المضادة للأكسدة مخبريا.

تم استخلاص أوراق الزيتون عن طريق النقع في المذيبات ذات قطبية متزايدة: الأثير البترولي، خلات الإيثيل، الميثانول والماء المقطر. وقد مكن التحليل النوعي الذي تم اجرائه عن طريق فحص كيميائي نباتي من تسليط الضوء على وجود مركبات الفلافونويد والكمارين و التربينويدات والقلويدات، بكميات كبيرة، كما كشف عن كميات أقل من الكينونات والسابونوسيدات.

تم تحديد التحليل الكمي لإجمالي محتويات الفينول والفلافونويد للمستخلصات المختلفة بطرق فولين-سيوكالتيو وكوريد الألمنيوم على التوالي والتي أشارت إلى ثراء مستخلصاتنا في هذه المكونات النشطة. وجد أن مستخلص خلات الإيثيل هو الأغنى مقارنة بالمستخلصات الأخرى (37.16 ملغ مكافئ لحمض الغاليك / غ نبات جاف و 13.16 ملغ مكافئ لروتين / غ نبات جاف).

كشف تقييم القوة المضادة للأكسدة لمستخلصاتنا في المختبر من خلال اختبارين كيميائيين، اختبار DPPH واختبار FRAP، عن نشاط مضاد للأكسدة مثير للاهتمام مقارنة بمضادات الأكسدة الاصطناعية. يُظهر المستخلص الميثانولي لأوراق الزيتون حالة عالية من مضادات الأكسدة مقارنة بالمستخلصات الأخرى.

**الكلمات المفتاحية:** *Olea europaea* L.، إجمالي الفينولات، الفلافونويد، نشاط مضاد للأكسدة، DPPH، FRAP.

## Étude du pouvoir antioxydant des différents extraits des feuilles d'*Olea europaea* L. de la région de Ghardaïa

*Olea europaea* L. est un arbre qui appartient à la famille des Oléacées. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles Algériennes, la présente étude vise à caractériser quatre extraits des feuilles d'olivier de la région de Daïa Bendahoua-Ghardaïa, tout en déterminant leurs teneurs en composés phénoliques ainsi que d'évaluer leurs activités antioxydantes *in vitro*.

Les feuilles d'olivier ont été soumises à une extraction par macération dans des solvants aux polarités croissantes : éther de pétrole, acétate d'éthyle, méthanol et l'eau distillée. L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, coumarines, terpénoïdes et alcaloïdes, en quantité importante, il a en outre révélé des quantités plus faibles des quinones et saponosides.

L'analyse quantitative des teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des différents extraits a été déterminée par les méthodes de Folin-Ciocalteu et chlorure d'aluminium respectivement qui ont indiqué la richesse de nos extraits en ces principes actifs. L'extrait d'acétate d'éthyle s'est révélé le plus riche par rapport aux autres extraits (37.16 mg EAG/g MS et 13.16 mg ER/g MS).

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits *in vitro* par deux tests chimiques, le test du DPPH• et le test de FRAP, a révélé une activité antioxydante intéressante par rapport aux antioxydants de synthèse. L'extrait méthanolique des feuilles d'olivier expose un statut antioxydant assez important par rapport aux autres extraits.

**Mots clés:** *Olea europea* L., phénols totaux, flavonoïdes, pouvoir antioxydant, DPPH, FRAP.

## **Study of the antioxidant power of different extracts of *Olea europaea* L. leaves from the Ghardaïa region**

*Olea europaea* L. is a tree that belongs to the family Oleaceae. It is a medicinal plant widely used in traditional medicine in Algeria. Within the framework of the valorization of the Algerian natural resources, the present study aims to characterize four extracts of the olive tree leaves from the region of Daia Bendahoua-Ghardaïa, while determining their contents in phenolic compounds as well as evaluating their antioxidant activities *in vitro*.

The olive leaves were subjected to an extraction by maceration in solvents with increasing polarities: petroleum ether, ethyl acetate, methanol and distilled water. The qualitative analysis carried out by a phytochemical screening allowed to highlight the presence of flavonoids, coumarins, terpenoids and alkaloids, in important quantity, it also revealed smaller quantities of quinones and saponosides.

The quantitative analysis of the contents of total phenols and flavonoids of the different extracts was determined by Folin-Ciocalteu and aluminum chloride methods respectively, which indicated the richness of our extracts in these active principles. The ethyl acetate extract was found to be the richest compared to the other extracts (37.16 mg EAG/g DM and 13.16 mg ER/g DM).

The evaluation of the antioxidant power of our extracts *in vitro* by two chemical tests, the DPPH• and FRAP test, revealed an interesting antioxidant activity compared to synthetic antioxidants. The methanolic extract of olive leaves exhibits a fairly high antioxidant status compared to other extracts.

**Key words:** *Olea europaea* L., total phenols, flavonoids, antioxidant power, DPPH, FRAP.

**ABTS** : 2,2A-Azinobis(3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid

**AE** : Extrait d'acétate d'éthyle

**AG** : Acide gallique

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium

**DPPH** : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (Le radical stable [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl])

**ED** : Extrait d'eau distillée

**EP** : Extrait d'éther de pétrole

**ER**: Equivalent de rutine

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène (oxygénées)

**Fe(II)** : Ions ferreux

**Fe<sup>2+</sup>** : Ions ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Ions ferriques.

**FeSo<sub>4</sub>**: sulfate de fer

**FRAP** : Ferric reducing antioxidant power

**EAG** : Équivalents d'acide gallique

**H<sub>2</sub>O** : Eau

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>: Concentration en antioxydant pouvant réduire 50% du radical DPPH)

**MeOH** : Méthanol

**MF** : Matière fraîche

**MS** : Matière sèche

**O<sub>2</sub>** : Oxygène moléculaire

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>**: Anion superoxide

**OH** : Groupe hydroxyle

**OH•** : Radical hydroxyle

**R** : Rendement

**TPTZ** : Ferric 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine.

**Trolox** : Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroma-2-carboxylique

**UV** : Ultra violé

**V.C** : Vitamine C ou acide ascorbique

Numéro	Titre	Page
1	classification botanique de l'arbre de l'olivier	14
2	Différents tests de criblage phytochimique	16
3	Aspect et couleur des extraits phénoliques.	24
4	Résultats des tests phytochimiques	27
5	valeurs d'IC <sub>50</sub> en (mg/ml) des différents extraits de <i>Olea europaea</i> L. et les antioxydants standards.	36
6	valeurs d'EC1 des extraits étudiés et des antioxydants standards.	42

Numéro	Titre	Page
01	Situation géographique de la région d'étude (Adaira-Daia Ben Dahoua) par application de Google Maps	11
02	Aspect morphologique de la plante <i>Olea europaea</i> L. et leurs parties	13
03	Préparation de la poudre végétale	15
04	Réduction du radical libre DPPH• en présence d'antioxydant	20
05	Réduction du tripyridyl-triazine ferrique (Fe <sup>3+</sup> -TPTZ) en présence d'antioxydant	22
06	Rendements en pourcentage des extraits des feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.	25
07	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	29
08	Teneur en phénols totaux des différents extraits d' <i>Olea europaea</i> L.	29
09	Courbe d'étalonnage de la rutine	32
10	Teneur en flavonoïdes des différents extraits de l' <i>Olea europaea</i> L.	33
11	Variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux.	35
12	Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% du radical DPPH• en fonction de la concentration des différents extraits d' <i>Olea</i>	37
13	Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration des antioxydants standards	38
14	Variation des valeurs d'IC <sub>50</sub> du test DPPH en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés	42

<b>15</b>	Valeurs de FEAC des extraits étudiés et les antioxydants standards.	43
<b>16</b>	Variation des valeurs d'EC1 du test FRAP en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés.	47

**Remerciement**

**Dédicace 1**

**Dédicace 2**

**الملخص**

**Résumé**

**Abstract**

**Liste des Abréviations**

**Liste des Tableaux**

**Liste des Figures**

<b>Introduction :</b> .....	1
<b>Chapitre 1 : Matériels et Méthodes</b> .....	9
I. Matériel .....	10
I.1-Réactifs chimiques .....	10
I.2- Présentation de la zone d'échantillonnage.....	10
I.3-Matériel végétal .....	11
I.3.1- Choix du matériel végétal.....	12
I.3.2- Description botaniques et systématique d'Olea europaea .....	12
I.3.3- Répartition géographique .....	14
II. Méthodes d'analyses.....	15
II.1- Préparation de la poudre végétale .....	15
II.2- Préparation des extraits .....	15
II.3- Détermination du rendement d'extraction .....	16
II.4- Tests phytochimiques.....	16
II.5- Analyses quantitatives .....	18
II.5-1 Dosage des phénols totaux .....	18
II.5-2 Dosage des flavonoides .....	19
II.6- Activité antioxydante .....	19
II.6-1 Test du DPPH ( 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	20
II.6-2 Test de FRAP ( ferric reduccing / antioxidant power .....	21
<b>Chapitre 2 : Résultats et Discussion</b> .....	23
I. Les rendements d'extraction .....	24
II. Test phytochimique .....	26
III. Analyses quantitative .....	28
III.1- Dosage des phénols totaux .....	28
III.2- Dosage des flavonoides .....	31
IV.Evaluation du pouvoir antioxydant .....	35

IV.1- Test du DPPH (1,1-Diphényl-2-Picryl Hydrazyl) .....	36
IV.2- Mesure du pouvoir réducteur ferrique (test FRAP) .....	42
<b>Conclusion Générale .....</b>	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques : .....</b>	<b>51</b>

# *Introduction*

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies car il produit de l'énergie en oxydant la matière organique. Néanmoins l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes si nos cellules transforment une partie de l'oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques (**Meziti, 2007**).

Un radical libre est un produit chimique, un atome ou une molécule qui contient un électron non apparié. Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable (**Goudable et Favier, 1997**). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est généralement appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Favier, 2003**).

Au niveau cellulaire, les espèces réactives de l'oxygène implique les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc...) ainsi certains dérivés réactives non radicalaires avec une toxicité plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et le peroxyde d'azote (ONOO<sup>-</sup>) (**Goudable et Favier, 1997 ; Halliwell et Whiteman, 2004 ; Muanda, 2010**).

Ils sont très utiles pour l'organisme et jouant des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques vasculaires et cellulaires; tel que la transduction du signal et la phagocytose (**Huet et Duranteau, 2008**). Aussi, ils participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire (**Shahin Sharif et al., 2008; Pastre, 2005**). Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, antioxydant. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants /pro-oxydants est en équilibre (**Favier, 2003**). Cependant, ce système de défense est parfois débordé, surtout quand les agressions sont multipliées sous l'effet de la fumée du tabac, de pollution, du soleil, d'un effort physique intense, etc (**Medjoujda, 2012**).

Le stress oxydant est le résultat d'un déséquilibre entre les oxydants ou les radicaux libres et le système de défense. Il pourra être induit lors de la surproduction d'espèces réactives et /ou par suite de l'inhibition des systèmes antioxydants qui peuvent être inactivés, soit directement, soit par défaut de synthèse. Ce déséquilibre déclenche une cascade de réactions oxydatives peut entraîner des destructions tissulaires et provoquer des lésions au niveau des structures cellulaires (**Gammoudia et al., 2013**).

Le stress oxydant peut avoir diverses origines: mauvaise alimentation, phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus, habitudes de vie non adéquates (tabagisme, consommation excessive d'alcool), exercice physique intense ou mal géré, exposition inconsidérée à de grandes sources productrices d'ERO et aux radicaux ionisantes (exposition importante au soleil, irradiation et radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la prise de certains médicaments, tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante (**Pincemail et Defraigne, 2004 ; Médart, 2009**).

Les conséquences biologiques du stress oxydatif seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion; des stress moyens faciliteront l'apoptose. Alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. Ainsi, d'autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydatif comme la mutation, la carcinogénèse, la malformation des fœtus, le dépôt de protéines anormales, la fibrose, la formation d'auto-anticorps, le dépôt de lipides oxydés, et l'immuno-suppression (**Favier, 2003**).

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Aussi, le stress oxydant est un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO, les antioxydants. Ces derniers peuvent être définis comme un ensemble de molécules ou d'éléments susceptibles de prévenir le stress oxydatif cellulaire ou de lutter contre l'extension de ses organiques. Par ailleurs, un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des

processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Shimizu, 2004**). Le mode d'action des antioxydants peut être de piéger directement les EROs, d'inhiber les enzymes responsables de la production des EROs ou de protéger les systèmes de défense antioxydants (**Grandjean, 2005**).

Les défenses antioxydantes reposent sur des systèmes enzymatiques : superoxyde dismutases SOD, catalases et glutathion peroxydases, ...etc; et non enzymatiques comme les vitamines C et E, les composés phénoliques, les caroténoïdes, les ubiquinones, ...etc. Autant, le maintien de ces systèmes enzymatiques nécessite la présence d'un certain nombre d'oligoéléments : cuivre, manganèse, zinc et sélénium en particulier (**Goudable et Favier, 1997 ; Pincemail et al., 2002 ; Shahin Sharif et al., 2008**).

Une autre catégorie d'antioxydants selon leur origine, les antioxydants de synthèse par exemple butylhydroxytoluène (BHT) et butylhydroxyanisol (BHA) (**Lisu et al., 2003 ; Krishnaiah et al., 2010**) ou bien les antioxydants naturels qui sont représentés généralement en vitamine E (tocophérol), les flavonoïdes et d'autres composés phénoliques (**Pelli et Lyly, 2003 ; Shahin Sharif et al., 2008**). Egalement, la plupart des antioxydants utilisés commercialement dans l'industrie alimentaire ont été suspecté de causer ou de favoriser des effets négatifs sur la santé tel le cancer et, par conséquent, certaines restrictions sont placées sur leurs applications et il y a une tendance à les remplacer par des antioxydants naturels (**Shahin Sharif et al., 2008; Krishnaiah et al., 2010**)

Au cours des dernières années, des études sur les activités antioxydantes des plantes médicinales ont augmenté de façon remarquable due à un intérêt accru pour leur potentiel d'être utilisé en tant que source d'antioxydants riche et naturel. Les antioxydants naturels proviennent principalement de plantes sous forme de composés phénoliques (flavonoïdes, acides phénoliques, stilbènes et tocophérols) l'acide ascorbique et les caroténoïdes. Actuellement, les efforts visant à acquérir des connaissances approfondies sur le pouvoir d'antioxydants à partir de plantes et d'exploiter leurs potentiels sont donc en augmentation (**Shahin Sharif et al., 2008**).

A l'origine, la nature constituée d'êtres végétaux, servait d'alimentation aux animaux et aux hommes peuplant la terre. Mais à côté de cette fonction nutritionnelle, l'homme découvrit bien d'autres fonctions que pouvaient lui procurer les plantes, notamment le pouvoir de guérison. En effet cette faculté de guérison des plantes fut connue longtemps de nos ancêtres depuis les temps reculés. Elle deviendra plus tard la médecine traditionnelle avec toutes les avancées notoires qu'on peut lui attribuer (**Iserin, 2001**).

Plus récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de soins de santé et la résistance des micro-organismes aux antibiotiques disponibles ont conduit les auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (**Nostro et al., 2000**). De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme (**Iserin, 2001**).

L'usage des plantes médicinales se fait sous de nombreuses formes, telles que des tisanes, des extraits ou des préparations complexes. Cependant, avant de pouvoir recommander l'usage de telle ou telle espèce pour une maladie, il est nécessaire de valider l'usage traditionnel qui en est fait. En d'autres termes, il convient d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique de la plante médicinale retenue, et apprécier si celle-ci confirme sa réputation. De plus, il est impératif de vérifier également l'absence de toxicité des plantes employées. L'usage de plantes médicinales locales, en réponse à des problèmes de santé, peut-être perçu comme une alternative aux médicaments conventionnels (**Adlib et Youfi, 2001 ; Arab et al., 2013**).

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Guillaume et Charrouf, 2005 ; Jeun et al., 2005**).

Les métabolites secondaires des plantes constituent un groupe diversifié de composés chimiques d'origine naturelle. Ils sont synthétisés par la plante en réaction à des stimuli extérieurs et ont souvent une fonction régulatrice dans le cadre d'une série de réactions physiologiques et métaboliques en cascade à la suite d'un stress environnemental ou d'une attaque par des ravageurs (**Benbrook, 2005**). Ces molécules possèdent des fonctions comme pigment, phytohormone, précurseur de synthèse ou des arômes (**Gravot, 2009 ; Scalbert et Williamson, 2000**).

Les métabolites secondaires sont en revanche très nombreux et variés (plus de 100.000) mais produits souvent en très faibles quantités. Généralement, ces métabolites sont classés en trois grandes classes: les composés aromatique ou phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins,.....), les terpénoïdes et leurs dérivés et enfin les alcaloïdes (**Hopkins, 2003**).

Les composés phénoliques ou polyphénols sont largement distribués dans le règne végétal et ils sont des plus importants groupes de composés présents dans les plantes (**Bruneton, 1999 ; Nawaz et al., 2006**). Ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnements UV...) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume)(**Kühnau, 1976**). Leur accumulation dans les plantes, varie quantitativement et qualitativement non seulement dans les différentes parties de la plante (racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits), mais aussi d'une espèce végétale à l'autre (**Raven et al., 2000**).

Ils se caractérisent par la présence dans la structure d'au moins un noyau benzénique dans lequel au moins un groupement hydroxyle est directement attaché, libre ou incorporé à une fonction éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999; Handique et Baruah, 2002**). Egalement, ils comprennent au moins 8000 différentes structures connues. En effet, on peut distinguer les différentes classes des composés phénoliques en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base (**Macheix et al., 2006**). On distingue: les acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3), les flavonoïdes (C6-C3-C6), les lignanes (C6-C3-C3-C6), les tannins (C6-C3-C6)<sub>n</sub> et les stilbènes (C6-C2-C6) (**Macheix et al., 2005**).

Les éventuels avantages de la consommation de ces métabolites pour la santé ont été suggérés de dériver de leurs propriétés antioxydantes, anti inflammatoires, antiallergique, anti-atherogénique, hépato protective, antimicrobienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective,...etc (**Queen et Tollefsbol, 2010**).

Les flavonoïdes sont le groupe le plus commun des composés phénoliques végétaux et l'un de constituants naturels les plus nombreux et les plus répandus, avec plus de 4000 molécules identifiées (**Yao et al., 2004; Amedjoudj et al., 2017**). Ils sont comptés parmi les pigments végétaux aux côtés des chlorophylles et des caroténoïdes (**Wichtl et Anton, 2009**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, grains, bois (**Guignard, 2000**). Les plus importantes sont les flavanols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, les anthocyanes et auronnes (**Havsteen, 2002; Edenharder et Grünhage, 2003**).

Les flavonoïdes sont des antioxydants puissants, des piègeurs de radicaux libres, des chélateurs de métaux et inhibent la peroxydation des lipides. Les exigences structurelles pour les

fonctions antioxydantes de flavonoïdes comprennent un groupe hydroxyle en position carbone trois, une double liaison entre les positions de carbone deux et trois, un groupe carbonyle en position carbone 4 et la polyhydroxylation des anneaux aromatiques A et B (**Amedjoudj et al., 2017**).

Ces dernières années, beaucoup de recherches se sont orientées vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sûreté et l'efficacité des substances utilisées et d'établir des règles scientifiques pour l'usage. Afin que d'orienter la recherche vers les nouveaux agents thérapeutiques antioxydants qui présentent un minimum des effets indésirables, c'est la thérapie naturelle basée sur les métabolites secondaires, tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes des fruits et des feuilles d'olivier.

L'*Olea europaea* L., appartenant à la famille des Oléacées, est l'une des plantes médicinales les plus utilisées en médecine traditionnelle (**Bisignano et al., 1999**). Dans la culture arabo-musulmane, *Olea europaea* L., communément appelé olivier, est un arbre sacré et particulier, il fait partie des arbres cités dans le Coran sourate El-Noor verset : 35. Il a été cultivé depuis l'antiquité dans tout le bassin méditerranéen pour produire des olives de table et huile d'olive (**Ben Ayed, 2017**). De nos jours, les cultures d'*O. europaea* L. se trouvent dans différentes régions du monde et existent dans différents cultivars, certains spécifiques à certaines régions (**Di Donna et al., 2010**).

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier. Elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Tunisie, le Maroc et l'Égypte qui sont les plus importants pays producteurs des olives et d'huile d'olives, dont représentant 80% de la production mondiale d'olives (**Ogab et Zoudji, 2017**). Généralement, l'oléiculture algérienne est répartie sur trois importantes régions oléicoles dans le nord (ouest, centre et est). Cependant, le sud algérien est actuellement représenté une nouvelle aire oléicole comme Biskra, El-Oued, Laghouat et Ghardaïa (**Ogab et Zoudji, 2017 ; Hamel, 2018**).

Par ailleurs, huile d'olive fournit de innombrables bienfaits dans la prévention de plusieurs maladies telles que l'athérombose, le cancer, l'hypertension artérielle. Ses utilisations sont nombreuses et reconnues: nourriture pour la préparation culinaire des plats délicieux, antigrippale contre la toux et le rhume, combustible pour l'éclairage, en cosmétologie et en parfumerie pour le soin de la peau, les cheveux et les dents et aussi pour la décoration (arbre ornementale, fabrication des produits artisanales),... etc. Les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques. En fait l'utilisation

des feuilles d'olivier en phytothérapie remonte à très loin dans l'histoire (**Boudhrioua, 2008 ; Manallah, 2012**).

Cet arbre est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques. La caractérisation biochimique basant sur les études quantitatives et qualitatives des différents métabolites primaires et secondaires trouvés dans les différents organes d'olivier permet d'identifier une large gamme des composés phytochimiques y compris les glucides, les acides gras, les acides aminés, les protéines, les tanins, les composés phénoliques, des terpénoïdes, des stérols et bien d'autres constituants (**Himour, 2018**).

Les composés phénoliques dans les feuilles et fruits de l'olivier sont très divers, et leurs structures sont très variables. Globalement, les feuilles et les fruits de l'olivier contiennent des monomères et des polymères phénoliques qui sont dotée des propriétés importantes et différentes (**Bisignano et al., 1999**). Les principales classes de phénols dans l'olive sont des acides phénoliques (gallique, p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, les acides syringique, caffeique, férulique, p-coumarique et sinapique) (**Balasundram et al., 2006**), des alcoolsphénoliques (Tyrosol et hydroxytyrosol) (**Alagna et al., 2012**), des flavonoïdes (comprennent le flavonol glycosides tels que lalutéoline-7-glucoside et la rutine ainsi que les anthocyanines, la cyanidine 3-O-glucoside et lacyanidine 3-orutinoside) (**Vinha et al., 2005**). Ainsi, les secoiridoïdes tels que l'oleuropéine et le verbascoside, sont exclusivement présent dans la famille Oleaceae. L'intérêt croissant dans les polyphénols d'olive est due au fait qu'ils peuvent jouer un rôle important dans la santé humaine (**Silva et al., 2006**).

L'industrie oléicole a engendrée une grande quantité des feuilles d'olivier durant la récolte des olives. Ils sont estimés à 10% de la masse globale des olives récoltés. Les feuilles d'olivier, produites en grande quantité dans les pays méditerranés, ne doivent pas être considérées comme un déchet incommodant, mais comme une richesse qu'on doit utiliser. La valorisation de ces résidus est devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole. Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leur richesse en composés phénoliques qui possèdent un large éventail d'activités biologiques : pouvoirs antioxydant, anticancéreux et antimicrobien qui les rendent très importants pour la santé et l'industrie agroalimentaire (**Aouidi, 2012**).

Dans le cadre d'attribuer les effets biologiques à l'olivier, la majorité des études sont faites sur les propriétés pharmacologiques de l'huile d'olive. Concernant les feuilles, elles sont actuellement l'objet de recherches dans le vaste domaine de la médecine et de la pharmacologie. Alors, ce travail entre dans le cadre de la valorisation et conservation des ressources biologiques. C'était prévu que le présent travail vise à évaluer l'activité antioxydante de plusieurs types d'extraits issus à partir des feuilles d'*Olea europaea* L. de la région de Daia Bendahoa-Ghardaïa. Ce travail s'articule autour de trois parties :

- Nous avons présenté dans la première partie une introduction générale sur les concepts de base relative à cette étude : le stress oxydatif et son effet, les antioxydants avec ces différents types, les métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et l'espèce *Olea europaea* L.

- En deuxième lieu, une étude expérimentale qui est subdivisée en deux parties, la première partie présentera le matériel végétal étudié, les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail, à savoir : l'extraction et la quantification des composés phénoliques dans nos extraits, et l'évaluation de l'activité antioxydante de ces extraits par deux tests chimiques (test de DPPH et FRAP).

- La deuxième partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus lors du travail de cette étude et leurs discussions en se référant aux études antérieures faites dans ce domaine.

- Notre travail a été achevé par une conclusion générale qui englobe les principaux résultats obtenus. À la lumière de ces résultats, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

*Matériel et  
Méthodes*

## **I. Matériel**

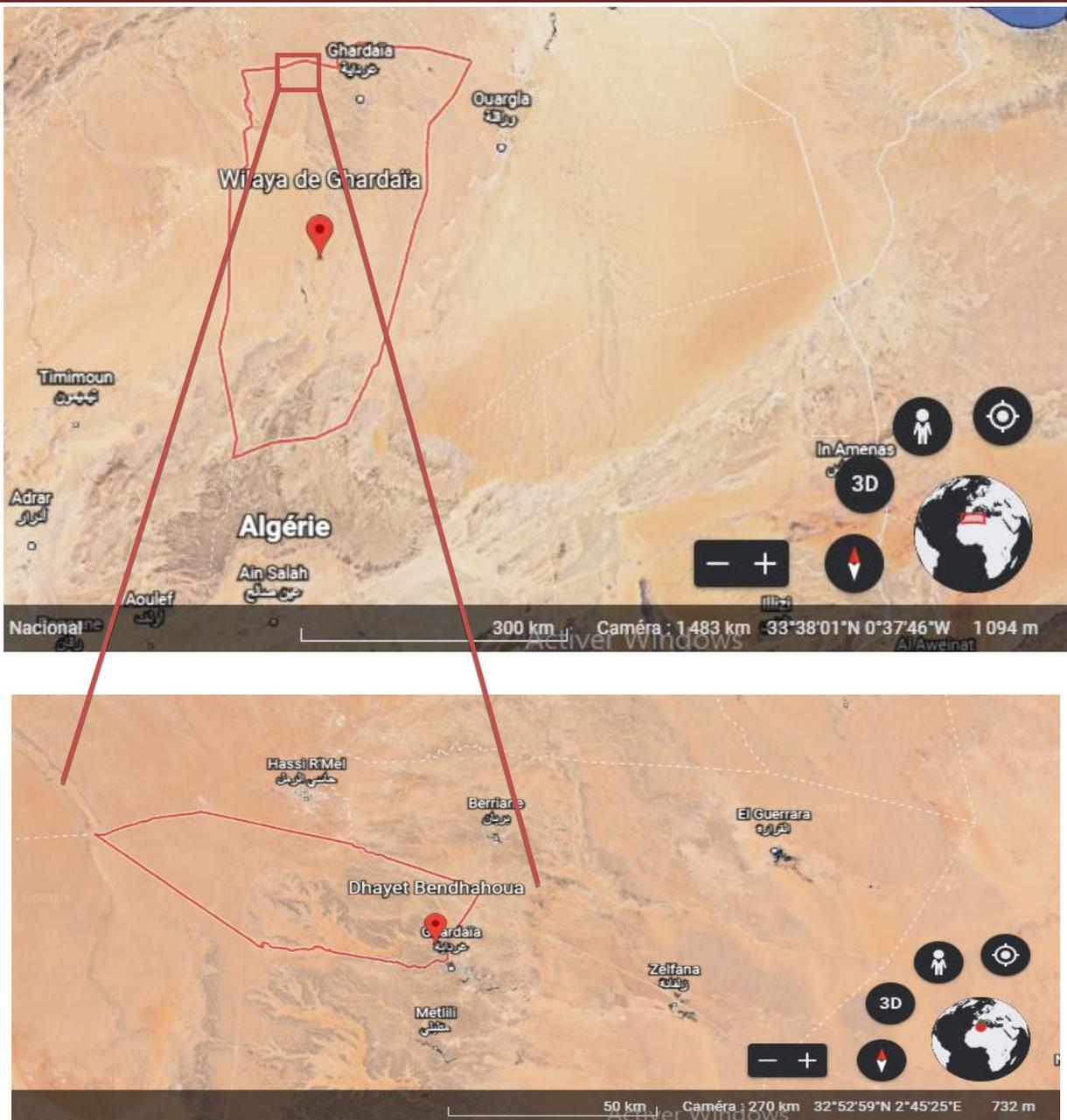
### **I.1-Réactifs chimiques**

Notre étude expérimentale est réalisée au sein du laboratoire d'analyse chimique du département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre de l'Université de Ghardaïa.

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude ont été fournis par Université de Ghardaïa (département de biologie); sont achetés de Sigma Aldrich, Fluka analyticals et VWR Prolabo Chemicals.

### **I.2- Présentation de la zone d'échantillonnage**

Le matériel végétal qui est constitué des feuilles d'*Olea europaea* L. ont été fraîchement récoltées au niveau de la région d'Adaira-Daia Ben Dahoua (Wilaya de Ghardaïa). Cette région est localisée au niveau de 32°32'13" de latitude Nord et 3°36'20" de longitude Est. Elle est située à 10 Km au nord-ouest de la wilaya de Ghardaïa (Figure 01).



**Figure 01 :** Situation géographique de la région d'étude (Adaira-Daia Ben Dahoua) par application de Google Maps.

### I.3- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de l'expérimentation est représenté par des feuilles d'oliviers: *Olea europaea*. L. Les feuilles de l'olivier sont récoltées au niveau de la région D'Adaira - Daia Ben Dahoua (Wilaya de Ghardaïa), durant le mois de Décembre 2021.

### I.3.1- Choix du matériel végétal

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Olea europaea* 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, qui ont révélé sa richesse diversifiée en plusieurs composés secondaires qui lui procurent des propriétés biologiques : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et bien d'autres.

Durant la récolte, les feuilles d'olivier sont engendrées en grande quantité avec les olives. Ces sous produits sont écartés des olives dans les oliveraies et les huileries. La valorisation de ces résidus est devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole. Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leur richesse en composés phénoliques, qui ont un pouvoir antioxydant, anticancéreux et antimicrobien plus puissants (Aouidi, 2012). Alors, l'objectif de ce travail vise à évaluer l'activité antioxydante des principes actifs extraits par des solvants de polarité différente des feuilles d'*Olea europaea* L..

### I.3.2- Description botaniques et systématique d'*Olea europaea* L.

L'olivier est un arbre à feuillage persistant de longue vie, généralement plus de 500 ans, mais des arbres plus âgés de 2000 ans ont été enregistrés. Son système racinaire est très large et se compose principalement de racines adventices qui se développent dans les premiers centimètres du sol. Le système racinaire s'adapte aux conditions de sol et n'émet de racines profondes que si les conditions hydriques et minérales l'exigent (Himour, 2018).

L'olivier est un arbre de 3 à 10 mètres, parfois un arbrisseau de 1,5 à 2 mètres. Dans les pays chauds, il peut arriver jusqu'à 10 mètres de hauteur. Généralement noueux, écorce adulte gris et craquelée, souvent couverte cicatrices. Le tronc des jeunes oliviers est droit et circulaire. En vieillissant, il se déforme et acquiert son aspect tourmenté caractéristique, des zones successives de dépression, les cordes, apparaissent (Bouabdellah, 2014).



**Figure 02** : Aspect morphologique de la plante *Olea europaea* L. et leurs parties (**Bisset, 2018**)

Les feuilles sont simples, lancéolées, pointues sur le rameau, elles sont opposées et le pétiole est court, elles sont glabres et à bords révolutés. La nervure principale est seule apparente. La face supérieure est luisante de couleur vert foncé, tandis que la face inférieure présente un aspect argenté dû à une pruine, les feuilles de l'olivier mesurent de 2 à 8 centimètres de long et de 0.5 à 1.5 centimètres de large (figure 02) (**Bendjaballah et al., 2021**).

Dès le début du mois de mai, on peut voir fleurir les oliviers, cependant la floraison ne dure qu'une huitaine de jours. Ce sont des fleurs hermaphrodites, tétramères au cœur de la fleur, l'ovaire à 2 loges se prolonge par un épais stigmate, et les 2 étamines saillantes s'attachent sur le tube de la corolle. Les fleurs sont petites, blanches, odorantes, regroupées en grappes dressées à l'aisselle des feuilles. Le fruit et le noyau sont de forme et de dimension variables, caractéristiques de la variété qui leur donne naissance. La forme du fruit peut être sphérique, ovoïde ou allongée, la longueur du fruit et celle du noyau sont le caractère le plus héréditaire (**Himour, 2018**).

L'espèce *Olea europaea* L. a été nommée par Linné en raison de son aire géographique. L'olivier appartient à la famille des oléacées. Le genre est appelé "*Olea*" et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. L'espèce cultivée en Méditerranée est "*Olea europaea*", dans laquelle on trouve l'oléastre ou l'olivier sauvage, et l'olivier cultivé (**Loussert et Brousse, 1978**).

**Tableau 01** : Classification botanique de l'arbre de l'olivier selon **Ghedira (2008)** est la suivante :

<b>Embranchement</b>	Magnoliophyta
<b>Sous-embranchement</b>	Magnoliophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	Asteridae
<b>Ordre :</b>	Scrophulariales
<b>Famille</b>	Oleaceae
<b>Genre</b>	<i>Olea</i>
<b>Espèce</b>	<i>Olea europaea</i> L.

### II.3- Répartition géographique

La culture d'olivier a une grande importance économique et sociale dans le secteur méditerranéen. En fait, elle est l'une des plupart activités agricoles importantes dans les pays méditerranéens, elle couvre 8 millions d'hectare, presque 98% de la récolte mondiale.

En Afrique, l'olivier est cultivé par ordre d'importance en Tunisie (56 millions), Maroc (50 millions), Algérie, Libye, Egypte, Afrique du Sud et Angola. Les pays d'Euro cultivent l'olivier sont par ordre d'importance : L'Espagne (309 millions d'oliviers), l'Italie (238 millions), la Grèce (170 millions), le Portugal (72 millions) et la France (7 millions). Au Moyen Orient et en Asie, les pays cultivateurs d'olivier Syrie, Palestine, Liban, Jordanie, Irak, Iran et Chine. En Amérique, l'olivier est cultivé par ordre d'importance en Argentine, Mexique, Chili, Pérou, Uruguay, Brésil et Etats Unis (Californie). L'Australie fait partie des nouveaux producteurs. Le bassin méditerranéen reste une zone privilégiée par rapport au reste du monde pour la culture de l'olivier grâce à son climat adéquat tant au niveau de la température mais aussi au niveau de l'hydrométrie (figure 03) (**Aouidi, 2012 ; Mirad et Badis, 2019**).

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier. Selon Onfaa (2016), la superficie du verger oléicole au cours de la campagne (2015/2016), s'est élevée à 471657 ha. Cette superficie a connu une augmentation de près de 16% comparativement à la campagne écoulée, ce qui correspond à la mise en place de plus de 64000 ha de nouvelles plantations. Selon le Ministère de l'agriculture (2005), cette surface est localisée au Nord (Centre, Est et Ouest) avec un pourcentage de 99.6%, et le Sud avec 0.4% (**Himour, 2018**).

## II. Méthodes d'analyse

### II.1- Préparation de la poudre végétale

La préparation des échantillons est d'une importance capitale pour toute analyse fiable. Dans notre étude, nous sommes intéressés par les feuilles de l'arbre. Après la récolte, les feuilles sont nettoyées à l'eau de robinet puis à l'eau distillée pour enlever la poussière puis étalées et séchées dans une étuve à température 40°C pendant 48h.



**Figure 03** : Préparation de la poudre végétale.

(a) : Nettoyage des feuilles d'olivier par l'eau de robinet(Original).

(b) : Séchage des feuilles d'olivier par une étuve(Original).

(c) : Broyat des feuilles d'olivier (Original).

Par la suite, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre de feuilles séchées, puis conservé à température ambiante jusqu'à l'utilisation.

### II.2- Préparation des extraits

La méthode d'extraction des biomolécules utilisée au laboratoire est la macération, en raison de sa simplicité d'exécution, une température ambiante ainsi que des quantités plus faibles de solvant utilisé et une grande reproductibilité. En effet, la macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans un solvant pendant une période donnée, pour extraire les principes actifs (comme les composés phénoliques et flavonoïdes) (**Hamia et al., 2014**).

En revanche, les composés phénoliques sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte. Ainsi, en raison d'obtenir une partielle séparation des molécules

bioactives, les solvants qui ont été retenus pour notre étude sont des solvants aux polarités croissantes.

Alors, une quantité de 1 g du matériel végétal broyé est macéré dans un volume de 20 ml de solvants aux polarités croissantes : éther de pétrole, acétate d'éthyle, méthanol et l'eau distillée pendant 48 h à l'obscurité et à température ambiante. Les quatre extraits obtenus ont été filtrés (la filtration est réalisée sur papier Whatman). Le filtrat récupéré a été évaporé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (Heidolph) pour une élimination totale des solvants afin de déterminer le rendement d'extraction. Après, les résidus sont repris dans un volume déterminé de chaque solvant et les conservés à 4°C jusqu'à leur étude.

### II.3- Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation de solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Il est calculé selon la formule suivante:  $R(\%) = (P1 - P2/P3) \times 100$

P1: poids du ballon après évaporation ;

P2: poids du ballon vide;

P3: poids de la matière végétale de départ (**Mahmoudi et al., 2013**).

### II.4- Tests phytochimiques

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles des molécules actives. Ces tests sont des études qualitatives utilisées pour connaître la composition chimique globale des extraits. Ils sont basés sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Des observations sous lampe UV peuvent être aussi utiles.

Les molécules mises en évidence sont les composés phénoliques (tanins, flavonoïdes, coumarines et quinones libres), les composés terpéniques (terpénoïdes, stéroïdes et saponines), les composés azotés (alcaloïdes) et les composés réducteurs. Le tableau 02 illustre les différents groupes chimiques recherchés et les réactifs spécifiques utilisés ainsi que les résultats positifs.

**Tableau 02** : Différents tests de criblage phytochimique

Groupes chimiques	Protocol	Résultats positifs
-------------------	----------	--------------------

<b>Tanins</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,2 ml d'extrait</li> <li>• quelque gouttes Fe Cl<sub>3</sub> à (1%)</li> <li>• incubation pendant 15 min à 50°C</li> </ul>	Présence des tanins est indiqué par une coloration verdâtre ou bleu noir ( <b>Trease et Evans, 1987</b> )
<b>Flavonoïdes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 ml d'extrait</li> <li>• 2 ml d' HCL</li> <li>• 2 ml(NH<sub>4</sub>OH)</li> </ul>	Une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique ( <b>Mibindzou Mouellet, 2004</b> )
<b>Terpénoïdes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 ml d'extrait</li> <li>• 0,4 ml chloroforme</li> <li>• 0,2 ml d'acide sulfurique,</li> </ul>	Une couleur mauve ou violette indique un test positif
<b>Coumarine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,5 ml de l'infusé sont révélées à partir à 5%</li> <li>• 0,8 ml d'NaOH (10%)</li> </ul>	Apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarines ( <b>Diallo,2000</b> )
<b>Quinones libre</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,5 ml d'extrait</li> <li>• quelque goutte de NaoH(1%)</li> </ul>	Développent une couleur qui viré au jaune rouge ou violette ( <b>Dohou, 2004</b> )
<b>Alcaloïdes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 ml de chaque extrait</li> <li>• 0,5 ml de HCl à 1 %</li> <li>• chauffage pendant 20 minutes</li> <li>• refroidissement du mélange</li> <li>• 1 ml de réactif de Mayer</li> </ul>	Présence d'alcaloïdes dépend de la formation de précipités verts ou blanc cassé ( <b>Lerato et al., 2017</b> ).
<b>Composes réducteurs</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,25 ml de l'extrait</li> <li>• 0,5 ml d'eau distillée</li> <li>• 0,5 ml de la liqueur de Fehling</li> <li>• chauffage au bain marie à 40C°</li> </ul>	Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique.
<b>Saponosides :</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 ml de chaque extrait</li> <li>• Quelques gouttes d'eau distillée</li> <li>• Agitation de mélange</li> </ul>	Après 20 min: Pas de mousse = Test négatif, mousse de 1-2 cm = Test positif (Trease et Evans, 1987).
<b>Stéroïdes :</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2,5 ml de chloroforme</li> <li>• 2,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></li> <li>• 0,25 ml de chaque extrait.</li> </ul>	Changement de couleur du violet au bleu ou au vert ou par un anneau bleu/vert ou si la couche supérieure devenait rouge et la couche sulfurique était jaune avec une fluorescence verte (Lerato et al, 2017).

<b>Anthocyanes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,5 ml de chaque extrait</li> <li>• 0,5 ml de HCl 2N</li> <li>• 0,5 ml d'ammoniac</li> </ul>	Présence d'anthocyanes est déterminée par leur aspect rose à violet bleuté (Lerato et al., 2017).
--------------------	---	---

## II.5-Analyses quantitatives

### II.5.1-Dosage des phénols totaux

#### Principe :

La dosage des phénols totaux dans les extraits de feuilles et fruits de *Olea europaea* L. a été déterminée par une méthode colorimétrique à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**), puisqu'elle est considérée parmi les meilleures méthodes de quantification des phénols totaux des extraits de plantes (**Robards, 2003**).

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, contenant un mélange d'acide phospho tungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phospho molybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). Cette coloration bleue, l'intensité, est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu dont donne un maximum d'absorption à 760 nm (**Kaanin et Harfi, 2012**).

#### Mode opératoire

Dans des tubes à essais, 100  $\mu$ l de chaque extrait d'*Olea europaea* L. sont ajoutés à 500 $\mu$ l de Folin-Ciocalteu dilué dix fois, bien mélanger et laisser dans l'obscurité à température ambiante pendant 5 minutes. Ajouter ensuite 2 ml de carbonate de sodium  $Na_2CO_3$  (2%), les tubes sont agités et incubés à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après 30 minutes d'incubation, les absorbances des mélanges sont mesurées à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (SpectroScan 40), contre un blanc qui comporte les mêmes composants à l'exception de l'extrait testé. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations. Toutes les mesures sont effectuées en duplicata.

Les concentrations des phénols totaux contenus dans les extraits des feuilles d'olivier sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage d'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 100 gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/100g).

## II.5.2-Dosage des flavonoïdes

### Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode adaptée de **Lamaison et Carnat (1991)** avec le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) (**Bahorun, 1997**). En effet, Le chlorure d'aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes qui possédant un groupement hydroxyle (OH) libre (**Boulekbache, 2005**).

### Mode opératoire

Dans un tube à essai, 1 ml d'extrait est mélangé avec 1 ml de solution de chlorure d'aluminium à 2 %. Après incubation pendant 20 min à température ambiante, l'absorbance est lue dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc.

On effectue la même opération pour la rutine à différentes concentrations en introduisant 1ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d' $\text{AlCl}_3$  à 2%. Toutes les opérations sont réalisées en duplicata.

Brièvement, 1 ml d'extrait est ajouté à 1 ml de solution de chlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  à 2%, le mélange est vigoureusement agité. Après 20 min d'incubation, à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc. La rutine est utilisée comme standard pour préparer une gamme étalon dans la marge de concentration 0.03 - 1mg/ml en suivant le même mode opération que les extraits étudiés. Toutes les opérations sont réalisées en duplicata

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les différents extraits sont calculées, en se référant à la courbe d'étalonnage de la rutine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent la rutine par un milligramme d'extrait de feuilles (mg ER/mg).

## III.6-Activité antioxydante

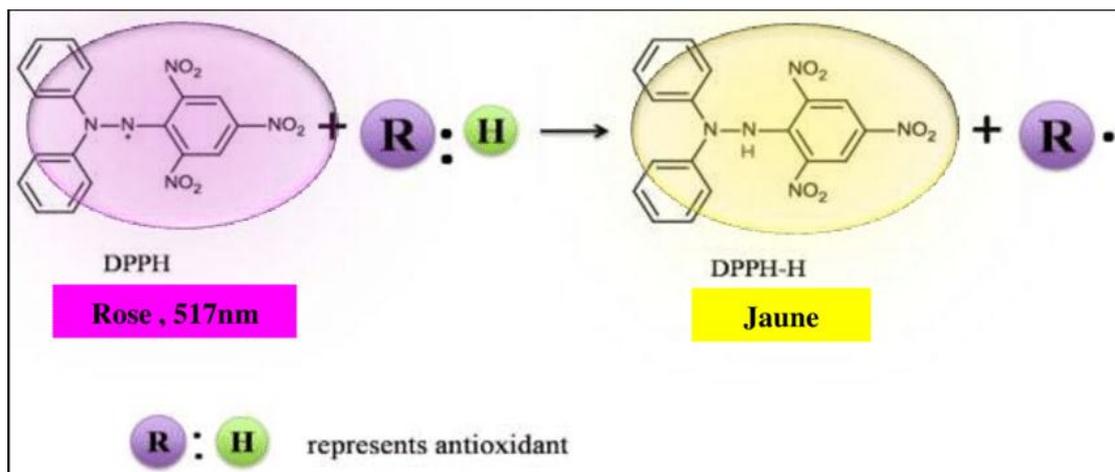
L'évaluation de l'aptitude du composé (extrait) à piéger des radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber la création de radicaux libres (**Benlagna et Khelil, 2019**). Les tests proposés pour la mise en évidence du pouvoir antioxydant et anti-radicalaire des extraits phénoliques des feuilles d'olivier ont été réalisés par le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).

### II.6.1-Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

#### Principe

La mesure de l'activité anti-radicalaire des différents extraits a été testée selon la méthode de **Mansouri et al. (2005)**. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de diphényl picryl hydrazyl (DPPH) en solution dans le méthanol. Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm (**Wootton et al., 2011**).

L'addition d'un antioxydant dans une solution de DPPH conduit à une décoloration et réduit le radical DPPH• ayant une couleur violette en un composé jaune DPPH-H (Diphénylpicrylhydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. La décoloration de la solution, qui est exprimée par une diminution de l'absorbance, est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres (Figure 04) (**Sanchez-Moreno, 2002 ; Boubekri, 2014**).



**Figure 04** : Réduction du radical libre DPPH• en présence d'antioxydant (**Congo, 2012**).

#### Mode opératoire

Pratiquement, un volume de 100 µl des solutions d'extraits et des antioxydants de référence, qui ont été solubilisés dans du méthanol à différentes concentrations, sont ajoutés à 1 ml de DPPH (250 µM). Le mélange est agité vigoureusement puis laissé à l'obscurité pendant 30 minutes pour permettre à la réaction de se produire. La décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible contre un blanc de méthanol. A titre de comparaison, la puissance anti-radicalaire standard (Tolox et acide ascorbique) a été mesurée en utilisant la même méthode que ci-dessus.

À partir des mesures de densité optique de chaque extrait ou antioxydant de référence à différentes dilutions, le pourcentage d'inhibition du DPPH a été calculé à l'aide de la formule suivante (Yu *et al.*, 2004).

$$\% \text{ d'inhibition} = (A_{\text{Témoin}} - A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Témoin}}) * 100$$

Où :  $A_{\text{Témoin}}$  : désigne l'absorbance de DPPH• seul sans antioxydant.

$A_{\text{Echantillon}}$  : représente l'absorbance de DPPH• en présence de l'antioxydant.

Ensuite, le traçage du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration en des extraits phénoliques ou antioxydants standards choisis a permis d'obtenir la concentration  $IC_{50}$  qu'elle s'agit la concentration exigée pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH (Kroyer, 2004).

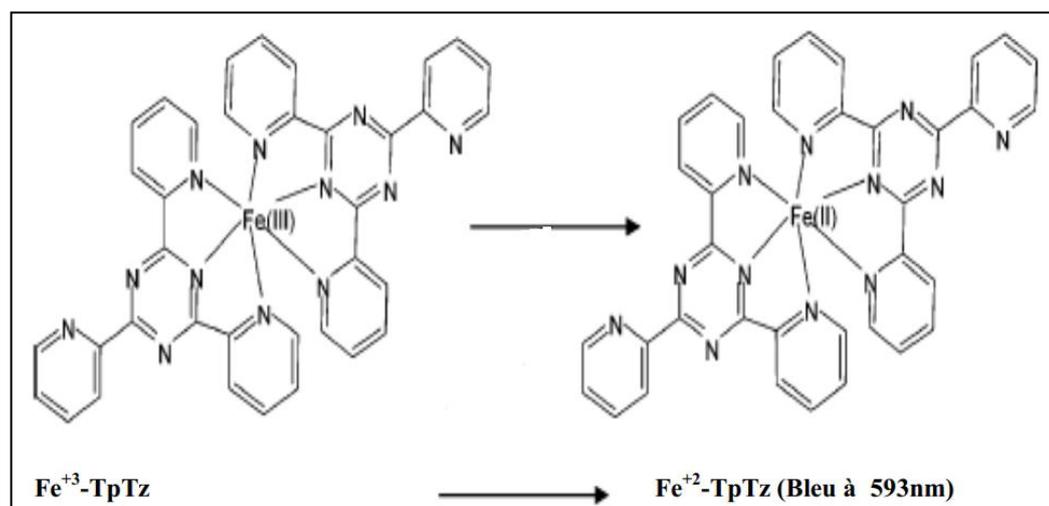
## II.6.2-Test de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)

### Principe

Le pouvoir réducteur des extraits a été évalué en utilisant la méthode décrit par **Benzie et Strain (1996)** avec quelque modification. La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est un essai simple, rapide, peu coûteuse et ne nécessite aucun équipement particulier. Elle est universelle, peut être appliquée aussi chez des plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (**Bougandora et Bendimerad, 2013**).

Ce test est basé notamment sur la mesure de l'aptitude des agents antioxydants en milieu acide à réduire le complexe ferrique-triperidyltriazine ( $Fe^{+3} - TPTZ$ ) en un complexe ferreux-triperidyltriazine ( $Fe^{+2} - TPTZ$ ) de couleur bleu intense mesurable à 593 nm. Donc une absorbance

élevée indique que l'extrait possède un grand pouvoir réducteur (Ou *et al.*, 2002 ; Ghaisas *et al.*, 2008). Le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significative de son activité antioxydant potentielle (Gheffour *et al.*, 2015).



**Figure 05 :** Réduction du tripyridyl-triazine ferrique (Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) en présence d'antioxydant (Ali Haimoud, 2017).

### Mode opératoire

Brièvement, 100 µl de chaque extrait est mélangé avec 1 ml de réactif FRAP qui est formé par le mélange de 25 ml du tampon d'acétate (300 mM, pH 3.4) avec 2.5 ml de la solution du TPTZ (10 mM dans 40 mM HCl) et 2.5 ml de la solution du trichlorure de fer FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (20 mM). La variation de l'absorbance à 593nm est déterminée à un intervalle de temps régulier de 1 min à 7 min

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant le FeSO<sub>4</sub> comme étalon à des concentrations comprises entre (0,1 et 1 g/l). Les résultats sont exprimés en mg/ml de Fe (II) par l'utilisation de l'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de FeSO<sub>4</sub>. Dans un souci de comparaison du pouvoir réducteur de nos extraits, nous avons testé l'acide ascorbique, l'acide caféique et le Trolox qui sont pris comme des antioxydants de référence.

Ainsi, le paramètre EC1 (concentration équivalente 1), des extraits et les standards, est calculé. Il est défini comme la concentration de l'antioxydant qui donne une réduction du TPTZ équivalent à 1mM du FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O.

# *Résultats et Discussion*

## I. Rendements d'extraction

L'extraction et la préparation des extraits des feuilles d'*Olea europaea* L. a été réalisée par la méthode de macération à froid qui est très positive pour conserver l'intégrité des molécules bioactifs qui sont sensibles aux changements de température pour une durée déterminée (Lecheheb, 2010). Cette macération a été effectuée par quatre solvants à une polarité croissante (éther de pétrole < acétate d'éthyle < méthanol < eau distillé) pour d'obtenir des extraits riches en différents composants biochimiques.

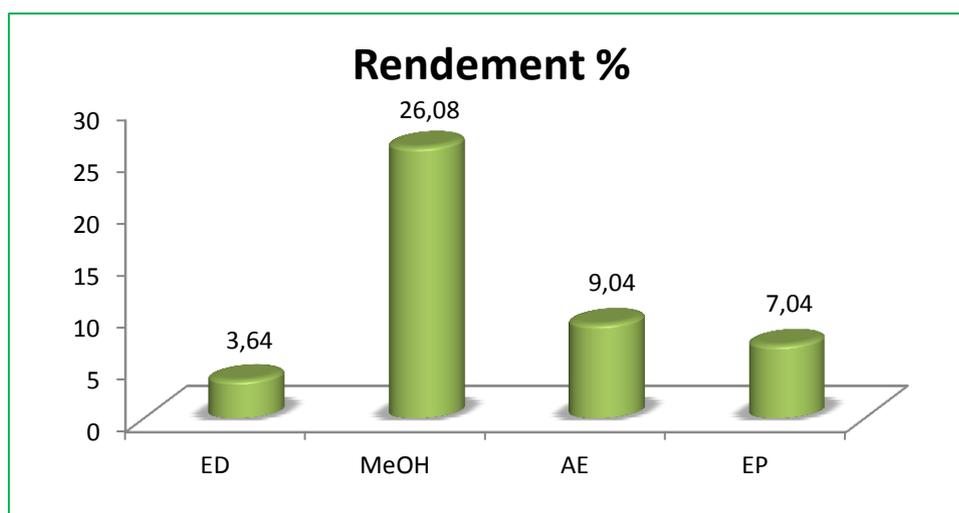
Généralement, les quatre extraits obtenus présentent un aspect pâteux pour tous les extraits avec des couleurs différentes (vert foncé, marron, jaune, vert). La couleur des extraits est vert foncé pour le méthanol, de marron pour l'eau distillé, jaune pour l'éther de pétrole et vert pour l'acétate d'éthyle. La couleur et l'aspect de chaque extrait sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 03 :** Aspect et couleur des extraits phénoliques.

Extrait	Couleur	Aspect
Ether de pétrole	Jaune	Pâteux
Acétate d'éthyle	Vert	Pâteux
Méthanol	Vert foncé	Pâteux
Eau distillé	Marron	Pâteux

La différence de la couleur entre les extraits est due à la présence des pigments de différentes natures. Selon la littérature, ils peuvent être des chlorophylles, caroténoïdes, des anthocyanes, des flavones, des flavonoles, des lycopènes, des flavo-xanthine et des lutéines (NezamEl-Din *et al.*, 1982; Gross *et al.*, 1983).

Les rendements d'extraction par macération ont été déterminés par rapport la masse initiale de la poudre des feuilles de l'olivier, ils ont été exprimés en pourcentage. Les résultats de différents extraits étudiés sont reportés dans la figure 07.



**Figure 06:** Rendements en pourcentage des extraits des feuilles d'olivier *Olea europaea L.*

D'après les résultats obtenus et qui sont résumés dans l'histogramme ci-dessus (Figure 07), nous remarquons une variabilité des rendements entre les quatre extraits. Les pourcentages sont variés entre 3,64% et 26,08%. Le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait de méthanol avec un pourcentage de 26,08%, tandis que le plus faible est celui de l'extrait d'eau distillé avec un pourcentage de 3,64%.

Au regard l'histogramme, les teneurs d'extraction obtenues des deux extraits d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole sont très proches entre eux dont ils ont enregistré des pourcentages de 9,04% et 7,04% respectivement.

La macération de la poudre des feuilles d'olivier dans le méthanol s'accompagne d'une augmentation du rendement d'extraction par rapport les autres solvants. Ce qui indique que les molécules actives des feuilles d'*Olea europaea L.* sont plus solubles dans ce solvant. Ainsi, il peut s'expliquer par le fait que les feuilles d'olivier contenant des composés bioactives très polaires.

Dans l'étude de **Benalia et Naili (2020)** qui ont travaillé sur la même plante « *Olea europaea L.* », ils ont obtenu un rendement d'extraction nettement supérieur à nos extraits, varié de 16,46% au 36,93%. Par contre, nos résultats sont supérieurs à ceux reportés par **Bouabdallah (2014)** qui a obtenus un rendement d'extraction entre 15 % et 30%.

La nature chimique des composés phénoliques des végétaux varie des simples substances aux très polymérisés qui incluent des proportions variables de composés phénoliques : acides, phényl propanoïdes, anthocyanes et tannins, entre autres. Ils peuvent également exister sous forme de

complexes avec des glucides, des protéines et d'autres composants, certains de haut poids moléculaire de ce fait les composés phénoliques peuvent être tout à fait insolubles (**Naczk et Shahidi, 2004**). Généralement, les composés phénoliques sont classés comme des molécules plutôt hydrosolubles. Ils sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte (**Lecheheb, 2010**).

Par ailleurs, l'utilisation des solvants de différente polarité permet de séparer des composés selon leur degré de solubilité dans le solvant. Cette méthode d'extraction menée à température ambiante et sous agitation continue, permet d'extraire le maximum des composants bioactifs et de prévenir leur dénaturation ou modification probable (**Djemai Zoughlache, 2009**). Le rendement d'extraction de notre étude reste faible, malgré l'utilisation du méthanol qui peut aisément extraire la plus part des composés phénoliques qui présents dans la vacuole ; mais ce n'est pas le cas pour les phénols insolubles au niveau des parois pecto-cellulosiques qui peuvent être les constituants majoritaires de nos extraits (**Machiex et al., 2005**).

D'après la littérature, les résultats montrent la présence des composés phénoliques dans l'espèce d'olivier avec des proportions variables selon le solvant et la méthode d'extraction utilisée (**Bouabdallah, 2014; Mirad et Badis, 2019**). Dans cette étude, la méthode d'extraction utilisée est la macération à froid qui est relativement peu coûteuse, la plus simple et aussi permet de préserver la bio-activité de ses principes actifs et de maximiser le temps de contact du solvant avec le matériel végétal (**Khenfer et Medjouel, 2016**). Tandis que, le travail de **Benlagha et Khelil (2019)** sur les feuilles d'olivier a montre que l'infusion a permis d'obtenir le meilleur rendement par rapport la macération et la décoction.

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques du matériel végétal ainsi qu'à l'origine géographique, à la période et le lieu de récolte, aux conditions et à la durée de stockage et aussi aux méthodes d'extraction appliquées (**Falleh, 2008**).

Autant, cette différence est due aux plusieurs paramètres : la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction, le pH, la température, le temps d'extraction et la concentration en soluté de l'échantillon, la nature du solvant et la durée d'extraction (**Spigno et al., 2007 ; Santos et al., 2012**).

## II. Tests phytochimiques

La réalisation des tests phytochimiques a pour objectif de détecter les différentes familles de substances bioactives existantes dans les feuilles de l'olivier (polyphénols, saponosides, flavonoïdes, composés réducteurs, alcaloïdes, tanins, coumarines...) en se servant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces dernières basent sur des phénomènes de précipitation ou de complication avec formation des complexes insolubles ou des colorations par des réactifs spécifiques à chaque catégorie des composés (Bioud et Hamidellou, 2019). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 04.

**Tableau04 : Résultats des tests phytochimiques**

Les extraits Les tests	ED	EP	AE	MeOH
<b>Flavonoïde</b>	++++	+	+	++
<b>Tanins</b>	-	-	-	-
<b>Terpènes</b>	-	+	+	+
<b>Coumarines</b>	++	+	+	++
<b>Quinones</b>	+++	-	+	+
<b>Alcaloïdes</b>	+	+	+	+
<b>Composés réducteurs</b>	-	-	-	-
<b>Saponosides</b>	-	+ 1cm	++ 2cm	-
<b>Stéroïdes</b>	+++	+	++	++
<b>Anthocyanines</b>	-	-	-	-
<b>Tanins galliques</b>	-	-	-	-
<b>Tanins catechiques</b>	-	-	-	-
<b>Tanins stimulent</b>	-	-	-	-

(+++): Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : absence.

D'après les résultats obtenus dans le tableau 04, nous avons remarqué que l'*Olea europaea* L. est très riche en flavonoïdes et les stéroïdes et les quinones surtout pour l'extrait aqueux, de même nous avons enregistré une présence importante des coumarines dans l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique.

Pour les terpènes, ils sont faiblement présents dans l'extrait méthanolique, éther de pétrole et acétate d'éthyle et ils sont absents dans l'extrait aqueux et pour les alcaloïdes sont aussi faiblement présents dans tous les quatre extraits (ED, EP, AE, MeOH). On peut conclure aussi, que les composés réducteurs, les tanins et les anthocyanines n'ont pas déterminés (négatif) dans les quatre extraits.

Une étude phytochimique sur les feuilles d'*Olea europaea* L. réalisé par **Himour et al., (2016)** mis en évidence la présence de flavonoïdes, en quantités importantes, les coumarines, les quinones libres, les terpénoïdes, les saponosides et ces résultats sont en accord avec nos résultats. Aussi, le travail de **Kaskoos (2013)** a indiqué la présence des alcaloïdes dans les feuilles ce qui confirme notre résultat.

Ces résultats montrent la richesse des feuilles de l'*Olea europaea* L. en certains molécules bioactifs qu'ils ont des effets bénéfique sur la santé tels que : antibactérienne, antioxydants, anti-tumoral et prévention des maladies cardiovasculaires.

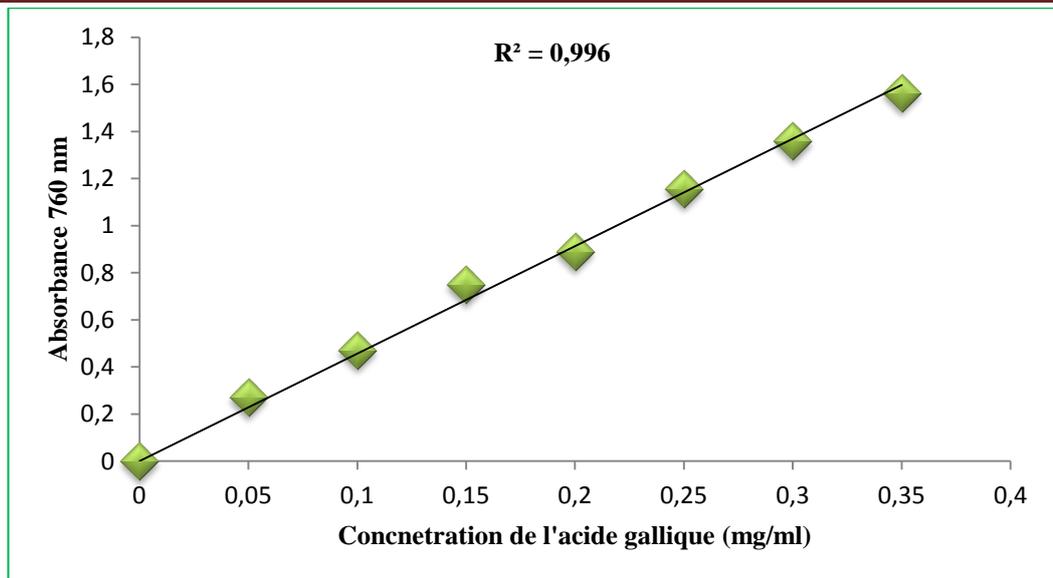
### III. Analyses quantitative

L'étude quantitative des différents extraits des feuilles de l'olivier au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur totale des phénols totaux et flavonoïdes. La mesure d'une longueur d'onde bien précise a été réfléchié par spectrophotométrie UV-Visible pour la molécule ou le complexe qu'elle forme avec un réactif ; l'intensité d'absorption permettra de déterminer la quantité de la molécule présente dans un échantillon par rapport à un témoin de concentration connue (**Maisuthisakul et al., 2008**).

Les quantités des phénols totaux et des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en milligramme d'équivalents de l'étalon utilisé par gramme de la matière sèche (mg EE/g MS) et déterminées par l'équation de type :  $y = a x + b$ . Pour cet objectif, deux droites d'étalonnages ont été tracées qui sont réalisées avec des solutions d'étalons à différentes concentrations.

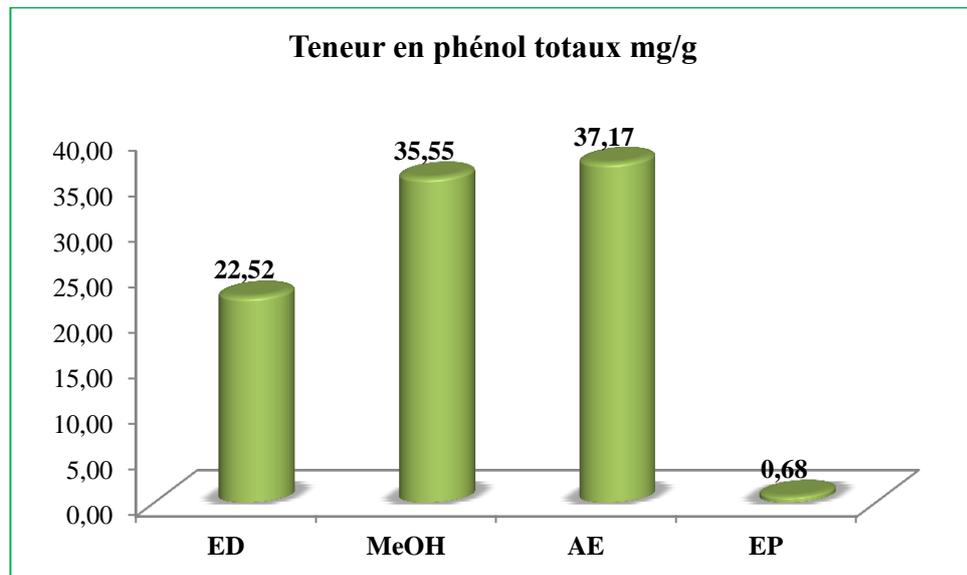
#### III.1-Dosage des phénols totaux

Une courbe d'étalonnage figure (07) a été tracée pour cet objective, et réalisée avec l'acide gallique à différentes concentration.



**Figure 07 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats obtenus pour le dosage des phénols totaux sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). Les teneurs en phénols totaux des différents extraits de l'*Olea europaea* L. sont présentées dans la figure (08).



**Figure 08 :** Teneur en phénols totaux des différents extraits de l'*Olea europaea* L.

L'analyse globale des résultats obtenus dans la figure (08) a dévoilé que les extraits des feuilles de l'olivier possèdent des teneurs en phénols totaux très importantes et en relation avec le solvant d'extraction utilisé. Les teneurs en phénols totaux des différents extraits varient entre 37,17 et 0,68mg EAG/g MS. La teneur la plus élevée des phénols totaux a été mesurée dans l'extrait d'acétate d'éthyle, avec un taux de 37,17 mg EAG/g MS, par rapport aux extraits méthanolique, eau

distillée et éther de pétrole où nous avons enregistré des teneurs de l'ordre de 35,55 et 22,52 et 0,68 mg EAG/g MS respectivement.

En effet, les extraits organiques d'acétate d'éthyle et de méthanol comportent des taux importants en phénols totaux par rapport aux autres extraits. Ceci, pourrait être dû à la nature des composés phénoliques extraits par ces deux solvants ; qu'ils possèdent ainsi une polarité moyenne à forte qui permettra de solubiliser la plupart des phénols comme les flavonoïdes aglycones et les acides phénoliques. Les composés phénoliques de nature polaires, tels que les tanins et les saponines, sont généralement plus extractibles par les solvants les plus polaires (**Evans, 2006**). Puisque les tests phytochimiques détectent l'absence des tanins et une présence assez faible des saponines, cela peut-être expliquer la faible teneur d'extrait d'eau distillée en phénols totaux. On peut conclure que le contenu phénolique dans les extraits examinés, dépend de la polarité du solvant utilisé pour l'extraction ainsi la nature chimique des composés majoritaires présents dans les feuilles de l'olivier.

Egalement, les pourcentages du rendement d'extraction ne reflètent pas officiellement les teneurs en phénols totaux, cette constatation est valable pratiquement pour la plus part des extraits. Par exemple, l'extrait d'acétate d'éthyle qui a présenté la meilleure teneur en phénols totaux malgré qu'il a noté une valeur peu faible en rendement d'extraction (9.04 %) et très proche de l'extrait d'éther de pétrole qu'il a enregistré la teneur la plus faible en phénols totaux.

La comparaison des teneurs en phénols totaux avec celles rapportées par la bibliographie, on constate que les teneurs en phénols totaux de nos extraits sont supérieures par rapport à ceux trouvées par **Ali Rachedi et al. (2018)** qui ont obtenus des teneurs en phénols totaux varient entre 0,475 et 1,303 mg EAG/g ES. Des résultats semblables ont été trouvé à l'étude de **Bouabdallah (2014)** dont les teneurs en composés phénoliques des feuilles sont de 338.04 mg GAE/100 g, 599.12 mg GAE/100 g pour les extraits aqueux et hydro-méthanolique respectivement.

Pourtant, le travail de **Himour (2018)** a déterminé le contenu en phénols totaux dans des extraits méthanoliques des feuilles de quatre variétés d'*Olea europaea* L. de la wilaya de Mila. La teneur marquée pour tous les extraits est assez supérieur à celle de nos extraits. La variation de la teneur en composés phénoliques dans les feuilles de l'olivier semble être liée à la période de prélèvement, la variété et la zone d'étude.

Plusieurs études se sont intéressées à la quantification des composés phénoliques dans les extraits de l'olivier, elles ont montré que les feuilles de l'olivier sont plus riche en composés

phénoliques bioactifs que les fruits et l'huile d'olive, également que la présence des composés phénoliques est major dans les feuilles de l'olivier par apport aux autres organes (**Himour, 2018**).

La synthèse de ces différents résultats des teneurs en phénols totaux présente une variation, cette variation inter-variétale des composés phénoliques de l'olivier due à l'influence de divers facteurs parmi lesquels : la méthode d'extraction choisie, les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, ainsi qu'à l'origine géographique de la plante, la variété, les condition climatique (température, exposition au soleil, la sécheresse et la salinité...etc.), le régime d'irrigation, aussi que le facteur génétique, l'organe de la plante utilisé. Ainsi que la variation de teneurs en polyphénols semble être liée à la zone géographique oléicole (**Ksouri et al., 2009 ; Altiok, 2010 ; Himour, 2018 ; Meddour et Soualem, 2021**).

Le dosage des phénols totaux se fait par l'utilisation du réactif de Folin – Ciocalteu, parce qu'il est simple à mettre en œuvre et possède une grande longueur d'onde (760nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré (**Huang et al., 2005**). Néanmoins, la méthode de Folin-Ciocalteu est très sensible et n'indique pas toujours les valeurs précises des teneurs en phénols totaux puisque le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques dont peut réagir avec les acides aminés : tyrosine et tryptophane des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites ; ce qui provoque après des problèmes d'interférence pendant toute évaluation phénolique (**Boizot et Charpentier, 2006**).

En réalité, il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal non purifié (**Macheix et al., 2005**). Toutefois, la quantification de ces composés par chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) permettront la séparation et la quantification de composés phénoliques ainsi que la connaissance des principales classes de composés phénoliques présentes dans chaque extrait ainsi que leurs quantités relatives. L'élucidation de la structure est souvent réalisée en utilisant la combinaison de GC et HPLC avec l'analyse par spectrométrie de masse, ainsi que d'autres techniques pertinentes.

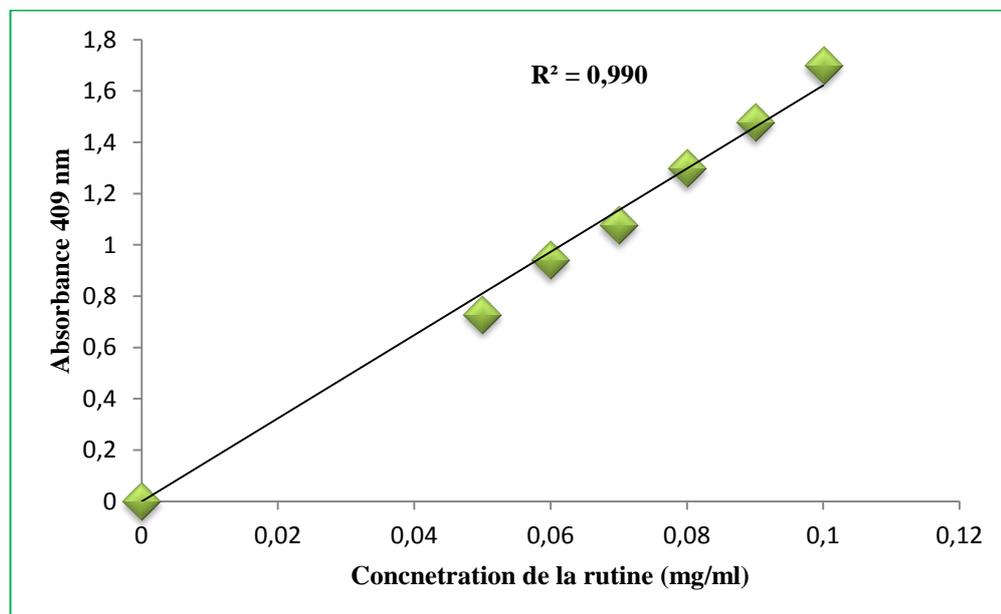
### **III.2-Dosage des flavonoïdes**

Les flavonoïdes se sont des composés phénoliques naturels les plus importants, qu'ils ont été identifiés dans presque toutes les parties de la plante : les feuilles, les racines, les tiges, les

fleurs, les graines et l'écorce (Lee *et al.*, 1994). Ils sont considérés comme des micronutriments importants puisqu'ils peuvent jouer des rôles antioxydants et posséder des propriétés biologiques diverses (Milane, 2004).

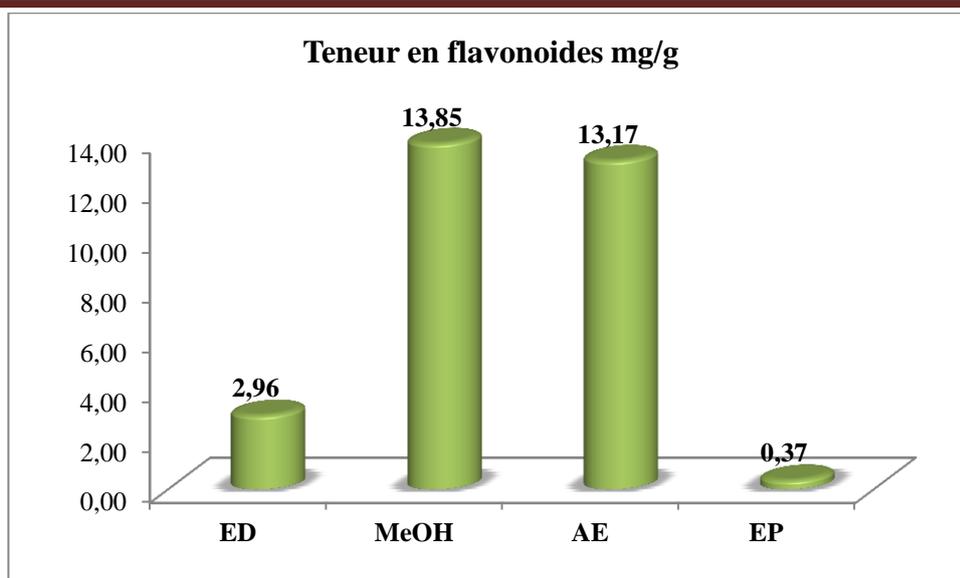
La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de Lamaison et Carnat (1991) en utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) comme réactif. Cette méthode est simple, peu coûteuse et elle est basée sur la formation d'un complexe jaunâtre très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Ce complexe absorbe la lumière UV à une longueur d'onde de 409 nm (Lagnika, 2005).

L'estimation des teneurs des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de la rutine (figure 9).



**Figure 9** : Courbe d'étalonnage de la rutine

D'après le traçage de la courbe d'étalonnage par mesure d'absorbance de différentes concentrations de la rutine (figure 9), on détermine les teneurs en flavonoïdes des différents extraits qui sont exprimées en milligrammes d'équivalents de la rutine par gramme de la matière végétale initiale (mg ER/g MS). Les résultats obtenus sont résumés dans la figure (10).



**Figure 10 :** Teneur en flavonoïdes des différents extraits de l'*Olea europaea* L.

L'analyse quantitative des flavonoïdes montre que les teneurs en flavonoïdes des différents extraits varient entre 13,85 et 0,37 mg ER/g MS. La valeur maximale est obtenue avec l'extrait de méthanol (13,85 mg ER/g MS), tandis que la valeur la plus faible en flavonoïdes a été enregistrée pour l'extrait d'éther de pétrole (0,37 mg ER/g MS). Alors que les extraits d'acétate d'éthyle et d'eau distillé sont notés des teneurs de l'ordre de 13,17 et 2,96 mg ER/g MS respectivement.

Au regard de ces résultats, nous pouvons constater que l'extrait de méthanol et d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier sont plus riches en flavonoïdes par rapport aux autres extraits. Ceci, est peut être expliqué par la nature des composés flavonoïdiques (le cas des isoflavones, flavanones et flavonols) qui sont extraits préférentiellement par l'acétate d'éthyle (**Andersen et Markham, 2005**). Egalement, le méthanol est le meilleur solvant permettant d'extraire le maximum des composés phénoliques (**Abdille et al., 2005**).

En outre, les pourcentages des flavonoïdes par rapport le contenu en phénols totaux sont compris entre 13,15 et 53,79 %. Il est clair que les teneurs en flavonoïdes sont inférieures à ceux des phénols totaux, mais aussi sont moins de la moitié de la quantité des extraits ce qu'indique que nos extraits sont pauvre en ces composés et le reste pourrait être d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (Acide phénoliques, coumarines, stilbènes..) présentent en quantités importantes.

A titre de comparaison de notre étude avec la littérature, le travail de **Morzouglal et Rabouh (2019)** a montré des valeurs assez faibles par rapport nos résultats avec une teneur de  $0,107 \pm 0,003$

mg EQ/g d'extrait. Ainsi, ce résultat vient corroborer avec ce de **Bouabdellah (2014)** :99.49 mg CEQ/100 g pour les extraits hydro-méthanolique des feuilles d'olivier.

Par ailleurs, **Madani (2017)** a quantifié la teneur en flavonoïdes des extraits aqueux des feuilles d'*Olea europaea* L., il a été trouvé un taux de flavonoïdes de  $98,75 \pm 0,017 \mu\text{g EQ/mg MS}$ . De même travail réalisé par **Ben Salah et al. (2012)** sur les extraits méthanolique des feuilles, ils ont révélé la richesse de ces extraits en flavonoïdes avec une teneur égale 56.75 à 125.64 mg-CAT/g MS. Ces résultats sont plus importants en comparaison avec nos résultats. Egalement, **Abaza et al. (2011)** ont estimé des teneurs proches à notre résultat qui ont varié de 3.42 à 21.47mg/g MS.

Il faut toutefois souligner qu'il ne s'agit ni de même solvant ni de même protocoles d'activité, ni de matériel de départ (sec, fraîche), ni de même durée de conservation et de température d'étude ; ce qui pourrait expliquer l'écart observé entre nos résultats et ceux de la bibliographie.

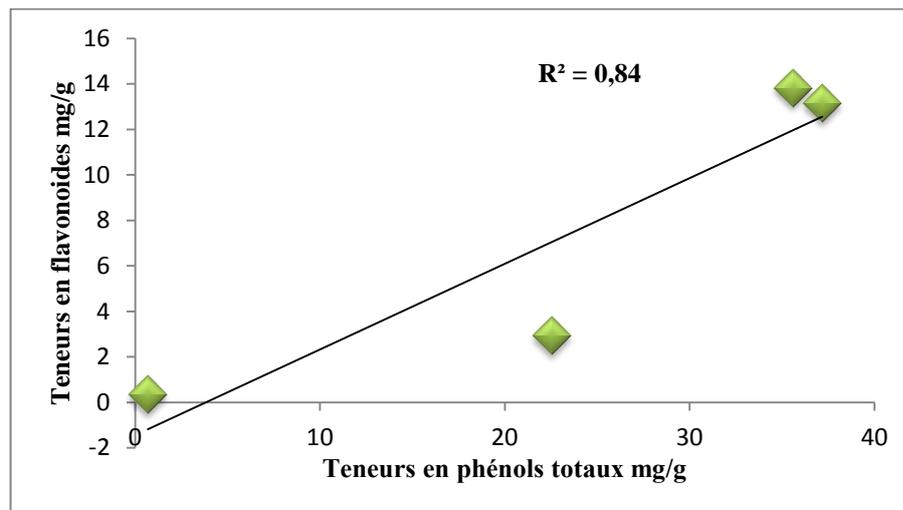
Les flavonoïdes constituent l'un des groupes les plus diverses et répandus des composés naturels avec plus de 4000 structures chimiques différentes (**Djeridane et al., 2010**). Les variations des spectres d'absorption des flavonoïdes sont en fonction des modifications chimiques: hydroxylation, méthylation, glycosylation, condensation avec d'autres molécules, phénoliques ou non. De plus, la solubilité des flavonoïdes est dépendue à la polarité du solvant d'extraction et le nombre et de la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire et même du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (**Bourgou et al., 2016 ;Telli, 2017**).

D'une manière générale, la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits varie non seulement d'une plante à une autre de la même famille (lié aux propriétés génétiques des plantes, à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage de la récolte), mais également en fonction :

- La période de la récolte le stade de développement de la plante (**Miliauskas et al., 2004**).
- Les conditions opératoires de l'expérimentation (solvant d'extraction polaire ou apolaire, quantité de matière végétale, sèche ou fraîche, température et temps d'extraction, et même aux techniques d'extraction) (**Lee et al., 2003**).
- La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire,

sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Falleh *et al.*, 2008).

Pour le but de chercher l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes, nous avons tracé une courbe portant la variation de la teneur des phénols totaux en fonction de la teneur en flavonoïdes (figure 11).



**Figure 11** : Variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux.

D'après le graphe représenté dans la figure ci-dessous, il existe une bonne corrélation de 84% entre la teneur des extraits en phénol totaux et en flavonoïdes. Ce résultat peut être traduit par le fait que la quantité des flavonoïdes varie proportionnellement avec le contenu en phénols totaux pour tous les extraits. À la lumière de ces résultats, on montre la richesse de nos extraits en flavonoïdes qui constituent une importante proportion du contenu phénoliques. Aussi, cette corrélation a montré l'existence d'une même classe de flavonoïdes dans ces extraits.

#### IV. Evaluation du pouvoir antioxydant

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme capteurs de radicaux libres. L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de prévenir ou ralentir l'oxydation de substrat susceptible d'être oxydé (Pastrej et Priyenko, 2007). Les composés phénoliques sont connus pour leurs différentes activités dont l'activité antioxydante. Par conséquent, nous nous sommes intéressés au pouvoir antioxydant des extraits bruts des feuilles d'*Olea europea* L..

Actuellement une grande diversité des méthodes analytiques est disponible pour la détermination de la capacité antioxydante par piégeage de différents radicaux (**Benzid et Litim, 2016**). Les plus couramment utilisés sont les composés chromogéniques qui impliquent des radicaux libres naturels qui stimulent les espèces réductrices d'oxygène. Ces méthodes sont populaires en raison de leur rapidité et de leur sensibilité (**Shahin, 2008**).

Dans ce présent travail, l'activité antioxydante des extraits de feuille d'olivier a été évaluée *in vitro* par deux méthodes différentes : balayage du radical DPPH et le pouvoir de réduction ferrique (test FRAP).

#### IV.1-Test du DPPH (2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

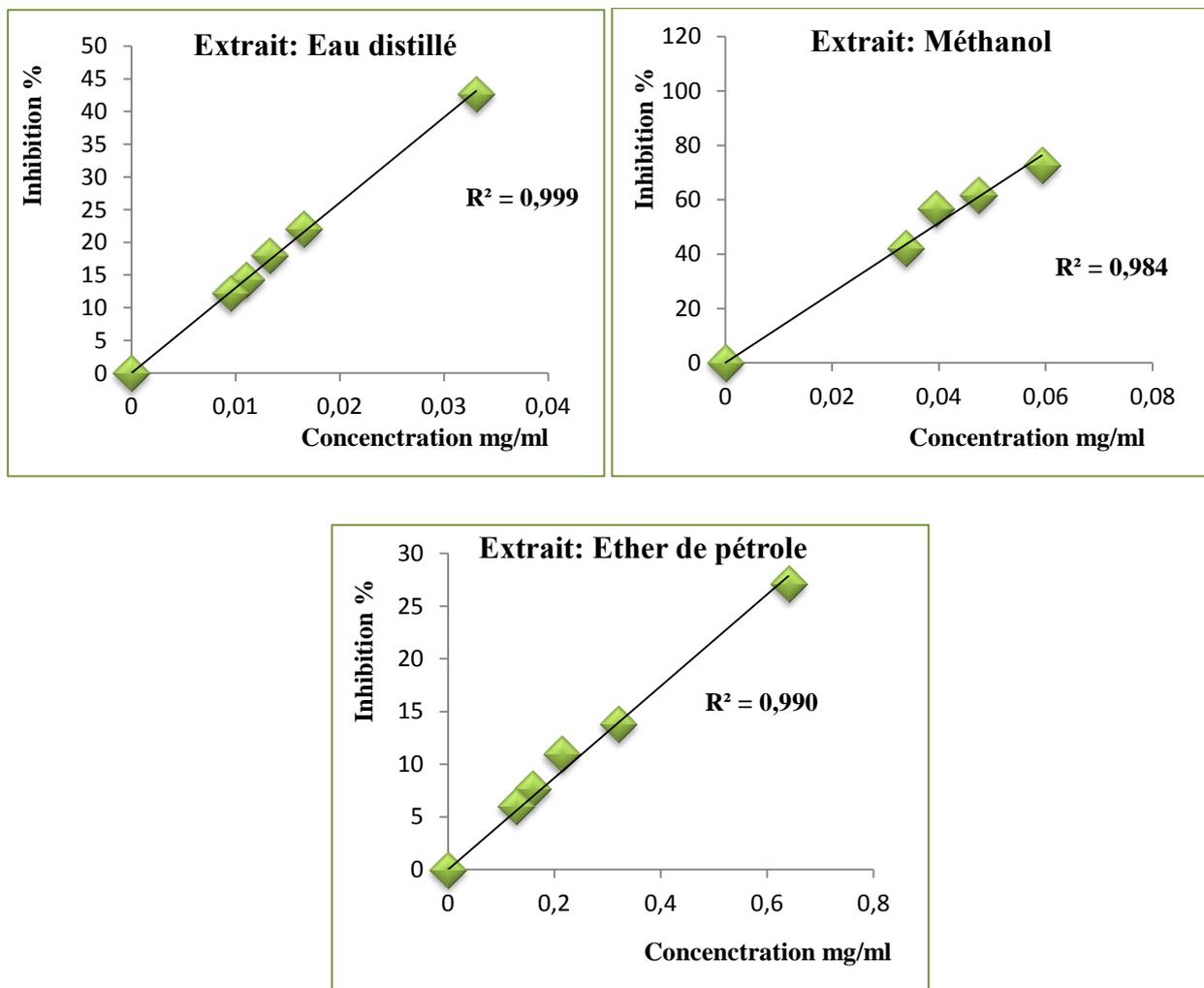
Le test DPPH est un test colorimétrique basé sur une mesure spectrophotométrique de la capacité d'une espèce antioxydante à réduire les radicaux DPPH de couleur violette en solution de couleur jaunâtre (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazine), lorsque leurs électrons non appariés sont appariés avec l'hydrogène de l'antioxydant. Le changement de la couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm donc une faible absorbance indique une meilleure activité anti-radicalaire. De cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminé (**Bougatef et al., 2009**).

A partir la mesure de l'absorbance de chaque solution d'extrait à différentes dilutions, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues sont permis de tracer les courbes qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits des feuilles d'olivier. Ainsi, nous avons déterminé la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC<sub>50</sub>), qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait étudié en utilisant la courbe de régression linéaire :  $y = ax + b$  (**Markowicz Bastos et al., 2007**).

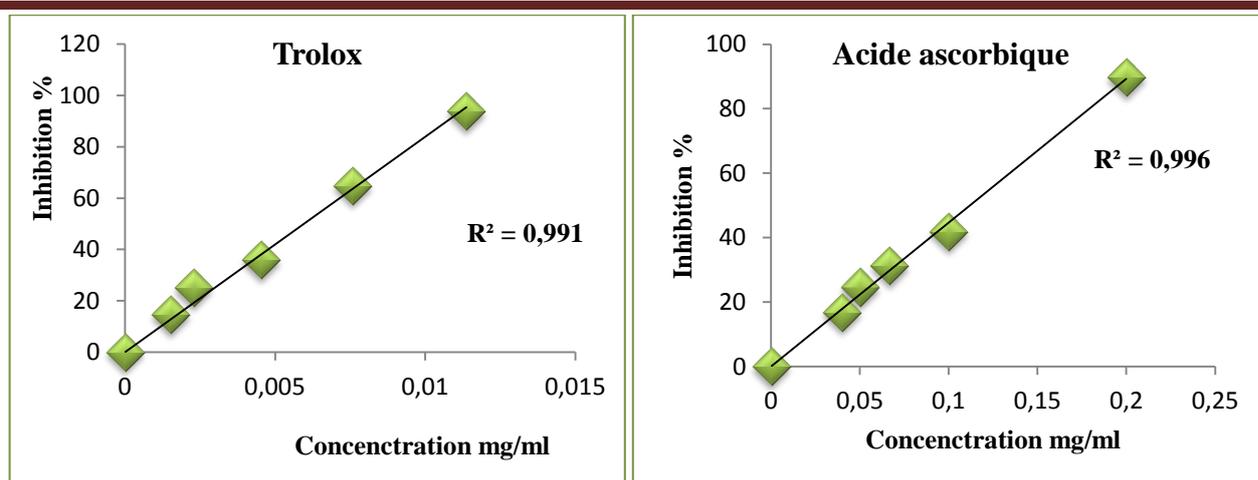
La valeur IC<sub>50</sub> est inversement proportionnelle à la capacité du composé à résister aux radicaux libres (taux d'inhibition I%), car elle reflète la quantité d'antioxydant nécessaire pour neutraliser 50% de la concentration initiale de radicaux libres dans le milieu. Plus la valeur IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité anti-radicalaire du composé est importante (**Markowicz Bastos et al., 2007**).

Le pouvoir anti-radicalaire des extraits a été comparé généralement par certains antioxydants standards connus pour leurs propriétés antioxydantes puissantes comme contrôles positifs. Les plus populaires étant la vitamine C, et le BHA et le Trolox (Liang-Liang *et al.*, 2010). Les antioxydants utilisés comme référence dans cette étude, en basant sur leur disponibilité dans le laboratoire, sont le Trolox et l'acide ascorbique qui ont été mesurés dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

La variation du pourcentage d'inhibition % en fonction des différentes concentrations (mg/ml) des différents extraits des feuilles de l'olivier ou les antioxydants standards choisis est présentée dans les figures 13 et 14.



**Figure 12** : Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% du radical DPPH• en fonction de la concentration des différents extraits de l'*Olea europaea* L.



**Figure 13** : Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration des antioxydants standards

Les pourcentages d'inhibition ainsi déterminés à partir des tracées précédents, nous ont permis de déterminer la concentration d'inhibition à 50% des antioxydants présents dans les extraits phénoliques exprimés en mg/ml. De même, nous avons calculé les  $IC_{50}$  de l'acide ascorbique et du Trolox afin de les comparer avec ceux des extraits phénoliques. Les valeurs d' $IC_{50}$  obtenues sont résumées dans le tableau 05.

**Tableau 05** : Les valeurs d' $IC_{50}$  en (mg/ml) des différents extraits de *Olea europaea* L. et les antioxydants standards.

Extrait	$IC_{50}$ en (mg/ml)
Ether de pétrole	$1,1491 \pm 0,0067$
Acétate d'éthyle	/
Méthanol	$0,03509 \pm 0,0037$
Eau distillé	$0,03830 \pm 0,0331$
Trolox	$0,0059 \pm 0,0001$
Acide ascorbique	$0,1120 \pm 0,0013$

La capacité antioxydante des différents extraits déterminée à partir les valeurs d' $IC_{50}$  qui sont inversement proportionnelles à l'activité antioxydante. De tel sorte, plus la valeur d' $IC_{50}$  est petite, plus l'activité est puissante (Boubekri, 2014). D'après les résultats du test de piégeage du radical libre DPPH, notre plante a montré une activité importante. Nous notons des valeurs d' $IC_{50}$  des différents extraits des feuilles d'olivier varient globalement entre 0,03509 et 1.1491mg/ml.

Ainsi, nos résultats montrent que le pouvoir antioxydant des extraits étudiés était classé dans l'ordre décroissant suivant : méthanol > eau distillée > éther de pétrole. Donc, l'extrait de méthanol a présenté la meilleure activité anti-radicalaire avec une  $IC_{50}$  égale à 0,03509 mg/ml, suivi de l'extrait d'eau distillée avec une valeur de 0,03830 mg/ml, puis l'extrait d'éther de pétrole avec une valeur de 1,1491 mg/ml. Cette différence pourrait être attribuée aux divers composés extraits par les solvants de polarité différente.

On remarque ainsi que les deux extraits de méthanol et d'eau distillé représentant des valeurs d' $IC_{50}$  très proche, ce qui peut être expliqué par la présence des mêmes molécules spécifiques et actifs chez les deux extraits. Bien que l'extrait d'eau distillé ait montré une teneur en composés phénoliques très faible par rapport à l'extrait de méthanol. De plus, nous observons que les deux extraits enregistrés les valeurs d' $IC_{50}$  les plus faibles, ce qui peut être expliqué par leurs richesses en tanins et en flavonoïdes dont l'activité anti-radicalaire a été largement documentée (**Chahma, 2006 ; Meddour, et al., 2013**).

On remarque que l'extrait d'acétate d'éthyle est révélé pas actifs vis-à-vis du DPPH• comparativement aux autres extraits. Deux hypothèses pourraient être émises pour expliquer son effet négatif : soit que les feuilles d'olivier ne contiennent pas assez de composés phénoliques solubles dans l'acétate d'éthyle; soit que les composés phénoliques présents ne correspondent pas à ceux possédant des propriétés antioxydantes intéressantes. D'après les résultats de la quantification des phénols totaux et flavonoïdes qui ont été montrés la richesse de cet extrait en ces composés par rapport aux autres extraits, alors nous avons confirmé la deuxième hypothèse et que les extraits d'acétate d'éthyle ne possèdent pas des substances puissantes agissant comme des scavengers des radicaux libres ou donateurs d'hydrogènes.

Cette différence peut être aussi expliquée par le fait qu'elle s'agit de l'action combinée des différents composés à activité anti-radicalaire qu'ils peuvent contenir (les polyphénols glycosides, les peptides, les acides organiques....). Ainsi, on peut dire que la variation de la capacité antioxydante de nos extraits entre eux pourrait être due à la teneur et/ou la présence de certaines molécules potentiellement actives de flavonoïdes et/ou phénoliques dans les extraits.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits de *Olea europaea* L. a été faite en comparaison avec celles déterminées pour le Trolox et l'acide ascorbique, comme antioxydants de référence. En effet, le Trolox et l'acide ascorbique ont révélé un pouvoir de piéger le radical libre DPPH• très puissant avec des valeurs d' $IC_{50}$  de 0,0059 mg/ml et 0,1120 mg/ml respectivement.

D'après ces résultats, on s'aperçoit que nos extraits testés ont dévoilé des activités anti-radicalaires intéressantes à celles déterminées pour les antioxydants standards. Puisqu'ils agissent à des faibles doses pour certains extraits que l'acide ascorbique, mais reste significativement inférieure à celle de Trolox.

Néanmoins, les antioxydants de référence choisis dans notre étude sont utilisés actuellement en thérapie et en industrie alimentaire, mais se sont accusés d'être dangereux pour la santé en particulier le BHA (**Shahin, 2008**). Les résultats suggèrent que certains extraits peuvent remplacer les antioxydants de synthèse puisqu'ils présentent un potentiel inhibiteur des radicaux libres très puissant à celui observé pour l'acide ascorbique.

À titre comparatif avec des autres travaux, les extraits des feuilles d'olivier ont montré une activité anti-radicalaire significative importante contre le radical libre DPPH•. Tant, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Bouabdallah (2014)**. Les résultats de son travail sur feuilles de l'olivier sauvage a confirmé le potentiel pouvoir anti-radicalaire de l'extrait hydro-méthanolique qui a présenté l'activité la plus élevée avec une IC<sub>50</sub> de 12 µg/ml par rapport aux extraits hydro-acétonique et aqueux qui ont noté des valeurs d'IC<sub>50</sub> égales de 16.96 µg/ml et 19.5 µg/ml respectivement.

Egalement, l'activité anti-radicalaire des extraits méthanoliques des feuilles de deux variétés d'olivier, chemlal Constantine et blanquette de Guelma Skikda, a été investiguée par **Bendjaballah (2021)** en utilisant le radical libre DPPH•. Les valeurs enregistrées sont comprises entre 15.70±0.64µg/ml et 74.51±0.12µg/ml correspondant aux variétés chemlal Constantine et blanquette de Guelma Skikda respectivement. Alors, on constate que notre extrait méthanolique a montré un pouvoir antioxydant plus puissant à celui de l'extrait de blanquette de Guelma Skikda. En conséquence, l'activité anti-radicalaire des extraits des feuilles d'olives évaluée par le test de DPPH• est significativement influencée par les variétés.

Une autre étude menée par **Benlagha et Khelil (2019)** a montré que la concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH• est égale 189,2 µg/ml lorsque l'extraction a été menée par l'eau distillée, cette valeur est nettement supérieure à celle trouvée par notre étude.

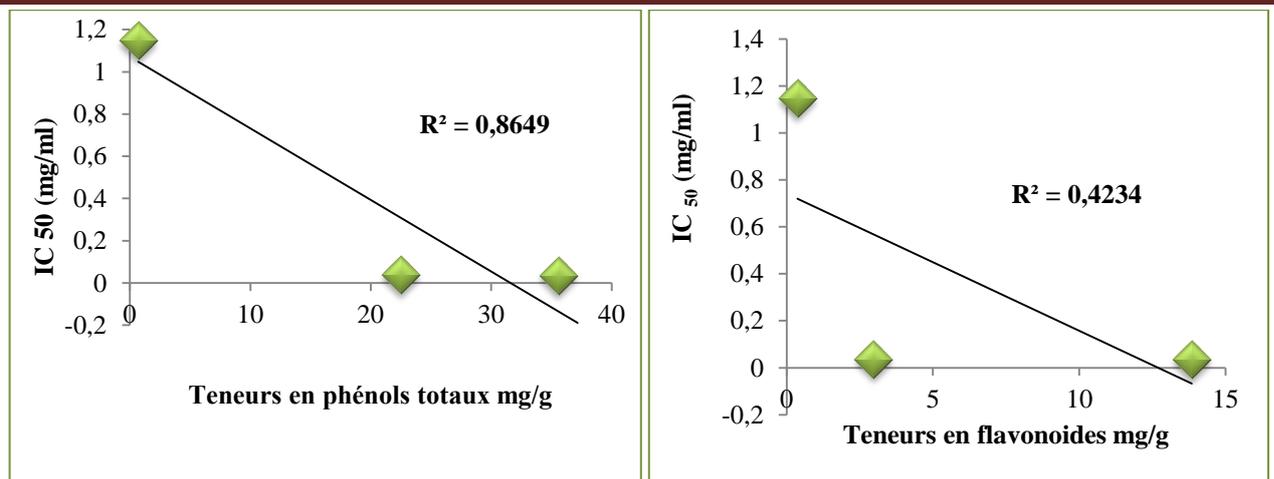
Autant, on note que les activités anti-radicalaires de nos extraits ont été plus hautes que ceux trouvés par l'étude de **Meddour et Soualem (2021)** qu'ils ont constaté que l'extrait méthanolique semble être le plus actif avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à 0,56 mg/ml suivi de l'extrait éthanolique avec une valeur de 0,60 mg/ml puis l'extrait acétonique avec une IC<sub>50</sub> de 0,61 mg/ml. La différence

des résultats est probablement liée à la différence dans la composition chimique, des facteurs saisonniers ou la région où ils sont cultivés.

Selon **Houdjedje et Mehimmedetsi, (2018)**, les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH• en raison de leur capacité à céder l'hydrogène. Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH• dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. En effet, quelques composés phénoliques se réagissent très vite avec le DPPH• en réduisant un nombre de molécules de DPPH• égal à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant.

Le test du radical libre DPPH• est largement utilisé dans l'étude des échantillons en raison de leur facilité de mise en œuvre et de sa rapidité. Aussi, il est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée et il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations (**Khenfer et Medjouel, 2016**). De plus, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) permettent d'éviter l'auto oxydation des molécules testées (**Yi et al., 2008 ; Khenfer et Medjouel, 2016**). Toutefois, le radical DPPH• pose le problème de son instabilité à la lumière vu que son absorbance à 517 nm décroît sans l'intervention de quelconque antioxydant. C'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH• doivent impérativement se faire à l'obscurité (**Tolba, 2016**).

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des composés phénoliques en particulier les flavonoïdes et leur capacité antioxydante. Afin de bien analyser la relation entre la quantité des composés phénoliques existant dans nos extraits et la capacité anti-radicalaire qui évoquée par ces extraits, nous avons étudié la corrélation entre les valeurs d'IC<sub>50</sub> et le contenu en phénols totaux et en flavonoïdes (Figure 14).



**Figure 14 :** Variation des valeurs d'IC<sub>50</sub> du test DPPH en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés.

L'examen de ces résultats (figure 14) permet de mettre en évidence des corrélations linéaires positive entre la teneur des extraits en composés phénoliques et en flavonoïdes avec le pouvoir anti-radicalaire.

L'analyse du premier graphe qui élucidé la relation entre les valeurs IC<sub>50</sub> et le contenu phénol totaux, indique un ensemble des extraits ayant une activité anti-radicalaire varie proportionnellement avec le contenu en phénols totaux avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,86$ .

Par conséquent, la suite des résultats du deuxième graphique montre qu'il existe une bonne corrélation entre la teneur des extraits en flavonoïdes et le pouvoir anti-radicalaire vis-à-vis le radical DPPH• de sorte que les flavonoïdes interviennent par un pourcentage de 42% de l'activité anti-radicalaire de nos extraits.

Ces résultats montrent qu'il y a une influence de la concentration en phénols totaux et en flavonoïdes sur l'activité. Toutefois, les extraits qui renferment des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes élevées présentent des pouvoirs antioxydants les plus forts. En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène.

Généralement, l'activité anti-radicalaire dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels. La structure des composés phénoliques est un facteur déterminant de leur piégeage des radicaux libres qui sont des pathogènes

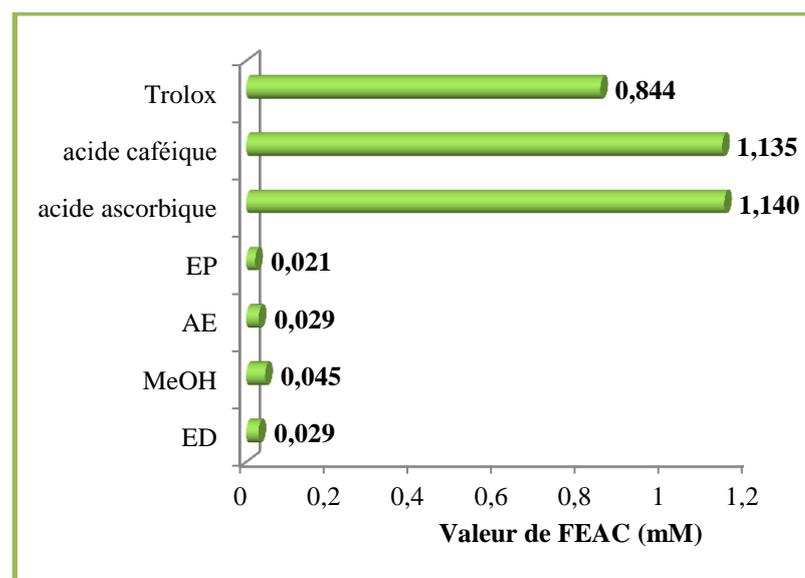
dans de nombreuses maladies. Certains de ces composés sont capable de chélater le fer, et donc de réduire son excès (Hayes *et al.*, 2011).

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels. L'action antioxydante de ces phyto-nutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, mais elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production de ROS (Halliwell, 1994).

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité antioxydante, les flavonoïdes les plus actifs sont ceux qui renferment des groupements 3'- 4' dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3 OH sur le cycle C (Marfak, 2003). L'effet scavenger des flavonoïdes est fait par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle, cette réaction a rendu la molécule radicalaire plus stable (Javanovic *et al.*, 1994).

#### IV.2- Mesure du pouvoir réducteur ferrique (test FRAP)

L'évaluation du pouvoir réducteur du fer des extraits d'*Olea europaea* sont représentée dans la Figure ci-dessous (figure 15). Les valeurs obtenues sont comparées aux celui des témoins qui sont : l'acide ascorbique, l'acide caféique et le trolox. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.



**Figure 15** : Valeurs de FEAC des extraits étudiés et les antioxydants standards.

D'après ce résultat, on peut considérer que les extraits des feuilles d'*Olea europaea* L. possèdent un pouvoir de réduction ferrique moyen par rapport les antioxydants standards. Généralement, l'ensemble des valeurs de FEAC varient globalement entre 0.021 et 0.045 mM. L'extrait de méthanol exerce la meilleure capacité à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (0.045 mM), alors que l'extrait d'éther de pétrole a un pouvoir réducteur le plus inférieur par rapport aux autres extraits avec une valeur de FEAC égale 0.021 mM.

Ainsi, on remarque que les extraits d'acétate d'éthyle et d'eau distillé sont signés la même valeur de FEAC égale 0.029 mM. Ce qui peut expliquer par la présence des mêmes molécules actives dans les deux extraits.

L'acide ascorbique, l'acide caféique et le trolox qui sont employés dans cette méthode comme des contrôles positifs, ont montré un pouvoir réducteur plus élevé avec les mêmes concentrations utilisées (1.140, 1.135 et 0.844 mM respectivement).

En conséquent, nos résultats montrent clairement que les différents extraits des feuilles d'olivier étudiés possèdent un potentiel antioxydant important, mais relativement faible que celui des antioxydants de référence utilisés dans ce test.

D'autre part, **Pulido *et al.*, (2000)** proposent le paramètre EC1 qui peut être défini comme la concentration de l'antioxydant ayant un pouvoir réducteur du TPTZ équivalent à celui de 1 mM du  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Ce paramètre a été calculé à partir de la courbe d'étalonnage de  $\text{FeSO}_4$  pour les extraits et les références. Sachant qu'il y a une relation inversement proportionnel entre le paramètre EC1 et l'activité antioxydante, puisque plus la valeur d'EC1 est faible, plus le pouvoir antioxydant des extraits est important (tableau 06).

**Tableau 06 :** Les valeurs d'EC1 des extraits étudiés et des antioxydants standards.

Extraits	EC 1 (mg/ml)
<b>ED</b>	8,527± 0.108
<b>MeOH</b>	5,539± 0.133
<b>AE</b>	8,372± 0.001
<b>EP</b>	11,520± 0.001
<b>Antioxydants standards</b>	
<b>Acide ascorbique</b>	0,219± 0.010
<b>Acide caféique</b>	0,220± 0.007
<b>Trolox</b>	0,295± 0.03

D'après les résultats obtenus (Tableau 06), nous remarquons que l'ensemble des extraits des feuilles d'olivier montrent une capacité réductrice importante mais corrélativement inférieure à celle des antioxydants de référence, qui se traduit par des faibles valeurs EC1. Globalement, les valeurs d'EC1 varient entre 5.539 et 11.520 mg /ml.

Généralement, les valeurs EC1 révèlent que l'extrait de méthanol présente le meilleur pouvoir réducteur de fer que les autres extraits, dont il est marqué une valeur EC1 la plus faible (5,539 mg/ml). Autant, la faible capacité réductrice est enregistrée pour l'extrait d'éther de pétrole avec une valeur d'EC1 plus élevée, égale 11.520 mg /ml.

Ainsi, nous remarquons que les valeurs d'EC1 prennent la même tendance que les valeurs de FEAC, dont le pouvoir réducteur de l'extrait de méthanol est plus puissant parmi les différents extraits testés avec une valeur d'EC1 égale à 5,539mg/ml, alors que l'extrait d'éther de pétrole a présenté un pouvoir réducteur inférieur par rapport aux autres extraits.

Autant, les extraits d'acétate d'éthyle et d'eau distillé ont marqué des valeurs très proches d'EC1 : 8,372 mg/ml et 8,527mg/ml successivement. Ce qui confirme les valeurs de FEAC et peut être expliqué par la distribution égale des substances réductrices dans les deux extraits. Ces résultats sont bien confirmés l'effet de type de solvant d'extraction sur la propriété antioxydante des extraits et la nature chimique des substances bioactives extraites.

Ces résultats pourront être expliqués par le fait que l'extrait de méthanol est riche en des substances de nature chimique polaire ayant une propriété antioxydante puissante représentée par un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort, tandis que les autres extraits qui ont montrés un pouvoir réducteur moins important pourraient renfermer des molécules à un potentiel réducteur donneur d'électron moins fort (**Fethoun et Saheb, 2015**).

Comparativement à d'autres études, nos résultats concordent avec ceux obtenus par (**Hayes et al., 2011**) sur les feuilles de l'olivier, dont les résultats du test de FRAP ont montré une activité très élevée pour l'extrait méthanolique. Pareillement, les travaux obtenus par (**Bouabdallah, 2014**) confirment nos résultats où ils ont enregistré un meilleur pouvoir réducteur pour l'extrait hydro-méthanolique par rapport les extraits hydro-acétonique et aqueux avec des densités optiques de 1.57, 1.38 et 1.24 respectivement à la concentration de 1 mg/ml.

Autant, le travail de **Meddour et Soualem, (2021)** sur les extraits méthanol, acétone et éthanol des feuilles d'olivier de Tlemcen et leurs capacité à restaurer le fer en fer ferreux a montré

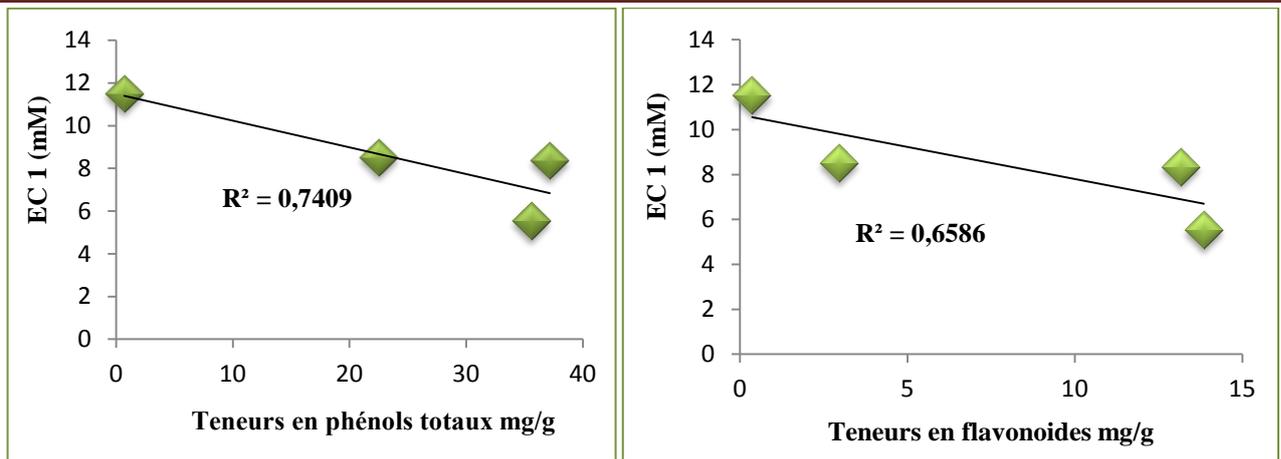
une forte capacité réductrice avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> égales 0,83mg/ml, 1,47mg/ml, 2,16mg/ml respectivement. Ces résultats sont plus forts que les résultats de notre travail cela peut être attribué à la concentration des extraits, la présence des substances spécifiques à des propriétés antioxydantes puissantes et la région de collecte des échantillons.

Ainsi, le choix de la méthode d'extraction a une grande influence sur la nature des molécules à extraire et la capacité réductrice induite par ces molécules. Selon **Benlagha et Khelil (2019)** qu'ils ont évalué le pouvoir réducteur d'extrait aqueux obtenu par trois méthodes d'extraction : infusion, décoction et macération à partir des feuilles d'olivier de la wilaya du Biskra. Les résultats de ce travail ont montré que l'extrait d'infusion représente le pouvoir le plus élevé pour réduire le fer, suivi par l'extrait de décoction, alors que l'extrait de macération a présenté un pouvoir réducteur inférieur par rapport aux autres extraits.

Le puissant pouvoir réducteur des feuilles d'*Olea europaea* L. est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron et provoque la réduction de complexe ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en complexe ferreux (Fe<sup>2+</sup>). Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants. Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

Bien que le fer soit essentiel pour le transport d'oxygène pour la respiration et l'activité des enzymes, il s'agit d'un métal réactif qui catalyse des dommages oxydatifs dans les tissus vivants et les cellules. Alors, la présence de réducteurs (comme antioxydants) provoque la conversion du complexe Fe<sup>3+</sup> ferricyanure à la forme ferreuse Fe<sup>2+</sup> (**Bourgou et al., 2008**).

De plus, nous avons tracé les courbes (figure 16) qui relient le paramètre EC1 du test FRAP avec la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes afin de clarifier la relation entre le contenu en composés phénoliques et le pouvoir réducteur des extraits des feuilles d'olivier.



**Figure 16 :** Variation des valeurs d'EC1 du test FRAP en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés.

D'ailleurs, une corrélation importante a été constatée entre le pouvoir réducteur des extraits des feuilles d'*Olea europaea* L. et leur contenu en phénols totaux et les flavonoïdes. Ainsi, ces tracés reflètent un ensemble des extraits ayant une activité antioxydante variée proportionnellement avec le taux en phénols totaux et en flavonoïdes, c'est-à-dire les extraits qui renferment des teneurs phénoliques et flavonoïdiques élevées, présentant des pouvoirs antioxydants les plus fortes. Cela, implique qu'il y a une influence de la concentration sur l'activité antioxydante.

De même, les graphes de la variation d'EC1 en fonction du contenu de composés phénoliques et en flavonoïdes confirment que ces composés interviennent de plus de 74 % dans le pouvoir de réduction ferrique parmi lesquels les flavonoïdes contribuent par plus de 65 %. Ces résultats suggèrent que le pouvoir de réduction ferrique est corrélé avec la présence des composés phénoliques et particulièrement les flavonoïdes qui sont les antioxydants dominants dans ces extraits.

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante est un aspect qui ne peut être négligé, car il faut considérer que les composés phénoliques réagissent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que la teneur en phénol totaux ne reflète pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (Athamena *et al.*, 2010). D'autre part, le pouvoir de réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) est dû à la complexité de nos extraits par les composés phénoliques et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante (Vermerris et Nicholson, 2006).

La détermination de la capacité antioxydante de nos extraits a été évaluée par la méthode de pouvoir réducteur du fer (FRAP), les avantages de cette méthode sont qu'elle est simple, rapide, peu coûteuse et robuste (Tiffany, 2012). Il est universel et peut être appliqué aussi bien chez les

plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

En conséquent, une combinaison de différentes méthodes est nécessaire puisque le suivi d'un test unique n'est capable de fournir une image complète du profil d'un échantillon antioxydant étudié et ne permet pas à aperçu tous les modes d'actions des composés; parce que chaque molécule a un mécanisme d'action spécifique selon sa conformation structural.

*Conclusion  
Générale*

La diversité des plantes en propriétés biologiques est attribuée à un groupe de molécules bioactives synthétisées par les plantes comme des agents médicinaux tels que les composés phénoliques. Ces molécules naturelles sont très recherchées vu les effets indésirables des médicaments chimiques on les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. De ce fait, de nombreuses études s'intéressent, de plus en plus, aux effets antioxydants d'origine naturelle.

Dans ce contexte, nous avons évalué le pouvoir antioxydant de différents extraits des feuilles d'*Olea europea* L., une plante utilisée par la population locale, récoltée de la région Adaira - Daia Bendahoua-Ghardaïa. De ce raison, nous nous sommes intéressés principalement, à la détermination par spectrophotométrie les teneurs de certaines molécules bioactives telles que les phénols totaux et les flavonoïdes; après l'évaluation *in vitro* l'activité antioxydante des extraits des feuilles de polarité différente.

L'extraction par macération à froid des feuilles d'olivier d'*Olea europaea* L. dans des solvants à une polarité différente a montré de bons rendements, qui étaient variés entre 26,08 % et 3,64%. Le résultat obtenu montre que l'extrait méthanolique a présenté le rendement le plus élevé suivi de l'extrait acétate d'éthyle suivi de l'extrait éther de pétrole. Alors que l'extrait aqueux a montré le rendement le plus faible.

L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a montré la présence de plusieurs familles des composés naturelles, comme les flavonoïdes, les coumarines, les tanins, les terpénoïdes et les alcaloïdes en quantités importantes. Il a en outre révélé des quantités plus faibles des quinones et saponosides. Par contre, les tests de recherche des anthocyanines et des composés réducteurs ont été négatifs.

Le contenu en phénols totaux et en flavonoïdes a été évalués par la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode de trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$ . Cette analyse quantitative nous a montré la richesse de différents extraits des feuilles d'*Olea europaea* L. en ces composés avec des teneurs qui varient de 0,68 et 37,17 mg EAG/g MS et 0,37 et 13,85 mg ER/g MS pour les phénols totaux et les flavonoïdes respectivement. En outre, les résultats d'analyse quantitative montre que l'extrait méthanolique possède la capacité la plus importante à extraire les phénols totaux en particulier les flavonoïdes.

La variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux des différents extraits a révélé l'existence d'une bonne corrélation avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0.84$ , dont la quantité des flavonoïdes est variée proportionnellement avec le contenu en phénols totaux. Alors, nos extraits sont très riches en composés phénoliques spécifiquement les flavonoïdes qui constituent une importante proportion de ces composés.

L'activité antioxydante des feuilles d'olivier a été évaluée *in vitro* par deux tests chimiques: le test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test du complexe de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power).

L'estimation du pouvoir de piéger le radical DPPH• par nos extraits a révélé que la plus part des extraits étudiés manifestent une activité anti-radicalaire importante et comparable à celle déterminée par l'antioxydant standard, acide ascorbique, qui est enregistré une valeur d'IC<sub>50</sub> égale  $0,1120 \pm 0,0013$  mg/ml. Tandis que, elle reste significativement inférieure à celle du control positif Trolox qui présente une valeur très faible d'IC<sub>50</sub> égale  $0,0059 \pm 0,0001$  mg/ml. Ainsi, une forte activité anti-radicalaire a été constatée par l'extrait de méthanol avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égale  $0,0350 \pm 0,0037$  mg/ml. Par contre, l'extrait d'acétate d'éthyle ne présente aucun effet de balayage contre le radical DPPH•.

Une corrélation importante a été constatée entre le pouvoir anti-radicalaire des extraits d'*Olea europaea* L. et leur contenu en phénols totaux et flavonoïdes avec un coefficient de corrélation  $R^2$  égale 0,8649 pour les phénols totaux et 0,4234 pour les flavonoïdes. Ces résultats confirment que l'activité anti-radicalaire de nos différents extraits dépend du contenu de ces extraits en composés phénoliques.

Pareillement, l'activité antioxydante a été évaluée par la technique de réduction du fer FRAP, qui représente un indicateur significatif du pouvoir antioxydant des plantes. Les résultats montrent que les extraits des feuilles d'olivier présentent une capacité réductrice intéressante mais relativement inférieure à celle des antioxydants de référence. En effet, l'activité réductrice de l'extrait méthanolique est plus élevée avec une valeur de FEAC égal à 0.045 mM par rapport les autres extraits.

Ainsi, la contribution des phénols totaux et flavonoïdes dans le pouvoir de réduction ferrique est confirmée par les corrélations positives ( $R^2 = 0,7409$  et  $R^2 = 0.6586$  respectivement) entre les valeurs d'EC<sub>1</sub> des extraits et le taux de ces composés. Ces résultats confirment que l'activité

Ainsi, les tracés de la variation des valeurs EC1 en fonction le contenu en phénols totaux et flavonoïdes reflètent un ensemble des extraits ayant une activité antioxydante variée proportionnellement avec le taux en ces composés. Cela, confirme la dépendance de l'activité antioxydante de nos extraits par la présence des composés phénoliques.

À l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Lors de la présente étude, la caractérisation quantitative des extraits phénoliques des feuilles de la plante *O.europaeade* la région d'Adaira-Daia Bendahoua – Ghardaïa a révélé un contenu important des feuilles de l'olivier en composés phénoliques à un fort pouvoir de piéger les radicaux libres qui sont à l'origine de nombreux effets nocifs pour l'organisme.

En fin, nous pouvons dire que cette étude est la première étape dans la recherche aux antioxydants naturels et notamment qui extraits d'olivier. Comme perspective à ce travail, il serait intéressant de le compléter pour la détermination des molécules d'origine naturel responsables à l'activité antioxydante, et par l'étude de chaque extrait séparément puis isoler et identifier les différents composés qui existent pour une meilleure compréhension du mode d'action des dérivés phénoliques. Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

\*Étudier d'autres activités biologiques *in vitro* et *in vivo* comme anti tumorale, anti cancéreux, anti inflammatoire, anti diabétique, antibactériennes, anti coagulant et autres.

\*Continuer ces études sur les feuille, fruits, noyaux également les rameaux, tout en incluant différents variables (tel que : le temps de collecte des organes d'olivier, l'âge des organes et des arbres, l'âge des, les conditions climatiques, l'origine géographique...).

\*Elargir l'éventail des variétés d'olivier, d'établir leurs profils phénoliques, de purifier leurs constituants et d'étudier leurs structures en utilisant des techniques plus performantes (HPLC, RMN...).

*Références  
bibliographiques*

- ✓ **Abaza, L , Ben Youssef, N., Manai H., Mahjoub Haddada F., Methenni k., zarrouk M. (2011).** Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y Aceites*, Vol 62, No 1 96-104.
- ✓ **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
- ✓ **Absi, R. (2013).**Analyse de la diversité variétale du Palmier Dattier (*Phoenix dactylifera L.*): Cas des Ziban (Région de Sidi Okba).Mémoire de Magister en sciences agronomiques, Université Mohamed Khider Biskra-Alger.
- ✓ **Adaika, M et Ramdani, B. (2015)** Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques par ultrasondes feuilles de *phoenix dactylifera L* .Mémoire de master. Université EchahidHamma Lakhdar El Oued-Algérie
- ✓ **Adlib.Z et Youcefi I. (2001).**contribution à l'étude ethnobotanique des plante médicinale dans la région de Djelfa Activité antibactérienne des huiles essentielle de *Pisticia atlantica* Desf .Mémoire fin d'étude pour l'obtention de diplôme d'ingénieur d'état en agropastoralisme .Au niveau du centre Universitaire ZIANE ACHOUR Djelfa.
- ✓ **Ali Haimoud, S. (11/05/2017).** Etude phytochimique et rôles biologiques des variétés de *Phoenix dactylifera* (datte) de l'Algérie, thèse diplôme de Doctorat, Université HassibaBenbouali de Chlef-Alger.
- ✓ **Ali-Rachedi F , Meraghni S , Touaibia N et Sabrina M.** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* .Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 87, articles, 2018, p. 13 -21 .
- ✓ **Alagna, F., Mariotti, R., Panara, F., Caporali, S., Urbani, S., Veneziani, G., ... & Baldoni, L. (2012).** Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development. *BMC plant biology*, 12(1), 1-19.
- ✓ **Altiook E., (2010).** Having antimicrobial and antioxidant characteristics from local plants. Recovery of phytochemicals.
- ✓ **Andersen, O. M., & Markham, K. R. (Eds.). (2005).**Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. CRC press.
- ✓ **Amedjoudj N. E. H., Bounab, R.et Menzer, M. (2017).** Les polyphénols de l'extrait n-butanol d'une plante médicinale de la famille des Rosacées: Evaluation de leur pouvoir antioxydant et protecteur vis-à-vis la toxicité de la doxorubicine, Mémoire de Master Spécialité : Toxicologie, Université des Frères Mentouri Constantine-Alger.
- ✓ **Aouidi, F. (2012).**Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea L*. Cv. *Cobrançosa*)

- Leaves. Molécules, Etude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europaea* dans L'industrie Agro-Alimentaire. Thèse e doctorat, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie) ; vol(12) ; pp. 1153-1162.
- ✓ **Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2013).** Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 159-166.
  - ✓ **Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., Khebri, S. 2010.** Activite antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11: 69-80
  - ✓ **Badereddine, M. et Moussaoui, H. (2014).** Etude phytochimique comparative des extraits de feuilles de *Phoenix dactylifera* .L obtenue par différents méthodes, Mémoire de Master Génie Chimique, Université d'El-Oued-Alger.
  - ✓ **Bahorun, T. (1997).** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, *Journal of Food and Agricultural Research*, p 83 -94.
  - ✓ **Balasundram N., Sundram K. and Sammam S. (2006).** Phenolic compounds in plants andagri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*.99:191-203.
  - ✓ **Bayala, B. (2014).** Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes, thèse de doctorat, Universite Blaise Pascal- France.
  - ✓ **Belguidoum, M. (2012).** Une approche phytochimique pour différencierdeux espèces de genre *Zygophyllum*, Mémoire Master Académique, UniversiteKasdiMerbah Ouargla-Alger.
  - ✓ **Belkheiri, N. (2010).** Dérives phénoliques à activités antiathérogènes, Thèse; Université Toulouse III - Paul Sabatier, 244 pp.
  - ✓ **Ben Abbes, F. (2011).** Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera* L. ». mémoire de Magister, Universite Ferhat Abbas-Sétif-Algerie.
  - ✓ **Benalia H, Naili D. (2020).** Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des feuilles d'olivier. Master en Sciences alimentaire. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A
  - ✓ **Benarous, K. (2009).** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: a-amylase, trypsine et lipase, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique, université Amar Telidji Laghouat-Alger.

- ✓ **Ben Ayed, R. (2017).** Applications Et Limites Des Marqueurs Moléculaires Pour L'identification Des Variétés D'olivier .Agriculture , Volume 8, , Numéro 1, Pages 49-54.
- ✓ **Benbrook, C. M. (2005).** Elevating antioxidant levels in food through organic farming and food processing (pp. 1-20). Washington, DC: Organic Center.
- ✓ **Bendjaballah, S. (2021).** Anti-inflammatoire et antioxydantes propriétés des extraits desfeuilles d'olivier récoltées de différentes régions.Master.Université des Frères Mentouri Constantine.
- ✓ **Bendjelloul, N. et Berraghda, A. (2014).** Caractérisations biochimiques des trois variétés de dattes (Ghars, Déglet-Nour et Déglâ-Beida) mémoire de licence UniversitéKasdiMerbah, Ouargla-Alger
- ✓ **Benlagha, R. et Khelil, Y. 2019.**Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux obtenus par trois méthodes d'extractions à partir des feuilles d'Olea europaea . MASTER .Université Mohamed Khider de Biskra
- ✓ **Ben Saleh, M., Hafedh, A., Manef, A. (2012).** Study of phenolic Composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia Med chem. 2012.2:5.
- ✓ **Benzid, A et Litim, N. (2016).** Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'*Ocimum basilicum L.* cultivées dans plusieurs régions d'Algérie. Mémoire de Master. Université KasdiMerbah-Ouargla Algérie.
- ✓ **Benzie, et Strain, (1996).** The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay,Analytical Biochemistry. 239:p 70-76.
- ✓ **Bettayeb, H. et Mefissel, F.(2015).***Etude Phytochimique Des Extraits Bruts Des Dattes (Ghars, Deglet-Nour, Degla-Beida)* Mémoire de Master Académique, UniversitéKasdiMerbah Ouargla-Alger.
- ✓ **Bioud, S. et Hamdellou, A. (2019).** Activités biologiques des extraits phénoliques de l'olivier « Olea europaea L. ». Master en Biotechnologie. Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila.
- ✓ **Bisignano G., Tomaino A., Lo cascio R., Crisafi G., Uccella N and Saija A. (1999).** On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. J Pharm Pharmacol. Vol. 51: 4-971.
- ✓ **Bisset, S. (2018).** Activité antioxydante et inhibitrice vis-à-vis de l'élastase d'extrait de polyphénols d'olive (Olea europaea L.) (Doctoral dissertation, Université de Setif).
- ✓ **Boizot N, Charpentier J. P., (2006).**- Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliquesdes organes d'un arbre forestier. INRA. 79-82.

- ✓ **Bondet, V., Brand-Williams, W. and Berset, C. (1997).** Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH<sup>•</sup> Free Radical Method, *Lebensm.-Wiss. Technol*, 609–615 pp. DPPH
- ✓ **Bouabdallah A. (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Master en Biochimie appliquée. Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen.
- ✓ **Boubekri, C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques, Thèse présentée en vue de l'obtention Du diplôme de Doctorat en sciences Spécialité Chimie, Université Mohamed Khider – Biskra-alger.
- ✓ **Boudhrioua N., Bahloul N., Slimen I., Ben and Kechaou N. (2008)** .Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves 9, 412–419.
- ✓ **Bouddrar, C. Bouzid, L. et Nait larbi, H. (1997).** Etude des fractions minérale et glucidique de la datte Deglet-Nour au cours de la maturation. Mémoire d'Ingénieur, INA. El - Harrach. Alger 60 p.
- ✓ **Bougandoura, N. et Bendimerad N (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq." *Nature et Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques* 9: 14 -19.
- ✓ **Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food chemistry*, 114(4), 1198-1205.
- ✓ **Bouguedoura, N. (1991).** Connaissance de la morphogenèse du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. Thèse. Doct. USTHB. Alger, p. 201.
- ✓ **Boulekbache L., 2005.** Profil GC-MS des polyphénols d'une plante médicinale : *Eucalyptus globulus*. Thèse de Magister. Université de Bejaïa, 71p
- ✓ **Bounaga, N. (1991).** Groupe palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) rappels biologiques et problèmes physiologiques. *In* physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides de Riedacker A., Dreyer E., Pafadnam C., Joly H. et Bory G. Edition John Libbey, Eurotext, p. 476.
- ✓ **Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., & Marzouk, B. (2008).** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 48-55.

- ✓ **Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. *Journal of New Sciences*, 28.
- ✓ **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igc, R. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*, ; 111, 925–929.
- ✓ **Bruneton, J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. In: Technique et Documentation Lavoisier, Paris, pp. 418-419.
- ✓ **Bruneton, J. (2009)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Edition Lavoisier. Paris. 1234p
- ✓ **Burits, M. et Bucar, F. (2000).**Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapeutic Research*, 14; 323-328.
- ✓ **Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M. and Arnao, M. B. (1998).**An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochemical Analysis* 9, 196-202
- ✓ **Chahma A., « Catalogue des plantes spontanées du sahara septentrional algerien », (2006).**Dar elhoda, Ain mlila.
- ✓ **Chen, I., Chang, H., Yang, H. and Chen, G. (2004).** Evaluation of total activity of several popular vegetables and Chinese herbs : a fast approach with ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP system in micro plates, *Journal of food and drug analysis*, 29-33 pp.
- ✓ **Congo M. (2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso, p 42.
- ✓ **Diallo D., (2000).** Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae). Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l'université de Lausanne Suisse.
- ✓ **Di Donna, P., Olivotto, I., Delcrè, S. D. L., Caponi, D., Scaglione, M., Nault, I., ...& Gaita, F. (2010).** Efficacy of catheter ablation for atrial fibrillation in hypertrophic cardiomyopathy: impact of age, atrial remodelling, and disease progression. *Europace*, 12(3), 347-355.
- ✓ **Djemai Zoughlache, S., (2009).** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. Magister thesis, Université de Batna 2.
- ✓ **Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J.M. et Stocker, P. (2010).** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica*

- in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48; 2599-2606.
- ✓ **Djoudi, I. (2013).** Contribution à l'identification et à la caractérisation de quelques accessions du palmier dattier (*Phoenix Dactylifera.l*) dans la région de Biskra, Mémoire de Magister En Sciences Agronomiques, Université Mohamed Kheider Biskra-Alger.
  - ✓ **Dohou N., (2004).** - Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de thymeleae lythroïdes, thèse de doctorat, Maroc, 59 p.
  - ✓ **Edenharder, R., Grünhage, D. (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in Salmonella typhimurium TA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18.
  - ✓ **Evans. W.C., (2006).** Pharmacognosy, V.C Saunders, 585 pp.
  - ✓ **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. et Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. 331: 372 -379.
  - ✓ **Fethoun M , Saheb R (2015).** Evaluation de l'activité antioxydant de différents extraits de *Foeniculum vulgare*. Master en pharmacologie moléculaire. Université A. MIRA - Béjaïa
  - ✓ **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115 p.
  - ✓ **Gammoudia A., Dandanaa H., Chaheda S., Ferchichia S., Ernezb A., Mileda. (2013)** .Évaluation des paramètres du stress oxydant chez des patients coronariens. *Immuno- analyse et biologie spécialisée* **28**, 39-42.
  - ✓ **Ghaisas, M. M., Navghare, V. V., Takawale, A. R., Zope, V. S., & Deshpande, A. D. (2008).** In vitro antioxidant activity of *Tectona grandis* Linn. *Pharmacologyonline*, 3, 296-305.
  - ✓ **Ghedira, K. 2008** .L'olivier phytothérapie.6. p 83-89 springer
  - ✓ **Gheffour K., Boucherit k., Boucherit-Otmani Z. (2015).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie*. (13) : 288-294.
  - ✓ **Goudable, J. et Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, volume 11, p 115-20.
  - ✓ **Gourchala, F. (2015).** Caractérisation physicochimique, phytochimique et biochimique de cinq variétés de dattes d'Algérie, *Phoenix dactylifera L.* (Deglet noor, Ghares, H'mira, Tamesrit et Tinissine), effets de leur ingestion sur certains paramètres biologiques

- (Glycémie, profil lipidique, index glycémique et pression artérielle). Thèse doctorat université Badji Mokhtar – Annaba-Algérie
- ✓ **Grandjean, D. (2005).** Prévention nutritionnelle du stress oxydatif cellulaire. Antioxydants: mode ou réalité biologique, Article de *Le nouveau praticien vétérinaire*. pp61-65 ; p145
  - ✓ **Gravot A., (2009).** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Support de cours sur le métabolisme secondaire d'Antoine Gravot, Equipe pédagogique Physiologie Végétale. Université de Rennes
  - ✓ **Gross, J., Habero, O. et Ikan, R. (1983).** The carotenoid pigments of the date. *Scientia Horticulturae*. 20(3) :251-257.
  - ✓ **Guignard J. ; 2000-** Biochimie végétale, 2e édition, Dunod, Paris.
  - ✓ **Guillaume, D. and Charrouf, Z. (2005).** Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, 14(6), 509-516 (501).
  - ✓ **Gülçin, I., Elmastaş, M., & Aboul- Encin, H. Y. (2007).** Determination of antioxidant and radical scavenging activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(4), 354-361.
  - ✓ **Halliwell, B. (1994).** Free radicals and antioxidants. *Nutr.Rev.* 52. p 253-265.
  - ✓ **Halliwell, B. et Whiteman M. (2004).** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British J of pharmacol.*; 142: 31-32.
  - ✓ **Hamel, S. (2018).** Le choix de la date de la mise en place de la bouture herbacée pour la production des plants d'oliviers. Master en Agronomie. Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem.
  - ✓ **Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N. E., Birache, M., Haddad, M., Saidi, M., & 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*, 6(1), 33-39.
  - ✓ **Handique J., and Baruah B. (2002).** Polyphenolic compound : an overview. *React.Funct. Polym* 52,193-188.
  - ✓ **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*, 96: 67– 202.

- ✓ **Hayes J.E., Allen P, Brunton N., O’Grady M.N., Kerry J.P (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, ; 948–955
- ✓ **Himour S., Yahia A., Belattar H., Bellebcir L (2016).** Etude phytochimique de feuilles d’*Olea europaea* L. var Chemlel d’Algérie, ISSN 2490-4392, *Journal of Bioresources Valorization*, 2016 Vol. 1 (1), pp (34-38).
- ✓ **Himour, S. (2018).** Comportements biologique, physiologique, biochimique et l’activité biologique de quatre variétés d’olivier (*Olea europaea* L.) dans l’Est Algérien (Doctoral dissertation, thèse de magister, Université des Frères Mentouri, Constantine, P 18).
- ✓ **Hopkins W. (2003).** *Physiologie végétale*. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris, 514 p.
- ✓ **Houdjedje, D, Mehimmedetsi, C. (2018).** Evaluation de l’activité anti-oxydante in vitro des extraits d’olives. Master .Université des Frères Mentouri Constantine.
- ✓ **Huang, D., Ou B., Prior, R. L. (2005).** The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 53:1841-1856.
- ✓ **Huet, O., & Duranteau, J. (2008).** Dysfonction endothéliale: rôle des radicaux libres. *Réanimation*, 17(4), 387-392.
- ✓ **ISERIN P., MASSON M., et RESLELLINI J., (2001).** La rousse encyclopédie des plantes médicinales. 2ème édition. Paris. 335.
- ✓ **Jovanovic, SV, Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., & Simic, MG (1994).** Les flavonoïdes comme antioxydants. *Journal de l’American Chemical Society* , 116 (11), 4846-4851.
- ✓ **Jeun J.M ., Annie F et Chistyran J.L. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux, Ed Presses Polytechniques et Universitaires Romandes 1,192p.
- ✓ **Jiri, S., Marketa, R., Olga, K., Petr, S., Jaromir, H., Vojtech A., Libuse, T., Ladislav, H., Miroslava, B., Josef, Z., Ivo, P. and ReneKize, k. (2010).** Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages, *Article, Molecules*, 15, 8618-8640
- ✓ **Kaanin, G. et Harfi, L. (2012).** Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de l’huile du noyau de datte : essai d’incorporation dans un margarine de table, Mémoire d’ingénieur d’état, Université Abderrahmane MIRA de Béjaia-Alger.
- ✓ **Kanatt, S., Arjun, K. et Arun, S. (2011).** Antioxidant and antimicrobial activity of legume hulls. *Food Research International* 44: 3182–3187.

- ✓ **Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008).** Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechastata*. *Food Chemistry*, 111(2), 400-407
- ✓ **Kaskoos R, (2013).** Pharmacognostic Specifications of Leaves of *Olea europaea* Collected from Iraq. 8 pp
- ✓ **Khenfer, S. et Medjouel, M. (2016).** Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien. Diplôme Master Académique. Université Kasdi Merbah Ouargla-Alger.
- ✓ **Khima, S. et Merabti, C. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Calamintha officinalis* et *Abies numidica*, mémoire de master Université A. MIRA – Bejaia- Algérie .
- ✓ **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases, *Nutrition clinique et métabolique*. 20:165-177.
- ✓ **Krishnaiah, D., Sarbatly, R. and Nithyanandam, R. (2010).** A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, article in press
- ✓ **Kroyer, G. (2004).** Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5: 101–105.
- ✓ **Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Hamdi B. & Chaieb K., (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L and related polyphenolic constituents. *Food Chem Toxicol*; 47:2083–91.
- ✓ **Kühnau, J. (1976).** The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition, *World Rev. Nutr. Diet.* 24 : 117-191
- ✓ **Kwon Y. I., Vatter, D. A., and Shetty, K. (2006).** Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific J Clin Nutr*, volume 15 (1):107-118.
- ✓ **Lagnika, L. (2005).** "Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, page : 249
- ✓ **Lamaison, C., Freytet P. J., and Carnat, A. (1991).** "Medicinal Lamiaceae with Antioxidant Properties, a Potential Source of Rosmarinic Acid," *Pharmaceutica Acta Helveticae*, Vol. 66, No. 7, pp. 185-188.
- ✓ **Laouini, S. E. (2014).** Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Thèse Doctorat Université Mohamed Khider Biskra- Algérie

- ✓ **Lecheheb, F. (2010).** Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin. mémoire de magister. Université de M'hamedBougraBoumerdés-algerie.
- ✓ **Lee, Y.J., Erdos, G., Hou, Z., Kim, S.H., Kim, J.H., Cho, J.M., Corry, P.M. (1994)** Mechanism of quercetin-induced suppression and delay of heat shock gene expression and thermotolerance development in HT-29 cells. *Molecular and cellular biochemistry*. 137: 141-154
- ✓ **Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J et Lee, C.Y., (2003).**Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chem*. 51:p 7292-
- ✓ **Lerato, N.M., Samkeliso, T., Michael, P. (2017).** Preliminary phytochemical screening of crude extracts from the leaves, stems, and roots of *Tulbaghia violacea*. *International Journal of Pharmacognition Phytochemistry Research*, 9:1300-1308.
- ✓ **Li, H., Cheng, K.W., Wong C., Fan K.W., Chen, F. and Jiang, Y. (2007)** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102 ; 771-776.
- ✓ **Liang-Liang, Z ; Yi- Ming, L ; Hai-Chao ; Zhou ; Shu-Dong ; Wei and Jia-Hong C (2010).** Condensed tannins from Mangrove Species *Kandeliacandel* and *Rhizophora mangle* and Their antioxidant activity. *Journal of Molecules*, volume 15, p 420-431.
- ✓ **Lisu, W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L.,Ming-Jiuan, W. (2003),** "Antioxydant effect of methanol extracts from *Lotus Plumule*
- ✓ **LOUSSERT R et BROUSSE G. (1978).** *L'olivier*. G.P. Maisonneuve et Latose,
- ✓ Printed in France: 48.and Blossom (*Nelumbo nucifeca Gertn.*)" *Journal of food and drug analysis*, 11(1): 60-66.
- ✓ **Macheix j, Fleuriet A , jay-Allemand C. (2005).**les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques).Edition techniques et documentation Lavoisier.
- ✓ **Macheix J., Fleuriet A et Sarni-manchado P. (2006).** Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Technique et Documentation, Paris. France, 398 p.
- ✓ **MADANI YOUSFI M., (2017).** Dosage des polyphénols et recherche d'activité antiradicalaire de feuilles d'olives. Mémoire de Master. Université de Tlemcen.
- ✓ **Mahmoudi, S., Khali, M., &Mahmoudi, N. 2013.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). *Nature &Technology*, (9), 35.

- ✓ **Maisuthisakul, P., Pasuk, S. & Ritthiruangdej, P. (2008).** Relationship of antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 21, pp 229-240.
- ✓ **Manallah A. (2012).** Activités antioxydant et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.
- ✓ **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. and Kefalas, P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*) Article in *Food Chemistry* 89(3) : 411-420.
- ✓ **Mansouri, A., Guendez, E., Eugene, K et Panagiotis, K. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89: 411–420.
- ✓ **Marfak, A. (2003).** Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGE. 187 p
- ✓ **Markowicz-Bastos, D. H., Saldanha, L., Catharino, R., Sawaya, A C H F; Cunha, I., Carvalho, P. and Eberlin, M. (2007).** Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Cameliasinensis*) Extracts. *Molecules*. 12: 423-432.
- ✓ **Médart, J. (2009).** Manuel pratique de nutrition: l'alimentation préventive et curative. De Boeck Supérieur.
- ✓ **Meddour, A., Yahia M., Benkiki, N., Ayachi, A. (2013).** « Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de là fleurs du *Capparis Spinosa* (L.) », *J. Lebanese Science*, 14 (01), p : 49-60.
- ✓ **Meddour, E, Soualem, M. (2021).** Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation des propriétés antioxydante d'*Olea europaea* L. Master en Biochimie . Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A.
- ✓ **Medjoujda, O. (2012).** Méthodes d'études d'activité des antioxydants des plantes médicinales, mémoire de licence Université d'Agadir –Maroc.
- ✓ **Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., & Saadi, A. (2014).** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International journal of biological and chemical sciences*, 8(4), 1865-1870.
- ✓ **Meziti, A. (2007).** Activité antioxydant des extraits des graines de *Nigella sativa* L Etude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister Université de Batna. p 30-35-49-67.

- ✓ **Mibindzou Mouellet, A. (2004).** Scening phytochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev et Pellegrer (rubiaceae) récoltées au Gabon. Thèse de doctorat. University de Bamako, Mali pp 58.
- ✓ **Milane, H., (2004.)** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- ✓ **Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., Van Beek, T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. Food Chemistry. 85: 231-237.
- ✓ **Mirad, B. et Badis, A. (2019).** Activité antioxydant et antibactérienne des extraits des feuilles d'olivier sauvages et cultivés. Master en Microbiologie appliquée. Université Bouira.
- ✓ **Morzouglal, D, Rabouh, K. (2019).** Contribution à l'étude de l'activité anti-oxydante des extraits de feuilles d'olivier. Mastère Agronomie. Université Ziane Achour –Djelf.
- ✓ **Muanda F. (2010).** Identification de polypheols , evaluation de leur activite antioxydante et etude de leur proprietes biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique .Université Paul Verlaine-Metz : 55p.
- ✓ **Munier, P., Vilardebo, A., Laville, E., Navilie, R. et Trocellier, E. (1973).** Le palmier Dattier, Maisonneuve & Larose 11, rue Victor-Cousin, 11 PARIS (V<sup>e</sup>) p 19-211.
- ✓ **Nacz, M. and Shahidi, F. (2004).** Extraction and Analysis of Phenolics in Food. Journal of Chromatography, 1054, 95-111. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(04\)01409-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(04)01409-8).
- ✓ **Nawaz H., Shi J., Mittal G.S. et Kakuda Y. (2006).** Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration, Separation and Purification Technology 48, 176-181
- ✓ **Nezam, A. et Ali, L. (1982).** Study on the pigment contents of some varieties of date. J. Res .for .Agric .Water Res. (Iraq), 2: 1.
- ✓ **Nicholson, R., & Vermerris, W. (2006).** Phenolic compound biochemistry.
- ✓ **Nostro, A., Germano, M. P., Angelo, V., Marino, A. et Cannatelli, M.A. (2000).** Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Lettres en microbiologie appliquée. 30 (5), p379.
- ✓ **Ogab S. et Zoudji F. Z. (2017).** Caractérisation morphologique, culturelle et pathogénique de *Verticillium dahliae* Kleb., agent causal de la verticilliose de l'olivier (*Olea europea* L.). Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- ✓ **Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002).** Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical

- absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3122-3128.
- ✓ **Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M. and Topcu, G. (2007).** Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.* 103: 623 -630.
  - ✓ **Paixao, N., Perestrelo, R., Marques, J. C., & Câmara, J. S. (2007).** Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chemistry*, 105(1), 204-214.
  - ✓ **Pastre, C. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat, Université Paul-Sabatier, Toulouse, p 116.
  - ✓ **Pastre J. et Priymenko N., (2007).** Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* (4):187p.
  - ✓ **Pelli K., Lyly M., 2003.** Les antioxydants dans l'alimentation. VTT Biotechnology Finlande
  - ✓ **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. et Defraigne, J.O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Physiological action of antioxidant defences.* *Nutrition clinique et métabolisme*, 16, 233–239.
  - ✓ **Pincemail J. and Defraigne J. O., (2004).** Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Symposium « Antioxydants et alimentation >», Institut Danone.
  - ✓ **Prouillac, C. (2006).** Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro, Thèse ; Univ Paul Sabatier de TOULOUSE III, 291 pp.
  - ✓ **Pulido, R., Bravo, L et Saura-Calixto, F. (2000).** Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 48:p 3396-3402.
  - ✓ **Queen B. L. et Tollefsbol T. O. (2010).** Polyphenols and Aging. *Curr Aging Sci* 1, 34-42.
  - ✓ **Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. and Pouysegu, L. (2011).** Plant polyphenols : Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition.* 50(3) : 586-621.
  - ✓ **Raven J. C., Court J. H. (2000).** Manual for Raven's Progressive Matrices and Vocabulary Scales. Section 3: The Standard Progressive Matrices. Oxford, UK: Oxford University Press.
  - ✓ **Robards, K. 2003.** Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of chromatography A*, 1000(1-2), 657-691.

- ✓ **Sanchez-Moreno. (2002).** Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. Food Science and Technology International.
- ✓ **Santos R. D., Shetty K., Lourenco A. & Miglioranza L., (2012).** Phenolic compound and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extract. DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33, N2, p655.
- ✓ **Scalbert, A., Williamson, G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J. Nutr. 130 :p 2073-2085.
- ✓ **Shahin Sharif, A., Naresh, K., Abhinav, L., Angad, S., Hallihosur, S., Abhishek, S., Utpal, B. (2008).** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. Journal of Food Research International, volume 41, 1–15.
- ✓ **Shimizu H., Kiyohara Y., Kato I., Kitazono T., Tanizaki Y., Kubo M., & Iida M. (2004).** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke* 9, 2072-2077
- ✓ **Silva S., Gomes L., Leitão F., Coelho A.V., Boas L.V (2006).** Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea europaea* L. fruits and leaves. Food Science and Technology International 12, 385-396.
- ✓ **Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999).** [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In Methods in enzymology (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- ✓ **Sokol-Letowska, A., Oszmianski, J. and Wojdyło, A. (2007).** Antioxidant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. Food chemistry, 103:853-859.
- ✓ **Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of Food Engineering, 81: 200-208.
- ✓ **Telli, A. (2017).** Activités anti-oxydante, antimicrobienne et antidiabétique de deux espèces spontanées utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Ouargla : *Amodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata*. Thèse de Magister. Université de Kasdi Merbah-Ouargla
- ✓ **Tiffany, T. (2012).** Le potentiel antioxydant de l'alimentation tel qu'estimé par le score ORAC : une comparaison des apports des personnes âgées avec démence du type Alzheimer avec ceux des témoins sans problèmes cognitifs. Mémoire l'obtention du grade. Université de Montréal-Canada
- ✓ **Tlili, M. (2015).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergulariatomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla Algérie.

- ✓ **Tolba, I. (2016).** Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).
- ✓ **Trease, E., Evans, W.C. (1987).** Pharmacognosie, BilliaireTindall: London
- ✓ **Vinha, A. F., Ferreres, F., Silva, B. M., Valentao, P., Gonçalves, A., Pereira, J. A., ...& Andrade, P. B. (2005).** Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food chemistry*, 89(4), 561-568.
- ✓ **Wichtl M. et ANTON R., 2009-**Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Edition LAVOISIR, Paris: 38, 41
- ✓ **Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011).** Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food research international*, 44(1), 217-224.
- ✓ **Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S. (2004).** Flavonoids in food and their health benefits. *Plant foods for human nutrition*, 59(3), 113-122.
- ✓ **Yi Yan, Y., Liang ,Yand Zeng B. (2008).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of PericarpiumCitriReticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids. *LWT*, 41: 597-603
- ✓ **Yu, J., Ahmedna, M. and Goktepe, I. (2004).** Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*. Pp 199–206.