

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2024

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière : Sciences Biologiques**

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

HAMHOUM Tinhinane & HAMRI Lahna

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des
feuilles d'*Olea europaea* de la région de Bouira**

Soutenu le : 08 /07/2024

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Dr. BENAZOUZ Kheira

MCA

Univ. de Bouira

Présidente

Mr. Adrar Nassim Salem

MAA

Univ. de Bouira

Promoteur

Dr. TIGHILET Karim

MCA

Univ. de Bouira

Examineur

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciement

Nous remercions DIEU tout puissant qui nous a donnés le

Courage, la force pour finaliser ce mémoire

Nous remercions chaleureusement notre promoteur Mr

Adrar pour avoir accepté de nous encadrer,

pour ses orientations, ses conseils, sa constante disponibilité,

pour réaliser et améliorer ce mémoire.

A l'honorable jury composé du professeur Dr. BENAZOUZ Kheira

présidente, du

Dr. TIGHILET Karim L'examineur. Je le remercie d'avoir accepté

d'examiner ce travail.



Dédicace

Je dédie du plus fond de mon cœur ce manuscrit :

*A ma chère mère qui m'a toujours soutenu et conseils dans ma
vie.*

A mon père que Dieu ait pitié de lui.

A tous mes frères et sœur.

A ma belle-famille.

A tous mes amies.

A notre enseignant qui nous a aidé et supporté.



Lahna

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU De m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A mon très cher père

*Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.
Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mes très chers frères Ishak, Ilyes et Soeur Maria

A ma meilleure amie Thiziri

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime

Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite

Thinhinane

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1. Généralités sur L'olivier (*Olea europaea*) 3

1.1. Historique et Origine 3

1.2. Classification et Description botanique 4

1.2.1. Classification et systématique 4

1.2.2. Description botanique 4

1.3. Répartition géographique 7

1.3.1. Dans le monde 7

1.3.2. En Algérie 7

2. Les feuilles d'olivier 8

2.1. Composition chimique des feuilles d'olivier : 8

2.2. Les propriétés des feuilles d'olivier 9

2.3. Utilisations : 11

3. Généralités sur les radicaux libres 11

3.1. Définition : 11

3.2. Sources de radicaux libres 12

3.3. Activités physiologiques des radicaux libres 13

4. Stress oxydatif 13

4.1. Définition 13

4.2. Maladies liées au stress oxydatif 14

5. Les Antioxydants 15

5.1. Définition 15

5.2. Types : 15

5.2.1. Antioxydants enzymatiques.....	15
5.2.2. Antioxydants non enzymatiques.....	16

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Matériel.....	22
1.1. Matériel non biologique	22
1.2. Matériel végétale	22
1.2.1. Collection des échantillons.....	22
1.2.2. Préparation de la plante	23
2. Méthodes.....	23
2.1. Extraction des composés phénoliques	23
2.2. Rendement d'extraction	26
2.3. Dosage des composés phénoliques.....	26
2.3.1. Dosage des phénols totaux.	26
2.3.2. Dosage des flavonoïdes	27
2.4. Activités antioxydantes des extraits phénoliques des feuilles d' <i>Olea europaea</i>	28
2.4.1. Test de piégeage par le cation radicalaire ABTS+	28
2.4.2. Évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH	29

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Résultats et discussion.....	33
1.1. Rendement d'extraction	33
1.2. Dosage des composés phénoliques des extraits des feuilles d'olivier <i>Olea europaea</i>	35
1.2.1. Teneur en phénols totaux :	35
1.2.2. Dosage des flavonoïdes	38
1.3. Activités antioxydantes <i>in vitro</i> des extraits phénoliques des feuilles d' <i>Olea europaea</i>	40
1.3.1. Test de piégeage par le cation radicalaire ABTS+	40
1.3.2. Evaluation de L'activité anti-radicalaire du DPPH	42
Conclusion.....	46

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

- **BHA** : Hydroxy Anisole Butylé
- **BHT** : Butyl Hydroxy Toluène
- **Anti-VIH** : Anti-Virus de l'Immunodéficience Humaine
- **DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
- **ABTS**: 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique acid)
- **ATP** : adénosine-triphosphate
- **ROS** : Espèces réactives de l'oxygène
- **RNS** : Espèces réactives de l'azote (nitrogène)
-
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **O₂^{•-}** : Anion superoxyde
- **ONOO⁻** : Anion peroxydinitrite
- **HO[•]** : Radical hydroxyle
- **ROO[•]** : Radical peroxyde
- **RO[•]** : Radical alkoxyde
- **HOO[•]** : Radical hydroperoxyde
- **P450** : : Cytochrome Pigment 450
- **AGE** : Advanced Glycation End-products (Produits de Glycation Avancée)
- **PKC** : Protéine Kinase C
- **NO** : oxyde nitrique
- **ERO** : espèces réactives de l'oxygène.

- **SOD** : Superoxyde dismutase
- **Mn** : manganèse
- **Cu** : cuivre
- **Zn** : zinc
- **KDa** : kilo Dalton
- **CAT** : Catalase
- **H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène
- **O₂** : dioxygène
- **O₂⁻** : ion superoxyde
- **Na₂CO₃** : carbonate de sodium
- **UV/VIS** : ultraviolet-visible
- **PI** : pourcentage d'inhibition
- **Abs** : Absorbance
- **mg EAG/g d'extrait** : mg équivalent acide gallique/g d'extrait
- **mg EQ/g d'extrait** : mg équivalent quercétine/g d'extrait
- **-OH** : Groupe hydroxyle
- **%** : Pourcentage
- **°C** : Degrés Celsius
- **OLE** : Olive Leaf Extract (Extrait de Feuille d'Olivier)

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition chimique des feuilles d'olivier (exprimés en g/100g).....	10
Tableau 2: Principaux radicaux libres et leur structure chimique.....	12

Liste des figures

Figure 1: Arbuste d' <i>Olea europaea</i>	5
Figure 2 : Aspect des feuilles d' <i>Olea europaea</i>	6
Figure 3 : Aspect des fleurs d' <i>olea europaea</i>	6
Figure 4 : Implication du stress oxydatif dans l'apparition de certaines maladies	14
Figure 5 : Structure de base des composés phénoliques	19
Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes	20
Figure 7: la partie aérienne de la plante	22
Figure 8: Poudre de feuille d' <i>Olea europaea</i>	23
Figure 9: Schéma générale d'extraction par macération des feuilles d'olivier	25
Figure 10: apparition d'une couleur bleue révélant la présence de phénols totaux	27
Figure 11: apparition d'une couleur jaune révélant la présence de flavonoïdes	28
Figure 12: décoloration de la solution ABTS radicalaire.....	29
Figure 13: décoloration de la solution DPPH radicalaire	31
Figure 14: Graphique montrant la variation du taux d'extraction en fonction de l'extrait des feuilles de l'olivier.	33
Figure 15: Graphique montrant la variation de la teneur en phénols totaux en fonction de l'extrait des feuilles de l'olivier	36
Figure 16: Graphique montrant la variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de l'extrait des feuilles de l'olivier.	38
Figure 17: Activité de piégeage du cation ABTS●+ des extraits de feuilles séchées de l'olivier.....	40
Figure 18 : Activité de piégeage du radical DPPH● des extraits de feuilles séchées de l'olivier.....	43

Introduction

Introduction

L'oxygène est vital pour les organismes aérobies, mais peut également causer du stress oxydatif en générant des dérivés réactifs, notamment les radicaux libres. Ces derniers, produits principalement lors du processus d'oxydation, sont responsables de dommages importants aux macromolécules et à l'acide nucléique, pouvant contribuer au vieillissement cellulaire et à diverses maladies. Ainsi, la recherche sur les antioxydants naturels, comme ceux présents dans les aliments et les plantes, est cruciale pour la santé humaine et la prévention des maladies liées au stress oxydatif (Benalia et *al.*, 2020).

De nombreux antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT) sont très efficaces et utilisés dans le domaine de la transformation industrielle. Cependant, ils ont des effets secondaires et des propriétés toxiques pour la santé humaine. Ainsi, de strictes limitations ont été mises en place pour leur utilisation et il y a une tendance à les substituer par des antioxydants naturels. Ainsi, la recherche active s'est concentrée sur l'identification et l'isolement de nouveaux antioxydants provenant de sources naturelles. Les flavonoïdes, les coumarines, les curcuminoïdes ou les terpènes, qui sont issus des plantes, ont démontré une activité antioxydante puissante et une toxicité faible (Sunil et *al.*, 2014).

L'humanité a utilisé depuis des milliers d'années différentes plantes présentes dans son environnement pour traiter traditionnellement toutes sortes de maladies, ce que l'on appelle la phytothérapie. Ces plantes constituent une importante source naturelle de métabolites secondaires qui ont une activité biologique très étendue (Chevallier, 2001).

Dernièrement, l'intérêt s'est porté sur les herbes et les épices en tant que sources d'antioxydants, qui peuvent être utilisés pour se prémunir contre les effets du stress oxydant, directement responsable de divers états pathologiques tels que le cancer, et indirectement responsable de la peroxydation des aliments (Koudoufio, 2024).

Olea europaea est un exemple de plantes médicinales comestibles, un arbre fruitier de la famille des Oléacées et source naturelle d'antioxydants. Les feuilles d'olivier contiennent des

Introduction

composés phénoliques qui présentent de nombreux avantages potentiels pour la santé, tels qu'une activité antioxydante, des propriétés anti-VIH, des effets anti-prolifératifs et apoptotiques, ainsi que des effets protecteurs contre la leucémie humaine (Mansour et *al.*, 2023). Cependant, dans ce modeste travail on ne s'est intéressé qu'uniquement à l'évaluation, *in vitro*, de l'activité antioxydante de feuilles d'*Olea europaea*. La synthèse bibliographique de ce modeste travail accorde une attention particulière à des généralités sur *Olea europaea* ; les radicaux libres et le stress oxydant ; les antioxydants et les composés phénoliques. Alors que la partie expérimentale contient les éléments suivants : (a) utiliser des feuilles séchées d'*Olea europaea* afin d'obtenir différents extraits ; (b) déterminer les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits obtenus ; et (c) évaluer, *in vitro*, l'activité antioxydante de ces extraits.

Chapitre I

Synthèse

Bibliographique

1. Généralités sur l'olivier

L'olivier (*Olea europaea*) est un arbre fruitier emblématique largement cultivé pour ses olives et son huile. Il est essentiel dans les pays méditerranéens, couvrant environ 8 millions d'hectares, soit environ 98% de la production mondiale d'olives (Guinda *et al.*, 2004). L'olivier est reconnu pour sa résistance aux conditions de sécheresse et son adaptation au climat méditerranéen. Sa durée de vie quasi éternelle et sa capacité de régénération par des rejets racinaires en font un symbole de paix, de sagesse et d'éternité (Rieux *et al.*, 2007). En France, il existe une centaine de variétés d'oliviers, parmi lesquelles la Salonenque, l'Aglandau, la Bouteillan, la Grossanne et la Picholine sont les plus répandues. L'huile d'olive, produite par trituration mécanique des olives, est appréciée pour ses qualités gustatives et ses bienfaits pour la santé. La valorisation croissante des paysages et des produits de l'olivier dans certaines régions a conduit à une augmentation de la production d'huile d'olive, notamment en France, en Croatie, en Slovénie, en Italie et au Portugal (Angles, 2012).

1.1. Historique et Origine

L'olivier a des origines anciennes et fascinantes. Selon les sources, l'oléastre, la forme sauvage de l'olivier, remonterait à environ 11 000 à 14 000 ans, voire même 60 000 ans selon certaines sources. Il est originaire d'Asie mineure et s'est progressivement répandu en Égypte, en Palestine, en Grèce, et dans d'autres régions méditerranéennes (Chafaa, 2013). L'olivier a joué un rôle crucial dans l'histoire des civilisations méditerranéennes. Il a été introduit à Marseille vers 600 avant J.-C. et s'est propagé dans toute la Gaule. Des fossiles de feuilles d'olivier datant de six millions d'années ont été découverts en Italie, et des restes d'arbres du XIII^e millénaire avant J.-C. en bordure du Sahara. En Méditerranée orientale, des feuilles fossilisées datées de 37 000 ans avant J.-C. ont été trouvées à Santorin, en Grèce (Benrachou, 2012).

L'olivier a toujours été un symbole de paix, de prospérité, de sagesse, et d'abondance. Il est associé à diverses civilisations et constitue un trait d'union entre les pays méditerranéens. Il a été cultivé en Syrie, en Palestine, puis s'est propagé en Sicile, en Italie, en Tunisie, en Algérie, au Maroc, et dans le sud de la France au fil des siècles (Breton *et al.*, 2006).

La propagation de l'olivier s'est faite par les Grecs, les Romains, et les Arabes au cours de leurs conquêtes et de leur expansion commerciale. Des peintures rupestres datant du II^e millénaire avant J.-C. découvertes dans le Sahara central en Algérie montrent des hommes

couronnés de branches d'olivier, témoignant de la connaissance de cet arbre à cette époque ancienne (Chafaa, 2013).

1.2. Classification et description botanique

1.2.1. Classification et systématique

L'olivier, de la famille des oléacées, du latin « *Olea* », son fruit était « *Oliva* » et le jus que l'on tirait « *Oleum* » est devenu « huile » après bien des transformations. D'après Merouane *et al.* (2014), la position taxonomique de l'olivier est la suivante :

Règne : Plantae– Plantes

Division : Angiospermes –Plantes à fruits

Classe : Dicotylédones

Ordre : Gentianales–Lamiales

Famille : Oléacées

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea L*

Sous-espèces et variétés

Selon la Flora Europaea, l'espèce *Olea europaea* comprend deux sous-espèces :

✓ *Olea europaea subsp. europaea* : l'olivier cultivé, avec de grandes variations dans le feuillage et la taille des fruits selon les variétés (Maaouni, 2018).

✓ *Olea europaea subsp. europaea var. sylvestris* : l'olivier sauvage ou oléastre, avec un port buissonnant, des feuilles plus courtes et arrondies, et de petits fruits (Maaouni, 2018).

1.2.2. Description botanique

L'olivier est un arbre méditerranéen de la famille des Oléacées, caractérisé par un tronc noueux et une écorce brune crevassée. Il peut atteindre une hauteur de 15 à 20 mètres et vivre très longtemps, parfois jusqu'à 1 000 ans ou plus. Très rameux, l'olivier présente un bois dur et dense, apprécié en ébénisterie (Argenson *et al.*, 1999) (Figure 1).



Figure 1: Arbuste d'*Olea europaea* (Ayton *et al.*, 2007).

1.2.2.1. Les systèmes racines

Le développement du système racinaire de l'olivier dépend des caractéristiques physicochimiques du sol, de sa profondeur, de sa texture et de sa structure. Initialement, le jeune plant issu de la graine développe une racine pivotante. À l'âge adulte, l'olivier présente deux à trois racines pivotantes qui s'enfoncent profondément. Ces racines pivotantes donnent naissance à un système racinaire peu profond à développement latéral, générant des racines secondaires et des radicelles capables d'explorer une vaste surface de sol (Chafaa., 2013).

Des études ont montré que les racines des oliviers peuvent s'entrelacer à une certaine densité, mais deviennent moins denses en profondeur. Ainsi, l'olivier présente un système racinaire essentiellement peu profond à développement latéral, avec des racines principales qui ne dépassent pas beaucoup l'aplomb de la frondaison, contrairement aux racines secondaires et aux radicelles qui peuvent explorer une grande surface de sol (Maaouni, 2018).

1.2.2.2. Le système aérien

Le système aérien de l'olivier se caractérise par les éléments suivants :

- ✚ **Le tronc** : Le tronc de l'olivier est jaunâtre puis devient brun très clair. Il est décrit comme très dur, compact, court, trapu (pouvant atteindre jusqu'à 2 mètres de diamètre), et il porte des branches assez grosses, tortueuses et lisses (Grati *et al.*, 1999).

- ✚ **Les feuilles** : Les feuilles de l'olivier sont persistantes, opposées, coriaces, ovales oblongues, à bords entiers et légèrement enroulés, portées par un court pétiole. Elles sont de couleur vert grisâtre, avec un dessous vert sombre et blanchâtre avec une seule nervure. Ces feuilles contiennent souvent des matières grasses, des cires, des chlorophylles, des acides (gallique et malique), des gommes et des fibres végétales (Maaouni, 2018) (Figure 2).



Figure 2 : Aspect des feuilles d'*Olea europaea* (Maaouni, 2018).

- ✚ **Les fleurs** : Les fleurs de l'olivier sont regroupées en inflorescences, avec un nombre variable de fleurs selon les cultivars, allant de 10 à plus de 40 fleurs par grappe en moyenne. Les fleurs individuelles peuvent être hermaphrodites (possédant à la fois des organes reproducteurs mâles et femelles) ou staminées (uniquement des organes mâles) (Burnie et al, 2006) (Figure 3).



Figure 3 : Aspect des fleurs d'*Olea europaea* (Burnie et al., 2006).

- ✚ **Les fruits** : La période de la mise à fruit s'étale d'octobre à novembre. Les fruits sont ovoïdes gros (1.5 à 2 cm), longtemps verts, puis noirs à complète maturité, de forme variable suivant les variétés à pulpes charnue huileuse (Brosse, 2004).

1.3. Répartition géographique

1.3.1. Dans le monde

La culture de l'olivier joue un rôle crucial sur le plan économique et social dans la région méditerranéenne, demeurant l'une des activités agricoles les plus essentielles. Avec un climat propice et des conditions idéales, le bassin méditerranéen reste le principal territoire pour la culture de l'olivier, abritant près de 95% des oliveraies mondiales. Actuellement, l'olivier est cultivé dans diverses régions du monde, notamment en Amérique, en Australie, en Chine, au Japon et en Afrique du Sud, mais le bassin méditerranéen demeure le cœur de cette culture (Chafaa, 2013).

En termes de production, le secteur oléicole mondial a connu une croissance significative, En ce qui concerne les variétés cultivées dans le monde, il existe une grande diversité avec plus d'une centaine de variétés d'olivier dans chaque pays producteur. L'espèce *Olea europaea* compte environ 2000 variétés, dont près de 500 sont implantées en Italie. La richesse du germoplasme de l'olivier représente une source importante de variabilité pour l'amélioration génétique de cette plante, avec près de 1250 variétés cultivées dans 54 pays et conservées dans de nombreuses collections à travers le monde. Selon le Conseil Oléicole International (2014) (Gharbi et *al.*, 2004).

1.3.2. En Algérie

L'olivier occupe une place essentielle dans le processus de relance économique de l'Algérie en raison de ses multiples fonctions telles que la lutte contre l'érosion, la valorisation des terrains agricoles et la fixation des populations dans les zones de montagne. Il est l'une des principales espèces fruitières cultivées en Algérie, principalement au Nord de l'Algérie (Chafaa., 2013). En Algérie, l'huile d'olive occupe une place essentielle sur les plans économique, social et environnemental. Le verger national d'oléiculture s'étend sur une superficie de plus de 400 000 hectares et compte 61 millions d'oliviers (Amrouni Sais et *al.*, 2021)

Le secteur de l'huile d'olive est de plus en plus considéré comme un moteur de développement économique et social de diverses régions, notamment la Kabylie et l'Oranie.

Au cours de la campagne 2017/2018, l'Algérie a produit 80 000 tonnes, se classant au neuvième rang mondial (Douzane *et al.*, 2021). Cependant, la production d'olives de table est estimée à 72 920 tonnes par an. L'oléiculture algérienne est caractérisée par une gamme diversifiée de variétés d'olivier, avec la variété Chemlal étant la plus représentative dans la région centre, occupant environ 55% de la superficie oléicole du pays. Dans la région oranaise, la variété Sigoise occupe, avec un taux de 80 à 90%, la plus grande partie des oliveraies (plaines de Sig et de Tlemcen) (Argenson, 2008).

2. Les feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier ont longtemps été reconnues pour leurs nombreuses vertus thérapeutiques, en grande partie grâce à leur riche composition chimique. La biomasse aérienne de l'olivier est significative et représente une part importante de l'arbre, avec des implications majeures (Lee *et al.*, 2009).

2.1. Composition chimique des feuilles d'olivier :

Les feuilles d'olivier sont principalement constituées d'humidité, de protéines, de lipides, de minéraux et de glucides, selon des recherches récentes. Même si les feuilles d'olivier sont riches en nutriments, la présence de phénols est très intéressante en raison de ses propriétés bénéfiques pour la santé. Les feuilles d'olivier sont riches en polyphénols de qualité supérieure (Wang *et al.*, 2019). Les feuilles d'olivier renferment aussi une grande quantité de triterpènes, les acides oléanolique et maslinique étant les plus riches. En outre, la feuille d'olivier est riche en sucres, principalement du mannitol, mais aussi en glucose, en saccharose et en fructose. (Ramírez *et al.*, 2022). De plus, des feuilles d'*Olea europaea* ont également été rapportées contenant des hydrocarbures, des esters, des cires, des triglycérides, des tocophérols (vitamines), des estérols, des alcools linéaires, terpéniques et des dialcools terpéniques. (Hashmi *et al.*, 2015).

La feuille d'olivier contient des composés phénoliques de diverses classes : acides phénoliques (caféique, gallique, vanillique et coumarique) ; alcools phénoliques (tyrosol et hydroxytyrosol) ; composés plus complexes (sécoiridoïdes (oleuropéine, ligstroside), lignanes (acétoxy-pinorésinol et pinorésinol), flavonoïdes et enfin hydroxyl-isochrones). Oleuropéine est le principal composé phénolique actif de la feuille d'olivier. En outre, l'acide oléique est l'un des principaux composants bioactifs identifiés dans l'OLE (Ferreira *et al.*, 2023).

En outre, la composition biochimique des feuilles d'olivier varie aussi en fonction de la variété de la plante, des conditions climatiques, du moment de l'échantillonnage, de la génétique

et de l'origine géographique (Wang *et al.*, 2019). Le tableau 1 montre une composition chimique des feuilles d'olivier.

2.2. Les propriétés des feuilles d'olivier

Effectivement, des études scientifiques solides démontrent que les polyphénols présents dans les feuilles d'olivier ont des propriétés biologiques variées, telles que des activités antioxydantes, antiinflammatoires, antimicrobiennes, hypoglycémiantes, antihypertensives, anticancéreuses, anticholestérolémiques, ainsi que la réduction du risque de maladies cardiovasculaires, ainsi que la régulation de la tension artérielle et des taux de cholestérol chez les animaux. Il serait donc judicieux d'utiliser des feuilles d'olivier afin d'obtenir des composés de grande valeur et ayant un fort pouvoir antioxydant. L'extraction et la purification de ces substances constituent une excellente alternative pour exploiter cette biomasse résiduelle (Khelouf *et al.*, 2023).

L'oleuropéine est le principal composé sécoiridoïde des feuilles d'olivier. Ce produit, ainsi que certains de ses composés, ont des propriétés biologiques et pharmacologiques puissantes, comme des propriétés anticancéreuses, cardioprotectrices, neuroprotectrices, gastroprotectrices, hépatoprotectrices, antidiabétiques, anti-obésité et radioprotectrices. On attribue principalement ces propriétés à ses effets supposés antioxydants et anti-inflammatoires. Les produits naturels, tels que l'oleuropéine, sont très intéressants pour la recherche pharmaceutique en raison de leur capacité à interagir avec une variété de macromolécules biologiques (Cavaca *et al.*, 2020).

Tableau 1: Composition chimique des feuilles d'olivier (exprimé en g/100g) (Boussakou, 2019).

Composition en %	(Garcia-Gomez et <i>al.</i> , 2003)	(Martin-Garcia et <i>al.</i> , 2006).	(Boudhrioua et <i>al.</i> , 2009).	(Erbay et Icier 2009).
Eau	Nd	41.4	46.2- 49.7 a	49.8 a
Protéines	Nd	Nd	5.0- 7.6 a	7.0 b
Lipides	6.2 b	3.2 b	1.3 a	6.5 a
Minéraux	26.6 b	16.2 b	2.8- 4.4 a	3.6 b
Glucides	Nd	Nd	37.1- 42.5 a	27.5 a
Fibres brutes	Nd	Nd	Nd	7.0 a
Cellulose	19.3 b	Nd	Nd	Nd
Hémicellulose	25.4 b	Nd	Nd	Nd
Lignine	30.4 b	Nd	Nd	Nd
Polyphénols totaux	Nd	2.5 b	1.3- 2.3 b	Nd
Tanins solubles	Nd	Nd	Nd	Nd
Tanins condensés	Nd	0.8 b	Nd	Nd

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

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

✓ Nd : valeur non déterminée.

2.3. Utilisations :

Les feuilles d'olivier sont utilisées depuis des siècles dans la médecine traditionnelle pour leurs multiples bienfaits sur la santé, notamment pour la santé cardiovasculaire et pour soulager divers maux. Elles sont préparées en tisane pour une consommation régulière, offrant des effets anti-inflammatoires, une réduction du cholestérol, une protection cardiovasculaire, et une action antioxydante. La cueillette des feuilles se fait avant la floraison, de préférence au printemps, pour garantir leur efficacité thérapeutique maximale (Nefzaoui, 1995).

✚Domaine Médicinal

Les feuilles d'olivier ont une longue histoire d'utilisation dans la médecine traditionnelle des îles méditerranéennes et des pays européens. Elles ont été employées pour traiter la fièvre et ont été utilisées par les Anglais au XIXe siècle pour des maladies tropicales comme la malaria. Dans l'Égypte antique, les feuilles d'olivier étaient utilisées pour la momification des pharaons. Elles sont réputées pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive. Des études ont montré que les extraits de feuilles d'olivier peuvent abaisser la tension artérielle, augmenter le débit sanguin dans les artères coronaires, soulager les arythmies et prévenir les spasmes musculaires intestinaux (Talhaoui *et al.*, 2015).

✚Domaine Alimentaire

Olea europaea L. est largement étudiée pour son utilisation alimentaire, avec ses fruits et son huile étant des composants essentiels de l'alimentation quotidienne de nombreuses populations à travers le monde (Farag *et al.*, 2007). Ces feuilles peuvent être utilisées comme ingrédients dans la formulation d'aliments pour les hyperglycémiques et stabilisant de l'huile de tournesol et de l'huile d'olive (Bouaziz *et al.*, 2008).

3. Généralités sur les radicaux libres

3.1. Définition :

Les radicaux libres sont des molécules ou fragments moléculaires possédant un ou plusieurs électrons non appariés dans leurs orbitales atomiques ou moléculaires, les rendant très réactifs et de courte durée de vie. Ils sont générés dans le corps humain lors de processus comme la génération d'ATP par les mitochondries (Ahmad, 2018). Ces radicaux se divisent en deux catégories principales : les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RNS). Bien qu'ils puissent stimuler le système immunitaire, une surproduction peut causer des dommages cellulaires, contribuant à diverses maladies, telles que les maladies auto-

immunes, cardiovasculaires, neurodégénératives et le cancer. Ils peuvent endommager les membranes cellulaires, les protéines et l'ADN, provoquant des lésions oxydatives et des mutations. Le corps dispose d'enzymes et d'antioxydants pour lutter contre ces dommages, mais un équilibre est essentiel pour maintenir la santé (Biswas *et al.*, 2017). Dans le tableau 2 figurent les principaux radicaux libres et leur structure chimique.

Tableau 2: Principaux radicaux libres et leur structure chimique (Haton, 2005).

Radical libres (nomenclature)	Structure chimique
Radical hydroxyle	HO•
Radical hydroperoxyde	HOO•
Radical peroxyde	ROO•
Radical alkoxyde	RO•
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Peroxynitrite	ONOO•
Anion superoxyde*	O ₂ •-

* Espèce réactive de l'oxygène, non radicalaire

3.2. Sources de radicaux libres

• Sources externes :

Les radicaux libres sont des composés organiques qui réagissent non enzymatiquement avec l'oxygène dans l'atmosphère. En outre, les réactions provoquées par les radiations ionisantes présentes dans l'environnement peuvent entraîner la production de radicaux libres. Parmi les sources externes de radicaux libres, on peut citer la fumée de cigarette, l'alcool, les radiations, l'ozone, la lumière ultraviolette, les pesticides, les anesthésiques, certains médicaments, les solvants industriels (Engwa, 2018).

• Sources endogènes :

Cela englobe les mécanismes présents dans les êtres vivants qui requièrent des réactions enzymatiques afin de produire des radicaux libérés. Les réactions impliquées dans la chaîne respiratoire, le cytochrome P450, la phagocytose et la production de prostaglandines sont particulièrement intéressantes. Des réactions dans les mitochondries, les phagocytes,

l'inflammation, les voies de l'arachidonate, etc. sont parmi ces sources endogènes de production de radicaux libres. En outre, les réactions avec le fer et d'autres métaux de transition, les peroxyosomes, la xanthine oxydase, etc. sont aussi des sources endogènes de radicaux libres (Engwa, 2018).

• **Sources physiologiques :**

La formation de radicaux libres est également causée par certains états ou processus physiologiques tels que le stress, les émotions, le vieillissement, etc., ainsi que par l'état mental et les maladies. À titre d'exemple, l'hyperglycémie joue un rôle essentiel dans la production de radicaux libres chez les patients atteints de diabète, en augmentant le flux de glucose par la voie des polyols, en augmentant la production de produits finaux de glycation avancée (AGE) et en activant leurs récepteurs, ainsi que en activant la protéine kinase. L'activation de la suractivité de la voie de l'hexosamine et la diminution de la défense antioxydante sont dus aux isoformes C (PKC) (Engwa, 2018).

3.3. Activités physiologiques des radicaux libres

À des concentrations faibles ou modérées, les radicaux libres remplissent diverses fonctions bénéfiques dans l'organisme. Ils contribuent à la synthèse de certaines structures cellulaires et sont mobilisés par le système immunitaire pour combattre les agents pathogènes. Les phagocytes, par exemple, stockent des radicaux libres afin de les libérer lorsqu'ils doivent éliminer les microbes envahisseurs. Cette importance des radicaux libres pour le système immunitaire est évidente chez les individus atteints de maladies granulomateuses, où l'incapacité à produire ces radicaux conduit à des infections persistantes. De plus, ils sont impliqués dans plusieurs voies de signalisation cellulaire, jouant un rôle de régulateurs dans différentes cellules. Par exemple, l'oxyde nitrique (NO), un radical libre, agit comme un messager cellulaire crucial pour le flux sanguin, la thrombose, l'activité neuronale normale, et la défense contre les agents pathogènes et les cellules tumorales (Pizzino et *al.*, 2017).

4. Stress oxydatif

4.1. Définition

Le stress oxydatif survient lorsqu'il y a un déséquilibre entre les pro-oxydants (radicaux libres) et les antioxydants dans le corps. Ce déséquilibre entraîne la production de radicaux libres et d'oxydants, qui initient des processus d'oxydation. Les radicaux libres, caractérisés par des électrons non appariés, alimentent le processus d'oxydation dans le corps, provoquant ainsi

un stress oxydatif. Bien que l'oxydation puisse avoir des effets à la fois nocifs et bénéfiques, un excès de radicaux libres, non compensé par des antioxydants, peut ouvrir la voie à des processus nocifs, causant des dommages à l'ADN, aux lipides et aux protéines (Çalışkan et al., 2021).

4.2. Maladies liées au stress oxydatif

Les concentrations élevées en espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent être des médiateurs importants de dommages aux structures cellulaires, aux acides nucléiques, aux lipides et aux protéines. Le stress oxydant est identifié comme la principale cause initiale de diverses maladies, notamment le cancer, le syndrome de détresse respiratoire aiguë, l'œdème pulmonaire et le vieillissement prématuré. De plus, il agit comme un facteur potentiel contribuant à l'apparition de maladies multifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Figure 4) (Tan et al., 2018). En effet, Des recherches suggèrent que des niveaux élevés de radicaux libres et une altération des activités antioxydantes peuvent contribuer aux maladies liées au vieillissement (Rahman, 2007).

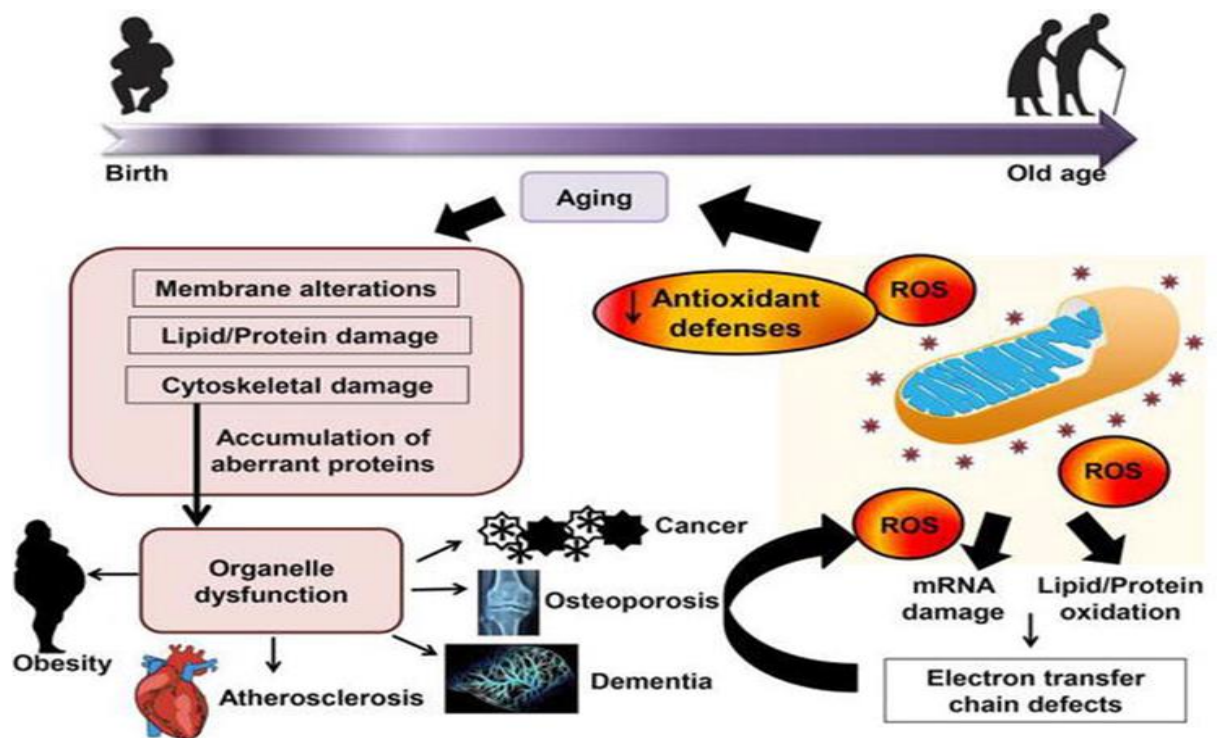


Figure 4 : Implication du stress oxydatif dans l'apparition de certaines maladies (Çalışkan et al., 2021).

5. Les Antioxydants

5.1. Définition

Le terme « antioxydant » désigne toute substance capable de stabiliser ou d'éliminer les radicaux libres avant qu'ils ne puissent endommager les cellules. Les humains ont développé des systèmes antioxydants complexes, à la fois enzymatiques et non-enzymatiques, qui agissent en synergie pour protéger les cellules et les organes des dommages causés par les radicaux libres. Les antioxydants peuvent être produits naturellement par le corps ou obtenus à partir de l'alimentation ou de compléments alimentaires. Ils doivent être capables d'absorber efficacement les radicaux libres, de chélater les métaux oxydants et de réguler l'expression génique (Rahman, 2007).

Les antioxydants endogènes sont essentiels pour maintenir la santé cellulaire, mais en cas de stress oxydatif, des antioxydants exogènes peuvent être nécessaires. Les antioxydants enzymatiques comme la glutathion peroxydase, la catalase et la superoxyde dismutase, ainsi que les antioxydants non-enzymatiques tels que les vitamines E et C, les flavonoïdes et d'autres composés, jouent un rôle crucial dans la protection contre le stress oxydatif. Certains antioxydants peuvent même régénérer les propriétés d'autres antioxydants, formant ainsi un réseau antioxydant (Rahman, 2007).

5.2. Types :

5.2.1. Antioxydants enzymatiques

Il existe plusieurs enzymes qui catalysent les réactions pour neutraliser les radicaux libres et les ROS. Ces enzymes forment les mécanismes de défense endogènes de l'organisme contre les radicaux libres pour protéger la cellule (Aziz et *al.*, 2019).

5.2.1.1. La glutathion peroxydase

Existe sous deux formes, l'une dépendante du sélénium et l'autre indépendante du sélénium, qui diffèrent par leur mécanisme catalytique et la présence de sélénium au centre actif. Cette enzyme agit en association avec le glutathion, convertissant les peroxydes en eau ou en alcool tout en oxydant le glutathion (Rahman, 2007).

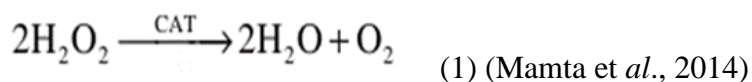
5.2.1.2. Superoxyde dismutase (SOD)

Il s'agit d'un des antioxydants les plus performants à l'intérieur des cellules et il favorise la conversion des anions superoxydes en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène. Il existe différentes isoformes de la superoxyde dismutase, qui varient en fonction de la nature du centre métallique actif, de la composition en acides aminés, des cofacteurs et d'autres informations.

Chez l'homme, on retrouve trois types de SOD : le Cu cytosolique, la Zn-SOD, la Mn-SOD mitochondriale et la SOD extracellulaire. En neutralisant les ions superoxydes, la superoxyde dismutase effectue des cycles d'oxydation et de réduction des ions de métaux de transition sur son site actif. Deux sous-unités identiques sont présentes dans le Cu, Zn-SOD, avec un poids moléculaire de 32 kDa. Chacune des sous-unités contient un amas métallique dinucléaire composé d'ions cuivre et zinc, qui catalyse principalement la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène et en eau. L'homotétramère Mn-SOD mitochondriale, d'un poids moléculaire de 96 kDa, est composé d'un atome de manganèse par sous-unité. Il se déplace du Mn (III) au Mn (II), puis revient au Mn (III) lors de la dismutation en deux étapes du superoxyde. Le cuivre et le zinc constituent la superoxyde dismutase extracellulaire, une glycoprotéine sécrétaire tétramère très affine pour certains glycosaminoglycanes (héparine, sulfate d'héparine), mais sa régulation dans les tissus des mammifères se fait principalement par des cytokines, plutôt que comme une réponse au stress oxydatif (Rahman, 2007).

5.2.1.3. Catalase

La catalase est une enzyme commune chez pratiquement tous les êtres vivants exposés à l'oxygène, où elle catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (réaction chimique 1). La transformation rapide du peroxyde d'hydrogène en d'autres substances moins dangereuses est nécessaire pour prévenir tout dommage, car il est un sous-produit nocif de nombreux processus métaboliques normaux. Dans cette optique, les cellules utilisent souvent la catalase afin de catalyser rapidement la décomposition du peroxyde d'hydrogène en molécules gazeuses d'oxygène et d'eau moins réactives. La catalase est utilisée par tous les animaux connus dans tous les organes, avec des concentrations particulièrement élevées dans le foie (Lobo et *al.*, 2010).



5.2.2. Antioxydants non enzymatiques

Au fil des dernières décennies, de plus en plus de données ont démontré que les antioxydants riches dans notre alimentation jouent un rôle essentiel dans notre système de défense antioxydant en prévenant le stress oxydatif et certaines affections humaines. L'une des catégories de facteurs alimentaires, les composés phytochimiques, sont les composés dérivés des plantes, qui jouent un rôle crucial dans les fonctions de l'organisme. Les aliments renferment plusieurs substances naturelles qui pourraient avoir des propriétés antioxydantes en raison de la présence de groupes hydroxyles dans leur composition (Aziz et *al.*, 2019).

5.2.2.1. Vitamine E

L'ensemble de huit tocophérols et tocotriénols apparentés, appelés vitamines E, sont des vitamines liposolubles ayant des propriétés antioxydantes. Parmi celles-ci, on a principalement étudié l' α -tocophérol en raison de sa biodisponibilité élevée, ce qui signifie que le corps préfère absorber et métaboliser cette forme. On a dit que la forme α -tocophérol est le principal antioxydant liposoluble et qu'elle préserve les membranes de l'oxydation en réagissant avec les radicaux lipidiques produits dans la réaction en chaîne de peroxydation lipidique. Cela supprime les agents radicaux libres et empêche la propagation de la réaction. Des radicaux α -tocophéroxyde oxydés sont produits lors de cette réaction, ce qui permet de les recycler sous la forme active réduite par réduction par d'autres antioxydants, comme l'ascorbate et le rétinol ou l'ubiquinol (Lobo et *al.*, 2010).

5.2.2.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments lipophiles qui donnent à de nombreux fruits et légumes, crustacés, certains poissons et jaunes d'œufs l'agréable teinte jaune, orange ou rouge. Les plantes, les algues, les champignons et les bactéries les produisent par biosynthèse, mais chez certaines espèces animales, ils sont simplement accumulés à partir de l'alimentation, sans modification ou légèrement modifiés (Rodriguez-Amaya, 2015).

En tant que pigments captant la lumière et protégeant les molécules de la formation d'oxygène singulet, ils ont un rôle essentiel dans la photosynthèse. On peut classer les caroténoïdes en deux groupes en fonction de leurs groupes fonctionnels. Les xanthophylles, dont le groupe fonctionnel est l'oxygène, composés de lutéine, de zéaxanthine et de β -cryptoxanthine, sont les premiers. Le carotène, quant à lui, ne présente qu'une chaîne hydrocarbonée sans aucun groupe fonctionnel. L' α -carotène, le β -carotène et le lycopène font partie de ce groupe (Davis et *al.*, 2019).

Les caroténoïdes jouent un rôle actif en tant qu'antioxydants, et les aliments fonctionnels fabriqués à partir de ces éléments sont bénéfiques pour prévenir les maladies cardiovasculaires et les cancers (Bultosa, 2015).

L'activité antioxydante des caroténoïdes réside dans leur présence de doubles liaisons conjuguées, ce qui leur permet de déplacer les électrons non appariés. Cela explique aussi la capacité des caroténoïdes à éteindre physiquement l'oxygène singulet sans subir de dégradation, ainsi que la réactivité chimique des caroténoïdes avec les radicaux libres. Le niveau d'énergie triplet le plus bas des caroténoïdes est lié au nombre de doubles liaisons conjuguées présentes dans la molécule, ce qui explique leur efficacité pour l'extinction physique. Ils ont également la

capacité de capturer les radicaux peroxy, ce qui prévient les dommages dans les zones lipophiles. Cependant, le caroténoïde β -carotène peut également jouer un rôle de pro-oxydant, ce qui entraîne une augmentation de la peroxydation lipidique. La pression partielle d'oxygène et les concentrations de caroténoïdes jouent également un rôle crucial dans leur efficacité en tant qu'antioxydants. À faible pression partielle d'oxygène, les caroténoïdes, notamment le β -carotène, ont des propriétés antioxydantes, mais deviennent pro-oxydants à haute pression d'oxygène. De plus, à des concentrations élevées de caroténoïdes, un comportement pro-oxydant se manifeste (Rahman, 2007).

5.2.2.3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules organiques complexes présentes dans toutes les parties des végétaux supérieurs (Macheix et *al.*, 2005). Les composés phénoliques forment une grande catégorie de métabolites secondaires végétaux, avec une variété de structures, allant des structures relativement simples, comme les acides phénoliques, aux polyphénols comme les flavonoïdes, qui regroupent plusieurs groupes, jusqu'aux composés polymères basés sur ces différentes classes (Cheynier, 2012).

Du point de vue chimique, ils ont au moins un cycle aromatique contenant un ou plusieurs groupes hydroxyle et peuvent être divisés en phénols simples et polyphénols en fonction du nombre d'unités phénol présentes dans la molécule (Roleira et *al.*, 2018). Par ailleurs, on a proposé que le terme « polyphénol » devrait être réservé aux structures avec au moins deux fragments phénoliques, peu importe le nombre de groupes hydroxyles que chacun renferme et dépourvues de groupes fonctionnels à base d'azote dans leur structure de base (Bié et *al.*, 2023). En résumé, la composition chimique des composés phénoliques (lignanes, stilbènes, acides phénoliques, flavonoïdes, tanins...) comprend un ou plusieurs groupes hydroxyles qui possèdent au moins un cycle aromatique (Zhang et *al.*, 2022).

Les composés phénoliques sont essentiellement des éléments constitutifs des parois cellulaires, et la majorité d'entre eux sont des toxines et des antialiments de défense des plantes, des colorants des fleurs et des fruits, des antioxydants de l'écorce et des graines. En réalité, ils sont essentiels dans les mécanismes de protection des plantes contre les virus, les bactéries, les champignons et les herbivores (Bié et *al.*, 2023).

L'incidence de certains problèmes de santé (diabète, obésité, cancer, maladies cardiovasculaires...) est inversement liée à un régime alimentaire riche en légumes et en fruits. Il est possible que cela soit dû à la présence de certains composés phénoliques antioxydants présents dans les légumes et les fruits, qui pourraient avoir des effets bénéfiques sur la santé en

capturant et en neutralisant les effets néfastes des ERO qui sont partiellement responsables de l'apparition de certaines maladies (De la Rosa *et al.*, 2019). Autrement dit, certains composés phénoliques ont une action antioxydante et contribuent donc à prévenir l'apparition de maladies liées au stress oxydatif (Zhang *et al.*, 2022).

Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans l'alimentation humaine et sont répandus dans les fruits, les légumes, les céréales, les olives, les légumineuses sèches, le chocolat et les boissons telles que le thé, le café (Bié *et al.*, 2023).

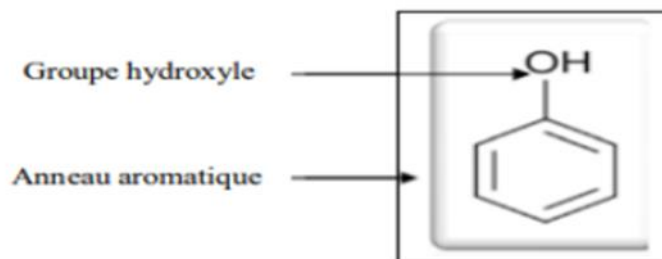


Figure 5: Structure de base des composés phénoliques (Yousfi *et al.*, 2017).

5.2.2.3.1. Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes, également appelés bioflavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes vasculaires, partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C6-C3-C6, formant souvent un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal. Naturellement présents dans de nombreuses plantes telles que la passiflore, l'aubépine, la reine des prés et le cassis, les flavonoïdes sont responsables des teintes brunes, rouges et bleues des fleurs et des fruits (Amiour *et al.*, 2014).

Les flavonoïdes sont classés en plusieurs sous-classes en fonction de leur structure. Ils sont largement présents dans notre alimentation quotidienne à travers les fruits, les légumes et des boissons comme le thé. Leur diversité structurale leur confère une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, anti-inflammatoires et antitumorales (Figure 6) (Amiour *et al.*, 2014).

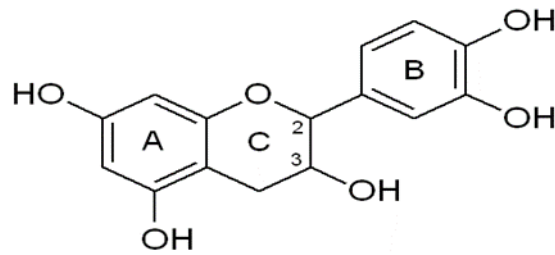


Figure 6: Structure de base des flavonoïdes (Amiour et *al.*, 2014).

Les propriétés antioxydantes et chélatrices des flavonoïdes suscitent un vif intérêt, ainsi que leur potentiel pour prévenir les maladies chroniques et liées à l'âge. La principale activité des flavonoïdes est de prévenir le stress oxydatif. De cette manière, les flavonoïdes ont la capacité de capturer les radicaux peroxydes et sont des inhibiteurs efficaces de la peroxydation lipidique. De plus, ils peuvent chélater les métaux à activité redox, ce qui empêche la dégradation catalytique du peroxyde d'hydrogène. Or, sous certaines conditions, les flavonoïdes peuvent aussi avoir une activité pro-oxydante, qui serait directement liée au nombre total de groupes hydroxyles, et il a également été signalé qu'ils influencent la signalisation cellulaire (Rahman, 2007). Autrement dit, l'action protectrice des flavonoïdes peut être expliquée par leur aptitude à chélater des ions métalliques, à transporter des électrons vers des radicaux libres, à contrer les oxydases et à activer des enzymes antioxydantes (Alzand and Mohamed, 2012).

5.2.2.3.2. Tanins

Les tanins sont des molécules de poids moléculaire assez élevé, qui forment le troisième groupe prépondérant des composés phénoliques et peuvent être séparés en tanins condensés et hydrolysables. Les tanins condensés sont fabriqués en polymérisant les flavonoïdes. Les principaux tanins condensés étudiés sont composés de flavan-3-ols : (-) -épicatéchine et (+) -catéchine. Les tanins hydrolysables sont une variété de polymères composés d'acides phénoliques, tels que l'acide gallique (acide 3,4,5 trihydroxyl benzoïque) et du sucre simple (Aziz et *al.*, 2019).

En raison des caractéristiques des tanins, telles qu'ils sont des chélateurs potentiels d'ions métalliques, des agents précipitant les protéines et des antioxydants biologiques, les tanins ont des effets différents sur les systèmes biologiques (Aziz et *al.*, 2019). En effet, les tanins ont la capacité de capturer des radicaux libres en leur fournissant des électrons, ce qui favorise la création de structures radicalaires plus stables et moins néfastes. Les mécanismes de base de l'effet antioxydant des tanins sont le piégeage de radicaux libres, l'inhibition d'enzymes pro-oxydantes et la chélation de métaux de transition. En résumé, les tanins peuvent avoir une

influence significative sur les processus de défense antioxydante. Par ailleurs, il convient de souligner que l'activité anti-radicalaire des tanins à base d'acide gallique est plus importante. La taille et le nombre de groupes hydroxyles influencent également cette activité, car elle augmente des monomères aux trimères, puis diminue, et elle augmente également avec l'augmentation du nombre de groupes hydroxyles (Macáková et al., 2014).

5.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Dans des conditions physiologiques normales, il existe un équilibre entre la production de radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants internes, comprenant des enzymes comme la catalase, la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase, ainsi que des vitamines telles que A, E et C, et des polyphénols provenant de l'alimentation et des plantes. La SOD, par exemple, joue un rôle crucial en convertissant l'ion superoxyde (O_2^-) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui est ensuite neutralisé en eau (H_2O) et en dioxygène (O_2) par d'autres enzymes comme la catalase (Méda, 2005).

Les antioxydants agissent préventivement en bloquant l'initiation des réactions d'oxydation, en réagissant avec l'oxygène ou en contrant les effets de la lumière et des radiations. Ils peuvent également agir en tant qu'agents de terminaison en neutralisant les radicaux libres et en les transformant en composés plus stables. Les antioxydants avec des structures aromatiques, comme les composés phénoliques, sont particulièrement efficaces car ils peuvent donner un hydrogène radicalaire ($H\bullet$) pour neutraliser les radicaux libres (Özer et al, 2007). Le β -carotène, présent dans de nombreux fruits et légumes, possède des propriétés antioxydantes et peut être transformé en vitamine A dans l'organisme (Vansant, 2004).

Partie expérimentale

Chapitre II

Matériel et

Méthodes

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de Biochimie, Département de Biologie, Faculté SNV-ST (Université de Bouira), Les objectifs de notre étude s'articulent autour des points suivants :

- ✓ Identifier les composés bioactifs présents dans les extraits de feuilles d'olivier
- ✓ Evaluer l'activité antioxydante des extraits de feuilles *d'Olea europaea*

1. Matériel

1.1. Matériel non biologique

Les produits chimiques, les appareils ainsi que la verrerie utilisée au cours de nos expériences au niveau des deux laboratoires sont indiqués dans l'Annexe 1.

1.2. Matériel végétale

Le matériel végétale exploité durant notre étude correspond aux feuilles *d'Olea europaea*

1.2.1. Collection des échantillons

Le matériel végétal utilisé dans notre étude (feuille d'olivier) est récolté de la région d'Ahnif (wilaya de Bouira) au mois de janvier 2024.



Figure 7: la partie aérienne d'*Olea europaea* (Photo originale).

1.2.2. Préparation de la plante

1.2.2.1. Séchage

Après la récolte les feuilles d'olivier sont nettoyées à l'eau pour enlever la poussière puis étalées et séchées sur un filet à l'air libre (à l'abri du soleil) et à température ambiante dans un endroit sec, ventilé et ombragé.

1.2.2. 2. Broyage et tamisage

Les feuilles sèches sont réduites en poudre très fine à l'aide d'un broyeur électrique. Une fois broyées, la poudre obtenue est tamisée à l'aide d'un tamis et conservées dans un flacon en verre hermétiquement fermés dans un endroit sec jusqu'à utilisation (diamètre du matériel végétale: 200 mm x 50 mm)



Figure 8 : poudre de feuilles d'*Olea europaea* (photo originale).

2. Méthodes

2.1. Extraction des composés phénoliques

✚ Extraction par Macération

Dans cette étude, La méthode d'extraction par macération a été réalisée selon la technique décrite par Atmani et *al.*, (2009), avec quelques modifications. Le processus de macération consiste à laisser la matière végétale en poudre rester dans Contact prolongé avec des solvants. Cela permet d'extraire les principes actifs à température ambiante, ce qui est bénéfique pour la conservation des substances sensibles à la chaleur (Bouchouka, 2016).

La méthode d'extraction par macération a été réalisée de la manière suivante : 150 g de poudre d'échantillons ont été macérés à température ambiante (température du laboratoire)

pendant 24 heures dans 1500 ml d'éthanol pur, sur une plaque agitatrice, afin d'extraire les principes actifs. Le macérat obtenu a été transféré dans une éprouvette et laissé reposer pendant 24 heures à température ambiante (décantation). La phase aqueuse de l'extrait a ensuite été séchée dans des boîtes de Pétri en verre, dans une étuve à 38°C, afin d'éliminer le solvant, puis lyophilisée. Les résidus (extraits secs) obtenus ont été conservés à 4°C.

L'extraction s'est poursuivie en utilisant trois solvants différents : chloroforme/eau, acétate d'éthyle/eau et hexane/eau. Pour cela, dans un bécher, 5 g d'extrait sec éthanolique, 15 ml de chloroforme et 5 ml d'eau distillée ont été mélangés dans un rapport (P/3 V/V). Le mélange a été remué avec une spatule en verre pendant 15 minutes, puis le bécher a été couvert d'aluminium et de parafilm, et le mélange a été laissé reposer pendant 24 heures (décantation) à température ambiante. Les mêmes étapes ont été suivies pour les extractions avec l'hexane/eau et l'acétate d'éthyle/eau.

Après repos, deux phases se sont formées pour chaque solvant : une phase organique et une phase aqueuse. Les différentes fractions de chaque solvant ont été collectées dans des boîtes de Pétri, puis laissées sécher dans la hotte chimique jusqu'à atteindre un poids constant. Les extraits secs obtenus ont été conservés à basse température (4°C) et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

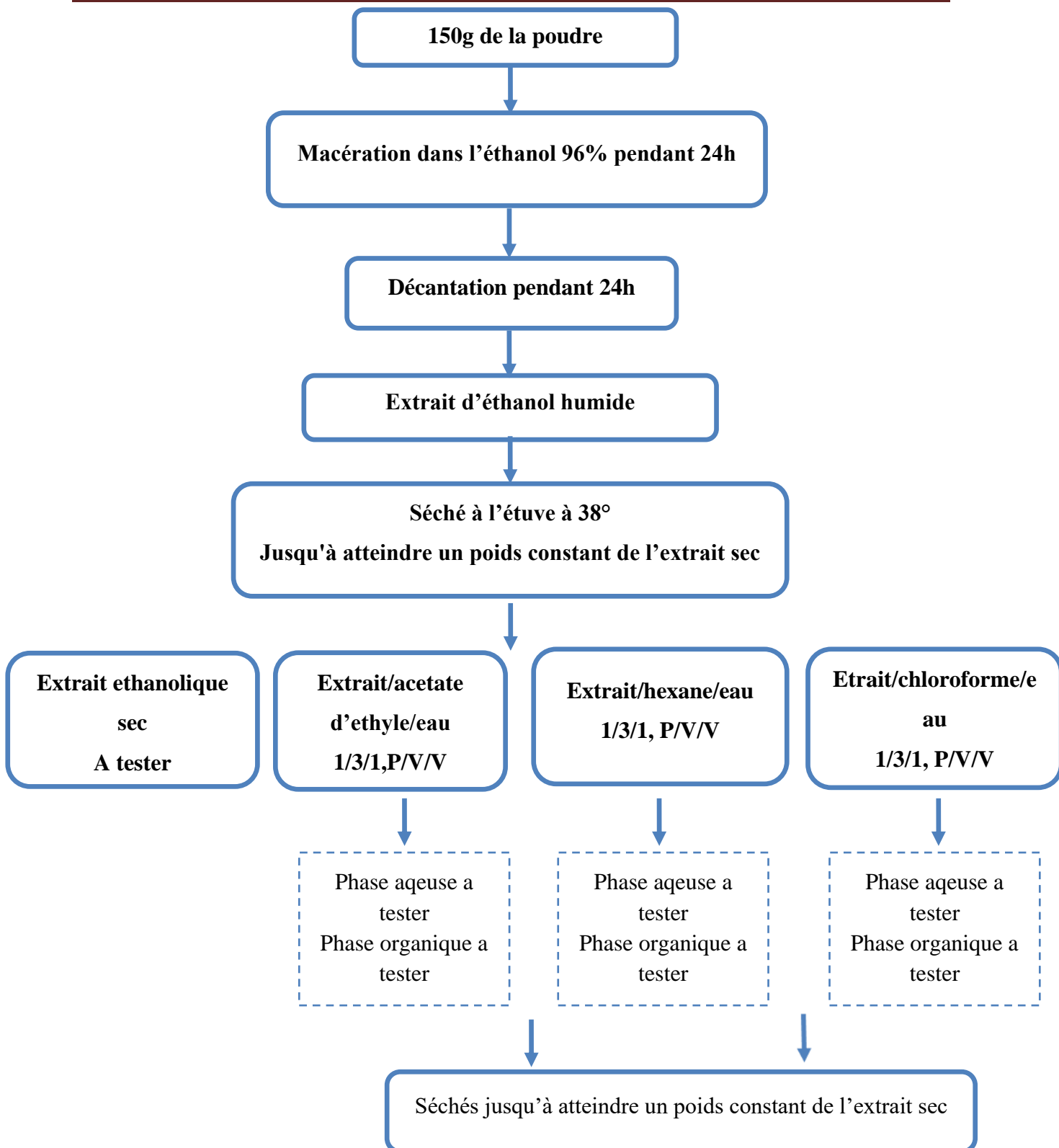


Figure 9 : Schéma général d'extraction par Macération des feuilles d'olivier, décrite par Atmani et al., (2009), avec quelques modifications.

2.2. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction est calculé selon la formule suivante :

Où :

$$R (\%) = (X / Y) \times 100$$

- X = poids après évaporation du solvant – poids vide du creuset
- Y = poids de la poudre ou de l'extrait de départ.

2.3. Dosage des composés phénoliques

2.3.1. Dosage des phénols totaux.

Principe

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits végétaux étudiés a été réalisé selon la méthode Folin- Cioclaeu décrite par Hismath et *al.*, (2011). Le réactif Folin- Cioclaeu constitué d'acide phosphotungstique (H₃PO₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀) est jaune, et lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Cioclaeu en un complexe bleu composé d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle au niveau de composés phénoliques oxydés (Lapornik et *al.*, 2005).

Protocole expérimental

Pour chaque extrait dilué dans de l'eau distillée (1 mg/ml), 0,3 ml est mélangé avec 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (3 ml de réactif dans 27 ml d'eau distillée). Ensuite, 1,2 ml de Na₂CO₃ à 7,5 % (7,5 g de carbonate de sodium dans 100 ml d'eau distillée) est ajouté. Le mélange est homogénéisé pendant 10 secondes puis incubé pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm avec un spectrophotomètre UV/VIS contre un blanc (identique au mélange sauf que l'extrait est remplacé par de l'eau distillée). Les mesures sont effectuées en triplicata, et les valeurs moyennes sont calculées.

Ce dosage est réalisé en parallèle avec l'acide gallique, utilisé comme témoin positif, dans les mêmes conditions opératoires avec des concentrations allant de 20, 40, 60, 80 à 100 µg/ml. Une courbe d'étalonnage de l'acide gallique est tracée sont indiqués dans l'Annexe 2 (Figure A1), et les résultats obtenus pour chaque extrait sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

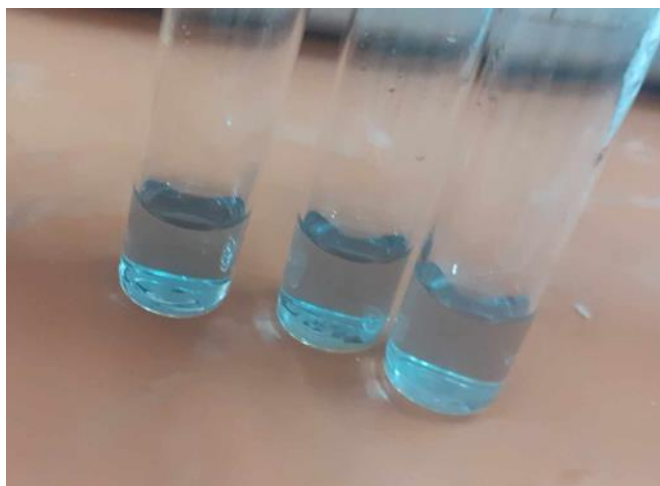


Figure 10 : apparition d'une couleur bleue révélant la présence de phénols totaux (Photo originale).

2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Principe

La méthode utilisée pour estimer les taux en flavonoïdes, est celle décrite par (Abdou Bouba *et al.*, 2010) avec quelques modifications. Cette méthode est basée sur le dosage direct à l'aide du chlorure de l'aluminium. Effectivement, les flavonoïdes présentent un groupement hydroxyle libre en position 5 qui peut former un complexe jaunâtre en présence de chlorure d'aluminium par chélation de l'ion Al^{3+} . La présence d'une teinte jaune est liée à la quantité de flavonoïdes dans l'extrait (Ribéreau-Gayon, 1968).

- **Préparation la solution $AlCl_3$:**

Dans un flacon, 10ml de méthanol est mélangé avec 200mg de réactif chlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

- **Préparation de la solution d'extrait**

Dans un autre flacon, mélanger 2,5 mg d'extrait avec 10 ml de méthanol et agiter bien la solution pour l'homogénéiser.

- **Préparation de la solution à tester**

Ajouter 1 ml de solution d'extrait à 1 ml de solution de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2%, puis agiter vigoureusement le mélange. Après incubation pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, mesurer l'absorbance à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Utiliser cette méthode pour les différents extraits analysés (éthanolique, acétate d'éthyle, hexane et chloroforme). Toutes les opérations sont réalisées en duplicata.

Une courbe d'étalonnage ($y = ax + b$) établie par la quercétine, réalisée dans les mêmes Conditions opératoires que les échantillons (à des concentrations croissantes allant de 20 ;40 ;60 ;80 jusqu'à 100 ug/ml), servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par un gramme d'extrait de feuilles (mg EQ/g d'extrait).



Figure 11 : apparition d'une couleur jaune révélant la présence de flavonoïdes (Photo originale).

2.4. Activités antioxydantes des extraits phénoliques des feuilles *d'Olea europaea*

2.4.1. Test de piégeage par le cation radicalaire ABTS^{•+}

✚ Principe

Le test ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) évalue la capacité d'un antioxydant à stabiliser le cation (radical) ABTS^{•+} bleu-vert en le convertissant en ABTS⁺ incolore, grâce au piégeage de protons par un antioxydant en présence de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) (Chen et *al.*, 1997). La décoloration de la solution permet de mesurer l'activité antioxydante, qui se manifeste par le pourcentage d'inhibition (PI) de l'absorbance à 734 nm, une longueur d'onde où le radical ABTS^{•+} présente une bande d'absorption spécifique (Sarr et *al.*, 2015).

✚ Mode opératoire

Le test de piégeage du radical ABTS^{•+} a été réalisé en suivant la méthode décrite par Re et *al.*, (1999), avec quelques modifications.

La solution mère d'ABTS est préparée en dissolvant 72 mg d'ABTS et 13,24 mg de persulfate de potassium dans 20 ml d'eau distillée. Le mélange est incubé pendant 16 heures à l'obscurité et à température ambiante. Ensuite, 1,5 ml de cette solution mère d'ABTS⁺ est diluée avec de l'eau distillée pour obtenir une absorbance entre 0,68 et 0,72 à 734 nm.

Pour évaluer l'activité antioxydante, 1,9 ml de la solution diluée d'ABTS⁺ est mélangée à 0,6 ml de chaque solution d'extrait (1 mg d'extrait dans 10 ml de méthanol).

Après 7 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 734 nm contre un blanc (méthanol). Un blanc général (contrôle) est préparé en remplaçant la solution d'extrait par du méthanol (1,9 ml de solution d'ABTS⁺ diluée dans 0,6 ml de méthanol), et son absorbance est mesurée à 734 nm après 7 minutes d'incubation à température ambiante. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

✚ Expression des résultats

La capacité à piéger le radical ABTS⁺ est calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{ABTS (\%)} = ((A_c - A_{ech}) / A_c) \times 100$$

- *A_{ech}* : absorbance de l'échantillon
- *A_c* : absorbance du contrôle

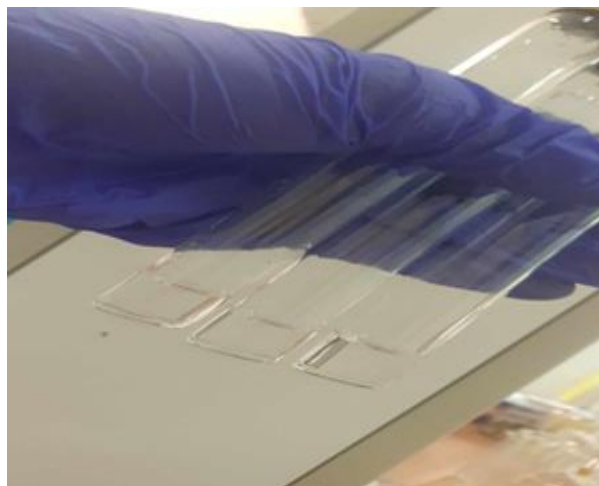


Figure12 : décoloration de la solution ABTS radicalaire (extrait aqueux du chloroforme ; photo originale).

2.4.2. Évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH

- Principe

La mesure de l'activité anti-radicalaire des différents extraits a été testée selon la méthode de Hemalatha et *al.*, (2010). Dans cette méthode, les radicaux libres du diphényl-picrylhydrazyle (DPPH) sont capturés en solution dans le méthanol. Le produit chimique 2,2-diphényl-1-trinitrophénylhydrazine est un radical libre violet qui absorbe la lumière UV-visible à une longueur d'onde de 517 nm (Wootton et *al.*, 2011). L'ajout d'antioxydants aux solutions DPPH provoque une décoloration et réduit Le radical libre DPPH•, de couleur violette, se transforme en composé jaune DPPH-H (diphényltrinitrylhydrazine) dont l'intensité est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Le changement de couleur de la solution s'exprime par une diminution de l'absorbance, représentant la capacité de l'extrait à piéger ces radicaux libres (Sanchez-Moreno, 2002 ; Boubekri, 2014).

- **Mode opératoire**

- 1. Préparation de la solution de DPPH :**

- Dissoudre 3,94 mg de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) dans 100 ml de méthanol (CH₃OH) pour obtenir une solution de DPPH.
- Mesurer l'absorbance de cette solution à une longueur d'onde de 517 nm.

- 2. Préparation du blanc général (contrôle) :**

- Ajouter 3 ml de méthanol à 1 ml de la solution méthanolique de DPPH fraîchement préparée.
- Homogénéiser le mélange pendant 10 secondes.
- Après une incubation de 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, mesurer l'absorbance à 517 nm (répéter pour 3 tubes).

- 3. Préparation de la solution d'extrait :**

- Dissoudre 2 mg de chaque extrait dans 20 ml de méthanol.

- 4. Préparation du blanc d'extrait :**

- Ajouter 3 ml de solution de chaque extrait à 1 ml de méthanol.
- Homogénéiser pendant 10 secondes.
- Après une incubation de 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, mesurer l'absorbance à 517 nm (répéter pour 3 tubes pour chaque extrait).

- 5. Préparation de la solution à tester :**

- Ajouter 3 ml de solution de chaque extrait à 1 ml de la solution méthanolique de DPPH.
- Homogénéiser le mélange pendant 10 secondes.
- Après une incubation de 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, mesurer l'absorbance à 517 nm (répéter pour 3 tubes pour chaque extrait).

Le blanc utilisé pour cette méthode est le méthanol.

Toutes les mesures sont effectuées en triplicata, et les résultats sont moyennés pour obtenir des valeurs représentatives.



Figure13: décoloration de la solution DPPH radicalaire (extrait aqueux de l'hexane ; photo originale).

6. Calcul du pourcentage d'inhibition :

L'estimation de l'activité antioxydante des extraits est exprimée en pourcentage d'inhibition selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{\text{Abs controle} - \text{Abs echantillon}}{\text{Abs controle}} \times 100$$

Où :

- **Abs contrôle** : Absorbance du milieu réactionnel (solution méthanolique de DPPH sans l'échantillon).
- **Abs échantillon** : Absorbance en présence des extraits phénoliques.

Chapitre III

Résultats et

Discussion

1. Résultats et discussion

1.1. Rendement d'extraction

Le rendement (l'extrait sec) d'extrait phénolique obtenu après évaporation de L'éthanol, a été déterminé par rapport à 150 g de la matière végétale (poudre de feuilles sèches).

Le rendement des extraits phénolique obtenu après évaporation des solvants : Chloroforme, Hexane et Acétate d'éthyle, a été déterminé par rapport à 5 g de l'extrait éthanolique sec. Les résultats de rendement d'extraction ont été exprimés en pourcentage ils sont présentés dans la (figure 14).

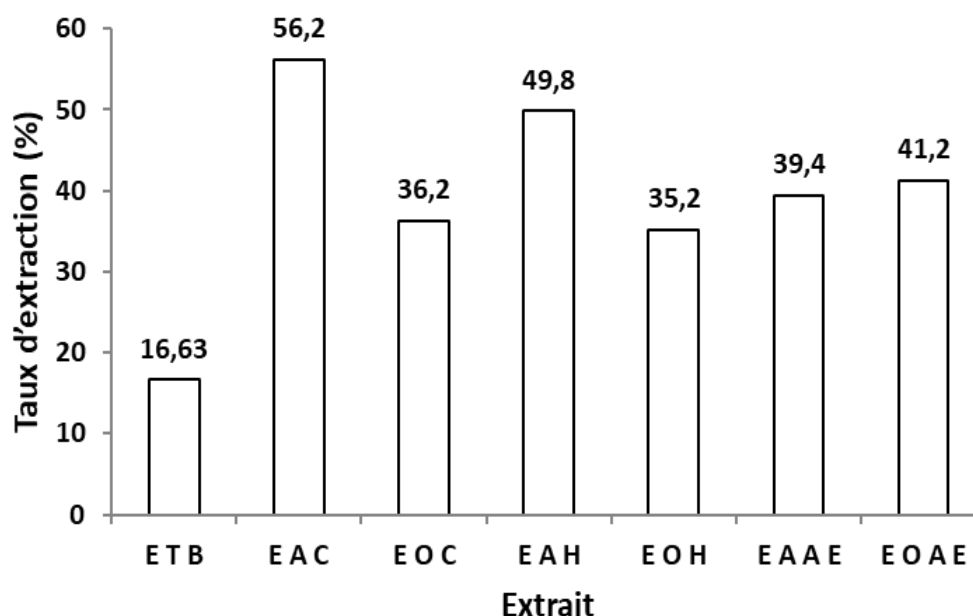


Figure 14 : Graphique montrant la variation du taux d'extraction en fonction de l'extrait des feuilles de l'olivier.

Avec : E T B : Extrait éthanolique brut ; E A C : Extrait aqueux du chloroforme ; E O C : Extrait organique du chloroforme ; E A H : Extrait aqueux de l'hexane ; E O H : Extrait organique de l'hexane ; E A A E : Extrait aqueux d'acétate d'éthyle et E O A E : Extrait organique d'acétate d'éthyle.

En général, on extrait les composés bioactifs du matériel végétal à l'aide d'un solvant unique ou d'un mélange de deux solvants. L'eau, l'éthanol et le méthanol sont les solvants les plus utilisés, ainsi que des mélanges binaires d'eau et d'alcools, dans des proportions variables. C'est apparu comme une méthode efficace pour extraire les polyphénols d'espèces végétales,

notamment les formes aglycones hautement hydroxylées de composés phénoliques, qui sont très solubles dans les solvants mentionnés précédemment. Toutefois, les polyphénols constituent un ensemble de composés avec une grande variété de groupes fonctionnels et, comme tels, les terpènes phénoliques, les aglycones flavonoïdes et les acides phénoliques, ainsi que d'autres formes d'aglycones hautement méthoxylées, nécessitent des solvants moins polaires, comme l'hexane et l'acétate d'éthyle (Palaiogiannis et al., 2023).

La polarité du solvant d'extraction est essentielle pour extraire des composés photochimiques actifs, car un solvant polaire devrait permettre l'extraction de molécules polaires. Alors qu'un solvant non polaire devrait permettre l'extraction de molécules non polaires. On retrouve des solvants très polaires (alcool absolu, eau), des solvants moyennement polaires (acétate d'éthyle) et des solvants assez non-polaires (chloroforme et hexane) (Das and Chandra, 2012).

D'après les résultats obtenus et qui sont résumés dans la figure ci-dessus, nous remarquons une variabilité des rendements entre les différents extraits des feuilles d'*Olea europaea*. Les pourcentages sont variés entre 16,63% et 56,2%. Le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait de chloroforme aqueux avec un pourcentage de 56,2%, tandis que le plus faible est celui de l'extrait de l'éthanol avec un pourcentage de 16,63%. En plus, les taux d'extraction correspondant aux extraits organiques du chloroforme et de l'hexane sont plus faibles que ceux correspondant aux extraits aqueux de chloroforme et de l'hexane, tandis que l'extrait de l'acétate d'éthyle organique est légèrement élevé que l'extrait aqueux de l'acétate d'éthyle (figure 14). Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques polaires, tels que des polyphénols riches en groupes hydroxyles (–OH). La composition chimique des extraits variait considérablement en fonction de la polarité des solvants utilisés, ce qui pourrait être dû à l'abondance de molécules polaires présentes dans différents extraits de feuilles d'olivier (Khelouf et al., 2023).

Guissois et al. (2023) ont rapporté qu'en utilisant des feuilles d'olivier de cultivars différents d'*Olea europaea*, le rendement des extraits frais d'éthanol (70 %) était varié entre 14,60 % à 36,45 %. Ces résultats sont relativement inférieurs avec ceux obtenus par la présente étude.

Selon Khelouf et al. (2023) le rendement de l'extrait éthanolique et aqueux, l'extrait de

D'acétate d'éthyle et l'extrait de l'hexane de feuilles d'*Olea europaea* de différentes variétés donne un résultat qui varie de 1,13 à 26,61 %. Ces rendements sont faibles par rapport à notre rendement.

Dans l'étude de nos collègues qui ont travaillé sur la même espèce « les feuilles d'*Olea europaea* », mais provenant d'une région différente, à savoir Bejaia, elles ont obtenu un taux d'extraction très élevé pour l'extrait éthanolique brut (42,44%), mais des taux relativement bas et constants pour les extraits organique et ceux du chloroforme, d'hexane d'acétate d'éthyle varient entre (7 et 13,6%). Leur résultat de l'extrait éthanolique brut est supérieur au résultat que nous avons obtenu pour l'extrait éthanolique brute, mais leur résultat pour les extraits organique et ceux du chloroforme, d'hexane d'acétate d'éthyle sont inférieurs à nos résultats pour les extraits organique et ceux du chloroforme, d'hexane d'acétate d'éthyle.

Le rendement était généralement influencé par divers éléments, tels que la taille des particules du matériau végétal étudié et la polarité du solvant. Des éléments tels que les conditions et la durée de stockage, la période de récolte, la méthode d'extraction et les conditions utilisées ont également eu un impact sur le rendement d'extraction (Khelouf et *al.*, 2023)

1.2. Dosage des composés phénoliques des extraits des feuilles d'*Olea europaea*

1.2.1. Teneur en phénols totaux :

Nos extraits ont été caractérisés quantitativement par spectrophotométrie pour déterminer leur teneur en phénols totaux. Les concentrations en phénols totaux ont été déterminées par référence aux courbes d'étalonnages linéaire, utilisant l'acide gallique comme standard (Annexe

2 ; Figure A1) ($y = 0,009 x + 0,002$). Les concentrations sont exprimées en (mg EAG /g d'extrait).

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure ci-dessous :

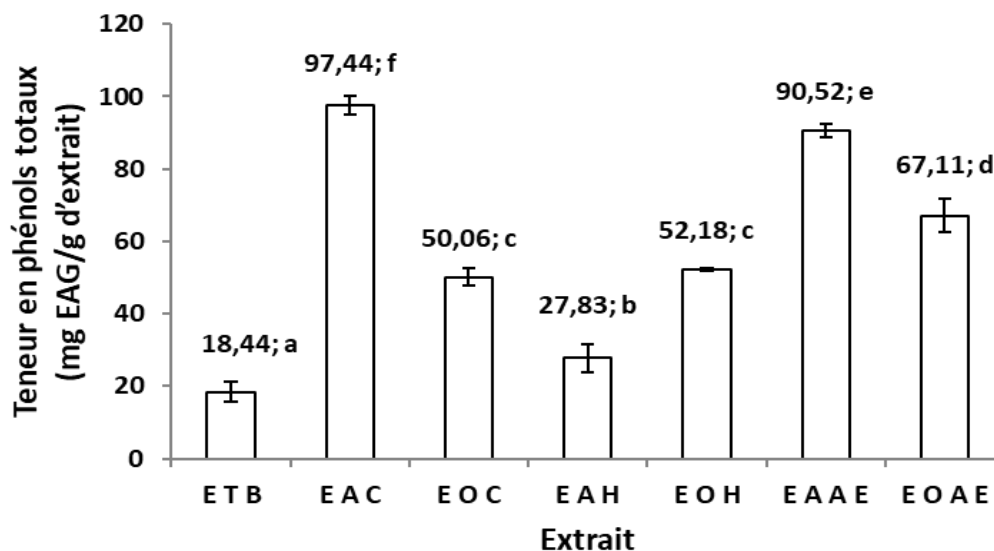


Figure 15 : Graphique montrant la variation de la teneur en phénols totaux en fonction de l'extrait des feuilles de l'olivier.

Avec : E T B : Extrait éthanolique brut ; E A C : Extrait aqueux du chloroforme ; E O C : Extrait organique du chloroforme ; E A H : Extrait aqueux de l'hexane ; E O H : Extrait organique de l'hexane ; E A A E : Extrait aqueux d'acétate d'éthyle et E O A E : Extrait organique d'acétate d'éthyle. Enfin, en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées, tel que les lettres a, b, c, d, e et f indiquent des différences significatives des teneurs en phénols totaux entre les extraits.

L'analyse statistique montre que les teneurs en phénols totaux des extraits organique du chloroforme et de l'hexane ($50,06 \pm 2,44$ et $52,18 \pm 0,45$ mg EAG/g d'extrait, respectivement) n'ont pas présenté une différence significative. Alors que, les teneurs en phénols totaux de l'extrait éthanolique brut ($18,44 \pm 2,78$ mg EAG/g d'extrait), des extraits aqueux : du chloroforme, de l'hexane et d'acétate d'éthyle ($97,44 \pm 2,56$; $27,83 \pm 3,85$; $90,52 \pm 1,74$ mg EAG/g d'extrait respectivement) et de l'extrait organique d'acétate d'éthyle ($67,11 \pm 4,73$ mg EAG/g d'extrait) ont présenté une différence significative.

Une vue d'ensemble de la représentation graphique, nous laisse constater que les feuilles d'olivier sont riches en composés phénoliques. Les teneurs en phénols totaux des différents extraits varient entre $18,44 \pm 2,78$ et $97,44 \pm 2,56$ mg EAG/g d'extrait. Et nous remarquons que c'est l'extrait aqueux du chloroforme qui a révélé la teneur la plus élevée en phénols totaux avec un taux de $97,44 \pm 2,56$ mg EAG/g d'extrait. En plus, les teneurs en phénols totaux correspondant aux extraits organiques d'acétate d'éthyle et du chloroforme sont plus faibles que celles correspondant aux extraits aqueux d'acétate d'éthyle et de chloroforme (Figure 15), cela explique que les polyphénols sont des composés très polaire étant donné leur richesse en groupements hydroxyles (-OH), donc ils se solubilisent dans les solvants polaires. Cependant la teneur en phénols totaux de l'extrait de l'hexane organique est supérieure que celle correspond à l'hexane aqueux.

Il convient de souligner que l'extrait éthanolique a présenté la teneur la plus faible ($18,44 \pm 2,78$ mg EAG/g d'extrait) par rapport à d'autres extraits, Cela pourrait être dû au fait qu'il est l'extrait brut, ce qui entraîne une présence importante de composés phytochimiques qui créent un encombrement stérique, ce qui empêcherait la détection des phénols totaux par le réactif de folin-ciocalteu (Garcia Alonso et al., 2004).

Orak et al. (2019) ont trouvé des concentrations en phénols totaux des extraits de feuilles d'olivier de différents génotypes variait de 110 mg GAE/g à 268 mg GAE/g. Ces concentrations sont supérieures à celles trouvées dans notre étude.

En comparant les teneurs en phénols totaux des extraits aux travaux de Guissous et al. (2023), qui ont trouvé des valeurs de $160,40 \pm 14,36$ à $496,35 \pm 16,59$ mg EAG/g d'extrait sec sur les extraits éthanolique d'*Olea europaea* ; la teneur en phénols totaux de nos extraits est moins importante.

Nos résultats sont largement supérieurs à ceux obtenus par Sánchez-Gutiérrez et ses collaborateurs en 2021, qui ont montré une quantité en phénols totaux varie de 26 à 44,1 mg EAG/g poids sec pour les extraits de feuilles d'olivier obtenu par extraction assistée par micro-ondes, en utilisant différents solvant (eau, éthanol 50% ...).

Les résultats obtenus dans notre étude sont variables avec les résultats trouvés par l'autre binôme sur les feuilles d'olivier de Bejaia avec des teneur en phénols totaux varie entre 38,17

et 109,11 mg EAG/g d'extrait, Ces résultats semblent avoir des teneurs plus élevées en phénols totaux pour certains extraits (ETB, EAH, EOH) (96,41 ;80,52 ;109,11 mg EAG/g d'extrait, respectivement), tandis que nos résultats ont des teneurs plus élevées pour d'autres extraits (EAC, EOC, EAAE, EOAE). Des variations génétiques pourraient expliquer les variations de la quantité de composés phénoliques dans la plante, ce qui pourrait influencer le processus de biosynthèse et l'accumulation de ces composés (Mansour et *al.*, 2023)

1.2.2. Dosage des flavonoïdes

La figure illustre la variabilité des teneurs en flavonoïdes de nos différents extraits de feuilles d'olivier, calculées en se référant à une courbe d'étalonnage linéaire, utilisant la quercétine comme standard (Annexe 2 ; Figure A2), exprimés en mg équivalent quercétine/g d'extrait :

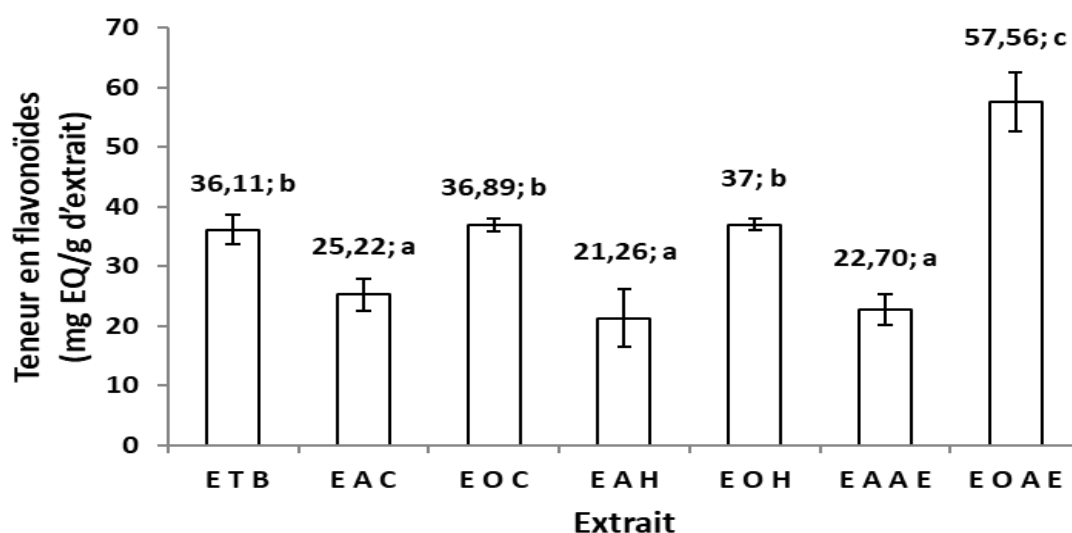


Figure 16 : Graphique montrant la variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de l'extrait des feuilles de l'olivier.

Avec : E T B : Extrait éthanolique brut ; E A C : Extrait aqueux du chloroforme ; E O C : Extrait organique du chloroforme ; E A H : Extrait aqueux de l'hexane ; E O H : Extrait organique de l'hexane ; E A A E : Extrait aqueux d'acétate d'éthyle et E O A E : Extrait organique d'acétate d'éthyle. Enfin, en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées, tel que les lettres a, b et c indiquent des différences significatives des teneurs en flavonoïdes entre les extraits.

Statistiquement, la teneur en flavonoïdes de l'extrait organique d'acétate d'éthyle (57,56 ± 4,88 mg EQ/g d'extrait) est significativement différent de tous les autres extraits ($p < 0,05$)

(figure 16). De plus, Les teneurs en flavonoïdes de l'extraits éthanolique et des extraits organique du chloroforme et d'hexane ($36,11 \pm 2,51$; $36,89 \pm 1,02$; $37 \pm 0,91$ mg EQ/g d'extract, respectivement) (forment un groupe intermédiaire :groupe b) n'ont présenté aucune différence significative entre eux, mais étant significativement différents des groupes a et c. De même, les teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux du chloroforme, hexane et d'acétate d'éthyle ($25,22 \pm 2,74$; $21,26 \pm 4,84$; $22,70 \pm 2,48$ mg EQ/g d'extract, respectivement) constituent le groupe avec les teneurs les plus faibles (groupe a), et n'ont pas présenté une différence significative entre eux, mais significativement inférieurs aux groupes b et c.

On constate d'après les résultats obtenus, que les taux en flavonoïdes sont appréciables et c'est l'extract organique d'acétate d'éthyle qui a donné la teneur la plus élevé qui est de $57,56 \pm 4,88$ mg EQ/g d'extract. En plus, les teneurs en flavonoïdes correspondant aux extraits aqueux : du chloroforme, de l'hexane et d'acétate d'éthyle sont plus faibles que celles correspondant aux extraits organiques : du chloroforme, de l'hexane et d'acétate d'éthyle (figure 16). Ces résultats suggèrent que les flavonoïdes présents dans les feuilles d'*Olea europaea* sont principalement de nature moins polaire ou sous forme d'aglycones, expliquant leur meilleure solubilité dans les solvants organiques.

Les teneurs en flavonoïdes obtenues dans notre étude sont plus élevées, par rapport à celle trouvée par Lins et ses collaborateurs en 2018 dans l'extract méthanol/eau de feuilles d'*Olea europaea* , qui est de $19,4 \pm 1,3$ mg EQ/g poids sec.

Les teneurs en flavonoïdes obtenue par Guissous et *al.* (2023) des extraits éthanolique (70 %) des feuilles d'*Olea europaea* sont de 125,73 à 242,5 mg EQ/g d'extract, Ces valeurs sont supérieures aux valeurs obtenues dans notre étude.

En comparant nos résultats à celles de l'autre binôme, les teneurs en flavonoïdes de l'extract éthanolique brut, des extraits organiques du chloroforme, de l'hexane et d'acétate d'éthyle (24,63 ;35,04 ;25,44 ;30,93 mg EQ/g d'extract, respectivement) sont supérieurs dans nos résultats, tandis que les teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux du chloroforme et de l'hexane sont supérieurs dans les résultats de l'autre binôme (70,07 et 34,33 mg EQ/g d'extract, respectivement). L'extract aqueux de l'acétate d'éthyle montre des valeurs très similaires. Les différences de teneurs en flavonoïdes entre les deux régions peuvent s'expliquer par des facteurs environnementaux comme le climat, le sol, l'altitude, ou les pratiques agricoles. Ces résultats

soulignent l'importance de l'origine géographique et du type d'extrait sur la teneur en flavonoïdes des feuilles d'olivier, ce qui peut avoir des implications pour leurs propriétés et utilisations potentielles.

1.3. Activités antioxydantes *in vitro* des extraits phénoliques des feuilles d'*Olea europaea*

Dans la présente étude les méthodes appliquées sont : la méthode de piégeage du cation radicalaire ABTS^{•+} et la méthode de piégeage du radical libre (DPPH[•]).

1.3.1. Test de piégeage par le cation radicalaire ABTS^{•+}

Cette méthode est parmi les plus couramment employées pour évaluer la capacité antioxydante d'un composé ; elle évalue sa capacité à capturer le radical ABTS^{•+}. Elle est particulièrement recommandée pour les extraits car l'absorption maximale à grande longueur d'onde 734 nm élimine l'interférence de couleur dans les extraits de plante (song et *al.*, 2010).

Les résultats de l'activité anti-radicalaire, vis-à-vis du radical ABTS^{•+} du standard (Trolox) et des extraits des feuilles d'*Olea europaea* sont exprimées en pourcentage d'inhibition (à 100 µg/ml) et représentés sous forme d'histogramme dans la figure (17) :

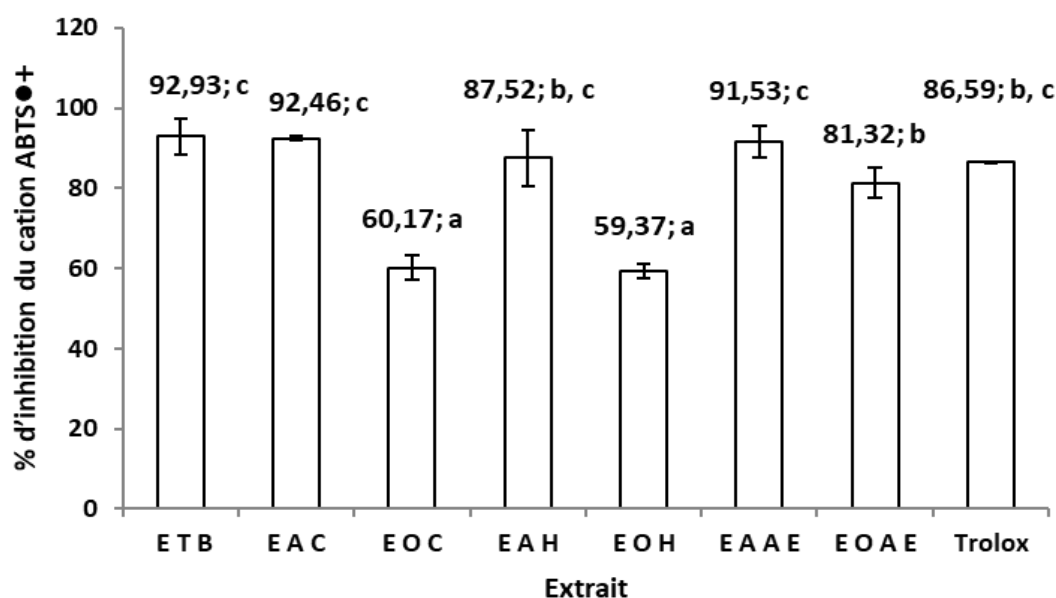


Figure 17 : Activité de piégeage du cation ABTS^{•+} des extraits de feuilles séchées de l'olivier.

Avec : E T B : Extrait éthanologique brut ; E A C : Extrait aqueux du chloroforme ; E O C : Extrait organique du chloroforme ; E A H : Extrait aqueux de l'hexane ; E O H : Extrait organique de l'hexane ; E A A E : Extrait aqueux d'acétate d'éthyle ; E O A E : Extrait organique d'acétate d'éthyle et trolox : 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchro-man-2-carboxylic acid (Lfitat et *al.*, 2020). Enfin, en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées, tel que les lettres a, b et c indiquent des différences significatives concernant les activités de piégeage du cation ABTS^{•+} des extraits.

Une analyse statistique indique que le pourcentage d'inhibition du cation ABTS^{•+} de l'extrait éthanologique brut, des extraits aqueux :de chloroforme, de l'hexane et d'acétate d'éthyle ($92,93 \pm 4,55$; $92,46 \pm 0,50$; $87,52 \pm 7,11$ et $91,53 \pm 3,91$ %, respectivement) et Trolox ($86,59 \pm 0,20$ %), marqués par la lettre c, montrent les pourcentages d'inhibition les plus élevés et n'ont pas présenté une différence significative entre eux ($p > 0,05$). Le groupe b, comprenant l'extrait aqueux de l'hexane, l'extrait organique d'acétate d'éthyle et Trolox, présente des valeurs intermédiaires, significativement différentes du groupe c et du groupe a ($p < 0,05$). De même le pourcentage d'inhibition du cation ABTS^{•+} des extraits organiques du chloroforme et de l'hexane ($60,17 \pm 3,11$ et $59,37 \pm 1,83$ %, respectivement) n'ont pas présenté une différence significative (désignés par la lettre a), et sont significativement inférieurs à tous les autres extraits ($p < 0,05$).

A partir de cet histogramme, on remarque que notre plante a montré une forte activité D'inhibition du radical ABTS^{•+} comparativement au standard utilisé (Trolox) qui a donné un pourcentage d'inhibition de : $86,59 \pm 0,20$ % (à $100\mu\text{g/ml}$).

C'est l'extrait éthanologique qui a montré la plus forte activité inhibitrice du radical ABTS^{•+} en comparaison à d'autres extraits avec un pourcentage de : $92,93 \pm 4,55$ %, et il est supérieur de celui du standard trolox ($86,59 \pm 0,20\%$ à $100\mu\text{g/ml}$). Alors que, les pourcentages d'inhibition du cation ABTS^{•+} correspondant aux extraits organiques du chloroforme, hexane, acétate d'éthyle ($60,17 \pm 3,11$; $59,37 \pm 1,83$ et $81,32 \pm 3,70$ %, respectivement) sont plus faibles que ceux correspondant aux extraits aqueux du chloroforme, hexane et acétate d'éthyle ($92,46 \pm 0,50$; $87,52 \pm 7,11$ et $91,53 \pm 3,91$ %, respectivement) . Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques polaires, tels que des

polyphénols riches en groupes –OH. De plus, il a été mentionné que l'activité anti-radicalaire est influencée par la structure chimique des composés phénoliques et la présence de groupements hydroxyles (OH), ce qui leur confère la capacité de transporter des électrons ou de fournir des hydrogènes (Jayaprakasha et *al.*, 2008).

Par ailleurs, l'extrait organique de l'hexane a montré la plus faible activité de piégeage du cation ABTS^{•+} par rapport aux autres extraits avec un pourcentage de $59,37 \pm 1,83$ %, Cela pourrait être attribué à sa teneur en composés phénoliques de faible polarité.

Les valeurs de l'activité piégeage de cation ABTS des extraits de feuilles d'*Olea europaea* enregistrées dans notre étude sont supérieures à celles rapportés par Ribas et *al.* (2023) pour les extraits méthanoliques des feuilles d'*Olea europaea* des différentes cultivars (PI varie de 57,43 % à 78,15 %).

En comparant les pourcentages d'inhibition du cation ABTS^{•+} des extraits aux travaux de l'autre binôme (Echantillon de Bejaia), qui ont trouvé des pourcentages d'inhibition qui varient entre 29,36 et 98,55% ; Ces résultats montrent généralement une activité antioxydante plus élevée et sont généralement supérieures à celles trouvées dans notre étude, sauf pour les extraits éthanolique (83,46%) et organique d'acétate d'éthyle (29,36%) qui sont nettement supérieurs dans nos résultats. Ces variations dans l'activité antioxydante des différents extraits entre les deux sites pourraient s'expliquer par des différences dans leur composition chimique, notamment en composés phénoliques et autres antioxydants, résultant de facteurs environnementaux et génétiques influençant la biosynthèse de ces molécules dans les feuilles d'olivier. Ces résultats suggèrent que l'origine géographique des feuilles d'olivier peut avoir un impact significatif sur leur potentiel antioxydant.

1.3.2. Evaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH

Les résultats de la capacité des extraits des feuilles d'*Olea europaea* et de standard (BHA) à piéger le radical DPPH (à 100 ug/ml) sont représentés dans la figure si dessous :

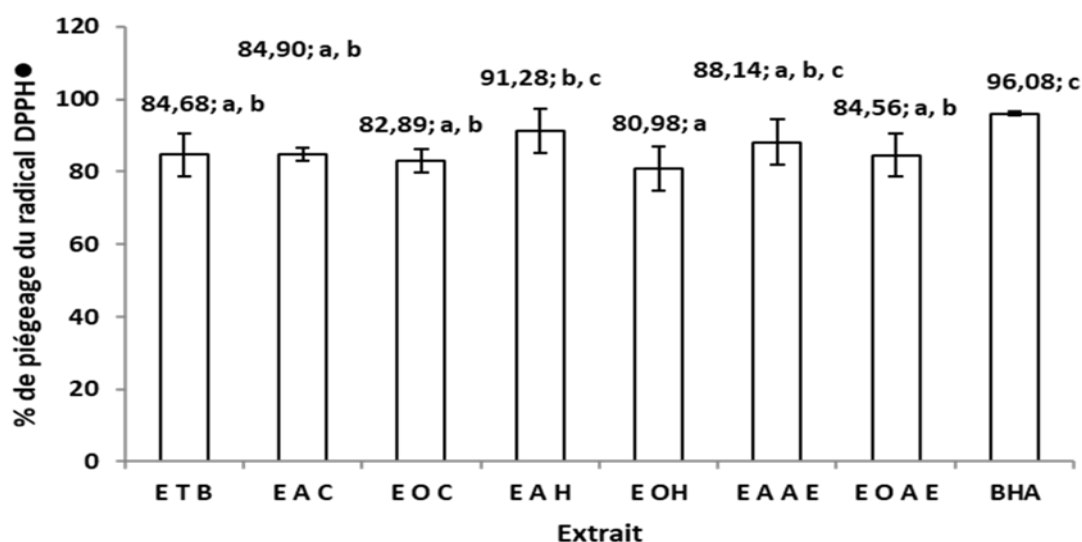


Figure 18 : Activité de piégeage du radical DPPH• des extraits de feuilles séchées de l'olivier. Avec : E T B : Extrait éthanologique brut ; E A C : Extrait aqueux du chloroforme ; E O C : Extrait organique du chloroforme ; E A H : Extrait aqueux de l'hexane ; E O H : Extrait organique de l'hexane ; E A A E : Extrait aqueux d'acétate d'éthyle ; E O A E : Extrait organique d'acétate d'éthyle et BHA : Hydroxyanisole butylé. Enfin, en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 (ANOVA/MANOVA), des comparaisons statistiques ont été effectuées, tel que les lettres a, b et c indiquent des différences significatives concernant les activités de piégeage du radical DPPH• des extraits.

L'analyse statistique indique que le pourcentage de l'activité de piégeage du radical DPPH de BHA, utilisé comme standard, montre l'activité la plus élevée ($96,08 \pm 0,51$ %) et est significativement différent de la plupart des extraits ($p < 0,05$). Les extraits aqueux de l'hexane et d'acétate d'éthyle ($91,28 \pm 6,16$; $88,14 \pm 6,30$ %, respectivement) ne diffèrent pas significativement du BHA ($p > 0,05$). Par ailleurs, le pourcentage de l'activité de piégeage du radical DPPH des extraits éthanologique, aqueux du chloroforme et les extraits organiques du chloroforme, de l'hexane et d'acétate d'éthyle présentent des activités statistiquement similaires entre eux ($p > 0,05$), et n'ont pas présenté une différence significative, formant un groupe intermédiaire (figure 18). Il est important de noter que l'extrait organique de l'hexane ($80,98 \pm 6,15$ %), bien qu'il présente le pourcentage le plus bas parmi les extraits, n'est pas statistiquement différent de plusieurs autres extraits du groupe intermédiaire.

Selon la figure, les résultats indiquent que les extraits des feuilles d'olivier ont démontré une activité de piégeage élevée du radical DPPH, allant de $80,98 \pm 6,15$ % à $91,28 \pm 6,16$ %, et

sont légèrement inférieurs comparativement au standard utilisé : la BHA qui a donné un pourcentage d'inhibition de $96,08 \pm 0,51$ % (à $100\mu\text{g/ml}$). L'étude de Cho et al. (2020) montre que les extraits des feuilles d'olivier obtenus à l'aide de divers solvants (éthanol aqueux, méthanol aqueux, acétone aqueuse et eau distillé) ont donné un pourcentage d'inhibition qui varie entre 26,75 % et 33,84 %, ces résultats sont inférieurs de celui obtenu par la présente étude.

D'après les résultats, on constate que c'est l'extrait de l'hexane aqueux qui a donné une meilleure activité inhibitrice du radical DPPH ($91,28 \pm 6,16$ %) par rapport à d'autres extraits, et il est proche de celui du standard BHA ($96,08 \pm$ %). En plus les pourcentages de l'activité de piégeage du radical DPPH• correspondant aux extraits aqueux du chloroforme, hexane et acétate d'éthyle ($84,90 \pm 1,78$; $91,28 \pm 6,16$; $88,14 \pm 6,30$ %, respectivement) sont plus élevés comparativement aux extraits organiques homologues ($82,89 \pm 3,20$; $80,98 \pm 6,15$; $84,56 \pm 5,82$ %, respectivement). L'extrait de l'hexane organique présente la valeur de pourcentage d'inhibition la plus faible ($80,98 \pm 6,15$ %). La capacité antioxydante raisonnable et efficace des extraits de feuilles d'*Olea europaea* pourrait être attribuée à la variété et à la nature des composés phénoliques et des flavonoïdes, qui ont une excellente capacité à neutraliser les radicaux libres et à prévenir l'oxydation. (Mansour et al.2023). On peut donc suggérer que la plante examinée est plutôt abondante en composés phénoliques polaires, comme des polyphénols riches en groupes –OH. En effet, la capacité des composés phénoliques à donner des atomes d'hydrogène explique l'activité de piégeage du radical DPPH•, qui devrait être proportionnelle au nombre de groupes –OH. En d'autres termes, à mesure que le nombre de groupes –OH augmente, la capacité à générer des atomes d'hydrogène augmente et l'activité de piégeage du radical DPPH augmente également (Chen and Ho, 1995). En comparant la teneur phénolique des extraits, il devient évident que les extraits ayant une composition en polyphénols plus élevée présentent une plus grande activité. Cette observation confirme que l'effet antioxydant renforcé des extraits de plantes est principalement attribué à la présence de polaires (Khelouf et al., 2023).

Nos résultats sont en accord avec celui publiés par El-Sohaimy et al. (2021) qui souligne la forte capacité de piégeage des radicaux DPPH des extraits de feuilles d'olivier, même à faibles concentrations.

De plus, l'extrait éthanolique a montré une inhibition modérée Par rapport aux extraits descendants ($84,68 \pm 5,91\%$), car même si c'est l'extrait brut, il y aurait un encombrement stérique qui entraverait la réduction du radical DPPH.

L'étude de Ribas et *al.* (2023) montre que les extraits méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* ont donné un pourcentage d'inhibition de 82,90 à 93,56 %, ce résultat est proche de celui obtenu par la présente étude.

Dans l'étude de l'autre binôme (échantillon de Bejaia), elles ont trouvé des pourcentages élevés d'activité de piégeage des radicaux DPPH, compris entre 65,73% et 94,23%. Ces résultats sont supérieurs à nos résultats, à l'exception des extraits organiques du chloroforme et d'acétate d'éthyle (65,73% et 69,85 %, respectivement) qui enregistrent des pourcentages plus élevés dans nos résultats.

La composition phénolique qualitative et quantitative des feuilles d'olivier varie considérablement en fonction des cultivars spécifiques et des facteurs génétiques et géographiques, comme le démontrent de nombreux rapports scientifiques. En outre, une étude de Khelouf et *al* en 2023 apporte des informations qui soutiennent l'utilisation des extraits de feuilles d'olivier algérien et tunisien comme agents antioxydants naturels et confirme que ces extraits sont une source importante de composés phénoliques et possèdent des capacités antioxydantes élevées, qui varient en fonction des cultivars et de l'origine géographique.

*Conclusion et
Perspectives*

Conclusion

Les feuilles d'olivier (*Olea europaea*) sont une source naturelle riche en antioxydants, utilisées depuis des siècles en médecine traditionnelle pour leurs bienfaits sur la santé. Elles jouent également un rôle clé dans le régime méditerranéen, connu pour ses effets protecteurs contre diverses maladies chroniques. L'étude présente visait à extraire et caractériser les composés phénoliques des feuilles d'olivier, et à évaluer leur activité antioxydante.

Les principaux résultats de notre étude de l'extrait aqueux de chloroforme ont montré la teneur la plus élevée en phénols totaux avec 97,44 mg EAG/g d'extrait, indiquant une forte concentration de ces composés bioactifs, plus l'acétate d'éthyle organique a révélé les valeurs les plus élevées en flavonoïdes, atteignant 57,56 mg EQ/mg d'extrait, ce qui démontre la richesse de cet extrait en ces puissants antioxydants.

Il peut également être conclu de ce travail que c'est toujours l'extrait brut qui a montré l'activité antioxydante la plus élevée. Ces résultats confirment que les feuilles d'*Olea europaea* possèdent des propriétés antioxydantes significatives, attribuables à leur teneur en composés phénoliques. Il peut alors être suggéré que la plante étudiée est relativement riche en composés phénoliques polaires, tels que des polyphénols riches en groupes –OH.

Enfin en perspective, il peut être suggéré que des extraits de feuilles de *olea europaea* pourraient créer des formulations thérapeutiques pour une utilisation dans le traitement et la prévention de maladies chroniques.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

-A-

- ABDOU BOUBA, A., NJINTANG, Y. N., SCHER, J. & MBOFUNG, C. M. F. (2010). Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty Cameroonian spices. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 213-224.
- AHMAD, R. (2018). Introductory chapter: basics of free radicals and antioxidants. *Free radicals, antioxidants and diseases*, 1, 18-21.
- ALZAND, K. I. & MOHAMED, M. A. (2012). Flavonoids: Chemistry, biochemistry and antioxidant activity. *Journal of Pharmacy Research*, 5, 4013-4020.
- AMIOUR, S.D., ALLOUI-LOMBARKIA, O., BOUHDJILA, F.&AMMAR, A. (2014). Étude de l'implication des composés phénoliques des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 2(12), 135-142.
- AMROUNI SAIS, H., FETHALLAH, R., & FAHAS, M. (2021). Les exploitations oléicoles en Algérie ; quelle performance économique. *Recherche Agronomique*, 19(1), 65-76.
- ANGLES, STEPHANE. (2012). L'olivier et les territoires méditerranéens.
- ARGENSON, C. (2008). La culture de l'olivier dans le monde, ses productions, les tendances. *Le nouvel olivier*, 61, 8-11.
- ARGENSON, C., REGIS, S., JOURDAIN, J. M., et al. (1999). The olive tree.
- ATMANI, D., CHAHER, N., BERBOUCHA, M., AYOUNI, K., LOUNIS, H., BOUDAUD, H., DEBBACHE, N. & ATMANI, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112, 303-309.
- AYTON, J., MAILER, R.J., HAIGH, A., TRONSON, D. ET CONLAN, D. (2007). Quality and oxidative stability of Australian olive oil according to harvest date and irrigation. *Journal of Food Lipids*, 14, 138-156.
- AZIZ, M.A., DIAB, A.S., & MOHAMMED, A.A. (2019). Antioxidant Categories and Mode of Action. In: SHALABY, E (Ed.), *Antioxidants*. Intechopen. DOI: 10.5772/intechopen.83544.

-B-

- BENALIA, H., NAILI, D. (2020). Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des feuilles d'olivier. Thèse de doctorat.

- BENRACHOU, N. (2012). Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. Thèse de doctorat. Annaba.
- BIE, J., SEPODES, B., PEDRO C. B. FERNANDES, P.C.B. & RIBEIRO, M.H.L. (2023). Polyphenols in Health and Disease: Gut Microbiota, Bioaccessibility, and Bioavailability. *Compounds*, 3(1), 40-72
- BISWAS, S., DAS, R. & BANERJEE, E. R. (2017) Role of free radicals in human inflammatory diseases. *Aims Biophysics*, 4, (4), 596-614.
- BOUAZIZ M., FKI I., JEMAI H., AYADI M. AND SAYADI, S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108(1), 253-262.
- 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.
- BOUCHOUKA, E. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba.p 98.
- BOUSSAKOU, A.A. (2019). L'étude des caractéristiques pomologique des olives et étude physico-chimique de l'huile d'olive de la variété chemlal de la région de Beni Douala. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri
- BRETON, C., MÉDAIL, F., PINATEL, C.& BERVILLE, A. (2006). De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*, 15(4), 329-336.
- BROSSE, J. (2004). Larousse des arbres et des arbustes. *Larousse*.
- BULTOSA, G. (2015). Functional Foods: Overview. Dans Reference Module in Food Science. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00071-8>
- BURNIE, G., FORRESTER, S., GREIG, D., & al. (2006). Botanica: Encyclopédie de botanique et d'horticulture. Menges, Paris

- ÇALIŞKAN, B & ÇALIŞKAN, A.C. (2021). Antioxidant and Oxidative Stress. In: WAISUNDARA, V (Ed.), Antioxidants-Benefits, Sources, Mechanisms of Action. IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.96643.
- CAVACA, L. A. S., LOPEZ-COCA, I. M., SILVERO, G., & AFONSO, C. A. M. (2020). Chapter 5 - The olive-tree leaves as a source of high-added value molecules: Oleuropein. In: RAHMAN, A.-U. (Ed.), Studies in Natural Products Chemistry (pp.131-180). Elsevier.
- CHAFAA, S. (2013). Contribution à l'étude de l'entomofaune de l'olivier, *Olea europaea* et de la dynamique des populations de la cochenille violette *Parlatoria oleae* Colvée, 1880 (Homoptera: Diaspididae) dans la région de Batna. <http://hdl.handle.net/123456789/2097>
- CHEN, C.-W. & HO, C.-T. (1995). Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas. *Journal of Food Lipids*, 2, 35-46
- CHEN J. H. ET HOO C. T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acids and its related Hydrocinnamic Acid compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2374- 2378.
- CHEVALLIER, A. (2001). Encyclopédie des plants medicinale : identification, préparation, soins.p.6.
- CHEYNIER, V. (2012). Phenolic compounds: From plants to foods. *Phytochemistry Reviews*,11, 153-177.
- CHO, W., KIM, D., LEE, H., YEON, S., LEE, C. (2020). Evaluation of Effect of Extraction Solvent on Selected Properties of Olive Leaf Extract. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2020/3013649>

-D-

- DAS, D. & CHANDRA, G. (2012). Mosquito larvicidal activity of *Rauvolfia serpentina* L.seeds against *Culex quinquefasciatus* Say. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*,5, 42-45.
- DAVIS, H., SU, X., SHEN, Y., XU, J., WANG, D., SMITH, J. S., ARAMOUNI, F., & WANG, W. (2019). Chapter 8 - Phenotypic Diversity of Colored Phytochemicals in Sorghum Accessions with Various Pericarp Pigments. In: WATSON, R.R (Ed.), Polyphenols in Plants (pp.123-131). Academic Press.
- DE LA ROSA, L. A., MORENO-ESCAMILLA, J. O., RODRIGO-GARCÍA, J. & ALVAREZ-PARRILLA, E. (2019). Chapter 12 - Phenolic Compounds. In: YAHIA, E. M. (Ed.) Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables.

Woodhead Publishing, Elsevier Inc.

- DOUZANE, M., DAAS, M.-S., MERIBAÏ, A., GUEZIL, A.-H., ABDI, A., & TAMENDJARI, A. (2021). Physico-chemical and sensory evaluation of virgin olive oils from several Algerian olive-growing regions. *OCL*, 28 (55),1-11.

-E-

- EL-SOHAIMY, S.A., MANSOUR, H.M.M., ZEITOUN, A.A. & ZEITOUN, M.A.A. (2020). Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential of olive leaves. *Zagazig journal of agricultural research*, 48(1),161-173
- ENGBA, G. A. (2018). Free Radicals and the Role of Plant Phytochemicals as Antioxidants Against Oxidative Stress-Related Diseases. In: ASAO, T., & ASADUZZAMAN, M. (Eds.), *Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*. Intechopen. DOI : 10.5772/intechopen.76719.

-F-

- FARAG R.S., MAHMOUD E.A. AND BASUNY A.M. (2007). Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science & Technology*,42,107-115.
- FERREIRA, D.M., DE OLIVEIRA, N. M., CHÉU, M. H., MEIRELES, D., LOPES, L., OLIVEIRA, M. B., & MACHADO, J. (2023). Updated Organic Composition and Potential Therapeutic Properties of Different Varieties of Olive Leaves from *Olea europaea*. *Plants*, 12(3),688. <https://doi.org/10.3390/plants12030688>.

-G-

- GARCIA-ALONSO, M., PASCUAL-TERESA, S., SANTOS-BUELGA, C ET PIVAS-GONZALO, J.C. (2004). Evaluation of antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*, 84(1),13-18.
- GHARBI, I., ISSAOUI, M., & HAMMAMI, M. (2014). La filière huile d'olive en Tunisie. *OCL*, 21 (2), D202.
- GRATI- KAMMOUN, N., KHLIF M. ET HAMDI, M. T. (1999). Evolution of oil characteristics with maturity of olives in Sfax: Chemlali variety. *Acta Horticulturae*, 474, 701-704.

- GUINDA, A., ALBI, T., CAMINO, M.C.P; LANZON, A. (2004). Supplémentation d'huiles en acide oléanolique de feuille d'olivier (*Olea europaea* L.). *Journal européen de la science et de la technologie des lipides*, 106, p 22- 26.
- GUISSOUS, M., BOULKROUNE, H., & MEKHOUKH, N., (2023). Quantification And Antioxidant Activity Of Olive Leaves (*Olea Europaea* L.) Of Algerian Varieties. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 14 (4), 837-844.

-H-

- HASHMI, M.A., KHAN, A., HANIF, M., FAROOQ, U., & PERVEEN, S. (2015). Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of *Olea europaea* (Olive). *Hindawi*. doi: 10.1155/2015/541591.
- HATON, C. (2005). Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat, Université de Paris
- HEMALATHA, S., LALITHA, P. & ARULPRIYA, P. (2010). Antioxidant activities of the extracts of the aerial roots of *Pothos aurea* (Linden ex Andre). *Der Pharma Chemica*, 2, 84-89.
- HISMATH, I., WAN AIDA, W. M. & HO, C. W. (2011). Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (*Azadirachta indica*) leaves. *International Food Research Journal*, 18, 931-939.

-J-

- JAYAPRAKASHA, G.K., GIRENNAVAR, B & PATIL, B.S. (2008). Antioxidant capacity of pummel and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence. *LWT*, 41(3), 376-384.

-K-

- KHELOUF, I., JABRI KAROUI, I., LAKOUD, A., HAMMAMIC, M. & ABDERRABBA, M. (2023). Comparative chemical composition and antioxidant activity of olive leaves *Olea europaea* L. of Tunisian and Algerian varieties. *Heliyon*, 9(12), 1-12.
- KOUDOUFIO, D.M. (2024). Rôle des polyphénols à effets prébiotiques dans la prévention du syndrome métabolique: mécanismes d'action au niveau cellulaire et animal.

-L-

- LAPORNIK, B., PROSEK, M., & GOLC WONDRA, A. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71(2), 214–222.
- LEE, O.H., LEE, B.Y., LEE, J., & al. (2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource technology*, 100(23), 6107-6113.
- LINS P.G., PUGINE S.M.P., SCATOLINI A.M., DE MELO M.P. (2018). In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. *Heliyon*, 4(9), e00805. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e00805
- LOBO, V., PATIL, A., PHATAK, A. & CHANDRA, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126.
- LFITAT, A., ZEJLI, H., BOUSSELHAM, A., EL ATKI, Y., LYOUSSI, B., GOURCH, A., ABDELLAOUI, A. (2020). Comparative evaluation of *Argania spinosa* and *Olea europaea* leaf phenolic compounds and their antioxidant activity. *Botanica*, 26, 76–87.

-M-

- MAAOUNI, M. (2018). Evaluation de la qualité des huiles d'olive extraites de la variété « picholine marocaine » par caractérisation physicochimique. Effet du degré de maturité des olives et apports des méthodes chimiométriques.
- MACÁKOVÁ, K., KOLEČKÁŘ, V., CAHLÍKOVÁ, L., CHLEBEK, J., HOŠŤÁLKOVÁ, A., KUČA, K., JUN, D. & OPLETAL, L. (2014). Chapter 6 - Tannins and their Influence on Health. In: ATTA-UR-RAHMAN, A. U., RAHMAN, CHOUDHARY, M. I. & PERRY, G. (Eds.) *Recent Advances in Medicinal Chemistry*. Bentham Science Publishers Ltd., Elsevier Inc.
- MACHEIX, J.J., FLEURIET, A., & JAY-ALLEMAND, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*.
- MAMTA., MISRA, K., DHILLON, G.S., BRAR, S.K.& VERMA, M. (2014). Antioxidants. In : BRAR, S. K., DHILLON, G. S., & SOCCOL, C. R. (Eds.),

Biotransformation de la biomasse résiduelle en produits biochimiques de grande valeur (pp.117-138). Québec, Canada.

- MANSOUR, H. M. M., ZEITOUN, A. A., ABD-RABOU, H. S., EL ENSHASY, H. A., DAILIN, D. J., ZEITOUN, M. A. A., & EL-SOHAIMY, S. A. (2023). Antioxidant and Anti-Diabetic Properties of Olive (*Olea europaea*) Leaf Extracts: In Vitro and In Vivo Evaluation. *Antioxidants*, 12(6), 1275. doi: 10.3390/antiox12061275
- MEDA & al. (2005). *Tropical Medicine & International Health*, Blackwell Synergy, 11(2), 136-143.
- MEROUANE, A., NOUI, A., NEDJARI BENHADJ ALI, K., & al. (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.

-N-

- NEFZAOU, A. (1995). Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. *Advanced course Syria*, p. 12-23.

-O-

- ORAK H.H., KARAMAĆ M., AMAROWICZ R., ORAK A., & PENKACIK K. (2019). Genotype-Related Differences in the Phenolic Compound Profile and Antioxidant Activity of Extracts from Olive (*Olea europaea* L.) Leaves. *Molecules*, 24(1130), 1-14.
- ÖZER, B. CEM, ÖZYÖRÜK, HALUK, CELEBI, SERDAR S. & al. (2007). Amperometric enzyme electrode for free cholesterol determination prepared with cholesterol oxidase immobilized in poly (vinylferrocenium) film. *Enzyme and microbial technology*, 40(2), 262-265.

-P-

- PALAIOGIANNIS, D., CHATZIMITAKOS, T., ATHANASIADIS, V., BOZINO, E., MAKRIS, D.P. & LALAS, S.I. (2023). Successive Solvent Extraction of Polyphenols and Flavonoids from *Cistus creticus* L. *Leaves. Oxygen*, 3(3), 274-286.
- PIZZINO, G., IRRERA, N., CUCINOTTA, M., et al. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*. doi: 10.1155/2017/8416763

-R-

- RAHMAN, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*, 2(2), 219-236.
- RAMÍREZ, E.M., BRENES, M., ROMERO, C., & MEDINA, E. (2022). Chemical and Enzymatic Characterization of Leaves from Spanish Table Olive Cultivars. *Foods*,11(23): 3879. doi: 10.3390/foods11233879
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M. & RICE-EVANS, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- RIBAS, J.C.R., LAZZARI, A., GONZALEZ, L.B.F., SILVA, C.M.D., ADAMUCHIO, L.G., CUQUEL, F.L., SAKURA-DA, R., & PINTRO, P.T.M. (2023). Bioactive compounds and antioxidant activity of olive leaves grown. Pa-raná, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*,58,03025. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2023.v58.03025>
- RIBEREAU-GAYON, P. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques. In « Les composés phénoliques des végétaux ». Ed Dunod, p :1-27.
- RIEU, B., ROSSEL, A., LLENAS, P., PINATEL, C & OLIVIER, D. (2007). « Oli ; L'olivier dans les Pyrénées Orientales », Éditions Trabucaire.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. (2015). 2 - Carotenes and xanthophylls as antioxidants. In : SHAHIDI, F (Ed.), *Handbook of Antioxidants for Food Preservation* (pp.17-50). Woodhead Publishing
- ROLEIRA, F.M.F., VARELA, C.L., COSTA, S.C., ELISIARIO J. TAVARES-DA-SILVA, E.J. (2018). Chapter 4 - Phenolic Derivatives from Medicinal Herbs and Plant Extracts: Anticancer Effects and Synthetic Approaches to Modulate Biological Activity. In : RAHMAN, A.-U. (Ed.). *Studies in Natural Products Chemistry* (pp. 115-156). Elsevier.

-S-

- SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, M., BASCÓN-VILLEGAS, I., RODRÍGUEZ, A., PÉREZ-RODRIGUEZ, F., FERNÁNDEZ-PRIOR, A., ROSAL, A., CARRASCO, E. (2021). Valorisation of *Olea europaea* L. Olive Leaves through the Evaluation of Their Extracts: Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Foods*,10(5), 966. <https://doi.org/10.3390/foods10050966>

- SANCHEZ-MORENO, C. (2002). Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*, 8(3), 121-137.
- SARR SO., DIOR FA., GUEYE R., DIOP A., DIATTA K., DIOP N., NDIAYE B ET DIOP YM. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de Vitex Doniana (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.
- SONG, F.L., GAN, R.Y., ZHANG, Y., XIAO, Q., KUANG, L AND LI, H.B. (2010). Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. *Int.J.Mol.Sci*, 11: 2362-2372.
- SUNIL, C., IRUDAYARAJ, S. S., DURAI PANDIYAN, V., AL-DHABI, N. A., AGASTIAN, P. & IGNACIMUTHU, S. (2014). Antioxidant and free radical scavenging effects of β -amyrin isolated from *S. cochinchinensis* Moore. *leaves. Industrial Crops and Products*, 61, 510-516.

-T-

- TALHAOUI N., TAAMALLI A., GOMEZ-CARAVACA A. M., FERNANDEZ-GUTIERREZ A. AND SEGURACARRETERO A. (2015). Phenolic compound in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International* ,77, 92–108.
- TAN B.L., NORHAIZAN M.E., LIEW W.P.P., RAHMAN H.S. (2018). Antioxidant and oxidative stress: a mutual interplay in age-related diseases. *Front. Pharmacol*, 9, 1-28. DOI: 10.3389/fphar.2018.01162.

-V-

- VANSANT, G. (2004) Radicaux libres et antioxydants : principes de base. In: Symposium « Antioxydants et alimentation ». *Institut Danone*.

-W-

- WANG, B., QU, J., FENG, S., CHEN, T., YUAN, M., HUANG, Y., LIAO, J., YANG, R., & DING, C. (2019). Seasonal Variations in the Chemical Composition of Liangshan Olive Leaves and Their Antioxidant and Anticancer Activities. *Foods*, 8(12), 657. <https://doi.org/10.3390/foods8120657>

- 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.

-Y-

- YOUSFI, Y., DJELLOULI, N., BAHIANI, M., & al. (2017). Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de quatre cultivars de dattes du. (2017). Thèse de doctorat. Université Ahmed Draïa-Adrar.

-Z-

- ZHANG, Y., CAI, P., CHENG, G. & ZHANG, Y. 2022. A brief review of phenolic compounds identified from plants: Their extraction, analysis, and biological activity. *Natural Product Communications*, 17, 1–14.

Annexes

Annexes

Annexe 1

Tableau A1 : Liste du matériel et des produits chimiques utilisés.

Réactif et produits chimique	Appareille
<ul style="list-style-type: none">- Éthanol pur- Chloroforme,- Acétate d'éthyle- Hexane- Eau distillée- Réactif de Folin-Ciocalteu- Carbonate de sodium Na_2CO_3- Acide gallique- Quercétine- Réactif chlorure d'aluminium (AlCl_3)- Méthanol- ABTS- Persulfate de potassium- DPPH	<ul style="list-style-type: none">- Broyeur électrique.- Balance analytique- Plaque agitatrice- Étuve- Spectrophotomètre UV visible- Hotte chimique

Un certain nombre de petits matériels appropriés a été également utilisé dans cette étude. Il s'agit de : Tamis, béciers de différents volumes, Para film, éprouvettes graduées de différentes volumes, Pipette pasteur, boîtes de Pétri en verre, flacons en verre, micropipettes (100-1000 μL et 10-100 μL), spatule en verre, spatule en métal, tubes à essai stériles, des cuves de spectrophotomètre.

Annexe 2

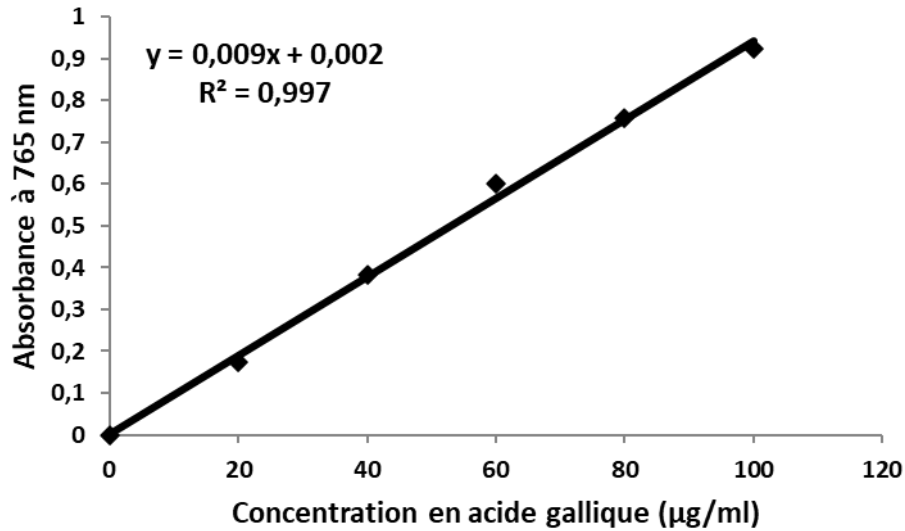
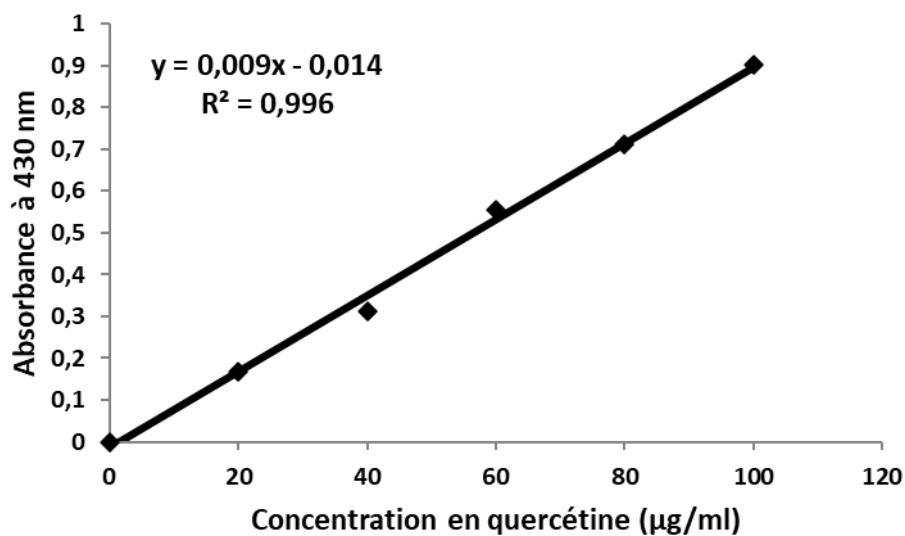


Figure A1 : Courbe (ou droite) d'étalonnage utilisée pour le calcul de la teneur en phénols totaux.

Avec : $y = 0,009x + 0,002$: L'équation de la courbe d'étalonnage ; y : Absorbance à 765 nm ; x : Concentration en mg EAG/g d'extrait et R : Coefficient de corrélation.



Annexes

Figure A2 : Courbe (ou droite) d'étalonnage utilisée pour le calcul de la teneur en flavonoïdes.

Avec : $y = 0,009 x - 0,014$: L'équation de la courbe d'étalonnage ; y : Absorbance à 430 nm ;

x : Concentration en mg EQ/g d'extrait et R : Coefficient de corrélation.

Résumé :

Les feuilles d'*Olea europaea* constituent une source de composés bioactifs aux bénéfices reconnus tant pour la santé humaine que pour des objectifs technologiques. L'objectif principal de la présente étude était d'évaluer *in vitro* la propriété antioxydante des extraits de feuilles d'olivier (OLE).

Dans le présent travail, différents extraits de feuilles d'olivier ont été obtenus par l'application de quatre solvants (Ethanol, chloroforme/eau, hexane/eau et acétate d'éthyle/eau). Les différents extraits ont été évalués pour leur teneur en phénols totaux et en flavonoïdes. La capacité antioxydante a été déterminée par les méthodes ABTS (2,2-azinobis (acide 3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) et DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl). En termes de teneur phénolique, Les résultats de l'analyse quantitative des composés phénoliques des extraits des feuilles d'*Olea europea* révèlent que ces derniers sont riches en phénols totaux et en flavonoïdes, L'extraits du chloroforme aqueux était le plus riches en phénols totaux 97,44 mg EAG/g d'extrait, tandis que le niveaux le plus élevé de flavonoïdes a été détectés dans l'extrait à l'acétate d'éthyle organique (57,56 mg EQ/g d'extrait). Par ailleurs, Les différents extraits de feuilles d'olivier ont démontré une activité antioxydante significative lors de l'utilisation du DPPH et de l'ABTS. L'extrait éthanolique brut présentait la plus forte activité antioxydante de l'ABTS avec un pourcentage (92,93%), alors qu'une forte activité de piégeage de radical DPPH est enregistrée dans l'extrait de l'hexane aqueux avec un pourcentage (91,28%).

Mots clés : Feuilles d'olivier *Olea europaea*, extraits, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, ABTS.

Abstract:

The leaves of *Olea europaea* constitute a source of bioactive compounds with recognized benefits both for human health and for technological purposes. The main objective of the present study was to evaluate the antioxidant property of olive leaf extracts (OLE) *in vitro*.

In the present work, different olive leaf extracts were obtained by the application of four solvents (Ethanol, chloroform/water, hexane/water and ethyl acetate/water). The different extracts were evaluated for their content of total phenols and flavonoids. The antioxidant capacity was determined by the ABTS (2,2-azinobis (3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) and DPPH (2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl) methods. In terms of phenolic content, the analysis results quantitative phenolic compounds from extracts of *Olea europea* leaves reveal that the

latter are rich in total phenols and flavonoids, The extracts of aqueous chloroform were the richest in total phenols 97,44 mg EAG/g extract, while the levels the highest flavonoids were detected in the organic ethyl acetate extract (57,56 ug EC/mg extract). Furthermore, the different olive leaf extracts demonstrated significant antioxidant activity. when using DPPH and ABTS The ethanol extract showed the highest antioxidant activity of ABTS with a percentage (92,93%), while strong radical scavenging activity. DPPH is recorded in the aqueous hexane extract with a percentage (91,28%).

Keywords: *Olea europaea* olive leaves, extracts, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, ABTS

ملخص:

تشكل أوراق *Olea europaea* مصدرًا للمركبات النشطة بيولوجيًا ذات الفوائد المعترف بها لكل من صحة الإنسان والأغراض التكنولوجية. كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم الخاصية المضادة للأكسدة لمستخلصات أوراق الزيتون (OLE) في المختبر.

في هذا العمل، تم الحصول على مستخلصات مختلفة من أوراق الزيتون من خلال إضافة أربعة مذيبات (الإيثانول، الكلوروفورم/ماء، الهكسان/ماء و خلاص الإيثيل/ماء). تم تقييم المستخلصات المختلفة لمعرفة محتواها من إجمالي الفينولات والفلافونويدات. تم تحديد قدرة مضادات الأكسدة بواسطة طرق (3 2-azinobis ABTS إيثيل بنزوثيازولين-6-حمض السلفونيك ((و DPPH(2,2-ثنائي فينيل-1 بيكريل هيدرازيل) فيما يتعلق بالمحتوى الفينولي، وينتج عن التحليل مركبات فينولية كمية من مستخلصات أوراق نبات *Olea europaea* تبين أن الأخيرة غنية بالفينولات الكلية والفلافونويدات، وكانت مستخلصات الكلوروفورم المائية هي الأغنى بمجموع الفينولات 97.44 ملغم/مجم من المستخلص، في حين تم اكتشاف أعلى مستويات الفلافونويدات في خلاص الإيثيل العضوية. علاوة على ذلك، أظهرت مستخلصات أوراق الزيتون المختلفة نشاطًا مضادًا للأكسدة عند استخدام DPPH و ABTS. أظهر المستخلص الإيثانولي الخام أعلى نشاط مضاد للأكسدة لـ ABTS بنسبة مئوية (92.93%)، في حين أنه قوي في الكسح. تم تسجيل نشاط جذر DPPH في مستخلص الهكسان المائي بنسبة (91.28%)

الكلمات المفتاحية: أوراق الزيتون *Olea europaea* ، المستخلصات، المركبات الفينولية، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH، ABTS.