



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITÉ DE TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et
de l'univers

Département de Biologie

***Laboratoire : Antibiotiques, Antifongiques : Physico-
chimie, Synthèse et Activité biologique LAPSAB***

MÉMOIRE

Présenté par

GHAFFOUR Yasmina

RAHMANI Sabrina

Pour l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie appliquée

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des
extraits des feuilles d'*Olea europaea***

Président	Pr LAHFA F. B.	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	DR BELKACEM N.	Maitre de conférences B	Université de Tlemcen
Promotrice	DR MEZOUAR D.	Maitre de conférences B	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2019 – 2020

Remerciements

Avant tout, Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre **Dieu** de nous avoir donné le courage, la patience, la volonté d'achever ce travail et nous mener vers le chemin du savoir.

Nous adressons nos premiers remerciements à notre promotrice, Mlle **MEZOUAR D.** Maître de conférences classe B au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, d'avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils et ses remarques qui nous ont été d'une aide précieuse, et sa patience et surtout sa confiance, sans ses orientations et ses précieux conseils, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nous adressons également nos vifs remerciements à Monsieur **LAHFA F. B.**, Professeur au département de biologie, qui nous a fait l'honneur en acceptant de présider le jury.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Mme **BELKACEM N.** maitre de conférences classe B pour L'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de faire partie de ce jury et d'examiner ce mémoire.

Nos remerciements vont également à tous les enseignants qui nous ont suivis tout au long de notre formation au sein de l'université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

Enfin, merci à toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Les deux personnes les plus chères à mon cœur, **mon père** et **ma mère** qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de me motiver pour que je puisse atteindre mes objectifs. Sans eux je ne serai jamais arrivée là où je suis, quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point les remercier comme il se doit.

Que dieu vous donne longue vie.

Mon cher frère **Djaber** qui m'a servi de modèle de détermination et de persévérance pour trouver le chemin de réussite.

Mes chères petites sœurs **Samia**, **Hafsa** et **Nihel** auxquelles je souhaite une très bonne continuité et réussite dans la vie.

Mon cher fiancé **Amin** qui a toujours été là à m'encourager et me soutenir.

Mes meilleures copines **Fériel**, **Manel** et **Samia**.

Ma sœur et mon binôme **Sabrina** avec qui j'ai partagé les moments difficiles de ce travail.

Yasmine

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection

A ma **Maman**, merci d'avoir toujours été derrière moi et de m'avoir soutenue toutes ces années. A mon **Papa**, merci d'avoir été là et de m'avoir poussé à persévérer dans cette voie. Vous avez toujours cru en moi. Vous êtes des parents formidables.

Mes chers frères **Abdelkarim** et **Izzedine** et mes chères sœurs **Bahia**, **Hafida** et **Nawel** source de joie et de bonheur.

Mes chères amies, **Fériel** et **Yasmine**.

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir dans les moments difficiles.

Sabrina

الملخص

شجرة الزيتون (*Olea europea*) هي نبات طبي ينتمي إلى عائلة الزيتونية. تعد شجرة الزيتون مكونًا أساسيًا في الزراعة الجزائرية وتستخدم على نطاق واسع في العلاجات التقليدية لخصائصها البيولوجية العديدة. من خلال هذه الدراسة، حاولنا تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الخامة لأوراق الزيتون المزروعة. تم الحصول على المستخلصات بواسطة النقع باستخدام نظامين من المذيبات الماء / الأسيتون (70/30) (ح/ح) والماء / الميثانول (70/30) (ح/ح). المرود لكل منهما هو: 18.5% و 15% على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقتين مختلفتين: طريقة تثبيط الجذور الحرة DPPH وطريقة ارجاع الحديد .FRAP

بالنسبة للاختبار الأول، تبلغ قيمة التركيز المثبط 50 حوالي 13.73 ميكروغرام / ملل للمستخلص الهيدروأسيونوني و 14.29 ميكروغرام / ملل للمستخلص الهيدروميثانولي، وحمض الأسكوربيك 2.24 ميكروغرام / ملل. بالنسبة للاختبار الثاني، قيمة التركيز الفعال 50 هي 0.93 ملغ / ملل و 0.78 مجم / ملل للمستخلصات الهيدروأسيونوني و الهيدروميثانولي، على التوالي. في حين أن قيمة التركيز الفعال 50 لحمض الأسكوربيك هي 0.18 ملغ / ملل. تشير هذه النتائج أن شجرة الزيتون لها تأثير جيد كمضاد للأكسدة، وبالتالي فإن شجرة الزيتون يمكن أن تكون مصدراً مثيراً للاهتمام كمضاد للأكسدة مع استخدامها في مختلف المجالات في المواد الغذائية ومستحضرات التجميل والأدوية.

الكلمات المفتاحية: *europaea Olea* ، المستخلصات الخامة، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé

L'olivier (*Olea europea*) est une plante médicinale appartenant à la famille des oléacées. L'olivier constitue une composante essentielle dans l'agriculture algérienne et est largement utilisé dans les remèdes traditionnels pour ses nombreuses propriétés biologiques.

A travers cette étude, nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts des feuilles d'olivier cultivé. Les extraits ont été obtenus par macération en utilisant deux systèmes de solvants eau/acétone (30/70) (v/v) et eau/méthanol (30/70) (v/v). Les rendements respectifs sont : 18.5% et 15%.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes : la méthode de piégeage du radical libre DPPH et de réduction du fer FRAP.

Pour le premier test, les CI_{50} sont de l'ordre de 13.73 $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait hydroacétonique et 14.29 $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait hydrométhanolique, et celle de l'acide ascorbique 2.24 $\mu\text{g/ml}$. Pour le second test, les CE_{50} sont de 0.93 mg/ml et 0.78 mg/ml pour les extraits hydroacétonique et hydrométhanolique, respectivement. Alors que celle de l'acide ascorbique est de 0.18 mg/ml.

Ces résultats indiquent que l'olivier a une bonne activité antioxydante, et par conséquent, l'olivier pourrait être une source intéressante d'antioxydants avec son utilisation dans différents domaines : alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.

Mots clés : *Olea europea*, extraits bruts, activité antioxydante

Abstract

The olive tree (*Olea europea*) is a medicinal plant belonging to the family of Oleaceae. The olive tree constitutes an essential component in Algerian agriculture and is widely used in traditional remedies for its many biological properties.

Through this study, we tried to assess the antioxidant activity of crude extracts of cultivated olive leaves. The extracts were obtained by maceration using two solvent systems water/acetone (30/70) (v/v) and water/methanol (30/70) (v/v). The respective yields are 18,5 % and 15 %.

Antioxidant activity was assessed using two different methods: the DPPH free radical scavenging method and FRAP iron reduction method.

For the first test, the IC₅₀ values are 13,73 µg/ml for hydroacetic extract and 14,29µg/ml for the hydromethanolic extract, and 2,24µg/ml for ascorbic acid. For the second test, the EC₅₀ are 0.93mg/ml and 0.78mg/ml for the hydroacetic and hydromethanolic extracts, respectively. Whereas that of ascorbic acid is 0,18 mg/ml.

These results indicate that the olive tree has a good antioxidant activity, and therefore, the olive tree could be an interesting source of antioxidants with its uses in various fields : food, cosmetics and pharmaceuticals.

Key words: *Olea europea*, crude extracts, antioxidant activity

Table des matières

Résumé	5
Table des matières	8
Liste des figures	10
Liste des tableaux	11
Liste des abréviations	12
Introduction	15

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Stress oxydant et antioxydants

I. Radicaux libres	18
II. Stress oxydatif	18
1. Définition	18
2. Origine du stress oxydatif	18
3. Conséquences moléculaires du stress oxydatif	19
4. Maladies liées au stress oxydatif	19
III. Les antioxydants	20
1. Définition	20
2. Les antioxydants non enzymatiques	20
➤ La vitamine C	20
➤ La vitamine E	20
➤ Le glutathion	20
➤ Les polyphénols	21
➤ Les caroténoïdes	21
➤ Les oligoéléments	21
3. Les antioxydants enzymatiques	22
➤ Superoxydes dismutases (SOD)	22
➤ Catalases	22
➤ Gutathion peroxydases (GPx)	23

Chapitre II : l'olivier « *Olea europaea* »

1. Introduction	24
-----------------------	----

2. Classification botanique	24
3. Description botanique	24
4. Composition chimique des feuilles de l'olivier	25
5. Répartition dans le monde	26
6. Répartition en Algérie	26
7. Usage traditionnel	27
8. Activités biologiques de l'olivier	28

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal	30
1. Récolte	30
2. Préparation des extraits	30
II. Rendement d'extraction des extraits préparés	31
III. Mesure du pouvoir antioxydant de l'extrait	31
1. Piégeage du radical libre DPPH	32
2. Réduction du fer FRAP «Ferric Reducing Antioxydant Power»	32

Résultats et interprétation

1. Rendement des extraits bruts	35
2. Activité antioxydante	36
2.1. Piégeage du radical libre DPPH	36
2.2. Réduction du fer FRAP	38
Discussion	42
Conclusion générale	45
Références bibliographiques	47

Liste des figures

Figure 1 : La balance entre le système des pro et antioxydants.....	18
Figure 2 : Les conséquences moléculaires du stress oxydatif.....	19
Figure 3 : Structure de quelques constituants des feuilles d' <i>Olea europaea</i>	25
Figure 4 : Répartition de la culture de l'olivier dans le monde.....	26
Figure5 : Carte oléicole d'Algérie.....	27
Figure 6 : Les feuilles d' <i>Olea eauropaea</i>	30
Figure7 : Réaction d'un antioxydant avec le radicl DPPH.....	32
Figure8 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	33
Figure 9 : Rendement de l'extraction des extrais d'olivier.....	35
Figure10 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait Hydroacétonique.....	36
Figure11 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait Hydrométhanolique.....	37
Figure12 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.....	37
Figure 13 : Pouvoir réducteur des extraits hydrométhanolique et hydroacétonique de l'olivier et de l'acide ascorbique testé par la méthode FRAP.....	38
Figure14 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydroacétonique.....	39
Figure15 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique.....	39
Figure16 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.....	40

Liste des tableaux

Tableau 01 : les principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées.....22

Tableau 02 : Caractéristiques des extraits bruts hydrométhanolique et hydroacétonique des feuilles de l'olivier.....35

Tableau 03 : Valeurs des CI50 des différents extraits de l'olivier.....38

Tableau 04 : Les valeurs des CE50 calculées pour les extraits hydrométhanolique, hydroacétonique et de l'acide ascorbique.....40

Liste des abréviations

% : Pourcentage

¹O₂ : Oxygène singulet

CAT : Catalase

CE50 : Concentration efficace à 50 %

CI50 : Concentration inhibitrice à 50%

DO : Densité optique

DPPH : Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl

ERO : Espèce réactive de l'oxygène

Fe²⁺ : Ions ferreux

Fe³⁺ : Ions ferriques

FeCl₃ : Chlorure de fer

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

GSH: Glutathion réduit

GSSG: Glutathion oxydé

GPx : Glutathion peroxydase

H₂O : Eau distillée

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

HO• : Le radical hydroxyle

LDL : Lipoprotéine de faible densité

O₂ : Oxygène moléculaire

O₂^{•-} : Le radical superoxyde

ROO• : Le radical peroxyde

ROOH : Peroxyde alkyle

SOD : Superoxyde dismutase

PI : Pourcentage d'inhibition

TCA : Acide trichloroacétique

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont l'une des principales ressources des agents thérapeutiques. En effet, 80% de la population mondiale utilise des plantes dans les soins de santé. Récemment, l'intérêt pour la recherche de substances naturelles a considérablement augmenté, car ces substances sont destinées à être utilisées dans les aliments ou les médicaments pour remplacer les composés synthétiques, qui sont limités en raison de leurs effets secondaires. Il existe un intérêt croissant pour l'utilisation des plantes médicinales et leurs constituants phytochimiques comme sources naturelles en raison de leur capacité bien connue à piéger les radicaux libres. En effet, les plantes sont des sources de composés antioxydants naturels qui possèdent diverses propriétés pharmacologiques avec peu ou aucun effet secondaire et protège la santé humaine de nombreuses maladies. La prévention des maladies liées au stress oxydatif par les produits à base de plantes médicinales retarde l'oxydation des lipides ou d'autres molécules en inhibant la propagation des réactions oxydantes en chaîne (**El omari et al., 2019**).

L'olivier (*Olea europaea* L.), est cultivé sur une très grande échelle dans toute la région méditerranéenne depuis la plus haute antiquité, pour l'huile fournie par ses fruits. Depuis un siècle, sa culture a été introduite aussi en Amérique, en Afrique du Sud et en Australie (**Chevalier Auguste, 1948**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Olea europaea* L. Ce dernier, est largement distribué un peu partout dans le pays.

L'*Olea europaea* est caractérisée par sa richesse en principe actif et en substances telles que les polyphénols et les flavonoïdes qui sont dotés de propriétés importantes et différentes. Les principales classes de phénols dans l'olive sont les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les flavonoïdes et les secoiridoïdes (**Silva et al., 2011**).

Les feuilles d'olivier, biomasse produite en grande quantité dans les pays méditerranéens, ne doivent pas être considérées comme un déchet encombrant, mais comme une richesse qu'on doit utiliser. La valorisation de ces résidus est

devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole (**Aouidi, 2012**).

Notre intérêt s'est porté à l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits des feuilles d'olive en réalisant :

- L'extraction par macération des extraits hydrométhanolique et hydroacétonique des feuilles d'olive ;
- L'étude de l'activité antioxydante *in vitro* via les tests :
 - 1- L'effet scavenger du radical DPPH.
 - 2- Le pouvoir réducteur de fer FRAP.

Synthèse bibliographique

I. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, qui contient un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité, donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Système redox) **(Afonso et al., 2007)**.

Parmi les espèces radicalaires les plus actives se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron **(Gutteridge, 1993) (Jacques et André, 2004)**.

Les ERO regroupent non seulement des radicaux libres telles que l'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) ou le radical hydroxyle ($^{\circ}OH$), mais également, des dérivés non radicalaires telles que l'oxygène singulet (O_2) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) **(koechelin, 2006)**.

Le rôle des ERO est très complexe, car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration **(Haleng et al., 2007)**.

II. Stress oxydatif

1. Définition

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui outrepassent leurs capacités antioxydantes **(Sies, 1991)**

2. Origine du stress oxydatif

La rupture d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants peut provenir de plusieurs origines, telles qu'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition **(Favier, 2006)**, ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante ou métaux toxiques) **(Magder, 2006)**.

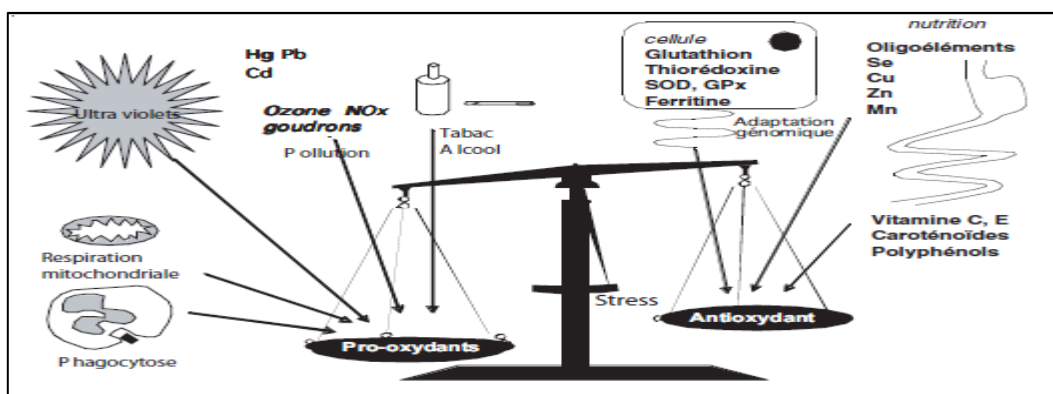


Figure 1: La balance entre le système des pro et antioxydants (Favier, 2006)

3. Conséquences moléculaires du stress oxydatif

Lors d'un stress oxydant, la production excessive des ERO induit quelques dommages oxydants aux macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN et les glucides (**koechelin, 2006**), entraînant des anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus (**Favier, 2006**).

4. Maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (**favier, 2006**). La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (**Sohal et al., 2002**).

Ainsi, l'oxydation des lipides et de l'ADN est un facteur primordial dans l'augmentation des maladies cardiovasculaires (**Droge, 2002**) et celle des cancers. Le stress oxydant est également impliqué dans des affections aussi diverses que l'arthrite, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer (**Favier, 2006**).

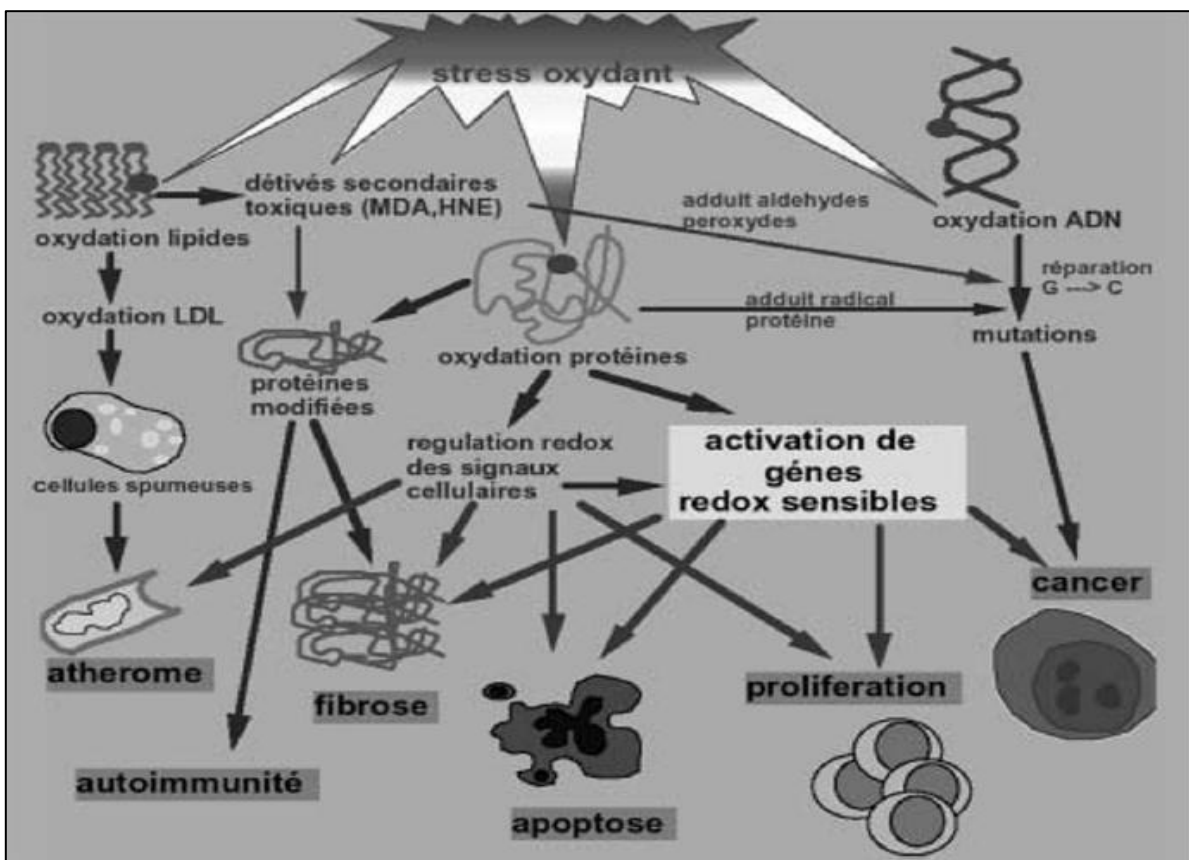


Figure 2 : Les conséquences moléculaires du stress oxydatif (Favier, 2006)

III. Les antioxydants

1. Définition

Un antioxydant peut être défini comme toute substance ou molécule capable de réduire les effets de l'oxygène, significativement, retarde ou empêche l'oxydation. **(Defraigne et Pincemail, 2008)**.

Les antioxydants sont capables de piéger les radicaux libres en captant l'électron célibataire, en les transformant en molécules ou en ions stables **(Favier, 2003)**.

On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est exogène, apportée par l'alimentation et l'autre est endogène.

2. Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques comprennent des composés de faible poids moléculaire, tels que les vitamines (vitamines C et E), le β -carotène, les composés phénoliques, les oligoéléments et le GSH, un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cystéinyl-L-glycine) qui comprennent un thiol (sulfhydryle) **(Esra birben et al., 2012)**.

➤ La vitamine C

La vitamine C soluble dans l'eau (acide ascorbique), fournit une capacité antioxydante en phase aqueuse intracellulaire et extracellulaire principalement en éliminant les radicaux libres d'oxygène.

La vitamine C est, avant tout, un excellent piégeur des ERO (HO^\bullet ou $\text{O}_2^{\bullet-}$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques **(Halleng, 2007)**.

➤ La vitamine E

La vitamine E est un mélange de molécules comptant principalement l' α -tocophérol, β -tocophérol, γ -tocophérol ou encore δ -tocophérol, dont la molécule α -tocophérol est la plus active **(Kamal-Eldin, 1996)**. Leur caractère hydrophobe, leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes pour empêcher la propagation de la peroxydation lipidique **(Haleng et al., 2007)**.

➤ Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intra-cellulaire, où il est présent sous forme essentiellement

réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible (**Halleng, 2007**).

Le rapport GSH / GSSG est un déterminant majeur du stress oxydatif. GSH montre ses effets antioxydants de plusieurs façons (**Bernini et al., 2019**).

Le glutathion (GSH) joue un rôle unique et essentiel dans la préservation des formes actives de divers antioxydants de faible taille (vitamines C, E, ubiquinone, polyphénols). A ce titre, le GSH constitue l'antioxydant principal de l'organisme d'autant qu'il est aussi le cofacteur de toute une série d'enzymes antioxydantes (glutathion peroxydases, glutathion réductases, thiorédoxines et peroxyrédoxines) (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

➤ Les polyphénols

Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques. Ils sont caractérisés par la présence dans leur structure d'au moins un noyau benzénique portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH).

Ils suscitent dernièrement, beaucoup d'intérêt en raison du bénéfice qu'ils pourraient apporter en termes de prévention des maladies liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (**Hennebelle et al., 2004**).

Ce sont aussi, d'excellents piègeurs des ERO et de bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Haleng et al., 2007**).

➤ Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments trouvés principalement dans les plantes. Le chef de file des caroténoïdes est cependant le β carotène qui est un précurseur de la vitamine A. Ce dernier, réagit avec les radicaux peroxyde (ROO°), hydroxyle (OH) et superoxyde (O_2^-).

Les caroténoïdes montrent leurs effets antioxydants dans une faible pression partielle d'oxygène, mais peuvent avoir des effets pro-oxydants à une concentration d'oxygène plus élevée (**El-Agamey et al., 2004**) (**Haleng et al., 2007**).

➤ Les oligoéléments

Ce sont des éléments minéraux qui exercent indirectement un rôle antioxydant en agissant comme des cofacteurs. Ainsi, le cuivre, le zinc et le fer sont des cofacteurs pour le superoxyde dismutase. Le fer est également un cofacteur pour la catalase et le sélénium est le cofacteur du glutathion- peroxydase (**Delattre et al., 2003**).

Tableau 01 : Les principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin, 2006)

Principaux nutriments antioxydants	Source alimentaire
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
β-carotène	Légumes et fruits orangés et vert foncés
Sélénium	Poissons, œufs, viandes, céréales et volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huitres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes et thé vert
Acide phénolique	Céréales complètes, baies et cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins et vin
Métabolisme de la cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou, œufs, poissons et viandes

3. Les antioxydants enzymatiques

La cellule est pourvue de systèmes de défense très efficace. Plusieurs enzymes peuvent catalyser des réactions de détoxification des différents pro oxydants (**Lehucher-michel et al., 2001**).

Les antioxydants enzymatiques sont représentés principalement par trois enzymes : le superoxyde dismutase, la catalase et les glutathion peroxydases.

➤ Superoxydes dismutases SOD

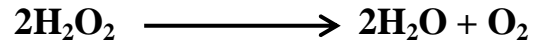
Pour protéger les cellules contre les quantités nocives de superoxyde, les SOD convertissent deux anions superoxydes en oxygène et peroxyde d'hydrogène en utilisant une réaction cyclique de réduction et d'oxydation du métal du site actif, appelée réaction de dismutation. Des formes différentes de SOD sont trouvées et sont distinguées sur la base des cofacteurs métalliques présents sur le site actif de l'enzyme : SOD de cuivre et de zinc (Cu / Zn-SOD), SOD de nickel (Ni-SOD), SOD de manganèse (Mn-SOD) et de fer SOD (Fe-SOD) (**Azadmanesh et al., 2018**).



➤ Catalase

La catalase (CAT) est une protéine tétramérique de quatre sous-unités similaires, CAT est un commun enzyme antioxydant présent presque dans tous les tissus

vivants qui utilisent l'oxygène. L'enzyme utilise du fer ou du manganèse comme cofacteur et catalyse la dégradation ou la réduction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à l'eau et à l'oxygène moléculaire (**Ighodaro et Akinloye, 2018**).



➤ **Glutathion peroxydases GPx**

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme intracellulaire importante qui décompose les peroxydes d'hydrogène (H₂O₂) en eau, et les peroxydes lipidiques en alcool correspondants, principalement dans les mitochondries, et parfois dans le cytosol. La plupart du temps, son activité dépend d'un cofacteur appelé sélénium. Pour cette raison, GPx est souvent désignée comme une sélénocystéine peroxydase. L'enzyme joue un rôle plus crucial dans l'inhibition du processus de la peroxydation lipidique, et protège donc les cellules contre le stress oxydatif (**Gill et Tuteja, 2010**).



L'olivier

1. Introduction

L'olivier, arbre typiquement méditerranéen, constitue une essence fruitière principale, tant par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental. De nos jours, il existe plus de 805 millions d'oliviers dans le monde entier dont 98% sont concentrés sur le pourtour méditerranéen. En fait, le patrimoine génétique oléicole mondial est très riche en variétés. Il est constitué par plus de 2,600 variétés différentes (**Gomes et al., 2012 ; Muzzalupo et al., 2014**).

A l'échelle mondiale l'olivier a suscité un intérêt particulier, grâce à la renommée de ses produits aux vertus nutritionnelles et sanitaires salutaires et aux propriétés physico chimiques confirmées (**Loussert et Brousse, 1978**).

2. Classification botanique

Selon **Ghedira** en **2008**, la classification botanique de l'arbre de l'olivier est comme suit :

Embranchement : Magnoliophyta

Sous embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Scrophulariales

Famille : Oleaceae

Genre: *Olea* L.

Espèces: *Olea europaea* L.

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

3. Description botanique

L'olivier se présente comme un arbre dont la taille avoisine 10 m de long (**Arab et al., 2013**). Il se caractérise par un tronc tortueux et une écorce grisâtre et crevassée. Les feuilles, blanc argentés à la face inférieure, vert grisâtre à la face supérieure, opposées, persistantes, coriaces et lancéolées. Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées. Les fruits, olives, sont des drupes ovoïdes, vertes puis noires à maturité et à noyau dur fusiforme (**Ghedira, 2008**).

Le déroulement annuel du cycle végétatif de l'olivier est en étroite relation avec les conditions climatiques de son aire d'adaptation caractérisé essentiellement par le climat méditerranéen (Villemur et al., 1976).

4. Composition chimique des feuilles de l'olivier

Les feuilles fraîches de l'olivier sont caractérisées par la présence de molécules de faible poids moléculaire qui présentent des vertus thérapeutiques (Ghanbari et al., 2012). Parmi ces molécules, on distingue :

Les phénols : tyrosol, hydroxytyrosol, acide caféique et acide p-coumarique ;

Les triterpènes : Acide oléanolique, acide maslinique, acide hydroxy- oléanolique ;

Les flavonoïdes : Lutéoline, kaempférol, myricétine, quercétine, apigénine – Rutoside, quercitrine et des glucosides de l'apigénine et de la lutéoline ;

Les Sécoiridoïdes : Oleuropéside (constituant majeur des feuilles de l'*Olea europaea*) (Ghedira, 2008).

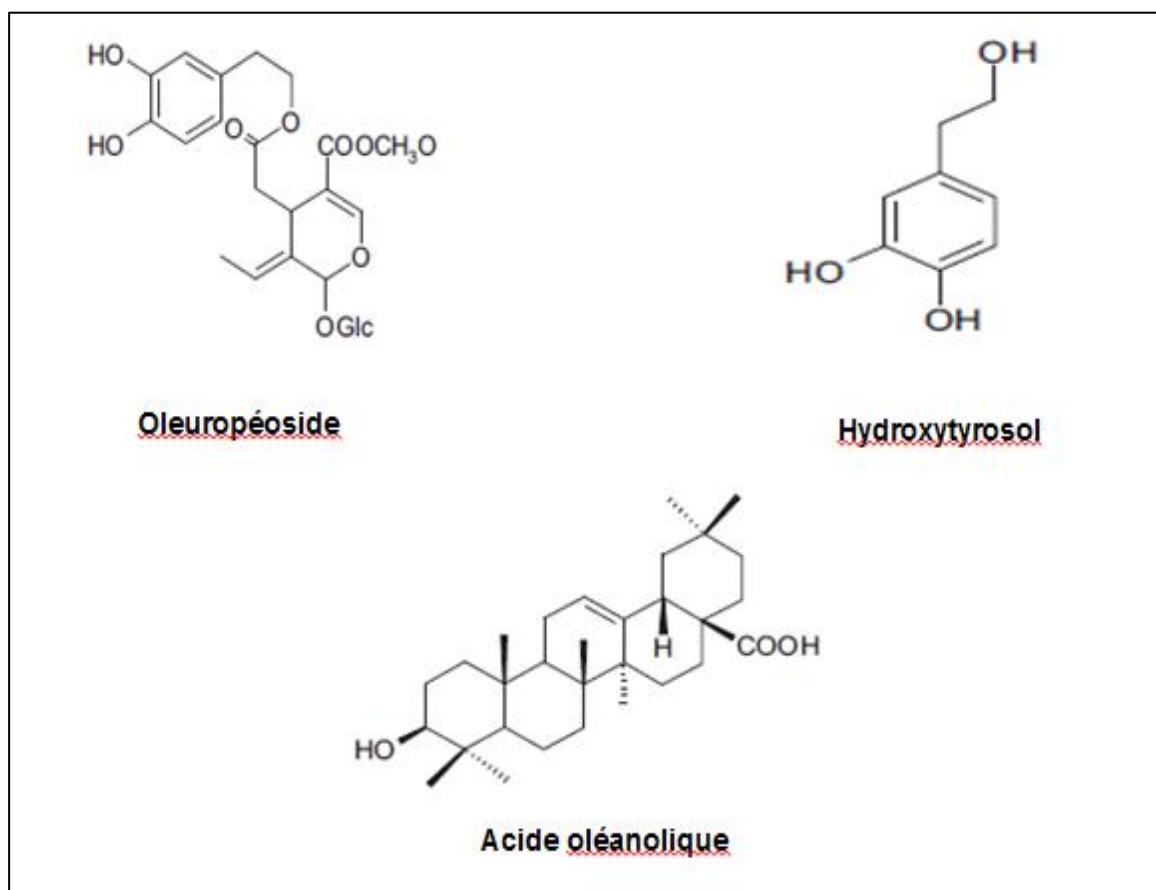


Figure 3 : structure de quelques constituants des feuilles d'*Olea europaea* (Ghedira, 2008)

5. Répartition dans le monde

Bien que l'olivier soit présent dans les quatre continents, environ 95% de la production mondiale de l'huile d'olive provient du Bassin méditerranéen.

L'olivier est considéré comme une espèce caractéristique de la région méditerranéenne. On le rencontre dans toutes les régions du globe qui se situent entre les latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud (**Benhayoun et Lazzeri, 2007**).

Outre que l'olivier soit maintenant cultivé dans différentes parties du monde, la région méditerranéenne continue d'offrir l'oléo majoritaire et représente une production d'huile d'environ 98 % de la culture oléicole mondiale (**Ghanbari et al., 2012**).



Figure 4 : Répartition de la culture de l'olivier dans le monde (COI, 2013)

6. Répartition en Algérie

L'Algérie compte parmi les pays du bassin méditerranéen où l'olivier trouve son aire d'extension (**Naama et al., 2015**).

L'Algérie offre des conditions écologiques très favorables à la culture de l'olivier. Le climat et le sol, en particulier le long de la côte et dans les zones entourées, sont idéals pour que cet arbre prospère. L'oléiculture est située principalement dans la partie Nord du pays, où la plupart des vergers (80%) sont situés dans des zones montagneuses. Les régions les plus connues par cette culture sont la région de la grande Kabylie (Tizi-Ouzou, Bejaia et Bouira), ces trois wilayas sont spécialisées beaucoup plus dans la production d'huile (**Lamani et al., 2016**).

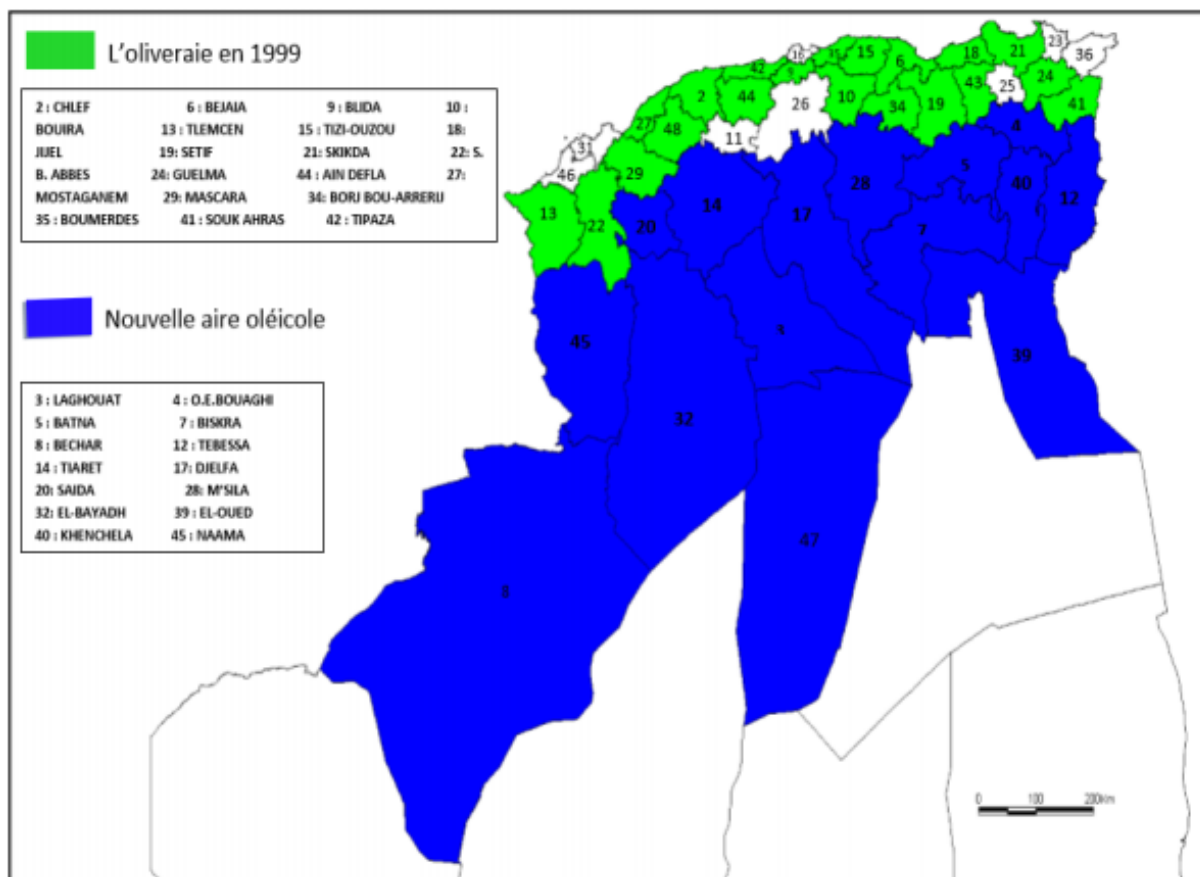


Figure 5 : Carte oléicole d'Algérie (Source : Institut Technique des Arbres Fruitiers, ITAF, 2008)

7. Usage traditionnel

L'olivier a une longue histoire de valeurs médicinales et nutritionnelles. Au fil des siècles, les extraits de feuille d'olivier ont été utilisés pour promouvoir la santé et la conservation. Par exemple, les anciens égyptiens utilisaient les feuilles pour momifier les pharaons. De même, elles ont été évaluées comme un remède pour traiter la fièvre et d'autres maladies tropicales comme le paludisme (**Soler-Rivas et al., 2000**).

Les feuilles d'olivier sont diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle modérée. L'extrait de feuilles est utilisé comme adjuvant dans les formes légères de diabète (au cours de la grossesse ou en cas d'obésité) (**Ghedira, 2008**).

De même, les feuilles sont utilisées pour le traitement des infections oculaires (**Guerin et Reveillere, 1985**), ainsi que pour la goutte (**Flemmig et al., 2011**).

En plus des feuilles, l'huile d'olive a aussi de nombreuses applications. Elle est utilisée comme cholérétique et cholagogue. On lui attribue des propriétés laxatives légères. En usage externe, c'est un adoucissant et un émollient utilisé contre les brûlures et les coups de soleil (**Ghedira, 2008**).

8. Activités biologiques de l'olivier

➤ **Activité antioxydante**

Les feuilles de l'olivier sont constituées d'une substance unique l'oleuropéoside responsable de propriétés antioxydantes, exercées vis-à-vis de l'oxydation des LDL cholestérols qui sont à l'origine de l'altération des tissus vasculaires au niveau des artères et, de ce fait, de l'athérosclérose (**Ghedira, 2008**).

➤ **Activité hypotensive**

L'action hypotensive des feuilles d'olivier a été attribuée à l'oleuropéoside responsable d'effets à la fois hypotenseur et vasodilatateur (**Ghedira, 2008**).

➤ **Activité antidiabétique**

Il a été démontré que l'oléuropeine et l'hydroxytyrosol agissent comme des composants hypoglycémiques par la stimulation de la synthèse du glycogène hépatique et la restauration du système de défense antioxydante (**Jemai, 2009**).

➤ **Activité antimicrobienne**

Les composés phénoliques des feuilles d'olives ont été évalués contre plusieurs microorganismes, qui sont des agents causaux d'infections intestinales et respiratoires humaines, y compris des bactéries Gram positives (*Bacillus cereus*, *B. subtilis* et *Staphylococcus aureus*), des bactéries Gram négatives (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) et des champignons comprenant *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* (**Sudjana et al., 2009**).

Matériel et méthodes

Notre étude est réalisée au sein du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico- Chimie, Synthèse et Activités Biologiques, et comporte deux parties :

Partie 1 : préparation et extraction du matériel végétal à partir des feuilles de l'olivier.

Partie 2 : évaluation de l'activité antioxydante de extraits obtenus par deux méthodes :

- Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ;
- Réduction du fer : Ferric reducing antioxidant power (FRAP).

I. Matériel végétal

1. Récolte

Les feuilles de l'olivier sont récoltées durant le mois de Décembre 2019, à la station de l'Ourit – Tlemcen. Elles sont séchées à l'abri de la lumière à température ambiante. Une fois séchée, la matière végétale est réduite en poudre à l'aide d'un mortier.



Figure 6 : Les feuilles d'*Olea europaea*

2. Préparation des extraits

La poudre résultante est soumise à une extraction par macération sous agitation pendant 24 h, en utilisant deux solvants selon le protocole suivant : 20g de la poudre végétale est mise en contact avec 200 ml d'un mélange eau/ méthanol (30 :70) (v/v) et eau/acétone (30 :70) (v/v).

Les extraits bruts obtenus sont filtrés sur papier filtre, les filtrats récupérés sont ensuite, évaporés à l'aide d'un rotavapeur à 60 °C pour éliminer les solvants organiques. Ensuite, séchés dans une étuve à une température de 36 °C pour éliminer les solvants aqueux. Les résidus obtenus sont conservés à + 4° C.

II. Rendement d'extraction des extraits préparés

Après évaporation du solvant, le rendement de chaque extrait se calcule par le rapport entre la masse de l'extrait récupéré et la masse de la matière végétale.

Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

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

- **R** : rendement exprimé en (%) ;
- **M** : masse en gramme de l'extrait récupéré ;
- **M₀** : masse en gramme du matériel végétal.

III. Mesure du pouvoir antioxydant de l'extrait

1. Piégeage du radical libre DPPH

Principe :

Le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) est un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité anti-radicalaire de l'extrait.

La présence de ces radicaux donne lieu à une coloration violette de la solution qui absorbe aux environs de 517 nm, la réduction du radical DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution.

Mode opératoire :

- Préparation du DPPH

0.0025g de DPPH est dissoute dans 100 ml du méthanol pure (CH₃-OH) pour obtenir une solution de DPPH.

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) selon le protocole décrit par **Atoui et al., 2005**.

A 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH à $6.34 \times 10^{-5}M$, est ajouté 25µl des extraits à différentes concentrations (2,5 ; 5 ; 10 ; 25 ; 50 et 75 µg/ml) préparés à partir d'une solution mère de 125 µg/ml.

Le contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 25 µl de méthanol avec 975µl de la solution méthanolique de DPPH. Après incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30min, l'absorbance est mesurée à 517nm.

Cette technique a été réalisée en triplicate pour les extraits et l'acide ascorbique.

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

$$PI \% = \frac{A_C - A_E}{A_C} \times 100$$

Avec

A_C : absorbance du contrôle

A_E : absorbance de l'extrait.

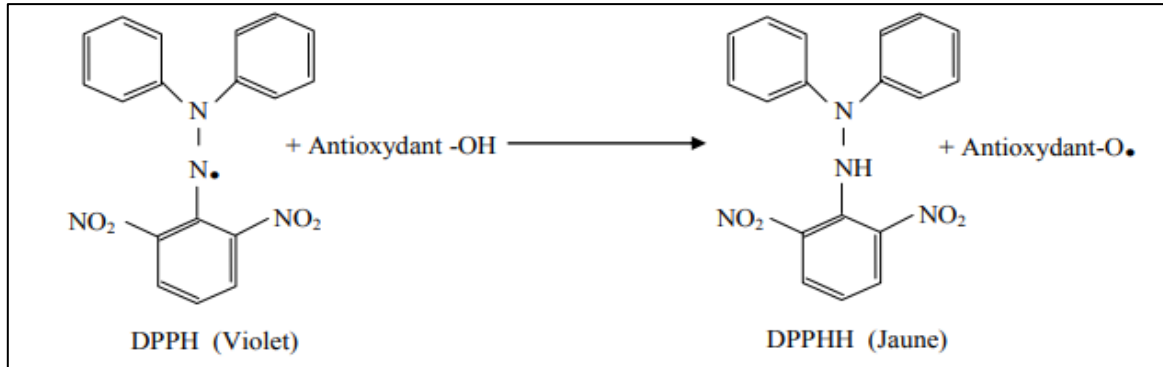


Figure 7 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH. (H.Talbi et al 2015)

2. Réduction du fer FRAP « Ferric Reducing Antioxydant Power »

Principe :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (**Hubert, 2006**).

Dans cette technique, la couleur jaune de la solution change au vert et bleu selon le pouvoir réducteur de l'échantillon testé. Et, une absorbance élevée à 700 nm indique un pouvoir réducteur élevé (**Zovko Končić et al, 2010**).

Mode opératoire :

La méthode FRAP est réalisée selon le protocole de **Yen et Chen, 1995**.

A 500 μ L de l'échantillon à différentes concentrations (0,2 ; 0,5 ; 2 et 3 mg/mL), nous avons ajouté 1,25 ml de tampon phosphate 0,2 M (pH 6.6) et 1,25 ml de ferricyanure de potassium 1 %. Le mélange est incubé à 50° C pendant 20 min. Après incubation, 1,25 ml d'acide trichloroacétique (TCA) 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction. Ensuite, les solutions sont centrifugées pendant 10 min. 1,25 ml du surnageant sont ajoutés à 1,25 ml d'eau distillée et 0.25 ml de la solution de chlorure de fer ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) 0.1 %. L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 700 nm.

L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif avec les mêmes concentrations et dans les mêmes conditions expérimentales.

Cette technique a été réalisée en triplicate pour les extraits et l'acide ascorbique.

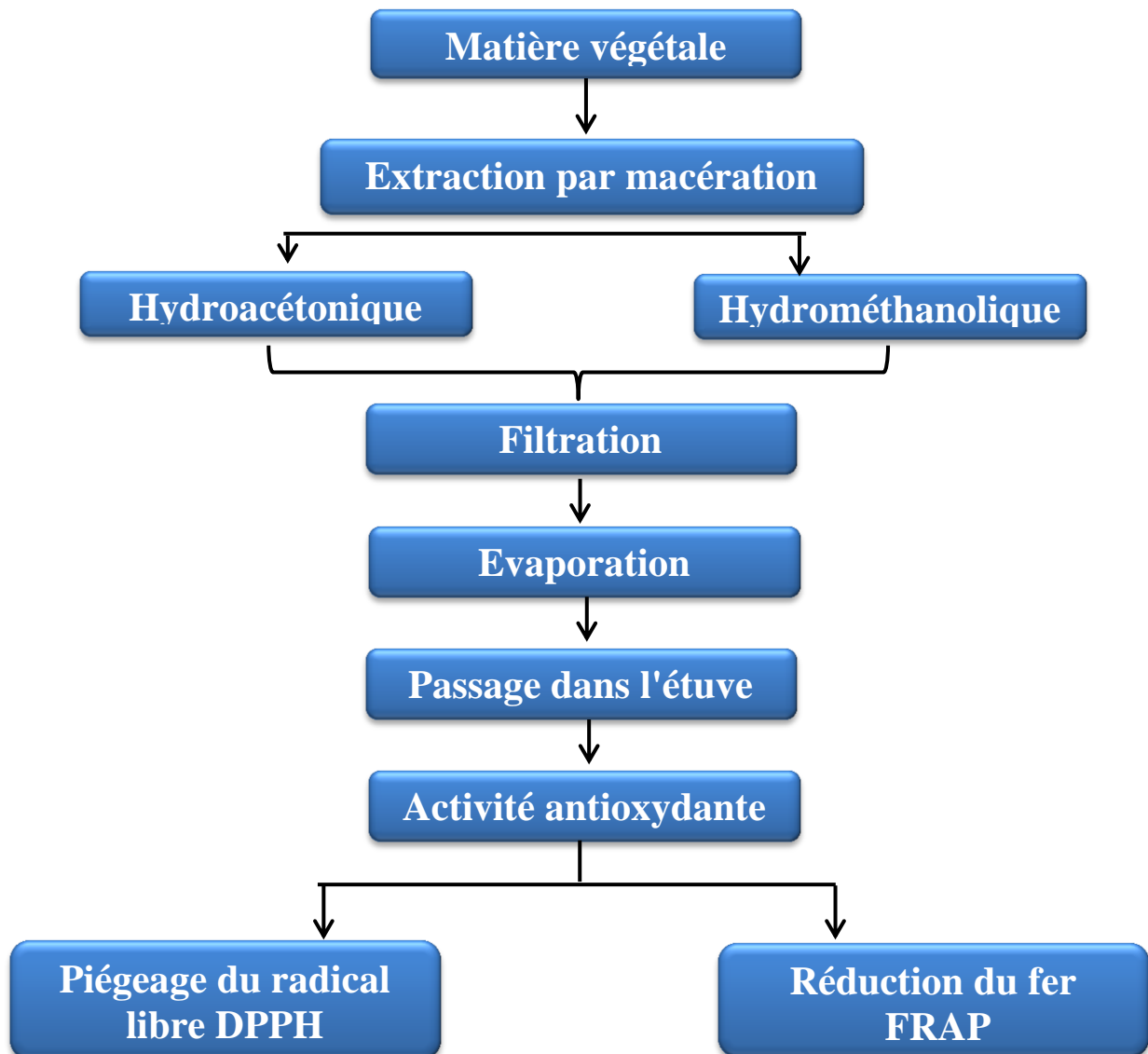


Figure 8 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

Résultats et interprétation

1. Rendement des extraits bruts

Le rendement de l'extraction des feuilles d'olivier par macération en utilisant les deux solvants eau/acétone et eau/méthanol, est calculé selon la formule citée auparavant, les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante :

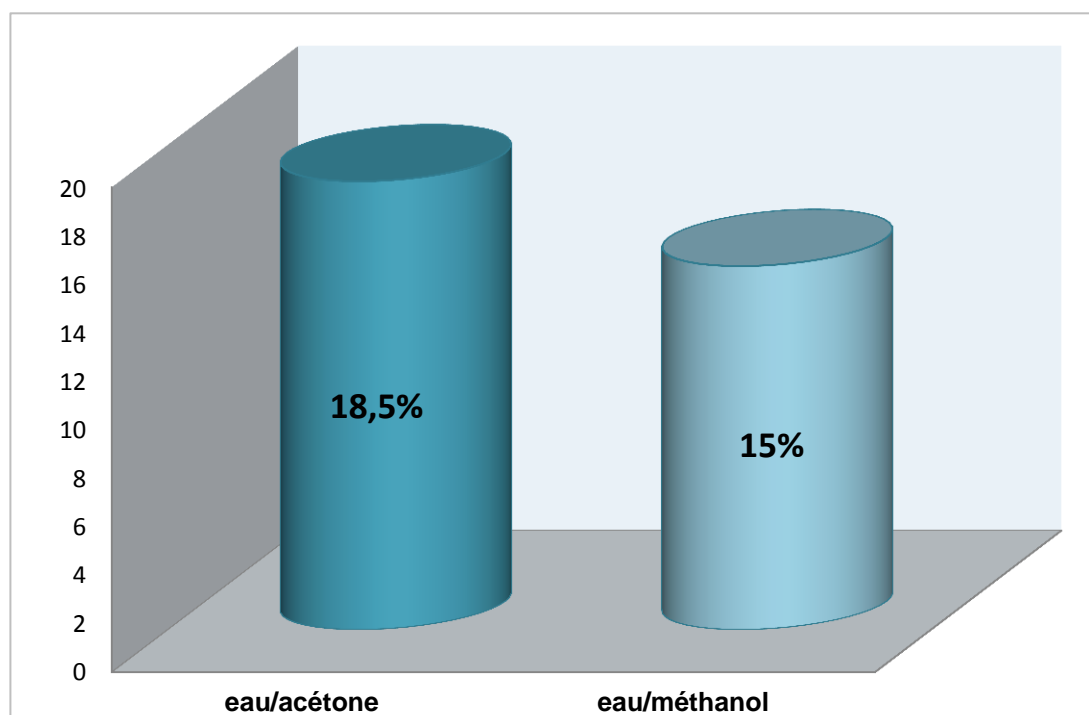


Figure 9 : Rendement de l'extraction des extraits de feuilles de l'olivier

D'après la figure 9, nous remarquons que l'extrait eau/acétone aux proportions (30/70) (v/v) a un rendement de 18,5 % qui est plus élevé que celui de l'extrait eau/méthanol aux proportions (30/70) (v/v) (15%).

Tableau 02 : Caractéristiques des extraits bruts hydrométhanolique et hydroacétonique des feuilles de l'olivier.

Mode d'extraction	Aspect	Couleur	Solubilité	Rendement %
Macération eau/Méthanol	Cristallisé	Vert foncé	Eau distillée	15%
Macération eau/acétone		Vert foncé	Eau distillée	18,5%

2. Activité antioxydante

2.1. Piégeage du radical libre DPPH

La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des extraits.

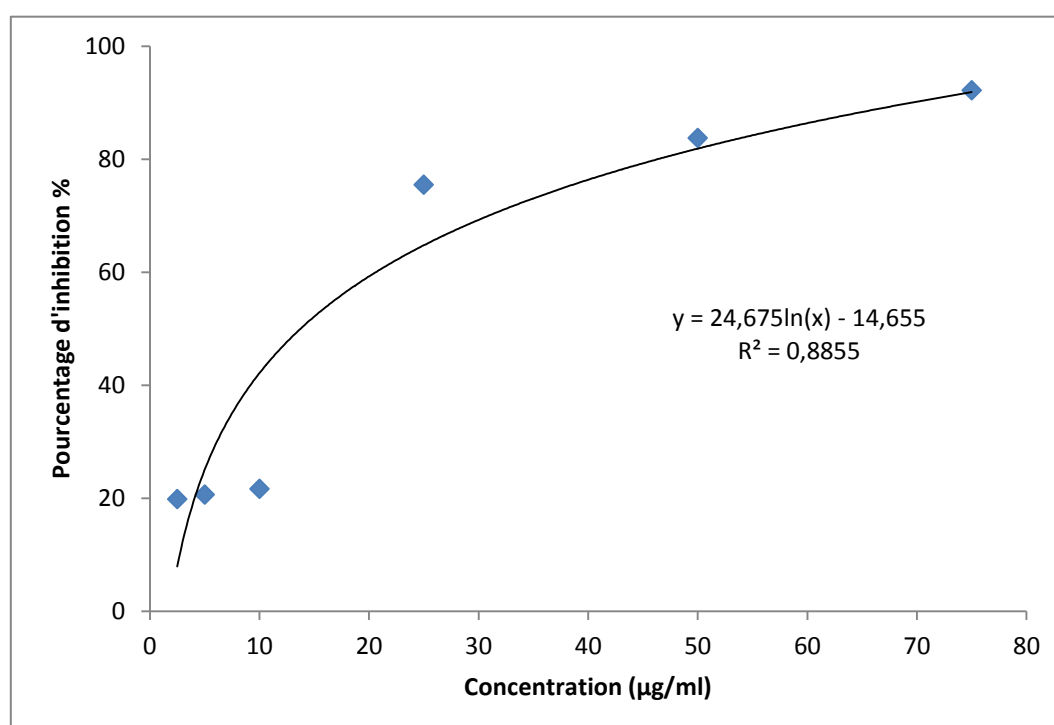


Figure 10 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait Hydroacétonique.

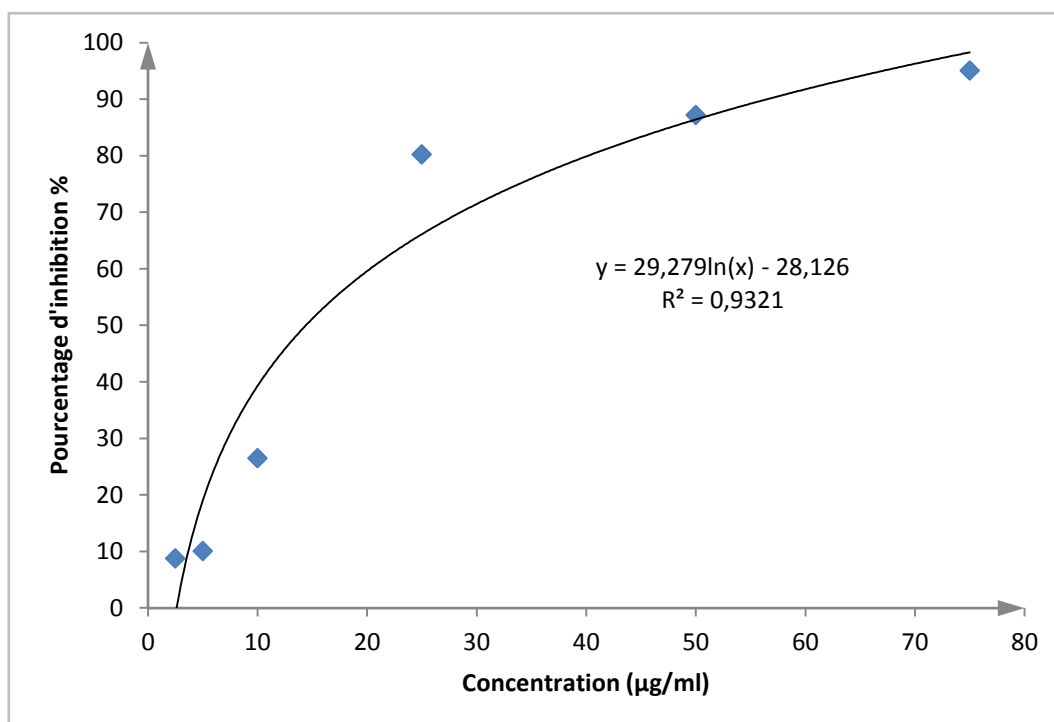


Figure 11 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait Hydrométhanolique.

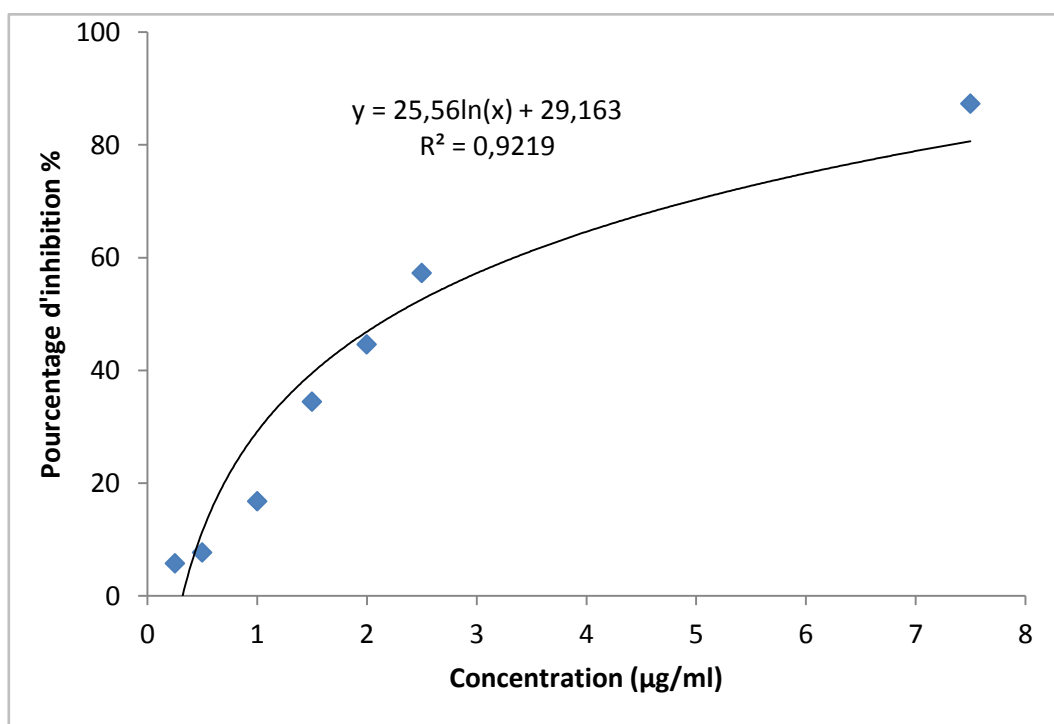


Figure 12 : Représentation de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentration de l'acide ascorbique.

Selon les résultats obtenus, nous notons que l'augmentation du pourcentage d'inhibition est proportionnelle aux concentrations utilisées, soit pour le standard (l'acide ascorbique) ou pour les deux extraits de la plante.

A partir de la courbe de régression logarithmique, nous avons déterminé la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (CI50) nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH. Plus la valeur de CI50 est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est appréciable. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Valeurs des CI50 des différents extraits de l'olivier et celle de l'acide ascorbique

	Hydroacétonique	Hydrométhanolique	Acide ascorbique
CI 50 exprimée en µg/ml	13.73 ± 0.06	14.29 ± 0.08	2.24 ± 0.1

D'après les valeurs obtenues, l'extrait hydroacétonique a présenté une activité antiradicalaire meilleure avec une CI50 d'ordre de 13.73 ± 0.06 µg/ml, par rapport à l'extrait hydrométhanolique, qui présente une CI50 d'ordre de 14.29 ± 0.08 µg/ml.

Ces valeurs sont largement supérieures par rapport à la CI50 obtenue par l'acide ascorbique (2.24 ± 0.1 µg/ml) qui est utilisé comme molécule de référence. Nous concluons par la suite, que l'acide ascorbique a une activité antiradicalaire très élevée.

2.2. Réduction de fer FRAP

L'activité antioxydante des extraits des feuilles de l'olivier a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP les résultats obtenus sont présentés sous forme de graphes de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits et de l'acide ascorbique.

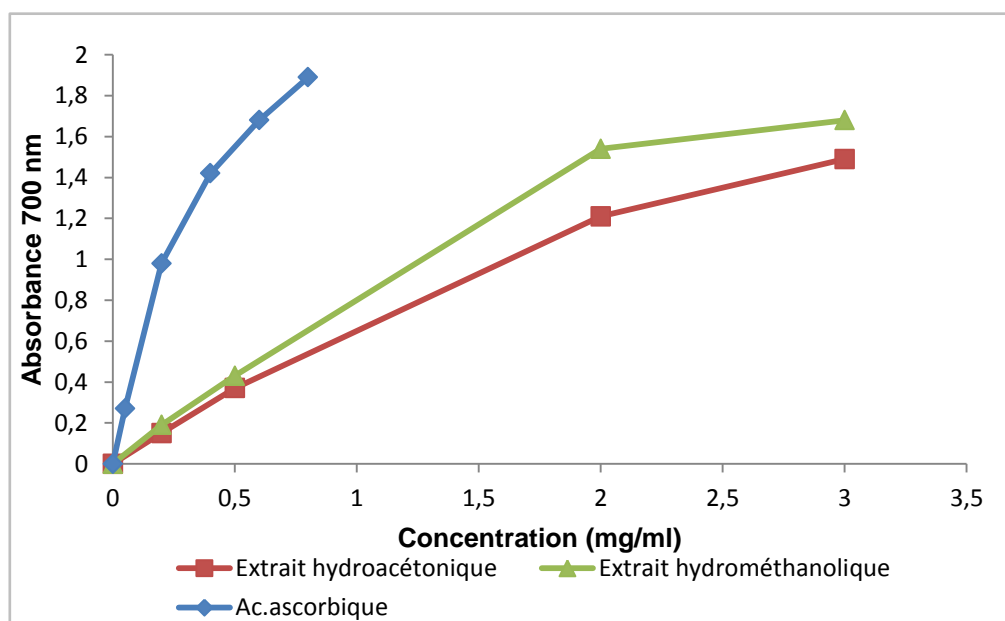


Figure 13 : Pouvoir réducteur des extraits hydrométhanolique et hydroacétonique de l'olivier et de l'acide ascorbique testé par la méthode FRAP

D'après le graphe de la figure 13, nous remarquons que l'augmentation de la réduction de fer est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des extraits des feuilles de l'olivier. A la concentration de 3 mg/ml, le pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique est égale à $DO = 1.68 \pm 0.51$ et à cette même concentration, le pouvoir réducteur de l'extrait hydroacétonique est égale à $DO = 1.49 \pm 0.18$.

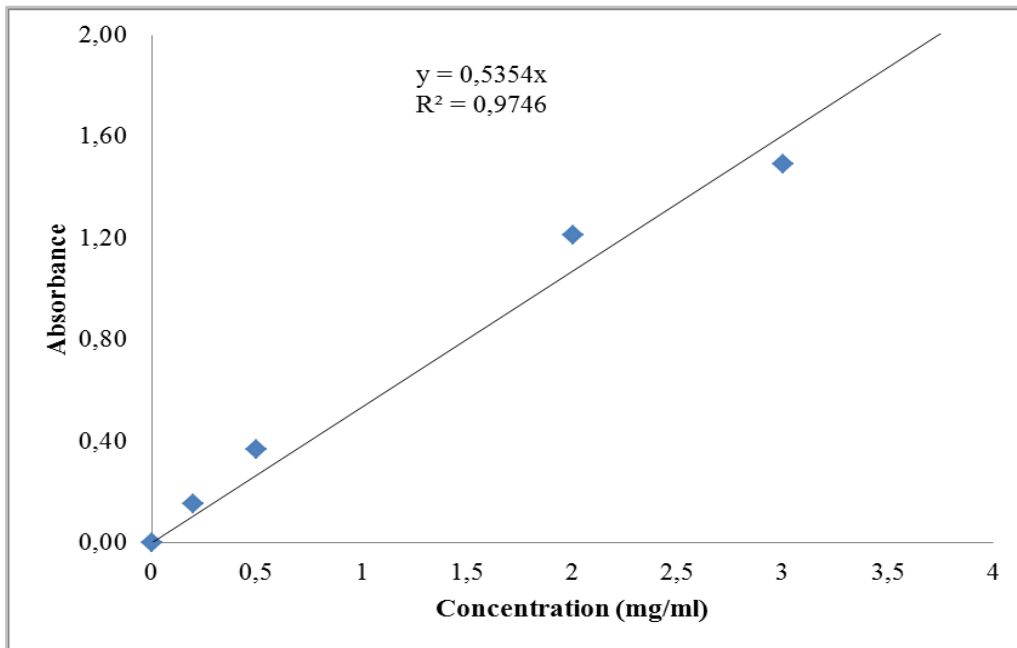


Figure 14 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydroacétonique

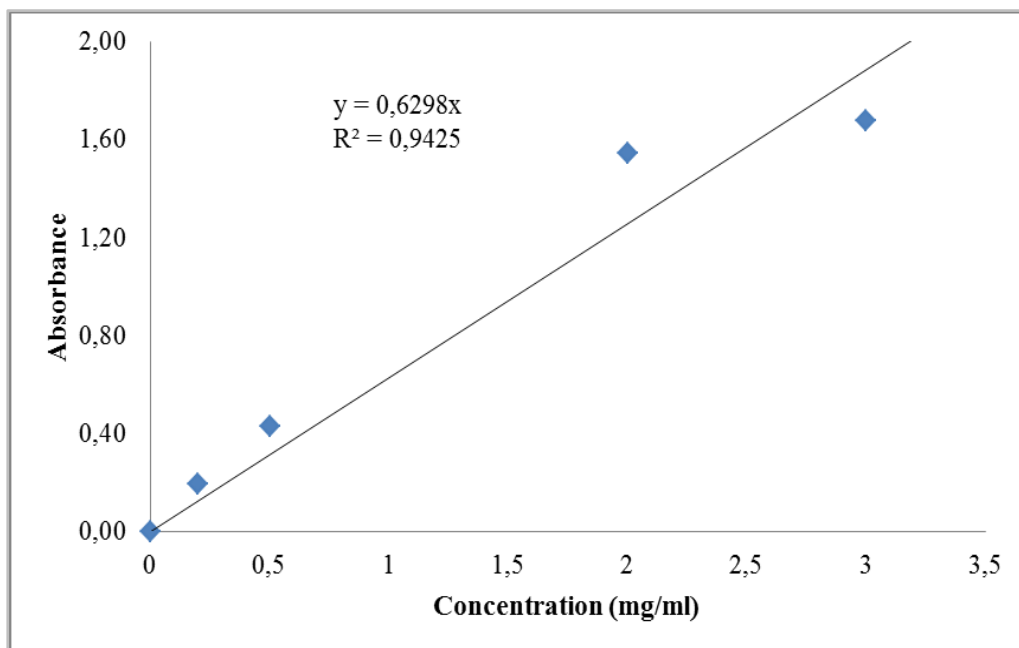


Figure 15 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique

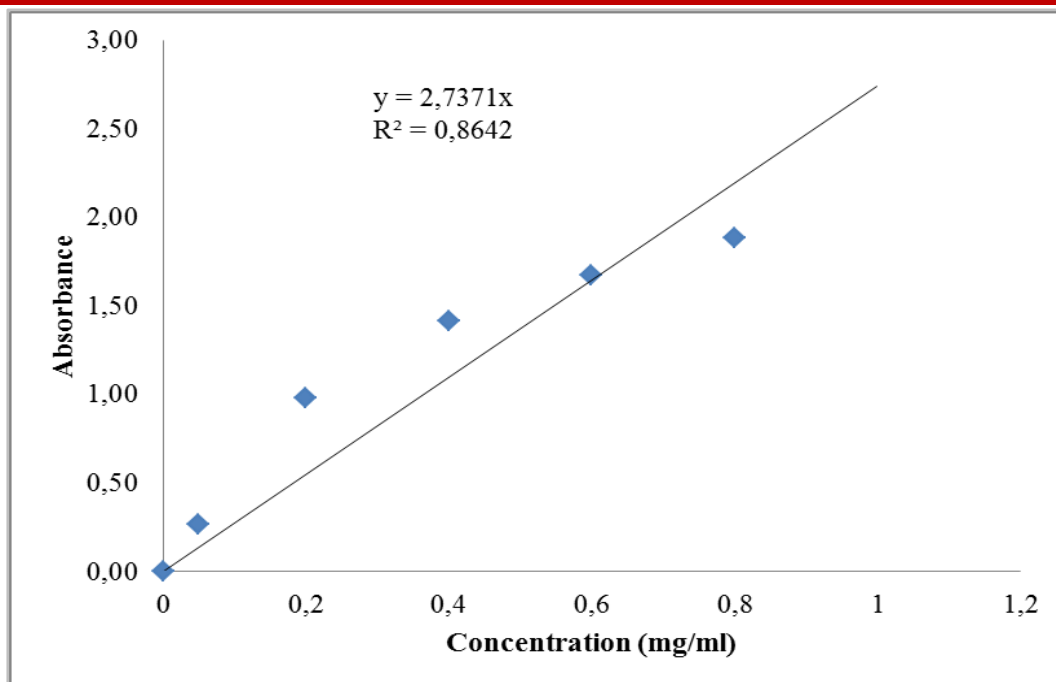


Figure 16 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

A partir des courbes de régression linéaire, nous avons déterminé les concentrations efficaces CE50 des deux extraits ainsi que celle de l'acide ascorbique. C'est la concentration à laquelle l'absorbance est égale à 0.5. L'efficacité de la réduction du fer est inversement proportionnelle à la CE50. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Les valeurs des CE50 calculées pour les extraits hydrométhanolique, hydroacétonique et de l'acide ascorbique

	Hydroacétonique	Hydrométhanolique	Acide ascorbique
CE50 exprimé en mg/ml	0.93 ± 0.16	0.79 ± 0.1	0.18 ± 0.24

Les résultats mentionnés ci-dessus, révèlent que l'extrait hydrométhanolique est doté d'un pouvoir réducteur plus élevé à celui de l'extrait hydroacétonique. Leurs CE50 sont 0.79 ± 0.1 mg/ml et 0.93 ± 0.16 mg/ml, respectivement, mais relativement faibles à celle de l'acide ascorbique qui est de l'ordre de 0.18 ± 0.24 mg/ml.

De ce fait, nous pouvons dire que les extraits des feuilles de l'olivier possèdent une activité antioxydante très intéressante avec la technique FRAP.

Discussion

Discussion

Les feuilles d'*Olea europaea* sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leur richesse en composés phénoliques. Ces molécules chimiques sont connues par leur pouvoir antioxydant qui les rend très importantes pour la santé et l'industrie agroalimentaire (**Aouidi, 2012**).

A travers cette étude, nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante de deux extraits. Les extraits ont été obtenus par macération pendant 24 heures des feuilles de la plante en utilisant deux solvants à polarité différentes qui sont : eau /méthanol (30/70) (v/v) et eau / acétone (30/70) (v/v).

L'extrait hydroacétonique a présenté le meilleur rendement (18.5%) par rapport à l'extrait hydrométhanolique (15%).

En comparant nos résultats avec d'autres chercheurs, d'une part, nos valeurs sont inférieures à celles enregistrées par **Bouabdellah** en **2014**, qui a obtenu un rendement de 30% pour l'extrait hydroacétonique sous reflux. Et d'une autre part, elles sont plus élevées par rapport à celles obtenues par Benmessaoud, qui a noté un rendement de 13.95% pour l'extrait hydroacétonique.

Plusieurs facteurs influent sur le rendement de l'extraction tels que : le solvant utilisé, la température, le temps de l'extraction, le mode d'extraction et la composition de l'échantillon ainsi que la polarité (**Quy-Diem et al., 2014**).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante, dans cette étude nous avons utilisés deux méthodes FRAP et DPPH.

Nous avons commencé par le test de DPPH. Celui-ci, est souvent utilisé pour la rapidité des résultats comme il est employé pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits des végétaux (**Yi et al., 2008**).

D'après les résultats obtenus, l'extrait hydroacétonique des feuilles de l'olivier a présenté l'activité la plus élevée avec une CI50 de 13.73 µg/ml par rapport à l'extrait hydrométhanolique qui a présenté une CI50 de 14.29 µg/ml.

Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Moussouni** en **2019**, dont l'extrait hydroacétonique des feuilles de l'olivier sauvage a présenté l'activité la plus importante avec une CI50 de 0.28 µg/ml.

La différence entre les CI50 des extraits pourrait être attribuée aux divers composés chimiques extraits par les solvants de polarités différentes (**Lafka et al., 2013**).

Selon **Bouabdellah** en **2014**, les CI50 des extraits des feuilles de l'olivier sauvage hydrométhanolique et hydroacétonique sont de l'ordre de 12 µg/ml et 16.96 µg/ml.

Ben Salah et al en **2012** ont évalué l'activité antioxydante de plusieurs variétés de l'olivier cultivé en Tunisie, en utilisant comme solvant d'extraction l'eau/éthanol (30/70) (v/v). L'extrait de feuille de la variété de la région de Chemlali en Tunisie, a montré l'activité la plus élevée par rapport aux autres variétés, avec une CI50 de 7.90 µg/ml.

D'après **Mkaouar et al** en **2015**, la puissance de l'activité antiradicalaire des extraits de feuilles de l'olivier pourrait être due à leur haute teneur en composés phénoliques.

La seconde méthode de réduction de fer FRAP, qui représente un indicateur significatif du pouvoir antioxydant des plantes, a montré que l'extrait hydrométhanolique est doté d'une capacité réductrice plus élevée que celle de l'extrait hydroacétonique avec des densités optiques de 1.68 et 1.49, respectivement, à la concentration de 3 mg/ml.

Selon **Bouabdellah** en **2014** et **Sghir** en **2019**, les résultats de la méthode de réduction de fer FRAP ont montré une activité très élevée pour les extraits hydrométhanoliques des feuilles de l'olivier sauvage, ce qui confirme nos résultats.

D'après les résultats obtenus par **Ben Salah et al.**, en **2012**, pour la méthode de FRAP. L'extrait éthanolique des feuilles des différentes variétés en Tunisie a montré un pouvoir réducteur élevé selon l'ordre suivant : l'extrait des feuilles de Chemlali, suivi par Gerboua et Sévillane.

Dans notre étude, la méthode de piégeage du radical libre DPPH a révélé que l'extrait hydroacétonique des feuilles de l'olivier a de bons résultats par rapport à l'extrait hydrométhanolique. Par contre, selon la méthode de réduction de fer, c'est l'extrait hydrométhanolique qui a donné une bonne activité.

Cette différence entre les deux tests revient à la différence dans leur composition en métabolites secondaires et aussi au principe sur lequel ils sont basés.

Selon les travaux **Ben Salah et al.**, en **2012**, l'olivier est une source importante des composés phénoliques, comme l'oléuropeine qui possède une bonne activité antioxydante et un fort pouvoir réducteur.

Conclusion générale

Conclusion générale

La médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement du stress oxydant pathologique. Notre travail porte sur l'étude de l'espèce *Olea europaea*, qui appartient à la famille des Oleaceae. C'est l'une des familles les plus importantes dans la région méditerranéenne, et la plus utilisée dans la médecine traditionnelle.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits de feuilles de l'olivier selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction de fer FRAP a montré que les deux extraits hydrométhanolique et hydroacétonique possèdent une activité antioxydante modérée. Ces extraits pourraient donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques. Cette activité reste néanmoins nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Nos perspectives de recherche pour le futur sont les suivants :

- Evaluation de l'activité antioxydante de cette plante par d'autres méthodes *in vitro* ;
- L'étude *in vivo* de l'activité antioxydante ;
- Analyse phytochimique ;
- Recherche et évaluation d'autres activités comme : l'activité anti-inflammatoire, antibactérienne, anticancéreuse... ;
- Isolement des principes actifs responsables de l'activité antioxydante d'*Olea europaea*

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74(4), 324-329.

Aouidi, F. (2012). Etude et valorisation des feuilles d'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'industrie agroalimentaire. Thèse de Doctorat Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie. Université du Carthage .140p

Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2013). Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 159-166.

Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry*, 89(1), 27-36.

Azadmanesh, J., & Borgstahl, G. E. (2018). A review of the catalytic mechanism of human manganese superoxide dismutase. *Antioxidants*, 7(2), 25.

Ben Salah, M., Abdelmelek, H., & Abderraba, M. (2012). Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. *Medicinal chemistry*, 2(5), 107-111.

Benhayoun, G., & Lazzeri, Y. (2007). L'olivier en Méditerranée, du symbole à l'économie. Editions L'Harmattan.

Bernini, R., Carastro, I., Santoni, F., & Clemente, M. (2019). Synthesis of lipophilic esters of tyrosol, homovanillyl alcohol and hydroxytyrosol. *Antioxidants*, 8(6), 174.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.

Bouabdallah, A. (2014). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Mémoire de Master en Biologie. Département de Biologie. Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

Chevalier, A. (1948). L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 28(303), 1-25.

Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.

Delattre, J., Durand, G., & Jardillier, J. C. (2003). *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Flammarion médecine-sciences.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

El Omari, N., Sayah, K., Fettach, S., El Blidi, O., Bouyahya, A., Faouzi, M. E. A., ... & Barkiyou, M. (2019). Evaluation of in vitro antioxidant and antidiabetic activities of

- Aristolochia longa extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., & Young, A. J. (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of biochemistry and biophysics*, 430(1), 37-48.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
- Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- Frah, N., Baala, H., & Loucif, A. (2015). VERGER D'OLIVIER À SEFIANE (W. BATNA EST-ALGÉRIEN). *Lebanese Science Journal*, 16(2), 37
- Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A. H., & Saari, N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*, 13(3), 3291-3340.
- Ghedira, K. (2008). L'olivier. *Phytothérapie*, 6(2), 83-89.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gomes, S., Martins-Lopes, P., & Guedes-Pinto, H. (2012). Olive tree genetic resources characterization through molecular markers. Genetic diversity in plants. *IntechOpen*, DOI:10.5772/32973.
- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*, 19(3), 141-158.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- Hubert, J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja : étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. Thèse de Doctorat Institut National Polytechnique de Toulouse. Université de Toulouse.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.
- J.O. DEFRAIGNE J. PINCEMAIL Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.
- Jacques, B., & André, R. (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses. Paris. pp, 217-219220.

- Jemai, H., El Feki, A., & Sayadi, S. (2009). Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(19), 8798-8804.
- Kamal-Eldin, A., & Appelqvist, L. Å. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671-701.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165.
- Končić, M. Z., Kremer, D., Karlović, K., & Kosalec, I. (2010). Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food and chemical toxicology*, 48(8-9), 2176-2180.
- Lafka, T. I., Lazou, A. E., Sinanoglou, V. J., & Lazos, E. S. (2013). Phenolic extracts from wild olive leaves and their potential as edible oils antioxidants. *Foods*, 2(1), 18-31.
- Lamani, O., & Ilbert, H. (2016). Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie): pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. *L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours: pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques*. Montpellier: CIHEAM, 149-159.
- Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Presse médicale (Paris, France: 1983)*, 30(21), 1076-1081.
- Loussert, R., & Brousse, G. (1978). L'olivier: techniques agricoles et productions méditerranéennes. *Maisonneuve et Larose, Paris*, 460.
- Magder, S. (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life ?. *Critical care*, 10(1), 208.
- Mkaouar, S., Bahloul, N., Gelicus, A., Allaf, K., & Kechaou, N. (2015). Instant controlled pressure drop texturing for intensifying ethanol solvent extraction of olive (*Olea europaea*) leaf polyphenols. *Separation and Purification Technology*, 145, 139-146.
- Moussouni, N. (2019). Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Mémoire de Master en Biologie. Département de Biologie. Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.
- Muzzalupo, I., Vendramin, G. G., & Chiappetta, A. (2014). Genetic biodiversity of Italian olives (*Olea europaea*) germplasm analyzed by SSR markers. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Quy-Diem D, Artik E, Phuong L, Lien H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3): 296-302.

Sghir, A. (2019). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Olea europaea sylvestris*. Mémoire de Master en Biologie. Département de Biologie. Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 82(2), 291-295.

Silva, T., Reto, M., Sol, M., Peito, A., Peres, C. M., Peres, C., & Malcata, F. X. (2011). Characterization of yeasts from Portuguese brined olives, with a focus on their potentially probiotic behavior. *LWT-Food Science and Technology*, 44(6), 1349-1354.

Sohal, R. S., Mockett, R. J., & Orr, W. C. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(5), 575-586.

Soler-Rivas, C., Espín, J. C., & Wichers, H. J. (2000). Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1013-1023.

Sudjana, A. N., D'Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., ... & Hammer, K. A. (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *International journal of antimicrobial agents*, 33(5), 461-463.

Villemur P. Gonzales A. Delmas J.M. (1976). A propos de la floraison et de la fructification de quelques variétés de l'olivier 16(3) .pp 45-47.

Yen, G. C. et Chen, H. Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43 : 27 – 37. In : Zovko Cončić M, Kremer D, Karlović K, Kosalec I. (2010). Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food Chemistry and Toxicology*, 48 : 2176 – 2180.

Yi, Z., Yan, Y., Liang, Y., Liu, Z. L. (1996). Two flavones from *Artemisia giraldii* and their antimicrobial activity. *Planta Medica*, 62 : 160 – 162.