



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département : de la Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences alimentaire**

**Spécialité : Biochimie de la Nutrition.**

Intitulé :

**Evaluation de l'activité antioxydante, anti cholinestérase et anti diabétique des feuilles de l'olivier et des deux variétés d'olives *Blanquette* de Guelma et *Chemlal* de Tizi Ouzou**

**Présenté et soutenu par : OUAMMAR SABRINA  
BENSAAD BOCHRA**

**Le : 14/07/2019**

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury : M<sup>me</sup> MEDOUKALI I.** Maitre de conférences « B ». UFM – Constantine.

**Encadreur : M<sup>me</sup> MOUSSAOUI S.** Maitre de conférences « B ». UFM – Constantine.

**Examineur : Mr MOKRANI E.H.** Maitre-assistant « A ». UFM - Constantine.

***Année universitaire  
2018 - 2019***

## TABLE DES MATIERES

### LISTE DES ABREVIATIONS

### LISTE DES TABLEAUX

### LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION.....	01
-------------------	----

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>PARTIE I : APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE DE L'OLIVIER, FEUILLES D'OLIVIER ET OLIVES.....</b>	<b>03</b>
I.1. GENERALITES SUR L'ARBRE.....	03
I.1.1. DESCRIPTION BOTANIQUE DE L'OLIVIER .....	03
I.1.2. SITUATION DE L'OLIVIER DANS LE MONDE.....	04
I.1.3. SITUATION DE L'OLIVIER EN ALGERIE.....	05
I.2. GENERALITES SUR LES FEUILLES D'OLIVIER.....	06
I.2.1. DESCRIPTION DES FEUILLES.....	06
I.2.2. COMPOSITION CHIMIQUE DES FEUILLES .....	06
I.2.3. ACTIVITES BIOLOGIQUE DES FEUILLES .....	10
I.2.4. UTILISATION DES FEUILLES D'OLIVIER .....	10
I.3.GENERALITES SUR LES OLIVES .....	11
I.3.1. DESCRIPTION DES OLIVES.....	11
I.3.2. VARIETES D'OLIVES.....	12
I.3.3. COMPOSITION CHIMIQUE DES OLIVES .....	13
I.3.4. OLIVES ET SANTE.....	14
<b>PARTIE II : STRESS OXYDATIF, METABOLITES SECONDAIRES .....</b>	<b>16</b>
II.1.STRESS OXYDATIF.....	16

II.1.1.DEFINITION.....	16
II.1.2. ESPECES REACTIVES OXYGENEES.....	17
II.1.3. ANTIOXYDANTS.....	17
II.2.COMPOSES PHENOLIQUES.....	18
II.2.1. GENERALITES, STRUCTURES ET CLASSIFICATION .....	18
II.2.2. ACTIVITES DES COMPOSES PHENOLIQUES .....	19

## **MATERIEL ET METHODES**

1. RECOLTE DES ECHANTILLONS .....	20
2. CARACTERISATION PHYSIQUE DES OLIVES .....	20
3. EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES .....	20
3.1. FEUILLES D'OLIVE .....	20
3.2. PULPES D'OLIVE .....	22
4. DOSAGE DES ANTIOXYDANTS.....	23
4.1.DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX .....	23
4.2. DOSAGE DES FLAVONOÏDES .....	24
5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI OXYDANTE DES EXTRAITS.....	26
5.1. TEST DPPH RADICAL LIBRE.....	26
5.2. TEST DE L'ACTIVITE ABTS.....	27
5.3. POUVOIR REDUCTEUR .....	27
5.4. RADICAL GALVINOXYLE (GOR) .....	28
5.5. SUPEROXYDE DMSO ALCALIN .....	28
5.6. LA REDUCTION DU COMPLEXE CUIVRE-NEOCUPROINE (CUPRAC METHODE).....	29
5.7. ACTIVITE DE CHELATION DU CUIVRE (CCA).....	30
5.8. ACTIVITE PHENANTHROLINE .....	30

6. EVALUATION DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE .....	31
6.1. ACTIVITE ANTI CHOLINESTERASE .....	31
6.1.1. ACTIVITE ANTI ACETYLCHOLINESTERASE .....	31
6.1.2. ACTIVITE D'INHIBITION DE L'ENZYME BUTYRYLCHOLINESTERASE.....	31
6.2. ACTIVITE ANTI DIABETIQUE.....	32
6.2.1. INHIBITION DE L'ALPHA-GLUCOSIDASE .....	32
6.2.2. ACTIVITE INHIBITRICE DE L'ALPHA AMYLASE.....	32
7. ETUDE STATISTIQUE.....	33

## **RESULTAS ET DISCUSSION**

1. CARACTERISATION PHYSIQUE DES OLIVES .....	34
2. DOSAGE DES ANTIOXYDANTS.....	34
2.1. DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX .....	34
2.2. DOSAGE DES FLAVONOÏDES .....	36
3. ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	37
3.1. TEST DPPH RADICAL LIBRE.....	37
3.2. TEST DE L'ACTIVITE ABTS.....	40
3.3. POUVOIR REDUCTEUR .....	42
3.4. RADICAL GALVINOXYLE (GOR) .....	44
3.5. ACTIVITE SUPEROXYDE DMSO ALCALIN .....	44
3.6. LA REDUCTION DU COMPLEXE CUIVRE-NEOCUPROINE (METHODE CUPRAC) .....	45
3.7. ACTIVITE DE CHELATION DU CUIVRE (CCA).....	47
3.8. ACTIVITE PHENANTHROLINE .....	48
4. ACTIVITE ENZYMATIQUE DES EXTRAITS .....	50
4.1. ACTIVITE ANTI CHOLINESTERASE .....	50

4.1.1. ACTIVITE ANTI ACETYLCHOLINESTERASE .....	50
4.1.2. ACTIVITE D'INHIBITION DE L'ENZYME BUTYRYLCHOLINESTERASE.....	50
4.2. ACTIVITE ANTI DIABETIQUE.....	51
4.2.1. INHIBITION DE L'ALPHA-GLUCOSIDASE .....	51
4.2.2. ACTIVITE INHIBITRICE DE L'ALPHA AMYLASE.....	51
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>54</b>

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## **RESUME**

*Remerciements  
et dédicaces*

# *REMERCIEMENTS*

*Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant, pour la santé et la volonté qu'il nous a donné durant toutes ces longues années.*

*C'est autant de plaisir qu'un devoir de présenter tous ceux qui, chacun dans son domaine, nous ont aidé afin que nous puissions mener à bien ce travail.*

*Nous adressons tout d'abord nos plus sincères remerciements à M<sup>me</sup> Moussaoui Samira pour avoir accepté de nous encadrer et pour son caractère très compréhensif, sa patience, sa disponibilité, ses précieuses orientations et ses conseils hautement précieux, ainsi que pour tout le temps qu'elle nous a consacré pour diriger ce travail.*

*Nous remercions également Mr Bensouici Chaouki responsable du laboratoire de biochimie au CRBt, de nous avoir accordé un stage pratique au sein du laboratoire de biochimie, pour ses conseils pertinents et pour nous avoir guidés tout au long de notre travail.*

*Mr Djoudi Brahim pour son aide précieuse dans l'étude statistique*

*Bien évidemment, On remercie M<sup>me</sup> Medoukali Imen d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire et de le rehausser par sa grande expertise.*

*On remercie également Mr Mokrani El Hassen d'avoir accepté d'évaluer notre travail.*

*Enfin on veut dire merci à tous les enseignants du département de biochimie à l'université de Constantine 1 pour l'aide pendant notre formation d'étude*

*A toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin.*

# DEDICACE

*Je souhaiterais ; aujourd'hui rendre un vibrant hommage à mes parents ; qui m'ont tout donné, tout appris, et qui ont tout fait pour que j'atteigne mes objectifs.*

*Ce mémoire est un aboutissement de longues années de labeur mais aussi un trophée que je leur offre et une réussite que je leur dédie ; merci infiniment.*

*Je tiens également ; à remercier mes sœurs Lilia , Katia et Nessrine pour leur soutien à toute épreuve ;et aussi ma grand mère et mon oncle Karim qui m'ont toujours poussé vers le haut ainsi que toute ma famille .*

**OUAMMAR Sabrina**



# DEDICACE

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leur prière tout au long de mes études.*

*A mes amours frères et sœur pour leur encouragement permanent et leur soutien moral.*

*Je dédie aussi ce travail à :*

- *A toute ma famille.*
- *A tous mes enseignants du primaire, du secondaire et du supérieur.*
- *A tous mes amis.*

***BENSAAD Bochra***

## Liste des abréviations

**ABTS:** 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique).

**ADN :** Acide désoxyribonucléique.

**ARN :** Acide ribonucléique.

**BHA:** Butyl Hydroxy Anisole.

**BHT:** Butyl Hydroxy Toluene.

**CE<sub>50</sub>:** Concentrations Effectives à 50%

**CI<sub>50</sub>:** Concentration Inhibitrice à 50%

**CUPRAC:** Cupric Reducing Antioxidant Capacity.

**DMSO:** Diméthyl Sulf Oxyde.

**DNTB:** Dinitrothiocyanobenzene.

**DPPH:** 2,2-Diphényl-1-PicrylHydrazyl.

**EFO :** Extrait de feuilles d'olivier.

**EOR :** Espèces Oxygène Réactives.

**FCR:** Folin-Ciocalteu Reactif.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** Peroxyde d'hydrogène.

**LDL :** Lipoprotéine Faible Densité.

**NBT:** 4-nitro blue tétrazolium chloride.

**nm :** Nanomètre.

**TBHP :** Hydroperoxyde De Tert-Butyle.

**VBG :** Variété *Blanquettes* de Guelma.

**VCT :** Variété *Chemlal* de Tizi.

**µg:** Microgramme.

**µl:** Microlitre.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Composition chimique globale des feuilles d'olivier .....	07
<b>Tableau 2 :</b> Composition en minéraux des feuilles d'olivier .....	07
<b>Tableau 3 :</b> Composition en acides aminés des feuilles d'olivier fraîches (exprimé en g par kg d'azote total) .....	08
<b>Tableau 4 :</b> Structures chimiques des composés phénoliques les plus abondants des feuilles d'olivier .....	09
<b>Tableau 5:</b> Variétés mondiales d'olives .....	13
<b>Tableau 6 :</b> Principaux composés phénoliques de l'olive .....	14
<b>Tableau 7 :</b> Gamme d'étalon de l'acide gallique .....	24
<b>Tableau 8 :</b> Gamme d'étalon de la quercetine .....	25
<b>Tableau 9 :</b> Caractérisation des olives des variétés <i>Chemlal</i> de Tizi et <i>Blanquette</i> de Guelma.....	34
<b>Tableau 10 :</b> Polyphénols totaux des extraits .....	35
<b>Tableau 11 :</b> Teneur des flavonoïdes dans les extraits .....	36
<b>Tableau 12 :</b> Activité antiradicalaire au DPPH des extraits exprimée en $CI_{50}$ .....	38
<b>Tableau 13 :</b> Activité d'inhibition du radical ABTS.+ des extraits exprimée en $CI_{50}$ .....	41
<b>Tableau 14 :</b> Concentrations effectrices ( $CE_{50}$ ) responsables du pouvoir réducteur des extraits (EFO, VCT, et VBG) et standards .....	42
<b>Tableau 15 :</b> Capacité d'inhibition du radical galvinoxyle par les extraits exprimée par la $CI_{50}$ .....	44
<b>Tableau 16 :</b> Activité superoxyde DMSO alcalin des extraits exprimée par la $CI_{50}$ .....	45
<b>Tableau 17 :</b> Concentrations effectrices ( $CE_{50}$ ) responsables de la capacité à réduire le complexe cuivre-néocuproïne.....	46
<b>Tableau 18 :</b> Valeurs de la $CI_{50}$ de l'activité de chélation du cuivre de nos extraits .....	47
<b>Tableau 19 :</b> Concentrations effectrices ( $CE_{50}$ ) responsables de l'activité phenanthroline des extraits. ....	49
<b>Tableau 20 :</b> Valeurs de la $CI_{50}$ de l'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase par les extraits.....	50
<b>Tableau 21 :</b> Valeurs de la $CI_{50}$ de l'activité d'inhibition de l'enzyme alpha glucosidase par les extraits. ....	51
<b>Tableau 22 :</b> Valeurs de la $CI_{50}$ de l'activité d'inhibition de l'enzyme alpha amylase .....	52

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : L'olivier ( <i>Olea europea</i> L) .....	04
<b>Figure 2</b> : Distribution de l'olivier dans le monde.....	05
<b>Figure 3</b> : Feuilles d'olivier .....	06
<b>Figure 4</b> : Fruits d'olivier.....	12
<b>Figure 5</b> : Stress oxydant: déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants.....	16
<b>Figure 6</b> : Réduction en quatre étapes de l'oxygène moléculaire en eau, les intermédiaires sont des espèces activées de l'oxygène .....	17
<b>Figure 7</b> : Localisation de la commune de Roknia (Guelma).....	20
<b>Figure 8</b> : Localisation de la commune de Draa el mizan (Tizi Ouzou).....	20
<b>Figure 9</b> : Photographie des feuilles avant et après broyage.....	21
<b>Figure 10</b> : Etapes d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles.....	21
<b>Figure 11</b> : Etapes d'extraction des composés phénoliques à partir de la pulpe d'olive .....	22
<b>Figure 12</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	24
<b>Figure 13</b> : Courbe d'étalonnage de la quercétine .....	26
<b>Figure 14</b> : Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux des extraits .....	35
<b>Figure 15</b> : Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes des extraits .....	36
<b>Figure 16</b> : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) .....	38
<b>Figure 17</b> : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition du radical DPPH des extraits par rapport aux standards BHA et BHT.....	39
<b>Figure 18</b> : Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS) .....	40
<b>Figure 19</b> : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition du radical ABTS par les extraits .....	41
<b>Figure 20</b> : Profil de la microplaque du dosage de pouvoir réducteur.....	42
<b>Figure 21</b> : Histogramme représentant le pouvoir réducteur des extraits et des standards .....	43
<b>Figure 22</b> : Profil de la microplaque de dosage d'activité superoxyde DMSO alcalin .....	44
<b>Figure 23</b> : Profil de la microplaque de dosage d'activité à réduire le complexe cuivre-néocuproïne .....	45
<b>Figure 24</b> : Histogramme représentant la capacité d'inhibition du CUPRAC par les extraits .....	46

<b>Figure 25</b> : Histogramme représentant l'activité de chélation du cuivre par les extraits.....	47
<b>Figure 26</b> : Profil de la microplaque de dosage de l'activité phenanthroline .....	48
<b>Figure 27</b> : Histogramme représentant l'activité phenanthroline des extraits. ....	49
<b>Figure 28</b> : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme alpha amylase par les différents extraits. ....	52

# *Introduction*

## Introduction

Le régime méditerranéen riche en fruits et légumes frais, a été associé à une faible incidence de maladies, notamment en raison de sa proportion élevée de composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les polyphénols (Benavente *et al.*, 1999). A l'heure actuelle, les polyphénols captent l'intérêt des chercheurs et occupent une place impressionnante parmi plusieurs recherches menées depuis plus d'une dizaine d'années, concernant le concept d'alimentation santé (Bondia-Pons *et al.*, 2009 ; Chew *et al.*, 2009). Au cours des dernières années, des études sur les activités antioxydantes des plantes médicinales ont augmenté de façon remarquable due à un intérêt accru pour leur potentiel d'être utilisé en tant que source d'antioxydants riche et naturelle (El Haci *et al.*, 2012; Benariba *et al.*, 2013).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées aux olives et feuilles d'olivier (*Olea europaea L*) qui est un arbre largement cultivée dans le bassin méditerranéen, il recouvre ainsi environ 8 millions d'ha ; ce qui représente environ 98% de la récolte mondiale (Bouaziz et Sayadi, 2005).

Depuis l'antiquité l'utilisation la plus connue de l'olivier est la production de l'huile d'olive qui est utilisée pour des raisons alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles dont l'utilisation en phytothérapie remonte très loin dans l'histoire comme remède traditionnel pour lutter contre la fièvre et d'autres maladies, telles que le paludisme, ainsi qu'à son fruit (l'olive) qui dispose de diverses propriétés antioxydantes associées à ses composés phénoliques (Djenane *et al.*, 2012; Benavente *et al.*, 1999 ; Xie *et al.*, 2015).

Sur cette base nous avons porté intérêt aux feuilles d'olivier et à deux variétés d'olive (*Blanquette* de Guelma et *Chemlal* de Tizi Ouzou) ; une extraction a été faite pour récupérer des composés phénoliques olives et feuilles d'olivier afin de :

- Déterminer la teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits.
- Evaluer l'activité antioxydante des extraits en utilisant diverses méthodes.
- Estimer l'activité anti-cholinestérase et antidiabétique des extraits en utilisant des tests enzymatiques.

Le présent travail comporte trois parties principales, la première est une étude bibliographique au sein de laquelle nous avons apporté des généralités sur l'olivier, les feuilles et le fruit et leurs activités biologiques. La deuxième partie résume le matériel

biologique et la méthodologie de travail. La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats ainsi qu'à leur interprétation. Finalement, nous achevons notre manuscrit par une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus.



*Etude  
bibliographique*

## **Partie I : Aperçu bibliographique de l'olivier, feuilles d'olivier et olives**

### **I.1. Généralités sur l'arbre**

L'olivier est l'arbre le plus emblématique du bassin méditerranéen et son omniprésence dans les agro systèmes confère à cette espèce une importance économique et une pierre angulaire de l'agriculture traditionnelle méditerranéenne (Besnard, 2016). Cet arbre est cultivé pour son fruit, l'olive, qui donne une huile, mais aussi pour les olives de table qui ont une grande importance dans le régime méditerranéen (Aouidi, 2012).

#### **I.1.1. Description botanique de l'olivier**

L'olivier est un arbre de 6 à 8 m de hauteur, à tronc tortueux et à écorce grisâtre, crevassée (Figure 1). Les feuilles, blanches argentées à la face inférieure, vertes grisâtres à la face supérieure, opposées, persistantes, coriaces, lancéolées. Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées. Les fruits d'olives, sont des drupes ovoïdes, vertes puis noires à la maturité, à noyau dur fusiforme (Ghedira, 2008).

En botanique l'olivier est classifié comme suit (Ghedira, 2008) :

Règne: Plantae

Embranchement: Magnoliophyta

Sous-embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Dialypétales

Ordre : Lamiales

Famille : Oleaceae

Genre : Olea

Espèce: Olea europea L

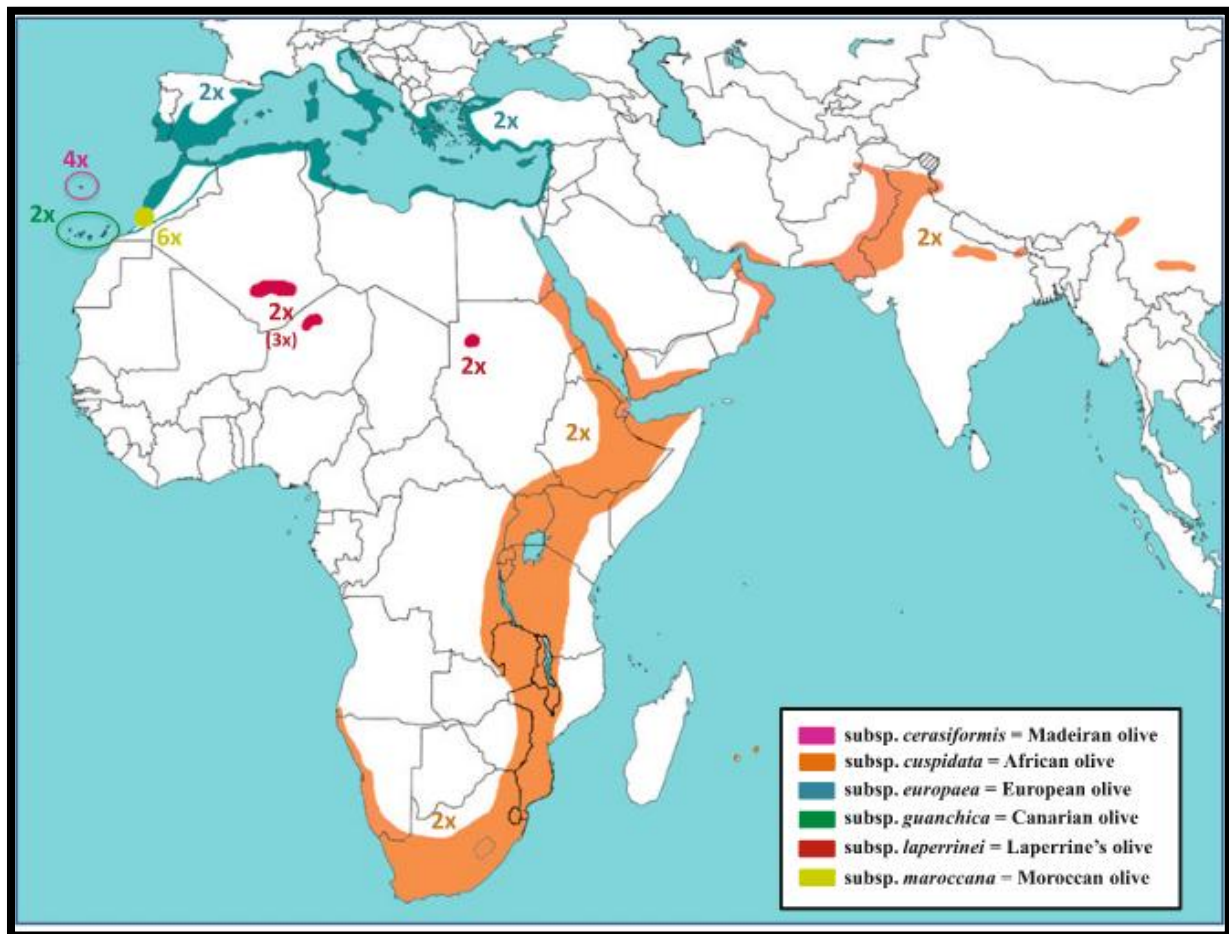


**Figure 1** : L'olivier (*Olea europaea* L) (Belaj *et al.*, 2016)

L'olivier méditerranéen, *Olea europaea* L a longtemps été subdivisé en deux variétés, variété *europaea* pour l'olivier cultivé, et la variété *sylvestris* pour l'oléastre (olivier sauvage). Cette subdivision est cependant discutable, divers travaux ayant montré l'absence de frontières entre les populations sauvages et les formes cultivées, aussi bien sur le plan génotypique que phénotypique (Breton *et al.*,2006; Long *et al.*, 2010).

### **I.1.2. Situation de l'olivier dans le monde**

L'olivier est présent sur six continents : Europe, Amérique du nord, Amérique du sud, Afrique, Asie, Océanie. Toutefois, c'est dans le pourtour méditerranéen que l'on retrouve plus de 90 % des oliviers. Les principaux vergers d'oliviers se situent en Espagne, en Tunisie, en Italie, en Turquie, en Grèce, au Maroc, en Syrie et au Portugal. L'olivier appartient à ce que l'on appelle le complexe oléicole dans lequel six sous-espèces sont reconnues. Ces taxons sont naturellement distribués de l'Afrique du Sud à l'Asie du Sud, dans les montagnes sahariennes, en Macaroniste et dans les pays méditerranéens (Figure 2), (Besnard, 2016).



**Figure 2 :** Distribution de l'olivier dans le monde (Besnard, 2016).

### I.1.3. Situation de l'olivier en Algérie

Comme dans la plupart des autres pays méditerranéens, l'olivier constitue l'une des principales espèces fruitières plantées en Algérie, avec environ 207822 ha soit 33% de la surface arboricole. L'olivier est présent dans l'ensemble des wilayas du pays et il est divisé comme suit :

- Le centre occupe la première place avec 112921 ha soit 54,33 % qui sont concentrés dans les wilayas de Bejaia, Tizi-Ouzou, etc...
- L'Est du pays vient en seconde position avec 58764 ha soit 28,27% dont la moitié est localisée dans les wilayas de Sétif, Guelma, Skikda, etc...
- La région Ouest occupe à peine 16,93% soit 35192 ha dont l'ensemble est concentré à Tlemcen.
- Enfin; le Sud occupe une superficie de 945 ha (Boukhezna, 2008).

## I.2. Généralités sur les feuilles d'olivier

### I.2.1. Description des feuilles

L'olivier a des feuilles persistantes et ses feuilles vivent habituellement pendant deux à quatre saisons, bien que les feuilles les plus âgées puissent rester plus longtemps sur l'arbre. Elles sont opposées, coriaces, simples, avec un pétiole très court (environ 0,5 cm) et une lame allongée (3–9 cm de long). Le limbe est lancéolé et se termine par un mucron. Les bords du limbe s'enroulent sur eux-mêmes. La face supérieure de la feuille est vert-grisâtre, lisse et brillante et la face inférieure de la feuille est grise argentée et d'aspect chatoyant (Figure 3). L'anatomie et les caractéristiques de la surface de la feuille d'olivier sont typiques d'une végétation sclérophylle résistante à la sécheresse (Lomenech, 2010; Rapoport *et al.*, 2016).



**Figure 3** : Feuilles d'olivier (Belaj *et al.*, 2016)

### I.2.2. Composition chimique des feuilles

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs : variétés, conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations (Nefzaoui, 1995). Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines (5,04 à 7,60 g / 100 g de matière fraîche), des lipides, des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tels que le cellulose, l'hémicellulose) (Tableau 1).

**Tableau 1** : Composition chimique globale des feuilles d'olivier

composants (g/100g)	Boudhrioua <i>et al.</i> , 2009	Garcia-Gomez <i>et al.</i> , 2003
Eau	46.2-49.7 <sup>a</sup>	nd
Protéines	5.0-7.6 <sup>a</sup>	nd
Lipides	1.0-1.3 <sup>a</sup>	nd
Minéraux	2.8-4.4 <sup>a</sup>	nd
Carbohydrates	37.1-42.5 <sup>a</sup>	nd
Polyphénols totaux	1.3-2.3 <sup>b</sup>	nd
Cellulose	nd	19.3 <sup>b</sup>
Hémicellulose	nd	25.4 <sup>b</sup>
Lignine	nd	30.4 <sup>b</sup>

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.

La composition en minéraux est représentée au tableau 2. On peut remarquer que les minéraux les plus abondants sont : le fer avec une concentration de 273 g/ Kg de matière sèche et le magnésium avec une concentration de 50 g/kg de matière sèche (Fegeros *et al.*, 1995).

**Tableau 2** : Composition en minéraux des feuilles d'olivier (Fegeros *et al.*, 1995).

Minéraux	Concentrations (g/kg M.S)
Calcium (Ca)	12.7
Phosphore (P)	2.1
Manganèse (Mg)	1.9
Potassium (K)	6.3
Fer (Fe)	273.0
Cuivre (Cu)	10.7
Zinc (Zn)	21.3
Magnésium (Mn)	50.0

M.S : matière sèche

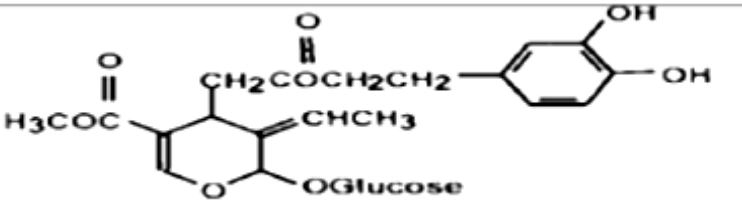
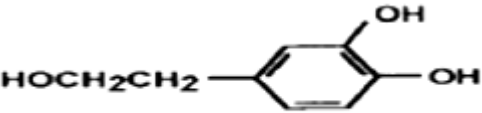
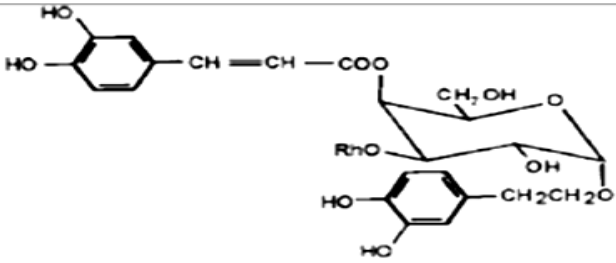
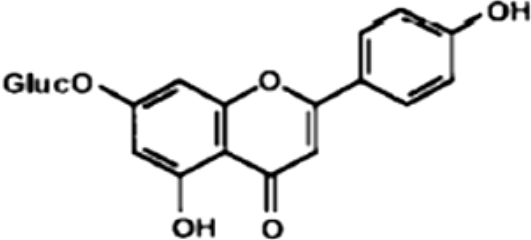
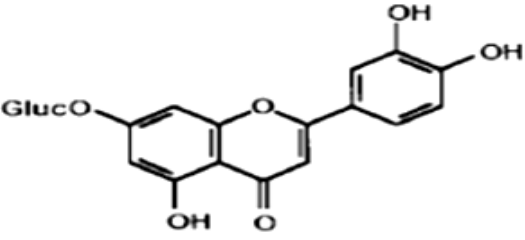
La teneur des feuilles en protéine est faible, il y'a un grand nombre d'acides aminés libres représenté dans le Tableau 3.

**Tableau 3** : Composition en acides aminés des feuilles d'olivier fraîches (exprimé en g par Kg d'azote total) (Martin-Garcia et Molina-Alcoide, 2008).

Acides aminés	Concentrations	Acides aminés	Concentrations
Acide aspartique	27,5	Valine	74,8
Acide glutamique	35,1	Méthionine	5,3
Serine	44,5	Cystéine	1,6
Glycine	79,6	Isoleucine	58,8
Histidine	25,4	Leucine	104
Arginine	162,0	Phénylalanine	51,8
Thréonine	46,8	Lysine	19,1
Alanine	73,8	Acides aminées essentiels	537947
Proline	84,2	Acides aminées non essentiels	
Tyrosine	32,3	Acides aminées totaux (sans tryptophane)	926

La capacité antioxydante des feuilles d'olivier est liée à la présence de différentes familles chimiques, dont des polyphénols, l'hydroxytyrosol, le tyrosol et l'oleuropéine (Tableau 4).

**Tableau 4** : Structures chimiques des composés phénoliques les plus abondants des feuilles d'olivier (Benavente *et al.*, 1999)

Composés phénoliques	Structure chimique
Oleuropéine	
Hydroxytyrosol	
verbascoside	
Apegenin-7-glucoside	
Lutéolin-7-glucoside	



### I.2.3. Activités biologique des feuilles

Le potentiel antioxydant des feuilles d'olivier a été le sujet de diverses études qui ont confirmé la grande capacité que ces feuilles possèdent envers les radicaux libres, selon une étude sur des cellules avec mesure de leur teneur en ERO. Les données ont montré qu'en comparaison aux cellules témoins positives traitées avec l'oxydant TBHP, l'incubation avec des extraits de feuilles d'olivier a considérablement diminué la teneur en ERO intracellulaire produite par l'oxydant TBHP (Difonzo *et al.*, 2017). Ainsi que l'activité piégeant les radicaux DPPH de l'hydroxytyrosol et de l'oleuropéine des composés présents dans les feuilles d'olivier a été mesurée, ces composés ont montré une forte activité antioxydante (Bouaziz et Sayadi, 2005).

A côté de l'activité à piéger les radicaux libres ; les scientifiques sont allés encore plus loin pour déterminer les autres activités que les feuilles d'olivier peuvent avoir et ils ont fini par déduire que ces feuilles possèdent une activité antihyperglycémique. D'après une étude réalisée *in vivo* sur plusieurs rats ayant un taux de glycémie augmenté suite à l'injection de l'alloxane. Cette toxine provoque des modifications morphologiques au niveau de la population cellulaire de pancréas endocrine entraînant ainsi des troubles métaboliques qui accompagnent l'état diabétique. Après administration de la tisane des feuilles d'olivier pour certains rats, les résultats ont montré une diminution hautement significative de la glycémie chez ces rats alors qu'elle reste pratiquement similaire pour les rats témoins ce qui prouve que des tisanes des feuilles d'olivier possède une activité hypoglycémiant (Arab *et al.*, 2013).

Une autre étude a rapporté que les principaux composés phénolique des feuilles d'olive ont montré des propriétés neuroprotectrices, en neutralisant les radicaux hydroxyyles, en diminuant la peroxydation des lipides et en renforçant l'activité des enzymes antioxydantes dans la substance du cerveau central, ceci protège les neurones des effets néfastes du stress oxydatif et permet ainsi la prévention de la maladie d'Alzheimer et du syndrome de Parkinson (Sarbishegi, 2018).

### I.2.4. Utilisation des feuilles d'olivier

Les feuilles de l'olivier ont été utilisées depuis très longtemps pour désinfecter les blessures cutanées. Les anciens leur attribuaient des vertus antiseptiques et la propriété de combattre toutes sortes d'infections. De nos jours des extraits de feuilles d'olivier sont

apparus sur le marché. Certains fabricants en vantent les vertus pour le système immunitaire et contre les infections virales, bactériennes et fongiques.

En Europe, les herboristes recommandent la feuille d'olivier pour améliorer la circulation sanguine, ainsi que pour prévenir et traiter l'hypertension et l'artériosclérose. La feuille d'olivier est souvent combinée à d'autres plantes aux propriétés complémentaires (Araqas, 2013).

Elles ont été utilisées aussi pour l'alimentation animale telle que l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes (Govaris *et al.*, 2010).

De nombreuses études ont été réalisées sur les feuilles pour leurs propriétés particulières et elles ont été introduites dans le domaine pharmaceutique pour extraire des composés phénoliques, notamment l'oleuropéine (Japan-Lujian *et al.*, 2006) ; qui est l'un des composés responsables de l'activité hypoglycémiant et antidiabétique (Gonzalez *et al.*, 1991). Aussi des études ont montré que la consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé (Giao *et al.*, 2007).

De nombreuses industries utilisent les feuilles d'olivier pour fabriquer divers produits alimentaires, des résultats suggèrent que les feuilles d'olivier constituent un potentiel non négligeable comme des ingrédients alimentaires fonctionnels pour leur activité antimicrobienne vis-à-vis de certaines bactéries responsables de toxi-infections alimentaires (Djenane *et al.*, 2011). Ainsi que dans des produits cosmétiques pour la formulation photo protectrice (Pinnell-Sheldon et Omar Mostafa, 2004).

### **I.3.Généralités sur les olives**

#### **I.3.1. Description des olives**

Les fruits des variétés d'olive cultivées mesurent 1–4 cm de long, 0,5–2 cm de diamètre et peuvent peser jusqu'à 10 g de poids frais et 2,5 g de poids sec. La forme fruitée varie de sphérique à ellipsoïde ou allongée, avec divers degrés d'asymétrie et un sommet arrondi ou pointu. Les fruits de génotypes sauvages sont généralement beaucoup plus petits (longueur : 0,5–1,5 cm, largeur inférieure à 1 cm et pesant moins de 2 g) et présentent une proportion d'endocarpe beaucoup plus élevée par rapport aux variétés cultivées (Rapoport *et al.*, 2016).



**Figure 4** : Fruits d'olivier (Belaj *et al.* 2016)

### I.3.2. Variétés d'olives

Les olives se présentent avec différentes couleurs. En fonction du degré de la maturité des fruits frais on distingue :

- Olives vertes: Fruits récoltés au cours de la période de maturation, avant la coloration et lorsqu'ils ont atteint une taille normale. Une fois traitée, la couleur olive verte peut varier du vert au jaune paille.
- Olives tournantes : Fruits récoltés avant le stade de maturité complète, au changement de couleur. Après traitement, ce type d'olive peut varier du rose au brun.
- Olives noires: Fruits récoltés à pleine maturité ou un peu avant d'atteindre leur pleine maturité. Une fois transformées, les olives noires peuvent varier du noir rougeâtre au noir violet, au violet foncé, au noir verdâtre ou au marron foncé (Rejano *et al.*, 2010).

Selon leur destination on distingue différents types d'olive :

- Des olives à huile, leur production doit être constante et garantir une bonne rentabilité en termes de qualité et de quantité d'huile.
- Des olives de table, elle implique une certaine grosseur du fruit et un contenu riche en pulpe et en noyau mais faible en huile (Tableau 5).
- Des olives mixtes qui présentent des propriétés à cheval entre les deux groupes; en fonction du moment de sa récolte et de son adaptation à la zone de culture, on destine le fruit soit à la table (une fois la taille adéquate atteinte) soit à l'extraction de l'huile (Touati, 2013).

**Tableau 5** : Variétés mondiales d'olives (Rejano *et al.*, 2010).

Pays	Olives de table	Olives mixtes
Algérie		Azeradj, Blanquette de Guelma, Sigoise
Egypte	AggeziShami, Hamed, Toffahi	
Italie	AscolanaTenera, Giarraffa, NocellaradelBelice, Oliva di Cerignola, Sant'Agostino, Santa Caterina	Carolea, Cassanese, Cellina di Nardò, Cucco, Itrana, Majatica di Ferrandina, NocellaraEtnea, Pizz'e Carroga
Espagne	Aloreña, Gordal de Granada y Sevillana, Loaime, Manzanilla de Sevilla, Mollar de Cieza, Morona	Hojiblanca, Manzanilla Cacereña, Manzanilla Prieta, Morisca, Rapasayo, Villalonga
Tunisie	Mesk	Chétoui, Gerbouï, Oueslat
Turquie	Domat, Izmir Sofralik, Uslu	Çekiste, Çelebi, Erkence, GemlikMemecik, Memeli
Grèce	Chalkidiki	Amigdalolia, Kalamón, Konservolia, Mastoidis, Megaritiki
France	Lucques	Aglandau, Grossane, Picholine Languedoc, Salonenque, Tanche
Maroc	Meslala	Haouzia, Menara, Picholine Marocaine

### I.3.3. Composition chimique des olives

L'olive est constituée principalement d'eau qui représente 40 à 45% de la totalité des composés chimiques du fruit, les autres composants sont : des glucides (10-20 %), des lipides qui représentent environ 30 % du fruit mur (environ 50 % du péricarpe et 35-40 % de l'amande qui représente 15 % du poids du noyau) et des minéraux. D'autres constituants importants sont les pectines, les acides organiques et les pigments (Ghedira, 2008; Benlemih et Ghanam, 2016).

Les membres d'Oleaceae y compris les olives ; contiennent de nombreux composés, tels que des composés phénoliques simples, acide caféique, acide gallique, ainsi qu'un groupe de composés phénoliques complexes spécifiques à cette famille (Tableau 6). Cette dernière catégorie est représentée par les oléosides phénoliques ou les secoiridoïdes typiques des Oléacées et de quelques autres familles dicotylédones. Globalement, les concentrations des composés phénoliques dans les drupes d'olive varient entre 1 et 3% du poids frais de la pulpe et les principales classes de phénols présentes sont les suivantes : acides phénoliques, les alcools phénoliques, les flavonoïdes et secoiridoïdes (Servili *et al.*, 2016).

**Tableau 6** : Principaux composés phénoliques de l'olive (Servili *et al.*, 2016).

Classes	Composants
Flavonoïdes	Anthocyanines . Cyanidine 3-o-glucoside . Cyanidine 3-o-rutinoside Falavonols . Quersitine 3-o-rutinoside Flavones . Lutéoline 7-o-glucoside . Apigénine 7-o-glucoside
Acide phénolique	. Acide gallique .Acide caféique .Acide vanillique
Secoiridoïdes	. Oleuropéine . Déméthyloleuropéine . Ligstroside . Nuzhenide
Lignane	

#### I.3.4. Olives et santé

Le cancer est actuellement la deuxième cause de mortalité dans le monde et de nouveaux traitements pharmacologiques sont nécessaires de toute urgence. Il se caractérise par une régulation anormale de la prolifération cellulaire, souvent associée à la dissémination

métastatique des cellules transformées due à la dérégulation de plusieurs voies. Les sécoiridoïdes phénoliques des olives agissent contre de multiples cibles moléculaires impliquées dans la tumorigénèse humaine, avec des effets secondaires minimes, ils ont été considérés comme des candidats idéaux pour les traitements du cancer (cancer du côlon et du sein), bien qu'il n'existe aucune preuve de l'action thérapeutique directe des sécoiridoïdes de l'olive sur le cancer humain en raison de l'absence d'études de validation clinique. L'examen de leurs cibles moléculaires suggère fortement leur utilisation potentielle en tant que médicaments adjuvants dans des traitements anticancéreux à objectifs multiples (Celano *et al.*, 2019).

Des études sur une variété d'olive russe a montré qu'il a un effet protecteur contre des ulcères gastro-intestinaux, les résultats obtenus après application de l'extrait de fruit chez les rats atteints d'un ulcère provoqué par l'éthanol, une forte activité gastro-protectrice a été observée dans les tissus après la réalisation de l'examen histopathologique et la détermination de l'indice ulcéreux (Hamidpour *et al.*, 2016).

Pour l'activité antioxydante des olives, l'oleuropéine qui est généralement le composé phénolique le plus dominant dans l'olive exerce de puissantes activités antioxydantes, telles que l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de faible densité et le piégeage des radicaux libres. Il modifie favorablement les processus physiopathologiques au niveau cellulaire, par exemple. En inhibant non seulement la production d'anions super-oxydes et l'éclat respiratoire de neutrophiles, mais également l'agrégation plaquettaire et la production de thromboxane et de leucotriène b4 par des neutrophiles (Syed Haris, 2010). L'oleuropéine joue également un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires, en inhibant l'oxydation des LDL, une étude a été réalisée *in vitro* en induisant l'oxydation des LDL par le sulfate de cuivre et en pré-incubant les échantillons avec de l'oleuropéine, ce dernier a efficacement inhibé l'oxydation des LDL induite par  $\text{CuSO}_4$  (Visioli, 1994).

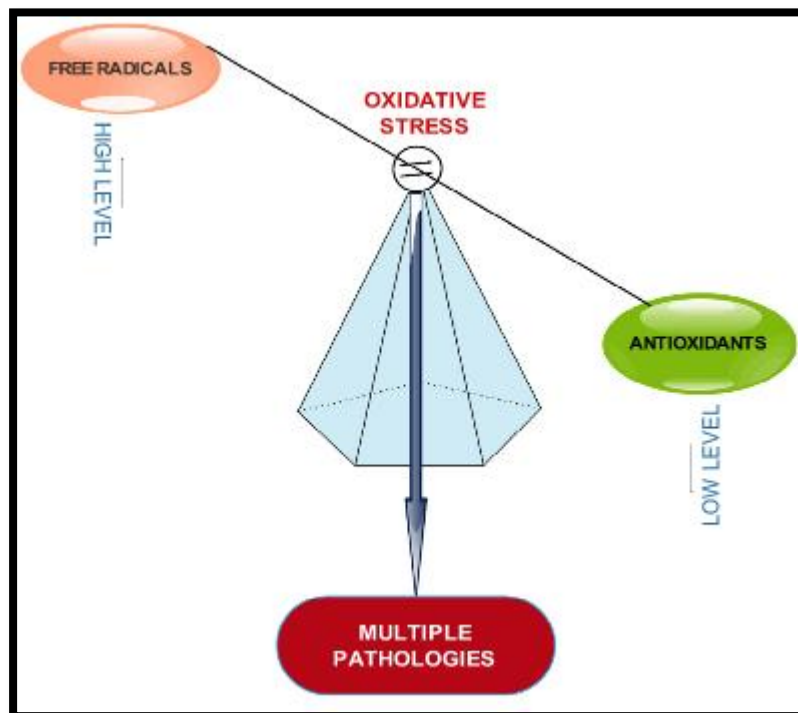
## Partie II : Stress oxydatif, Métabolites secondaires

### II.1. Stress oxydatif

#### II.1.1. Définition

Les organismes aérobies ont besoin d'oxygène pour survivre, mais l'oxygène peut aussi être intrinsèquement toxique pour ces organismes en étant une cause de l'apparition des radicaux libres et le stress oxydatif.

La notion de «stress oxydant» a été définie à l'origine par Sies en 1985 comme un déséquilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants (Figure 5), avec une biodisponibilité accrue des espèces réactives oxygénées (ERO), conduisant à une perturbation de la signalisation redox et du contrôle et / ou des dommages moléculaires (Montezano *et al.*, 2015).



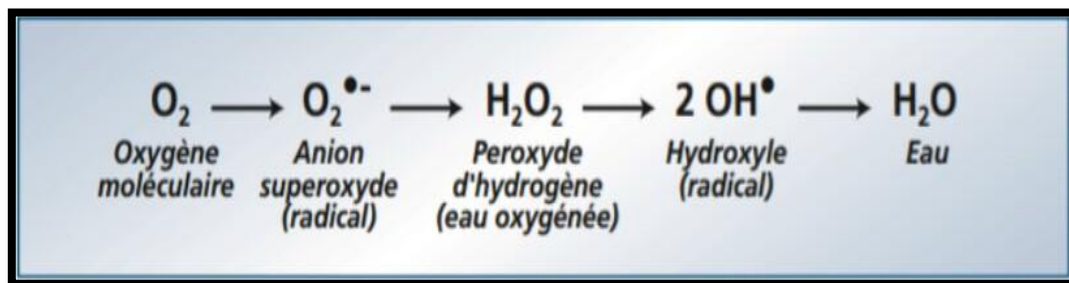
**Figure 5** : Stress oxydant: déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants (Ighodaro et Akinloye, 2017)



### II.1.2. Espèces réactives oxygénées

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) comprennent des ions et des peroxydes d'oxygène réactifs et ont des effets néfastes sur les biomolécules telles que l'ADN, l'ARN, les protéines et les lipides, entraînant des conditions pathologiques chez l'homme. Dans des conditions normales, les ERO sont produites en tant qu'intermédiaires nécessaires et impliquent, en tant que messagers secondaires, la signalisation cellulaire. La production excessive d'ERO et sa régulation incontrôlée sont pour cause des effets néfastes (Sarangarajan *et al.*, 2017).

Il existe de nombreux types de radicaux libres dans les systèmes biologiques. Cependant, ceux dérivés de l'oxygène, constituent une préoccupation majeure des chercheurs dans le domaine de la chimie des radicaux libres. L'oxygène est très sensible à la formation de radicaux libres en raison de sa structure électronique. La molécule a dans sa coquille extérieure deux électrons non appariés dans des orbitales électroniques séparées. Les radicaux oxygènes (Figure 6) tels que l'anion supéroxyde et l'oxygène singulet sont facilement générés à partir de la réduction séquentielle de l'oxygène moléculaire par addition progressive d'électrons (Ighodaro et Akinloye, 2017).



**Figure 6** : Réduction en quatre étapes de l'oxygène moléculaire en eau, les intermédiaires sont des espèces activées de l'oxygène (Vamecq J .2004).

### II.1.3. Antioxydants

Les antioxydants sont les molécules impliquées dans le piégeage des espèces réactives responsables du stress oxydatif. Ils sont définis comme les substances susceptibles d'empêcher l'oxydation du substrat à faible concentration. Le stress oxydatif et ses effets néfastes peuvent être évités en absorbant des antioxydants naturels. Les antioxydants agissent en tant que piègeurs de radicaux libres et peuvent empêcher les réactions oxydatives conduisant à diverses maladies. L'un des effets bénéfiques des antioxydants est leur rôle dans la signalisation cellulaire, en plus de sa propriété de piégeage des radicaux libres. Des



antioxydants, tels que les catéchines, altèrent les facteurs de transcription modulant la signalisation (Sarangarajan *et al.*, 2017).

On peut diviser les antioxydants en deux catégories :

- Les antioxydants naturels présents dans un organisme, pourraient lutter contre le stress oxydatif résultant de divers processus physiologiques. Ceux-ci comprennent des enzymes antioxydantes telles que la catalase, le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et le glutathion réduit. Ce sont des antioxydants endogènes (Ighodaro et Akinloye, 2017).
- Les antioxydants provenant de régimes alimentaires tels que la vitamine C, la vitamine E, la vitamine A et les polyphénols sont pris de manière exogène pour leurs effets protecteurs contre les ERO (Sarangarajan *et al.*, 2017).

## **II.2. Composés phénoliques**

### **II.2.1. Généralités, structures et classification**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans les feuilles de nombreuses plantes et dans les fruits. Ils sont caractérisés par la présence d'un ou de plusieurs groupes hydroxyle liés à un cycle benzène et comprennent un vaste groupe de métabolites végétaux secondaires qui contribuent à la croissance, à la pigmentation, à la pollinisation et à la résistance des plantes aux agents pathogènes, aux prédateurs et aux stress environnementaux (Ou *et al.*, 2019 ; Reitzer *et al.*, 2017).

Les composés phénoliques procèdent deux voies métaboliques: la voie de l'acide shikimique où se forment principalement les phénylpropanoïdes et la voie de l'acide acétique dans laquelle les principaux produits sont les phénols simples. Plusieurs milliers de composés polyphénoliques différents (dont plus de 8150 flavonoïdes) ont été identifiés avec une large gamme de structures (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

En se basant sur la structure chimique des polyphénols, ils peuvent être classés en tant que flavonoïdes et non-flavonoïdes. Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques de structure C6 – C3 – C6 et sont composés de 15 atomes de carbone à deux cycles aromatiques reliés par un pont à trois atomes de carbone. Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en 13 groupes, tels que les flavones, les flavonols, les flavonoïdes, et les anthanthocyanidines. Les non-flavonoïdes incluent quatre Composés structurellement différents, tels que les acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque avec une structure en C6-C1 et dérivés de l'acide

hydroxycinnamique avec une structure en C6-C3), les lignanes (C6-C3-C3-C6) et les stilbènes (C6-C2-C6). (Ou *et al.*, 2019).

### II.2.2. Activités des composés phénoliques

De nos jours, ces composés ont attiré l'attention de plusieurs chercheurs principalement en raison de leur vaste gamme de bioactivités. En particulier chez l'homme, ils ont démontré une grande diversité d'effets bénéfiques sur la santé (Rodrigues *et al.*, 2018):

- **Anticancérogène** : Les composés phénoliques peuvent interagir avec la cascade inflammatoire via leur action antioxydante. Cette interaction est principalement liée à leur capacité à éliminer les radicaux libres, prévenant ainsi les dommages cellulaires et rend la cellule moins susceptible à l'oxydation en réduisant la formation de molécules pro-inflammatoires, et ainsi le développement du cancer (Pauwels, 2011).
- **Neuroprotecteur** : Des données *in vitro* et *in vivo* montrent que l'accumulation chronique d'espèces réactives d'oxygène dans le cerveau peut épuiser la capacité antioxydante du corps et conduire à l'apparition et à la progression de la maladie d'Alzheimer. Plusieurs études ont montré que la consommation de polyphénols peut être associée à un risque réduit de maladie d'Alzheimer (Dai *et al.*, 2006).
- **Effets antimicrobiens** : plusieurs études ont montré que certains composés phénoliques tel que les flavonols, tanins, oleuropéine et hydroxytyrosol inhibent le développement des microorganismes, en effet l'incorporation de ces composés dans les produits laitiers, tels que le lait de vache, empêchent sa détérioration en raison de la croissance de bactéries contaminants (Baenas *et al.*, 2018).
- **Activité antidiabétique** : les polyphénols ont une activités inhibitrices contre l'enzyme clé liée au diabète de type 2 ( $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase) (Oboh *et al.*, 2012).

*Matériel et  
méthodes*

## 1. Récolte des échantillons

Notre étude a été réalisée sur les feuilles d'olivier ainsi que deux variétés d'olives : *Chemlal* et *Blanquette* de Guelma. Les échantillons utilisés ont été récoltés au mois de décembre 2018 de deux wilaya différentes : Roknia une commune de la wilaya de Guelma (Figure 7) et Draa el mizan commune de la wilaya de Tizi Ouzou (Figure 8).



**Figure 7** : Localisation de la commune de Roknia (Guelma).



**Figure 8** : Localisation de la commune de Draa el mizan (Tizi Ouzou).

## 2. Caractérisation physique des olives

L'étude des paramètres physiques des olives a été réalisée dans le but de l'identification variétale, elle consiste à la détermination des moyennes du poids, de largeur et de longueur des pulpes d'olives des deux cultivars étudiés.

Ces deux derniers ont été caractérisés à partir d'échantillons homogènes d'olives noires. Des échantillons aléatoires de 50 fruits qui ont été pesé pour déterminer le poids frais moyen du fruit, la largeur et la longueur moyenne ont été réalisés à l'aide d'un pied - coulisse. Ces fruits ont été ensuite congelés jusqu'au moment où ils pourront être dénoyautés.

## 3. Extraction des composés phénoliques

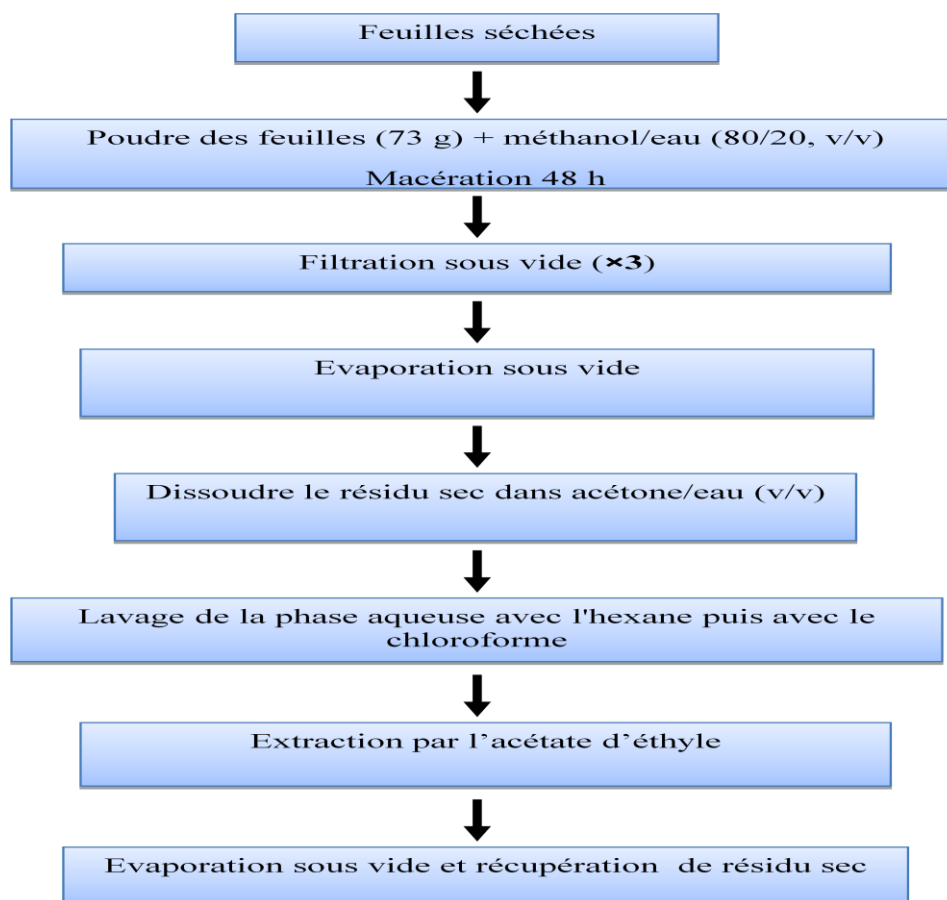
### 3.1. Feuilles d'olive

Les feuilles ont été mises à l'abri de l'humidité et de la lumière pour un meilleur séchage, ensuite elles ont été broyées à l'aide d'un moulin à café afin d'obtenir une poudre (Figure 9).



**Figure 9** : Photographie des feuilles avant et après broyage.

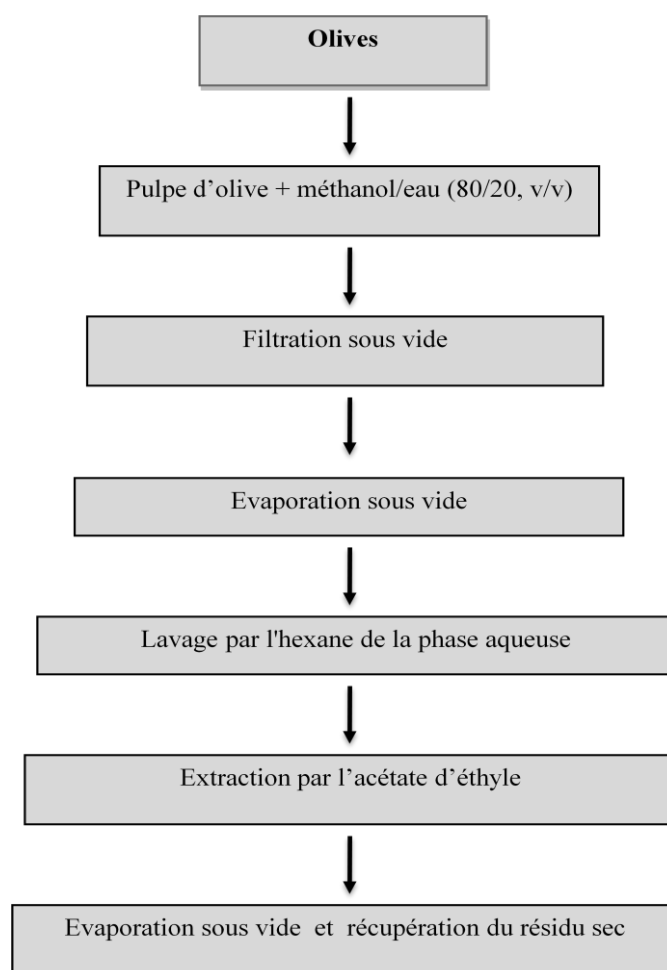
Le broyat des feuilles a été pesé et mit dans un bécher et une quantité de méthanol a été alors ajoutée jusqu'à son émergement. La figure ci-dessous illustre les principales étapes d'extraction des polyphénols à partir des feuilles d'olive en se basant sur la méthode de Gariboldi *et al.* (1986).



**Figure 10** : Etapes d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles.

### 3.2. Pulpes d'olive

La procédure suivie pour l'extraction des composés phénoliques totaux de la pulpe d'olive est basée sur la méthode décrite par Brenes et *al.* (1997) et modifiée par Savarese et *al.* (2007). La pulpe d'olive a été broyée (51 g de broyat de pulpe de la variété *Blanquette* de Guelma et 49 g de broyat de pulpe de la variété *Chamlal* ), puis mélangée à du méthanol sous agitation à température ambiante (pendant 48 h). Le mélange est par la suite filtré sous vide à travers un papier watman. Le méthanol est ensuite éliminé sous vide à 60°C. La phase aqueuse est délipidée par un lavage en utilisant de l'hexane et agitation dans une ampoule à décanter. La phase aqueuse délipidée est récupérée après décantation. Les composés phénoliques sont alors extraits par l'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter et cette opération est répétée 3 fois. Les phases organiques sont récupérées et mélangées et l'acétate d'éthyle est éliminé sous vide à 40°C et le résidu sec est récupéré (Figure 11).



**Figure 11** : Etapes d'extraction des composés phénoliques à partir de la pulpe d'olive

## 4. Dosage des antioxydants

### 4.1. Dosage des polyphénols totaux

#### Principe

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Ce réactif constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux avec une absorption environ 750-765 nm. La méthode de dosage est décrite par Muller *et al.* (2010).

#### Mode opératoire

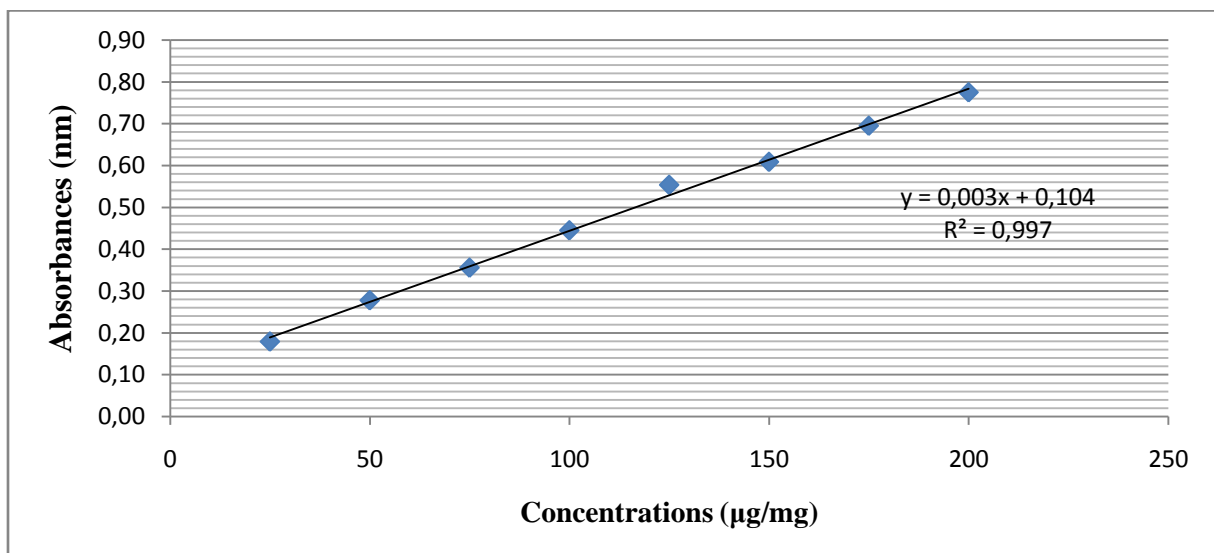
Une quantité de 1 mg de chaque extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol. Dans une microplaque à 96 puits ; 20  $\mu$ l d'extrait ont été déposés avec 100  $\mu$ l de FCR à 10% et 75  $\mu$ l de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ). La microplaque est mise à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante puis l'absorbance est mesurée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par du méthanol.

Une courbe d'étalonnage standard a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à partir d'une solution mère préparée avec de l'acide gallique.

Une masse de 0,5 mg de l'étalon l'acide gallique a été dissoute dans 5 ml de méthanol (MeOH) pour obtenir une solution mère S1 de concentration égale à 200  $\mu$ g/ml, une gamme de dilutions a été faite à partir cette dernière (Tableau 7). Ensuite, un volume de 20  $\mu$ l de chaque dilution a été transféré dans une microplaque contenant dans chaque puits 100  $\mu$ l du réactif folin-ciocalteu et 75  $\mu$ l de  $Na_2CO_3$ . Enfin, l'incubation de la plaque dure 2 heures et la lecture est faite à la longueur d'onde 765nm.

**Tableau 7:** Gamme d'étalon de l'acide gallique

Concentrations de la solution étalon (l'acide gallique)	Dilutions de la solution S1
25µg/ml	25µl de S1+ 175µl de MeOH
50µg /ml	50µl de S1+ 150µl de MeOH
75µg/ml	75µl de S1+ 125µl de MeOH
100µg/ml	100µl de S1+ 100µlde MeOH
125µg /ml	125µl de S1+ 75µl de MeOH
150µg /ml	150µl de S1+ 50µl de MeOH
175 µg /ml	175µl de S1+ 25µl de MeOH
200µg /ml	200µl de S1

**Figure 12:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

## 4.2. Dosage des flavonoïdes

### Principe

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) et les flavonoïdes, selon la méthode décrite par Topcu *et al.*, (2007).



### Mode opératoire

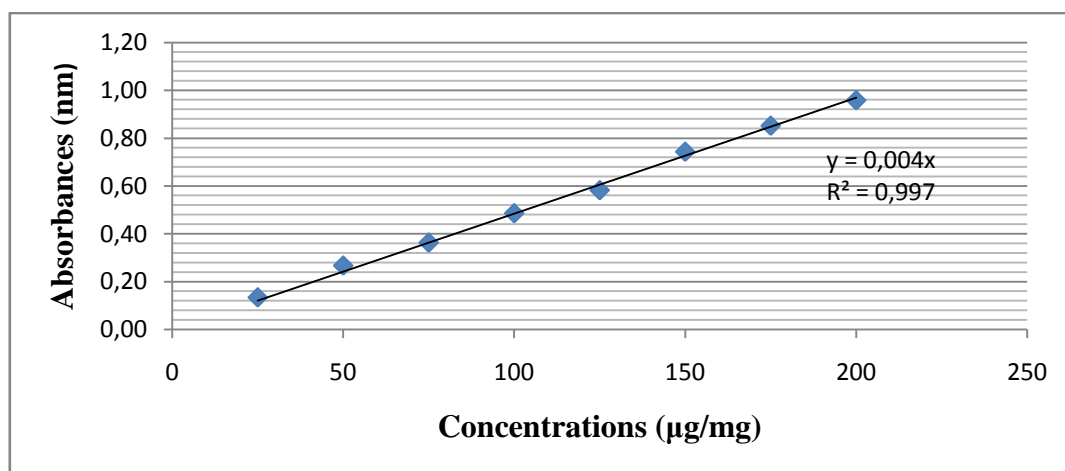
Dans une microplaque à 96 puits ; 50 µl de la solution d'extrait (1 mg d'extrait + 1 ml méthanol) ont été ajoutés à 130 µl de méthanol (MeOH) suivi par l'addition de 10 µl d'acétate de potassium (CH<sub>3</sub>COOK) et 10 µl de nitrate d'ammonium. Après 40 min d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante ; l'absorbance a été déterminée à 415 nm. La quercétine a été utilisée comme standard. Un blanc est préparé en remplaçant les réactifs par du méthanol.

Une courbe d'étalonnage standard a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à partir d'une solution mère de la quercétine (Figure 13).

Pour la préparation d'étalon, 1 mg de la quercétine a été dissous dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2 mg/ml (S2). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme indiqué au Tableau 8. 50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque de 96 puits avec 130 µl de méthanol (MeOH), 10 µl d'acétate de potassium (CH<sub>3</sub>COOK) et 10 µl de nitrate d'ammonium. Après 40 min ; une lecture est réalisée à la longueur d'onde 415 nm.

**Tableau 8** : Gamme d'étalon de la quercétine

Concentrations de la solution étalon (Quercétine)	Dilutions de la solution (S2)
25µg/ml	25µl de S2+ 175µl de MeOH
50µg /ml	50µl de S2+ 150µl de MeOH
75µg/ml	75µl de S2+ 125µl de MeOH
100µg/ml	100µl de S2+ 100µl de MeOH
125µg /ml	125µl de S2+ 75µl de MeOH
150µg /ml	150µl de S2+ 50µl de MeOH
175 µg /ml	175µl de S2+ 25µl de MeOH
200µg /ml	200µl de S2



**Figure 13 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine

## 5. Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits

### 5.1. Test DPPH radical libre

#### Principe de test

L'activité de DPPH est mesurée selon le protocole décrit par Blois (1958), le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH absorbe à 517nm, mais lors de la réduction par un antioxydant, son absorption diminue.

#### Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de DPPH est dissoute dans un volume de 100 ml de méthanol, la solution obtenue est conservée à une température de -20°C et à l'abri de la lumière.

Une quantité de 1 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125 µg/ml.

Les extraits ont été dissous au méthanol pour préparer les différentes dilutions des échantillons. Dans une microplaque à 96 puits, 160 µl de la solution méthanolique de DPPH préparée préalablement et 40 µl des différentes concentrations de chaque échantillon ont été mélangées. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en ajoutant 40 µl du méthanol à 160 µl de la solution méthanolique de DPPH. L'incubation dure 30 minutes à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 517 nm.

L' $\alpha$ -Tocophérol, BHA et le BHT sont utilisés comme standards antioxydants. Le pourcentage de l'activité antiradicalaire de DPPH a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

## 5.2. Test de l'activité ABTS

### Principe de test

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re *et al.*, (1999). Dans cette méthode l'activité antioxydante d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup>, obtenu à partir de l'ABTS ( sel d'ammonium de l'acide 2,2-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) en comparaison à un antioxydant de référence.

### Mode opératoire

La solution ABTS été préparée en mélangeant l'ABTS avec du persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (solution aqueuse conservée durant 16 h dans l'obscurité à une température ambiante). L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à 7.00±0.020 par l'éthanol à 734 nm.

Une quantité de 1mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125 µg/ml.

Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 160µl de l'ABTS<sup>•+</sup> est déposé dans chaque puits ensuite 40 µl des différentes concentrations de chaque solution d'extrait. Pour le blanc un volume de 40µl de méthanol et 160 µl d'ABTS<sup>•+</sup> a été mis dans les derniers puits de la plaque. Après 10 minutes à température ambiante ; la microplaque est lue à 734 nm.

## 5.3. Pouvoir réducteur

### Principe de test

L'activité du pouvoir réducteur est déterminée par la méthode d'Oyaizu (1986), la méthode est un essai simple, rapide et reproductible. La présence des réductants dans les

extraits provoque la réduction de fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) un complexe ferricyanure à la forme du fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Par conséquent,  $\text{Fe}^{2+}$  peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert dans le milieu réactionnel.

### Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125  $\mu\text{g/ml}$ .

Dans une microplaque à 96 puits ; 10  $\mu\text{l}$  des différentes concentrations de chaque extrait ont été déposés dans chaque puits avec 40  $\mu\text{l}$  du tampon phosphate (pH 6.6) et 50  $\mu\text{l}$  de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ). Après une incubation de 20 min à  $50^\circ\text{C}$  ; un volume de 50  $\mu\text{l}$  d'acide trichloroacétique (TCA), 40  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}$  et 10  $\mu\text{l}$  de Chlorure du fer ( $\text{FeCl}_3$ ) ont été ajoutés. L'absorbance est lue à 700 nm.

### 5.4. Radical galvinoxyle (GOR)

#### Principe

L'activité GOR est déterminée par la méthode décrite par Shi H *et al.*, (2001).

#### Mode opératoire

Une quantité de 1 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125  $\mu\text{g/ml}$ .

Un volume de 40  $\mu\text{l}$  des différentes concentrations de chaque extrait est déposé dans les puits de la microplaque avec 160  $\mu\text{l}$  de la solution de galvinoxyle (4 mg galvinoxyle dans 100ml méthanol). Après l'incubation à température ambiante pendant 120 min ; la lecture est réalisée à 428 nm.

### 5.5. Superoxyde DMSO alcalin

#### Principe

L'activité superoxyde DMSO alcalin est déterminée par la méthode de Rao et Kunchandy. (1990). Dans ce procédé, le radical superoxyde est engendré par l'addition d'hydroxyde de sodium à l'air saturé de DMSO. Le superoxyde généré reste stable en solution

et réduit le tetrazoliumnitrobleu (NBT) en colorant le formazan à température ambiante, ce dernier peut être mesuré à 560 nm.

### Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 800/400/200/100/50/25/12.5 µg/ml.

Un volume de 40 µl de chaque concentration est déposée dans chaque puits en ajoutant 130 µl du DMSO alcalin (20 mg de NaOH dissous dans 1 ml de H<sub>2</sub>O et le volume est complété par le DMSO à 100 µl) et 30 µl NBT (10 mg dans 10 ml d'eau distillée). Lecture est réalisée sans incubation à 560 nm.

## 5.6. La réduction du complexe cuivre-neocuproïne (CUPRAC méthode)

### Principe

La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproïne (NC)-cuivre (Cu<sup>+2</sup>) (NC<sub>2</sub>-Cu<sup>+2</sup>). En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne est réduit et cette réaction est quantifiée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm (Apak *et al.*, 2004).

### Mode opératoire

Une quantité de 1 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125 µg/ml.

Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 40 µl des extraits à différentes concentrations a été déposé dans les puits, suivi par l'addition de : 60 µl d'acétate d'ammonium, 50 µl de néocuproïne et 50 µl de (Cu Cl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O). Après une incubation d'une heure ; la lecture est mesurée à 450 nm. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standards.

## 5.7. Activité de chélation du cuivre (CCA)

### Principe

Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le cuivre ( $\text{Cu}^+$ ), qui est essentiel pour de nombreuses fonctions physiologiques. Cependant, il peut être responsable de la production du radical  $\text{OH}^\cdot$  par réduction de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . L'activité de chélation du cuivre est déterminée par la méthode décrite par Sanchez-vioque *et al.*, (2013).

### Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 800/400/200/100/50/25/12.5  $\mu\text{g/ml}$ .

Un volume de 40  $\mu\text{l}$  des extraits à différentes concentrations a été déposé dans les puits d'une microplaque à 96 puits suivi par l'addition de : 140  $\mu\text{l}$  du tampon sodium acétate ( $\text{pH}=6.0$ ) et 10  $\mu\text{l}$  de  $\text{CuSO}_4$ . Après une incubation de 30 min à température ambiante, 10  $\mu\text{l}$  procatéchol violet (PV) ont été ajoutés, suivi d'une deuxième incubation de 30 min à température ambiante et une lecture à 632 nm.

## 5.8. Activité phenanthroline

### Principe

L'activité de phenanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka *et al.*, (2008).

### Mode opératoire

Une quantité de 1 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 50/25/12.5/6.25/3.125/1.5625/0.78125  $\mu\text{g/ml}$ .

Dans une microplaque à 96 puits : 10  $\mu\text{l}$  des extraits à différentes concentrations, 50  $\mu\text{l}$  de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ), 30  $\mu\text{l}$  de phenanthroline et 110  $\mu\text{l}$  du méthanol ont été déposés successivement. Une incubation est réalisée à l'obscurité à une température de 30°C pendant 20 min suivi d'une lecture à 510 nm. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standards.

## 6. Evaluation de l'activité enzymatique

### 6.1. Activité Anti cholinestérase

#### 6.1.1. Activité Anti acétylcholinestérase

##### Principe

L'acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme responsable de la métabolisation de l'acétylcholine (un neurotransmetteur). Les inhibiteurs de cette enzyme sont utilisés pour diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer. L'activité est déterminée par la méthode d'Ellman *et al.*, (1961).

##### Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125 µg/ml.

Dans une microplaque à 96 puits : 150 µl du tampon phosphate de sodium (pH 8.0), 10 µl des extraits à différentes concentrations et 20 µl d'AChE ont été déposés. Après une incubation dans une étuve à 25°C pendant 15 min ; 10 µl réactif d'Ellman DNTB et 10 µl d'acétylcholine d'iode (substrat) ont été ajoutés.

La lecture par spectrophotomètre à 412 nm permet de déterminer l'absorbance à T<sub>0</sub>, après une incubation dans une étuve à 25 °C pendant 15 min, une deuxième lecture à 405 nm permet de noter l'absorbance à T<sub>1</sub>.

#### 6.1.2. Activité d'inhibition de l'enzyme Butyrylcholinestérase

##### Principe

L'activité est déterminée par la méthode d'Ellman *et al.*, (1961).

##### Mode opératoire

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125 µg/ml.

Dans une microplaque à 96 puits: 150 µl du tampon phosphate de sodium (pH 8.0), 10 µl des extraits à différentes concentrations et 20 µl BChE (enzyme Butyrylcholinestérase) ont été déposés. Après une incubation dans une étuve à 25°C pendant 15 min ; 10 µl réactif d'Ellman DNTB et 10 µl de chlorure butyrylcholine (substrat) ont été additionnés.

La lecture par spectrophotomètre à 412 nm permet de déterminer l'absorbance à T<sub>0</sub>, après une incubation dans une étuve à 25 °C pendant 15 min, une deuxième lecture à la même longueur permet de noter l'absorbance à T<sub>1</sub>.

## **6.2. Activité anti diabétique**

### **6.2.1. Inhibition de l'alpha-glucosidase**

#### **Principe**

Le 4-nitrophényl- $\alpha$ -D-galactopyranoside (PNPG) est un substrat chromogénique de l'alpha-glucosidase, produisant une solution jaune lors du clivage. L'activité d'inhibition de cette enzyme a été déterminée par la méthode de Lordan *et al.*, (2013).

#### **Mode opératoire**

Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 1000/500/250/125/62.5/31.25/15.625 µg/ml.

Dans une microplaque à 96 puits: 50 µl des extraits à différentes concentrations, 100 µl de la solution d'enzyme (enzyme + tampon phosphate (pH 6.9)), 50 µl de la solution de substrat (substrat + tampon phosphate (pH 6.9)) ont été déposés. Le blanc est préparé en remplaçant les extraits par le méthanol. La lecture par spectrophotomètre à 405 nm permet de déterminer l'absorbance à T<sub>0</sub>, après une incubation dans une étuve à 37 °C pendant 30 min, une deuxième lecture à 405 nm permet de noter l'absorbance à T<sub>1</sub>.

### **6.2.2. Activité inhibitrice de l'alpha amylase**

#### **Principe**

L'activité inhibitrice de l'alpha amylase des extraits a été déterminé par la méthode réalisée par Zengin *et al.*, ( 2014).

#### **Mode opératoire**



Une quantité de 4 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 400/200/100/50/25/12.5/6.25 µg/ml.

Un volume de 25 µl de chaque concentration est déposé dans chaque puits en ajoutant 50 µl de la solution d'enzyme (alpha amylase). Après une incubation à 37 °C pendant 10 min ; 50 µl d'amidon (0.1%) ont été ajoutés. Une deuxième incubation est effectuée à 37 °C pendant 10 min, ensuite un volume de 25 µl de HCl et 100 µl de la solution IKI (3 g d'iodure de potassium dissoute dans 100 ml d'eau auquel a été ajouté 127 mg d'iode) ont été additionnés. La lecture est faite à la longueur d'onde 630 nm.

## **7. Etude statistique**

La comparaison des moyennes des caractéristiques physiques (poids, largeurs et longueurs) des deux variétés d'olive (VCT et VBG) est calculée par un test de T student réalisé par le logiciel SPSS.

*Résultats et  
discussion*

## 1. Caractérisation physique des olives

Les résultats de la caractérisation des deux variétés d'olives étudiées (la variété *Chemlal* de Tizi (VCT) et la variété *Blanquettes* de Guelma (VBG)) sont mentionnés au tableau 09.

**Tableau 9:** Caractérisation des olives des variétés *Chemlal* de Tizi et *Blanquette* de Guelma

Variétés D'olive	Couleur	Poids (g)	Longueur (cm)	Largeur (cm)
Variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	Noir	1,26±0,20 <sup>a</sup>	2,41±0,22 <sup>a</sup>	3,71±0,23 <sup>a</sup>
Variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	Noir	2,43±0,60 <sup>a</sup>	2,60±0,33 <sup>a</sup>	4,52±0,38 <sup>a</sup>

a : la moyenne des résultats réalisés sur un échantillon de 50 fruits d'olive ±SD

Les deux variétés ou cultivars d'olive *Chemlal* de Tizi (VCT) et *Blanquettes* de Guelma (VBG) sont de couleur noire à la maturité, avec une légère différence morphologique.

L'olive de la VBG est caractérisée par un poids moyen de 2,43g, cette valeur est supérieure à celle de la VCT estimée à 1,26g. Concernant la longueur, la VBG a une moyenne de 2,60 cm, elle est supérieure à celle d'olive de la VCT (2,41 cm). De même il existe une différence entre la moyenne de la largeur de la VBG (4,52 cm) en comparaison à la moyenne de la largeur de la VCT (3,71cm).

Ces différences entre le poids, la longueur et la largeur qui paraissent faibles entre les deux variétés d'olives sont considérées comme significatives selon l'analyse statistique avec un  $P < 0.05$ .

Les deux variétés algériennes VCT et VBG sont caractérisées par un poids moyens de fruit d'olives qui est comparable aux deux principales variétés de l'oléiculture tunisienne, *Chetoui* et *Chemlali* Sfax qui ont des poids moyens de fruit de l'ordre de 2g et de 1g respectivement (Lazzez *et al.*, 2008).

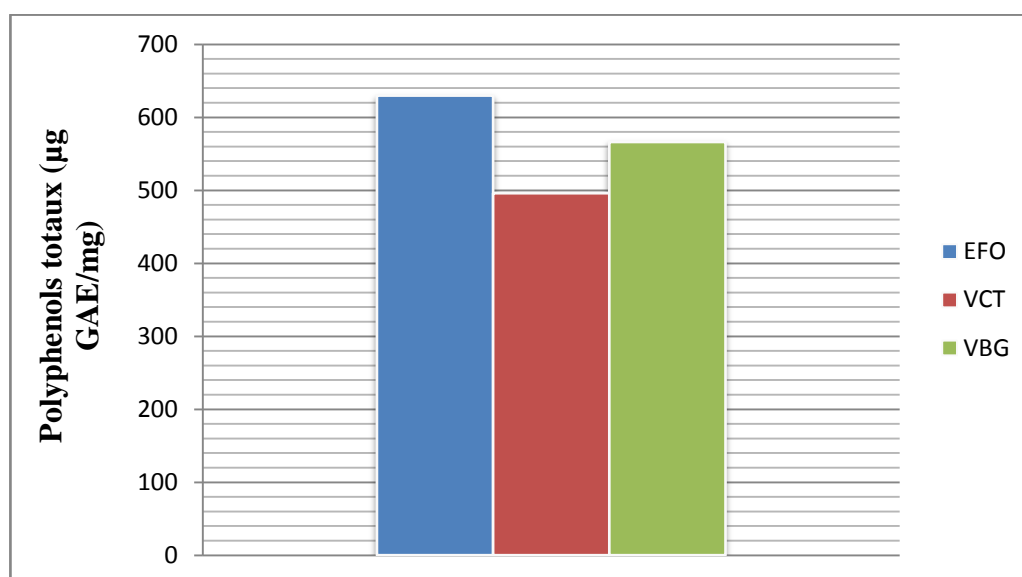
## 2. Dosage des antioxydants

### 2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le taux des polyphénols totaux de chaque extrait est calculé à partir de la courbe d'étalonnage et exprimé en microgrammes équivalent en acide gallique par milligramme d'extrait. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 10 et la figure 14.

**Tableau 10** : Polyphénols totaux des extraits

Extraits	polyphénols totaux( $\mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait)
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	629,49 $\pm$ 10,01
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	495,96 $\pm$ 5,01
Extrait de pulpe la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	566,25 $\pm$ 7,98

**Figure 14** : Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux des extraits.

En observant le tableau 10, on distingue que l'extrait des feuilles d'olivier est le plus riche en polyphénols suivi de l'extrait de la variété *Blanquette* de Guelma (VBG) et en dernier l'extrait de la variété *Chemlal* de Tizi Ouzou (VCT).

Les valeurs des polyphénols totaux de notre étude (495,96 $\mu\text{g}$  EAG/mg pour VCT et 566,25 $\mu\text{g}$  EAG/mg pour VBG) révèlent qu'elles sont supérieures à celle obtenue par Xie *et al* (2015) ayant réalisé une étude sur l'extrait d'olive (172,8 mg EAG/g).

La comparaison de la teneur en polyphénols totaux d'extrait de feuilles d'olivier de notre étude (629,49  $\mu\text{g}$  EAG/mg) ; montre qu'elle est supérieure à celle obtenue par Abaza *et al.* (2011) dont la teneur en polyphénols était de 24,09 mg EAG/g sur des extraits de feuilles d'olivier. Elle est aussi supérieure à celle de l'extrait des feuilles d'olivier (245,2 mg EAG/g) obtenue par Xie *et al.*, (2015).

La richesse de l'extrait de feuilles de notre étude en polyphénols totaux peut être expliquée par le moment de la récolte des échantillons qui était au mois de décembre ou les polyphénols totaux ont été obtenus dans la phase terminale de la croissance des feuilles.

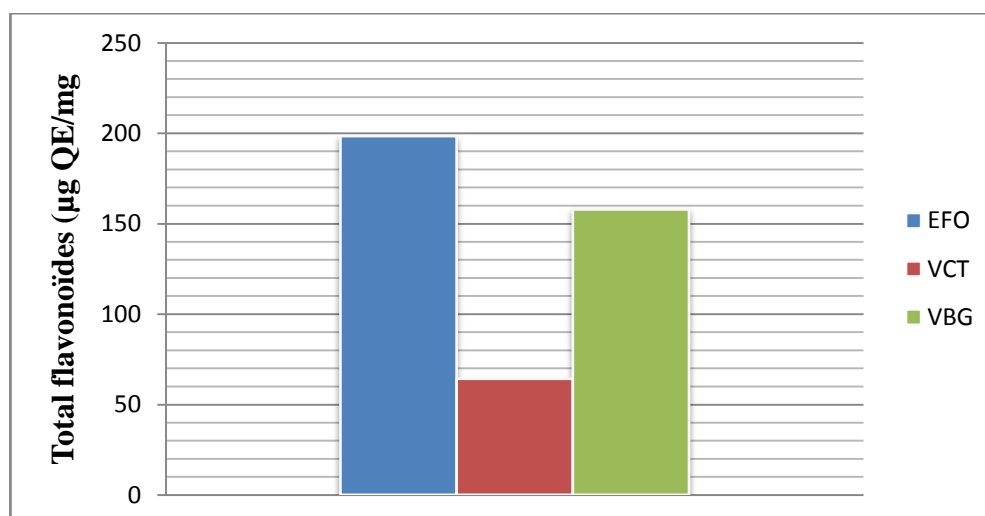
La différence entre les valeurs trouvées et celles apportées par la bibliographie peut être expliquée par la nature du matériel de départ et la méthode d'extraction adoptée. En plus elle peut dépendre également de la zone géographique (dans l'étude réalisée par Xie *et al.* (2015) les feuilles et les olives ont été collectées en Chine, les feuilles utilisées dans l'étude d'Abaza *et al.* (2011) ont été apportées du nord de la Tunisie.)

## 2.2. Dosage des flavonoïdes

Les résultats présentés dans le tableau 11 et la figure 15 montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différents extraits. Cette teneur en flavonoïdes a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en microgrammes équivalent en quercitine par milligramme d'extrait.

**Tableau 11** : Teneur des flavonoïdes dans les extraits

Extraits	Total flavonoïdes( $\mu\text{g}$ QE/mg d'extrait)
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	198,33 $\pm$ 24,45
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	64,23 $\pm$ 8,39
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	157,84 $\pm$ 6,48



**Figure 15** : Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes des extraits.

L'extrait des feuilles d'olivier a manifesté une meilleure richesse en flavonoïdes avec une teneur de 198,33  $\mu\text{g QE/mg}$  par rapport aux deux extraits d'olive (157,84  $\mu\text{gQE/mg}$  pour l'extrait de la VBG et 64,23  $\mu\text{g QE/mg}$  pour l'extrait de la VCT).

En comparaison avec les résultats obtenus par Xie *et al.* (2015) et Lins *et al.* (2018) ; les auteurs ont trouvé des valeurs inférieures à celle obtenue dans notre étude avec des teneurs de 80,3mg/g et 19,4 mg/g respectivement pour des extraits de feuilles d'olivier.

Dans une même étude réalisée par Xie *et al.* (2015) sur des olives ; les auteurs ont trouvé une valeur de 31,5 mg/g qui est inférieure à celle obtenue dans notre étude (VCT = 64,23  $\mu\text{g QE/mg}$  et VBG = 157,84  $\mu\text{gQE/mg}$ ).

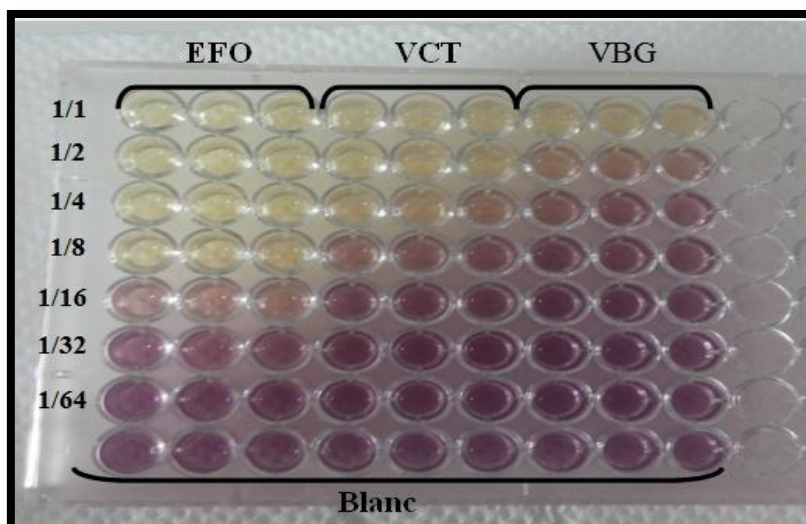
Ces hauts rendements en polyphénols totaux et en flavonoïdes observés dans notre étude sur les feuilles de l'olivier ainsi que les olives peuvent être dus aux solvants utilisés lors de l'extraction (méthanol et acétate d'éthyle). En fait, le méthanol est le solvant de choix pour l'extraction des polyphénols totaux à partir des fruits et végétaux grâce à sa polarité, ce solvant a prouvé son efficacité d'extraire les polyphénols simples. Quant à l'acétate d'éthyle, c'est un solvant très sélectif pour les molécules de bas et moyen poids moléculaire (Ryan *et al.* 2001 ; Lesage-Meessen *et al.*, 2001).

### **3. Evaluation de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante des différents extraits de feuilles et des olives ont été déterminées par les méthodes suivantes : test DPPH radical libre, activité ABTS, pouvoir réducteur, radical galvinoxyle (GOR), superoxyde DMSO alcalin, réduction du complexe cuivre-neocuproïne (CUPRAC méthode), activité de chélation du cuivre (CCA) et l'activité phenanthroline.

#### **3.1. Test DPPH radical libre**

L'activité antiradicalaire de nos extraits a été faite en utilisant le radical libre DPPH, qui se caractérise par une coloration violette en solution et une absorption mesurable à 517 nm. Le changement de la couleur de la solution de DPPH en présence de chacun des extraits (Figure 16) indique la réduction du radical libre DPPH par des composés à propriété antiradicalaire.

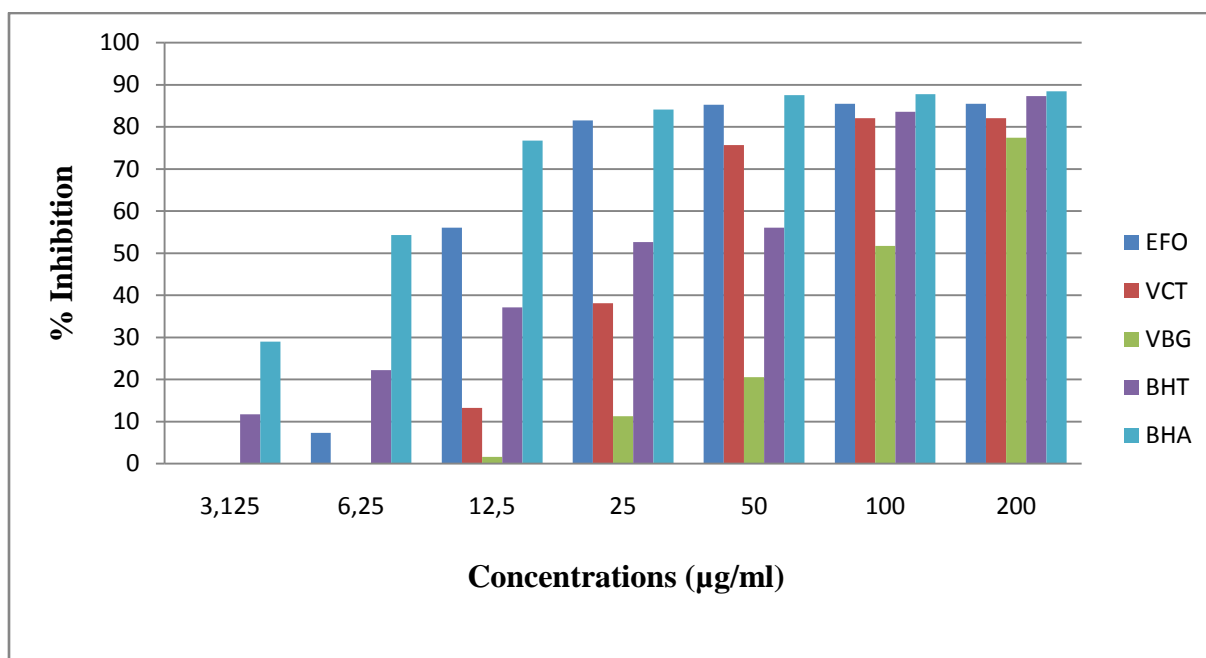


**Figure 16** : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).

L'activité antiradicalaire au DPPH des trois extraits est représentée par les valeurs d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% ( $CI_{50}$ ) en comparaison avec les deux standards BHA et BHT (Tableau 12, Figure 17).

**Tableau 12** : Activité antiradicalaire au DPPH des extraits exprimée en  $CI_{50}$

Extraits/ Standards	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	11,72 $\pm$ 0,07
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	32,94 $\pm$ 0,25
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	97,43 $\pm$ 3,63
BHA	5,73 $\pm$ 0,41
BHT	22,32 $\pm$ 1,19



**Figure 17** : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition du radical DPPH des extraits par rapport aux standards BHA et BHT

D'après les résultats de la technique du piégeage du radical libre DPPH, nos trois extraits ont montré une bonne activité ; l'extrait de feuilles d'olivier a présenté la plus grande activité antiradicalaire avec une  $CI_{50}$  de 11,72 µg/ml suivi de l'extrait de la VCT ( $CI_{50} = 32,94$  µg/ml) et en dernier l'extrait de la VBG ( $CI_{50} = 97,43$  µg/ml).

En comparant l'activité à inhiber le radical libre DPPH des extraits avec les standards, on remarque que les deux extraits d'olives possèdent une activité inférieure à celle des antioxydants standard BHA et BHT qui présentent une  $CI_{50}$  de l'ordre de 5,73 µg/ml et 22,32 µg/ml respectivement, par contre l'activité de l'extrait de feuilles d'olivier est supérieure à celle de l'antioxydant BHT, mais elle est largement inférieure à celle de BHA.

En comparaison avec le résultat obtenu par Bouaziz et Sayadi (2005) pour leur étude sur des extraits d'acétate d'éthyle des feuilles d'olivier, l'activité antiradicalaire au DPPH ( $CI_{50} = 1,25$  µg/ml) est meilleure en comparaison à celle de notre étude ( $CI_{50}$  EFO=11,72 µg/ml).

L'activité antiradicalaire au DPPH de la VCT est de 82,04 % à une concentration de 100 µg/ml et elle est de 51,68 % pour la VBG à la même concentration. Cette activité à inhiber le radical DPPH des deux extraits est supérieure à celle obtenue par Xie *et al.* (2015) ayant

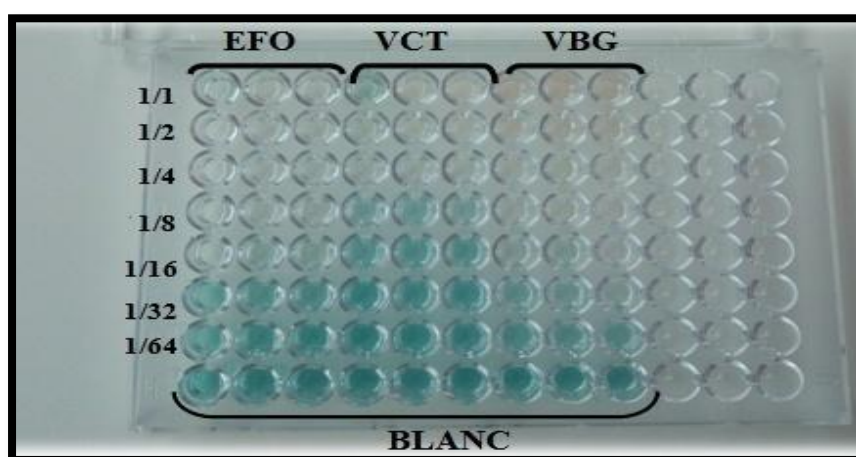


montré qu'à une concentration de 800 µg/ml le pourcentage d'inhibition était seulement à 50%.

La capacité antioxydante des extraits pourraient être dues à la présence de certains composés potentiellement actifs tels que l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine, et le tyrosol. Ces derniers sont dotés d'une activité antiradicalaire de l'ordre de 76,7%, 20,4%, et 3,7% respectivement (Perez-Bonilla et *al.*, 2006). Ainsi l'activité antioxydante des extraits (EFO, VCT, et VBG) pourrait être attribuée aux divers composés extraits à partir des solvants de polarités différentes.

### 3.2. Test de l'activité ABTS

La disparition de la coloration bleue est proportionnelle à la capacité d'inhiber le radical  $ABTS^{\cdot+}$ . Le profil de la microplaque obtenue est représenté à la figure 18.

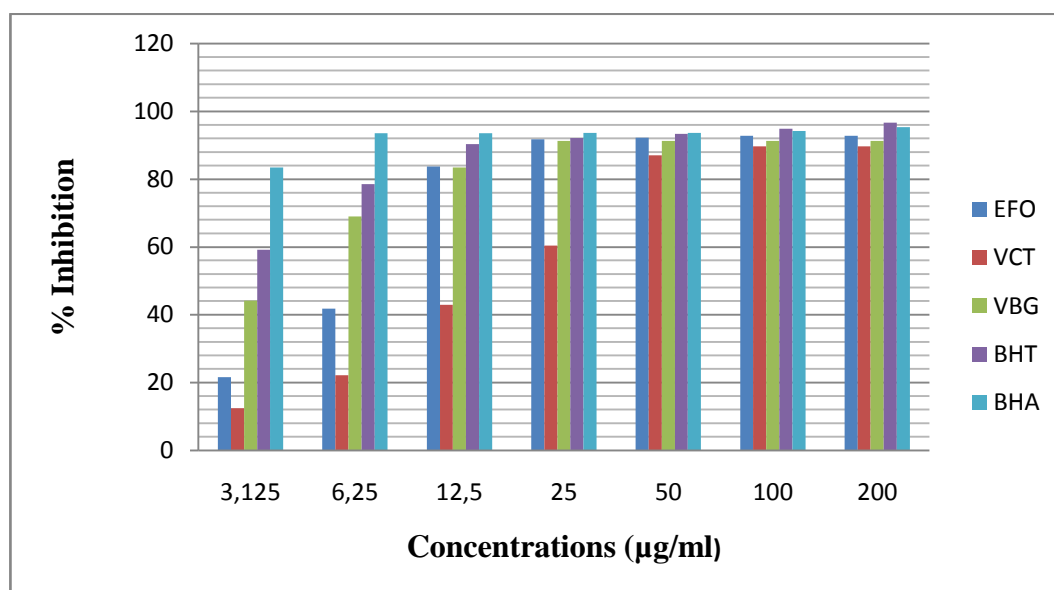


**Figure 18** : Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS).

Le tableau 13 représente les concentrations d'inhibition à 50% ( $CI_{50}$ ) du radical  $ABTS^{\cdot+}$ . Pour la figure 19, c'est un histogramme des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standards.

**Tableau 13 :** Activité d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> des extraits exprimée en CI<sub>50</sub>

Extraits/ Standards	CI <sub>50</sub> (µg/ml)
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	6,36±1,89
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	18,74±0,12
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	3,18±1,12
BHT	1,29±0,30
BHA	1,81±0,10



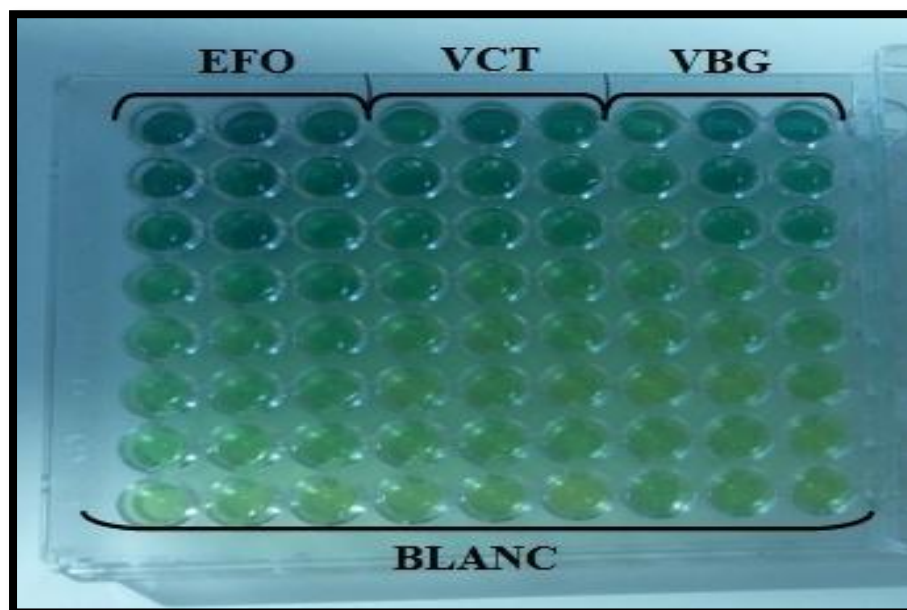
**Figure 19 :** Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition du radical ABTS par les extraits

Nos trois extraits (EFO avec une CI<sub>50</sub> de l'ordre de 6.36 µg/ml, VCT avec une CI<sub>50</sub> de 18,74 µg/ml, et VBG avec une CI<sub>50</sub> de 3,18) sont moins actifs en comparaison avec les standards BHA et BHT qui ont montré une activité avec des CI<sub>50</sub> de l'ordre de 1,81 µg/ml et 1,29 µg/ml respectivement.

Le taux de l'activité à inhiber le radical ABTS<sup>+</sup> de notre extrait de feuilles d'olivier est supérieure à celui obtenu par Lins *et al.*(2018) avec une CI<sub>50</sub> égale à 16,1µg/ml.

### 3.3. Pouvoir Réducteur

Le changement de la couleur du jaune au vert observé dans la microplaque (Figure 20), indique la présence de substances possédant une capacité à transférer un électron ou à donner un atome d'hydrogène.

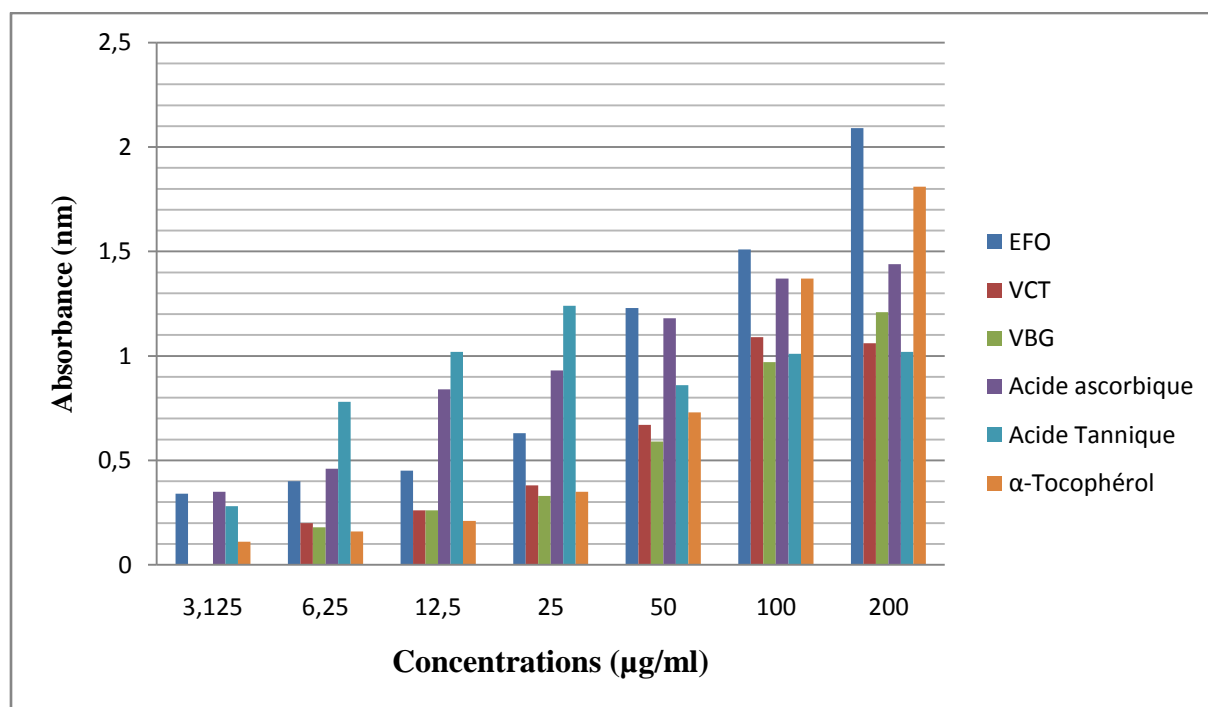


**Figure 20** : Profil de la microplaque du dosage de pouvoir réducteur

Le potentiel réducteur des extraits et des standards (acide ascorbique, acide tannique, et  $\alpha$ -tocophérol) est exprimé par les valeurs des concentrations effectives à 50% ( $CE_{50}$ ) qui correspondent à la concentration des polyphénols nécessaire pour donner une absorbance égale à 0,5 à 700 nm (Tableau 14).

**Tableau 14** : Concentrations effectrices ( $CE_{50}$ ) du pouvoir réducteur des extraits ((EFO, VCT, VBG) et standards.

Extraits/ Standards	$CE_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	15,44 $\pm$ 3,78
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	31,84 $\pm$ 5,12
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	33,72 $\pm$ 6,83
Acide ascorbique	6,77 $\pm$ 1,15
Acide Tannique	5,39 $\pm$ 0,91
$\alpha$ -Tocophérol	34,93 $\pm$ 2,38



**Figure 21** : Histogramme représentant le pouvoir réducteur des extraits et des standards

A partir du tableau 14, on remarque que nos trois extraits ; EFO, VCT, et VBG présentent un potentiel réducteur efficace avec des  $CE_{50}$  de  $15,44\mu\text{g/ml}$ ,  $31,84\mu\text{g/ml}$ , et  $33,72\mu\text{g/ml}$  respectivement. Ce pouvoir réducteur est inférieur à celui de l'acide ascorbique et de l'acide tannique dont les  $CE_{50}$  sont de  $6,77\mu\text{g/ml}$  et  $5,39\mu\text{g/ml}$  respectivement et il est supérieur à celui de l' $\alpha$ -Tocophérol dont la  $CE_{50}$  est de  $34,93\mu\text{g/ml}$ . Ainsi, l'extrait de feuilles d'olivier a un pouvoir réducteur largement supérieur à celui des deux variétés d'olives.

Lors d'une étude de Xie *et al.* (2015) sur les feuilles d'olivier ; les auteurs ont trouvé une absorbance de 1,48 nm ; à la concentration de 200  $\mu\text{g/ml}$ . Cette valeur est comparable à celle de notre étude estimée à 2,09 pour la même concentration, par conséquent ceci montre une activité antioxydante se rapprochant à celle des échantillons de notre étude.

A la même concentration de 200  $\mu\text{g/ml}$  ; la comparaison des valeurs d'absorbance des deux variétés d'olive (VCT 1,06 nm et VBG 1,21 nm) avec celle obtenue par Xie *et al.* (2015) à la même étude ; prouve que nos deux extraits d'olive sont beaucoup plus actifs.

En général, le potentiel réducteur des extraits végétaux est lié à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres afin de donner des produits plus stables (Ferreria *et al.*, 2006) ; ce qui explique le pouvoir réducteur de nos extraits riches en composés phénoliques.

### 3.4. Radical galvinoxyle (GOR)

La capacité de nos trois extraits (EFO, VCT et VBG) à inhiber le radical galvinoxyle est représentée dans le tableau 15.

**Tableau 15** : Capacité d'inhibition du radical galvinoxyle par les extraits exprimée par la  $CI_{50}$

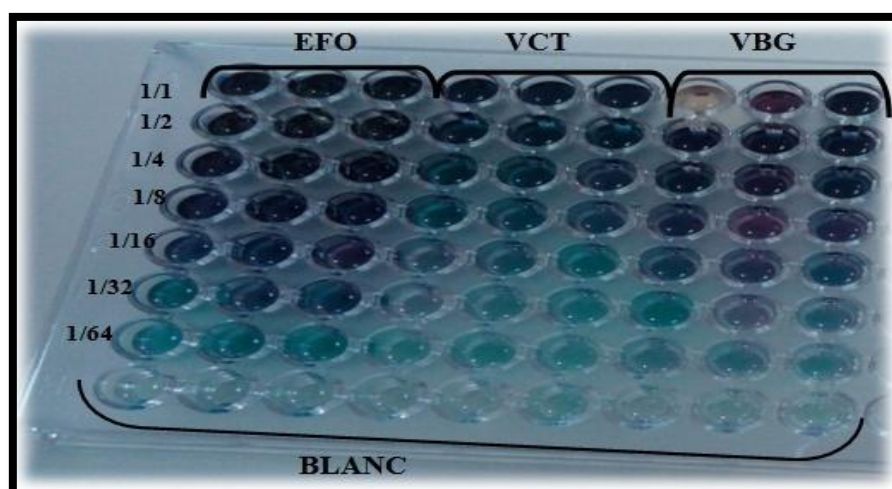
Extraits/ Standards	$CI_{50}(\mu\text{g/ml})$
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	21,59±0,19
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	37,28±1,01
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	46,95±3,09
BHT	3,32±0,18
BHA	5,38 ±0,06

En comparaison aux valeurs d' $IC_{50}$  des deux standards ; nos trois extraits présentent une activité de piégeage du radical galvinoxyle moins importante avec des  $CI_{50}$  de l'ordre de 21,59  $\mu\text{g/ml}$ , 37,28 $\mu\text{g/ml}$  et 46,95  $\mu\text{g/ml}$  pour l'EFO, la VCT et la VBG respectivement.

En raison de l'absence d'étude ayant appliqué ce test sur des échantillons d'olives, nos résultats ne peuvent être comparés avec celles d'autres études.

### 3.5. Activité Superoxyde DMSO alcalin

L'intensité de la couleur bleue est relative à l'activité superoxyde DMSO alcalin (Figure 22).



**Figure 22** : Profil de la microplaque de dosage d'activité Superoxyde DMSO alcalin

A partir du tableau 16 ; on remarque que les extraits des feuilles d'olivier et l'olive de la VBG ( $CI_{50} < 12,5 \mu\text{g/ml}$ ) montrent une plus grande activité que la VCT qui présente une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $16,37 \mu\text{g/ml}$ .

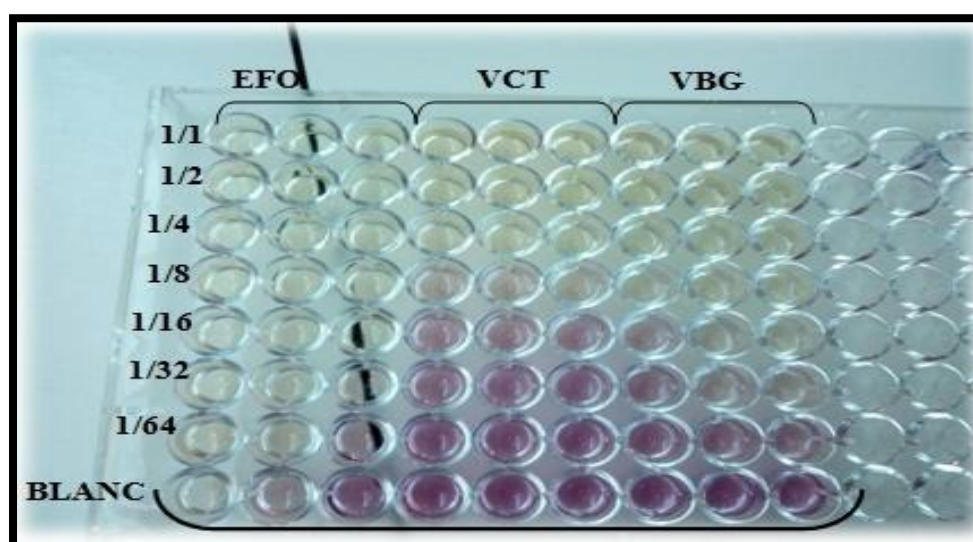
En comparaison à l'activité antiradicalaire des standards (acide tannique et  $\alpha$ -tocophérol) estimée à une  $CI_{50} < 3,125 \mu\text{g/ml}$ , on remarque que nos extraits sont moins actifs que les standards.

**Tableau 16** : Activité Superoxyde DMSO alcalin des extraits exprimée par la  $CI_{50}$

Extraits/ Standards	$CI_{50}(\mu\text{g/ml})$
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	<12,5
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	$16,37 \pm 7,83$
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	<12,5
Acide Tannique	< 3,125
$\alpha$ -Tocophérol	< 3,125

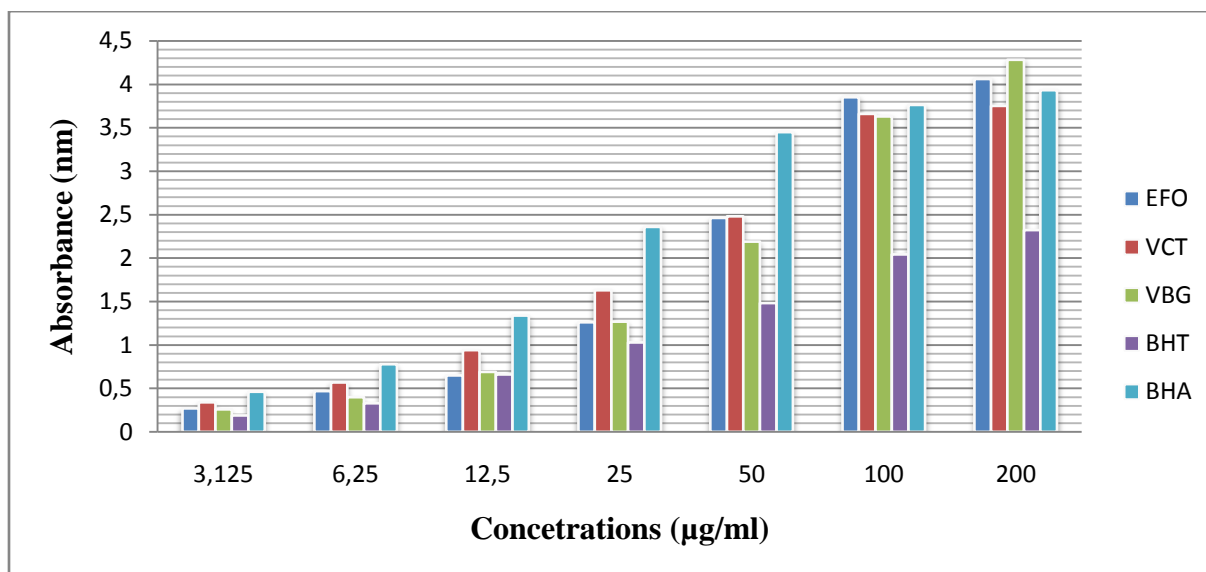
### 3.6. La réduction du complexe cuivre-neocuproine (méthode CUPRAC)

Le changement de couleur observée dans la microplaque indique la réduction du complexe cuivre-néocuproine par un agent antioxydant (Figure 23).



**Figure 23** : Profil de la microplaque de dosage d'activité à réduire le complexe cuivre-néocuproine.

La figure 24 présente un histogramme dans lequel les résultats d'analyse de l'activité à réduire le complexe cuivre-néocuproïne de nos extraits sont représentés.



**Figure 24** : Histogramme représentant la capacité d'inhibition du CUPRAC par les extraits.

La capacité des extraits à réduire le complexe cuivre-neocuproïne est exprimée par les valeurs des concentrations effectives à 50% ( $CE_{50}$ ) qui correspondent à la concentration nécessaire pour donner une absorbance égale à 0,5.

Le tableau 17 montre que les deux extraits EFO et VBG présentent une capacité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne efficace avec des  $CE_{50}$  de  $8,99\mu\text{g/ml}$  et  $8,53\mu\text{g/ml}$ . Cette capacité reste inférieure à celle de la VCT dont la  $CE_{50}$  est de  $5,32\mu\text{g/ml}$ .

**Tableau 17** : Concentrations effectrices ( $CE_{50}$ ) responsables de la capacité à réduire le complexe cuivre-néocuproïne.

Extraits/ Standards	$CE_{50}(\mu\text{g/ml})$
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	$8,99\pm 0,63$
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	$5,32\pm 0,38$
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	$8,53\pm 0,23$
BHT	$9,62\pm 0,87$
BHA	$3,64\pm 0,19$

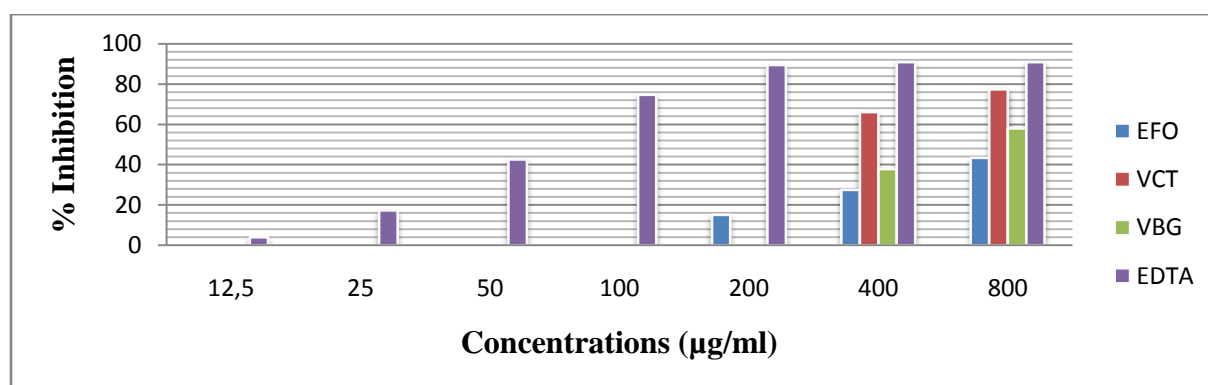


Comparativement avec les deux standards, nos extraits ont une activité inférieure à celle du BHA qui a une  $CE_{50}$  de 3,64  $\mu\text{g/ml}$ , par contre ils sont plus actifs que le BHT qui représente une  $CE_{50}$  de l'ordre de 9,62  $\mu\text{g/ml}$ .

### 3.7. Activité de chélation du cuivre (CCA)

La figure 25 représente l'histogramme des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de chaque extrait obtenus à partir des valeurs expérimentales. L'EDTA utilisé comme standard présente les pourcentages d'inhibition les plus élevés.

On constate qu'aucune activité de chélation du cuivre de nos trois extraits n'est révélée à des concentrations peu élevées, à la concentration 200  $\mu\text{g/ml}$  ; on commence à apercevoir une activité de l'extrait de feuilles d'olivier. Pour les des deux extraits d'olive (VCT et VBG) l'activité est apercevable à partir de 400 $\mu\text{g/ml}$ .



**Figure 25** : Histogramme représentant l'activité de chélation du cuivre par les extraits

Le tableau 18 représente les valeurs de  $CI_{50}$  de l'activité de chélation du cuivre en comparaison avec le standard (EDTA).

**Tableau 18** : Valeurs de la  $CI_{50}$  de l'activité de chélation du cuivre de nos extraits

Extraits/ Standards	$CI_{50}(\mu\text{g/ml})$
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	>800
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	<12,5
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	681,67 $\pm$ 0,00
EDTA	59,04 $\pm$ 0,56

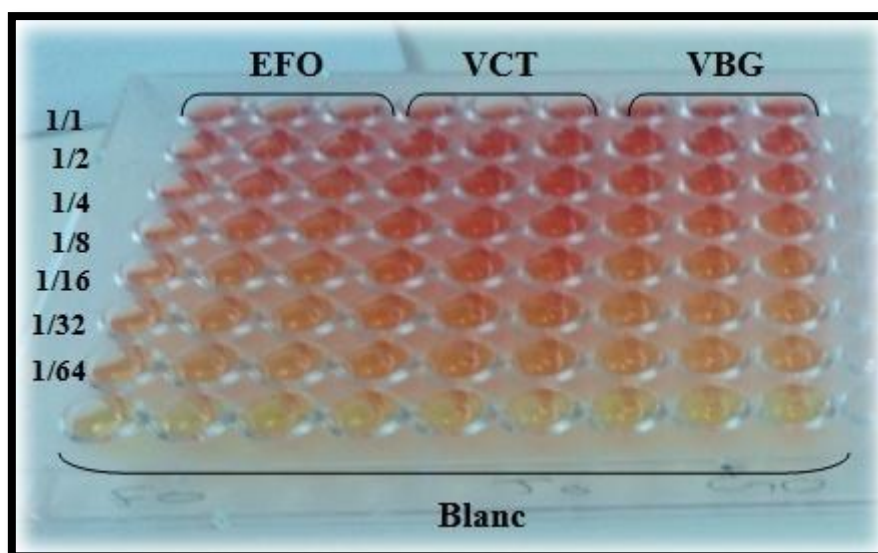


L'EDTA présente une concentration d'inhibition 50 de l'ordre de 59,04  $\mu\text{g/ml}$ , l'extrait des feuilles d'olivier ( $\text{CI}_{50} > 800 \mu\text{g/ml}$ ) et l'extrait de la variété *Blanquette* de Guelma ( $\text{CI}_{50} = 681,67 \mu\text{g/ml}$ ) révèlent une activité moins importante. Tandis que l'extrait de la variété *Chemlal* de Tizi est plus actif que le standard avec une  $\text{CI}_{50} < 12,5 \mu\text{g/ml}$ .

On peut conclure que l'extrait de la variété *Chemlal* de Tizi a la plus grande capacité à former un chélate avec les ions de cuivre et ainsi abolir leurs activités que les deux autres extraits (EFO et VBG).

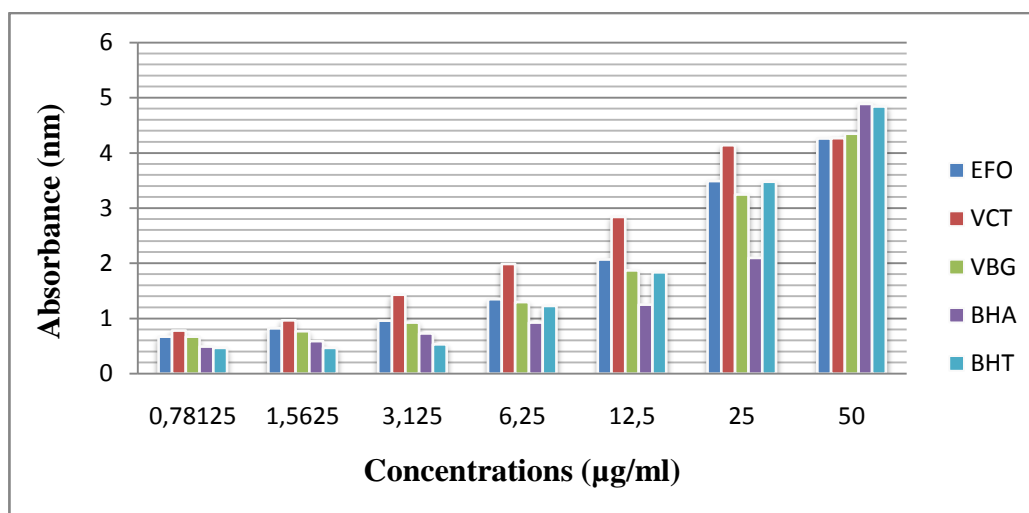
### 3.8. Activité phenanthroline

L'activité phenanthroline est caractérisée par une réaction de réduction des ions  $\text{Fe}^{3+}$  en ions  $\text{Fe}^{2+}$ , qui est illustrée par l'apparition de la couleur oronge dans la microplaque (Figure 26).



**Figure 26** : Profil de la microplaque de dosage de l'activité phenanthroline

La figure 27 représente l'histogramme de l'absorbance en fonction des concentrations de chaque extrait obtenues à partir des valeurs expérimentales. Nous observons que l'absorbance augmente en fonction de l'augmentation de la concentration utilisée.



**Figure 27** : Histogramme représentant l'activité phenanthroline des extraits.

L'absorbance est proportionnelle à la concentration, une absorbance plus élevée de la réaction indique une plus grande activité de réduction des ions  $Fe^{3+}$ . Ce qui nous mène à dire que nos trois extraits ont une importante activité.

En comparaison avec les standards, nos trois extraits ont montré une meilleure activité (EFO, VCT et VBG ont une  $CE_{50} < 0,78 \mu\text{g/ml}$ ) que celle de BHA ( $CE_{50} = 0,93 \mu\text{g/ml}$ ) et de BHT ( $CE_{50} = 2,24 \mu\text{g/ml}$ ) (Tableau 19).

**Tableau 19** : Concentrations effectrices ( $CE_{50}$ ) responsables de l'activité phenanthroline des extraits.

Extraits/ Standards	$CE_{50}(\mu\text{g/ml})$
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	<0,78
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	<0,78
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	<0,78
BHT	$2,24 \pm 0,17$
BHA	$0,93 \pm 0,07$

Il a été apporté que la réduction de la capacité d'un composé peut être considérée comme un indicateur de l'activité antioxydante. La présence d'un antioxydant provoque la conversion du complexe  $Fe^{3+}$  ferricyanure à la forme ferreuse  $Fe^{2+}$ . Même si le fer soit essentiel pour le transport de l'oxygène pour la respiration et il est essentiel pour certaines

enzymes, il est aussi un métal réactif qui catalyse des dommages oxydatifs au niveau des tissus et cellules (Bourgou *et al.*, 2008).

A lumière de tous les résultats obtenus concernant l'activité antioxydante des extraits évaluée *in vitro* par les différents tests, il ressort que l'extrait de feuilles de l'olivier ainsi que les deux extraits d'olive de différents cultivars possèdent un pouvoir antioxydant important dû à leur richesse en polyphénols et flavonoïdes.

#### 4. Activité enzymatique des extraits

##### 4.1. Activité Anti cholinestérase

##### 4.1.1. Activité Anti acétylcholinestérase

Aucune activité à inhiber l'enzyme acétylcholinestérase n'a été observée pour les trois extraits, par contre dans l'étude réalisée par Omar *et al.*, (2018) les extraits d'olives et des feuilles d'olivier ont montré une activité avec une  $CI_{50}$  de 101,7  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait de feuilles et une  $CI_{50}$  de 175,1  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait d'olives.

L'absence de la capacité à inhiber l'acétylcholinestérase chez nos extraits peut être due à une absence d'inhibiteurs.

##### 4.1.2. Activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase

Tous les extraits de notre étude exercent une légère activité anti butyrylcholinestérase, avec une  $CI_{50}$  de 198,36  $\mu\text{g/ml}$  pour EFO et une  $CI_{50} > 200$   $\mu\text{g/ml}$  pour VCT et VBG (Tableau 20).

**Tableau 20** : Valeurs de la  $CI_{50}$  de l'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase par les extraits.

Extraits/ Standards	$CI_{50}(\mu\text{g/ml})$
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	198,36±9,66
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	>200
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	>200
Galantamine	34,75±1,99

En comparaison à la galantamine présentant une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $34,75\mu\text{g/ml}$ , nos trois extraits ont une activité inférieure à celle du standard.

Le taux estimé de l'activité à inhiber l'enzyme butyrylcholinestérase pour les trois extraits (EFO, VCT et VBG) dans notre étude est inférieur de celui de l'étude réalisée par (Omar *et al.*, 2018) avec une  $CI_{50}$  de  $185,4\ \mu\text{g/ml}$  pour l'extrait d'olive et une  $CI_{50}$  de  $84,77\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait des feuilles d'olivier.

## 4.2. Activité anti diabétique

### 4.2.1. Inhibition de l'alpha-glucosidase

L'activité à inhiber l'enzyme alpha glucosidase est absente dans l'extrait des feuilles d'olivier, tandis qu'elle est présente chez les deux extraits d'olive (VCT et VBG) (Tableau 21).

En comparaison à l'acarbose qui a une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $275,43\ \mu\text{g/ml}$ , on déduit que l'activité à inhiber l'alpha glucosidase du standard est supérieure à celle de nos deux extraits d'olive.

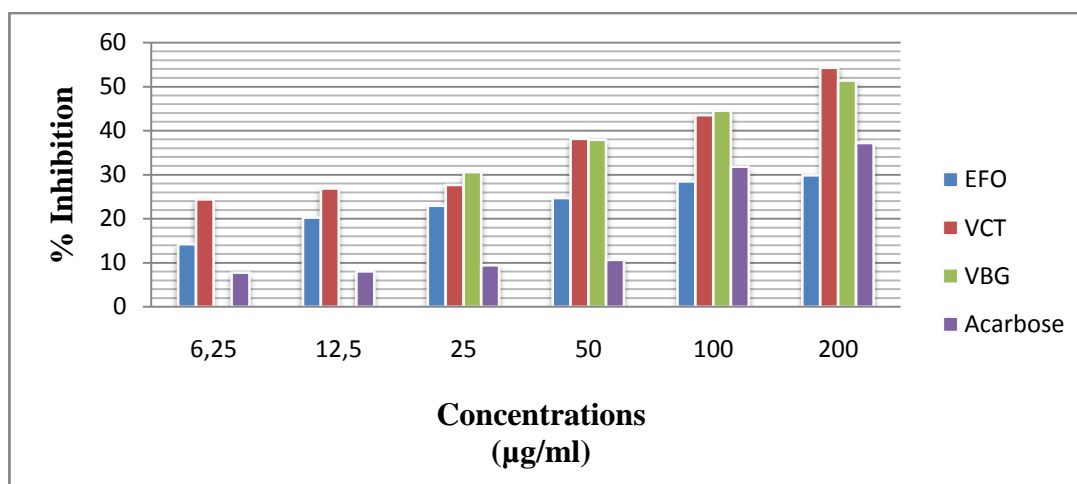
**Tableau 21** : Valeurs de la  $CI_{50}$  de l'activité d'inhibition de l'enzyme alpha glucosidase par les extraits.

Extraits / standard	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	NA*
Extrait pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	>500
Extrait pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	>500
Acarbose	$275,43\pm 1,59$

\* NA : No Absorbance

### 4.2.2. Activité inhibitrice de l'alpha amylase

La figure 28 présente des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de chaque extrait obtenus à partir des valeurs expérimentales.



**Figure 28** : Pourcentages d'inhibition de l'enzyme alpha amylase par les différents extraits.

A partir de l'histogramme ; on observe qu'à la concentration de 6,25 µg/ml, l'extrait de feuilles d'olivier et l'extrait de la variété *Chemlal* de Tizi ont un pourcentage d'inhibition de l'enzyme alpha amylase supérieure à celui du standard qui est seulement de 7,76%. Dans le cas de l'extrait de la variété *Blanquette* de Guelma, l'activité est observée à partir d'une concentration plus élevée que les autres extraits (EFO et VCT).

Le taux de l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha amylase pour l'extrait de la variété *Blanquette* de Guelma ( $CI_{50} = 149,30 \mu\text{g/ml}$ ) se rapproche légèrement de celui de l'extrait de la variété *Chemlal* de Tizi ( $CI_{50} = 156,44 \mu\text{g/ml}$ ). Pour l'extrait de feuilles d'olivier ( $CI_{50} > 400$ ), il exerce une activité inférieure à celle des deux extraits d'olives (VCT et VBG). En comparant à l'acarbose ; nos trois extraits possèdent une très grande activité (Tableau 22).

**Tableau 22** : Valeurs de la  $CI_{50}$  de l'activité d'inhibition de l'enzyme alpha amylase

Extraits / standard	$CI_{50}$ (µg/ml)
Extrait de feuilles d'olivier (EFO)	>400
Extrait de pulpe de la variété <i>Chemlal</i> de Tizi (VCT)	156,44±3,39
Extrait de pulpe de la variété <i>Blanquette</i> de Guelma (VBG)	149,30±20,56
Acarbose	3650,93±10,70

A la lumière de tous les résultats obtenus concernant l'activité biologique des extraits évaluée in vitro par les différents tests, il ressort que l'extrait de feuilles de l'olivier ainsi que les deux extraits d'olive de différents cultivars possèdent une très légère activité anti-cholinestérase (à partir du test de l'activité d'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase) et une activité anti diabétique (à partir des deux tests de l'activité inhibitrice de l'alpha glucosidase et l'alpha amylase).

# *Conclusion*

## Conclusion et perspectives

L'olivier est une plante aromatique et médicinale considérée comme étant un réservoir de composés antioxydants naturels ayant des effets bénéfiques sur la santé et contribuent à la prévention des maladies.

Notre travail s'est focalisé sur le dosage des composés phénoliques présents dans les feuilles d'olivier ainsi que dans la pulpe de deux types d'olives (*Blanquette* de Guelma et *Chemlal* de Tizi Ouzou) et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant des feuilles d'olivier et des deux types d'olives ont montré que les EFO possèdent une capacité antiradicalaire (DPPH) ( $CI_{50} = 11.72 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$ ) et une capacité d'inhibition du radical galvanoxyde (GOR) ( $CI_{50} = 21.59 \pm 0.19 \mu\text{g/ml}$ ) supérieures à celle des deux types d'olives. Par contre pour l'effet scavenger à l'ABTS ; l'extrait de la VBG présente une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $3.18 \pm 1.12 \mu\text{g/ml}$  donc un effet plus grand que celui de l'extrait de la VCT et l'EFO. Pour l'activité superoxyde DMSO alcalin nous avons constaté qu'elle est élevée dans l'extrait de la VBG et l'EFO. Aussi nous avons pu voir qu'à partir de la méthode CUPRAC ; l'extrait de la VCT a la plus grande activité antioxydante ( $CI_{50} = 5.32 \pm 0.38 \mu\text{g/ml}$ ) et à partir de la méthode CCA nous avons remarqué que ce dernier a aussi une capacité de chélation du cuivre supérieure à celle de l'EFO et l'extrait de la VBG. L'activité phenanthroline a montré que nos trois extraits possèdent une capacité à réduire des ions  $\text{Fe}^{3+}$  en ions  $\text{Fe}^{2+}$ .

Les différents tests enzymatiques réalisés dans notre étude ont prouvé que nos extraits possèdent une légère activité anti-cholinestérase par contre l'activité anti diabétique évaluée en utilisant deux activités (activité inhibitrice de l'alpha glucosidase et l'alpha amylase) ; a confirmé que certains extraits sont dotés d'une activité inhibitrice des enzymes d'intérêt.

En se basant sur les résultats obtenus, nous pouvons dire que les feuilles d'olivier ainsi que les deux types d'olive étudiés sont une bonne source de phénols et flavonoïdes qui possèdent une puissante activité antioxydante ainsi qu'un pouvoir d'empêcher l'apparition ou l'aggravation de certaines maladies (Alzheimer et le diabète).

A la lumière de ces résultats basés sur l'exploration des activités biologiques, cette étude nécessite d'autres recherches qui visent à :

- Identifier qualitativement les composés polyphénoliques contenus dans les extraits de notre étude.



- Evaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes *in vitro* pour obtenir d'amples informations.
- Etudier d'autres activités biologiques notamment l'activité anti-inflammatoire et l'activité antimicrobienne.
- Entamer une étude *in vivo* pour obtenir une vue plus approfondie sur les effets de ces extraits sur l'apparition et l'aggravation de la maladie d'Alzheimer et le diabète.

*Références  
bibliographiques*

**Abaza L., BenYoussef N., Manai H., Mahjoub Haddada F., Methenni K., Zarrouk M.** (2011). Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y Aceites*. 62; 96-104.

**Aouidi F.** (2012). Etude et valorisation des feuilles d'olivier *Olea europaea* dans l'industrie agro-alimentaire. Thèse en vue de l'obtention du doctorat. Université du Carthage, Maroc.

**Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S E.** (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and D, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 52; 7970-7981.

**Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K.** (2013). Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique science*, 09(3); 159-166.

**Araqas H.** (2013). Extraction des composés phénoliques de feuilles d'olivier et étude de leurs activités biologiques. Mémoire de fin d'études. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.

**Baenas A., Abellán A., Rivera S., Moreno D A., García-Viguera C., Domínguez-Perles R.** (2018). Foods and supplements. In polyphenols: properties, recovery, and applications (edited by Charis M. Galanakis ), 327-355, food waste recovery group, Vienna, Austria.

**Belaj A., Veral M G., Sikaoui H., Moukhli A., Khadari B., Mariotti R., Baldoni L.** (2016). Olive genetic resources. In the olive tree genome ( edited by Rugini E., Baldoni L., Muleo R., Sebastiani L), 29-36. Chittaranjan Kole, West Bengal, India.

**Belščak-Cvitanović A., Durgo K., Huđek A., Bačun-Družina V., Komes D.** (2018). Overview of polyphenols and their properties. In polyphenols: properties, recovery, and applications (edited by Charis M. Galanakis ), 3-36, food waste recovery group, Vienna, Austria.

**Benariba N., Djaziri R., Bellakhdar W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse W J., Sener A., Abdelkrim C.** (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrulluscolocynthis* seeds extracts. *AsianPac J Trop Biomed* 3 (1); 35-40.

**Benavente-García O., Castillo J., Lorente J., Ortuno A., Del Rio J A.** (1999). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L leaves. *Food Chemistry*, 68; 457-462.

**Benlemlih M., Ghanam J.** (2016). polyphenols d'huile d'olive trésors sante. Medicatrix, Belgique.

**Besnard G.** (2016). Origin and Domestication. In *The Olive Tree Genome* ( edited by Rugini E., Baldoni L., Muleo R., Sebastiani L), 1-9. Chittaranjan Kole Nadia, West Bengal, India.

**Blois M S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 4617 (181); 1119-1200.

**Bondia-Pons I., Aura A.M., Vuorela S., Kolehmainen M., Mykkänen H., Poutanen K.** (2009). Rye phenolics in nutrition and health. *Journal of Cereal Science*, 1-14.

**Bouaziz M., Sayadi S.** (2005). Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 107; 497-504.

**Boudhrioua N., Bahloul N., Ben Slimen I., Kechaou N.** (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *industrial crops and products*, 29; 412-419.

**Boukhezna B.** (2008). Contribution à l'étude de l'oléiculture dans les zones arides: Cas de l'exploitation de Dhaouia (Wilaya d'El-Oued). *Memoire de fin d'etudes. Universite KASDI MERBAH-OUARGLA, Algérie.*

**Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H., Marzouk B.** (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. *C. R. Biologies*, 33; 48-55.

**Brenes M., Rejand L., Garcia P., Sangez H.A., Garrido A.** (1997). Biochemical changes in phenolic compounds during spanish-style green olive processing. In: *Characterization of phenolic extract from olives (Olea europaea cv. Pisciottana) by electrospray ionization mass spectrometry. Food Chemistry*, 105; 761-770.

**Breton C., Médail F., Pinatel C., Bervillé A.** (2006). De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L dans le Bassin méditerranéen, *Cahiers Agricultures*, 15(4); 329-336.

**Celano M., Maggisano V., Lepore S M., Russo D., Bulotta S.** (2019). Secoiridoids of olive and derivatives as potential coadjuvant drugs in cancer : a critical analysis of experimental studies. *Pharmacological Research*.

**Chew Y L., Goh J K., Lim Y Y.** (2009). Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*, 116; 13-18.

**Dai Q., Borenstein A R., Wu Y., Jackson J C., Larson E B.** (2006). Fruit and vegetable juices and Alzheimer's disease: the Kame project. *The American Journal of Medicine*, 119; 751-759.

**Difonzo G., Russo A., Trani A., M Paradiso V., Ranieri M., Pasqualone A., Summo C., Tamma G., Silletti R., Caponio F.** (2017). Green extracts from Coratina olive cultivar leaves: Antioxidant characterization and biological activity. *Journal of Functional Foods*, 31; 63-70.

**Djenane D., Yangüela J., Derriche F., Bouarab L., Roncales P.** (2012). Extrait de feuilles d'olivier ; tests in vitro vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* et *Pseudomonas aeruginosa* ; application sur la viande de dinde. *Phytothérapie*, 10-18.

**El-Haci I A., Atik-Bekkara F., Didi A., Gherib M., Didi M A.** (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10; 280-285.

**Ellman G L., Courtney K D., Andres V., Featherston R M.** (1961). A new and rapid colorometric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol*, 7; 88-95.

**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; 9-15.

**Ferreria A., Proenca, C., Serralheiro L M L., Aranjó M E M.** (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, 108; 31-37.

**Garcia-Gomez A., Roig A., Bernal M P.** (2003). Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresource Technology*, 86; 59-64.

**Gariboldi P., Jommi G., Verotta L.** (1986). Secoiridoides from *Olea Europaea*. *Phytochemistry*, 25(4); 865-896.

**Ghedira K.** (2008). L'olivier. *Phytothérapie*, 6; 83-85.

**Giao M S., Gonzalez-Sanjose M L., Rivero-Perez M D., Pereira C I., Pintado M E., Malcata F X.** (2007). Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of Science Food & Agriculture*, 87; 2638-2647.

**Gonzalez M., Zarzuelo A., Gamez M J., Utrilla M P., Jimenez J., Osuna I.** (1991). Hypoglycemic Activity of Olive Leaf. *Planta Med*, 58; 513-515.

**Govaris A., Botsoglou E., Moulas A., Botsoglou N.** (2010). Effect of dietary olive leaves and rosemary on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast during refrigerated storage. *South African Journal of Animal Science*, 40 (2); 145-155.

**Hamidpour R., Hamidpour S., Hamidpour M., Shahlaria M., Sohrabya M., Shahlaria N., Hamidpour R.** (2016). Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.): From a variety of traditional medicinal applications to its novel roles as active antioxidant, anti-inflammatory, anti-mutagenic and analgesic agent. *Journal of traditional and complementary medicine*.

**Ighodaro O M., Akinloye O A.** (2017). 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*.

**Japon-Lujan R., Luque de Castro M D.** (2006). Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*, 1136; 185-191.

**Lazzez A., Kammoun N., Arous N., Hamdi T., Rekik H., Cossentini M.** (2008). Caractérisation pomologique des olives et physico-chimique des huiles des variétés Chétoui et Chemlali. *Revue des régions arides*, 21; 95-102.

**Lesage-meesen L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J C., Lorquin J., Delattre M.** (2001). Simple phenolic content in olive residues as a fraction of extraction systems. *Food Chemistry*, 75; 501-507.

**Lins P G., Pugine S M P., Scatolini A M., Pires de Melo M.** (2018). In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea*L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. *Heliyon*, 4.

**Lomenech H.** (2010). L'olivier: intérêt dans les produits cosmétiques. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nantes, France.

**Long H S., Tilney P M., Van Wyk B E.** (2010). The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaea* subsp. *Africana* (Oleaceae). *African journal of biotechnology*, 76; 324-331.

**Lordan S., Thomas J S., Soler-vila A., Stanton C., Ross R P.** (2013). The alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food chemistry*, 141; 2170-2176.

**Martin-Garcia A I., Molina-Alcaide E.** (2008). Effect of different drying procedures on the nutritive value of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaves for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 142; 317-329.

**Montezano A C., Dulak-Lis M., Tsiropoulou S., Harvey A., Briones A M., Touyz R M.** (2015). Oxidative stress and human hypertension: Vascular mechanisms, biomarkers and novel therapies. *Canadian Journal of Cardiology*.

**Müller L., Gnoyke S., Popken A M., V.Böhm V.** (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43; 992-999.

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

**Oboh G., O.Ademiluyia A., J. Akinyemia A., Henleb T., A.Saliua J., Schwarzenbolz U.** (2012). Inhibitory effect of polyphenol-rich extracts of jute leaf (*Corchorus olitorius*) on key enzyme linked to type 2 diabetes ( $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase) and hypertension (angiotensinI converting) in vitro. *Journal of functional foods*, 4; 450-458.

**Omar S H., Scott C J., Hamlin A S., Obied H K.** (2018). Biophenols: Enzymes ( $\beta$ -secretase, Cholinesterases, histone deacetylase and tyrosinase) inhibitors from olive (*Olea europaea* L). *Fitoterapia*, 128; 118-129.

**Ou J., Wang M., Zheng J., Ou S.** (2019). Positive and negative effects of polyphenol in corporation in baked foods. *Food Chemistry*.

**Oyaizu M.** (1986). Studies on products of browning reactions : antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese journal of nutrition*, 44; 307-315.

**Pauwels E K J.** (2011). The protective effect of the Mediterranean diet: focus on cancer and cardiovascular risk. *Medical Principles and Practice*, 20; 103-111.

**Perez-Bonilla M., Salido S., Teris A. van Beek Pablo J., Linares-Palomino, Altarejos J., Noguerras M., Sanchez A.** (2006). Isolation and identification of radical scavengers in olive tree (*Olea europaea*) wood. *Journal of Chromatography A*, 1112; 311-318.

**Pinnell-Sheldon R., Omar Mostafa M.** (2004). Topical composition comprising olive leaf extract. United States Patent, 6; 449-743.

**Rao M N A., Kunchandy K.** (1990). Oxygen radical scavenging activity of curcumin, *Int. J. Pharm*, 58; 237-240.

**Rapoport H F., Fabbri A., Sebastiani L.** (2016). Olive Biology. In *The Olive Tree Genome* (edited by Rugini E., Baldoni L., Muleo R., Sebastiani L), 13-24. Chittaranjan Kole Nadia, West Bengal, India.

**Ryan D., Lawrence H., Prenzler P., Antolovich M., Robards K.** (2001). Recovery of phenolic compounds from *Olea europaea*. *Analytica Chimica Acta*, 21449; 1-11.

**Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med*, 26; 1231-1237.

**Reitzer F., Allais M., Ball V., Meyer F.** (2017). Polyphenols at interfaces. *Advances in colloid and interface science*.

**Rejano L., Montaña A., Casado F J., Sánchez A H., Castro A.** (2010). Table Olives: Varieties and Variations. In *Olives and olive oil in health and disease prevention* (edited by Preedy V R., Watson R), 5-14. Academic Press, Elsevier, United state of America.

**Rodrigues F., Cádiz-Gurrea M D L., Nunes M A., Pinto D., Vinha A F., Linares I B., Oliveira M B P P., Carretero, A S.** (2018). Cosmetics. In *polyphenols: properties, recovery, and applications* ( edited by Charis M. Galanakis ), 393-417, food waste recovery group, Vienna, Austria.



**Sanchez-vioque R., Polissiou M., Astraka K., de los Mozos- pascual M., Tarantilis P., Herraiz-penalver D., Santana-meridas O.** (2013). Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry. *Industrial Crops and Products*, 49; 150-159.

**Sarangarajan R., Meera S., Rukkumani R., Sankar P., Anuradha G.** (2017). Antioxidants: Friend or Foe?. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.

**Sarbishegi, M.** (2018). Antioxidant Effects of Olive Leaf Extract in Prevention of Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Gene Cell Tissue*, 5(1).

**Savarese M., De maro E., Sacchi R.** (2007). Characterisation of phenolic extracts from olive (*Olea europaea* cv. Pisciotana) by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, 105; 761-770

**Servili M., Sordini B., Esposto S., Taticchi A., Urbani S., Sebastiani L.** (2016). Metabolomics of Olive Fruit: A Focus on the Secondary Metabolites. In *The Olive Tree Genome* ( edited by Rugini E., Baldoni L., Muleo R., Sebastiani L), 123-136. Chittaranjan Kole Nadia, West Bengal, India.

**Shi H., Noguchi N., Niki E.** (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Enzymol Methods*, 66; 157-335.

**Syed Haris O.** (2010). Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Saudi pharmaceutical journal*, 18; 111–121.

**Szydłowska-czerniaka A., Dianoczek C., Recseg K., Karlovits G., Szlyk E.** (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76; 899-905.

**Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., Ulubelen A.** (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103; 816-822.

**Touati, L.** (2013). Valorisation des grignons d'olive Etude de cas: Essai de valorisation en Biocarburant. Mémoire de magister. Université M'hamed Bougara-Boumerdes, Algérie.

**Vamecq J., Vallée L., Storme L. Gelé P., R Bordet J.** ( 2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue*, 18(1).

**Visioli F., Galli C.** (1994). Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. *Life Sciences*, 55; 1965-1971.

**Xie P J., Huang L X., Zhang C H.,Zhang Y L.** (2015). Phenolic compositions, and antioxidant performance of olive leaf and fruit (*Olea europaea*L.) extracts and their structure–activity relationships. *Journal of Functional Foods*, 16; 460-471.

**Zengin G., Sarikurkcu C., Aktumsek A., Ceylan R., Ceylan O.** (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53; 244-251.

## Résumé

Les propriétés médicinales de l'olivier sont attribuées à ses feuilles dont l'utilisation en phytothérapie remonte très loin dans l'histoire ainsi qu'à son fruit (l'olive) qui dispose de diverses propriétés antioxydantes ; sur cette base nous nous sommes fixés comme objectifs : l'évaluation de l'activité antioxydante, anti-cholinestérase et antidiabétique des feuilles d'olivier et de deux variétés d'olive (*Blanquette* de Guelma (VBG) et *Chemlal* de Tizi Ouzou (VCT)).

Une extraction a été réalisée en utilisant deux solvants : le méthanol et l'acétate d'éthyle, suivi d'une estimation de la teneur en composés phénoliques en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et le tri-chlorure d'aluminium respectivement, ensuite une évaluation de l'activité antioxydante, l'activité antidiabétique et anti-cholinestérase a été réalisée en utilisant différents tests.

Les teneurs les plus élevées des polyphénols et flavonoïdes totaux ont été constatées dans l'extrait de feuilles d'olivier. Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant des feuilles d'olivier et des deux variétés d'olives ont montré que l'extrait des feuilles possède une capacité antiradicalaire DPPH et une capacité d'inhibition du radical galvinoxyle (GOR) très élevées, par contre pour l'effet scavenger à l'ABTS ; l'extrait d'olive de la VBG présente un effet plus grand que celui des deux autres extraits.

L'activité superoxyde DMSO alcalin est très élevée dans l'extrait d'olive de la VBG et l'extrait des feuilles d'olivier. L'extrait d'olive de la VCT a montré une grande activité antioxydante et une grande capacité de chélation du cuivre en utilisant les deux méthodes CUPRAC et l'activité de chélation de cuivre, aussi les trois extraits possèdent une grande capacité à réduire des ions  $Fe^{3+}$  en ions  $Fe^{2+}$  ; par utilisation du test de l'activité phénanthroline.

A partir des deux tests enzymatiques de l'activité d'inhibition de la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase ; nos extraits ont montré une très légère activité anti-cholinestérase par contre l'activité anti diabétique évaluée en utilisant deux activités (activité inhibitrice de l'alpha glucosidase et l'alpha amylase) ; a confirmé que certains extraits sont dotés d'une activité inhibitrice des enzymes d'intérêt.

En conclusion, notre étude confirme que les feuilles d'olivier et les deux types de cultivars d'olive sont une bonne source de phénols et flavonoïdes qui possèdent une puissante activité antioxydante ainsi qu'une capacité de prévenir l'apparition du diabète.

**Mots clés :** *Olea europea L*, DPPH, polyphénols, activité anti diabétique, activité antioxydante.

## Abstract

The medicinal properties of the olive tree are attributed to its leaves whose use in herbal medicine goes back far in history as well as its fruit (the olive) which has various antioxidant properties; on this basis we set ourselves the following objectives: evaluation of the antioxidant, anti-cholinesterase and antidiabetic activity of olive leaves and two olive varieties (*Blanquette* of Guelma (BGV) and *Chemlal* of Tizi Ouzou (CTV) ).

Extraction was carried out using two solvents: methanol and ethyl acetate, followed by an estimation of the content of phenolic compounds using Folin-Ciocalteu reagent and tri-aluminum chloride respectively, followed by Evaluation of antioxidant activity, antidiabetic and anti-cholinesterase activity was performed using different tests.

The highest levels of total polyphenols and flavonoids were found in olive leaf extract. The main methods for evaluating the antioxidant potential of olive leaves and of both varieties of olives have shown that the leaf extract has a very high free radical capacity DPPH and a very high capacity for inhibition of the galvinoxyl radical (GOR), by against for the effect scavenger to the ABTS; the olive extract of BGV has a greater effect than that of the other two extracts.

Alkaline DMSO superoxide activity is very high in olive extract of BGV and olive leaf extract. Olive extract of CTV showed high antioxidant activity and high copper chelating capacity using both CUPRAC and copper chelation activity, so all three extracts have a high ability to reduce ions  $Fe^{3+}$  in  $Fe^{2+}$  ions ; using the phenanthroline activity test.

From two enzymatic tests of inhibition activity of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase; our extracts showed a very slight anti-cholinesterase activity against the anti-diabetic activity evaluated using two activities (inhibitory activity of alpha glucosidase and alpha amylase); confirmed that some extracts have an inhibitory activity of the enzymes of interest.

In conclusion, our study confirms that olive leaves and both types of olive cultivars are a good source of phenols and flavonoids that possess potent antioxidant activity as well as an ability to prevent the onset of diabetes.

**Key words:** *Olea europea L*, DPPH, polyphenols, anti-diabetic activity, antioxidant activity.

## ملخص

تُنسب الخصائص الطبية لشجرة الزيتون إلى أوراقها التي يعود تاريخ استخدامها في الأدوية العشبية إلى وقت طويل وإلى ثمارها (الزيتون) التي لها خصائص مختلفة مضادة للأكسدة؛ على هذا الأساس، حددنا لأنفسنا الأهداف التالية: تقييم النشاط المضاد للأكسدة ومضاد السكري و anti-cholinesterase لأوراق الزيتون ونوعين من الزيتون ( *Blanquette* و *de Guelma* (VBT) و *Chemlal de Tizi Ouzou* (VCT)).

تم إجراء الاستخلاص باستخدام مذيبين: الميثانول وأسيئات الإيثيل، متبوعاً بتقدير محتوى المركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-ciocalteu وكوريد الألومنيوم الثلاثي على التوالي، يليه تم إجراء تقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد لمرض السكر و anti-cholinesterase باستخدام اختبارات مختلفة.

تم العثور على أعلى مستوى من مجموع البوليفينول والفلافونويد في مستخلص أوراق الزيتون. أظهرت الاختبارات الرئيسية لتقييم القدرة المضادة للأكسدة لأوراق الزيتون وكلا النوعين أن مستخلص الأوراق لديه قدرة عالية على التقاط الجذر الحر DPPH و قدرة عالية للغاية لتثبيط جذر الجلفنووكسيل GOR. من ناحية أخرى فإن مستخلص الزيتون VBT له تأثير أكبر على التقاط الجذر الحر ABTS من المستخلصين الآخرين.

إن نشاط الأكسيد DMSO مرتفع للغاية في مستخلص الزيتون VBT و خلاصة أوراق الزيتون. أظهر مستخلص الزيتون VCT نشاطاً عالياً مضاداً للأكسدة و قدرة عالية على إزالة النحاس باستخدام كل من اختبار CUPRAC و نشاط إزالة معدن النحاس، وبالتالي فإن جميع المستخلصات الثلاثة تتمتع بقدرة عالية على إرجاع الأيونات  $Fe^{3+}$  إلى أيونات  $Fe^{2+}$  باستخدام نشاط فينانثرولين.

انطلاقاً من اثنين من الاختبارات الإنزيمية لنشاط تثبيط إنزيم *acetylcholinestérase* و *butyrylcholinestérase* أظهرت المستخلصات نشاطاً anti-cholinesterase بسيطاً جداً. من ناحية أخرى النشاط المضاد لمرض السكري الذي تم تقييمه باستخدام نشاطين (النشاط التثبيطي لكل من الإنزيمين *alpha amylase* و *alpha glucosidase*) قد أكد أن بعض المستخلصات لها نشاط كابت للإنزيمات المدروسة.

في الختام، تؤكد دراستنا أن أوراق الزيتون وكلا النوعين من أصناف الزيتون هي مصدر جيد للفينولات والفلافونويدات التي لها نشاط مضاد للأكسدة قوي وكذلك القدرة على منع ظهور مرض السكري.

**الكلمات المفتاحية:** *Olea europea L*, DPPH, polyphénols, نشاط ضد السكري, النشاط المضاد للأكسدة.

Nom : <b>Ouammar Bensaad</b> prénom : <b>Sabrina Bochra</b>	Date de soutenance : 14/07/2019
Thème : <b>Evaluation de l'activité antioxydante, anti cholinestérase et anti diabétique des feuilles de l'olivier et des deux variétés d'olives <i>Blanquette</i> de Guelma et <i>Chemlal</i> de Tizi Ouzou</b>	
Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master	
<b>Résumé</b>	
<p>Les propriétés médicinales de l'olivier sont attribuées à ses feuilles dont l'utilisation en phytothérapie remonte très loin dans l'histoire ainsi qu'à son fruit (l'olive) qui dispose de diverses propriétés antioxydantes ; sur cette base nous nous sommes fixés comme objectifs : l'évaluation de l'activité antioxydante, anti-cholinestérase et antidiabétique des feuilles d'olivier et de deux variétés d'olive (<i>Blanquette</i> de Guelma (VBG) et <i>Chemlal</i> de Tizi Ouzou (VCT)).</p> <p>Une extraction a été réalisée en utilisant deux solvants : le méthanol et l'acétate d'éthyle, suivi d'une estimation de la teneur en composés phénoliques en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et le tri-chlorure d'aluminium respectivement, ensuite une évaluation de l'activité antioxydante, l'activité antidiabétique et anti-cholinestérase a été réalisée en utilisant différents tests.</p> <p>Les teneurs les plus élevées des polyphénols et flavonoïdes totaux ont été constatées dans l'extrait de feuilles d'olivier. Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant des feuilles d'olivier et des deux variétés d'olives ont montré que l'extrait des feuilles possède une capacité antiradicalaire DPPH et une capacité d'inhibition du radical galvinoxyle (GOR) très élevées, par contre pour l'effet scavenger à l'ABTS ; l'extrait d'olive de la VBG présente un effet plus grand que celui des deux autres extraits.</p> <p>L'activité superoxyde DMSO alcalin est très élevée dans l'extrait d'olive de la VBG et l'extrait des feuilles d'olivier. L'extrait d'olive de la VCT a montré une grande activité antioxydante et une grande capacité de chélation du cuivre en utilisant les deux méthodes CUPRAC et l'activité de chélation de cuivre, aussi les trois extraits possèdent une grande capacité à réduire des ions <math>Fe^{3+}</math> en ions <math>Fe^{2+}</math> ; par utilisation du test de l'activité phenanthroline.</p> <p>A partir des deux tests enzymatiques de l'activité d'inhibition de la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase ; nos extraits ont montré une très légère activité anti-cholinestérase par contre l'activité anti diabétique évaluée en utilisant deux activités (activité inhibitrice de l'alpha glucosidase et l'alpha amylase) ; a confirmé que certains extraits sont dotés d'une activité inhibitrice des enzymes d'intérêt.</p> <p>En conclusion, notre étude confirme que les feuilles d'olivier et les deux types de cultivars d'olive sont une bonne source de phénols et flavonoïdes qui possèdent une puissante activité antioxydante ainsi qu'une capacité de prévenir l'apparition du diabète.</p>	
<b>Mots clés :</b> <i>Olea europea L</i> , DPPH, polyphénols, activité anti diabétique, activité antioxydante.	
<b>Laboratoire de Biochimie UFM–Constantine</b>	<b>Laboratoire : CRBt</b>
<b>Jury d'évaluation :</b>	
<b>Présidente du jury :</b> Mme MEDOUKALI I.	Maitre de conférences « B ». UFM – Constantine.
<b>Encadreur :</b> Mme MOUSSAOUI S.	Maitre de conférences « B ». UFM – Constantine.
<b>Examineur :</b> Mr MOKRANI E.H.	Maitre-assistant« A ». UFM - Constantine.