

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOMEMASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Présenté par :

CHELABI AISSA

Thème

**Composition phénolique et activité antioxydante d'extraits
de feuilles d'olivier**

Soutenu le : 06 / 07 / 2019

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

HADIDI Lila

MAB.

Univ. de Bouira

Président

FERHOUM Fatiha

MAA.

Univ. de Bouira

Examineur

MOUDACHE Messaad

MAB.

Univ. de Bouira

Promoteur

Année Universitaire : 2018/2019



Remerciements

*Tout d'abord je tiens à remercier DIEU le tout puissant de
m'avoir
donné le courage et la
Volonté de terminer ce travail.*

*En tout premier lieu je tiens à remercier ma promotrice Mme
Moudache , de m'avoir proposée ce sujet, de m'avoir guidée,
soutenue et encouragée, pour ces précieux conseils et soutien
tout au
long de mon travail.*

*Je tiens à remercier HADIDI de m'avoir fait l'honneur de
présider le jury de ma soutenance.
A Mme FARHOUM et d'avoir accepté
d'examiner et de juger ce travail, qu'elles trouvent ici ma
sincère
gratitude.*

*A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de la
partie
pratique de mon
mémoire.*



Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mon père et ma mère sans qui ce travail ne serait pas réalisé

Mes frères (Abd elnour et Abd elhak) et mes sœurs (Mimi, Hayet, Amel, Halima et
iman)

A toute la famille Chelabi

Mes amis (Bilkacem, Abdo, lousif .Ahmed,alale,hamza ,) tous ceux que je connais et
qui me connaissent.

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

MG : Matière Grasse

UV : Ultra Violet

ERO : espèce réactive de l'oxygène

TCA : Trichloracetic Acid

PTS : Phénols Totaux Solubles

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

RLO : radicaux libre oxygéné

RL : radicaux libre

CP : Composés phénoliques

O₂^{•-}: Anion Superoxyde

OH[•]: Radical hydroxyle

ROO[•]: Radical peroxyde

BHT: Butylated hydroxytoluene

BHA: Butylated hydroxyanisole

CAT: Catalase

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

FeCl₃ : Chlorure de fer

OH: Hydroxyde

Mg GAE/100g : milligramme équivalent acide gallique par 100 gramme de matière sèche

NaOH : Hydroxyde de sodium

Figure 1 : Déséquilibre de la balance des espèces pro oxydants et des systèmes de défense antioxydants.....	5
Figure 2 : Exemple de quelques acides phénoliques de la série cinnamique.....	11
Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes.....	12
Figure 5 : Carte oléicole d'Algérie.....	20
Figure 6 : Photographie des feuilles après broyage.....	21
Figure 7 : Protocole d'extraction des composés phénoliques.....	22
Figure 8 : Protocole de dosage des polyphénols.....	22
Figure 9 : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	23
Figure 10 : Protocole de dosage des tannins condensés.....	23
Figure 11 : Protocole de dosage des tannins hydrolysables.....	24
Figure 12 : Protocole d'étude du pouvoir réducteur.....	26
Figure 13 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).....	27
Figure 14 : Protocole d'étude de l'activité du DPPH.....	27
Figure 16 : Teneurs en phénols totaux solubles.....	29
Figure 17 : Teneurs en flavonoïdes.....	30
Figure 18 : Teneurs en tannins condensés	31
Figure 19 : Teneurs en tannins hydrolysables.....	31
Figure 20 : Mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits de feuille.....	32
Figure 21 : Mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits de feuille.....	33
Figure 22 : Mise en évidence des terpénoïdes dans les extraits de feuille.....	34
Figure 23 : Activité antiradicalaire du DPPH des extraits bruts.....	35
Figure 24 : Pouvoir réducteur du fer par les extraits d' <i>Olea europaea</i>	35

Tableau I : Principaux nutriments antioxydants et leur sources alimentaires9

Tableau II : Composition chimique global des feuilles d'olivier (g /100 g).....16

Tableau III : Structures chimiques des composés phénoliques les plus abondants des feuilles d'olivier.....17

Tableau IV : Propriétés pharmacologiques des composés phénoliques d'*Olea europaea*.....19

Tableau VI : Résultats du criblage phytochimique qualitatif. Inscription dans les collèges locaux, 2005.....32

Tableau VII: Matrice de corrélation (R^2) des composés phénoliques et l'activité antioxydante.....36

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Radicaux libres et stress oxydant

I. 1. Les radicaux libres.....	3
I. 1. 1. Définition	3
I. 1. 2. Production des radicaux libres.....	3
I.1.3. Nature des radicaux libres dans le système biologique.....	3
I. 2. Stress oxydant.....	5
I. 2.1. Définition	5
I. 2.3. Les maladies liées au stress oxydant	6
I.2 .3. L'oxydation lipidique	6
I.2 .4. Oxydation des protéines.....	6
I. 3. Les antioxydants	7
I. 3.1. Définition	7
I. 3.2. Classification des antioxydants	7
I. 3.3. Utilisation des antioxydants.....	9

Chapitre II: Les composés phénoliques

II.1. Définition.....	10
II. 2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	10
II. 2.1. La voie de Shikimate	10
II. 2.2. La voie D'acide malonique	10
II. 3. Localisation au niveau cellulaire et tissulaire.....	10
II .4. Classification des composés phénoliques.....	11
II .5. Les propriétés antioxydantes des composés phénoliques.....	13
II.6. Intérêt des composés phénoliques.....	13

Chapiter III: *Olea europaea*

III.1.Historique.....	14
III.2. Classification	14
III.4.Distribution géographique.....	14
III.4.1.A l'échelle mondiale.....	14
III.4.2.En Algérie	15
III.2.Les feuilles d'olivier	15
III.2.1 .Description des feuilles.....	15
III.2.2.Biomasse.....	15
III.2.3.Composition chimique des feuilles d'olivier.....	16
III.2.4.Les composés phénoliques des feuilles d'olivier.....	17
III.6.Propriété pharmacologique des feuilles d'olivier	18
III.6.1. Action antioxydant.....	19

Partie expérimentale

I .Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	20
I.2. Préparation du matériel végétal	20
I. 2.1. Séchage.....	20
I. 2.2. Broyage et tamisage	20
I. 3. Extraction et dosage des composés phénoliques	21
I. 3.1. Extraction.....	21
I.3.2. Dosage des composés phénoliques.....	22
I.3.2.1. Phénols totaux solubles.....	22
I.3.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	22
I.3.2.3. Dosage des tannins condensés.....	23
I.3.2.4. Dosage des tannins hydrolysables.....	24
I.4. Mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires dans Les Extraits.....	24
I.5. Activité antioxydant des extraits de feuilles.....	25
I.5 .1. Pouvoir réducteur ferrique.....	25
I.5.2. Activité anti-radicalaire du DPPH.....	26
I.6. Analyse statistique des résultats.....	28

Sommaire

II .Résultats et discussion.....	29
Conclusion.....	38
Annexe	
Références	



Introduction générale

L'oxydation est générée par des radicaux libres, espèces chimiques instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. Les espèces moléculaires cibles de l'oxydation sont avant tous les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires, mais aussi les protéines, enzymes et ADN. Elle constitue probablement l'un des paramètres majeurs à l'origine de l'altération des produits alimentaires et cosmétiques. Les dégradations oxydatives qui en résultent affectent les qualités nutritionnelles (acides gras essentiels) et sensorielles des produits (composés volatils à flaveur caractéristique, rancissement) et même parfois à l'apparition de substances toxiques qui peuvent avoir des répercussions sur la santé humaine (Byun et al., 2010).

Les antioxydants synthétiques butylhydroxytoluène (BHT), l'hydroxyanisole butyle (BHA), etc.) Sont fréquemment utilisés pour stabiliser les graisses, les huiles et les lipides contenant des aliments. Cependant, nombreuses études ont porté sur la toxicité élevée des antioxydants synthétiques (Gomez-Estaca et al., 2014). La recherche de substances naturelles bioactives alternatives à l'utilisation des additifs alimentaires synthétiques, mais aussi l'étude de plantes possédant des propriétés potentiellement valorisables dans le domaine alimentaire sont parmi les thèmes-phares des projets de recherche actuels dans le monde.

Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques, notamment l'oleuropéine. Ces composés possèdent, entre autres, des pouvoirs antioxydant, anticancéreux, antimicrobien qui les rendent très importants pour les domaines de la santé et l'industrie agroalimentaire. **Aouidi**

Notre présent travail comporte deux parties

Dans la première partie de cette étude, nous avons commencé par une étude bibliographique sur les feuilles d'olivier, les composés phénoliques ainsi que le stress oxydant.

La deuxième partie, réservée à l'étude expérimentale et discussion des résultats, traite les points suivants :

Extraction et dosage de quatre classes de composés phénoliques (PTS, flavonoïdes, tannins hydrolysables et tannins condensés)

Introduction générale

Evaluation de l'activité antioxydante d'extrait de feuilles d'olivier au moyen de deux tests : Le pouvoir réducteur du fer et le piégeage du radical libre DPPH.

I. Radicaux libres et stress oxydant**I. 1. Les radicaux libres****I. 1. 1. Définition**

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

I. 1. 2. Production des radicaux libres

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respiration oxydative. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (Chu et *al.*, 2010).

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

I.1.3. Nature des radicaux libres dans le système biologique

La majorité des espèces radicalaires dans le corps est dérivée de l'oxygène, certaines peuvent être dérivées de l'azote (NO•) qui possède un électron partagé entre son atome d'azote et son atome d'oxygène (Benammar, 2011).

- **Espèces réactives de l'oxygène (ERO)**

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Lors de la réduction de l'oxygène en eau, 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ERO, radicaux libres) particulièrement réactionnelles (Koppenol,2001 ; Lesgards, 2000).

Dans une première étape, le radical libre anion superoxyde est formé, ce qui conduit par la suite à la production d'autres comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, le radical hydroxyle. De part leur nature instable, les ERO sont

toxiques et interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants (Pincemail *et al.*, 2002).

- **L'anion-radical superoxyde (O₂•)**

L'anion superoxyde est une ERO primaire, formée par l'acquisition d'un électron par l'oxygène moléculaire. Radical ayant la réactivité la plus faible parmi les radicaux libres du stress oxydant, il est généré à partir de différentes sources dans les conditions physiologiques et physiopathologiques. Il est cependant hautement réactif avec certains métaux de transition comme le cuivre, le fer et le manganèse (Abreu *et al.*, 2010).

- **Le peroxyde d'Hydrogène (H₂O₂)**

Le peroxyde d'hydrogène est généralement considéré comme une espèce réactive de l'oxygène relativement faible mais hautement réactif, capable de réagir avec les ions partiellement réduits Fe²⁺ et Cu⁺ pour former le radical hydroxyl dans la réaction de Fenton (Wardman et Candeias, 1996) :



- **Le radical hydroxyle (HO•)**

- Comme indiqué précédemment, le radical hydroxyle est formé à partir du peroxyde d'hydrogène au cours de la réaction de Fenton. Le radical HO• est considéré comme l'ERO la plus réactive, inactivant la pyruvate-déshydrogénase de la mitochondrie, dépolymérisant le mucus du tractus gastro-intestinal ou induisant directement des atteintes oxydatives à l'ADN (Lubec, 1996).

- **Les radicaux peroxydes**

Les radicaux peroxydes sont des radicaux secondaires issus de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone (R•).

Plusieurs modes d'actions sont décrits pour les propriétés oxydantes des radicaux peroxydes : transfert de charge (arrachement d'un électron) ou d'un atome d'hydrogène (arrachement d'un atome H), addition sur les doubles liaisons (réactions intramoléculaires ou intermoléculaires). Les radicaux RO₂• peuvent également se

décomposer avant d'avoir réagi avec un substrat en donnant des radicaux superoxydes (Gardès-Albert *et al.*, 2005).

- **L'oxygène singulet ($O_2\bullet$)**

L'oxygène singlet est produit en présence de rayonnement UV ou par les leucocytes. Il est à l'origine du vieillissement cutané, de la cataracte, de la dégénérescence musculaire liée à l'âge et de certains cancers de la peau (Saulnier *et al.*, 1995).

I. 2. Stress oxydant

I. 2.1. Définition

Le stress oxydant provient d'un déséquilibre de l'homéostasie redox (Fig. 01). Il se traduit par la formation excessive ou la suppression insuffisante des radicaux libres (RL) résultant, soit d'un manque de capacité antioxydant, soit d'une surabondance des RL. Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires, protéines, lipides et acides nucléiques, provoquant la mort cellulaire via l'apoptose ou la nécrose (Fig. 01) (Belaïch *et al.*, 2015 ; Belaïch et Boujraf, 2016).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (Aruoma, 1999).



Figure 01 : Déséquilibre de la balance des espèces pro oxydants et des systèmes de défense antioxydants (Belaïch et Boujraf, 2016).

I. 2.2. Les maladies liées au stress oxydant

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

I.2 .3. L'oxydation lipidique problèmes de conservation en agroalimentaire

Des principales préoccupations de l'industrie agro-alimentaire est d'assurer la conservation des aliments. En effet, l'oxydation des lipides au cours du traitement et de stockage des aliments est d'une importance majeure. Les acides gras polyinsaturés ainsi que les phospholipides membranaires sont les cibles privilégiées des attaques oxydatives qui forment des hydro peroxydes ; ces derniers sont sensibles à la poursuite de l'oxydation et la production des produits d'oxydation secondaire tels que les aldéhydes à chaîne courte, des cétones et d'autres composés oxygénés qui peuvent nuire à la qualité globale des aliments, y compris : la saveur, le goût (composés volatils à flaveur caractéristique, rancissement), la valeur nutritionnelle (acides gras essentiels) et la production de composés toxiques dont le malondialdéhyde (Moudache,2017).

I.2 .4. Oxydation des protéines

Les radicaux libres peuvent réagir avec les différents acides aminés et donc altérer la structure des protéines (Pastre, 2005). Une modification structurale mineure d'une protéine peut induire une forte variabilité dans le fonctionnement de celle-ci. Comme pour les lipides, c'est le radical hydroxyle qui est le plus réactif pour induire des altérations oxydatives des protéines introduisant de nouveaux groupes fonctionnels comme des fonctions hydroxyles ou carbonyles qui contribuent aux altérations des fonctions des protéines. L'oxydation induit également des modifications de conformation ainsi que des phénomènes de fragmentation (Kruidenier *et al.*,2002; Valko *et al.*,2006).

I. 3. Les antioxydants**I. 3.1. Définition**

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, et stable dans le produit fin (Hellal, 2011).

I. 3.2. Classification des antioxydants**I. 3.2.1. Classification Solon la nature chimique**

- **Antioxydants synthétiques**

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Plusieurs antioxydants synthétiques comme le BHA, le BHT, sont utilisés dans les cosmétiques et les huiles végétales (Guo *et al.*, 2006).

Le BHA et le BHT sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant la peroxydation des acides gras insaturés (Xiang *et al.*, 2007).

Malgré la puissance de leur activité antioxydant, l'excès de ces antioxydants synthétiques peut être toxique, responsable de mutagenicités et peut même présenter un danger pour la santé humaine (Williams, 1993)

- **Antioxydants naturels**

Les antioxydants naturels apportés par l'alimentation comprennent, généralement, des tocophérols, des caroténoïdes et des phénols végétaux bioactifs. Les effets bénéfiques sur la santé des fruits et légumes sont largement dus aux vitamines antioxydantes présentes par un grand nombre de composés phytochimiques (Caillet et Lacroix, 2007).

I. 3.2.2. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action**A : définition de la Mécanismes d'action des antioxydants**

En présence d'oxygène, l'oxydation des lipides insaturés ne peut pas être empêchée. De plus, c'est une réaction irréversible, cependant elle peut être inhibée. Les antioxydants sont des réducteurs qui ralentissent et inhibent l'oxydation des lipides. Ils peuvent agir sur différentes étapes de l'auto-oxydation et de l'oxydation (MOUDACHE. 2017).

B. La Classification des antioxydants Selon leur mécanisme d'action

- **Groupe I (les antioxydants primaires)**

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation (Frankel *et al.*, 2000 ; Huang *et al.*, 2005).

- **Groupe II (les antioxydants secondaires)**

Les antioxydants secondaires englobent une large gamme de différentes substances chimiques chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singlet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydants et destructeurs des hydroperoxides.

Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singlets dans une solution aqueuse et effectivement régénérer du tocophérol. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux (Miller *et al.*, 1996).

Tableau I: Principaux nutriments antioxydants et leur sources alimentaires (Mohammedi, 2013).

Principaux nutriments antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre et dans les œufs et les noix
GRAS	Légumes et fruits orangés et vert foncés
Flavonoïdes	Fruits, légumes et thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies et cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins et vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou, œufs, poissons et viandes

I. 3.3. Utilisation des antioxydants

Dans le domaine agro-alimentaire, les antioxydants sont principalement utilisés pour prévenir ou retarder les phénomènes d'oxydation des aliments au cours des procédés technologiques du transport et du stockage, les antioxydants synthétiques sont fréquemment utilisés pour stabiliser les graisses, les huiles et les lipides contenant des aliments (Byun et al, 2010; Wanasundara et Shahidi, 2005).

II. Les composés phénoliques

II.1. Définition

Avec environ 9000 structures naturelles élucidées à ce jour, les polyphénols constituent une famille importante de métabolites secondaires de faible poids moléculaire du règne végétal (Akowauh et *al.*, 2004). Sont des composés qui ont un ou plusieurs groupes d'hydroxyles attachés directement à un cycle aromatique. Le phénol est une structure sur laquelle le groupe entier est basé, le cycle aromatique est représenté par le benzène (Vermerris et Nicholson, 2006). Les polyphénols sont habituellement trouvés sous forme d'esters ou glycosides plutôt qu'en forme libre (Vermerris et Nicholson, 2006).

II. 2. Biosynthèse des composés phénoliques

Du point de vue biosynthétique, les composés phénoliques peuvent être engendrés par deux voies métaboliques: la voie du shikimate, la plus courante, qui conduit entre autre à la formation des acides phénoliques, flavonoïdes et lignines et la voie des polyacétates qui est à l'origine de composés polycycliques tels que les coumarines, les xanthones et les quinones (Machaeix et al., 2006).

II. 2.1. La voie de Shikimate

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Yao et *al.*, 1995).

II. 2.2. La voie de l'acide malonique

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Fleeger et Flipse, 1964).

II. 3. Localisation au niveau cellulaire et tissulaire

Les composés phénoliques s'accumulent principalement dans deux sites, d'une part, la paroi cellulaire où sont présentes les lignines, et d'autre part, dans la vacuole. Des flavonoïdes pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique mais toujours à très faible concentration. A l'échelle tissulaire, on observe

également des répartitions très inégales des différents composés phénoliques. Ainsi les anthocyanes et les pigments de type flavonols sont généralement présents dans les couches cellulaires externes des organes végétaux en particulier les épidermes de fruits et des feuilles (Sarni et Cheynier, 2006).

II .4. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont constitués d'un noyau aromatique comportant une ou plusieurs fonctions hydroxyles ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside, etc.). Ils peuvent être regroupés en nombreuses classes ayant comme point de différence la complexité du squelette de base, le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation) et les différentes liaisons possibles de ces molécules avec d'autres à savoir glucides, lipides, protéines et autres métabolites secondaires phénoliques ou non phénoliques (Naczk et Shahid, 2006)

II .4. 1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques représentent la forme la plus simple des composés phénoliques et se scindent en deux grands groupes distincts : les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) dérivés d'acide benzoïque, et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) dérivés d'acide cinnamique.

Les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque (Figure3) sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides. Exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables (Haslam ,1994)

Les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants (Figure 4) sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide ferrulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinaptique (Haslam, 1994).

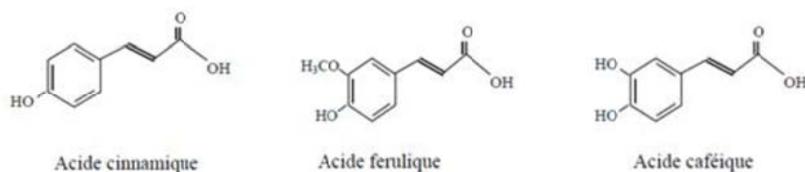


Figure 2 : Exemple de quelques acides phénoliques de la série cinnamique

II .4. 2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels quasiment universels chez les plantes vasculaires (Erlund, 2004). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havsteen, 2002).

L'ensemble des flavonoïdes ont un élément structural de base commun en C15 (C6-C3-C6) (figure 5). Selon leur structure moléculaire, ils peuvent être divisés en diverses classes. Les principaux groupes sont les flavanols, les flavones, les flavanones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanidines (Macheix *et al.*, 2006 , Mohammedi, 2012).

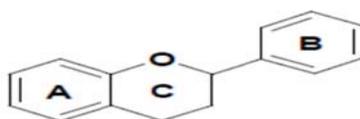


Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes

II .4. 3. Les tannins

Par définition, les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. Les tannins peuvent être divisés en deux groupes principaux en fonction de leurs structures (Hagermane, 2002).

II .4. 3.1. Les tannins hydrolysables

Ce sont des esters formés d'acide gallique et des molécules de glucose. Plus précisément, un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (enzymatique) et libérer une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide – l'acide ellagique (Sami-Manchado et Cheynier, 2006).

II .4. 3.2. Les tannins condensés

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3 ol dérivés de la (+) catéchine ou de ses nombreux isomères et constituent la classe des tannins catéchiques. Contrairement aux tannins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ils ont la propriété de complexer

les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux. Les polymères donnent une structure hérissée d'OH phénoliques capable de former des liaisons stables avec les protéines (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

II .5. Les propriétés antioxydantes des composés phénoliques

Les composés phénoliques ont été en grande partie étudiés pour leur forte capacité antioxydants. Leur intervention se fait à différents niveaux : piégeage de radicaux libres, chélation de métaux et inhibition de certaines enzymes.

II .5. 1. Le piégeage des radicaux libres

Les propriétés antioxydantes des polyphénols sont souvent associées à leur forme radicalaire. En effet, leur structure chimique aromatique permet une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leur forme radicalaire. Cette propriété leur confère la capacité de piéger les radicaux et les ERO (radicaux superoxydes, hydroxyle, peroxydes et alkoxydes) (Hennebelle., 2004 ; Pastre, 2005). Le piégeage des radicaux libres par les polyphénols.

II .5.2.La chélation des métaux

La production de radicaux hydroxyles très réactifs à partir de l'espèce moins réactive H₂O₂ via la réaction de Fenton a comme origine les ions métalliques comme le fer ou le cuivre (Macheix *et al.*, 2006).

composés phénoliques ont la propriété de chélater les métaux à forte charge positive (tels que le Cu²⁺, le Fe³⁺ et l'Al³⁺).pour forme des complexes (Lee *et al.*, 2004, Macheix *etal.*, 2006).

II.6. Intérêt des composés phénoliques

II.6. 1.Dans le domaine Agroalimentaire

Berset et Bondini (2000) posent le problème de la place des polyphénols dans l'alimentation et soulignent leurs différentes fonctionnalités à savoir :

L'action sur la qualité sensorielle des aliments, flaveur, saveur et couleur.

L'action sur la sécurité alimentaire, rôle antioxydant et antibactériens.

Plusieurs auteurs se sont intéressés à l'activité antioxydante des polyphénols.(Chimi *et al.*1988) au cours de leurs études ont mis en évidence le rôle des composés phénoliques dans la préservation de la qualité de l'huile.

III l'olivier**III.1.1 Historique**

L'olivier, comme la plupart des plantes naturalisées dans le bassin méditerranéen, est originaire de la région caucasienne où sa culture commença il y a 6 000 ou 7 000 ans, puis il se diffusa sur les côtes de la Syrie, de la Palestine et en Egypte (Villa, 2006).

Les Grecs participèrent à l'extension de l'aire oléicole avec leurs colonies d'Emilie et de Provence (Mahbouli, 1974).

Les Romains permirent ensuite une grande extension des oliveraies et un essor des échanges d'huiles d'olive (Mahbouli, 1974).

III.1.2. classification

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

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Scrophulariales*

Famille : *Oleaceae*

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea* L.

Sous-espèce : *Olea europaea* subsp *europaea* var. *europaea* .

III.1.3. Distribution géographique

L'olivier se présente sur tous les continents (excepté l'antarctique) : des régions tempérées du nord aux régions subtropicales du sud et des basses altitudes aux altitudes élevées (Wallander et Albert, 2000).

III.1.3.1.A l'échelle mondiale

En 2012, les oliveraies occupaient une superficie totale de 11 193 000 ha dans le monde, avec 1 460 000 000 pieds d'olivier.

Les principaux vergers d'olivier dans le monde sont : l'Espagne, l'Italie, la Turquie et la Tunisie (Alexandra ,2012)

III.1.3.2.En Algérie

Selon C.O.I (2006), la surface oléicole du notre pays est répartie sur rois régions:

- Le centre : représente une superficie de 54, 3 % de la surface totale.
- L'est : représente une superficie de 28.3 %.
- L'ouest : représente une superficie de 17%.

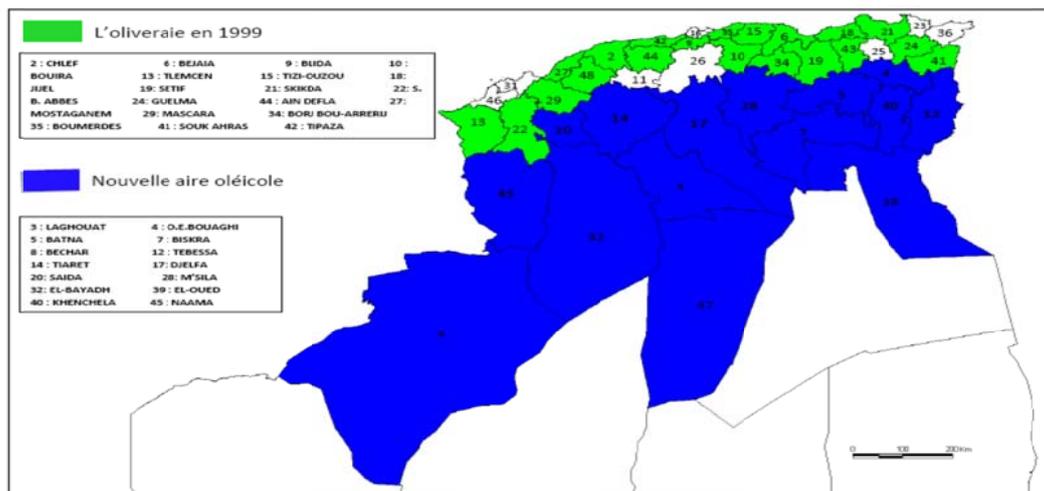


Figure 4 : Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008).

III.2.Les feuilles d'olivier

III.2.1 .Description des feuilles

Persistantes, opposées, coriaces, ovales oblongues, à entières et un peu enroulés, portées par un court pétiole ; elles sont vert grisâtres, à vert sombre dessous blanchâtres et à une seule nervure dessous (Amouretti, 1985).

III.2.2.Biomasse

En plus de l'huile et des olives en tant que produits principaux, l'industrie oléicole en gendre des grandes quantités de sous-produits tels que les feuilles d'olivier (10% du poids total des olives) et le grignon (Brahmi et al., 2012). Un olivier laisse en moyenne 25 Kg des feuilles et des brindilles annuellement, soit 15 millions de tonnes dans le monde (Nefzaoui, 1991) .La valorisation de ces résidus, engendrés en grande quantité, est devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole.

III.2.3. Composition chimique des feuilles d'olivier

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs : variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations (Nefzaoui, 1991). Elles contiennent des traces d'éléments vitaux pour la bonne santé tels que le sélénium, le fer, la vitamine C, le B-carotène et une grande partie d'acides aminés (Polzonetti et al., 2004).

Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines, des lipides, des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins). Et principalement par des polysaccharides (tel que la cellulose et l'hémicellulose). La teneur en protéine est faible dans les feuilles d'olivier. (Aouidi, 2012). Le Tableau II montre sa composition chimique globale selon différents auteurs.

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

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

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

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

Nd: valeur non déterminée

III.2.4. Les composés phénoliques des feuilles d'olivier

Des études suggèrent que les feuilles d'olivier sont une source importante de composés phénoliques bioactifs (Lee *et al.*, 2009) ; (Braham *et al.*, 2012). Cette teneur change selon l'âge, l'origine, les conditions climatiques, et la variété,.....etc (Braham *et al.*, 2012). Les feuilles d'olivier sont riches en : Flavonoïdes (lutéoline, quercétine...), les secoiridoïdes (oleuropeine, ligstroside...), les acides phénoliques tel que l'acide caféique, acide coumarique et chlorogénique (Ryan *et al.*, 2002 ; Khan *et al.*, 2007). et terpnoïde (acide oleanolique et des alools phénoliques tel que : tyrosol et hydroxytyrosols).

L'oleuropeine est le principal composé phénolique des feuilles d'olivier (Ryan *et al.*, 2002), il est aussi responsable de la saveur amère des olives (Esti *et al.*, 1998). Il est présent à raison de 5 à 7 mg/g de feuilles fraîches (Perrin, 1992). Les polymères phénoliques sont représentés par les tannins hydrolysables et condensés et principalement par la lignine (Fegrouse *et al.* 1995).

Tableau III : Structures chimiques des composés phénoliques les plus abondants des feuilles d'olivier. (Benavente-Garcia *et al.*, 2000)

Composé phénolique	Structure chimique
Oleuropéine	
Hydroxytyrosol	
Verbascoside	
Apigenin-7-glucoside	
Lutéolin-7-glucoside	

III.6. Propriété pharmacologique des feuilles d'olivier

Les feuilles d'oliviers possèdent des propriétés : hypotensives ; diurétiques légères ; hypoglycémiantes et hypocholestérolémiantes (Bennani et al., 1999).

Récemment plusieurs études ont mis le point sur le contenu des feuilles d'olivier et l'extraction de ces composés à haute valeur ajoutée, d'où leur utilisation dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques (Altiok et al., 2008).

En effet, les composés triterpénoïques, abondants dans les feuilles d'olivier, possèdent des propriétés pharmacologiques, ils ont des effets anti-inflammatoires, hépatoprotecteur, antitumoral, antiviral, antiVIH, antimicrobien, antifongique, Antidiabétique, gastroprotecteur tantin hyperlipidémique. Ils ne sont pas toxiques et sont utilisés dans les produits cosmétiques et médicaux.

III.6.1. Action antioxydant

Les composés phénoliques de l'olive dont les sécoiridoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives de l'oxygène (ERO). En effets, l'oleuropéine et ses dérivés l'hydroxytyrosol et le tyrosol ont montré un pouvoir anti radicalaire important sont capable de piéger les ERO et les espèces réactives de l'azote ce qui permet la protection d'ADN contre les lésions (De la Puerta et al., 2001). Les flavonoïdes exercent aussi leur activité antioxydant via leur groupe hydroxyle. Cette action est également due à la présence de triterpènes.

Tableau IV: Propriétés pharmacologiques des composés phénoliques d'*Olea europaea* (Moudache 2017).

Mécanismes d'action et indication cliniques	Références
Activité anti-oxydante	Altiok et al., 2008; Lee et al., 2009; Jemai et al., 2008; Benavente-García et al., 2000; Kiritsakis et al., 2010.
Activité anti-microbienne	Pereira et al., 2007; Bisignano et al., 1999, Sudjana et al., 2009, Cobrançosa et al., 2007.
Activité anti-viral	Micol et al., 2005; Omar 2010; Lee-Huang et al., 2003.
Activité hypo-glycémiant	Komaki et al., 2003 ; Gonzalez et al., 1992, Jemai et al., 2009.
Activité hypo-tensive	Khayyal et al., 2002 ; Somova et al., 2003; Eddouks et al., 2009; Susalit et al., 2011.
Activité anti-inflammatoire	Miljkovic et al., 2009, Benavente Garcia et al.,2000, Kim et al., 2003
Activité anti-cancérogène	Abaza et al., 2007; Bouallagui et al., 2011; Hamdi et Castellon., 2005; Menendez et al., 2007; Owen et al., 2003.

I. Matériel et méthode

I.1. Matériel végétal

Le matériel étudié dans cette étude est les feuilles d'olivier récoltés à Sour Elghozlane (wilaya de Bouira) en février 2019. Les feuilles sont cueillies sur les arbres.

I.2. Préparation du matériel végétal

I. 2.1. Séchage

Après la récolte, les feuilles sont nettoyées à l'eau pour enlever la poussière. Le séchage des feuilles s'est fait à l'aire libre et à l'abri de la lumière .

I. 2.2. Broyage et Tamisage

Les feuilles ainsi séchées sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur. La poudre de feuilles obtenue par broyage et tamisée à l'aide d'un tamis de 0.5 mm de diamètre et conservée dans un bocal en verre fermé et à l'abri de la lumière.

Figure 6 : Photographie originale des feuilles après drayage.

I. 3. Extraction et dosage des composés phénoliques

I. 3.1. Extraction

Les extractions sont effectuées selon la technique rapportée par Oomah et al.(2010) avec une légère modification :

2g d'échantillon sont extraits avec 80ml de solvant (Ethanol 70%, éthanol 50%, et l'eau distillée) fait une agitation sur une plaque agitatrice pendant 2 heures à la température ambiante (température du laboratoire).

L'extrait est filtré avec un tissu mousseline puis centrifugé à 4500 tr /15min.puis filtre et conserve les extraits a 4 C° a labre de lumière.

- **Mode opératoire :**

2g de poudre avec 80 ml de solvant (eau distille, Ethanol 70%, éthanol 50%)

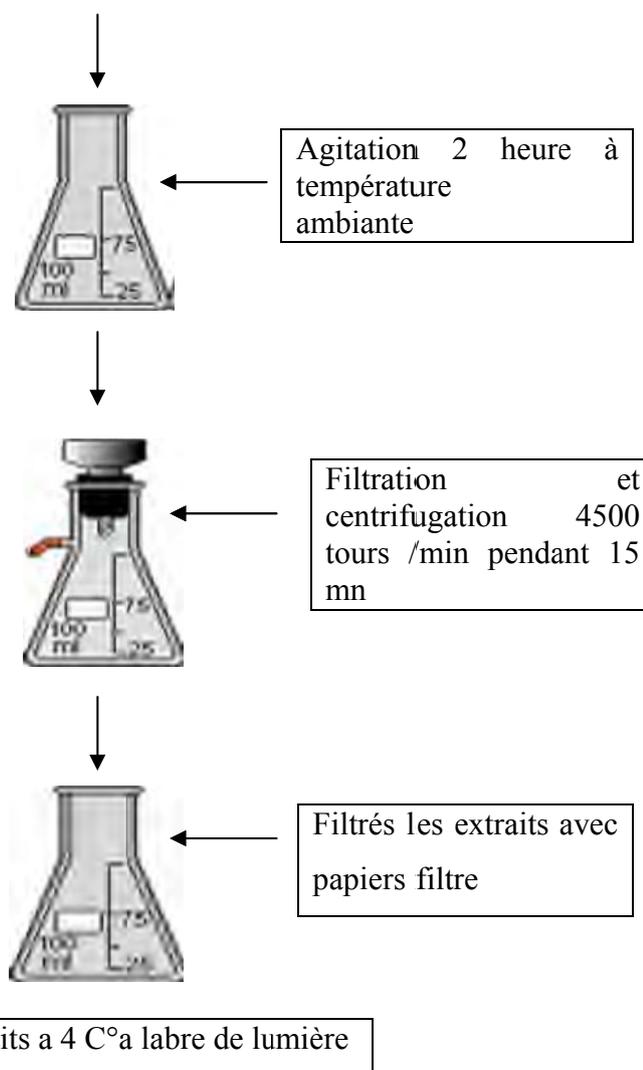


Figure 7 : Protocol d'extraction des composés phénoliques.

I.3.2. Dosage des composés phénoliques

I.3.2.1. Phénols totaux solubles

Le dosage des phénols totaux solubles est effectué par la méthode au Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi. (1965) rapportée par Škerget et al. (2005). Le réactif de Folin- Ciocalteu, mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (MO₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (Lapornik et al., 2005).

• **Mode opératoire :**

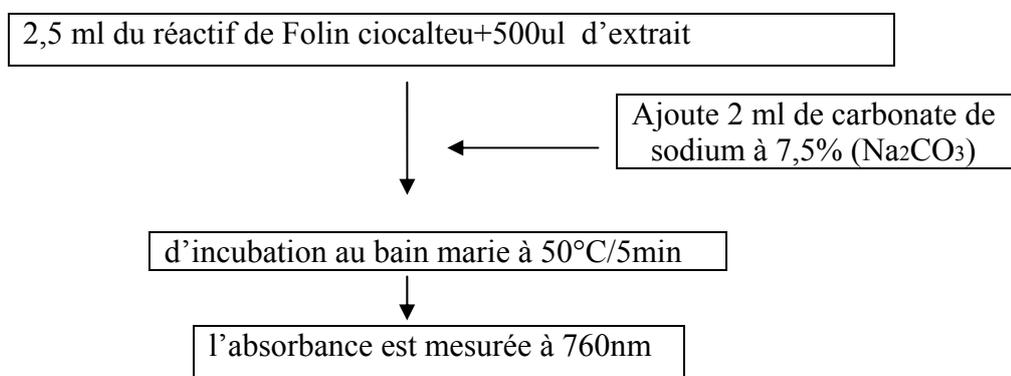


Figure 8 : Protocole de dosage des polyphénols.

La teneur en Phénols totaux solubles (PTS) est déterminée par référence à une courbe détalonnage obtenue avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalente d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EQ AG /gMS).

I.3.2.2. Dosage des flavonoïdes

La quantité de flavonoïdes contenue dans les extraits feuille est déterminée selon la méthode colorimétrique de Lamaison et Carnat (1990).

Cette méthode est basée sur la capacité des flavonoïdes à se complexer avec le chlorure d'aluminium. Il résulte de cette réaction une coloration jaunâtre avec un maximum d'absorption à 430nm.

- **Mode opératoire :**

1ml d'extrait a été ajouté à 1ml de chlorure d'aluminium (2%)



laissés à l'obscurité pendant 15min à température ambiante



Lecture à 430 nm

Figure 9 : Protocole de dosage des flavonoïdes.

La teneur en flavonoïdes, est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec le Quercitine. Les résultats sont exprimés en mg équivalente d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg Eq Q /gMS).

I.3.2.3. Dosage des tannins condensés

La teneur en tannins condensés est déterminée par la méthode à la vanilline (Deshpande et al., 1986), basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tannins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré et mesuré à 500 nm.

Mode opératoire :

2,5ml de vanilline-HCl (1:1) sont ajoutés à 0,5ml de l'extrait



homogénéisation et incubation au bain marie à 30°C pendant 20min



Lecture à 500nm

Figure 10 : Protocole de dosage des tannins condensés.

Les résultats sont rapportés à une gamme étalon et exprimés en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg eq C /gMS)

I.3.2.4. Dosage des tannins hydrolysables

Les teneurs en tannins hydrolysables sont déterminés par la méthode au chlorure ferrique décrite par Mole et Waterman (1987), basée sur la capacité du chlorure ferrique à réagir avec les unités des tannins hydrolysables pour donner une coloration bleue mesurée par spectrophotométrie à 660nm.

- **Mode opératoire :**

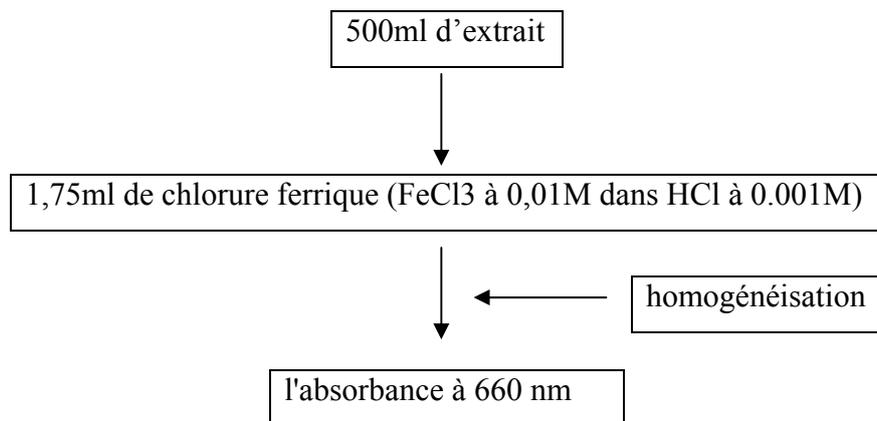


Figure 11 : Protocole de dosage des tannins hydrolysables.

La teneur en tannins hydrolysable est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique. Les résultats sont exprimés en mg équivalente d'acide tannique par gramme de matière sèche (mg EQ AT /gMS).

I.4. Autres métabolites secondaires

I.4.1. Mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires dans les Extraits

La mise en évidence de la présence des métabolites secondaires est effectuée sur trois types de composés (saponines, alcaloïdes et terpénoides)

La détection des saponosides est réalisée au moyen du test de Yadav et Agarwala (2011) : 3ml d'eau distillée sont ajoutés à 1 ml d'extrait. Après agitation pendant 2 min, la formation d'une mousse persistante indique la présence des saponines.

Cette dernière est mesurée. La lecture des résultats est rapportée à l'échelle suivante :

< 4mm : + . 4-8mm : ++ . > 8mm : +++

La présence d'alcaloïdes est révélée par la méthode d'Amana (2007) : Quelques gouttes du réactif de Bouchardat sont ajoutées à 2 ml d'extrait. La formation d'un précipité brun-noir, brun-terne ou jaune-brun indique la présence de ces métabolites dans l'extrait.

La méthode de Aziman et al. (2012) permet de mettre en évidence la présence de terpénoïdes : 1 ml de chloroforme est ajouté à 2.5 ml d'extrait. Après homogénéisation, 1.5 ml d'H₂SO₄ concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence de ces composés.

I.5. Activité antioxydant des extraits de feuilles

Elle réalise ou moins de deux tests :

- Effet scavenger du radical DPPH et mesure selon la méthode de Brand-Williams et al. (1995).
- le pouvoire reducteur est évalué Solon la méthode d'Oyaizu (1986)

I.5 .1. Pouvoir réducteur ferrique

Elle repose sur la réduction du fer ferrique Fe³⁺ (FeCl₃) en fer ferreux Fe²⁺ (FeCl₂) en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium K₃ [Fe(CN)₆].

- **Mode opératoire :**

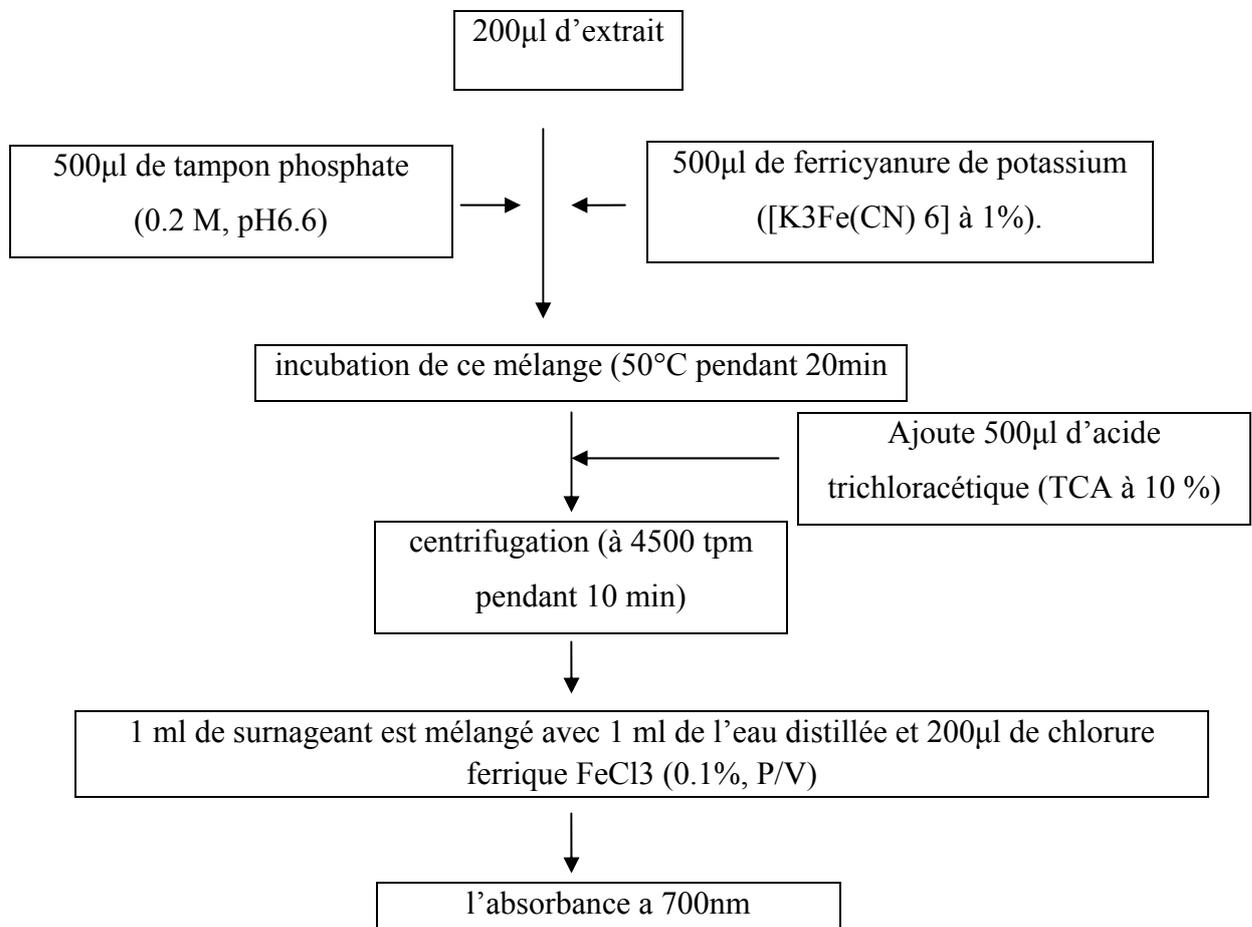


Figure 12: Protocole d'étude du pouvoir réducteur.

Le pouvoir réducteur de fer est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique par référence à une courbe d'étalonnage

I.5.2. Activité anti-radicalaire du DPPH

L'activité anti-radicalaire du DPPH des extraits phénoliques est déterminée selon la méthode décrite par Brand-Williams et al. (1995). Elle est basée sur la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène. Plus la perte de couleur est élevée plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort.

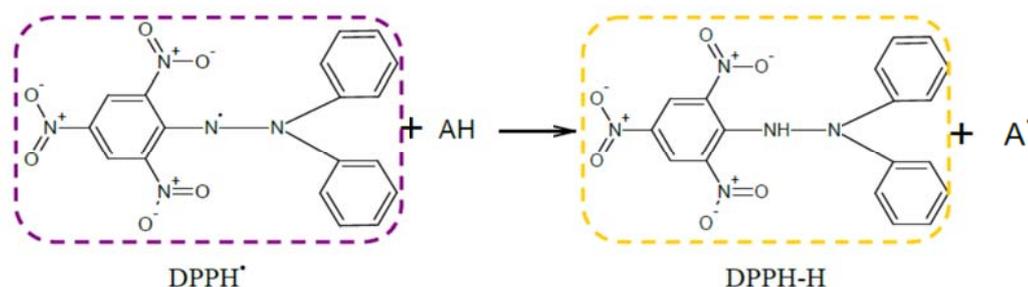


Figure 13 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).

• **Mode opératoire :**

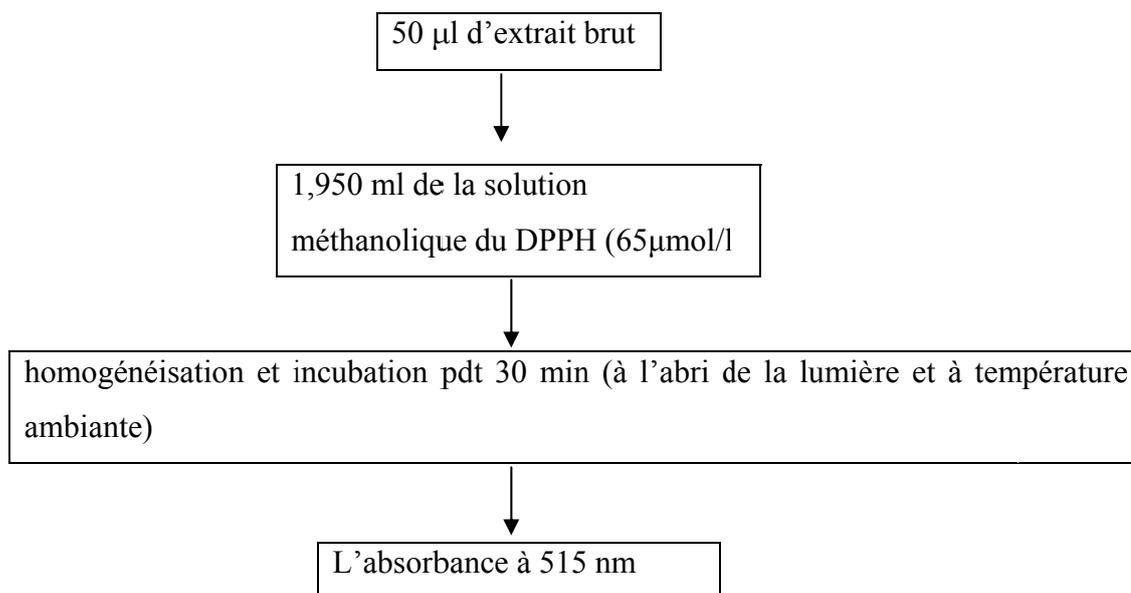


Figure 14 : Protocole d'étude de l'activité du DPPH.

Un témoin positif avec l'acide ascorbique et BHT est réalisé dans les mêmes conditions.

La capacité antioxydante de nos extraits est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation:

$$\% \text{Inhibition} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ extrait}) / A \text{ contrôle}] \times 100$$

- A contrôle : Absorbance du milieu réactionnel (solution méthanolique du DPPH sans l'échantillon)

- A extrait : Absorbance de l'extrait

I.6. Analyse statistique des résultats

Toutes les déterminations sont menées en triple. Tous les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un seul facteur, suivie d'une comparaison multiple des moyennes (Test LSD) au moyen du logiciel Statistica version 5.5. Les différences sont significatives à $p < 0.05$.

II .Résultats et discussion

II .1. Teneurs en composés phénoliques

Nos différents tests analytiques mettent en évidence la présence de différentes classes de composés phénoliques (PTS, flavonoïdes et tannins condensés et hydrolysables) dans les extraits de feuilles.

II.1.1.Teneurs en phénols totaux solubles

La figure 16 montre une variabilité de teneurs entre les différents extraits. L'extrait aqueux se caractérise par la plus faible teneur en PTS : 13 ,25 mg EqAG/gMS.

La substitution de l'eau par l'éthanol améliore de manière significative ($P<0.05$) l'extraction des PTS.

La plus forte est notée pour l'ETHOH (50%) (33,24 mgEqAG/gMS. $p< 0.05$), suivie de ETHOH (70%) (28,24 mg Eq AG/g MS).

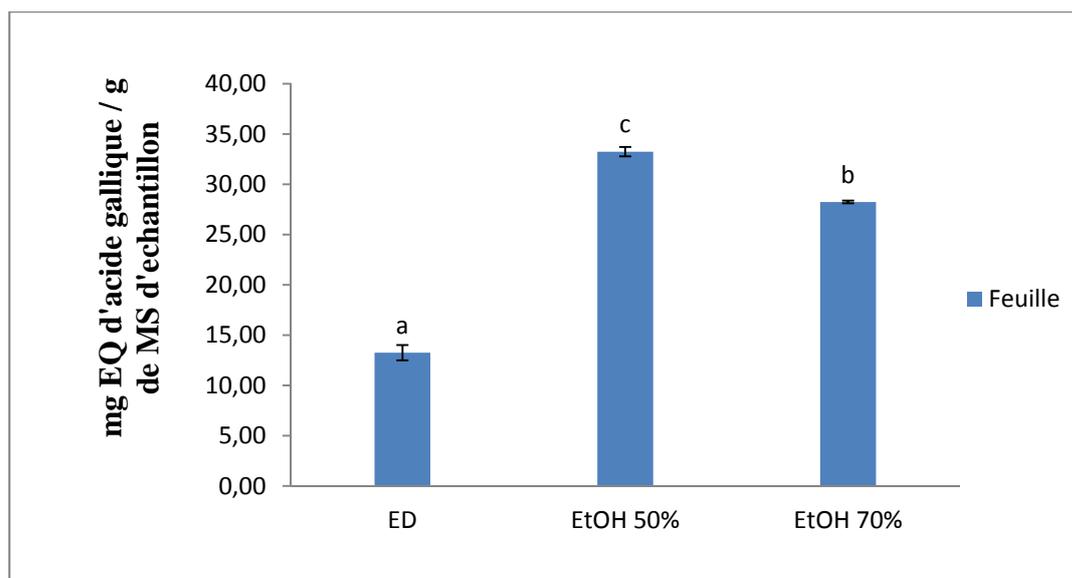


Figure 16 : Teneurs en phénols totaux solubles

IV .1.2. Teneur en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des différents échantillons sont illustrés dans la figure 17. Les extraits aqueux des feuilles caractérisent par les teneurs les plus faibles en flavonoïdes : 1,05 mg EQ Q/g MS ($P<0.05$).

L'augmentation de la substitution de l'eau par l'éthanol (50% et 70%) s'accompagne

d'une amélioration progressive de la solubilisation des phénols totaux des feuilles : Les teneurs notées pour l'éthanol (50%) et ethanol 70 % sont respectivement (1,78 mg Eq Q /g MS.), et (5,03 mg Eq Q /g MS) $p < 0.05$.

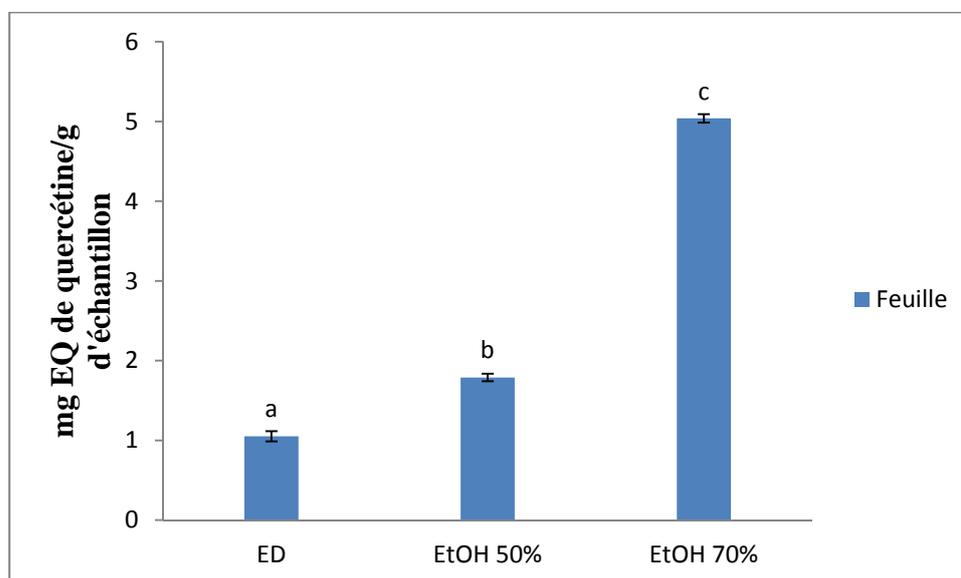


Figure 17: Teneurs en flavonoïdes

IV .1.3. Teneurs en tannins condensés

Les extraits aqueux de feuilles (figure18) renferment les plus faibles quantités en tannins condensés (2,10 mg EC C /g MS).

L'optimum d'extraction est atteint avec l'éthanol (70%) (4,63 mg Eq C/g MS). L'incorporation de quantités croissante d'éthanol dans le solvant d'extraction augmente significativement ($P < 0.05$) la solubilisation des Teneurs en tannins condensés des feuilles

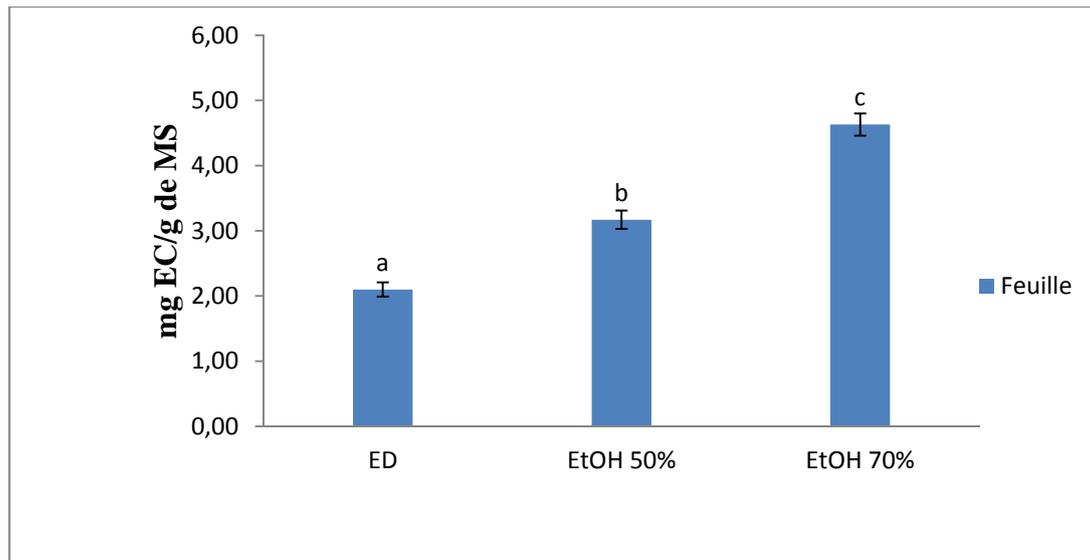


Figure 18 : Teneurs en tannins condensés.

IV .1.4. Teneurs en tannins hydrolysables

La figure 19 illustre la variabilité de teneurs en tannins hydrolysables de nos échantillons $p < 0.05$.

Les extraits aqueux affichent les plus faibles teneurs en tannins hydrolysables:

6,32 mg Eq AT/g MS.

Dans nos conditions expérimentales, la solubilisation des tannins hydrolysables de feuilles augmente avec le taux de substitution de l'eau avec l'éthanol. Les teneurs sont respectivement 24.07 et 31.02 mg Eq AT/ g MS pour l'éthanol 50% et l'éthanol 70%

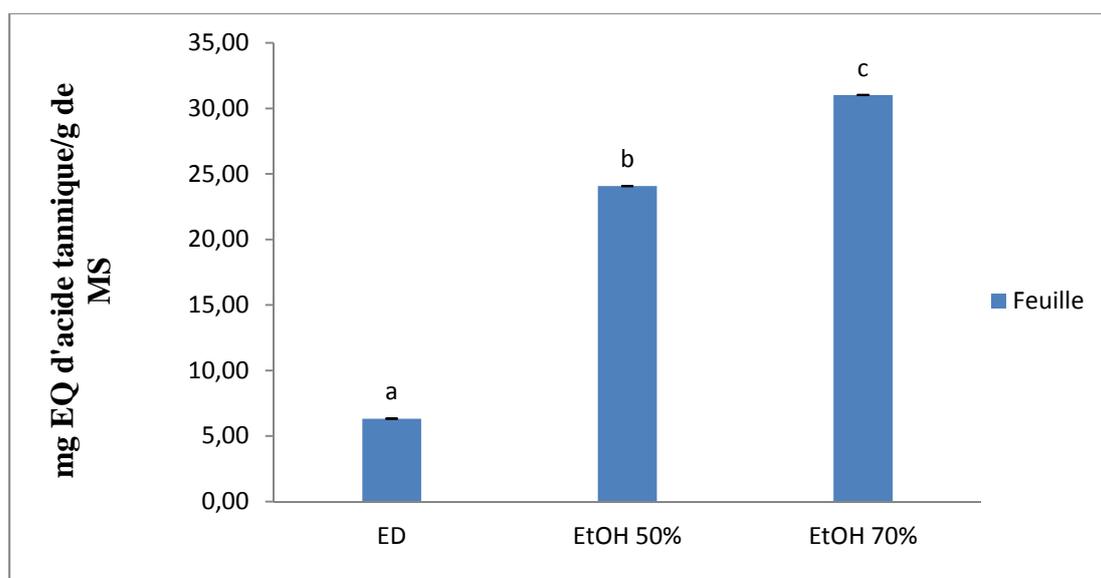


Figure 19: Teneurs en tannins hydrolysables

I.2.3. Autre métabolites secondaires

I.2.3.1. Résultats du Screening chimique

Les résultats du criblage phytochimique qualitatif (Tableau VII) montrent des différences relatives à la présence ou non d'autres métabolites secondaires (saponines, alcaloïdes, et terpénoïdes).

Tableau VI: Résultats du criblage phytochimique qualitatif.

Feuilles	ED	Ethanol 50%	Ethanol 70%
Saponines	++	+++	++
Alcaloïdes	-	-	-
Terpénoïdes	+	++	+

+ : présence de composé ; ++ : présence en abondance, - : absence de composé.

Saponines (Hauteur de la mousse): < 4mm : + ; 4-8mm : ++ ; > 8mm : +++

a) Alcaloïdes

La figure 20 montre les différents extraits après réaction avec le réactif de Bouchardat, l'absence d'un précipité brun-noir, brun-terne ou jaune-brun indique l'absence d'alcaloïdes.

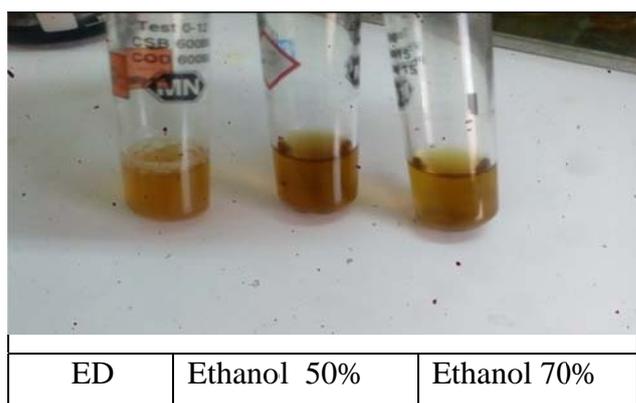


Figure 20: Mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits de feuille

b) Saponines

Les saponines sont présentes (figure 21) dans tous les extraits.

La présence de l'éthanol dans le solvant augmente légèrement la solubilité des saponines.

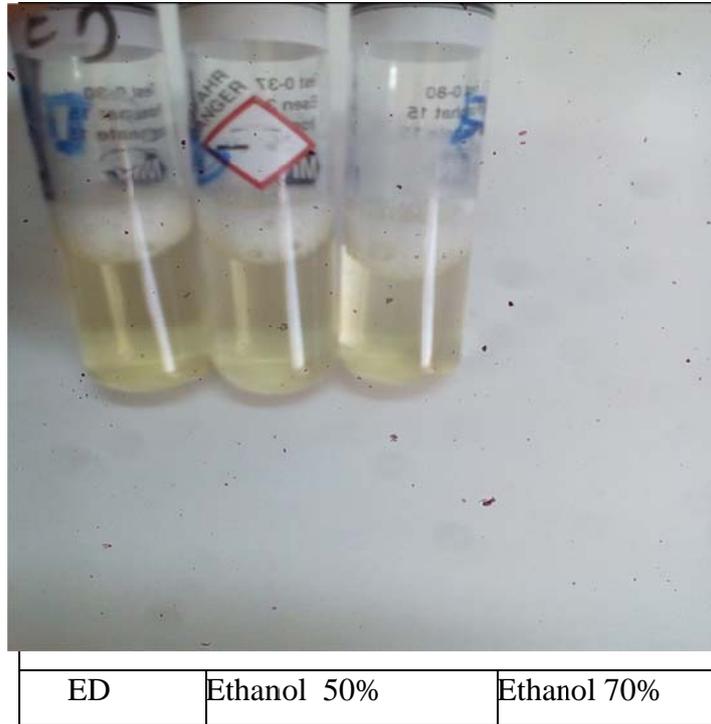


Figure 21: Mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits de feuille

c) Terpenoïdes

Nos résultats (figure 22) montrent que les terpénoïdes, présents dans les extraits.

Ils sont mieux solubilisés par l'éthanol 50%

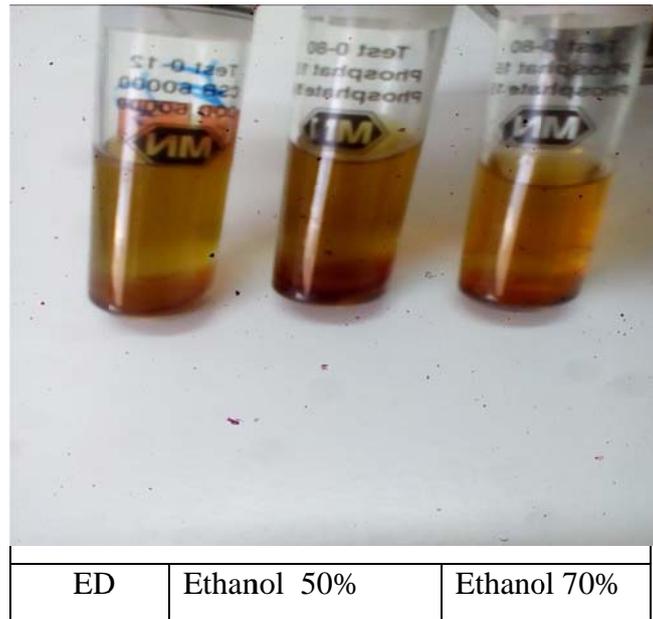


Figure 22: Mise en évidence des terpénoïdes dans les extraits de feuille

I.2.4. Activité antioxydante d'extraits de feuilles

I.2.4.1. Activité anti radicalaire du DPPH

La figure 23 illustre la variabilité de réduction du radical libre DPPH de nos différents échantillons.

Dans nos conditions expérimentales, l'activité des différents extraits est inférieure à celle de l'acide ascorbique.

L'extrait aqueux de feuilles se caractérise par le plus faible pourcentage de piégeage du radical libre (89.13%).

La substitution de l'eau par l'éthanol améliore significativement ($P < 0.05$) l'activité scavenger des extraits. Aucune différence significative n'a été détectée entre les extraits éthanoliques ($P > 0.05$), les valeurs sont respectivement 91.86% et 91.68% pour ethanol 50% et ethanol 70%.

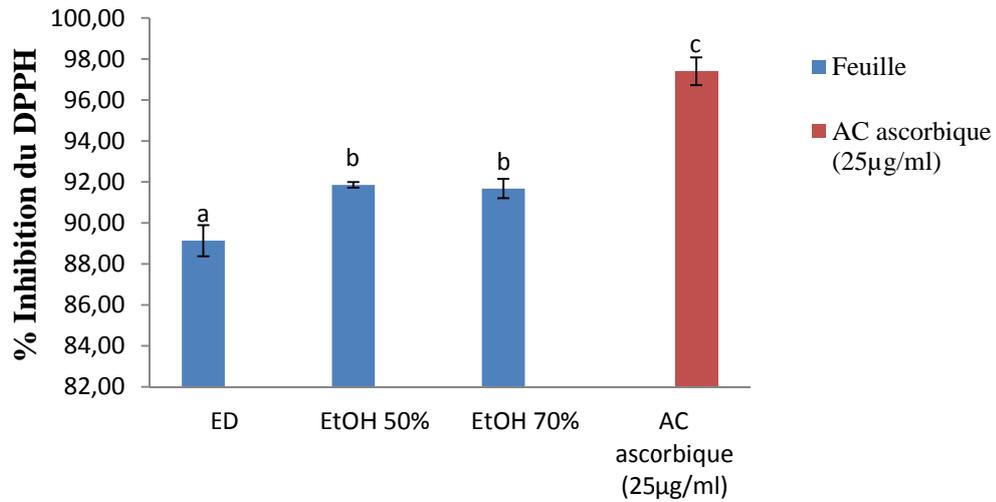


Figure 23 : Activité antiradicalaire du DPPH des extraits bruts

1.2.4.3. Pouvoir Réducteur du Fer

Nos données analytiques (Figure 24) montrent que tous les extraits testés manifestent un pouvoir réducteur ferrique.

Les extraits à l'éthanol 50% et 70% donnent la meilleure activité : 60,81 et 63,76 mg Eq AA/g de MS.

L'incorporation de l'éthanol à 50% et 70% améliore d'une manière significative la capacité réductrice du fer des extraits ($p < 0.05$).

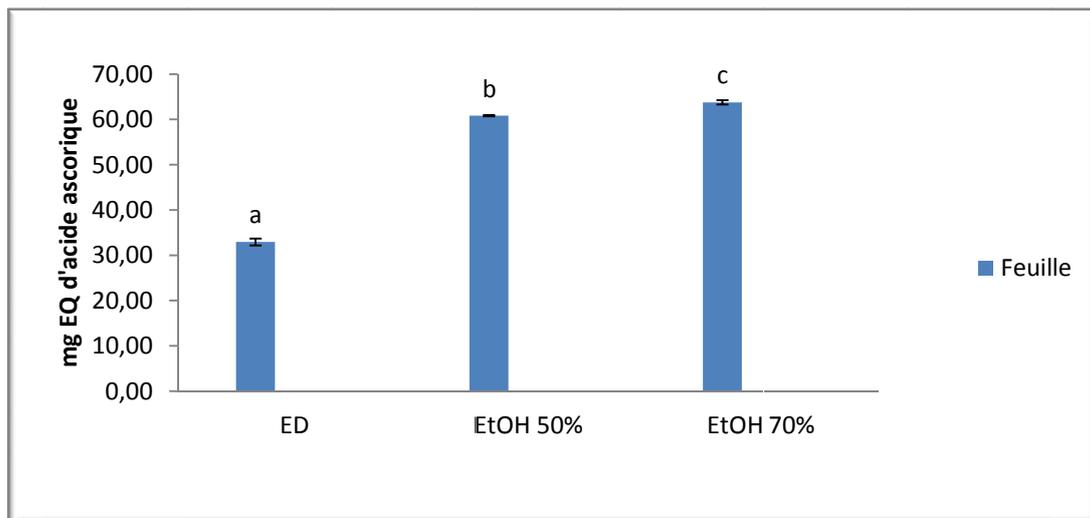


Figure 24: Pouvoir réducteur du fer par les extraits d'*Olea europaea*

I.3. Corrélations de l'activité antioxydante avec les teneurs en composés phénoliques

Les données rapportées dans le Tableau XIII relèvent des corrélations entre activités antioxydantes et les teneurs en composés phénoliques. Les diverses corrélations rapportées diffèrent entre elles par le niveau de signification.

Nous notons une corrélation hautement significative entre le DPPH et la teneur en phénols totaux solubles ($R^2= 0.806$), les tannins hydrolysables ($R^2= 0.902$) et les tannins condensés ($R^2= 0.631$); les flavonoïdes participent pour (49%) de cette activité.

Tableau VII: Matrice de corrélation (R^2) des composés phénoliques et l'activité antioxydante.

Variables	PTS	FLAV	TC	TH	DPPH	FRAP
PTS	1					
FLAV	0,195	1				
TC	0,425	0,812	1			
TH	0,780	0,653	0,828	1		
DPPH	0,806	0,492	0,631	0,902	1	
FRAP	0,896	0,489	0,712	0,970	0,934	1

Le pouvoir réducteur du fer des extraits est significativement corrélé avec chacune des quatre classes des composés phénoliques dosés (phénols totaux solubles, flavonoïdes et tannins (condensés et hydrolysables) ($R^2= 0.896, 0.489, 0.712$ et 0.970 respectivement). Nos données suggèrent que l'essentiel de cette activité est due majoritairement aux PTS (89.6%), tannins hydrolysables (97%) et tannins condensés (71.1%) des extraits. Une corrélation très significative est enregistrée entre DPPH et pouvoir réducteur ($R^2= 0.934$)

I.4. Discussion générale :

La mise en évidence de la présence de diverses classes de composés phénoliques (Phénols totaux solubles, flavonoïdes, et tanins condensés) dans les extraits de feuilles est en accord avec les données de la littérature, très variables au demeurant.

Les teneurs en phénols totaux solubles (13,25 à 33,24 mg Eq AG/g MS) se rapprochent des valeurs rapportées par Abaza et al. (2011); Botsoglou et al. (2010 et 2012); Amari, (2012) ; Meziani et al. (2015), (16,52 à 104 mg Eq AG/g MS).

Les teneurs en flavonoïdes (1,05 et 5,03mg Eq Q /g MS) s'intègrent dans l'intervalle des valeurs obtenues par Makris et al. (2007b); Abaza et al. (2011); Botsoglou et al. (2012); Brahmi et al. (2012) (0,81 à 21,47 mg Eq Q /g MS).

Concernant les tannins condensés, les teneurs enregistrées (2,10 à 4,63 mg Eq C/g MS) dans nos extraits s'intègrent dans l'intervalle des valeurs rapportées par Martín García et al. (2003) et Vinha et al. (2012) (0,37 à 8,33 mg Eq C/g MS).

La comparaison avec les données de la littérature n'est pas aisée, tant divers facteurs (végétal, saison, climat, variété, procédé d'extraction, etc.) peuvent influencer. Dans le présent travail, seul le solvant intervient dans la variabilité des teneurs en différentes classes des composés phénoliques des deux substrats étudiés.

En accord avec Altioek et al. (2008) et Abaza et al. (2011), nous avons noté que l'incorporation du solvant organique à l'eau améliore la solubilité des différentes classes de composés phénoliques.

L'activité antioxydant des extraits est évaluée au moyen de deux tests: pouvoir réducteur ferrique et effet scavenger du radical DPPH.

Nos résultats concernant l'activité scavenger du radical DPPH des extraits de feuilles d'*Olea europaea* (89.13% à 91.86 %) sont en accord avec ceux rapporté par Brahmi et al. (2012) et Vinha et al. (2012) (49.94% à 90 %). De même les différents extraits ont manifesté un pouvoir réducteur élevé.

Pour un même test, les différences d'activité révélées pourront être dues à la différence d'activité des composés solubilisés. Cette hypothèse est corroborée aussi bien par la variation de teneurs en divers classes de composés phénoliques solubilisés.

Une corrélation linéaire fortement significative est obtenue par Lee et al. (2009) ; Brahmi et al. (2012) ; Terpinic et al. (2012) entre l'activité antioxydante et de la teneur en composés phénoliques de feuilles d'oliver indiquant que les composés phénoliques peuvent contribuer directement à l'effet antioxydant.

Conclusion générale

Notre étude a été consacrée à l'extraction et dosage des composés phénoliques des feuilles d'olivier et l'évaluation de leur activité antioxydante.

Les résultats ont montré une composition riche et variée en métabolites secondaires (Flavonoïdes, tannins et phénols totaux solubles) dans tous les extraits. La teneur en phénols totaux solubles varie de 13,25 à 33,24 mg EqAG/g MS, pour les flavonoïdes elle varie entre 1,05 et 5,03 mg EqQ/gMS et pour les tanins condensés elle varie de 2,10 à 4,63 EqAG/gMS. Et enfin pour les tanins hydrolysables elle varie de 6,32 à 31.02 mg Eq AT/g MS.

Dans nos conditions expérimentales, l'utilisation d'un solvant binaire (éthanol/eau) améliore significativement ($P < 0.05$) la solubilité des composés bioactifs.

Les différents extraits testés ont manifesté une activité antioxydante remarquable par les deux tests (DPPH et pouvoir réducteur). Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH varie de 89.13% à 91.86%. Pour le pouvoir réducteur de fer les valeurs enregistrées varient entre 32,94 à 63,76 mg EAA/g de MS.

Les extraits éthanoliques manifestent une plus forte activité que celle des extraits aqueux.

Référence bibliographique

A:

Abaza, B. L., Youssef, N. Ben, Manai, H., & Haddada, F. M. (2011). Chétoui olive leaf extracts : influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Test*, 62(1), 96–104.

Abreu I. A., et Cabelli D. E., (2010). Superoxide dismutase-a review of the metal-associated mechanistic variations. *Biochimica Biophysica Acta*. 1804: 263-274.

Aouidi, F. (2012). Etude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europaea* dans l'industrie Agro-Alimentaire. thèse e doctorat, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie). pp 140.

Abaza, B. Youssef, N. Ben, Manai, H., et Haddada, F. M. (2011). influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Test*, 62(1), 96–104.

Alexandra p., (2012) : Le marché de l'huile d'olive : Situation et perspectives.

Amouritti M et Comet G., 1985. Le livre de l'olivier. Ed. Edisud.

Aouidi, F. (2012). Etude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europaea* dans l'industrie Agro-alimentaire. Thèse en doctorat, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie). pp 140.

Arimboor R., Kumar K. S., et Arumughan ,C. (2008). Simultaneous estimation of phenolic acids in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) using RP-HPLC with DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* .47(1): 31-38.

Altiok,E., Ulku,S. (2008). Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves bay absorption an silk fibron.

Akowauh G.A ., Zhari. I ., Norgyati. I ., Sadikun.A et Khamsah S.M (2004). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry* , 559-566.

Amari, S. (2011). Fractionnement des extraits d'*Olea europaea* L et *Ceratonia siliqua* L par CCM et essais sur *Pectobacterium atrosepticum*. Mémoire de magister. Université de Béjaia. pp, 67.

Référence bibliographique

B :

Botsoglou, E., Govaris, A., Christaki, E., et Botsoglou, N. (2010). Effect of dietary olive. oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 121(1), 17–22.

Botsoglou, E., Govaris, A., Ambrosiadis, I., et Fletouris, D. (2012). Lipid and protein oxidation of α -linolenic acid-enriched pork during refrigerated storage as influenced by diet supplementation with olive leaves (*Olea europea* L).

Brahmi, F., Mechri, B., Dabbou, S., Dhibi, M., et Hammami, M. (2012). The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations.

Byun, Y., Kim, Y. T., & Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 239–244.

Byun, Y., Kim, Y. T., & Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 239–244.

Bouhadjra , K. (2011). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge p45, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10, 38-42.

Benammar , C. E. 2011. Effets antioxydants et immuno-modulateurs d'une plante médicinale nord africaine, *Zizyphus lotus* L. (Sedra): étude des différents extraits. Thèse de Doctorat en Biologie moléculaire et cellulaire

Benammar , C. E. 2011. Effets antioxydants et immuno-modulateurs d'une plante médicinale nord africaine, *Zizyphus lotus* L. (Sedra): étude des différents extraits. Thèse de Doctorat en Biologie moléculaire et cellulaire à l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 84.

Byun, Y., Kim, Y. T., & Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 239–244.

Référence bibliographique

Byun, Y., Kim, Y. T., & Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant poly(lactic acid) (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 239–244.

Bouhadjra K. (2011). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge p45, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10, 38-42.

Berset, C., Bondini L. 2000. Rôles des polyphénols en alimentation et santé humaine. *Industries Alimentaires Et Agricoles*. 12: 20-24.

Erlund, J. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutrition Research*.

Bannani kabchi, n., fbhil et cherah, y.(1999). effet of olea europea var.oleaster leaves in hypercholesterolemic insulin resistant sand rats .

Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., & Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L.

Brahmi, F., Mechri, B., Dabbou, S., Dhibi, M., et Hammami, M.(2012). The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations. *Industrial Crops and Products*.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.

C:

Caillet, S. et Lacroix, M. (2007). Les huiles essentielles leur propriétés antimicrobienne et leur applications potentielles en alimentaire. *INRS-INSTITUT ARMAND-FRAPPIER*, p,1-8.

ChuW, L., LimY, W., Radhakrishnan, A., Et Lim, P. 2010. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementar and alternative Medicine*, 10(59):2-8

Chimi, H., Sadik A., Tutour L. B., et Rahmani, M. (1988). Contribution à l'étude comparative des pouvoirs antioxydants dans l'huile d'olive du tyrosol, de l'hydroxytyrosol, de l'acide caféique, de l'oleuropéine et du BHT. *Revue Française des Corps Gras*. 35 (8-9): 339-344.

Référence bibliographique

COI (conseil oléicole international) (2000): Catalogue mondial des variétés d'olivier. p : 360

Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants.* Columbia University Press. Qualitative Study of Teachers' Perceptions, *Health Education*, 102 (3), 113-123.

D:

Deshpande S. S., Cheryan M., et Salunkhe D. K. 1986. Tannin analysis of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 24: 401-449.

E.

Esti , M .et Cinquanta , L. (1998). Phenolic compounds in différent olive varieties. *J. Agric. Food Chem.* **46** :32-35.

f :

FRANKEL, E.; MEYER , S. (2000). "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants". *Journal of Science and Food Agriculture*. P 80: 1925-1941.

Fritsch , P. 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/Sciences*. 20(4): 458-463.

FAVIER A., 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p108-11.

Fleeger J. L., et Flipse I. J. 1964. Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *Journal of Dairy Science*.47 (5): 535-538.

Fegeros, K., Zervas, G., Apsokardos, F., Vastardis, J., & Apostolaki, E. (1995). Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*, 17(1), 9–15.

G:

Guo L, Xie MY, Yan AP, Wan YQ et Wu YM. (2006). Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC- MS analytical and bioanalytical and bioanalytical. *Chemistry*, 386(6), 1881-1887.

Gardès-Albert , M., et Jore , D. (2005). Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène. In : « Radicaux libres et stress oxydant ». Ed. Lavoisier. Paris.1-23.

Ghedira , K. (2008). L'olivier. *Phytothérapie Springer*, Volume 6, Number 2, 83-89(7).

Référence bibliographique

H:

HUANG, D., PRIOR , R. (2005). "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (6): 1841-1856.

HELLAL, Z., 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

Hagerman ,A. E. 2002. Tannin chemistry. *Tannin Handbook*. 86: 104 -105.

Havsteen ,B. H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *PharmacologyandTherapeutics*. 96: 67-202.

Hennebelle,T. 2004. Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de la lamiles productrices d'antioxydants: *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées).Thèse de Doctorat en Chimie organique de l'Université des Sciences et Technologies de Lille.

J:

Jacques ,B .and André , R. 2004. Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris.

K :

Khan, M .,Panchal ,S., Vyas ,N .(2007). *Olea europaea*. *Phytopharmacol Review*.

Koppenol ,W. H.2001. The Haber-Weiss cycle, 70 years later. *Redox Report*.

Kruidenier ,L., et Verspaget , H. W.2002. Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease-radicals or ridiculous?. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*.16: 1997-2015.

L:

Lamaison, J. L., & Carnet, A. (1990). Teneurs en principaux flavonoides des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. (Rosaceae). *Pharmaceutica Acta Helvetica*, 65, 315–320.

Lubec, G. 1996. The hydroxyl radical: from chemistry to human disease. *Journal of Investigative Medicine*. 44: 324-346.

Lee ,J., Koo, N.,et Min, D. B. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safty*. 3:21-33.

M:

Référence bibliographique

Marc , F., Davin A., Deglène-Benbrahim , L., Ferrand , C., Baccaunaud , M., et MILLER , ET AL., 1996.Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.* 384 : 240-2.

MOHAMMEDI , Z., 2013.Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen Algérie. p 60.

Moudache,m.(2017). Potentiel antioxydant d'extraits de coproduits d'olivier : Application dans un emballage actif, THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT, Université A.MIRA-BEJAIA Algérie.

Martinez-Cayuela , M. 1995. Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.*77: 147-161.

Mole S., et Waterman P. G. 1987. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II. Techniques for biochemically defining tannins. *Oecologia.* 72: 148- 156.

Macheix ,J. J., Fleuriet A., et Sarni-Manchado , P. 2006. Composés phénoliques dans la plante-structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: « Les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec &Doc. Lavoisier. 1-26.

MohammediZ. 2012. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie de l'Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 170.

Macheix, J. J., Fleuriet A., et Sarni-Manchado ,P. 2006. Composés phénoliques dans la plante-structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: « Les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec &Doc. Lavoisier. 1-26.

Mahbouli , A.(1974):« L'économie oléicole dans le méditerranéen- options méditerranéennes ».24-39-34 (1974) 12ème congrès international des industries agricoles et alimentaires-Athènes.

Martín García, A. Moumen, A.et Molina Alcaide, E. (2003). Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 107(1-4), 61–74.

Makris, D. P., Boskou, G., et Andrikopoulos, N. K. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2), 125–132.

Référence bibliographique

Meziani, S., Oomah, B. D., Zaidi, F., Simon-Levert, A., Bertrand, C., & Zaidi-Yahiaoui, R. (2015). Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microbial Pathogenesis*, 78(December), 95–102. Micol, V., Caturla, N., Pérez

N:

Naczka, M., et Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1523-1542.

Nefzaoui, A. (1991). Valorisation des sous-produits de l'olivier,

O :

Oomah, B. D., Corb, A., et Balasubramanian, P. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8225–8230. Owen, R. W., Haubner, R., Mier, W.,

P :

Pincemail, J., Bonjean K., Cayeux, K., et Defraigne J-O. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16: 233-239.

Pastre, J.O.C. 2005. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*. 120p.

Pawlowska, A. M., De Leo M., et Braca, A. 2006. Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (26): 10234-10238.

Perrin L.J.(1992). Les composés mineurs et les anti oxygènes naturels de l'olive et de son huile. *R.F.C.39* :25-32.

Polzonetti, V., Egidio D., Vita A., Vincenzetti, S. & Natalini P. (2004). Involvement of oleuropein in (some) digestive metabolic pathways.

Ryan, D., Antolovich M., Hert T., Prenzler P.D., Lavee Shimen, et Robards K. (2002). Identification of phenolic compounds in tissues of the novel olive cultivar hardy's mammoth. *J. Agric Food Chem.* 23:6716-672.

Ross, K., et Shoemaker, D. (2005). Species delimitation in native South American fireants. *Molecular Ecology* .14: 3419–3438

S :

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with

Référence bibliographique

phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2), 191–198.

Saulnier, L., Vigouroux J., et Thibault, J. F.1995. Isolation and caractérisation of fenuloylated oligosacharides from maize bran. *Carbohydrate Research*.

Slater, A. F., Stefan C., Nobel I., Van Den Dobbelen, D. J., et Orrenius, S. 1995. Signalling mechanisms and oxidative stress in apoptosis. *Toxicology Letters*.

Stalikas, C. D.2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*. 30: 3268–3295.

Sarni-Manchado ; P et Cheynier.V (2006). Les polyphenols en agroalimentaire.

T :

Terpinc, P., Čeh, B., Ulrih, N. P., & Abramovič, H. (2012). Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. *Industrial Crops and Products*, 39(1), 210–217.

V:

Valko, M., Rhodes C. J., Moncol, J., Izakovic M., et Mazur M.2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*.160: 1-40.

Vermerris, W, Nicholson, R (2006).Phenolic Compound Biochemistry.*USA: Springer*.

Villa, P. (2006) : La culture de l'olivier. Ed de Vecchi S.A.- paris. pp : 1-69.

Vinha, A. F., Soares, M. O., Castro, A., Santos, A., Machado, M. (2012). Phytochemical Characterization and Radical Scavenging Activity of Aqueous Extracts of Medicinal Plants from Portugal, 2, 335–347.

Wallander, E. et Albert, V. A. (2000). Phylogeny and classification of Oleaceae based on rps16 and trnL---F sequence data. *Am. J. Bot.* 87: 1827---1841..

Wardman, P., et Candeias, L. P. 1996. Fenton Chemistry: An Introduction. *Radiation Research*. 145(5): 523-531.

Williams, D.G. (1993). The chemistry of essential oils.Micelle Press. England.

Référence bibliographique

Wanasundara, P. K. J. P. D., & Shahidi, F. (2005). Antioxidants: Science, Technology, and Applications. *Bailey's International Oil and Fat Products*, 2, 431–489.

Xiang Q, Gao, Y. et Xu YH. (2007). Capillary electrophoresis – amperometric determination of an antioxidant propyl gallate and butylate hydroxanisole in *foods*. *Analytical science*, 23(6), 713.

Xiuzhen , H., Shen, T., et Hongxiang , L. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal. Molecular Sciences*. 8: 950-988.

Résumé

Olea europea est un arbre qui appartient à la famille des Oléacées. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.

A travers cette étude nous avons tenté d'une part de caractériser les différents composés phénoliques des feuilles d'olivier et d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits.

Les résultats obtenus dans ce travail ont montré une composition riche et variée en métabolites secondaires, où les flavonoïdes, les tannins et les phénols totaux ont caractérisé tous les extraits

Le test phytochimique qualitatif réalisé a montré la présence des terpenoïdes et les saponines dans tous les extraits.

Une analyse quantitative des extraits est réalisée des teneurs importants des polyphénols et des flavonoïdes des tannins (hydrolysables et condensés).

Le pouvoir antioxydant a été évalué par la technique de piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer FRAP: Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH varie de 89.13% à 91.86% et les valeurs enregistrées pour le pouvoir réducteur du fer varient entre 32,94 à 63,76 mg EAA/g de MS.

Les mots clé : Polyphénols, activité antioxydante, *Olea europaea*
