



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 des Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية العلوم الطبيعية والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de 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 Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé : -----

**Huile d'olive d'Algérie : Etude des propriétés antioxydantes  
et anti-Alzheimer**

Présenté et soutenu par :

Le : 21/09/2020

**ZERTAL hadjer et ZIADA meryem ikram**

Soutenu devant le jury composé de :

Président du jury : Mr. Mokrani El-Hassen

Maitre-assistant A, UFM-Constantine 1.

Encadreur : Mr. MEBREK Saad

Maitre de recherche B, CRBt.

Examineur : Mr. Bensouici Chawki

Maitre de recherche B, CRBt.

Année universitaire : 2019 – 2020

## **Remerciement**

*Tout d'abord, nous remercions, du plus profond de notre coeur, Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté d'achever ce travail.*

*Nous remercions en particulier notre encadreur Mr **Mebrek Saad** maitre de recherche classe « B » au CRBt d'avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils, sa disponibilité, son soutien et son suivi scientifique le long de la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements plus respectueux à Mr **Mokrani El-Hassen** qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance de ce mémoire.*

*Nous remercions également chaleureusement Mr. **Bensouici Chawki** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons aussi à exprimer notre remerciement à Mme **Issaad Fatima zohra** pour sa disponibilité, son aide et son soutien.*

*Nous remercions spécialement M<sup>elle</sup> **Chouh Amina** et M<sup>elle</sup> **Djeghim Hanene** pour leur précieuse aide et conseils au cours de ce travail, nous vous sommes énormément reconnaissantes.*

*Nous remercions aussi Mr le directeur du **C.R.Bt** Constantine et toute l'équipe du centre, qui nous a permis d'accéder aux laboratoires et mis à notre disposition les produits et les matériaux dont nous avons eu besoin, sans toutefois oublier son aimable personnel qui nous ont guidés dans nos premiers pas dans ce travail. Leurs compétences scientifiques, leur dévouement total pour la recherche et leur précieux conseils ont été pour nous une source de réconfort et d'encouragement dans la réalisation de ce travail.*

*Et enfin, nous tenons à exprimer nos sentiments de reconnaissance envers toutes les personnes qui ont participé à ce travail de près ou de loin, qui nous ont aidé, conseillé et soutenu à tout moment afin de réaliser ce travail dans les meilleures des conditions.*

*Merci à tous,  
Hadjer et Meryem.*

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes très chers parents pour leur soutien, leurs sacrifices et leur patience. Je tiens à exprimer tout le respect et l'amour que je porte pour eux et leur témoigner ma reconnaissance pour tous les efforts qu'ils ont entrepris pour me voir là où je suis.*

*A ma sœur **Meriem** et mon frère **Abdel Karim** pour leur soutien et encouragement tout au long de ces années d'études.*

*A ma sœur et binôme **ZIADA Meryem ikram** qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et ces années universitaire et qui m'a été d'un grand soutien.*

*A tous mes amis proches de la promotion 2019-2020.*

*Merci à tous et que dieu vous protège.*

*Hadjer*

## ***Dédicaces***

***Avec l'aide du tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je  
Dédie pour :***

***Mes très chers parents***

***Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer  
toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.***

***A ma chère mère HAYET, Et mon cher père AZZEDDINE.***

***Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos  
encouragements.***

***Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et  
de bonheur !***

***A Mes chers frères AMINE et OUSSAMA qui m'ont soutenue tout au  
long de ces années d'études, merci pour votre amour fraternel, votre  
soutien et votre encouragement.***

***Un grand merci également à ma grand-mère et grand-père qui seraient  
surement fière de moi.***

***A toute la famille ZIADA.***

***A toute la famille MEHANNAOUI.***

***A ma sœur et binôme : ZERTAL hadjer. Je voudrais la remercier pour  
son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce  
mémoire.***

***A tous mes amis proches de la promotion 2019-2020.***

***A Mes chères amies A.IKRAM, R.ASMA, G.SABRINA et B.DJIHANE.***

***Que dieu les garde tous et les protège.***

***Je vous aime tous***

***MERYEM***

## الملخص

يعتبر زيت الزيتون، المسمى أيضا "الذهب الأخضر" من أكثر الزيوت النباتية وفرة من حيث المزايا الغذائية و العلاجية لأنه يتميز بغناه بالمواد العضوية المتمثلة أساساً في المركبات الفينولية. هذه الأخيرة هي بامتياز، مثبطات الأكسدة عن طريق إزالة الجذور الحرة، التي تم تحديدها كمضادات أكسدة طبيعية. أجريت هذه الدراسة بهدف تقييم النشاط المضاد للأكسدة والأنزيمات لتسعة وعشرين عينة من المستخلصات الميثانولية لزيت الزيتون من أصناف مختلفة ومن عدة مناطق. تم قياس هذا النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستخدام عدة أساليب مضادة للجذور وهي: DPPH , ABTS , CUPRAC والقدرة الإرجاعية. كما تم اختبار النشاط الأنزيمي من خلال تقييم قوة مضادات الزهايمر ضد الأستيل كولين استراز (AChE). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان هناك تثبيط فعال للجذور الحرة ذات القيم المعتمدة. الأصناف *Limeli* , *Aimel* و *Aaleth* من منطقة سيدي عيش سجلت أفضل القيم بالإضافة إلى *Sigoise* و *Chemlal* من واد سوف. هذه الأخيرة ، وبالتحديد *Sigoise* و *Chemlal* ، سجلت أيضاً أفضل القيم في النشاط المضاد لمرض الزهايمر. في نهاية هذه الدراسة ، وجدنا أن زيت الزيتون الذي تم اختباره يعتبر غنياً بالبولىفينول والفلافونويد وأن البولىفينول لديهم قدرة كبيرة على إزالة الجذور الحرة وبالتالي يعطي نشاطاً مضاداً للأكسدة مهماً جداً.

**الكلمات الدالة:** زيت الزيتون، اصناف، المركبات الفينولية، مضادات الأكسدة، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط الأنزيمي، CUPRAC ، ABTS ، DPPH. القدرة الإرجاعية،

## **Abstract**

Olive oil, also called "green gold", is one of the most important vegetable oils in nutritional and therapeutic virtues because it is characterized by its richness in organic matter, mainly represented by phenolic compounds. These are, par excellence, inhibitors of oxidation by scavenging free radicals, identified as natural antioxidants. This study was carried out with the objective of evaluating the antioxidant and inhibitory activity of the enzymes of twenty-nine methanolic extracts of olive oils of different varieties selected from several regions. The antioxidant activity was measured in vitro using the anti-free radical methods DPPH, ABTS, CUPRAC and reducing power. Enzyme activity was tested for anti-Alzheimer's potency using acetylcholinesterase (AChE) as a model. The results obtained showed a significant inhibition of free radicals with significant values. The varieties Limeli, Aaleth and Aimel from SIDI-AICH showed the best values as well as Sigoise and Chemlal from OUED SOUF. The latter, named Sigoise and Chemlal, also recorded the best values in anti-Alzheimer's activity. At the end of this study, we find that the olive oils tested are still rich in polyphenols and flavonoids and that the polyphenols have a great capacity for scavenging free radicals and thus give a fairly significant antioxidant activity.

**Key words:** Olive oil, variety, phenols, antioxidant, antioxidant activity, DPPH, ABTS, CUPRAC, Reducing Power, enzymatic activity.

## Résumé

L'huile d'olive, aussi appelé « l'or vert », est l'une des huiles végétales les plus importantes en vertus nutritionnelles et thérapeutiques car elle est caractérisée par sa richesse en matière organique représentée essentiellement par les composés phénoliques. Ces derniers sont, par excellence, des inhibiteurs de l'oxydation par piégeage des radicaux libres, identifiés comme des antioxydants naturels. Cette étude a été réalisée dans l'objectif d'évaluer l'activité antioxydante et inhibitrice des enzymes de vingt-neuf extraits méthanoliques d'huiles d'olive de différentes variétés et issues de plusieurs régions. Cette activité antioxydante a été mesurée *in vitro* par l'utilisation des méthodes anti-radicalaires DPPH, ABTS, CUPRAC et le pouvoir réducteur. L'activité enzymatique a été testée pour l'évaluation du pouvoir anti Alzheimer en utilisant l'acétylcholinestérase (AChE) comme model. Les résultats obtenus ont montré une inhibition importante des radicaux libres avec des valeurs significatives. Les variétés *Limeli*, *Aaleth* et *Aimel* de SIDI-AICH ont montrées les meilleures valeurs ainsi que *Sigoise* et *Chemlal* d'OUED SOUF. Ces derniers, à savoir *Sigoise* et *Chemlal*, ont également enregistré les meilleures valeurs dans l'activité anti- Alzheimer. Au terme de cette étude, nous constatons que les huiles d'olive testées sont tout de même riches en polyphénols et flavonoïdes et que les polyphénols ont une grande capacité de piégeage des radicaux libres et donnent ainsi une activité antioxydante assez importante.

**Mots clés :** Huile d'olive, variété, polyphénols, antioxydant, activité antioxydante, DPPH, ABTS, CUPRAC, Pouvoir Réducteur, activité enzymatique.

# Table des matières

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

I. Introduction .....	1
-----------------------	---

## Rappel Bibliographique

II. Aperçu sur l'espèce <i>Olea europea L</i> .....	3
---	---

II.1. Classification systématique .....	3
---	---

II.2. Description botanique .....	3
-----------------------------------	---

II.3. Répartition géographique de l'olivier .....	4
---	---

II.3.1. Répartition de l'olivier dans le monde .....	4
--	---

II.3.2. Répartition de l'olivier en Algérie.....	4
--	---

II.4. Principales variétés d'oliviers cultivés en Algérie .....	5
---	---

III. L'huile d'olive.....	6
---------------------------	---

III.1. Définition .....	6
-------------------------	---

III.2. Production mondiale d'huile d'olive.....	6
---	---

III.3. Production d'huile d'olive en Algérie.....	7
---	---

III.4. Composition biochimique d'huile d'olive.....	8
---	---

III.4.1. La fraction saponifiable .....	8
---	---

1. Les acides gras.....	8
-------------------------	---

2. Les triglycerides .....	9
----------------------------	---

III.4.2. La fraction insaponifiable.....	10
--	----

1. Les hydrocarbures où le squalène .....	10
---	----

2. Les polyphénols .....	11
--------------------------	----

3. Les pigments colorants.....	12
--------------------------------	----

4. Les tocophérols .....	13
--------------------------	----



5.	Les stérols .....	14
6.	Les alcools.....	16
7.	Les composés aromatiques.....	17
IV.	Activité antioxydante .....	18
IV.1.	Le stress oxydant .....	18
IV.2.	Les radicaux libres.....	18
IV.2.1.	Définition .....	18
IV.2.2.	Nature des radicaux libres.....	19
1.	Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) .....	19
2.	L'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet -}$ ) .....	19
3.	Le radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ ).....	20
4.	L'oxyde nitrique ( $NO^{\bullet}$ ) .....	20
IV.3.	Les antioxydants .....	21
IV.3.1.	Définition .....	21
IV.3.2.	Utilisation des antioxydants .....	22
IV.3.3.	Mécanisme d'action des antioxydants .....	22
IV.3.4.	Les type d'antioxydants .....	22
1.	Les antioxydants endogènes (enzymatiques).....	22
2.	Les antioxydant exogènes (non enzymatiques).....	23
IV.4.	Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive.....	25

## Partie expérimentale

I.	But et objectif du travail .....	28
II.	Matériel végétal .....	28
III.	Extraction des composés phénoliques .....	30
IV.	Dosage des composés phénoliques totaux (TCP) .....	31
V.	Dosage des composés flavonoïdes totaux (TCF) .....	32
VI.	Evaluation de l'activité antioxydante .....	32

VI.1. Activité de piégeage du radical DPPH <sup>+</sup> .....	33
VI.2. Activité de piégeage du radical ABTS <sup>+</sup> .....	34
VI.3. La capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC .....	35
VI.4. Le pouvoir réducteur.....	36
VII. Evaluation de l'activité inhibitrice des enzymes.....	37
VII.1. L'activité anti cholinestérase .....	37
VIII. Analyses statistiques .....	38
IX. Résultats et discussion .....	39
IX.1. Rendement d'extraction des polyphénols .....	39
IX.2. Teneur en composés phénoliques totaux .....	41
IX.3. Teneur en composés flavonoïdes totaux .....	44
IX.4. Evaluation de l'activité antioxydante .....	46
IX.4.1. Activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH .....	47
IX.4.2. Activité antioxydante par le test de piégeage du radical ABTS <sup>+</sup> .....	49
IX.4.3. La capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC .....	50
IX.4.4. Le pouvoir réducteur .....	51
IX.5. Evaluation de l'activité enzymatique.....	54
IX.5.1. L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase.....	54
Conclusion et perspectives.....	56
Références bibliographiques.....	59

## Liste des abréviations

**µg EAG / ml** : microgramme d'équivalent d'acide gallique par millilitre.

**µg EQ / ml** : microgramme d'équivalent de quercétine par millilitre.

**µg/ml** : microgramme par millilitre.

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet.

**A<sub>0,5</sub>** : concentration du substrat qui donne une intensité d'absorbance de 0.5.

**ABTS<sup>•+</sup>** : Acide 2, 2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

**AChE** : acétyl-cholinestérase.

**AGMI** : Acides Gras Monoinsaturés.

**AscH<sup>•</sup>** : radical ascorbate tricarbonyle.

**BChE** : butyryl-cholinestérase

**BHA** : Butyl Hydroxy Anisol.

**BHT** : Butyl Hydroxy Toluène.

**COI** : Conseil Oléicole International.

**COX** : cyclo-oxygénases.

**CUPRAC** : Capacité antioxydante par réduction de cuivre.

**DPPH<sup>•</sup>** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle.

**EAG** : Equivalent d'acide gallique.

**EQ** : Equivalent quercétine.

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.

**EVOO**: (extra virgin olive oil) huile d'olive extra vierge.

**Fe** : fer.

**GPx** : glutathion peroxydase.

**GSH** : glutathion.

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

**IC<sub>50</sub>** : Concentration causant une inhibition de 50% d'une activité.

**MA** : la maladie d'Alzheimer.

**MeOH** : Méthanol.

**mg /Kg** : milligramme par kilogramme.

**mg /l** : milligramme par litre.

**NADPH** : Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**NOS** : oxyde nitrique synthases.

**OH°** : Radical hydroxyl.

**OLL** : Dioléolinoléine.

**OOO** : Trioléine.

**POL** : Palmitooléolinoliene.

**POO** : Dioléopalmitine.

**Ppb** : partie par milliard.

**R** : radical.

**R°** : Radical alkyl.

**Rdt** : rendement.

**ROO°** : Radical hydro peroxy

**ROOH** : Hydroperoxyde

**RP** : Reducing Power (pouvoir réducteur).

**SD** : standard de déviation.

**SOD** : superoxyde dismutase.

**SOO** : Dioléostéarine.

**Subsp** : sub-specie = sous-espèce.

**TCA** : Tri-chloro acetic acide

**TG** : triglycerides.

**ω6** : oméga 6

## Liste de figures

- Figure 01** : Répartition géographique de l'olivier dans le bassin méditerranéen.
- Figure 02** : Répartition de l'oléiculture en Algérie par régions.
- Figure 03** : La production mondiale de l'huile d'olive.
- Figure 04** : La production d'huile d'olive en Algérie par an.
- Figure 05** : Structure général d'un squalène.
- Figure 06** : Principaux composés phénoliques d'huile d'olive.
- Figure 07** : Structure de chlorophylle.
- Figure 08** : Structure chimique du  $\beta$ -carotène.
- Figure 09** : Structure générale d'un tocophérol.
- Figure 10** : Structure des principaux stérols de l'huile d'olive.
- Figure 11** : Principaux dialcools triterpéniques de l'huile d'olive.
- Figure 12** : Structure chimique des composés volatils majoritaires de l'huile d'olive.
- Figure 13** : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.
- Figure 14** : Mécanismes traduisant l'activité antioxydante des caroténoïdes, cas des ROO•.
- Figure 15** : Structure chimique de la 2- phénylbenzopyrane.
- Figure 16** : Mécanismes d'action antioxydante des composés phénoliques.
- Figure 17** : Géographie des zones de prélèvement d'huile d'olive.
- Figure 18** : Lecteur de microplaque.
- Figure 19** : Structure de l'acide gallique.
- Figure 20** : Structure de la quercétine.
- Figure 21** : Structure chimique du radical DPPH' et de sa forme réduite.

**Figure 22 :** Structure chimique du radical **ABTS<sup>•</sup>** et de sa forme réduite.

**Figure 23 :** Réduction de neocuproïne/copper (II) complexe.

**Figure 24 :** Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman.

**Figure 25 :** Rendement d'extraction des composés phénoliques dans les fractions méthanoliques des huiles d'olives.

**Figure 26 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

**Figure 27 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

## Liste des tableaux

**Tableau 01** : Orientations variétales de l'olivier en Algérie.

**Tableau 02** : Composition en acides gras de l'huile d'olive.

**Tableau 03** : Composition en triglycérides de l'huile d'olive.

**Tableau 04** : Structure des tocophérols.

**Tableau 05** : Composition d'huile d'olive en stérols (% des stérols totaux).

**Tableau 06** : Les 29 variétés d'huile d'olive et leurs régions de récolte.

**Tableau 07** : Les rendements d'extraction obtenus en pourcentage % dans chaque variété.

**Tableau 08** : Teneurs en composés phénolique totaux.

**Tableau 09** : Teneurs en flavonoïdes totaux.

**Tableau 10** : Détermination des  $IC_{50}$  sur le radical **DPPH** et **ABTS**<sup>+</sup> et les valeurs de l' $A_{0,5}$  des tests **RP** et **CUPRAC** sur des différents extraits d'huiles d'olives.

**Tableau 11** : Valeur de l' $IC_{50}$  du test de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase pour les différents extraits d'huile d'olive.



# Introduction

### I. Introduction

L'huile d'olive représente l'un des produits méditerranéens par excellence. On la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours (**Trichopoulou et Lagiou, 1997**). Elle est la principale source de matière grasse du régime crétois ou du régime méditerranéen qui sont bien connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. Si l'huile d'olive est un produit intéressant d'un point de vue nutritionnel c'est tout d'abord pour sa composition en acides gras. En effet, elle est largement insaturée et contient une partie d'acides gras essentiels. Outre cette composition particulière en acides gras, l'huile d'olive est aussi riche en composés antioxydants, et surtout intéressante pour ses composés minoritaires tels que les polyphénols (**Tripoli et al 2005**).

L'intérêt nutritionnel de ces composés phénoliques réside dans leur forte capacité antioxydante qui pourrait prévenir ou ralentir l'apparition de certaines maladies dégénératives ainsi que les maladies cardiovasculaires (**Servili et al 2014**).

L'huile d'olive brute est une huile de table directement issue d'un fruit de l'olivier et uniquement par utilisation de procédés physiques, sans recourir à des étapes de raffinage. L'absence de cette étape permet à l'huile d'olive de conserver tous ses antioxydants car ils ne vont pas être éliminés lors de ce procédé. Les principaux antioxydants de l'huile d'olive sont des dérivés de l'oleuropéine et du ligstroside et font donc partie de la classe des composés phénoliques. Ces composés vont permettre une bonne conservation de l'huile d'olive dans le temps puisque ces molécules ainsi que le tocophérol vont prévenir son oxydation (**Veillet, 2010**).

L'objectif de notre étude est de caractériser et comparer d'un point de vue phytochimique, l'activité antioxydante et inhibitrices de quelques enzymes impliqués dans différentes pathologies des huiles extraites des fruits des oliviers de 29 échantillons de différentes variétés algériennes, il s'agit des variétés : *Sigoise, Rougette, Chemlal, Ferkane, Limeli, Blanquette, Nebjmel, Aimel, Aaleth, Taksrit* et *Azzoradj* originaire d'Oued Souf, Sidi-Aïch, Batna, Guelma, Hamma Bouziane, Bouira, Bounouara, Tamelt, Jijel, Zighoud Youcef, Bejaia, Khenchla et Biskra.

La première partie de ce travail consiste à une synthèse bibliographique sur l'olivier et l'huile d'olive ainsi que leurs activités. La deuxième partie, expérimentale, est consacrée à l'extraction des composés phénoliques de l'huile d'olive des vingt-neuf échantillons récoltés sur différentes régions géographiques, et à l'évaluation de leurs activités antioxydantes à savoir l'activité

## Introduction

chélatrice des radicaux libre DPPH<sup>•+</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, l'activité réductrice du cuivre et du fer, ainsi que l'activité anti Alzheimer des vingt-neuf échantillons d'huile d'olive prévues pour ce travail.

# Rappel Bibliographique

## **II. Aperçu sur l'espèce *Olea europea L***

### **II.1. Classification systématique**

La classification botanique de l'olivier selon (**Guignard, 2004**) est la suivante :

**Embranchement** : Spermaphytes.

**Sous embranchement** : Angiospermes.

**Classe** : Dicotylédones.

**Sous classe** : Astéridées.

**Ordre** : Lamiales.

**Famille** : Oléacées.

**Genre** : *Olea*.

**Espèce** : *Olea europea*.

### **II.2. Description botanique**

L'olivier (*Olea europea L*) est un excellent arbre méditerranéen cultivé dans des régions arides subtropical (**Lavee, 1997**). Il est bien adapté aux conditions environnementales extrêmes, telles que la sécheresse, et la salinité (**Maas et Hoffman, 1977**). Ainsi qu'aux températures élevées et basses.

Il peut s'accommoder à divers types de sols, quelquefois très démunis et arides, bien ventilés cependant, il craint l'humidité. Son potentiel d'adaptation est dû à la morphologie spéciale de ses feuilles, de son système racinaire et de son haut niveau de régénération morphologique (**Lavee, 1997**). La hauteur moyenne de l'olivier peut atteindre 10 à 15 m et le diamètre du tronc peut arriver à 1,50 à 2 m. Dans les climats froids, les arbres sont généralement plus petits. Dans son état naturel, il se maintient en une boule compacte et épineuse (**Loussert et Brousse, 1978**).

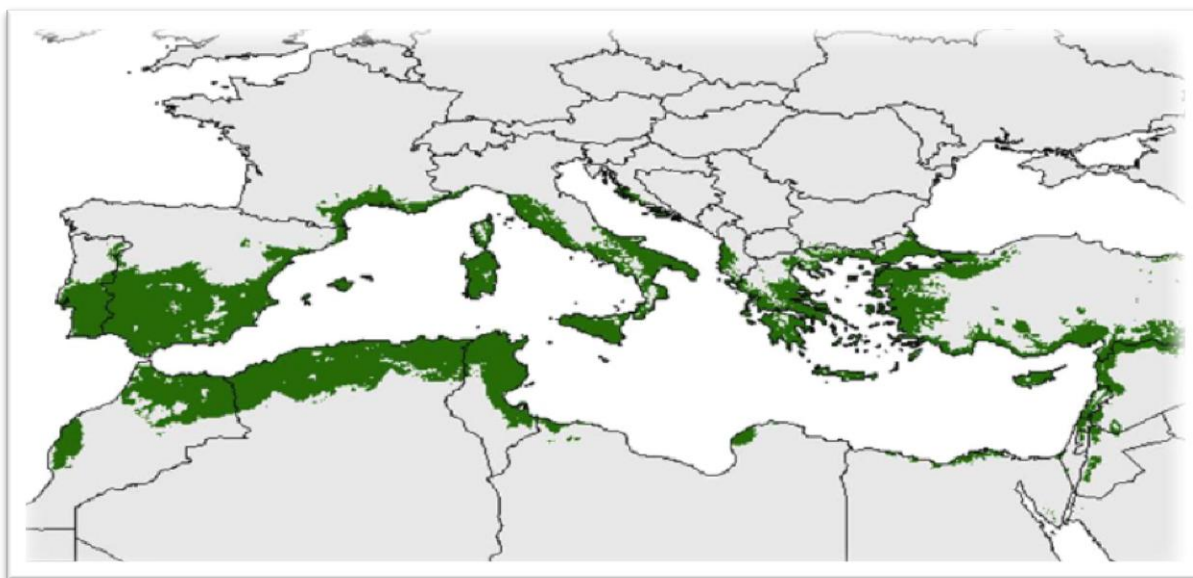
Une forte luminosité est nécessaire à l'olivier pour la différenciation des bourgeons à fleurs et la croissance des pousses. En effet, les fruits se trouvent généralement à la surface de la frondaison dans la plupart des cultures. La fructification se fait tous les deux ans dans toutes les conditions de croissance (**Lavee, 1997**).

## **II.3. Répartition géographique de l'olivier**

### **II.3.1. Répartition de l'olivier dans le monde**

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les attitudes 30 et 45 des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud.

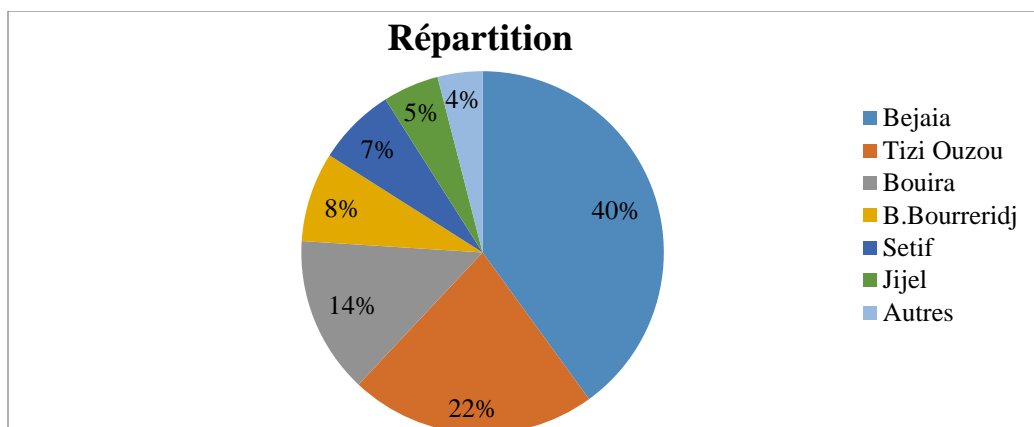
On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95 % des superficies oléicoles mondiales (**Lazzeri, 2009**).



**Figure 01** : Répartition géographique de l'olivier dans le bassin méditerranéen. (**Argenson, 2008**)

### **II.3.2. Répartition de l'olivier en Algérie**

La superficie totale du verger oléicole national s'élève, à environ 389 000 ha pour plus de 25 millions d'arbres (**Lamani et Ilbert, 2016**). L'oléiculture est concentrée exclusivement au niveau de 6 principales wilayas, trois wilayas de la région du Centre, qui représente plus de 50% de la surface oléicole nationale (Bejaia, Tizi-Ouzou, Bouira) et trois de la région Est (Bordj Bourreridj, Sétif et Jijel).



**Figure 02 :** Répartition de l'oléiculture en Algérie par régions (Hadjou et al 2013).

#### II.4. Principales variétés d'oliviers cultivés en Algérie

Les principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie sont présentées sur le **tableau 01**.

**Tableau 01 :** Orientations variétales de l'olivier en Algérie (Loussert et Brousse, 1978)

Variétés	Aire de culture	Importance	Observation
<i>Sigoise</i>	Ouest algérien (oran, Tlemcen)	25%	Très estimée pour la conservation et l'huilerie, rendement élevé en huile. Variété autofertile.
<i>Cornicabra</i>	Ouest Algérien (Oran, Tlemcen)	5%	Très bon pollinisateur de sigoise Originaire d'Espagne
<i>Sevillane</i>	Ouest Algérien (Plaine d'Oran)	3%	Très intéressante par le gros calibre des fruits
<i>Chemlal</i>	Centre Algérien Kabylie	10%	Huile très appréciée. Résiste en culture sèche. Inconvénients : autostérile. Floraison tardive
<i>Azzeradj</i>	Centre Algérien	15%	Très bon pollinisateur de <i>Chemlal</i>
<i>Bouchouk La Fayette</i>	Centre Algérien	2%	Intéressante pour la région de BOUGAA
<i>Boukhenfas</i>	Centre Algérien	2%	Donne les meilleurs résultats à la station de SIDI-AICH
<i>Limli</i>	Est Algérien	8%	Variété conseillée dans la région de Jijel à SIDI-AICH
<i>Blanquette</i>	Est Algérien	20% du verger	-
<i>Rougette</i>	Est Algérien	12%	-
<i>Neb Djmel</i>	Sud Est Algérien	5%	Variété des régions présaharienne
<i>Frontoio</i>	Centre et Est	1%	Variété italienne, bon pollinisateur de <i>Chemlal</i>
<i>Coratina</i>	Centre et Est	1%	Variété italienne très rigoureuse et très productive

## Rappel Bibliographique

<i>Longue de Miliana</i>	Centre et Ouest	5%	Très localisée dans la région de MILIANA
<i>Ronde de Miliana</i>	Centre et Ouest	5%	Très localisée dans la région de MILIANA
<i>Picholine marocaine</i>	Ouest du pays	30%	Très commune avec la <i>sigoise</i> (même caractère)
<i>Ascolana</i>	Ouest	-	Fertilité excellente et régulière. Bonne rusticité de l'arbre. Résiste au froid.
<i>Hamma de Constantine</i>	Est Algérien	-	Meilleure variété de la région constantinoise pour la conservation, nécessite des irrigations
<i>Bouricha</i>	Est Algérien (Collo-Oued El Kebir)	5 à 6 %	Cultivée dans les régions à forte pluviométrie
<i>Aberkane</i>	Région de Seddouk	-	Très estimée pour la conservation et l'huilerie

**NB** : on représente dans ce tableau, seulement les variétés les plus importantes. Cependant, une même variété peut avoir différentes dénominations suivant les régions (**Loussert et Brousse, 1978**).

### III. L'huile d'olive

#### III.1. Définition

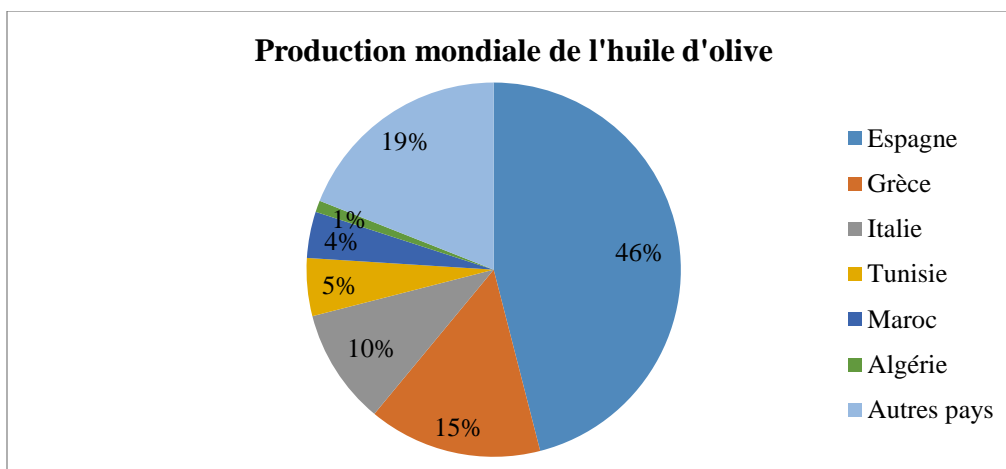
L'huile d'olive est un aliment précieux et sain, mais dans les temps anciens, son importance était également due à d'autres utilisations, telles que le combustible pour lampes, le traitement de la laine, la médecine et les cosmétiques, la production de savon...etc. (**Jain et Priyadarshan, 2009**).

L'huile d'olive est l'huile provenant seulement du fruit de l'olivier, à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des méthodes de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature, l'huile d'olive ne nécessite aucune étape de raffinage ni aucune transformation chimique (**COI, 2001**).

#### III.2. Production mondiale d'huile d'olive

Les quatre premiers pays producteurs de l'huile d'olive sont l'Espagne, la Grèce, l'Italie, et la Tunisie représentent 80% de la production mondiale d'huile d'olive et les dix premiers sont tous situés dans la zone Méditerranéenne (**COI, 2016**).

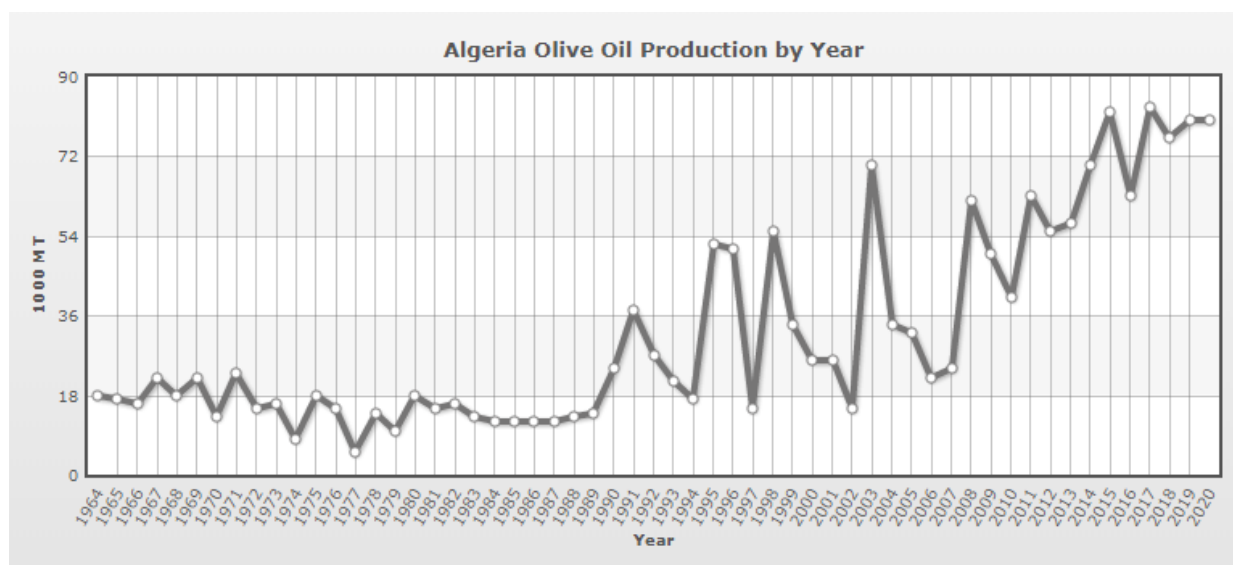




**Figure 03** : La production mondiale de l'huile d'olive (COI, 2016).

### III.3. Production d'huile d'olive en Algérie

L'Algérie appartient aux principaux pays méditerranéens qui sont favorisés par un climat des plus propices à la culture de l'olivier. Elle se classe derrière l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Tunisie qui sont par ordre d'importance, les plus gros producteurs de l'huile d'olive (Benrachou, 2013). L'Algérie fournit 1% de la production mondiale avec 62 000 tonnes répartie sur plusieurs régions de sa superficie (Barjol, 2014).



**Figure 04** : La production d'huile d'olive en Algérie par an ([indexmundi.com](http://indexmundi.com))

Avec une production d'environ 80 000 tonnes d'huile d'olive en 2017/2018, soit une augmentation de 27 % par rapport à la campagne antérieure, l'Algérie est le troisième pays

## Rappel Bibliographique

producteur d'huile d'olive d'Afrique du Nord. Sa superficie consacrée à la culture des oliviers est de 500 000 hectares, dont 150 000 sont cultivés en régime irrigué. Le pays a exercé la présidence du COI l'an dernier (COI, 2018).

### III.4. Composition biochimique d'huile d'olive

L'huile d'olive vierge est un système chimique complexe constitué de plus de 250 composés (Angerosa *et al* 2004 ; Aparicio *et al* 1994 ; Kiritsakis 1993) il joue un rôle important dans l'industrie agroalimentaire et est important en nutrition humaine pour plusieurs raisons. En premier lieu car les lipides sont la principale source d'énergie pour le corps humain en comparaison de leur masse. De plus l'intérêt pour les huiles d'olive a été accru depuis la découverte de leur richesse en vitamines liposolubles et en polyphénols qui sont des antioxydants. Elles sont également une source importante d'acides gras polyinsaturés essentiels car non synthétisables par le corps humain (Veillet, 2010).

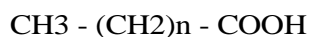
La composition chimique de l'huile d'olive dépend de la variété du fruit, de l'altitude, du degré de maturité des olives (Kalua *et al* 2007) de la région de culture, des conditions climatiques, ainsi que des conditions d'extraction et de stockage de l'huile (Gómez-Rico *et al* 2008). Comme toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est composée d'une fraction saponifiable (triglycérides) et d'une fraction insaponifiable (composants mineurs) (Ollivier *et al* 2004).

#### III.4.1. La fraction saponifiable

Cette fraction représente 99 % de l'huile d'olive. Elle est composée essentiellement de TG et AG (Violap, 1998).

##### 1. Les acides gras

Les acides gras sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle.



Les acides gras présents dans l'huile d'olive se trouvent sous forme d'ester de glycérol ou sous forme libre. Ce sont des monoacides linéaires à nombre pairs (majoritaires) et impairs d'atomes de carbone dont le nombre varie de 14 à 24. Leur chaîne aliphatique est soit saturée soit mono ou polyinsaturée. Ils se composent en moyenne de 72% d'acides gras mono insaturés, de 14% d'acides gras polyinsaturés et de 14% d'acides gras saturés (norme européenne). La

## Rappel Bibliographique

prédominance de l'acide oléique constitue la principale originalité de l'huile d'olive et lui confère les caractéristiques d'un corps gras mono-insaturé. (**Violap, 1998**).

Les acides gras insaturés, sont souvent référencés selon la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyle terminal.

Selon (**Benlemlih et Ghanam, 2012**), les acides gras présents dans l'huile d'olive sont :

L'acide palmitique, palmitoléique, stéarique, oléique, linoléique, linoléinique, arachidonique et myristique.

**Tableau 02** : Composition en acides gras de l'huile d'olive (**Gigon et Le Jeune, 2010**).

Acide gras	Symboles	Teneur (%)
Acide myristique	C 14 :0	≤0.05
Acide palmitique	C 16 :0	7,5-20
Acide palmitoléique	C16 :1n-7	0,3-3,5
Acide stéarique	C18 :0	0,5-5
Acide oléique	C18 :1n-9	55-83
Acide linoléique	C18 :2n-6	2,5-21
Acide α-linolénique	C18 :3n-3	≤1
Acide arachidonique	C20 :0	≤0,6

La composition en acides gras de l'huile d'olive joue un rôle important au niveau de sa qualité nutritionnelle, avec la présence en grande quantité d'acide oléique (AGMI). C'est l'importance de l'apport d'AGMI avec un taux d'acide oléique pouvant atteindre 83%, qui confère son originalité à l'huile d'olive, ainsi que ses vertus en termes de santé notamment au niveau des maladies cardiovasculaires (**Gigon et Le Jeune, 2010**).

### 2. Les triglycérides

Les triglycérides sont les véritables constituants des huiles d'olive vierge. Ils proviennent de l'estérification des trois fonctions alcools du glycérol par des acides gras. La présence d'une part des différents acides gras et d'autre part des trois possibilités d'estérification sur le glycérol conduit à un grand nombre de combinaisons possibles pour les triglycérides de l'huile d'olive.

Le triglycéride majoritaire d'huile d'olive est la trioléine (OOO) (**Abaza et al 2002 ; Rouas et al 2016**).

**Tableau 03 :** Composition en triglycérides de l'huile d'olive (Benitez-Sánchez et al 2003).

Nature Glycérides en %
OOO 40-59
POO 12-20
OOL 12.5-20
POL 5.5-7
SOO 3-7

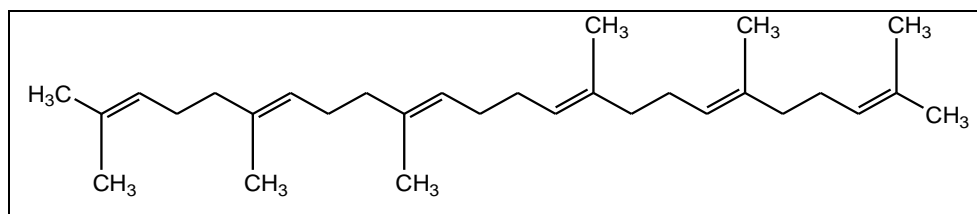
### III.4.2. La fraction insaponifiable

Cette fraction est dénommée également composants mineurs (0,4-1%). C'est l'ensemble des constituants d'un corps gras qui, après saponification, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants des graisses (Jacotot, 1993). Ces composants en faible quantité sont majoritairement responsables de la qualité gustative de l'huile, notamment au niveau de l'amertume, de l'arrière-goût poivré et /ou pimenté, et de sa stabilité (Šarolić et al 2014), Ils dérivent uniquement de fruits ayant subi un processus d'extraction physique (Dilis et Trichopoulou, 2009). Cette fraction est représentée par les composants suivants :

#### 1. Les hydrocarbures où le squalène

Le squalène est un terpène insaturé (isoprénoïde) (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>) largement distribué dans la nature. Il est prédominant, celui-ci est retrouvé en plus grande quantité dans les huiles d'olives que dans les autres huiles végétales (Fedeli, 1977 ; Kiritsakis et Markakis, 1988), C'est un intermédiaire dans la biosynthèse du cholestérol chez les animaux et des phytostérols chez les végétaux. Il compte plus de 90 % des hydrocarbures présents dans l'huile d'olive (Owen et al., 2000). Son taux dans l'huile d'olive est de 136 à 708 mg/100g (Manzi et al., 1998) et il est caractérisé par une stabilité élevée sous des conditions d'auto-oxydation et contribue ainsi à la stabilité de l'huile après exposition à la lumière (Grigoriadou et al., 2007).

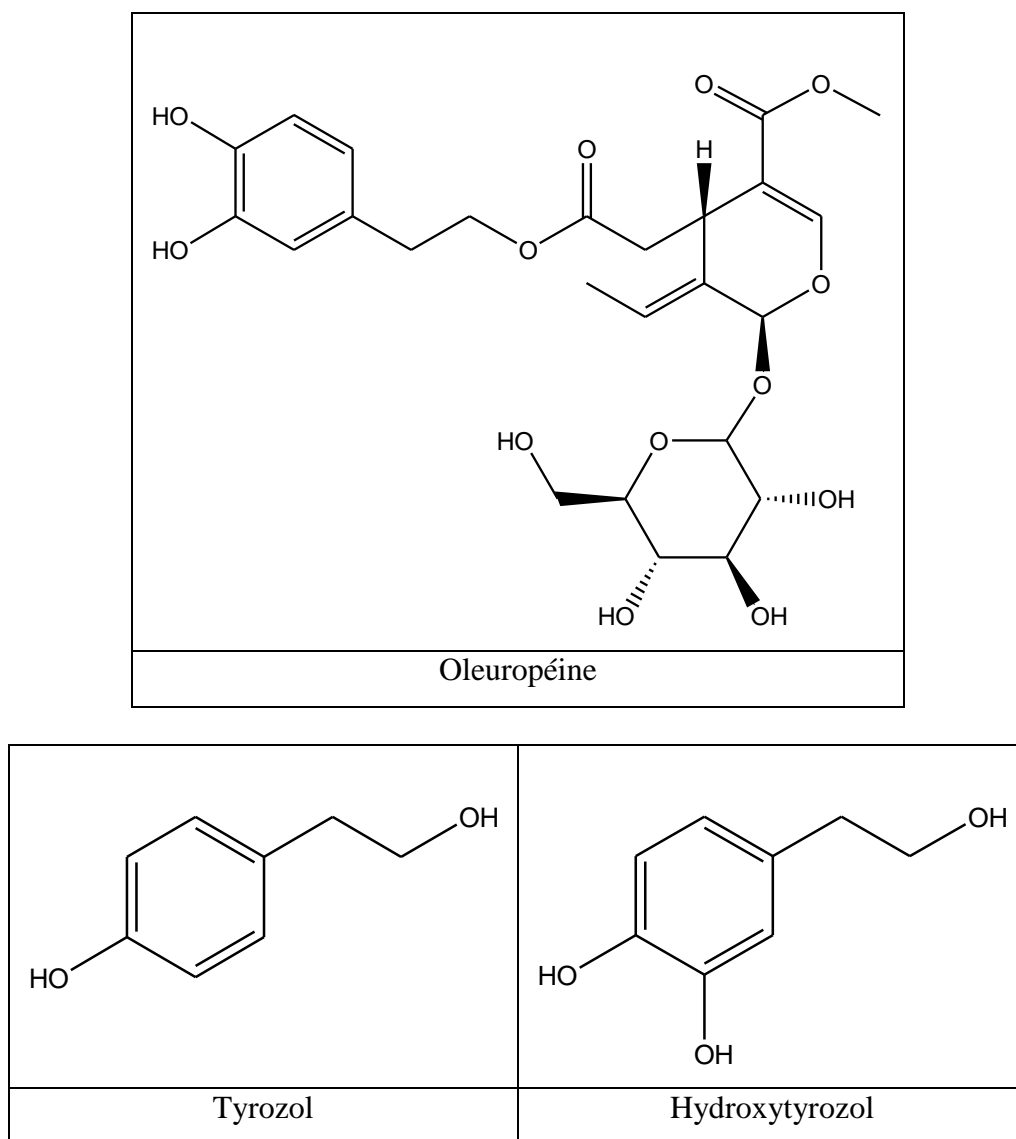
Outre le squalène, l'huile d'olive contient aussi d'autres hydrocarbures : le β-carotène (une provitamine A), mais en très faibles quantités (0,03 – 0,36 mg/100 g) (Kiritsakis, 1987).



**Figure 05 :** Structure générale d'un squalène (Samaniego-Sánchez et al 2010).

## 2. Les polyphénols

Les polyphénols, représentent la fraction polaire et sont généralement obtenus à partir de l'huile par extraction avec du méthanol-eau (**Boskou, 2000**). Les huiles d'olive vierges sont riches en composés phénoliques appartenant à diverse familles phénols et hydroxy phénols, acides et alcools phénols, sécoïridoïdes, lignanes, flavonoïdes (**Kiritsakis et Markakis, 1988 ; Ollivier et al 2004**) en particulier l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine qui possédant des propriétés anti oxydantes (**Talhaoui et al 2016**).



**Figure 06 :** Principaux composés phénoliques d'huile d'olive (**Ollivier et al 2004**).

## Rappel Bibliographique

Les polyphénols affectent fortement les propriétés sensorielles de l'huile d'olive vierge comme le goût amer et piquant typique et contribuent à la stabilité de l'huile d'olive vierge lutte contre l'auto oxydation (**Talhaoui et al 2016**). La quantité de polyphénols dans l'huile d'olive vierge varie en fonction de plusieurs facteurs tels que la zone géographique, les conditions agro climatiques, le degré de maturité des fruits (**Talhaoui et al 2016**).

### 3. Les pigments colorants

La couleur de l'huile d'olive est le résultat des pigments (chlorophylles 80% et caroténoïdes 20%), leur teneur est influencée par le cultivar d'olive, l'indice de maturation, la zone de production, le système d'extraction et les conditions de stockage (**Luaces et al 2005 ; Benlemlih, et Ghanam, 2012**). Outre leur rôle de colorant dans l'huile, ces derniers présentent également des activités antioxydantes intéressantes (**Dimitrios, 2006**).

#### 3.1. Les chlorophylles

Les chlorophylles sont les pigments les plus abondants dans la nature. Ils sont responsables de la nuance verdâtre de l'huile d'olive dont les taux varient en dépend des facteurs génétiques et du stade de maturation des fruits (**Baccouri et al 2008**). La chlorophylle est présente dans l'huile d'olive sous ses formes dégradées comme la Phéophytine.

En présence de la lumière, la chlorophylle et ses dérivés sont dotés d'un pouvoir photo sensibilisateur, alors qu'à l'obscurité elle possède une activité antioxydante.

C'est l'une des raisons pour lesquelles il est conseillé de conserver l'huile d'olive à l'abri de la lumière (**Guirda et al 2005**). Les pigments ont également un caractère antioxydant dans l'obscurité et prooxydant dans la lumière et semblent jouer un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile au cours de son stockage (**Oueslati et al 2009**).

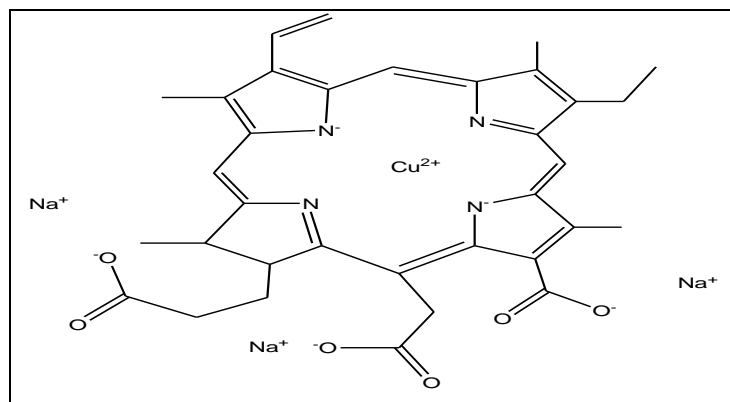


Figure 07 : Structure de chlorophylle (Willows et al 2013).

### 3.2. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des molécules tétraterpéniques caractérisées par une longue chaîne carbonée à double liaisons conjuguées. Ils sont responsables des colorations rouge, orange et jaune des fruits et légumes, et présentent également une activité provitaminique (Çinar, 2004) et antioxydante (Giuffrida et al 2007). Leur concentration dans l'huile d'olive est liée à la variété d'olive (Manai-Djebali et al 2012), au degré de maturité du fruit et au procédé d'extraction de l'huile (Inarejos-García et al 2011). Les caroténoïdes les plus abondants de l'huile d'olive sont le  $\beta$ -carotène (Provitamine A) et la lutéine (Boskou, 2000).

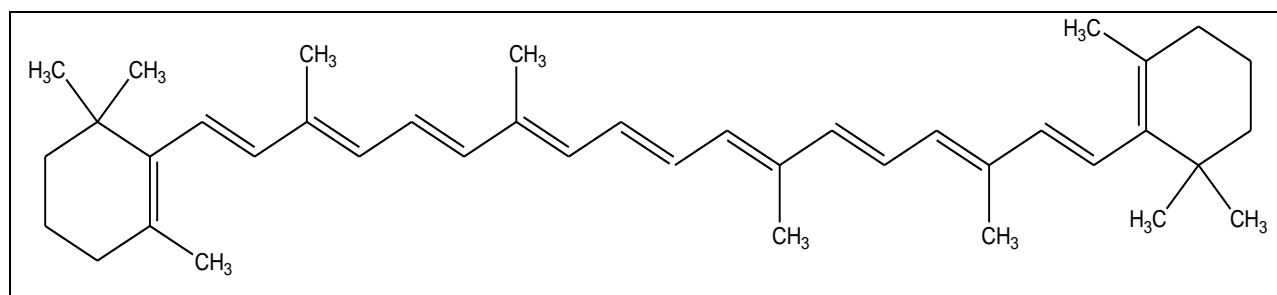


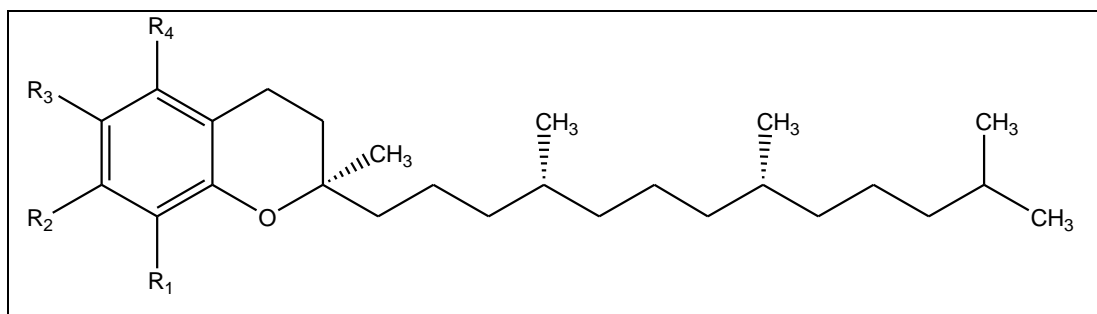
Figure 08 : Structure chimique du  $\beta$ -carotène. (Britton, 1995)

### 4. Les Tocophérols

Les tocophérols sont reconnus pour leur double action bénéfique. En effet ils ont tout d'abord l'atout d'être une vitamine liposoluble (vitamine E) et ils ont également une forte activité anti oxygène (Burton et Ingold, 1986), ils protègent essentiellement contre l'oxydation des acides gras polyinsaturés et bloquent l'accumulation des radicaux lipidiques qui sont réduits dès leur formation (Kamal-Eldin et Andersson, 1997).

## Rappel Bibliographique

La molécule de tocol constitue la structure de base des tocophérols, elle est constituée d'un noyau hydroxychromane sur lequel est fixée une chaîne phytyle entièrement saturée (**Haddam et al 2014**). La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable (**Dimitrios, 2006**). L' $\alpha$ -tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols, Cette forme possède la plus forte activité vitaminique et est la plus active. Elle s'oppose au rancissement et à la polymérisation de l'huile, et protège contre les mécanismes athérogènes. (**Sherwin, 1976**), mais on trouve également un peu de beta et gamma tocophérols, alors que le delta tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces (**Psomiadou et al 2000 ; Schwartz et al 2008**), l'action de l' $\alpha$ -tocophérol ne devient effective dans l'huile d'olive que lorsque la fraction phénolique polaire est réduite et que les produits primaires d'oxydation ont atteint un certain seuil (**Tekaya et Hassouna, 2007**).



**Figure 09 :** Structure générale d'un tocophérol (**Burton et Ingold, 1986**).

**Tableau 04 :** structure des tocophérols (**Burton et Ingold, 1986**).

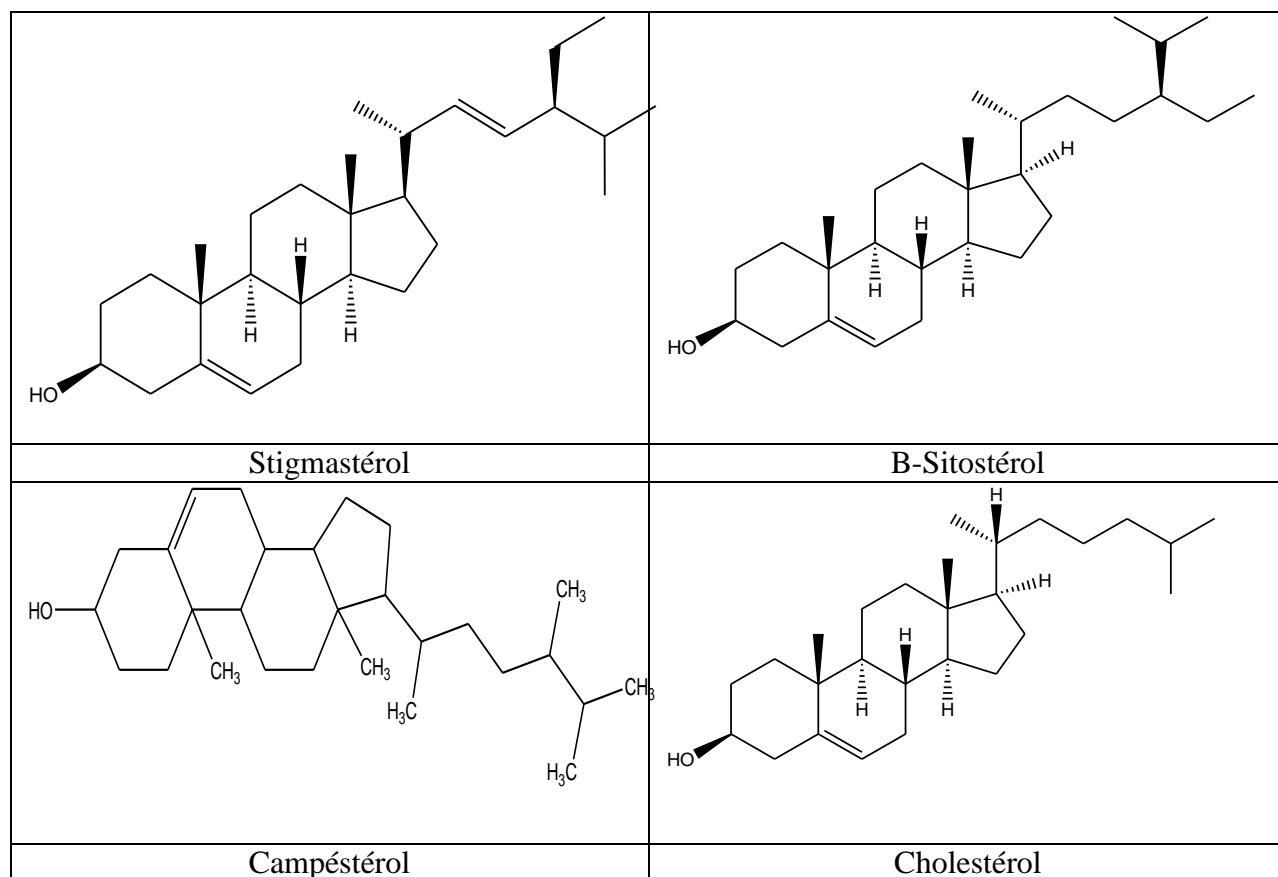
Structure	R1	R2	R3	R4
Alfa-tocophérol	CH3	CH3	OH	CH3
Béta-tocophérol	CH3	H	OH	CH3
Gama-tocophérol	CH3	CH3	OH	H
Delta-tocophérol	CH3	H	OH	H

## 5. Les stérols

Les stérols sont des constituants essentiels des membranes cellulaires on les trouve aussi bien chez les animaux que chez les végétaux. Tous les stérols ont en commun le même noyau et ils diffèrent par leurs chaîne latérale (**Verleyen, 2002**).



## Rappel Bibliographique



**Figure 10** : Structure des principaux stérols de l'huile d'olive (Verleyen, 2002).

Les stérols se trouvent dans l'huile d'olive sous forme libre ou estérifiée avec les acides gras et représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable (Aparicio et Luna 2002 ; Morchio *et al* 1987). La quantité totale des stérols dans l'huile d'olive extra vierge varie de 113 à 265 mg/100 g (Joaquin et Carmen, 2002).

Parmi les facteurs qui influent cette teneur, figurent : la variété des olives et leur degré de maturité (Haddam *et al* 2014). Dans l'huile d'olive, le principal stérol est le  $\beta$ -sitostérol qui a une action anti carcinogène (Awad *et al* 1998 ; Awad et Fink, 2000).

Ci-dessus, le **tableau 05** qui représente les principaux stérols de l'huile d'olive :

**Tableau 05** : Composition d'huile d'olive en stérols (% des stérols totaux) (Uzzan, 1992).

Stérols	% des stérols totaux
$\beta$ -Sitostérol	75-90
$\Delta$ -5 avénastérol	3-14
Campestérol	2-4
Stigmastérol	1-2
Cholestérol	<0.3

## 6. Les alcools

### 6.1. Les dialcools triterpéniques

La fraction insaponifiable de l'huile d'olive contient deux composés alcooliques triterpéniques pentacycliques : l'erythrodiol et l'uvaol. La détermination de ces deux composés peut être utile pour la détection de l'huile de grignon dans l'huile d'olive vierge (Casas *et al* 2004).

D'après la réglementation CE, le taux de l'erythrodiol + uvaol ne doit pas excéder 4.5% pour une huile d'olive vierge (Figure 11).

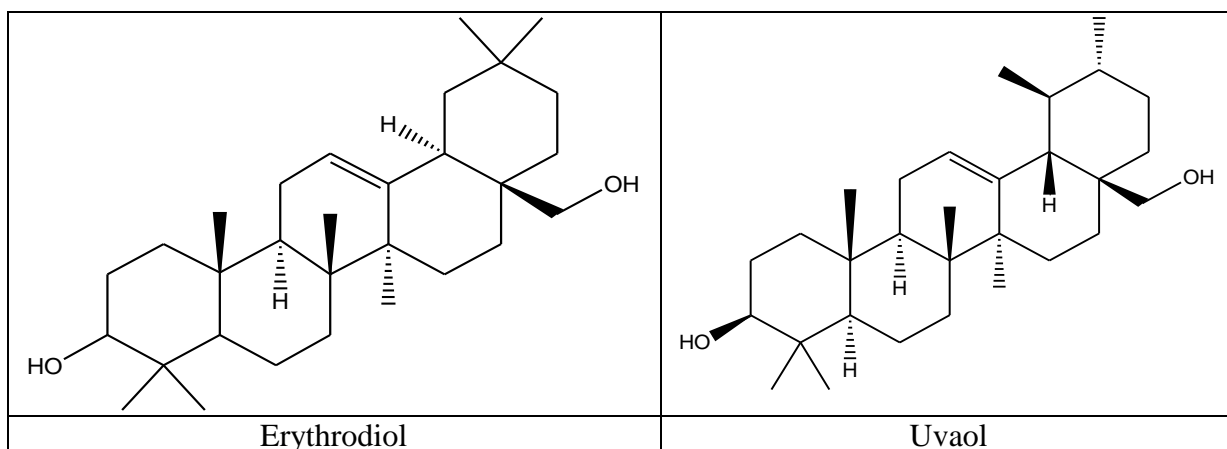


Figure 11 : Principaux dialcools triterpéniques de l'huile d'olive (Tsimidou *et al* 2003).

### 6.2. Les alcools terpéniques

La présence d'alcools cycliques dans l'huile d'olive se limite à des taux très faibles (généralement inférieur à 5 ppb). Ils sont présents dans l'huile d'olive à l'état libre ou estérifiés avec les acides gras. Parmi eux, le cycloarténol revêt un intérêt particulier : il augmente l'excrétion des acides biliaires, favorisant ainsi l'élimination fécale du cholestérol. (Jacotot, 1993).

### 6.3. Les alcools tri terpéniques

Le composant dominant de cette famille est le 24-méthylène-cycloarthénol. Il y a aussi le cycloarthénol et la bêta-amirine. Le premier triterpène synthétisé chez l'olivier est le cycloarthénol qui est obtenu suite à une cyclisation du squalène. (López-López *et al* 2008).

### 6.4. Les alcools aliphatiques

## Rappel Bibliographique

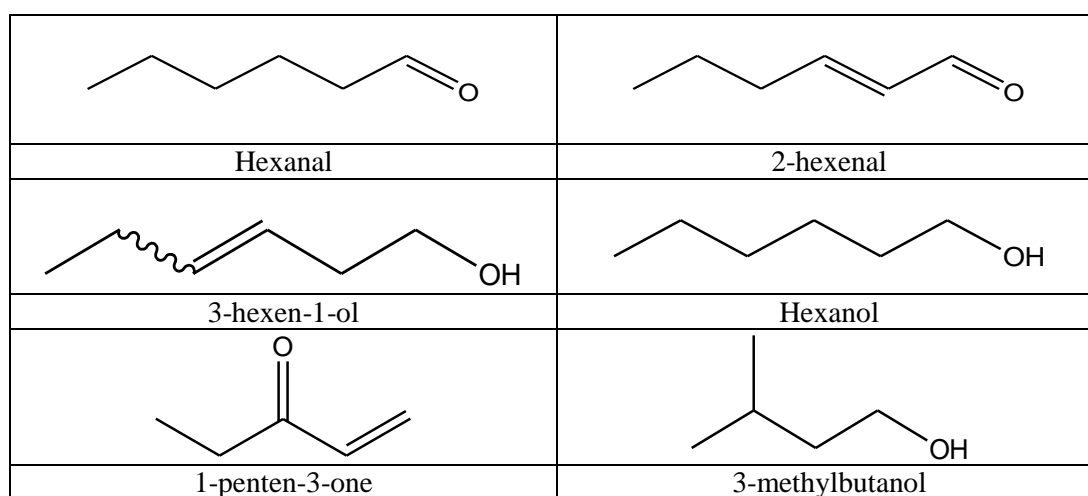
Les alcools aliphatiques les plus importants rencontrés dans l'huile d'olive sont le Docosanol C22, tetracosanol C24 et hexacosanol C26. Selon les auteurs (**Del Alamo et al 2004 ; López-López et al 2008**) le mode d'extraction des huiles influence fortement la teneur en alcool.

### 7. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 300 Da) possèdent une volatilité à température ambiante (**Angerosa, 2002**). On estime que plus de 70 molécules composent la fraction volatile des huiles d'olives. Ces composés se développent après extraction de l'huile à partir des fruits d'olives (**Kiritsakis, 1998 ; Kalua, et al 2007**) Parmi ceux-ci figurent des produits de dégradation d'acides gras insaturés comme les aldéhydes (notamment hexanal, nonanal, 1-hexanol ou 2,4-décadienal). De plus, des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, des alcools, des cétones, des éthers, des esters ainsi que des furanes et des dérivés thioiterpéniques contribuent de manière notable à l'odeur et à la saveur de l'huile (**Assmann et Wahrburg, 1999**).

D'une manière générale, les enzymes endogènes présentes dans l'olive, vont dégrader les acides gras par des voies de lipoxygénases et ces produits de dégradation vont être associés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olive (**Venkateshwarlu et al 2004**). La teneur en ces composés est influencée par le cultivar, la maturation des fruits et le système d'extraction ainsi que la durée de stockage (**Kalua et al 2007**).

Les principaux composés volatils sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 12** : Structure chimique des composés volatils majoritaires de l'huile d'olive (**Veillet, 2010**).

## **IV. Activité antioxydante**

### **IV.1. Le stress oxydant**

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défenses antioxydantes, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydantes. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques).

L'accumulation des espèces oxygénées réactives a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines les lipides et l'acide désoxyribonucléique (**Smirnoff, 2005**).

### **IV.2. Les radicaux libres**

#### **IV.2.1. Définition**

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (**Jacotot, 1993**). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives de l'oxygène (**Favier, 2003**). L'oxydation est l'un des processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants (**Bubonja-Sonje et al 2011**) mais ils peuvent également être produits par fission homolytique, c'est-à-dire par rupture symétrique d'une liaison covalente, à l'issue de laquelle chaque atome conserve un électron (**Jungbluth, 2008**).

Ces radicaux causent des dégradations majeures dans les macromolécules et l'acide nucléique (**Bubonja-Sonje et al 2011**). Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés (**Bonnefont-Rousselot et al 2003**) :

- Addition d'un électron libre à un non radical ( $NR + e^- \rightarrow R^\cdot$ ).
- Perte d'un électron par un non radical ( $NR - e^- \rightarrow R^\cdot$ ).
- Scission homolytique d'une liaison covalente ( $A : B \rightarrow A^\cdot + B^\cdot$ )

## Rappel Bibliographique

Le caractère radicalaire de ces espèces leur confère généralement une grande instabilité énergétique. En effet, elles ont tendance pour satisfaire à la règle de l'octet, à revenir à leur état stable en captant un électron pour combler leur orbitale, à partir d'une molécule (espèce non radicalaire) ou d'un autre radical libre (**Jungbluth, 2008**).

### IV.2.2. Nature des radicaux libres

#### 1. Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

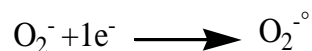
Espèces réactives de l'oxygène (ERO) est un terme qui englobe toutes les molécules hautement réactives contenant de l'oxygène, y compris les radicaux. Les types de ERO comprennent le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\circ$ ), le radical anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\circ-}$ ), peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ), radical d'oxyde nitrique (NO), radical hypochlorite et divers lipides peroxydes. Ils sont tous capables de réagir avec les lipides membranaires, acides nucléiques, protéines et enzymes et autres petites molécules, entraînant des dommages cellulaires (**Mohammed et al 2015**).

Les ERO sont générés par un certain nombre de voies (**Mohammed et al 2015**) :

- Une conséquence du métabolisme aérobie normal : environ 90% de l'oxygène utilisé par la cellule est consommé par le système de transport d'électrons mitochondrial
- Explosion oxydative des phagocytes (globules blancs) partie du mécanisme par lequel les bactéries et les virus sont tués et par lesquels les protéines étrangères (antigènes) sont dénaturées.
- Métabolisme xénobiotique, c'est-à-dire désintoxication des substances toxiques substances.

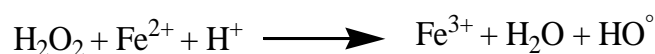
#### 2. L'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\circ-}$ )

C'est l'une des premières ERO à être formées et l'espèce la plus couramment générée par la cellule. Il est formé après réduction d'une molécule d' $\text{O}_2$  par un électron et en présence d'un cofacteur NADPH. Les enzymes qui permettent cette réaction sont : la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, les cyclo-oxygénases ou COX, les lipo-oxygénases, les oxyde nitrique synthases NOS (Nitric Oxyde Synthases), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et celles de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie (**Cai et Harrison, 2000**).



### 3. Le radical hydroxyle (HO<sup>•</sup>)

Il est produit principalement à partir de l'anion superoxyde ou du peroxyde d'hydrogène en présence d'ions ferreux. C'est le radical le plus toxique et le plus réactif. Il peut oxyder tous les acides aminés mais est plus réactif avec les acides aminés soufrés et aromatiques (**Libbey, 2007**). Il est capable d'inhiber certaines enzymes. Le radical hydroxyle réagit aussi avec l'ADN, ce qui va altérer sa structure et entraîner des mutations. Il participe également aux réactions de peroxydation lipidique (**Gardès-Albert et al 2003**).

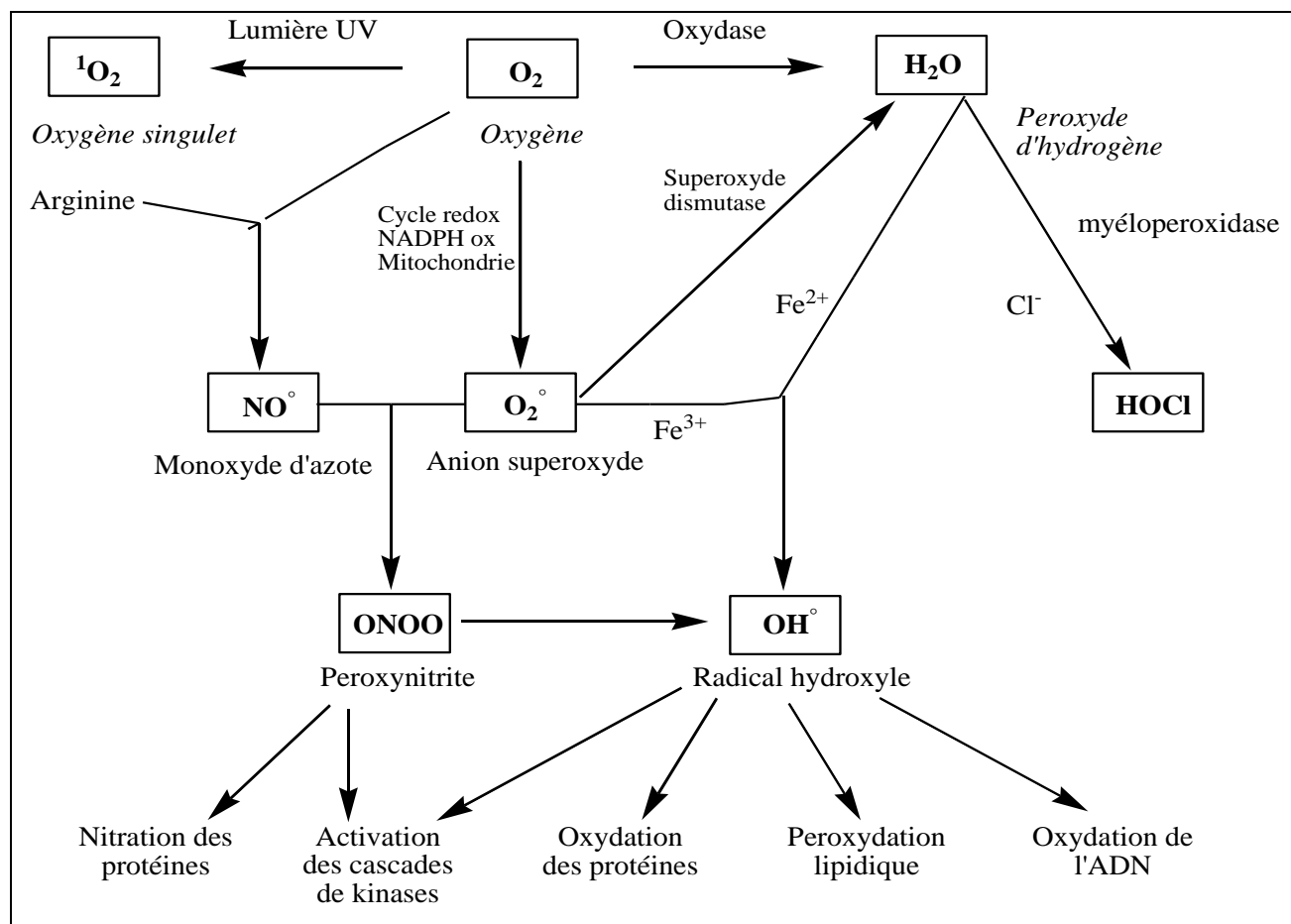


Il est certainement l'ERO la plus destructrice pour la cellule et ses composants. Malgré une durée de vie très brève et l'impossibilité pour lui de franchir les membranes, il possède une très grande réactivité liée à un potentiel oxydant très élevé (**Bonnefont-Rousselot et al 2003**).

### 4. L'oxyde nitrique (NO<sup>•</sup>)

L'oxyde nitrique est un gaz qui diffuse bien à travers les membranes. Il est synthétisé par l'enzyme oxyde nitrique synthase (NOS) à partir de l'O<sub>2</sub> et l'acide aminé L arginine. Il n'est vraiment délétère pour la cellule que lorsqu'il est présent en quantité importante et qu'il génère ainsi une autre ERO : le peroxynitrite NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. (**Favier, 2003**).



**Figure 13** : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie. D'après (Favier, 2003).

### IV.3. Les antioxydants

#### IV.3.1. Définition

Le mot « *antioxydant* » est utilisé généralement, pour n'importe quel agent chimique qui inhibe l'attaque par l'oxygène ou l'ozone (Bonnefont-Rousselot et al 2003). HALLIWELL (1995) a donné une définition large du terme antioxydant : « toute substance qui, présente à faible quantité comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient d'une manière significative l'oxydation de ce substrat ». Appliqués aux huiles végétales, les antioxydants sont des composés qui interrompent le processus d'oxydation en réagissant préférentiellement avec les radicaux libres pour former d'autres radicaux plus stables et protègent certaines vitamines (Moore et al 2001).

Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères (Valko et al 2006) :

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres.

## Rappel Bibliographique

- Chélater des ions de métaux de transition ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^+$ ) d'importance biologique capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton.
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer.
- Avoir un effet positif sur l'expression génique.
- Être rapidement absorbé.
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques.
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

### IV.3.2. Utilisation des antioxydants

Les antioxydants sont utilisés dans plusieurs domaines à savoir : (**Valko et al 2006**)

- **Dans l'industrie chimique** : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation,
- **Dans l'industrie agro-alimentaire** : pour éviter le rancissement des corps gras,
- **Dans l'industrie teinturerie** : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture.

### IV.3.3. Mécanismes d'action des antioxydants

En règle générale, les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre :

- Le piégeage direct des ERO ou l'effet scavenger,
- La protection des systèmes de défense antioxydants (en majorité des systèmes enzymatiques),
- L'inhibition ou l'activation d'enzymes impliquées dans la protection des ERO (**Halliwell, 1994 ; Bouzid et al 2011**).

### IV.3.4. Les type d'antioxydants

#### 1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**Mika et al 2004**) :

- **Le superoxyde dismutase (SOD)** : accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, il existe plusieurs isoenzymes de SOD : SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD)] (**Piquet et Hébuterne, 2007**).



## Rappel Bibliographique

- **La catalase** : présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Piquet et Hébuterne, 2007**).

- **La glutathion peroxydase (GPx)** : La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydroperoxyde résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) (**Piquet et Hébuterne, 2007**).

### 2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

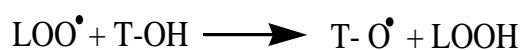
Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité.

Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**Wang et al 2003**).

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les composés phénoliques. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

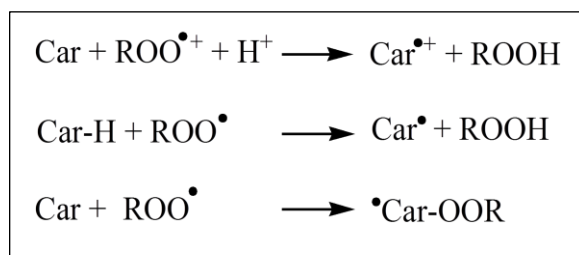
- **La vitamine c** : ou l'acide ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (**Retsky et al 1999**) Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AsC<sup>-</sup>) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle (AsC<sup>-</sup>), stabilisé par résonance. (**Valko et al 2006**).

- **La vitamine E** : est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols. Ce sont de bons antioxydants alimentaires, Elle prévient l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux LOO<sup>•</sup> (**Kaiser et al 1990 ; Yoshida et al 1993**) la vitamine E agit sur les radicaux LOO<sup>•</sup> Selon la réaction suivante :



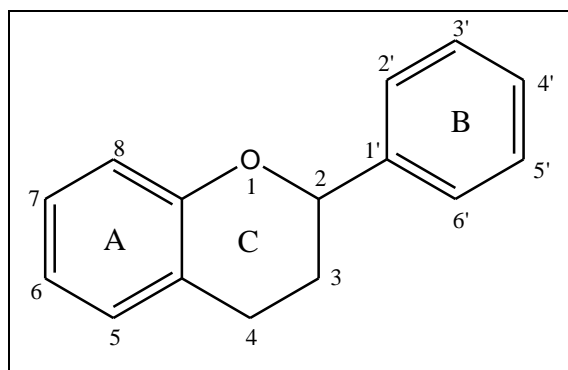
## Rappel Bibliographique

- **Les caroténoïdes** : sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux  $\text{ROO}^\bullet$ ,  $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{O}_2^\bullet$ ,  $\text{R}^\bullet$  par simple addition électrophile et transfert d'électron (**Figure 14**). Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (**Valko et al 2006**).



**Figure 14** : Mécanismes traduisant l'activité antioxydante des caroténoïdes, cas des  $\text{ROO}^\bullet$

- **Les composés phénoliques** : En particulier les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisées par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane (**Figure 15**).



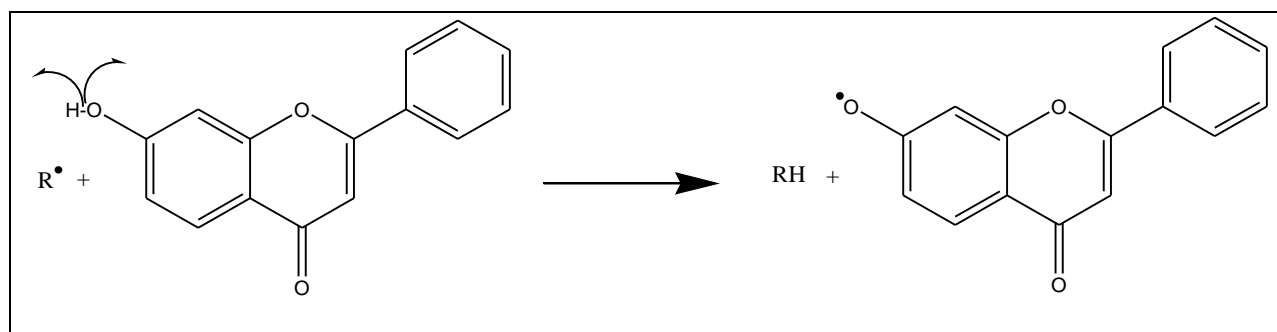
**Figure 15** : Structure chimique de la 2- phénylbenzopyrane. (**Rubio et al 2006**).

Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (**Figure 16**) (**Schroeter et al 2002** ; **Leopoldini et al 2011**).

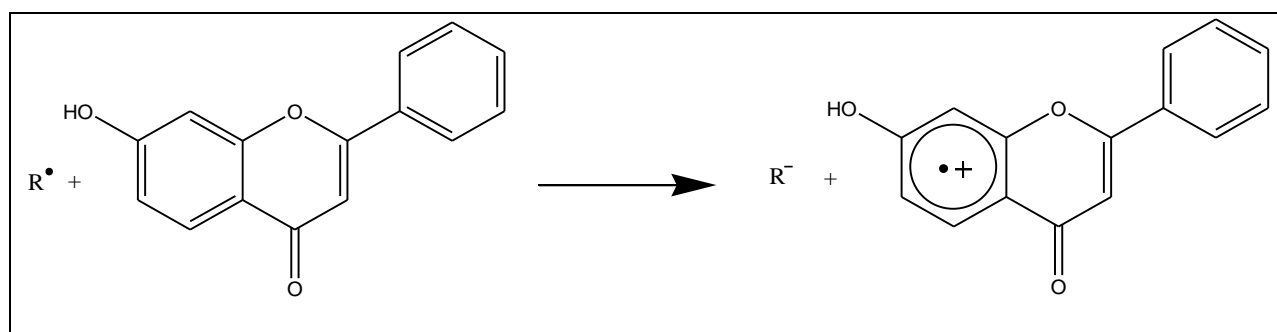
De façon générale, l'activité biologique des flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier du nombre de groupements hydroxyles (**Schroeter et al 2002**).

## Rappel Bibliographique

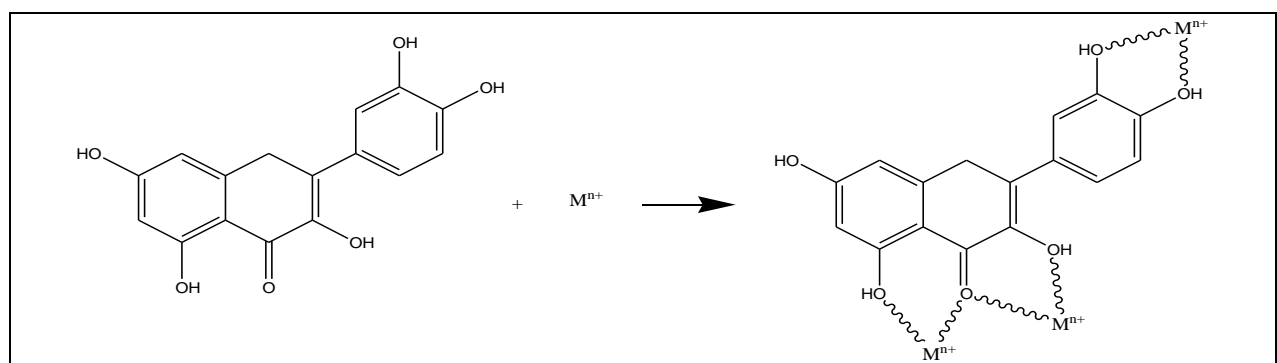
### Transfert de proton (HAT)



### Transfert d'électron (SET)



### Chélation des ions métaux de transition



**Figure 16 :** Mécanismes d'action antioxydante des composés phénoliques (Leopoldini et al 2011).

#### IV.4. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive

Les propriétés nutritionnelles et les bienfaits de l'huile d'olive sur la santé ont fait l'objet de beaucoup de recherches ces derniers temps, bien que de nouvelles recherches reconnaissent et confirment tous les jours les vertus de ce produit, il reste encore beaucoup à découvrir à son sujet.

Les auteurs **Keys A et al (1986)** ; **Jacotot (1997)** et **Kratz et al (2002)** ont montré que les acides gras mono-insaturés ont une influence sur le métabolisme des lipoprotéines de haute

## Rappel Bibliographique

densité qui ont un effet protecteur contre l'athérosclérose. En effet, ces lipoprotéines sont impliquées dans la captation du cholestérol cellulaire. L'huile d'olive riche en acides gras mono-insaturés, est responsable des bienfaits cardiovasculaires, elle diminue la sécrétion acide de l'estomac et l'acide oléique permet aussi d'améliorer l'absorption intestinale de calcium et de la vitamine D (**Henry, 2003**).

Des études réalisées en Grèce et à Harvard ont mis en évidence une réduction de plusieurs types de cancers lors de la consommation d'huile d'olive tels que : le cancer du sein et du colon, cela grâce à sa forte proportion en AGMI et un taux élevé d'antioxydants (**Kratz et al 2002 ; Llor et al 2003**).

**Henry (2003)** a constaté que le remplacement d'acides gras saturés par des acides mono ou polyinsaturés ( $\omega 6$ ) pouvait réduire significativement le taux de LDL. Néanmoins, tous les effets bénéfiques de la consommation de l'huile ne sont pas dus qu'à l'acide oléique. D'autres composants secondaires de l'huile d'olive ont des effets bénéfiques sur la santé comme l'oleuropéine et le tyrosol qui inhibent l'oxydation *in vitro* des LDL ainsi que les composés phénoliques qui sont des antioxydants exogènes. En effet, leur activité antioxydante a deux effets principaux :

- Ils protègent l'huile de l'oxydation (donc augmentent sa durée de vie).
- Ils préviennent le développement de certaines maladies.

Des études cliniques (**Rotondo et al 2000 ; Motard-Bélangier et al 2008**) ont montré que l'alimentation méditerranéenne traditionnelle, dans laquelle l'huile d'olive a une place importante, jouait un rôle majeur dans la prévention des facteurs de risques des maladies cardiovasculaires, telles que dyslipidémies, hypertension et diabète. D'un autre côté, **Beauchamp G et al (2005)** ont mis en évidence la présence dans l'huile d'olive vierge d'agents naturels qui auraient un rôle d'anti-inflammatoire sur l'organisme.

Par ailleurs, l'huile d'olive joue un rôle important dans l'augmentation de l'espérance de vie à cause de sa richesse en vitamine E qui joue un rôle biologique positif pour déplacer les radicaux libres, molécules impliquées dans certaines maladies chroniques et dans le processus de vieillissement. La consommation d'huile d'olive protège les individus contre la détérioration des

## Rappel Bibliographique

fonctions cognitives provoquée par le vieillissement et contre la perte de mémoire liée à l'âge. (**Lamuela-Raventós et al 2004**).

Les propriétés digestives de l'huile d'olive ont conduit à son utilisation dans le traitement des troubles gastriques, biliaires, et de la constipation. La motricité gastrique est stimulée par les acides gras mono-insaturés comparativement à des acides gras saturés. En fait, les principaux effets digestifs de l'huile d'olive portent sur le fonctionnement biliaire : stimulation de la sécrétion hépatique de la bile par le foie (cholérétique) et des propriétés cholagogue (stimule la vésicule biliaire à se contracter et à déverser dans le duodénum) la bile indispensable à la digestion des lipides (**Jacotot, 1997 ; Charbonier et Richard, 1996**).

D'après **Charbonier et Richard (1996)**, la teneur élevée de l'huile d'olive en acide oléique lui permet d'être le mieux tolérée par l'estomac. Il est capable de diminuer la pression de sphincter inférieur de l'œsophage et il s'élimine le plus rapidement de l'estomac. C'est la matière grasse qui entraîne le moins de phénomènes de reflux gastro-œsophagien et de stase gastrique.

Il a été également montré par ces auteurs que l'absorption de l'huile d'olive permet d'abaisser considérablement l'acidité gastrique. C'est aussi un laxatif doux et présente donc des effets bénéfiques sur les gastrites hyper chlorhydriques et les ulcères gastroduodénaux.

L'huile d'olive revêt un intérêt sur le plan nutritionnel grâce à sa composition en acides gras d'une part et ses composés mineurs (hydrocarbures, stérols, tocophérols, composés phénoliques, phospholipides...) d'autre part. L'huile d'olive fournit des calories, comporte des composés entrant dans la structure membranaire des cellules (phospholipides) et véhicule des vitamines liposolubles. Les substances mineures confèrent à l'huile d'olive des propriétés thérapeutiques.

# Partie expérimentale

## I. But et objectif du travail

L'ensemble du travail a été réalisé au laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie (CRBt) Constantine. Différentes activités biologiques en été effectuées dans le but d'évaluer les activités antioxydantes et inhibitrices des enzymes des polyphénols dans les vingt-neufs extraits de l'huile d'olive vierge des variétés d'olives algériennes.

## II. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée durant la saison de récolte de décembre 2019. L'huile d'olive extraite à partir des différentes variétés d'olive a été utilisée dans ce travail, à savoir : *Chemlal*, *Sigoise*, *Blanquette*, *Rougette*, *Ferkane*, *Nebdjmel*, *Azzoradj*, *Limeli*, *Aaleth*, *Takesrit* et *Aimel*. La récolte a été effectuée sur différentes régions de l'Algérie, la carte topographique suivante résume les différents sites de récolte :



Figure 17 : Géographie des zones de prélèvement d'huile d'olive (Google map, 2020).

**Tableau 06** : Les 29 échantillons d'huile d'olive et leurs régions de récolte.

N° d'échantillon	Variété	Région de récolte	N° sur la carte
1	<i>Sigoise</i>	OUED SOUF	1
2	<i>Rougette</i>	OUED SOUF	1
3	<i>Sigoise</i>	SIDI-AICH	2
4	<i>Chemlal</i>	OUED SOUF	1
5	<i>Ferkane</i>	OUED SOUF	1
6	<i>Rougette de Metidja</i>	SIDI-AICH	2
7	<i>Sigoise</i>	BATNA	4
8	<i>Blanquette</i>	GUELMA	5
9	<i>Nebjmel</i>	HAMMA	6
10	<i>Sigoise</i>	HAMMA	6
11	<i>Azzoradj</i>	BOUIRA	7
12	<i>Chemlal</i>	BOUNOUARA	8
13	<i>Chemlal</i>	BOUIRA	7
14	<i>Chemlal</i>	TAZMELT	3
15	<i>Rougette</i>	TAZMELT	3
16	<i>Limeli</i>	SIDI-AICH	2
17	<i>Nebjmel</i>	JIJEL	9
18	<i>Chemlal</i>	ZIGHOUD	10
19	<i>Chemlal</i>	BATNA	4
20	<i>Nebjmel</i>	TAZMELT	3
21	<i>Chemlal</i>	KHENCHLA	11
22	<i>Sigoise</i>	BISKRA	12
23	<i>Chemlal</i>	BEJAIA	13
24	<i>Sigoise</i>	BOUIRA	7
25	<i>Aaleth</i>	SIDI-AICH	2
26	<i>Takesrit</i>	SIDI-AICH	2
27	<i>Aimel</i>	SIDI-AICH	2
28	<i>Nebjmel</i>	SIDI-AICH	2
29	<i>Rougette</i>	JIJEL	9

Les échantillons d'huile d'olive sont mis dans des flacons en verre foncé propres et secs muni de bouchon, et placé à l'abri de la lumière. Une étiquette est collée sur chaque flacon indiquant l'aire oléicole et le numéro de l'échantillon.



### III. Extraction des composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent la fraction polaire de l'huile d'olive et sont généralement obtenus par extraction liquide-liquide avec du méthanol 80% (Boskou, 2000), leur extraction repose sur l'affinité des polyphénols pour la phase méthanolique. Elle est réalisée selon la méthode décrite par (Ollivier et al 2004).

Brièvement, une quantité d'huile d'olive vierge a été dissoute dans un solvant MeOH / H<sub>2</sub>O dans une proportion de (80/20, v / v). Le mélange a été vortexé quelques minutes et centrifugé à 3800 rpm pendant 15 min. La fraction polaire (méthanolique) constituant le surnageant a été transférée dans une fiole jaugée. L'extraction a été répétée trois fois et les phases récupérées ont été mélangées. La phase méthanolique a été par la suite évaporé en utilisant un rotavapor à 40 C°, le résidu sec précipité dans la paroi de ballon récepteur a été solubilisé dans le méthanol pur, la solution a été en fin récupérée dans un eppendorf, ce dernier a été mis dans un évaporateur sous flux d'azote pour évaporer le méthanol.

Pour chaque activité une quantité de 4 mg a été pesé dans un eppendorf puis diluer dans 1 ml de méthanol. A partir de cette solution mère une série de 6 dilutions de 1/2 a été effectuée et utilisée pour évaluer les activités antioxydante et enzymatique dans des microplaques en tripliquât. Les absorbances sont ainsi mesurées à l'aide d'un lecteur de microplaque (EnSpire Multimode Plate Reader - PerkinElmer).



Figure 18 : Lecteur de microplaque.

## IV. Dosage des composés phénoliques totaux (TCP)

### IV.1. Principe

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965). Selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par (Müller et al. 2010). Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides qui sont l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux.

La quantité des polyphénols totaux dans les extraits a été déterminé à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax+b$ ), réalisée dans les mêmes conditions que celles des échantillons, en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure 19). Les concentrations en polyphénols totaux des extraits méthanoliques d'huile d'olive sont exprimées en  $\mu g$  d'EAG/g.

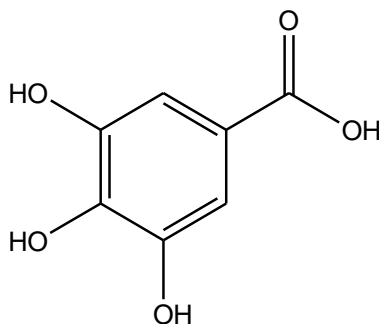


Figure 19 : Structure de l'acide gallique. (Fernandes et Salgado 2016)

### IV.2. Protocole expérimental

Une quantité de l'extrait convenablement dilué dans le méthanol est mélangée avec du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué) fraîchement préparé.  $Na_2CO_2$  à 7,5 % est par la suite ajoutée, le mélange est enfin homogénéisé puis incubé pendant une heure dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc (le même mélange excepté l'extrait qui est remplacé par de méthanol).

## V. Dosage des Flavonoïdes totaux

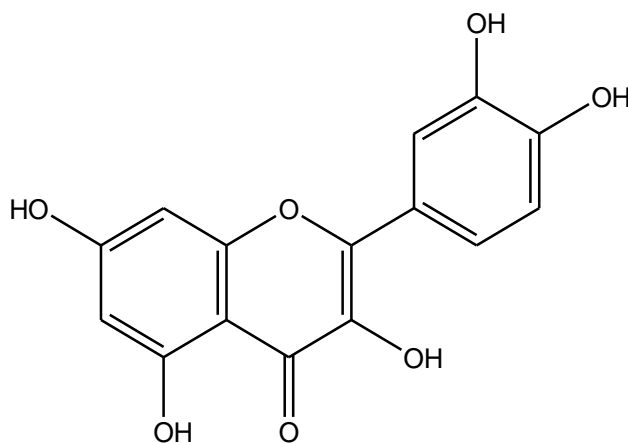
### V.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre  $Al^{+3}$  et les flavonoïdes. La méthode de **Topçu et al (2007)** est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

### V.2. Protocol expérimental

La méthode est décrite par **Moreno et al (2000)** avec de légères modifications, elle est adoptée pour mesurer la concentration des flavonoïdes dans les différents extraits.

Un volume de chaque extrait convenablement dilué dans le méthanol (l'extrait est remplacé par le méthanol dans le cas du témoin) est ajouté au méthanol, acétate de potassium et au nitrate d'aluminium. Après une incubation de 40 min à température ambiante, l'absorbance a été mesuré à 415 nm. La quercétine a été utilisée comme standard (**Park et al 1997**). Les concentrations de composés flavonoïdes ont été déterminé par extrapolation des absorbances sur la courbe de la quercétine (courbe étalon).



**Figure 20** : Structure de la quercétine (**Endale et al 2013**).

## VI. Evaluation de l'activité antioxydante

Quatre méthodes ont été utilisés pour évaluer la capacité antioxydante *in vitro* des extraits de 29 échantillons étudiées dans ce travail, il s'agit du pouvoir piègeur du radical cationique **ABTS<sup>+</sup>**, pouvoir piègeur du radical **DPPH<sup>+</sup>**, la capacité antioxydante par réduction du cuivre **CUPRAC** et du pouvoir réducteur du fer **RP**.

## Partie expérimentale

Cette étape constitue un tri préliminaire qui a pour but de déceler les extraits hydrométhanoliques des plantes à forte activité antioxydante.

### VI.1. Activité de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>

#### VI.1.1 Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre et stable de couleur violette. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote et absorbe au maximum à 517 nm, sa réduction par un donneur de protons (antioxydant), conduit à l'apparition d'une couleur jaunâtre qui sera suivie par spectrométrie UV-Visible (**Chandra Shekhar et Goyal, 2014**) Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont déterminés selon la formule suivante :

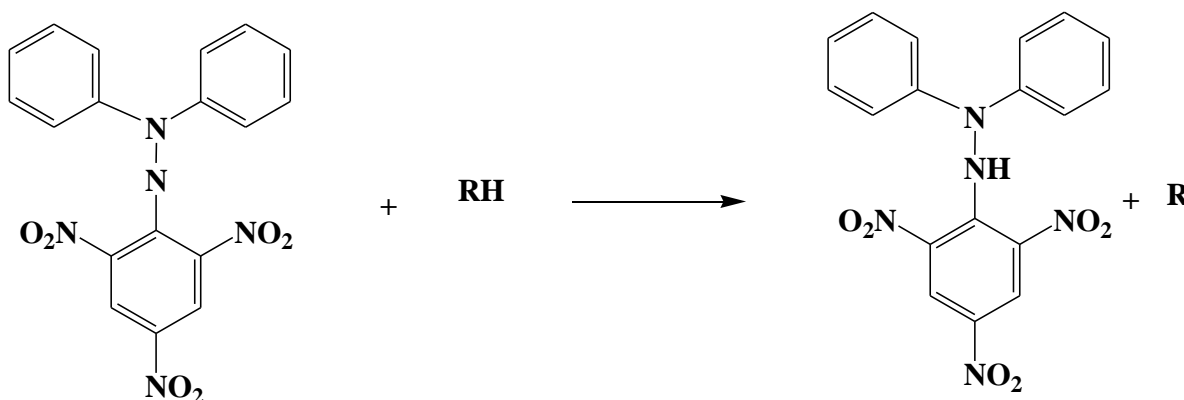
$$\text{Pourcentage d'inhibition du DPPH (\%)} = \frac{(\text{Ac} - \text{Ae})}{\text{Ac}} \times 100$$

**Tel que :**

Ac = Absorbance contrôle.

Ae = Absorbance de l'échantillon.

La concentration d'inhibition (IC<sub>50</sub>) qui est la concentration d'extrait ou de l'antioxydant de référence responsable de piégeage de 50% des radicaux DPPH<sup>•</sup> présents dans le milieu réactionnel, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH<sup>•</sup> en fonction des concentrations des extraits ou des antioxydants de référence (**figure 21**).



#### Transformation du radical DPPH<sup>•</sup> en DPPHH

**Figure 21** : Structure chimique du radical DPPH<sup>•</sup> et de sa forme réduite. (**Blois, 1958**).

### VI.1.2. Protocol expérimental

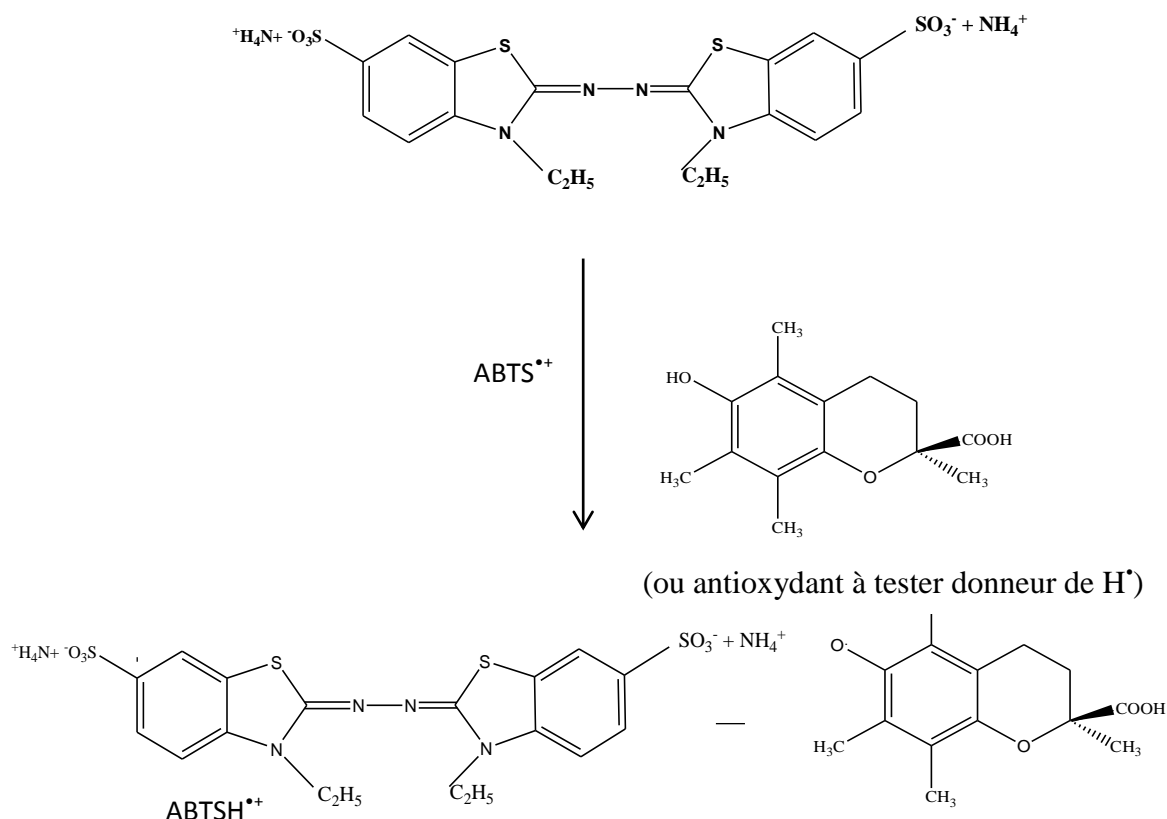
L'effet piègeur ou le pouvoir antiradicalaire des extraits des huiles d'olive étudiées vis-à-vis du radical DPPH $\cdot$  est évalué selon la méthode décrite par **Blois (1958)**. Une quantité de DPPH $\cdot$  a été dissoute dans un volume de méthanol et mélangé pendant 30 min à l'abri de la lumière. L'absorbance est ajustée par la suite à 0.5 pour une longueur d'onde de 517 nm.

Un volume de la solution de DPPH est mélangé avec chaque un des extraits à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

### VI.2. Activité de piégeage du radical ABTS $^{\cdot+}$

#### VI.2.1. Principe

Le composé radicalaire de l'acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS $^{\cdot+}$ ) est générée à partir de l'oxydation de l'ABTS avec du persulfate de potassium. Ce radical est réduit en présence d'antioxydants donneurs d'hydrogène.



**Figure 22** : Structure chimique du radical ABTS $\cdot$  et de sa forme réduite (**Re et al 1999**).

## VI.2.2. Protocole expérimental

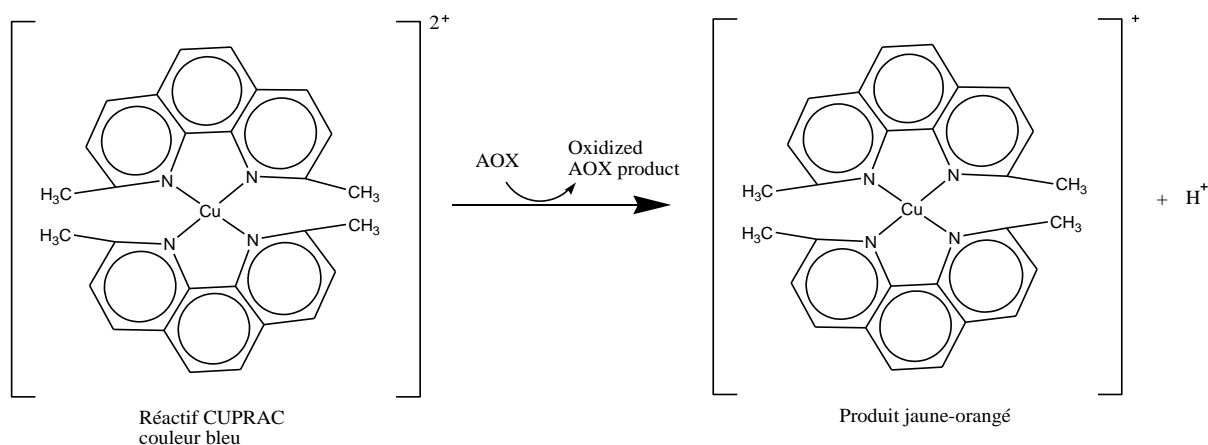
Le test ABTS est effectué selon la méthode décrite par **Re et ses collaborateurs (1999)**. La solution a été préparée en dissolvant l'ABTS<sup>+</sup> (7mM) et le persulfate de potassium (2.45mM) dans de l'H<sub>2</sub>O. Le mélange est incubé pendant 12-16 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à  $0.700 \pm 0.020$  à 734 nm juste avant l'utilisation de la solution.

L'activité antioxydante est évaluée en mélangeant la solution d'ABTS<sup>+</sup> avec les extraits, après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est ainsi mesurée à 734 nm.

## VI.3. La capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC

### VI.3.1. Principe

La capacité antioxydante par réduction du cuivre est déterminée par la méthode CUPRAC (**Apak et al 2004**). Ce test est basé sur les modifications des caractéristiques d'absorption du complexe néocuproïne (Nc) cuivre (II) lorsqu'il est réduit par un antioxydant. Le potentiel de réduction de l'échantillon ou de l'étalon convertit efficacement du Cu<sup>+2</sup> en Cu<sup>+1</sup>, changeant ainsi l'absorbance maximum, (**Figure 23**). Ce complexe de cuivre réduit présente une absorption maximale à 450 nm (**Özyürek et al 2011**).



**Figure 23** : Réduction de neocuproïne/copper (II) complexe (**Özyürek et al 2011**).

### **VI.3.2. Protocol expérimental**

Les solutions aqueuses d'acétate d'ammonium ( $\text{ACNH}_4$ ) et de chlorure de cuivre (II)  $\text{CuCl}_2$  ont été préparé en les dissolvant dans l' $\text{H}_2\text{O}$ . En parallèle une troisième solution du Neocupronine a été préparé dans du méthanol.

Dans une plaque de microtitration contenant les extraits à différentes concentrations, de l'acétate d'ammonium a été ajouté à une solution de chlorure de cuivre et de la neocupronine. Après une heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 450 nm.

### **VI.4. Le pouvoir réducteur**

#### **VI.4.1. Principe**

Les substances ayant un potentiel réducteur, réagissent avec le ferricyanure de potassium pour former le ferrocyanure de potassium, qui réagit à son tour avec le chlorure ferrique pour donner naissance à un complexe ayant une absorption maximale à 700 nm (**Jayanthi et Lalitha, 2011**).

#### **VI.4.2. Protocol expérimental**

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**. De ce fait, une quantité de chaque extrait est mélangé avec du tampon phosphate (0.2 M) à pH 6.6 et du ferricyanure de potassium [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] à 1%. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Après incubation, le TCA (acide trichloroacétique) à 10% est ajouté avec de l'eau distillée et une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 0,1%. L'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 700 nm contre un blanc qui contient tous les réactifs à l'exception de l'extrait.

### **VII. Evaluation de l'activité inhibitrice des enzymes**

#### **VII.1. Activité anti-cholinestérase**

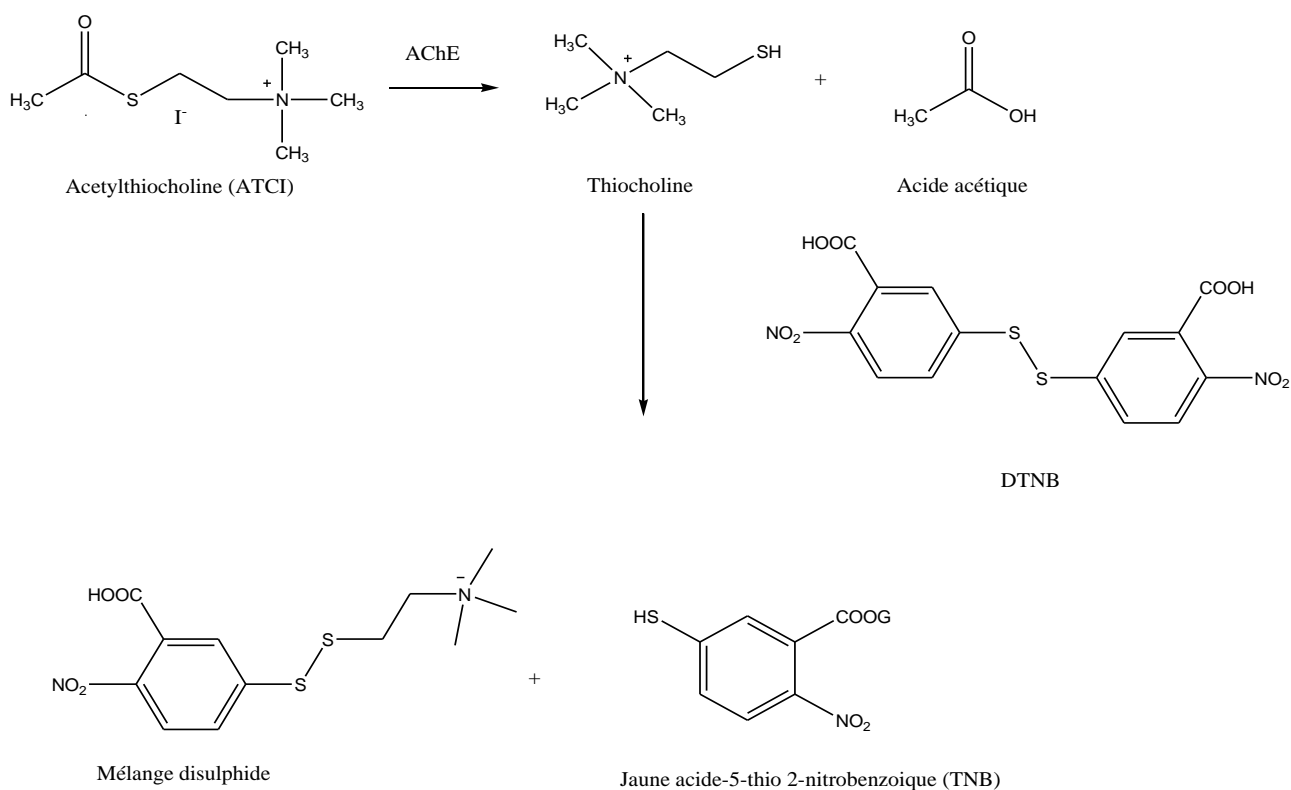
##### **VII.1.1. Principe**

La procédure d'**Ellman et al (1961)** Est couramment utilisée pour la détermination de l'activité anticholinestérase et également pour le contrôle de l'hydrolyse de l'ACH par l'acétylcholinestérase (AChE) ou la butyrylcholinestérase (BChE) *in vitro*.

Cette procédure colorimétrique est basée sur la réaction de la thiocholine (l'un des produits de l'hydrolyse enzymatique de l'acétylthiocholine (ATCh)) avec l'acide 5,5-dithiobis-2-

## Partie expérimentale

nitrobenzoïque (DTNB, réactif d'Ellman) formant un produit de couleur jaune (5-mercaptopropionique Acide 2-nitrobenzoïque et ses formes dissociées) à pH 8.



**Figure 24** : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman (Ellman *et al* 1961).

### VII.1.2. Protocol expérimental

Dans une microplaque de 96 puits, du tampon phosphate de sodium, une quantité de chaque un des extraits et un volume d'AChE ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 25 C°. Après incubation, le DTNB a été ajouté, la réaction est par la suite initiée par l'addition de de l'iodure d'acétylthiocholine (0.71 mM). Enfin, l'absorbance est mesurée à 412 nm, au début de la réaction (0 min) et après 15 min d'incubation à 25°C.

Le pourcentage d'inhibition d'AChE et/ou du BChE est déterminé contre un blanc (mélange réactionnel contenant le méthanol à la place de l'extrait) suivant la formule :

$$(E - S)/E * 100$$

Tel que :

**E** : l'activité de l'enzyme sans extrait,



## Partie expérimentale

**S** : l'activité de l'enzyme avec l'extrait.

Les pourcentages d'inhibition à 50% ( $IC_{50}$ ) ont été déterminés en utilisant le programme Excel.

### **VIII. Analyses statistiques**

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de  $IC_{50}$  (Concentration d'inhibition à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

# Résultats et discussion

## IX. Résultats et discussion

### IX.1. Rendement d'extraction des polyphénols

Les différents rendements d'extraction obtenus en pourcentage (%) sont calculés suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{M_{\text{extrait}}}{M_{\text{échantillon}}} * 100$$

Avec :

$M_{\text{extrait}}$  = masse de l'extrait en gramme.

$M_{\text{échantillon}}$  = masse de l'échantillon en gramme ( $M_{\text{échantillon}} = 10\text{g}$ ).

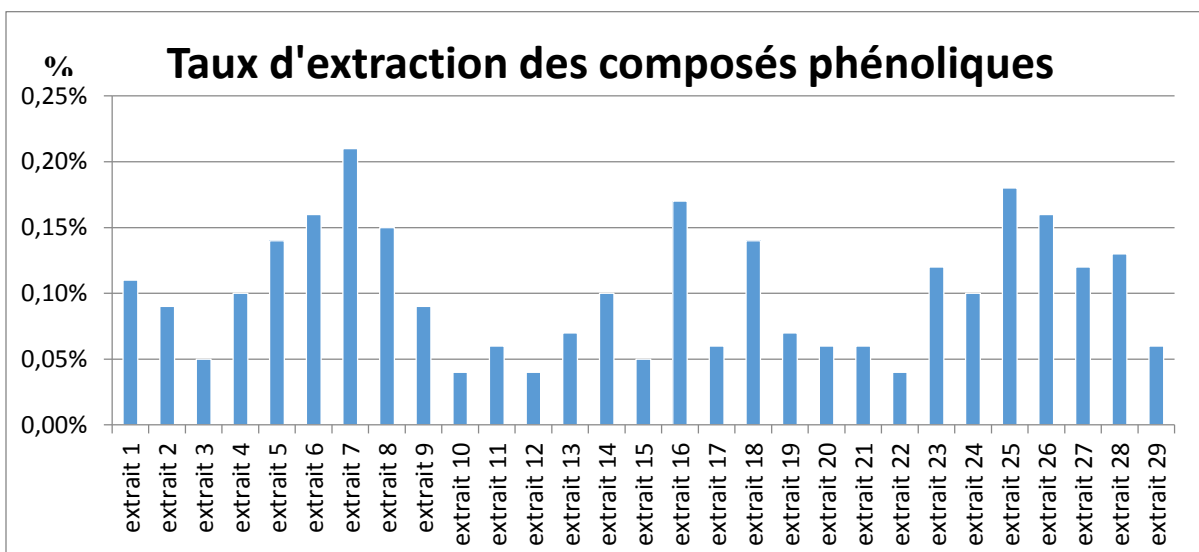
Les rendements d'extraction de différentes fractions méthanoliques des 29 échantillons d'huile d'olive sont reportés dans le **tableau 07** et représentés par la **figure 25**.

**Tableau 07** : Les rendements d'extraction obtenus en pourcentage % de chaque variété.

Région	Variété	$M_{\text{extrait}}$ (g)	Rendement en pourcentage
OUED SOUF	<i>Sigoise</i>	0.01115	0.11%
	<i>Rougette</i>	0.00909	0.09%
	<i>Chemlal</i>	0.01035	0.10%
	<i>Ferkane</i>	0.01449	0.14%
SIDI-AICH	<i>Sigoise</i>	0.00526	0.05%
	<i>Rougette de Metidja</i>	0.01634	0.16%
	<i>Limeli</i>	0.0165	0.17%
	<i>Aaleth</i>	0.0178	0.18%
	<i>Takesrit</i>	0.0157	0.16%
	<i>Aimel</i>	0.0117	0.12%
	<i>Nebjmel</i>	0.0128	0.13%
BATNA	<i>Sigoise</i>	0.02073	0.21%
	<i>Chemlal</i>	0.0066	0.07%
GUELMA	<i>Blanquette</i>	0.01490	0.15%

HAMMA	<i>Nebjmel</i>	0.00907	0.09%
	<i>Sigoise</i>	0.00424	0.04%
BOUIRA	<i>Azzoradj</i>	0.00614	0.06%
	<i>Chemlal</i>	0.00655	0.07%
	<i>Sigoise</i>	0.0102	0.10%
BOUNOUARA	<i>Chemlal</i>	0.0035	0.04%
TAZMELT	<i>Chemlal</i>	0.00996	0.10%
	<i>Rougette</i>	0.0049	0.05%
	<i>Nebjmel</i>	0.0062	0.06%
JIJEL	<i>Rougette</i>	0.00569	0.06%
	<i>Nebjmel</i>	0.0062	0.06%
ZIGHOUD	<i>Chemlal</i>	0.01417	0.14%
KHENCHLA	<i>Chemlal</i>	0.0061	0.06%
BISKRA	<i>Sigoise</i>	0.00405	0.04%
BEJAIA	<i>Chemlal</i>	0.01178	0.12%

Le rendement de l'extrait phénolique brut a été estimé par rapport à 10g d'huile.



**Figure 25 :** Rendement d'extraction des composés phénoliques dans les fractions méthanoliques des huiles d'olives.

D'après les résultats, les rendements de l'extraction varient considérablement. Les pourcentages enregistrés sont compris entre 0.04% et 0.21%. La variété *Sigoise* de BATNA donne clairement le meilleur rendement (0.21 %) suivie par la variété *Aaleth* de SIDI-AICH avec un rendement de 0.18 %. Le rendement le plus faible est celui des variétés suivantes ; *Sigoise* de HAMMA, *Chemlal* de BOUNOUARA et *Sigoise* de BISKRA de l'ordre de 0.04 %.

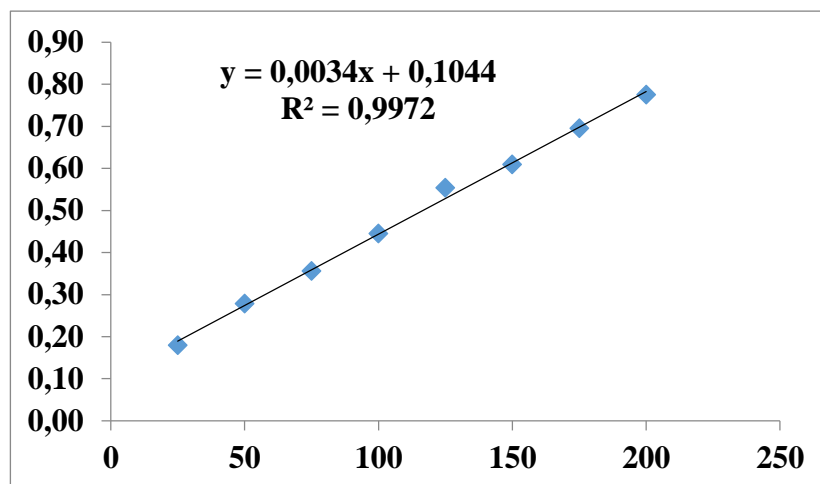
L'utilisation d'un mélange hydroalcoolique comme solvant donne des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction (**Perva-Uzunalić et al 2006**). Les variations des teneurs en polyphénols observés peuvent être dues à la différence du degré de maturité des olives avant trituration, (récolte précoce des olives) mais dépend également de la variété et de la zone géographique (**García et al 2003**).

En effet, plusieurs autres facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques dans l'huile d'olive tels que la variation saisonnière, le facteur environnemental, la diversité intra variétale de l'olivier et la méthode d'extraction (**Ranalli et al 1999**). En plus les huiles d'olives situées en altitude sont plus riches en phénols que les oliveraies des plaines (**Ocakoglu 2008**).

### **IX.2. Teneur en composés phénoliques totaux**

On a utilisé le méthanol solvant pour extraire les polyphénols, car il a l'avantage de précipiter les protéines et d'extraire faiblement les sucres. A partir d'une solution mère de l'acide gallique, une série de solutions filles est ainsi préparée, de concentrations allant de 25 à 200 µg/ml, ces dernières ont subi le même traitement que les échantillons.

On peut représenter la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**figure 26**) en prenant la concentration (µg/ml) en fonction de l'absorbance, le coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9972$ .



**Figure 26 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique ( $y = 0,0034x + 0,1044$ ). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par un millilitre de l'extrait ( $\mu\text{g}$  EAG/ml d'extrait). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols totaux contenus dans les extraits d'huile d'olive. Chaque essai a été répété trois fois ainsi que, chaque valeur reportée dans le **tableau 08** est une moyenne.

Les valeurs obtenues par la méthode colorimétrique fournissent des informations directes sur la quantité des groupes phénoliques antioxydants de l'extrait qui dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ces derniers (**Balasundram et al 2006**).

Les résultats relatifs à la teneur en composés phénoliques totaux des onze variétés d'huiles d'olives traitées sont regroupés dans le **tableau 08**.

**Tableau 08** : Teneurs en composés phénolique totaux.

Extrait	Variétés	Teneur totale en composés phénoliques ( $\mu\text{g GAE} / \text{ml}$ )
Extrait 1	<i>Sigoise</i> OUED SOUF	24,49 $\pm$ 1,36
Extrait 2	<i>Rougette</i> OUED SOUF	16,16 $\pm$ 13,71
Extrait 4	<i>Chemlal</i> OUED SOUF	14,39 $\pm$ 0,45
Extrait 5	<i>Ferkane</i> OUED SOUF	21,25 $\pm$ 1,62
Extrait 6	<i>Rougette de Metidja</i> SIDI-AICH	3,51 $\pm$ 2,09
Extrait 7	<i>Sigoise</i> BATNA	16,75 $\pm$ 5,69
Extrait 8	<i>Blanquette</i> GUELMA	12,73 $\pm$ 2,47
Extrait 9	<i>Nebjmel</i> HAMMA	34,10 $\pm$ 4,50
Extrait 10	<i>Sigoise</i> HAMMA	38,80 $\pm$ 0,45
Extrait 11	<i>Azzoradj</i> BOUIRA	30,47 $\pm$ 2,30
Extrait 12	<i>Chemlal</i> BOUNOUARA	30,47 $\pm$ 3,61

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type (n = 3).

\* Les composés phénoliques totaux ont été exprimés en  $\mu\text{g EAG} / \text{ml}$ .

D'après les résultats (**tableau 08**), on peut constater que toutes les fractions méthanoliques des échantillons des huiles étudiées, contiennent des polyphénols mais avec des quantités différentes. Les teneurs sont comprises entre 38,80  $\mu\text{g EAG} / \text{ml}$  pour la variété *Sigoise* HAMMA et 3,51  $\mu\text{g EAG} / \text{ml}$  pour la variété *Rougette de Metidja* SIDI-AICH.

D'après (**Tsimidou 1998**) on peut classer les échantillons étudiés par rapport à leurs teneurs en polyphénols dans la catégorie à teneurs faibles.

Les teneurs en polyphénols totaux enregistrées pour nos variétés d'huiles d'olive sont proches de celles des variétés espagnoles étudiées par (**Carelli et Ceci 2007**) ; pour lesquelles les teneurs oscillent entre 37,2 et 93,2 mg/Kg et des variétés tunisiennes (25.9 à 60 mg/Kg) analysées par (**Bedbabis et al 2010**). Ces teneurs sont, par contre, inférieures à celles enregistrées par (**Abu-Reidah et al 2013**) sur des variétés palestiniennes caractérisées par des teneurs en polyphénols variant entre 318.99 et 469.96 mg/kg et des variétés italiennes (115 et 377 mg /Kg) analysées par (**Tura et al 2007**).

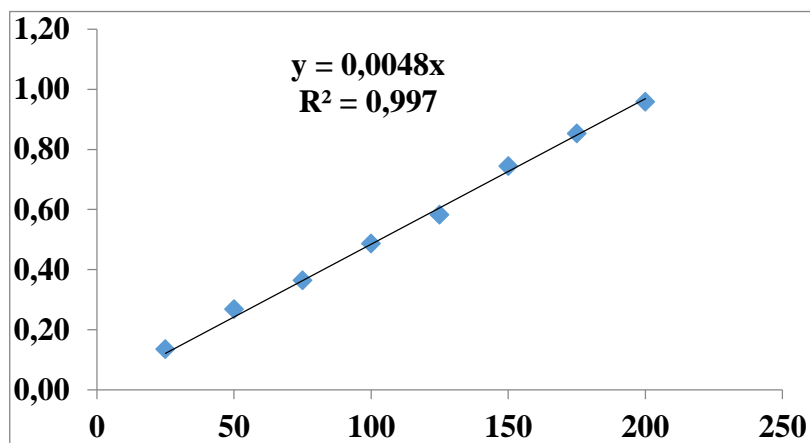
Les Composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation et la valeur nutritionnelle des huiles (**Brenes et al 2002**). Ils sont considérés comme antioxydants qui aident le corps à renforcer son système de défense contre les anomalies liées au stress oxydatif telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et le processus inflammatoire (**Rojas et al 2005**).

Les composés phénoliques passent dans l'huile lors de son extraction. Ils sont très importants pour la stabilité de l'huile d'olive (**Tsimidou 1998**). De plus, l'importance des composés phénoliques est également liée à l'amertume et à l'astringence de l'huile d'olive (**Kallithraka et al 1997**) et cela se reflète par conséquent dans la qualité organoleptique de l'huile d'olive (**Visioli et al 2000**) car ils contribuent à la virgine la saveur et l'arôme de l'huile d'olive (**Angerosa et al 2000**) en particulier pour son goût amer typique (**Gutiérrez-Rosales et al 1992**). Selon **Aparicio et Luna (2002)**, les huiles obtenues à partir de fruits riches en polyphénols devraient être plus amères et piquantes que celles provenant de variétés « douces » (**Visioli et al 2000**).

### IX.3. Teneur en composés flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus prooxydants particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique (**Laughton et al 1989**). De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux tels que le cuivre et le fer, qui à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libre (**Puppo 1992**).

A partir d'une solution mère de la quercétine, une série de solutions filles est ainsi préparée, de concentrations allant de 25 à 200 µg/ml, ces dernières ont subi le même traitement que les échantillons les absorbances ainsi enregistrées sont utilisé pour tracer la courbe d'étalonnage (**figure 27**).



**Figure 27** : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.



Les résultats dans le **tableau 09** représentent la teneur des flavonoïdes dans les extraits des huiles d'olives étudiés.

**Tableau 09** : Teneurs en flavonoïdes totaux.

Extrait	Variétés	Teneur en flavonoïdes ( $\mu\text{g EQ} / \text{ml}$ )
Extrait 1	<i>Sigoise</i> OUED SOUF	22,29 $\pm$ 2,21
Extrait 2	<i>Rougette</i> OUED SOUF	31,67 $\pm$ 6,63
Extrait 4	<i>Chemlal</i> OUED SOUF	17,01 $\pm$ 0,15
Extrait 5	<i>Ferkane</i> OUED SOUF	24,72 $\pm$ 3,09
Extrait 6	<i>Rougette de Metidja</i> SIDI-AICH	22,57 $\pm$ 4,86
Extrait 7	<i>Sigoise</i> BATNA	27,78 $\pm$ 0,44
Extrait 8	<i>Blanquette</i> GUELMA	32,29 $\pm$ 2,50
Extrait 9	<i>Nebjmel</i> HAMMA	22,78 $\pm$ 0,29
Extrait 10	<i>Sigoise</i> HAMMA	23,40 $\pm$ 0,74
Extrait 11	<i>Azzoradj</i> BOUIRA	27,71 $\pm$ 2,36
Extrait 12	<i>Chemlal</i> BOUNOUARA	16,67 $\pm$ 0,88

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type (n = 3).

\* Les teneurs en flavonoïdes ont été exprimées en  $\mu\text{g EQ} / \text{ml}$ .

La teneur la plus élevée est enregistrée pour la variété *Blanquette* de GUELMA avec 32,29  $\mu\text{g EQ} / \text{ml}$  suivi de la variété *Rougette* OUED SOUF avec 31,67  $\mu\text{g EQ} / \text{ml}$ . Par contre, la variété *Chemlal* de BOUNOUARA et d'OUED SOUF présente la teneur la plus faible en flavonoïdes totaux par 16,67  $\pm$  0,88 et 17,01  $\pm$  0,15  $\mu\text{g EQ} / \text{ml}$  respectivement. Les teneurs en flavonoïdes totaux enregistrées pour nos variétés d'huiles d'olive sont proches de celles des variétés algériennes étudiées par (**Laincer F et al 2014**) pour lesquelles les teneurs varient entre 10 et 44 mg/Kg. Mais supérieures à celles enregistrées par (**Oliveras-L'opez et al 2007**) sur des variétés espagnoles, caractérisées par des teneurs en flavonoïdes variant entre 0.76 à 2.4 mg/l.

Les flavonoïdes font partie des composés majoritaires des polyphénols trouvés dans l'huile d'olive (**Ryan et al 2003**). D'après les résultats, on remarque qu'il n'y a pas une cohérence entre

le taux des phénols totaux et des flavonoïdes totaux, parce qu'il faut toujours avoir des quantités des flavonoïdes inférieurs à celles des polyphénols, Cela est peut-être dû à une erreur de manipulation ou bien aux produits utilisés. Et malheureusement on n'a pas eu l'occasion de la refaire.

#### IX.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de méthode universelle, unique et fiable traduisant la capacité antioxydante. En effet, pour juger de l'effet antioxydant global d'un extrait d'une ressource végétale ou alimentaire, l'utilisation de plusieurs tests d'activité est nécessaire (**Cao et Prior, 1998**). Dans ce présent travail, l'activité antioxydante des extraits de l'huile d'olive a été évaluée *in vitro* par quatre méthodes différentes : le test du **DPPH**, **ABTS**, **CUPRAC** et le test de **POUVOIR REDUCTEUR** ce qui nous a permis de mieux étudier l'effet antioxydant.

Les résultats obtenus à partir des tests sont regroupés dans le **tableau 10** ci-dessous. Les valeurs des  $IC_{50}$  et  $A_{0,5}$  sont exprimées en ( $\mu\text{g/ml}$ ).

**Tableau 10** : Détermination des  $IC_{50}$  sur le radical **DPPH** et **ABTS**<sup>+</sup> et les valeurs de l' $A_{0,5}$  des tests **RP** et **CUPRAC** sur des différents extraits d'huiles d'olives.

Extrait	Région	Variété	DPPH	ABTS	POUVOIR REDUCTEUR	CUPRAC
			$IC_{50}$		$A_{0,5}$	
Extrait 1	OUED SOUF	<i>Sigoise</i>	26,71±1,71	29,28±2,04	>200	19,62±0,88
Extrait 2	OUED SOUF	<i>Rougette</i>	493,69±8,97	399,96±121,09	>200	288,11±20,35
Extrait 3	SIDI-AICH	<i>Sigoise</i>	>800	372,91±77,65	-	>800
Extrait 4	OUED SOUF	<i>Chemlal</i>	30,22±1,50	24,68±1,10	>200	21,96±0,54
Extrait 5	OUED SOUF	<i>Ferkane</i>	32,29±1,95	<12.5	49,13±25,08	73,93± 6,50
Extrait 6	SIDI-AICH	<i>Rougette de Metidja</i>	157,22±8,37	5,49±0,96	300,10±124,31	135,38±4,00
Extrait 7	BATNA	<i>Sigoise</i>	72,11±22,53	48,17±0,48	250,21±47,60	199,22±4,12
Extrait 8	GUELMA	<i>Blanquette</i>	63,09±10,18	14,11±0,88	150,69±10,84	113,15±3,24
Extrait 9	HAMMA	<i>Nebjmel</i>	34,15±3,34	<12.5	64,01±7,03	37,69±1,86
Extrait 10	HAMMA	<i>Sigoise</i>	46,42±3,34	<12.5	97,04±21,38	37,47±3,81
Extrait 11	BOUIRA	<i>Azzoradj</i>	41,39±2,20	<12.5	63,19±5,43	36,57±1,17
Extrait 12	BOUNOUARA	<i>Chemlal</i>	41,42±5,87	<12.5	86,23±23,33	43,56±1,30

<b>Extrait 13</b>	BOUIRA	<i>Chemlal</i>	190,11±44,01	36,50±1,91	-	134,09±2,31
<b>Extrait 14</b>	TAZMELT	<i>Chemlal</i>	90,62±7,74	24,41±1,32	-	82,13±2,40
<b>Extrait 15</b>	TAZMELT	<i>Rougette</i>	231,15±7,71	29,39± 3,66	-	171,87±1,62
<b>Extrait 16</b>	SIDI-AICH	<i>Limeli</i>	42,68±7,70	10,99±2,03	-	50,63±2,40
<b>Extrait 17</b>	JIJEL	<i>Nebjmel</i>	85,15±40,62	29,85±2,12	-	155,73±0,58
<b>Extrait 18</b>	ZIGHOUD	<i>Chemlal</i>	25,24±2,47	14,98±1,52	-	43,31±0,63
<b>Extrait 19</b>	BATNA	<i>Chemlal</i>	34,87±17,32	9,14±6,45	-	72,32±2,32
<b>Extrait 20</b>	TAZMELT	<i>Nebjmel</i>	55,85±0,74	30,31±0,84	-	82,13±2,34
<b>Extrait 21</b>	KHENCHLA	<i>Chemlal</i>	111,00±4,50	37,65±3,47	-	124,39±5,80
<b>Extrait 22</b>	BISKRA	<i>Sigoise</i>	87,11±4,98	32,88±0,95	-	119,56±6,25
<b>Extrait 23</b>	BEJAIA Baceara	<i>Chemlal</i>	43,97±2,94	17,71±1,87	-	53,51±0,85
<b>Extrait 24</b>	BOUIRA	<i>Sigoise</i>	27,19±2,84	17,95±2,62	-	45,18±1,48
<b>Extrait 25</b>	SIDI-AICH	<i>Aaleth</i>	27,34±0,64	15,22±1,79	-	33,62±0,31
<b>Extrait 26</b>	SIDI-AICH	<i>Takesrit</i>	51,28±1,62	24,57±1,92	-	60,29±1,56
<b>Extrait 27</b>	SIDI-AICH	<i>Aimel</i>	26,83±0,44	8,12±0,39	-	33,78±0,65
<b>Extrait 28</b>	SIDI-AICH	<i>Nebjmel</i>	149,69±2,99	14,18±9,14	-	57,23±5,06
<b>Extrait 29</b>	JIJEL	<i>Rougette</i>	>800	496,16±31,62	-	381,43±18,78

\* Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type (n = 3).

#### IX.4.1. Activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH

La méthode de piégeage du radical libre DPPH a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits d'huile d'olive vierge, parce qu'elle est reconnue comme étant une activité simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (**Bozin et al 2008**). La valeur IC<sub>50</sub> est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité de l'antioxydant nécessaire pour diminuer 50% de la concentration du radical et donc, plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante est grande (**Villaño et al 2007**).

On remarque que la majorité des extraits étudiés possèdent une activité antioxydante et qu'ils sont capables de piéger le radical DPPH. Comme le montre le **tableau 10**, les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont extrêmement diverses. Les valeurs enregistrées sont comprises entre 25,24±2,47µg/ml et 493,69±8,97µg/ml correspondant aux variétés *Chemlal* ZIGHOUD et *Rougette* OUED SOUF respectivement. Selon **Baiano et al (2013)**, l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de l'huile d'olive évaluée par la méthode au DPPH• est significativement influencée par la variété

## Résultats et discussion

des olives. Quelques composés phénoliques se réagissent très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de molécules de DPPH égal à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant (**Bondet et al 1997**).

Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (**Molyneux 2004**). D'après nos résultats, il en ressort que l'IC<sub>50</sub> de l'extrait de l'huile d'olive le plus élevé est celui de *Chemlal ZIGHOUD* avec (25,24±2,47µg/ml) suivi par celui de *Sigoise OUED SOUF* (26,71±1,71µg/ml), *Aimel SIDI-AICH* (26,83±0,44 µg/ml) et *Sigoise BOUIRA* (27,19±2,84). Ces variétés présentent l'activité antioxydante la plus grande mais reste relativement faible en comparaison avec le standard **BHA** dont la valeur d'IC<sub>50</sub> est de l'ordre de 6.14±0.41 µg/ml. Cependant elles sont un peu plus proches de celle du standard **BHT** qui est égale à 12.99±0.41 µg/ml et de **α-Tocophérol** 13.02±5,17 µg/ml. On note également que les variétés *Chemlal OUED SOUF* (30,22±1,50 µg/ml), *Ferkane OUED SOUF* (32,29±1,95µg/ml), *Nebjmel HAMMA* (34,15±3,34µg/ml) et *Azzoradj BOUIRA* (41,39±2,20 µg/ml) possèdent quand même une activité antiradicalaire modérée avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> plus au moins signifiante mais reste tout de même inférieure en comparaison avec les standards **BHA**, **BHT** et **α-Tocophérol**. Tandis que la variété *Rougette OUED SOUF* dont IC<sub>50</sub> est de l'ordre de (493,69±8,97µg/ml) possède l'activité antioxydante la plus basse en comparaison avec les standards **BHA**, **BHT** et **α-Tocophérol**.

Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par (**Abdelaziz et al 2014**) pour la variété *chemlal*. Les auteurs ont déterminé que l'IC<sub>50</sub> de l'huile d'olive de cette variété est égale à 25,38 ± 0,64 µg/ml ce qui est en accord avec l'IC<sub>50</sub> de cette même variété obtenue dans notre travail (25,24±2,47µg/ml). Les travaux de (**Laincer et al 2014**) sur quelques variétés d'huile d'olive à savoir *Blanquette* de GUELMA, *Chemlal TAZMELT*, *Ferkani*, *Limli* et *Neb Djemel*, présentent des IC<sub>50</sub> compris dans un intervalle allant de (36.57± 1.71 µg/ml) pour *Chemlal TAZMELT* à (72.20± 2.19 µg/ml) pour *Blanquette* de GUELMA qui sont assez proches de ceux issus de notre travail.

Les résultats peuvent également être comparables à ceux de (**Lavelli, 2002**) qui a testé 11 huiles différentes d'Italie et dont l'activité antioxydante DPPH a enregistré un résultat allant de (32.0 ± 0.5 µg/ml) jusqu'à (156 ±1 µg/ml) plutôt approximatif à celui obtenu dans notre présent travail.

L'activité antioxydante de l'huile d'olive est due principalement à la fraction phénolique incluant les flavonoïdes. (**Bakhouché 2015**). Ces propriétés antioxydantes peuvent être liées à un don d'hydrogène et leurs capacités à améliorer la stabilité des radicaux en formant une liaison intramoléculaire hydrogénique entre l'hydrogène libre et leur radicaux phénoxy (**Laincer et al 2014**). Ce potentiel antioxydant confère à l'huile d'olive un grand intérêt dans la prévention contre les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neuro-dégénératives, l'inflammation et le vieillissement (**Benlemlih et al 2012**).

### IX.4.2. Activité antioxydante par le test de piégeage du radical ABTS<sup>+</sup>

Selon **Re et al. (1999)** la méthode de piégeage du radical ABTS<sup>+</sup> est une excellente méthode pour déterminer l'activité antioxydante pour une large diversité des substances, comme antioxydants donneurs d'hydrogène ou piègeurs de radicaux en phase aqueuse. L'activité anti-radicalaire est considérée comme étant la capacité des composés testés à diminuer directement la couleur du radical ABTS<sup>+</sup>. Le contacte avec un donneur d'électron du radical ABTS<sup>+</sup> conduit à l'ABTS<sup>+</sup> et à la décoloration de la solution du bleu foncé en bleu vert (**Lien et al 1999**).

Les résultats sont exprimés en termes d'IC<sub>50</sub> (**tableau 10**), représentant la concentration nécessaire pour diminuer la concentration initiale du radical ABTS<sup>+</sup> de 50%. La plus petite valeur d'IC<sub>50</sub> correspond à la plus grande activité anti radicalaire. L'IC<sub>50</sub> est très importante pour le **BHT** avec une valeur de 1.29±0.30 µg/ml, suivie par le **BHA** avec une valeur de 1.81±0.10 µg/ml. On remarque que tous les extraits de notre travail ont un pouvoir antioxydant inférieur à celui des antioxydants standards.

D'après Ces résultats, on remarque que Les variétés *Rougette de Metidja* SIDI-AICH, *Aimel* SIDI-AICH et *Chemlal* BATNA, enregistrent les plus faibles valeurs d'IC<sub>50</sub> soit 5,49±0,96 µg/ml, 8,12±0,39µg/ml et 9,14±6,45 µg/ml respectivement, suivie par la variété *Limeli* SIDI-AICH (10,99±2,03 µg/ml). Ces valeurs sont supérieures au IC<sub>50</sub> des standards **BHT** et **BHA** et correspond à une meilleure efficacité des extraits d'huiles dans la neutralisation du radical ABTS<sup>+</sup>. On remarque que les variétés *Blanquette* GUELMA, *Nebjmel* SIDI-AICH, *Chemlal* ZIGHOUD, *Aaleth* SIDI-AICH, *Chemlal* BEJAIA, *Sigoise* BOUIRA, *Chemlal* TAZMELT, *Takesrit* SIDI-AICH et *Chemlal* OUED SOUF possèdent également une activité antiradicalaire modérée avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> plus au moins signifiante et varient entre 12,5 et 25 µg/ml. Suivie par les variétés *Sigoise* OUED SOUF, *Rougette* TAZMELT, *Nebjmel* JIJEL, *Nebjmel*

TAZMELT, *Sigoise* BISKRA, *Chemlal* KHENCHLA, *Chemlal* BOUIRA, *Sigoise* BATNA avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> varient entre 25 et 50 µg/ml. Par contre, les extraits des variétés Rougette JIJEL, Rougette OUED SOUF, et *Sigoise* SIDI-AICH ont montré les plus basses activités antiradicalaires et les plus grandes valeurs d'IC<sub>50</sub> avec 496,16±31,62µg/ml, 399,96±121,09 µg/ml et 372,91±77,65 µg/ml respectivement, dont ces valeurs sont beaucoup plus supérieures aux valeurs des standards. Cependant, l'activité antiradicalaire de la variété *Ferkane* OUED SOUF, *Nebjmel* HAMMA, *Sigoise* HAMMA, *Azzoradj* BOUIRA, *Chemlal* BOUNOUARA est moins efficace et insignifiante avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> < 12,5 µg/ml.

Les résultats obtenus pour nos variétés d'huile d'olive pour l'activité de piégeage du radical ABTS<sup>·+</sup> sont meilleurs par rapport à ceux obtenus par (**Laincer et al 2014**) pour les variétés *Blanquette*, *Chemlal*, *Chemlal* de TAZMELT, *Ferkani*, *Limli* et *Nebdjmel* avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> oscillent entre 180 et 370 µg/ml. Nous constatons donc que nos échantillons sont plus efficaces et cela est probablement lié à la différence dans la composition chimique ou à des facteurs saisonniers. Certains IC<sub>50</sub> de nos variétés sont proches à ceux étudiés par (**Spizzirri et al 2020**) avec des valeurs varient entre 34 à 47 µg/ml et proche aussi de la variété Italienne *Frantoio* étudiée par (**Loizzo et al 2010**) avec des valeurs oscillent entre 17.9 et 36.4 µg/ml.

Malgré sa faible teneur en composés phénoliques (3,51±2,09 µg/ml), la variété *Rougette de Metidja* SIDI-AICH présente une activité antioxydante plus forte par rapport à d'autres variétés telles que *Aimel* SIDI-AICH et *Chemlal* BATNA. Cela pourrait s'expliquer par une teneur plus forte en hydroxytyrosol libre et en lignanes de ces deux variétés. Les données de la littérature attestent que l'hydroxytyrosol présente une activité antioxydante élevée (**Lavelli 2002**). Concernant le pouvoir antioxydant des lignanes, (**Owen et al 2000**) ont montré l'existence d'une corrélation claire entre la capacité de piégeage radicalaire d'un extrait phénolique d'huile d'olive vierge et la concentration de lignane.

### **IX.4.3. La capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC**

C'est une méthode développée par (**Apak et al 2004**) est basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm, après la formation d'un complexe stable entre les ions néocuproïne et le cuivre (I). Ce complexe est produit par la réduction des ions du cuivre (II) par les composés potentiellement antioxydants. Les résultats du CUPRAC sont exprimés en A<sub>0,5</sub>. La valeur A<sub>0,5</sub> est définie comme étant la concentration du substrat qui donne une valeur d'absorbance de 0.5

D'après les résultats obtenus et classés dans le **tableau 10**, on peut dire que tous les échantillons d'huile d'olive étudiés se sont révélés capables de réduire le cuivre. Les valeurs  $A_{0,5}$  sont comprises entre  $19,62 \pm 0,88 \mu\text{g/ml}$  et  $381,43 \pm 18,78 \mu\text{g/ml}$  représentant la variété *Sigoise* d'OUED SOUF et *Rougette* de JIJEL respectivement. L'extrait N 1 à savoir *Sigoise* d'OUED SOUF, a enregistré l'activité antioxydante la plus élevée avec une valeur d' $A_{0,5}$  de  $19,62 \pm 0,88 \mu\text{g/ml}$  en comparaison avec le standard **BHA** ( $A_{0,5} = 5,35 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$ ) et **BHT** ( $A_{0,5} = 8,97 \pm 3,94 \mu\text{g/ml}$ ). Cette activité antioxydante observée dans nos extraits peut être expliquée par la nature des composés phénoliques qui sont des acides phénoliques tels que l'acide gallique et ses dérivés, les flavonoïdes (**Apak et al 2005**)

**Apak et al (2005)** ont correctement reconnu que les résultats de la mesure CUPRAC et polyphénols totaux étaient très corrélés. La faible corrélation observée par les auteurs entre les résultats CUPRAC et la teneur en flavonoïdes et était due à la nature de la technique de mesure (**Güçlü et al 2006**). La méthode est capable de mesurer des antioxydants de type thiol, tels que le glutathion et les thiols non protéiques (**Huang et Prior. 2005**).

Les extraits méthanoliques représentant *Chemlal* OUED SOUF ( $21,96 \pm 0,54 \mu\text{g/ml}$ ), *Aaleth* SIDI-AICH ( $33,62 \pm 0,31 \mu\text{g/ml}$ ), *Aimel* SIDI-AICH ( $33,78 \pm 0,65 \mu\text{g/ml}$ ), *Azzoradj* BOUIRA ( $36,57 \pm 1,17 \mu\text{g/ml}$ ) ainsi que *Sigoise* HAMMA ( $37,47 \pm 3,81 \mu\text{g/ml}$ ) ont également enregistré une activité antioxydante raisonnable mais qui reste quand même inférieure en comparaison aux  $A_{0,5}$  des standards **BHT** ( $A_{0,5} = 8,97 \pm 3,94 \mu\text{g/ml}$ ) et **BHA** ( $A_{0,5} = 5,35 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$ ). Cependant, la variété *Rougette* JIJEL avec une valeur  $A_{0,5}$  de  $381,43 \pm 18,78 \mu\text{g/ml}$  et *Sigoise* SIDI-AICH ( $A_{0,5} > 800$ ) enregistre l'activité antioxydante la plus faible et la plus insignifiante de nos 29 extraits d'huile d'olive en comparaison avec les standards **BHT** ( $A_{0,5} = 8,97 \pm 3,94 \mu\text{g/ml}$ ) et **BHA** ( $A_{0,5} = 5,35 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$ ).

Il n'y a pas des études similaires qui expliquent le pouvoir réducteur CUPRAC des extraits de l'huile d'olive.

#### **IX.4.4. Le pouvoir réducteur**

Les antioxydants ayant une propriété réductrice tels que les polyphénols présents dans les extraits méthanoliques d'huiles d'olives, réagissent comme donneurs d'électrons entraînant la réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  de complexe ferricyanide (couleur jaune) en fer ferreux (couleur bleu verdâtre), dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (**Gülçin et al., 2007**). Par

## Résultats et discussion

conséquent,  $\text{Fe}^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm (**Apak et al 2005**).

Le pouvoir réducteur des olives est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques essentiellement l'oleuropéine et l'hydroxyltyrosol qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Özyürek et al 2011**). Les résultats obtenus sont exprimés en termes d' $A_{0,5}$   $\mu\text{g/ml}$  (**tableau 10**).

L' $A_{0,5}$  est très importante pour l'**Acide Ascorbique** avec une valeur de  $6.77 \pm 1.15$   $\mu\text{g/ml}$ , suivie par l' **$\alpha$ -Tocophérol** avec une valeur de  $34.93 \pm 2.38$   $\mu\text{g/ml}$ . On remarque que tous les extraits de notre travail ont un pouvoir réducteur inférieur à celui des antioxydants standards.

La variété *Ferkane* OUED SOUF enregistre la plus faible valeur d' $A_{0,5}$  soit  $49,13 \pm 25,08$   $\mu\text{g/ml}$ , et donc le pouvoir réducteur le plus important. Suivie par les variétés *Azzoradj* BOUIRA et *Nebjmel* HAMMA ( $63,19 \pm 5,43$   $\mu\text{g/ml}$  et  $64,01 \pm 7,03$   $\mu\text{g/ml}$ ). Ce qui correspond à une capacité réductrice importante par rapport aux autres variétés.

Par contre, les extraits des variétés *Rougette de Metidja* SIDI-AICH, *Sigoise* BATNA, et *Blanquette* GUELMA ont montré les plus bas pouvoirs réducteurs et les plus grandes valeurs d' $A_{0,5}$  avec  $300,10 \pm 124,31$   $\mu\text{g/ml}$ ,  $250,21 \pm 47,60$   $\mu\text{g/ml}$  et  $150,69 \pm 10,84$   $\mu\text{g/ml}$  respectivement, dont ces valeurs sont beaucoup supérieures aux valeurs des standards.

Cependant, le pouvoir réducteur des variétés *Sigoise* OUED SOUF, *Rougette* OUED SOUF et *Chemlal* OUED SOUF est moins efficace et insignifiante avec des valeurs d' $A_{0,5} > 200$   $\mu\text{g/ml}$ .

Les résultats démontrent que l'extrait des huiles d'olive de différentes variétés avait des ions ferriques marqués ( $\text{Fe}^{3+}$ ) réduisant la capacité et les propriétés des donneurs d'électrons pour neutraliser les radicaux libres en formant des produits stables. Le pouvoir réducteur reflète la capacité de don d'électrons du composé bioactif et était associé à une activité antioxydante. La capacité réductrice du composé pourrait servir d'indicateur de son activité antioxydante potentielle (**Luminița 2015**). Pour ce test également nous n'avons pas trouvé des travaux similaires concernant l'extrait de l'huile d'olive.

Selon les travaux **Ben Salah et son équipe (2012)**, l'olivier est une source importante des composés phénoliques, comme l'oleuropéine qui possède une bonne activité antioxydante et un



pouvoir réducteur fort. En se basant sur tous les résultats obtenus. Nous pouvons classer nos extraits selon les régions.

La région SIDI-AICH est classé première en termes de la plus efficace. Parce qu'elle comprend trois variétés qui ont marqué les meilleurs résultats dans les tests que nous avons réalisés, ces variétés sont *Limeli*, *Aaleth* et *Aimel*. Suivie par la région OUED SOUF qui comprend deux variétés, qui enregistrent de même des meilleurs résultats, telle que *Sigoise* et *Chemlal*. Les régions ZIGHOUD, BEJAIA et BOUIRA ont également enregistré des résultats plus ou moins signifiant. Nous pouvons aussi classer nos extraits selon les variétés dont *Chemlal* enregistre les plus basses valeurs d'IC<sub>50</sub> et d'A<sub>0,5</sub> et donc les meilleures activités antioxydantes, suivie par *Sigoise*, *Limeli*, *Aaleth* et *Aimel*. Cependant, la variété *Rougette* enregistre des valeurs d'IC<sub>50</sub> et d'A<sub>0,5</sub> très élevées dans les différents tests et donc, c'est la variété la moins efficace.

Il a été suggéré que la teneur en composés phénoliques est corrélée à l'activité antioxydante. Il est considéré que l'activité antioxydante des composés phénoliques est due à leur potentiel d'oxydo-réduction élevé, ce qui leur permet d'agir comme des agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, et des désactivateurs d'oxygène singlet (**Miguel et al 2010**).

Cependant, les travaux de **Galvano et al (2007)** ont reporté une corrélation positive entre l'activité antioxydante de l'huile d'olive et sa teneur en composés phénoliques, mais cette activité n'est pas attribuée seulement au facteur quantitatif, dont la qualité du contenu phénolique joue un rôle déterminant pour cette activité biologique (**Morelló et al 2004**).

De nombreuses tentatives ont été rapportées dans la littérature pour expliquer la relation structure-activité de certains composés antioxydants naturels (**Es-Safi et al 2007**). Il a été proposé que l'activité anti-oxydante est en relation avec le nombre de groupes hydroxyle sur le noyau des flavonoïdes (**Es-Safi et al 2007**). Il est également proposé que l'activité antioxydante des flavonoïdes fût dépendante de la présence de fonctions hydroxylées en ortho (**Foti et al 1996**).

Malgré son pouvoir antioxydant inférieur à celui des antioxydants synthétiques, l'huile d'olive reste très avantageuse par sa capacité de continuer à piéger les radicaux libres pour une durée allongée qui peut s'étendre jusqu'au sixième jour (**Keceli et Gordon, 2001**). Ce potentiel antioxydant confère à l'huile d'olive un grand intérêt dans la prévention contre les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le vieillissement (**Benmlih et Ganam, 2012**).

## IX.5. Evaluation de l'activité inhibitrice des enzymes

### IX.5.1. L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase

A ce jour, la maladie d'Alzheimer reste incurable. Cependant, l'une des approches les plus prometteuses pour le traitement de cette maladie consiste à améliorer le niveau d'acétylcholine dans le cerveau en utilisant des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (**Ingkaninan et al 2003**).

En se basant sur l'hypothèse d'inhiber l'action de l'AChE pour mieux traiter la MA, la plupart des inhibiteurs connus de l'enzyme AChE soient des alcaloïdes. Ainsi, selon (**Houghton et al 2006**) plusieurs composés, autres que les alcaloïdes, présentent une grande capacité d'inhiber l'enzyme AChE tels que les terpenoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes et les isocoumarines.

Le présent travail montre que la plupart des extraits des huiles d'olive testés ont montré une activité inhibitrice contre l'acétylcholinestérase. Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 11**.

**Tableau 11** : Valeur de l'IC<sub>50</sub> du test de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase pour les différents extraits d'huile d'olive.

Extraits	Variétés	IC <sub>50</sub> µg/mL
<b>Extrait 1</b>	<i>Sigoise</i> OUED SOUF	54,10±4,93
<b>Extrait 2</b>	<i>Rougette</i> OUED SOUF	214,15± 32,36
<b>Extrait 4</b>	<i>Chemlal</i> OUED SOUF	50,26±8,16
<b>Extrait 5</b>	<i>Ferkane</i> OUED SOUF	54,17±5,44
<b>Extrait 6</b>	<i>Rougette de Metidja</i> SIDI-AICH	129,50±18,49
<b>Extrait 7</b>	<i>Sigoise</i> BATNA	>200
<b>Extrait 8</b>	<i>Blanquette</i> GUELMA	116,70±6,24
<b>Galantamine</b>		6.27±1.15

L'IC<sub>50</sub> est très importante pour le **Galantamine** avec une valeur de 6.27±1.15 µg/ml. On remarque que tous les extraits de notre travail ont un pouvoir antioxydant inférieur à celui du standard utilisé. D'après les résultats, l'activité d'inhibition de l'enzyme AChE indique que la variété *Chemlal* OUED SOUF a montré l'inhibition la plus puissante de l'AChE (50,26±8,16 µg/ml) suivie par *Sigoise* OUED SOUF et *Ferkane* OUED SOUF (54,10±4,93, 54,17±5,44

## Résultats et discussion

$\mu\text{g/ml}$ ). Les variétés *Rougette* OUED SOUF, *Rougette de Metidja* SIDI-AICH et *Blanquette* GUELMA ont montré l'inhibition la moins puissante de l'AChE avec  $214,15 \pm 32,36$ ,  $129,50 \pm 18,49$  et  $116,70 \pm 6,24$   $\mu\text{g/ml}$  respectivement. A l'opposé, la variété *Sigoise* BATNA a l'activité inhibitrice de l'enzyme AChE la moins efficace et insignifiante avec une valeur d' $\text{IC}_{50} > 200$   $\mu\text{g/ml}$ .

En comparaison avec les autres extraits testés les variétés *Sigoise* OUED SOUF, *Chemlal* OUED SOUF et *Ferkane* OUED SOUF ont montré une activité significative à la fois dans l'inhibition de l'AChE et dans l'activité antioxydante. Ce résultat confirme encore le rôle des polyphénols dans l'activité anticholinestérase.

Les résultats obtenus pour nos variétés d'huile d'olive pour l'activité inhibitrice de l'enzyme AChE sont meilleurs par rapport à ceux obtenus par (**Figueiredo-González et al 2018**) pour la variété *Brava* avec une valeur d' $\text{IC}_{50}$  de  $483 \pm 30$   $\mu\text{g/ml}$ .

Il n'y a pas trop d'études qui expliquent l'effet inhibiteur de l'AChE des extraits de l'huile d'olive.

Cependant, des études faites par (**Edziri et al 2019**) concernant des olives tunisiennes montre que dans le test AChE, les extraits des variétés étudiés ont également montré des taux élevés de capacité d'inhibition de l'acétylcholinestérase avec  $\text{IC}_{50}$  de  $500$   $\mu\text{g} / \text{ml}$ .

Plusieurs recherches sont menées pour tester des extraits naturels riches en composés phénoliques et en flavonoïdes et d'identifier d'autres molécules plus compétitives dans l'inhibition de l'enzyme AChE que celles commercialisées sur le marché (**Ferreira et al 2006**). Ainsi, la première partie de notre étude a confirmé la richesse des extraits des huiles d'olive en composés phénoliques et en flavonoïdes et indique que EVOO a une large marge de valeur médicinale et qu'il a également des capacités pour la production de nouveaux médicaments pour le traitement de la maladie d'Alzheimer et également pour d'autres troubles neurodégénératifs (**Lauretti et al 2017**).

Ceci nous a encouragées de revaloriser cette espèce en testant, en plus de l'activité antioxydante, l'activité anti-AChE

# Conclusion et perspectives

### Conclusion et perspectives

Au cours de ces dernières années, un intérêt croissant pour les molécules possédant naturellement des activités antioxydantes a été manifesté. L'olivier (*Olea europea L*) ainsi que d'autres plantes représentent une source inépuisable de substances et de composés bioactifs, tels que les polyphénols, à activité antioxydante pouvant être exploitées en industrie agroalimentaire, en cosmétologie et en phytothérapie.

D'un point de vue applicatif, les travaux de ce mémoire se sont articulés autour d'un axe d'investigation principal qui est la valorisation des polyphénols de vingt-neuf huiles d'olive. L'huile d'olive est déjà utilisée depuis de nombreuses années en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques attribuées aux polyphénols. Cette étude se focalise sur l'extraction et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes des huiles d'olive ainsi que l'évaluation de leur activité antioxydante et anti-cholinestérase.

Les tests phytochimiques ont permis de mettre en évidence la présence des polyphénols et les flavonoïdes dans toutes les variétés étudiées. Les huiles d'olive sont soumises à extraction par un solvant hydrométhanolique et les rendements en polyphénols sont compris entre 0.04% et 0.21%.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle que la variété *Sigoise* HAMMA suivie par *Nebjmel* HAMMA, *Azzoradj* BOUIRA et *Chemlal* BOUNOUARA sont quantitativement les plus riches en polyphénols totaux par rapport aux variétés testées à savoir  $38,80 \pm 0,45$  ;  $34,10 \pm 4,50$  ;  $30,47 \pm 2,30$  et  $30,47 \pm 3,61$   $\mu\text{g GAE / ml}$  respectivement. Les autres variétés enregistrent des teneurs qui balancent entre  $3,51 \pm 2,09$   $\mu\text{g GAE / ml}$  pour *Rougette de Metidja* SIDI-AICH soit la plus faible teneur et  $24,49 \pm 1,36$   $\mu\text{g GAE / ml}$  pour *Sigoise* OUED SOUF.

De même nous avons déterminé la teneur des flavonoïdes qui nous mène à conclure que les douze variétés testées contiennent des quantités considérables de flavonoïdes. Les extraits des variétés *Blanquette* GUELMA et *Rougette* OUED SOUF ont des teneurs en flavonoïdes proches ( $32,29 \pm 2,50$  et  $31,67 \pm 6,63$   $\mu\text{g EQ / ml}$ ) et supérieures aux autres variétés. Les extraits de *Chemlal* BOUNOUARA et *Chemlal* OUED SOUF donnent les teneurs en flavonoïdes les plus faibles soit  $16,67 \pm 0,88$  et  $17,01 \pm 0,15$   $\mu\text{g EQ / ml}$ . Il ressort de ces analyses que les huiles d'*Olea europea L*. sont riches en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

## Conclusion et perspectives

Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été déterminé par différents tests *in vitro* tel que : la méthode de **DPPH**, la méthode **ABTS** la méthode **CUPRAC** et le test de **POUVOIR REDUCTEUR**. Dans la littérature peu de travaux ont étudiés ces activités sur les extraits d'huile d'olive, cela donne à notre travail de la nouveauté.

La méthode chimique consiste à l'utilisation du test **DPPH**, qui est basée sur la réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle. Les résultats obtenus montrent que les extraits de l'huile d'olive renferment de puissants composés actifs capables de réduire ce radical libre, puisqu'ils agissent à des faibles concentrations. Les valeurs les plus basses des  $IC_{50}$  ont été enregistrées pour la variété *Chemlal* de ZIGHOUD ( $25,24 \pm 2,47 \mu\text{g/ml}$ ), *Sigoise* OUED SOUF ( $26,71 \pm 1,71 \mu\text{g/ml}$ ), *Aimel* SIDI-AICH ( $26,83 \pm 0,44 \mu\text{g/ml}$ ) et *Sigoise* BOUIRA ( $27,19 \pm 2,84$ ).

Les résultats obtenus pour la mesure de l'activité antioxydante, en utilisant le test **ABTS**, montrent que les plus fortes activités reviennent à la variété *Rougette de Metidja* SIDI-AICH, *Aimel* SIDI-AICH et *Chemlal* BATNA avec des valeurs d' $IC_{50}$  successives ( $5,49 \pm 0,96 \mu\text{g/ml}$ ,  $8,12 \pm 0,39 \mu\text{g/ml}$  et  $9,14 \pm 6,45 \mu\text{g/ml}$ ).

Avec le test du **CUPRAC**, il est remarqué que la variété *Sigoise* OUED SOUF suivie par *Chemlal* OUED SOUF sont les plus performant avec des valeurs d' $A_{0,5}$  de  $19,62 \pm 0,88$  et  $21,96 \pm 0,54$  successivement.

Le **pouvoir réducteur** estimé par le test de réduction de chlorure ferrique des extraits d'huiles d'olive montre que la variété *Ferkane* OUED SOUF possède le pouvoir réducteur le plus important par rapport aux autres variétés étudiés avec des  $A_{0,5}$  de  $49,13 \pm 25,08 \mu\text{g/ml}$ .

Le test de l'activité **anticholinestérase**, réalisé sur sept extraits a montré que la variété *Chemlal* OUED SOUF a montré l'inhibition la plus puissante de l'AChE avec une valeur d' $IC_{50}$  de  $50,26 \pm 8,16 \mu\text{g/ml}$ .

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de:

- Faire une étude biochimique approfondie sur l'huile d'*Olea europea L.*

## Conclusion et perspectives

- Déterminer les molécules responsables des activités biologiques, et d'approfondir l'étude phytochimique en utilisant des techniques plus performantes.
- Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence.

# Références Bibliographiques



## Références bibliographiques

### -A-

**Abaza, L., Msallem, M., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2002).** Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 9(2), 174-179.

**Abu-Reidah, I. M., Yasin, M., Urbani, S., Servili, M., & Montedoro, G. (2013).** Study and characterization of Palestinian monovarietal Nabali virgin olive oils from northern West Bank of Palestine. *Food research international*, 54(2), 1959-1964.

**Angerosa, F. (2002).** Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 639-660.

**Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C., & Vito, R. (2000).** Virgin olive oil odour notes: their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chemistry*, 68(3), 283-287.

**Angerosa, F., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposito, S., & Montedoro, G. (2004).** Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 17-31.

**Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004).** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.

**Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. N., & Altun, M. (2005).** Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free radical research*, 39(9), 949-961.

**Aparicio, R., & Luna, G. (2002).** Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 614-627.

## Références bibliographiques

**Aparicio, R., Ferreiro, L., & Alonso, V. (1994).** Effect of climate on the chemical composition of virgin olive oil. *Analytica Chimica Acta*, 292(3), 235-241.

**Argenson, C. (2008).** La culture de l'olivier dans le monde, ses productions, les tendances. *Le nouvel olivier*, 61, 8-11.

**Assmann, G. & Wahrburg U. (1999).** Effets des composants mineurs de l'huile d'olive sur la santé (1 ère et 2ème partie) Institut de recherche sur l'athérosclérose, Université de Münster, Allemagne, 1-8.

**Awad, A. B., & Fink, C. S. (2000).** Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *The Journal of nutrition*, 130(9), 2127-2130.

**Awad, M. R., El-Gamel, A., Hasleton, P., Turner, D. M., Sinnott, P. J., & Hutchinson, I. V. (1998).** Genotypic variation in the transforming growth factor- $\beta$ 1 gene: association with transforming growth factor- $\beta$ 1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. *Transplantation*, 66(8), 1014-1020.

## **-B-**

**Baccouri, B., Zarrouk, W., Baccouri, O., Guerfel, M., Nouairi, I., Krichene, D., ... & Zarrouk, M. (2008).** Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea L. subsp. Oleaster*). *Grasas y aceites*, 59(4), 346-351.

**Baiano, A., Terracone, C., Viggiani, I., & Del Nobile, M. A. (2013).** Effects of cultivars and location on quality, phenolic content and antioxidant activity of extra-virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(1), 103-111.

**Bakhouché, A. (2015).** New challenges in analytical determination of olive oil polyphénols. Potential use as markers linked to pédoclimatique, agronomic and technological conditions. Doctoral thesis. University of Granada. Spain. 351p.

## Références bibliographiques

- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- Barjol, J. L. (2014).** *Olive Oil. Rev: Ocl*, 21(5), D502.
- Beauchamp, G. K., Keast, R. S., Morel, D., Lin, J., Pika, J., Han, Q., & Breslin, P. A. (2005).** Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature*, 437(7055), 45-46.
- Bedbabis, S., Rouina, B. B., & Boukhris, M. (2010).** The effect of waste water irrigation on the extra virgin olive oil quality from the Tunisian cultivar Chemlali. *Scientia horticulturae*, 125(4), 556-561.
- Benitez-Sánchez, P. L., León-Camacho, M., & Aparicio, R. (2003).** A comprehensive study of hazelnut oil composition with comparisons to other vegetable oils, particularly olive oil. *European Food Research and Technology*, 218(1), 13-19.
- Benlemlih, M., Ghanam J., & Joyeux, H. (2012).** Polyphénols d'huile d'olive, trésors santé. *Medicatrix, Embourg, Belgique*, 2, 128.
- Benrachou, N. (2013).** Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'est algérien. *Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba*, 1-85.
- Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C. L. W. T. (1997).** Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH\* Free Radical Method. *Food Science AND Technology-Zurich-*, 30, 609-615.
- Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., & Delattre, J. (2003).** Radicaux libres et antioxydants. *Biochimie Pathologique. Aspects Moléculaires et Cellulaires*, Flammarion, Paris, 317.

## Références bibliographiques

**Boskou, D. (2000).** Olive Oil. In World Review of Nutrition and Dietetics, A.P. Simopoulos, and F. Visioli, eds. (Basel: KARGER), 56–77.

**Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. Lebanese Science Journal, 12(1), 1.

**Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igc, R. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). Food chemistry, 111(4), 925-929.

**Brenes, M., Garcia, A., Rios, J. J., García, P., & Garrido, A. (2002).** Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. International journal of food science & technology, 37(6), 615-625.

**Britton, G. (1995).** Structure and properties of carotenoids in relation to function. The FASEB Journal, 9(15), 1551-1558.

**Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J., & Abram, M. (2011).** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. Food Chemistry, 127(4), 1821-1827.

**Burton, G. W., & Ingold, K. U. (1986).** Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. Accounts of chemical research, 19(7), 194-201.

## -C-

**Cai, H., & Harrison, D. G. (2000).** Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. Circulation research, 87(10), 840-844.

**Cao, G. et R. L. Prior (1998).** "Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum." Clinical Chemistry 44(6): 1309-1315.

**Casas, J. S., Bueno, E. O., García, A. M. M., & Cano, M. M. (2004).** Sterol and erythrodiol +uvaol content of virgin olive oils from cultivars of Extremadura (Spain). Food Chemistry, 87(2), 225-230.

## Références bibliographiques

**Ceci, L. N., & Carelli, A. A. (2007).** Characterization of monovarietal Argentinian olive oils from new productive zones. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(12), 1125-1136.

**Chandra Shekhar, T & Goyal, A. (2014).** Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *American Journal of Ethnomedicine*, Vol. 1, No. 4, 244-249.

**Charbonier & Richard. (1996).** L'huile d'olive, aliment –santé, Frison-Roche, France, 1000.

**Çinar, I. (2004).** Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 37(3), 363-367.

**COI /T.20/Doc. N° 24, (2001).** Préparation des esters méthyliques d'acides gras de l'huile d'olive et de l'huile de grignons d'olive. *Conseil oléicole International*, 23.

**COI, (2016).** Bilans mondiaux de l'huile d'olive. / N° 110.

**COI, (2018).** COI. International Olive Council. L'Algérie ratifie l'accord du COI (2018) [Consulté le 19/04/2020]. Disponible à partir de : <https://www.internationaloliveoil.org/1047-l-rsquo-algerie-ratifie-l-rsquo-accord-du-coi/?lang=fr>

## **-D-**

**Del Alamo, R. R., Fregapane, G., Aranda, F., Gómez-Alonso, S., & Salvador, M. D. (2004).** Sterol and alcohol composition of Cornicabra virgin olive oil: the campesterol content exceeds the upper limit of 4% established by EU regulations. *Food Chemistry*, 84(4), 533-537.

**Dilis, V., & Trichopoulou, A. (2009).** Mediterranean diet and olive oil consumption- Estimations of daily intake of antioxidants from Virgin Olive Oil and olives. *Olive Oil. Minor Constituents and Health*, 201-210.

**Dimitrios, B. (2006).** Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(9), 505-512.

**-E-**

**Edziri, H., Jaziri, R., Chehab, H., Verschaeve, L., Flamini, G., Boujnah, D & Mastouri, M. (2019).** A comparative study on chemical composition, antibiofilm and biological activities of leaves extracts of four Tunisian olive cultivars. *Heliyon*, 5(5), e01604.

**Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.

**Endale, M., Park, S. C., Kim, S., Kim, S. H., Yang, Y., Cho, J. Y., & Rhee, M. H. (2013).** Quercetin disrupts tyrosine-phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase and myeloid differentiation factor-88 association, and inhibits MAPK/AP-1 and IKK/NF- $\kappa$ B-induced inflammatory mediators' production in RAW 264.7 cells. *Immunobiology*, 218(12), 1452-1467.

**Es-Safi, N. E., Kollmann, A., Khlifi, S., & Ducrot, P. H. (2007).** Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L. structure–activity relationship. *LWT-Food science and technology*, 40(7), 1246-1252.

**-F-**

**Fabbri, A., Lambardi, M., & Ozden-Tokatli, Y. (2009).** Olive Breeding. Dans Jain, S. M., & Priyadarshan, P. M, *Breeding plantation tree crops: Tropical species* Vol. 84, 423-465. Springer, New York.

**Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, 108-115.

**Fedeli, E. (1977).** Lipids of olives. *Progress in the chemistry of fats and other lipids*, 15(1), 57-74.

**Fernandes, F. H. A., & Salgado, H. R. N. (2016).** Gallic acid: review of the methods of determination and quantification. *Critical reviews in analytical chemistry*, 46(3), 257-265.

## Références bibliographiques

**Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M. L. M., & Araujo, M. E. M. (2006).** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*, 108(1), 31-37.

**Figueiredo-González, M., Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Carrasco Pancorbo, A., Simal-Gándara, J., & Cancho-Grande, B. (2018).** Nutraceutical Potential of Phenolics from Brava´ and Mansa´ Extra-Virgin Olive Oils on the Inhibition of Enzymes Associated to Neurodegenerative Disorders in Comparison with Those of Picual´ and Cornicabra´.

**Foti, M., Piattelli, M., Baratta, M. T., & Ruberto, G. (1996).** Flavonoids, coumarins, and cinnamic acids as antioxidants in a micellar system. Structure– activity relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(2), 497-501.

## -G-

**Galvano, F., La Fauci, L., Graziani, G., Ferracane, R., Masella, R., Di Giacomo, C., & Galvano, G. (2007).** Phenolic compounds and antioxidant activity of Italian extra virgin olive oil Monti Iblei. *Journal of Medicinal Food*, 10(4), 650-656.

**García, A., Brenes, M., García, P., Romero, C., & Garrido, A. (2003).** Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*, 216(6), 520-525.

**Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *Mécanismes Biochim L'Actualité Chim*, 6-91.

**Gigon, F., & Le Jeune, R. (2010).** Huile d'olive, *Olea europaea L.* *Phytothérapie*, 8(2), 129-135.

**Giuffrida, D., Salvo, F., Salvo, A., La Pera, L., & Dugo, G. (2007).** Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various sicilian olive varieties. *Food chemistry*, 101(2), 833-837.

## Références bibliographiques

**Gómez-Rico, A., Fregapane, G., & Salvador, M. D. (2008).** Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*, 41(4), 433-440.

**Google map. (2020).** Consulté le [27/05/2020]. Disponible à partir de : <https://www.google.dz/maps/@35.1029394,3.6492264,7z>

**Grigoriadou, D., Androulaki, A., Psomiadou, E., & Tsimidou, M. Z. (2007).** Solid phase extraction in the analysis of squalene and tocopherols in olive oil. *Food Chemistry*, 105(2), 675-680.

**Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S. E., & Apak, R. (2006).** Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. *International journal of food science & technology*, 41, 76-85.

**Guignard. (2004).** Systematique moleculaire. Botanique : la famille des plantes. Editions Masson, Paris, France, 336.

**Guirda, D., Francesco, S., & Rekik, B. (2005).** Pigment composition in monovarietal virgin olive oils from various silician olive varieties. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 28, 11-15.

**Gülçin L., Elias R., Gepdiremen A., Boyer L. et Koksal E. (2007).** A comparative Study on the antioxydant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus L.*) extracts. *Journal of biotechnology*. 6 (4): P.401-418.

**Gutiérrez-Rosales, F., Garrido-Fernández, J., Gallardo-Guerrero, L., Gandul-Rojas, B., & Mínguez-Mosquera, M. I. (1992).** Action of chlorophylls on the stability of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69(9), 866-871.



**-H-**

**Haddam, M., Chimi, H., & Amine, A. (2014).** Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. OCL, 21(5), D507.

**Hadjou, L., Lamani, O., & Cheriet, F. (2013).** Labellisation des huiles d'olive algériennes : contraintes et opportunités du processus ? New Medit, 12(2), 35-46.

**Halliwel, B. (1994).** Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. Lancet (British edition), 344(8924), 721-724.

**Halliwel, B. (1995).** Antioxydant characterisation, methodology and mechanism. Biochemistry and Pharmacology, 49, 1341-1349.

**Houghton, P. J., Ren, Y., & Howes, M. J. (2006).** Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. Natural Product Reports, 23(2), 181-199.

**Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of agricultural and food chemistry, 53(6), 1841-1856.

**-I-**

**Inarejos-García, A. M., Fregapane, G., & Salvador, M. D. (2011).** Effect of crushing on olive paste and virgin olive oil minor components. European Food Research and Technology, 232(3), 441-451.

**IndexMundi.** Algeria Olive Oil Production by year (2020) [25/07/2020]. Disponible à partir de : <https://www.indexmundi.com/agriculture/?country=dz&commodity=olive-oil&graph=production>

**Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., Chuenchom, K., Yuyaem, T., & Thongnoi, W. (2003).** Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. Journal of Ethnopharmacology, 89(2-3), 261-264.

**-J-**

**Jacotot, B. (1993).** L'huile d'olive de la gastronomie à la santé. Paris : Artulen. P 280.

**Jacotot, B. (1997).** Intérêt nutritionnel de la consommation de l'huile d'olive : Huile d'olive : production et marchés. OCL. Oléagineux, corps gras, lipides, 4(5), 373-374.

**Jayanthi, P., & Lalitha, P. (2011).** Reducing power of the solvent extracts of Eichhorniacrassipes (mart) Solms. Int J Pharm Pharm Sci, 3 (3): 126-128.

**Joaquin, V., & Carmen, D. (2002).** Oxidative stability of virgin olive oil Eur. J. Lipid Sci. Technol, 104, 661-676.

**Jungbluth, (2008).** Les espèces réactives de l'oxygène et leur principale implication dans la physiologie canine. Thèse de médecine vétérinaire. Lyon, 143.

**-K-**

**Kaiser, S., Di Mascio, P., Murphy, M. E., & Sies, H. (1990).** Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols. Archives of Biochemistry and Biophysics, 277(1), 101-108.

**Kallithraka, S., Bakker, J., & Clifford, M. N. (1997).** Effect of pH on astringency in model solutions and wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(6), 2211-2216.

**Kalua, C. M., Allen, M. S., Bedgood Jr, D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., & Robards, K. (2007).** Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. Food chemistry, 100(1), 273-286.

**Kalua, C. M., Allen, M. S., Bedgood Jr, D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., & Robards, K. (2007).** Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. Food chemistry, 100(1), 273-286.

## Références bibliographiques

**Kamal-Eldin, A., & Andersson, R. (1997).** A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 74(4), 375-380.

**Keceli, T., & Gordon, M. H. (2001).** The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(14), 1391-1396.

**Keys, A., Mienotti, A., Karvonen, M. J., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., & Kromhout, D. (1986).** The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *American journal of epidemiology*, 124(6), 903-915.

**Kiritsakis, A & Markakis,P. (1988).** Olive Oil: A Review. In *Advances in Food Research*, (Elsevier), 453–482.

**Kiritsakis, A. K. (1993).** La chimie de l'arôme de l'huile d'olive. *Olivæ*, 45, 28-33.

**Kiritsakis, A. K. (1998).** Flavor components of olive oil, A review. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 75(6), 673-681.

**Kiritsakis, A., Markakis, P. (1987).** Olive oil: A review. *Adv Food Res*, 31, 453-482.

**Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

**Kratz, M., Cullen, P., Kannenberg, F., Kassner, A., Fobker, M., Abuja, P. M., & Wahrburg, U. (2002).** Effects of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low-density lipoprotein. *European journal of clinical nutrition*, 56(1), 72-81.

**-L-**

**Laincer, F., Laribi, R., Tamendjari, A., Arrar, L., Rovellini, P., & Venturini, S. (2014).** Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y Aceites*, 65(1), 001.

## Références bibliographiques

**Lamani, O., & Ilbert, H. (2016).** Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie) : pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques. Montpellier : CIHEAM, 149-159.

**Lamuella-Raventós, R. M., Gimeno, E., Fitó, M., Castellote, A. I., Covas, M., DE LA TORRE-BORONAT, M. C., & LÓPEZ-SABATER, M. C. (2004).** Interaction of olive oil phenol antioxidant components with low-density lipoprotein. *Biological Research*, 37(2), 247-252.

**Laughton, M. J., Halliwell, B., Evans, P. J., Robin, J., & Houlst, S. (1989).** Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin: effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. *Biochemical pharmacology*, 38(17), 2859-2865.

**Lauretti, E., Iuliano, L., & Praticò, D. (2017).** Extra-virgin olive oil ameliorates cognition and neuropathology of the 3xTg mice: role of autophagy. *Annals of clinical and translational neurology*, 4(8), 564-574.

**Lavee. (1997).** Biologie et physiologie de l'olivier. Encyclopédie Mondiale de L'Olivier. COI, Madrid, Espagne. 60-110.

**Lavelli, V. (2002).** Comparison of the antioxidant activities of extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(26), 7704-7708.

**Lazzeri, Y. (2009).** Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne. In Conférence Centre Culturel Français de Tlemcen–Algérie (Novembre 2009). Institut Français à Tlemcen (p. 24).

**Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011).** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.

**Libbey, J. (2007).** Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux, 1396.

## Références bibliographiques

**Lien, E.J., Bui, H.H., Wang, R. (1999).** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 285-294.

**Llor, X., Pons, E., Roca, A., Alvarez, M., Mane, J., Fernandez-Banares, F., & Gassull, M. A. (2003).** The effects of fish oil, olive oil, oleic acid and linoleic acid on colorectal neoplastic processes. *Clinical Nutrition*, 22(1), 71-79.

**Loizzo, M. R., Di Lecce, G., Boselli, E., Menichini, F., & Frega, N. G. (2012).** Radical scavenging, total antioxidant capacity, and antiproliferative activity of phenolic extracts from extra virgin olive oil by cultivar 'Frantoio'. *International Journal of Food Properties*, 15(6), 1345-1357.

**López-López, A., Montaña, A., Ruíz-Méndez, M. V., & Garrido-Fernández, A. (2008).** Sterols, fatty alcohols, and triterpenic alcohols in commercial table olives. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(3), 253-262.

**Loussert, R., & Brousse, G. (1978).** L'olivier : techniques agricoles et productions méditerranéennes. Maisonneuve et Larose, Paris, 480.

**Luaces, P., Pérez, A. G., García, J. M., & Sanz, C. (2005).** Effects of heat-treatments of olive fruit on pigment composition of virgin olive oil. *Food chemistry*, 90(1-2), 169-174.

**Luminița, P. (2015).** Comparative evaluation of antioxidant capacity of herbal plants by different methods. *JOURNAL of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 19(4), 9-12.

## **-M-**

**Maas, E. V., & Hoffman, G. J. (1977).** Crop salt tolerance—current assessment. *Journal of the irrigation and drainage division*, 103(2), 115-134.

**Manai-Djebali, H., Krichène, D., Ouni, Y., Gallardo, L., Sánchez, J., Osorio, E., ... & Zarrouk, M. (2012).** Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 27(2), 109-119.

## Références bibliographiques

**Manzi, P., Panfili, G., Esti, M., & Pizzoferrato, L. (1998).** Natural antioxidants in the unsaponifiable fraction of virgin olive oils from different cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(1), 115-120.

**Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., & Saadi, A. (2014).** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International journal of biological and chemical sciences*, 8(4), 1865-1870.

**Miguel, M. G., Nunes, S., Dandlen, S. A., Cavaco, A. M., & Antunes, M. D. (2010).** Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3418-3423.

**Mika, A., Minibayeva, F., Beckett, R., & Lüthje, S. (2004).** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*, 3(1-2), 173-193.

**Mohammed, M, T., Kadhim, S M., Jassimand, A M N., Abbas, S I., (2015).** Free radicals and human health international journal of innovation sciences and research Vol.4, No.6, 218-223.

**Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

**Morchio G., R. De Anreis, E. Fedeli. (1987).** Investigations of Total Sterols Content in the Olive Oil and Their Variation During Refining Process. *Riv. Ital. Sost. Grasse* 64: 185-192.

**Morelló, J. R., Motilva, M. J., Tovar, M. J., & Romero, M. P. (2004).** Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85(3), 357-364.

**Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R., & Vattuone, M. A. (2000).** Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of ethnopharmacology*, 71(1-2), 109-114.

**Motard-Bélanger, A., Charest, A., Grenier, G., Paquin, P., Chouinard, Y., Lemieux, S., & Lamarche, B. (2008).** Study of the effect of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and

## Références bibliographiques

other risk factors for cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*, 87(3), 593-599.

**Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., ... & Parajó, J. C. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, 72(2), 145-171.

**Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010).** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.

### -O-

**Oçakoğlu Derya (2008).** Classification of Turkish virgin olive oils based on their phenolic profiles. Master's thesis, İzmir Institute of Technology, Food Engineering, Izmir. 94-103.

**Oliveras-López, M. J., Innocenti, M., Giaccherini, C., Ieri, F., Romani, A., & Mulinacci, N. (2007).** Study of the phenolic composition of spanish and italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids. *Talanta*, 73(4), 726-732.

**Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guérère, M., & Artaud, J. (2004).** Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. In *Annal Expert Forum Chem Toxicol*. Vol. 965, pp. 169-196.

**Oueslati, I., Anniva, C., Daoud, D., Tsimidou, M. Z., & Zarrouk, M. (2009).** Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: the commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. *Food Chemistry*, 112(3), 733-741.

**Owen, R. W., Giacosa, A., Hull, W. E., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalder, B., & Bartsch, H. (2000).** Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *The lancet oncology*, 1(2), 107-112.

**Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

## Références bibliographiques

**Özyürek, M., Güçlü, K., & Apak, R. (2011).** The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(4), 652-664.

**Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Celik, S. E., ... & Apak, R. (2011).** A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical methods*, 3(11), 2439-2453.

## **-P-**

**Paixao N., Persetrelo R., Maeques J.C .et Camara J.S. 2007.**Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red rosé and white wines. *Food Chemistry*, 105: 204-214.

**Park, Y. K., Koo, M. H., Ikegaki, M., & Contado, J. L. (1997).** Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de biologia e tecnologia. Inst Tecnologia Parana*, 40(1), 97-106.

**Perva-Uzunalić, A., Škerget, M., Knez, Ž., Weinreich, B., Otto, F., & Grüner, S. (2006).** Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food chemistry*, 96(4), 597-605.

**Pinatel, C., Petit, C., Ollivier, D., & Artaud, J. (2004).** Outils pour l'amélioration organoleptique des huiles d'olive vierges. *Oléagineux, corps gras, lipides*, 11(3), 217-222.

**Piquet, M. A., & Hébuterne, X. (2007).** Nutrition en pathologie digestive. *Doin*, 16-20.

**Psomiadou, E., Tsimidou, M., & Boskou, D. (2000).**  $\alpha$ -Tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(5), 1770-1775.

**Puppo, A. (1992).** Effect of flavonoids on hydroxyl radical formation by Fenton-type reactions; influence of the iron chelator. *Phytochemistry*, 31(1), 85-88.



**-R-**

**Ranalli, A., Ferrante, M. L., De Mattia, G., & Costantini, N. (1999).** Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(2), 417-424.

**Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999).** Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26: 1231- 1237.

**Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

**Retsky, K. L., Chen, K., Zeind, J., & Frei, B. (1999).** Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(1-2), 90-98.

**Rojas, L. B., Quideau, S., Pardon, P., & Charrouf, Z. (2005).** Colorimetric evaluation of phenolic content and GC-MS characterization of phenolic composition of alimentary and cosmetic argan oil and press cake. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(23), 9122-9127.

**Rotondo, S., Iacoviello, L., & de Gaetano, G. (2000).** Consumo lieve-moderato di alcol e rischio di ictus fra medici americani di sesso maschile. *Italian Heart Journal*, 1(4 Suppl), 569-570.

**Rouas, S., Rahmani, M., Antari, A. E., Baamal, L., Idrissi, D. J., Souizi, A., & Maata, N. (2016).** Effect of geographical conditions (altitude and pedology) and age of olive plantations on the typicality of olive oil in Moulay Driss Zarhoun. *Mediterr. J. Biol*, 1, 128-137.

**Rubio, S., Quintana, J., López, M., Eiroa, J. L., Triana, J., & Estévez, F. (2006).** Phenylbenzopyrones structure-activity studies identify betuletol derivatives as potential antitumoral agents. *European journal of pharmacology*, 548(1-3), 9-20.

## Références bibliographiques

**Ryan, D., Prenzler, P. D., Lavee, S., Antolovich, M., & Robards, K. (2003).** Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's Mammoth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2532-2538.

## -S-

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

**Samaniego-Sánchez, C., Quesada-Granados, J. J., de la Serrana, H. L. G., & López-Martínez, M. C. (2010).**  $\beta$ -Carotene, squalene and waxes determined by chromatographic method in picual extra virgin olive oil obtained by a new cold extraction system. *Journal of food composition and analysis*, 23(7), 671-676.

**Šarolić, M., Gugić, M., Marijanović, Z., & Šuste, M. (2014).** Virgin olive oil and nutrition. *Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, 3(1), 38-43.

**Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., & Rice-Evans, C. (2002).** MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of aging*, 23(5), 861-880.

**Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V., & Lampi, A. M. (2008).** Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(2), 152-161.

**Servili, M., Sordini, B., Esposito, S., Urbani, S., Veneziani, G., Di Maio, I., ... & Taticchi, A. (2014).** Biological activities of phenolic compounds of extra virgin olive oil. *Antioxidants*, 3(1), 1-23.

**Sherwin, E. R. (1976).** Antioxidants for vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53(6Part2), 430-436.

## Références bibliographiques

**Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

**Smirnoff, N. (2005).** Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*, 141-210.

**Spizzirri, U. G., Carullo, G., Aiello, F., Paolino, D., & Restuccia, D. (2020).** Valorisation of olive oil pomace extracts for a functional pear beverage formulation. *International Journal of Food Science & Technology*.

## -T-

**Talhaoui, N., Gómez-Caravaca, A. M., León, L., De la Rosa, R., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2016).** From olive fruits to olive oil: phenolic compound transfer in six different olive cultivars grown under the same agronomical conditions. *International journal of molecular sciences*, 17(3), 337.

**Tekaya, I. B., & Hassouna, M. (2007).** Effets des chlorophylles, du bêta-carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 14(1), 60-67.

**Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816-822.

**Trichopoulou, A., & Lagiou, P. (1997).** Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of culture, history, and lifestyle. *Nutrition reviews*, 55(11), 383-389.

**Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., & La Guardia, M. (2005).** The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition research reviews*, 18(1), 98-112.

**Tsimidou, M. (1998).** Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect *Olea europaea* L. *Italian Journal of Food Science (Italy)*, 10(2), 1120-1170.

## Références bibliographiques

**Tsimidou, M., Blekas, G., & Boskou, D. (2003).** Olive oil. Encyclopedia of food science, food technology and nutrition, 4252-4260.

**Tura, D., Gigliotti, C., Pedò, S., Failla, O., Bassi, D., & Serraiocco, A. (2007).** Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europea L.*) and correlations with oxidative stability. Scientia horticulturae, 112(1), 108-119.

### -U-

**Uzzan, A. (1992).** Huile d'olive. Manuel des corps gras. Tome I. Tec et Doc Lavoisier. 763-768.

### -V-

**Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-biological interactions, 160(1), 1-40.

**Veillet, S. (2010).** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Science des procédés, sciences des aliments. Université d'Avignon. 306, 28-35.

**Venkateshwarlu, G., Let, M. B., Meyer, A. S., & Jacobsen, C. (2004).** Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. Journal of agricultural and food chemistry, 52(6), 1635-1641.

**Verleyen, T. (2002).** Stability of Minor Components During Vegetable Oil Refining, Applied biological sciences, chemistry. University of Gent. Gant, 277.

**Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2007).** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta, 71(1), 230-235.

**Violap. (1998).** L'olivier, l'huile d'olive Conseil Oléicole International, 115.

## Références bibliographiques

**Visioli, F., Borsani, L., & Galli, C. (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research*, 47(3), 419-425.

### **-W-**

**Wang, L., Yen, J. H., Liang, H. L., & Wu, M. J. (2003).** Antioxidant effect of methanol extracts from lotus plumule and blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.). *Journal of food and drug Analysis*, 11(1), 60-66.

**Willows, R. D., Li, Y., Scheer, H., & Chen, M. (2013).** Structure of chlorophyll f. *Organic letters*, 15(7), 1588-1590.

### **-Y-**

**Yoshida, H., Kajimoto, G., & Emura, S. (1993).** Antioxidant effects of d-tocopherols at different concentrations in oils during microwave heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(10), 989-9.

Année universitaire : 2019/2020  
Date de soutenance : 21/09/2020

Présenté par : ZERTAL Hadjer  
ZIADA Meryem Ikram

## Intitulé : Huile d'olive d'Algérie : Etude des propriétés antioxydantes et anti-Alzheimer

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en  
Biochimie Appliquée

### Résumé :

L'huile d'olive, aussi appelé « l'or vert », est l'une des huiles végétales les plus importantes en vertus nutritionnelles et thérapeutiques car elle est caractérisée par sa richesse en matière organique représentée essentiellement par les composés phénoliques. Ces derniers sont, par excellence, des inhibiteurs de l'oxydation par piégeage des radicaux libres, identifiés comme des antioxydants naturels.

Cette étude a été réalisée dans l'objectif d'évaluer l'activité antioxydante et inhibitrice des enzymes de vingt-neuf extraits méthanoliques d'huiles d'olive de différentes variétés et issues de plusieurs régions. Cette activité antioxydante a été mesurer *in vitro* par l'utilisation des méthodes antiradicalaires DPPH, ABTS, CUPRAC et le pouvoir réducteur. L'activité enzymatique a été testée pour l'évaluation du pouvoir anti Alzheimer en utilisant l'acétylcholinestérase (AChE) comme model.

Les résultats obtenus ont montré une inhibition importante des radicaux libres avec des valeurs significatives. Les variétés *Limeli*, *Aaleth* et *Aimel* de SIDI-AICH ont montrées les meilleures valeurs ainsi que *Sigoise* et *Chemlal* d'OUED SOUF. Ces derniers, à savoir *Sigoise* et *Chemlal*, ont également enregistré les meilleures valeurs dans l'activité anti- Alzheimer.

Au terme de cette étude, nous constatons que les huiles d'olive testées sont tout de même riches en polyphénols et flavonoïdes et que les polyphénols ont une grande capacité de piégeage des radicaux libres et donnent ainsi une activité antioxydante assez importante.

**Mots clés :** Huile d'olive, variété, polyphénols, antioxydant, activité antioxydante, DPPH, ABTS, CUPRAC, activité enzymatique.

**Laboratoire de recherche :** Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBt)  
Laboratoire en Biochimie Appliquée

### Jury d'évaluation :

Président du jury :	Mr. Mokrani El-Hassen	Maitre assistant A, UFM-Constantine 1.
Encadreur :	Mr. MEBREK Saad	Maitre de recherche B, CRBt.
Examineur :	Mr. Bensouici Chawki	Maitre de recherche B, CRBt.