



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département: de la Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie Appliqué

Intitulé :

**Etude de l'activité antioxydante, anti Alzheimer et anti
diabétique d'huile d'olive et de la margine**

Présenté par : TLILANI ZINEB

Date de soutenance: 21/07/2019

BENSAIDA OUMEIMA

Membres du jury :

Présidente du jury : M^{me} Medoukali I. Maitre de conférences « b » - UFM constantine 1.

Encadreur : M^{me} Moussaoui S. Maitre de conférences « b » - UFM constantine 1.

Examinatrice : M^{me} Guendouze A. Maitre Assistante « b » - UFM constantine 1.

Année universitaire

2018 - 2019

*Remerciements
et dédicaces*

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord **Allah** le tout puissant de nos avoir donné la Santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement notre professeur **M^{elle} Moussaoui** enseignante à l'université de frère mentouri d'avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger.*

Nous ne saurions jamais oublier sa disponibilité, Sa compétence et la confiance qu'ils nous ont témoignées ont été déterminantes dans la réalisation de notre travail de recherche.

*Nous remercions aussi **Mr Bensouici Chaouki** responsable du laboratoire de la Biochimie et tous les membres de l'équipe du centre de recherche en biotechnologies.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à l'ensemble des membres de jury, **M^{me} Medoukali Imen** en tant que présidente de jury et **M^{me} Guendouze Assia** en tant qu'examinatrice, pour avoir mobilisé de leur temps pour examiner et juger ce travail.*

*Nous remercions aussi l'équipe du laboratoire pédagogique de Biochimie à savoir : **Nabil, Hamida et Hocine.***

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin afin que notre travail puisse voir le jour.



Dédicaces

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail, également je remercie infiniment mes parents, qui m'ont encouragé et aide à arriver à ce stade de ma formation.

Je dédie ce travail à mes très chers sœurs Rofya, Rayane, Lina mariya qui m'ont toujours soutenu et aidée et je dédie surtout à sont enfants Raid islam, Kibat erahman, Rodayna, Abed erahman Que dieu les protège

À mon fiancé Otef

À ma tante, mes oncles

Toute la famille bensaida et beljaoui et chaoui

À toi ma meilleur et adorable binôme Zineb

Toutes personnes que j'aime et mes collègues



♥ Oumeima ♥

Dédicaces



À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser
ce travail que je dédie :

À ma chère et adorable mère : **Boulkamh Safia** Pour son affection, sa patience,
sa compréhension, sa disponibilité, et son soutien sans égal dans les moments les
plus difficiles de ma vie.

À mon père: **Ali** Pour ses précieux conseils.

À mes frères : **Abdeehman et Abdeeljalil** pour toute ses encouragements.

À mes sœurs: **Mayssoune et Balkisse** pour leur soutien durant mon parcours
universitaire plus particulièrement ce mémoire.

Et à ma petite sœur: **Oya tassnim** que je l'aime profondément.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers
familles que je le dois Que Dieu les protèges.

À toutes mes amies et surtout **Oumeima**

À vous

J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle Soit
l'accomplissement de tous tes efforts



♥ zineb ♥

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures et des tableaux

Introduction 1

Etude Bibliographique

I. Aperçu bibliographique de l'huile et la margine d'olives 3

I.1. Huile d'olive 3

I.1.1. Définition 3

I.1.2. Catégories d'huile d'olive 3

I.1.3. Composition d'huile d'olive 4

I.1.4. Activités biologiques de l'huile d'olive 7

I.2. La margine 7

I.2.1. Définition 7

I.2.2. Caractéristiques physico-chimiques de la margine 7

I.2.3. Composition chimique de la margine 8

I.2.4. Effets biologiques 9

I.2.5. Effets sur l'environnement 9

II. Métabolites secondaires et stress oxydatif 10

II.1. Métabolites secondaires 10

II.1.1. Composés phénoliques ou polyphénols 10

II.1.2. Composés azotés 12

II.2. Stress oxydatif 12

II.2.1. Définition 12

II.2.2. Radical libre	12
II.2.3. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	13
II.2.4. Système antioxydant	13

Matériels et méthodes

1. Matière première utilisée	19
2. Extraction des composés phénoliques d'huile d'olive	19
3. Extraction des polyphénols de la margine	20
4. Dosage des polyphénols totaux par le réactif de folin – ciocalteau	20
5. Dosage des flavonoïdes totaux	22
6. Evaluation <i>in vitro</i> des activités biologiques	24
6.1. Activité antioxydante	24
6.1.1. Le test de piégeage du radical DPPH	24
6.1.2. Test de l'activité ABTS	26
6.1.3. Superoxide DMSO alcalin	26
6.1.4. Pouvoir réducteur	27
6.1.5. Activité de chélation du cuivre (CCA)	28
6.1.6. Dosage de balayage du radical hydroxyle	29
6.2. Activité enzymatique	29
6.2.1. Activité d'acétylcholinestérase inhibitrice	29
6.2.2. Activité butyrylcholinestérase inhibitrice	30
6.2.3. L'activité inhibitrice de l'α-glucosidase	30

Résultats et discussion

1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	32
---	-----------

2. Etude de l'activité antioxydante	34
2.1. Dosage de balayage du radical libre DPPH.....	34
2.2. Activité de chélation du cuivre (CCA)	36
2.3. Dosage de balayage ABTS.....	37
2.4. Balayage du radical hydroxyl.....	38
2.5. Pouvoir réducteur.....	39
2.6. Activité superoxyde DMSO alcalin.....	41
3. Etude de l'activité enzymatique.....	42
3.1. Activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase.....	42
3.2. Activité inhibitrice d'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase.....	43
Conclusion.....	47
Références bibliographiques	
Résumés	

Liste des abréviations

µg GAE: microgramme équivalent d'acide gallique

µg QE: microgramme équivalent de quercitine

¹O₂: L'oxygène singulet

A_{0.50}: Absorbance inhibitrice médiane

ABTS : Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

AChE : Acétylcholinestérase

ADN : acide désoxyribonucléique

BChE : butyrylcholinestérase

BHA : buthylhydroxyanisole

BHT : buthylhydroxytoluène

C₂₉H₅₀O : Formule brute du β-sitostérol

C₂₉H₅₀O₂ : formule brute d'α-tocophérol,

C₃₀H₅₀ : Formule brute du squalène

CCA : Activité de chélation du cuivre

CH₃COOK : Acétate de potassium

CO₃: trioxyde de Carbone

CuSO₄: sulfate de cuivre

DCO : la demande chimique en oxygène

DMSO : diméthyle sulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle

DTNB : Elleman's Réagent, 5,5'-Dithiobis – (2-NitrobenzoicAcid)

EAG: Equivalant d'acide gallique

EDTA: Ethylene Diamine Tetra Acetic acid

EHO : Extrait d'huile d'olive

EMO : Extrait de la margine d'olive

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FCR : Réactif de Folin–Ciocalteu

FeCl₂: chlorure de fer

FeCl₃ : ferrique chloride

FeSO₄ : Sulfate de fer

GSH-Px : glutathion peroxydases

H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène

H₃MO₁₂O₄₀ P : l'acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : l'acide phosphotungstique

HCL : acide chlorhydrique

HO₂ : radical perhydroxyl

IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane

K₂₃₂ : Coefficient d'extinction spécifique à 232nm.

K₂₇₀ : Coefficient d'extinction spécifique à 270nm.

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium

K₃Fe (CN)₆ : Potassium ferricyanide

LDL: Low Density lipoprotein

L-DOPA: 3, 4-dihydroxyphénylanine

MeOH : Méthanol

méq : milliéquivalent

Na₂CO₃ : Sodium carbonate

NADP : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NaOH : soude

NBT: Nitro Bleu Tétrazolium

NO₃: Nitrate

O²⁻ : Anion superoxyde

OH[•] : Radical hydroxyl

OH: Hydroxyle d'oxygène

PV : pyrocatechol violet

R[•]: Radical alkyle

ROO[•] : Radicaux peroxydes

S_m : solution mère

SO₄: sulfate

SOD : Superoxyde dismutases

TCA: tri-chloro acétique acid

TFC : Teneur en composés flavonoïdes

TPC : Teneur en composés phénoliques totale

unit /ml : unité par milli litre

Liste des figures

Figure 1 : Schéma du procédé d'extraction de l'huile d'olive avec les sous-produits engendrés...	3
Figure 2 : Structure du squalène, C ₃₀ H ₅₀	5
Figure 3 : Structure du β-sitostérol, C ₂₉ H ₅₀ O.....	6
Figure 4 : Structure d'α-tocophérol, C ₂₉ H ₅₀ O ₂	6
Figure 5 : Les types des tanins et leurs structures de base.....	11
Figure 6 : Schéma explicatif du phénomène du stress oxydatif.....	12
Figure 7 : Réduction en quatre étapes de l'oxygène moléculaire en eau.....	13
Figure 8 : Différentes sources d'antioxydant.....	16
Figure 9 : cycle oxydo-réducteur du glutathion.....	18
Figure 10 : Différentes étapes d'extraction des composés phénoliques d'huile d'olive	19
Figure11 : Différentes étapes d'extraction des composés phénoliques de la margine	20
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	21
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.....	23
Figure 14 : Forme libre et réduite du DPPH.....	25
Figure15 : Principe de la réaction de l'activité de chélation du cuivre.....	28
Figure 16 : Mode d'action de l'activité de l' α-glucosidase.....	31
Figure 17 : Profil de la microplaque de dosage des composés phénoliques.....	32
Figure 18 : Histogramme représentent la teneur en composés phénoliques totale (TPC) et en flavonoïdes (TFC) des extraits.....	32
Figure 19 : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti radicalaire DPPH.....	35
Figure 20 : Profil de la microplaque du dosage de l'ACC.....	36
Figure 21 : Courbe représentant les pourcentages d'inhibition de l'activité de chélation du cuivre des extraits en fonction des concentrations.....	36

Figure 22 : Profil de la microplaque de l'activité de balayage ABTS.....	36
Figure 23 : Profil de la microplaque du Balayage du radical hydroxyle.....	39
Figure 24 : Profil de la microplaque de l'activité de pouvoir réducteur.....	40
Figure 25 : Courbes représentant le pouvoir d'inhibition des différents extraits et standards.....	40
Figure 26 : Profil de la microplaque de l'activité inhibitrice d'AChE.....	44
Figure 27 : Courbe représentant le pourcentage d'inhibition de l'activité acétylcholinestérase par les extraits et le standard en fonction des concentrations.....	44
Figure 28 : Courbe représentant le pourcentage d'inhibition de l'activité butyrylcholinestérase par les extraits et le standard en fonction des concentrations.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes catégories d'huile d'olive vierge et leurs critères de qualité.....	4
Tableau 2 : Composition chimique générale des margine.....	8
Tableau 3: Gamme d'étalon de l'acide gallique.....	22
Tableau 4: Gamme d'étalon de la quercétine.....	24
Tableau 5 : Teneur en composés phénoliques totale (TPC) et en flavonoïdes (TFC) des extraits ...	33
Tableau 6 : Valeurs d'IC ₅₀ du test DPPH des extraits.....	35
Tableau 7 : Valeurs d'IC ₅₀ du test de chélation du cuivre des extraits.....	37
Tableau 8 : Valeurs(A _{0,50}) du test de balayage ABTS des extraits.....	38
Tableau 9 : Valeurs d'IC ₅₀ du test de Balayage du radical hydroxyle des extraits.....	39
Tableau 10 : Valeurs (A _{0,50}) du test pouvoir réducteur des échantillons et standards.....	41
Tableau 11 : Valeurs d'IC ₅₀ de l'activité superoxide DMSO alcalin des extraits et standards.....	42
Tableau 12 : Valeurs d'IC ₅₀ de test inhibiteur de l'alpha-glucosidase des extraits et du standard...	43
Tableau 13: Valeurs d'IC ₅₀ du test de l'activité inhibitrice d'AChE et du BChE des extraits.....	45

Introduction

Introduction

L'huile d'olive est le produit méditerranéen par excellence, connu pour son action bénéfique sur la santé. On la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours (Veillet S. 2010). La production mondiale de l'huile d'olive présente une tendance haussière, la production moyenne de 2011 à 2016 est de 2.944.500 tonnes contre 2.784.800 tonnes de 2005 à 2010. Les pays du Maghreb consacrent de plus en plus d'importantes étendues à l'oléiculture. Parallèlement à l'extension en surface des oliveraies, la culture de l'olivier, la récolte des olives et l'élaboration d'huile d'olive ont beaucoup évolué ces dernières années avec l'introduction de nouvelles variétés et l'automatisation croissante des huileries (Mansouri et *al.*, 2016).

Il est à noter ; que l'huile d'olive et le sous-produit oléicole « la margine » procure des bienfaits innombrables pour la prévention de nombreuses maladies, ils sont caractérisés par leur confinement d'au moins 30 composés phénoliques, leur pouvoir antioxydant naturel qui suscite plus d'intérêt pour la prévention du cancer, des maladies inflammatoires, le diabète, la maladie d'Alzheimer et les maladies cardiovasculaires (El-Boustani *et al.*, 2004). De plus, les polyphénols captent l'intérêt des chercheurs et occupent une place impressionnante parmi plusieurs recherches menées depuis plus d'une dizaine d'années, concernant le concept d'alimentation santé (Bondia-Pons et *al.*, 2009 ; Chew et *al.*, 2009).

Sur cette base, le présent travail avait pour objectifs de :

- Déterminer la teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes des deux extraits d'huile d'olive et la margine.
- Evaluer l'activité antioxydante des extraits en utilisant diverses méthodes (le piégeage du radical libre DPPH, la chélation du cuivre, l'ABTS, le superoxyde DMSO alcalin, le balayage du radical hydroxyle et le pouvoir réducteur).
- Estimer l'activité anti-Alzheimer et antidiabétique des extraits en utilisant des tests enzymatiques.

Notre manuscrit est scindé en trois parties, nous apportons à la première une analyse bibliographique au sein de laquelle nous apportons des généralités sur l'huile et la margine d'olives et leurs activités biologiques. La seconde partie présente le matériel

biologique et la méthodologie de travail. La troisième partie abordera les différents résultats et leur discussion. Enfin, nous achevons notre écrit par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

*Etude
bibliographique*

I. Aperçu bibliographique de l'huile et la margine d'olives

I.1. Huile d'olive

I.1.1. Définition

L'huile d'olive est considérée comme l'un des aliments traditionnels les plus réputés au monde (Özge S.*et al.*, 2019), elle a le plus impact dans la région méditerranéenne, que ce soit sur le plan économique, social et culturel. Elle provient de l'extraction du fruit d'olivier (*Olea europaea L*) par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions données, notamment thermiques, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile. C'est l'un des rares types d'huile ne nécessitant aucun raffinage, mais simplement lavage, filtration, décantation ou centrifugation, avant consommation (Özge S. *et al.*, 2019, Benyahia N. *et al.*, 2003, Luisa H. *et al.*, 2019, Berzas N.*et al.*, 2009, Denis O. *et al.*,2004) (Figure 1).

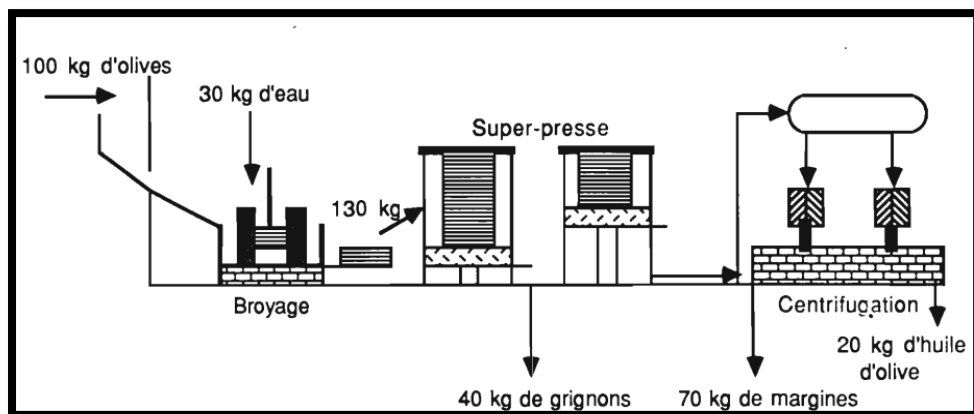


Figure 1 : Schéma du procédé d'extraction de l'huile d'olive avec les sous-produits engendrés (Moktar H. 1991).

I.1.2. Catégories d'huile d'olive

L'huile d'olive comprend diverses catégories établies selon ses caractéristiques (Benyahia N. *et al.*, 2003) : huile d'olive vierge extra, huile d'olive vierge, huile d'olive vierge courante, huile d'olive vierge lampante (Lakonis 2012). Le tableau 1 montre les normes chimiques évaluées pour classer les niveaux de la qualité des huiles d'olive vierges.

Tableau 1 : Les différentes catégories d’huile d’olive vierge et leurs critères de qualité
(Lakonis 2012, Claudio P. 2014).

Huiles Paramètres	Huile d’olive extra vierge	Huile d’olive vierge	Huile d’olive courante	Huile d’olive vierge lampante
Acidité libre (%d’acide oléique)	≤ 0,8	≤ 2	≤ 3,3	> 3,3
Indice de peroxyde (még O₂/Kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité
Extinction spécifique (UV)				
-K₂₃₂	≤ 2,5	≤ 2,6	-	-
-K₂₇₀	≤ 0,22	≤ 0,25	≤ 0,3	-

I.1.3. Composition d’huile d’olive

L’huile d’olive est un jus naturel qui garde toutes les qualités qui existaient aussi dans le fruit, comme les composants bioactifs notamment des substances essentielles (vitamines) ou non essentielles (polyphénols) (LAKONIS 2012, Özge S. et al., 2019). En octobre 2017 Cristina Angeloni et al ont montré que la teneur en polyphénols est responsable du goût des différentes huiles d’olive.

I.1.3.1. Composés phénoliques

Les huiles d’olive vierges sont riches en composés phénoliques appartenant à diverses familles (Denis O. et al., 2004, Cristina A. et al., 2017). Ces derniers sont des métabolites secondaires possédant au moins un cycle aromatique portant un ou plusieurs substituants hydroxyls (Özge S. et al., 2019). Les principales sous-classes phénoliques présentes dans l’huile d’olive sont : les alcools phénoliques, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignanes et les secoiridoïdes. Elles ont des effets antimicrobiens, antioxydants et anti-inflammatoires démontrés dans de nombreuses études. Certains composés phénoliques non volatils stimulent les récepteurs du goût tels que la perception de l’amertume, le piquant,

l'astringence et les attributs métalliques (Denis O. *et al.*, 2004, Cristina A. *et al.*, 2017, Özge S.*et al.*, 2019, Zullo B.A.*et al.*, 2019).

I.1.3.2. Bioactifs lipophiles

a) Squalène

Le squalène est un hydrocarbure polyinsaturé du type triterpène, liquide à la température ambiante. En raison de sa forte nature hydrophobe et de sa structure non saturée (Figure 2). La teneur en squalène dans l'huile d'olive est très élevée (Özge S.*et al.*, 2019), c'est un facteur clés établis pour la résistance de l'huile à l'autoxydation (Özge S.*et al.*, 2019, Maria Z. T. 2006).

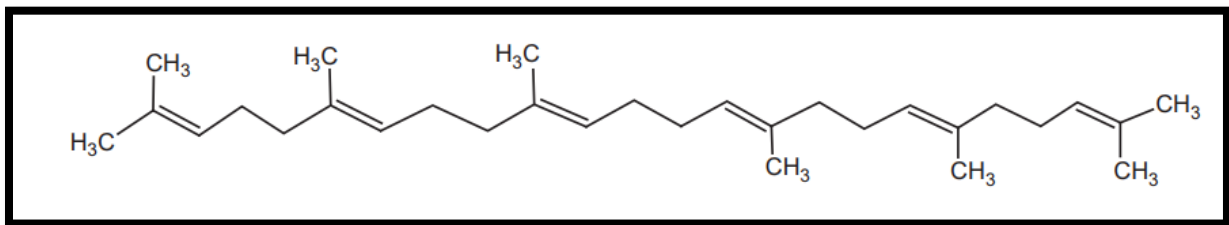


Figure 2 : Structure du squalène, C₃₀H₅₀ (Özge S. et Charis M.G. 2019).

b) Phytostérols

Les stérols sont triterpénoïdes ou isoprénoïdes, dérivés bio synthétiquement du squalène, se caractérisent par une proportion élevée d'acides gras insaturés, présents sous quatre formes : les stérols libres et les formes conjuguées qui sont des esters de stérols, des glycosides de stérols et des glycosides d'acylstérols (Özge S.*et al.*, 2019). Les stérols libres jouent un rôle dans l'inhibition de l'absorption du cholestérol par l'intestin, diminuant ainsi le risque des maladies cardiovasculaires (Özge S.*et al.*, 2019, Maria Z. T 2006, Mario J.*et al.*, 2010) (Figure 3).

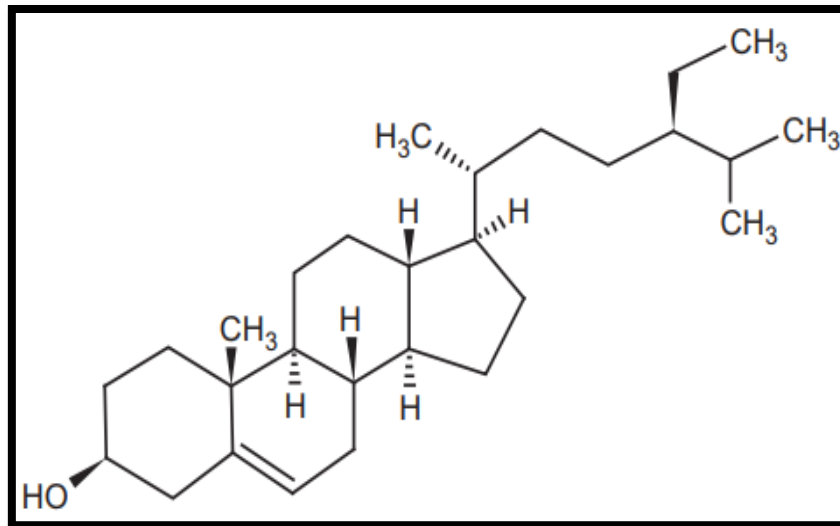


Figure 3 : Structure du β -sitostérol, $C_{29}H_{50}O$ (Özge S. et Charis M.G 2019).

c) Tocophérols

Les tocophérols sont constitués d'un cycle chromane et d'une longue chaîne phytyle saturée (Figure 4), à la température ambiante les tocophérols sont des huiles visqueuses et sont lentement oxydés par l'oxygène atmosphérique, ce sont des composés liés au tocol. Les tocophérols (α , β , δ , γ) et les tocotriénols appartiennent à la vitamine E, des bioactifs particulièrement importants dans les huiles végétales (Özge S. et al 2019), principalement en raison de leurs effets antioxydants (Özge S. et al., 2019, Bruna R 2019, Maria Z. T. 2006, Mario J. S. et al., 2010, B.A. Zullo et G. Ciafardini 2019).

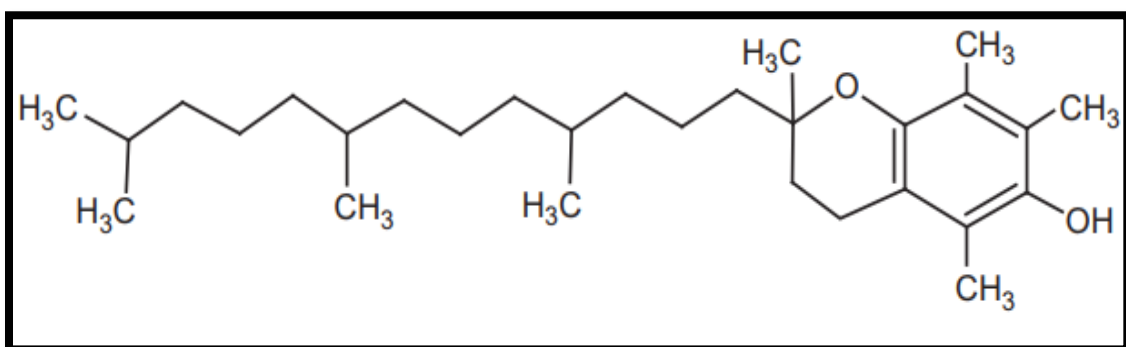


Figure 4 : Structure d' α -tocophérol, $C_{29}H_{50}O_2$ (Özge S. et Charis M.G. 2019).

I.1.4. Activités biologiques de l'huile d'olive

I.1.4.1. Activité antioxydante et anti alzheimer

La composition caractéristique de l'huile d'olive est la présence des antioxydants tels que les polyphénols qui sont des facteurs clés établis fournissant des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Maria Z.T. 2006, Bruna R. S. *et* Andréa M.A.C. 2019, Mario J. S. *et al.*, 2010, Zullo B.A , G. Ciafardini 2019).

Il a été prouvé qu'un régime alimentaire riche en huile d'olive contribue à lutter contre les troubles neurodégénératives, tels que la maladie d'Alzheimer en réduisant à la fois le dépôt de la protéine A β extracellulaires et l'enchevêtrement neurofibrillaire interférant à différents niveaux avec leur production et leur clairance. Ces maladies représentent un problème de santé primaire, en particulier chez les personnes âgées (Cristina A.*et al.*, 2017).

De même ; l'huile d'olive vierge est reconnue dans le monde entier pour ses valeurs nutritionnelles et ses nombreux avantages pour la santé, tels que la réduction des maladies cardiovasculaires, l'atténuation des signes de vieillissement ; la réduction de la synthèse de catécholamine induisant ainsi les modifications des réponses inflammatoires. De même la consommation quotidienne d'huile d'olive a été démontrée d'avoir d'autres nombreuses activités biologiques à savoir : l'activité antiallergique, anti-infarctus, antidiabétique, antiviral et antiprolifératif (Maria Z. T 2006, Bruna R.S *et* Andréa M.A.C 2019, Mario J. S.*et al.*, 2010, B.A.*et* Zullo, G. Ciafardini 2019, Cristina A.*et al.*, 2017).

I.2. La margine

I.2.1. Définition

La margine est l'effluent liquide résultant de l'extraction d'huile d'olive, c'est un rejet très riche en matières organiques et elle est considérée comme une source très riche en antioxydants naturels tels que : les polyphénols. Ces derniers ont montré des propriétés antimicrobiennes, hypolipidémiques, hypocholestérolémiantes et anticancérigènes (Benyahia N.*et al.*, 2003, Gharby S .2013, Ouabou E.*et al.*,2014 ^{a,b}).

I.2.2. Caractéristiques physico-chimiques de la margine

La margine se caractérise par sa couleur brune à brun rougeâtre, d'aspect trouble, d'une odeur agréable avec un goût amer (Benyahia N *et* Zein K. 2003, karray M.H., 2013).

Ces effluents sont riches en matières organiques et en polyphénols peu biodégradables, aussi ; ils ont une forte charge saline et sont très acides. Ces eaux sont caractérisées par un pH de 4.5 à 5 et une conductivité de l'ordre de 10 mS/cm, due surtout aux ions potassium, chlorure, calcium et magnésium. La demande chimique en oxygène peut varier de 50 à 220 g/l (Benyahia N. et Zein K., 2003, Ouabou E. *et al.*, 2014^{a,b}, karray M.H. 2013, Nefzaoui A. 1991).

I.2.3. Composition chimique de la margine

De nombreux facteurs influencent sur la composition chimique des margines, en particulier le mode d'extraction de l'huile, la période de production (Benyahia N. et Zein K. 2003) le stade de la maturation des olives, aussi la variété des olives (Ouabou E. *et al.*, 2014, karray M.H. 2013). Le tableau 2 montres les différents composants avec leurs pourcentages dans la margine.

Tableau 2 : Composition chimique générale des margines (Benyahia N. et Zein K. 2003).

Composants	Teneur [%]
Eau	83 – 88 %
Matière organique	10.5 – 15 %
Matières minérales	1.5 – 2 %
Matières azotées totales	1.25 – 2.4 %
Matières grasses	0.03 – 1 %
Polyphénols	1.0 – 1.5 %

I.2.3.1. Matière organique

La margine est fortement riche en matières organiques telles que : les glucides, les composés azotés, les vitamines, les huiles et les acides organiques.

a) Les glucides, les composés azotés et les vitamines

Plusieurs sucres simples sont présents dans la margine : raffinose, mannose, saccharose, glucose, arabinose et xylose. La fraction azotée est principalement représentée par des protéines et des acides aminés, les plus abondants sont les acides aspartique et glutamique, la

proline et la glycine. En ce qui concerne les vitamines, plusieurs ont été identifiées dans les margines notamment les vitamines du groupe B (Moktar H. 1991).

b) Les huiles et les acides organiques

Selon le processus d'extraction, la concentration d'huile résiduaire dans les margines est très variable, aussi l'acide gras le plus abondant est l'acide oléique avec un pourcentage de 65%, en plus les principaux acides organiques présents dans la margine sont les acides fumariques, glycérique, lactique, malique et malonique (Moktar H.1991).

I.2.3.2. Composés phénoliques

Les polyphénols identifiés dans la margine sont caractérisés par une grande complexité et variabilité, les composants hydrophiles sont les plus représentés et incluent les alcools phényliques, les acides phénoliques, les dérivés de secoiridoïdes, les flavonoïdes et les lignanes (Moktar H.1991, Malika. N 2015). Selon Obeid *et al.*, 2007 et Bianco *et al.*, 2003 les composés phénoliques majeurs identifiés sont : l'hydroxytyrosol, l'hydroxytyrosol glycosylé, le tyrosol, l'acide cafféique, le verbascoside, l'oleuropéine, la lutéoline, la quercétine, l'apéginine et la rutine.

I.2.4. Effets biologiques

Il paraît clairement que les polyphénols extraits des margines sont des antioxydants efficaces qui présentent des avantages importants, la plus part des antioxydants sont synthétisés au moyen de processus physiologique naturel, tandis que les autres proviennent de l'alimentation, notamment les composés phénoliques qui se trouvent en grande concentration dans la margine (Marc F. *et al.*, 2004, Aggoun A.M. 2016, S. Gharby *et al.*, 2014). Cette dernière possède autres diverses activités biologiques telles que : une baisse dans le niveau de la glycémie, le pouvoir antimicrobien, anti-inflammatoire et antiviral des polyphénols de la margine (Aggoun A.M. 2016).

I.2.5. Effets sur l'environnement

En agriculture, l'application directe des effluents d'huilerie d'olive bruts diminue les rendements en matière sèche des cultures tomates et du soja et inhibent la germination du pin, de la tomate et de l'atriplex. Son utilisation agronomique, par épandage direct, aurait de mauvaises répercussions sur les eaux, les sols, les microorganismes et les plantes, ainsi elle peut causer une pollution par les nitrates des nappes situées dans la zone ou à proximité de la

zone d'épandage, grâce à sa richesse en éléments azotés (Benyahia N. et Zein K., 2003, Ouabou E.*et al.*, 2014 ^{a,b}).

II. Métabolites secondaires et stress oxydatif

II.1. Métabolites secondaires

Les plantes aromatiques se distinguent par deux types de métabolismes : le premier métabolisme primaire fournit aux blocs de construction une haute qualité (sucres, graisses et protéines) et le deuxième métabolisme secondaire produit des métabolites secondaires en petites quantités (kriker S et Yahia A 2013), les composés du métabolisme secondaire sont classés en trois grandes classes : les polyphénols ou composés phénoliques, les quinones, les composés azotés et les terpenoïdes (Merghem R 2009).

II.1.1. Composés phénoliques ou polyphénols

II.1.1.1. Tanins

Les tanins naturels sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (Merghem R 2009), ils sont classés en deux principales classes différentes à la fois par leur composition et par leur réactivité chimique : les tanins condensés et les tanins hydrolysables (Figure 5):

- **Les tanins condensés** appelé également proanthocyanidines, ce sont des oligomères ou des polymères résultant de la condensation des molécules élémentaires de type flavane-3-ol (catéchines) flavane-3-4 diols (leuco-anthocyanidines). Ils sont caractérisés par la capacité à coaguler les protéines (Merghem R 2009, Bellebcir L 2008, Debosree G 2015) On trouve des tanins condensés dans les raisins, les grenades, etc...(Debosree G 2015).
- **Les tanins hydrolysables** sont des hétéropolymères, leur groupement hydroxyle est partiellement ou complètement estérifié par l'acide gallique (cas de gallotanins) ou ses formes dimériques (Merghem R 2009, Debosree G 2015).

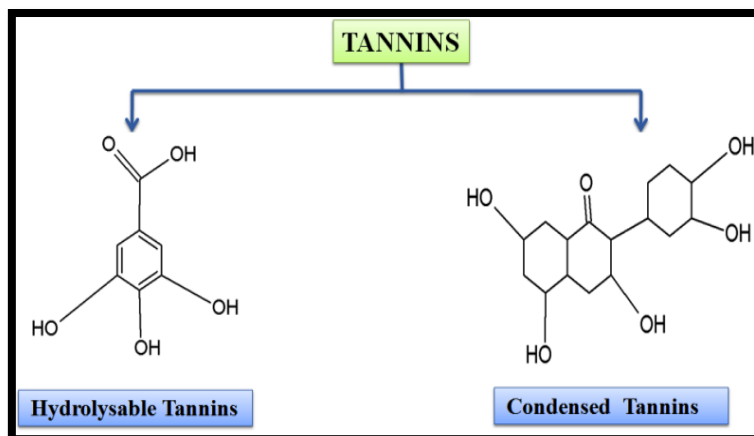


Figure 5: Les types des tanins et leurs structures de base (Debosree G., 2015).

Les tanins ont des propriétés anti-inflammatoire et antioxydantes aussi elles sont utilisées en tant que diurétique pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, certains œdèmes, l'hypertension portale ou l'hyperkaliémie (Merghem R 2009).

II .1.1.2 Flavonoïdes

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus omniprésents dans les aliments et les principaux représentants sont la quercétine et le kaempférol. Elles sont généralement présentes à des concentrations relativement faibles ; les sources les plus riches sont les oignons, le chou frisé, les poireaux, le brocoli et les myrtilles, leur biosynthèse est stimulée par la lumière (Claudine M 2004), à la succession d'une série enzymatique : le chalcone se métabolise en flavonols sous l'action de l'enzyme le chalcone isomérase le chalcone se transforme en flavanone ensuite la flavone synthase agit sur le produit de première réaction en donnant les flavones (Akroum S. 2011, Benguerba A. 2008).

Certains flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoire et un effet sur le système immunitaire par l'inhibition de la prolifération des lymphocytes B et T, cet effet sur le système immunitaire dû à la capacité des flavonoïdes à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (Benguerba A., 2008).

II .1.1.3. Coumarines

Les coumarines sont très répandues surtout chez les dicotylédones notamment dans les racines, la cyclisation de l'acide hydroxy-cinnamique conduit à la formation des coumarines.

II.1.2. Composés azotés

II.1.2.1. Alcaloïdes

C'est un autre groupe des métabolites secondaires, ils sont des composés de l'origine naturelle azotée, plus ou moins basique, de structure moléculaire complexe. Ils sont peu solubles dans l'eau, solubles dans l'éther, l'alcool et l'éther de pétrole. Les alcaloïdes pourraient être des produits d'excrétion du métabolisme azoté (Merghem R., 2009).

II.2. Stress oxydatif

II.2.1. Définition

Le stress oxydatif est un mécanisme physiopathologique caractérisé par un déséquilibre de la balance entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou d'espèces réactives de l'azote (ERN) (Duranteau J. 2008), et les défenses antioxydants de l'organisme, en faveur des premières (Figure 6). Ce phénomène se traduit par l'accumulation des biomolécules au niveau plasmatique et cellulaire (Bensakhria A. 2018, Démarchez M. 2012, Denys D. *et al.*, 2013, Haleng J. *et al.*, 2007).

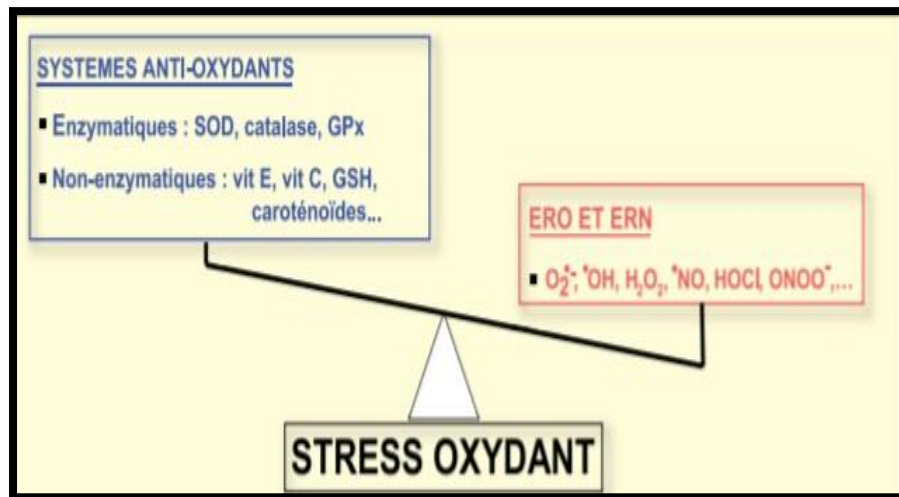


Figure 6 : Schéma explicatif du phénomène du stress oxydatif (Bonfont R.2007).

II.2.2. Radical libre

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un ou plusieurs électrons libres non appariés sur sa couche externe, les radicaux libres présentent une grande instabilité, et peut réagir avec de nombreuses molécules les plus stables pour appairer son électron (Démarchez M. 2012, Denys D. *et al.*, 2013). Les lipides et l'ADN sont

particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres (Goudable J. et Favier A. 1997). Lorsque cet électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène, on parle alors « d'espèces réactives de l'oxygène » (ERO) (Denys D. *et al.*, 2013).

II.2.3. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène sont des produits intermédiaires incomplètement réduits résulte du processus complexe de la réduction de l'oxygène en eau. Ce sont des espèces très oxydantes et très réactives qui ne sont pas stables (Bensakhria A. 2018). Il s'agit d'espèces radicalaires comme par exemple : OH^\bullet , HO_2^\bullet , CO_3^\bullet , NO_3^\bullet , SO_4^\bullet , impliquées dans de nombreuses pathologies, ainsi que dans le processus de vieillissement produit par les cellules qui ont été longtemps vues comme des produits toxiques du métabolisme (Migdal C. et Serres M. 2011).

Ces molécules sont très nombreuses, de forme radicalaire (contenant un électron non apparié) Ou non. Les plus importantes sont l'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'hypochlorite et les peroxydinitrite (Orban J.C. 2011) (Figure 7).

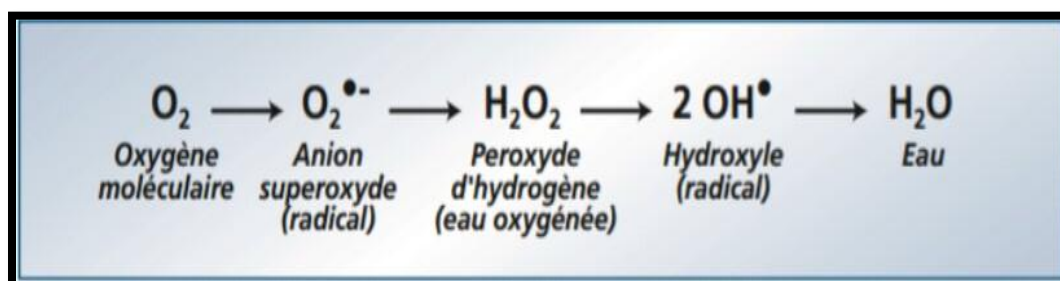


Figure 7 : Réduction en quatre étapes de l'oxygène moléculaire en eau.(Vamecq J. 2004).

II.2.3.1. Principales cibles des radicaux libres

Les ERO ont la capacité à oxyder un bon nombre des molécules biologiques comme les glucides, les acides nucléique, les lipides et les protéines. Elles peuvent oxyder un substrat selon trois modes d'action (Denys D. *et al.*, 2013) :

- Arrachement d'un électron, ex : $\text{OH}^\bullet + \text{Fe}^{2+} \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^-$
- Arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique RH, ex : $\text{OH}^\bullet + \text{RH} \longrightarrow \text{R}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$

- Addition sur une double liaison, ex : $^{\circ}\text{OH} + > \text{C}=\text{C} < \longrightarrow >^{\circ} \text{C}-\text{C} (\text{OH})$

II.2.3.2.Principales espèces réactives d'oxygène

a) L'anion superoxyde

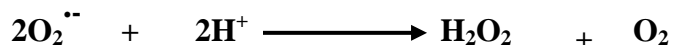
L'anion superoxyde est un radical formé d'une molécule d'oxygène avec un électron supplémentaire libre O^{2-} , et est une des formes principales de stress oxydant dans l'organisme vivant (Laplante M.A. 2007). Il est chargé négativement et est produit à partir de l'oxygène moléculaire (Goudable J. et Favier A. 1997). Il résulte de la réduction de l'oxygène par différentes oxydases, en particulier par les NADPH- qui est une oxydase microsomiale et plasmatisque (Satish B.N. et Dilipkumar P., 2015).



Il est relativement stable et il possède un caractère nucléophile, sa durée de vie est courte en milieu aqueux, aussi l'anion superoxyde est réactivé faible par apport des autres molécules (Denys D. *et al.*, 2013, Bensakhria A. 2018).

b) Peroxyde d'hydrogène ou eau d'oxygénée

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est la molécule la plus connue ; elle possède quelques caractéristiques qui en font un bon désinfectant. C'est un produit à grand pouvoir oxydant, capable d'accepter deux électrons supplémentaires (Goudable J. et Favier A. 1997), il a un bon pouvoir bactéricide, virucide, et sporicide (Giol M.V.Y. 2008). Il est dégradé en eau et oxygène par la catalase et la glutathion peroxydase (Orban J.C. 2011), et est produit en grande partie à partir du radical superoxyde en présence de superoxyde dismutase qui catalyse la réaction ci-dessous (Goudable J. et Favier A. 1997, Bensakhria A. 2018, Huet O. et Duranteau J. 2008) :

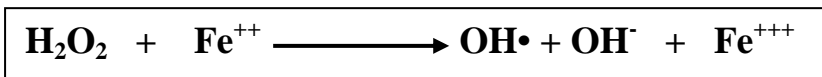


c) Radical hydroxyle OH^{\cdot}

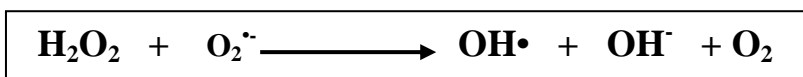
Le radical hydroxyle est une molécule composée d'un atome d'oxygène possédant un électron non apparié sur son orbital externe (Froncois Z. *et al.*, 2009), il est l'espèce

radicalaire qui est principalement responsable de l'oxydation de l'ADN au niveau biologique (Trembly S. 2004), aussi il est le plus toxique des ERO (Orban J.C. 2011).

H₂O₂ se transforme en radical hydroxyle (OH•) par la réaction de fenton :



Ou cycle de Haber-Weiss :



En présence des métaux de transition tels que le fer et le cuivre. Le radical OH• est le plus réactif des ERO en particulier, vis-à-vis des lipides membranaires en déclenchant la peroxydation lipidique (Huet O. et Duranteau J. 2008).

d) Radicaux peroxyles ROO•

Les radicaux peroxyles sont des radicaux secondaires issus de l'oxydation de substrat organique, initiée par l'oxygène singulet ou le radical hydroxyle, Ils sont dotés d'un pouvoir oxydant important, ils sont à l'origine de la réaction en chaîne et la peroxydation des lipides (Bensakhria A. 2018).

e) L'oxygène singulet (¹O₂)

C'est la forme excitée de l'oxygène moléculaire qui est très instable et extrêmement réactive, et a une durée de vie très limitée. L'oxygène singulet est formé en moindre quantité que les oxyradicaux et est produit lors de la peroxydation lipidique (Démarchez M. 2012).

II.2.4. Système antioxydant

Les antioxydants sont des agents de la conversion des aliments qui retardent la détérioration, la rancidité ou la décoloration provoquées par l'oxydation. Elles peuvent ralentir l'oxydation des matières grasses et des huiles, c'est pourquoi des fabrications d'aliments pour animaux peuvent mélanger des anti oxydants et des composés synergiques dans le but de réduire l'oxydation (John W. et Hilton P.D. 1989, Amarti F. *et al.*, 2011, Denys D. *et al.*, 2013).

II.2.4.1. Différents systèmes anti oxydants

L'organisme dispose de plusieurs systèmes antioxydants pour répondre aux situations de stress oxydant, la figure 8 résume la répartition des différentes sources d'antioxydants.

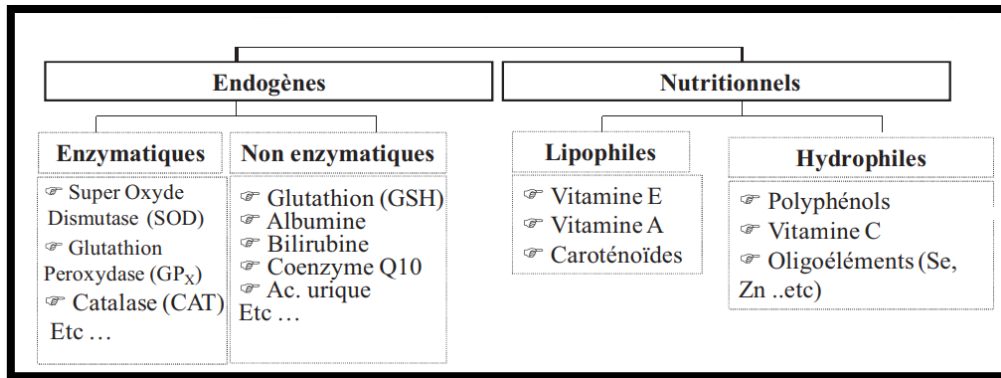


Figure 8 : Différentes sources d’antioxydants (Denys D. *et al.*, 2013).

II.2.4.1.1. Systèmes anti oxydants endogènes non enzymatiques

Les systèmes antioxydants non enzymatiques font référence à la neutralisation de l’espèce oxydante par une espèce dite antioxydante. Quand l’espèce oxydante est de nature radicalaire, l’agent antioxydant neutralise le radical en question, mais se transforme lui-même en une espèce radicalaire (Vamecq J. *et al.*, 2004).

➤ Le glutathion et les protéines-thiols

Le glutathion est un tri peptide (acide glutamique-cystéine-glycine), c’est le thiol majoritaire au niveau intracellulaire où il est présent sous forme essentiellement réduite (Beaudeaux et Geneviève 2011, Haleng J. *et al.*, 2007, Démarchez M. 2012). Les propriétés antioxydantes du glutathion sont nombreuses : cofacteur de la glutathion peroxydase, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C. La plupart des protéines dont l’albumine contiennent des groupements thiols qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (Haleng J. *et al.*, 2007). Aussi le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l’oxydation (Goudable J. et Favier A, 1997, Stamler et Slivka 1996).

➤ Bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l’hème et résulte essentiellement du catabolisme de l’hémoglobine par la cellule réticuloendothéliale. Ce composé liposoluble est capable de piéger les radicaux peroxydes, l’oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l’albumine et les acides gras liés à l’albumine des attaques radicalaires (Algeciras-schimmich *et al.*, 2007, Haleng J. *et al.*, 2007).

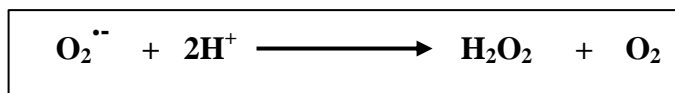
➤ **Coenzyme Q10**

Le coenzyme Q10 appelé ubiquinone en raison de son ubiquitine dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique (Haleng J. *et al.*, 2007). Il est synthétisé par l'organisme à partir du mévalonate qui est également impliqué dans la formation du cholestérol (Roberfroid *et al.*, 2008).

II.2.4.1.2. Systèmes antioxydants endogènes enzymatiques

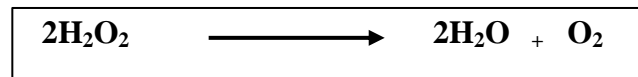
➤ **Superoxyde dismutases (SOD)**

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des enzymes protéiques, leur fonction dépend spécifiquement de leur structure quaternaire, elles représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, son activité dépend des apports nutritionnels en cuivre et un moindre degré en zinc (Goudable J. et Favier A. 1997), elles assurent l'élimination de l'anion super-oxyde ($O_2^{\cdot-}$) par une réaction de dismutation, (Haleng J. *et al.*, 2007, Menvielle-bourg F.J 2005) selon la réaction suivante :



➤ **Catalase**

La Catalase est une enzyme héminique ubiquitaire située à l'intérieur des globules rouges, elle élimine H_2O_2 par dismutation. Elle est responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène (Niki *et al.*, 2007 , Bensakhria A .2018) selon la réaction suivante :



La catalase est formée de quatre sous-unités, chaque sous-unité comporte un groupement ferriprotoporphyrine dans le site actif avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} et une molécule de NADPH, la fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de l' H_2O_2 (Dellatre *et al.*, 2005).

➤ **Les glutathion peroxydases (GSHPX)**

Les GSHPX réduisent le peroxyde d'hydrogéné H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques (Goudable J. Favier A.1997) (Figure 9).

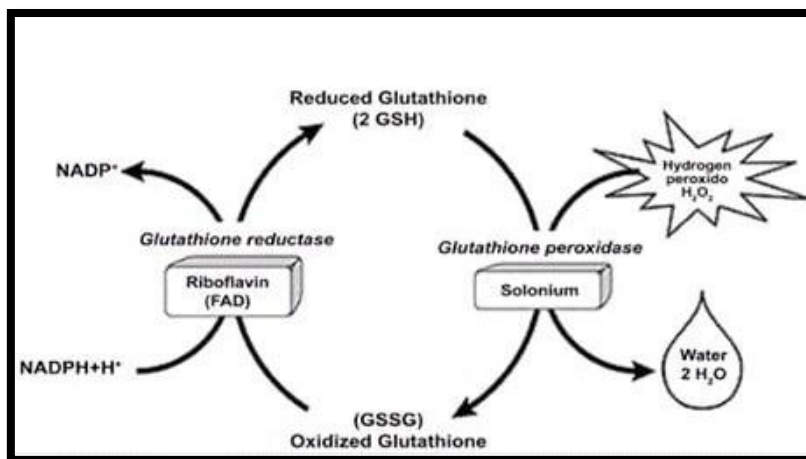


Figure 9: cycle oxydo-réducteur du glutathion (Ilkani *et al.*, 2016).

II.2.4.1.3. Système anti oxydant nutritionnel

➤ Vitamine E et C

Les vitamines E et C sont définies comme des agents antioxydants importants. La vitamine E est un excellent antioxydant membranaire liposoluble des structures lipidiques ; sa plus grande concentration molaire est sous forme d' α -tocophérol. Elle joue un rôle dans la réaction en chaîne de transfert d'un radical peroxyde d'un lipide à un autre, elle possède aussi d'autres actions à savoir : la neutralisation de ($^1\text{O}_2$) et l'insertion au sein des membranes riche en acides gras polyinsaturés (Haleng J. *et al.*, 2007 , Bensakhria A. 2018). La vitamine E est transportée par les LDL, elle est distribuée aux cellules par le récepteur du cholestérol (Goudable J. et Favier A. 1997).

La vitamine C est un agent réducteur et chélateur sous forme d'acide d'hydro-ascorbique, son rôle d'agent terminateur dans la propagation radicalaire lipidique (Haleng J. *et al.*, 2007, Bensakhria A. 2018), aussi un autre rôle anti oxydant au niveau des tissus oculaires, en particulier la rétine (Ohla *et al.*, 2005).

*Matériels et
méthodes*

1. Matière première utilisée

Dans notre étude ; on a utilisé un sous- produit oléicole « la margine » et l'huile d'olive ; elles ont été obtenues auprès d'une huilerie d'olive située dans la région de « Tizi Ouzou ». Cette étude vise à valoriser les activités biologiques à savoir : l'activité antioxydante et enzymatique de la margine et l'huile d'olive.

Toutes les étapes d'extraction ont été effectuées au sein du laboratoire pédagogique de Biochimie de l'université des Frères Mentouri Constantine -1-. L'évaluation des activités biologiques est effectuée au laboratoire de biochimie du centre de recherche des biotechnologies.

2. Extraction des composés phénoliques d'huile d'olive

Dans le but d'obtention des composés phénoliques de l'huile d'olive, nous avons adopté le protocole de Pirisi *et al.*, (2000). Brièvement, 200 g d'huile d'olive ont été introduits dans un tube, additionnés de 100 ml *n*-hexane et 200 ml de méthanol 60%. Après homogénéisation, la mixture a été centrifugée pendant 05 min à 3000 tpm. Le surnageant (méthanol) contenant les polyphénols a été récupéré. Cette procédure a été répétée deux fois afin d'épuiser l'huile. Les surnageants ont été réunis avant d'être concentrés à sec sous vide à 40 °C (Figure 10).

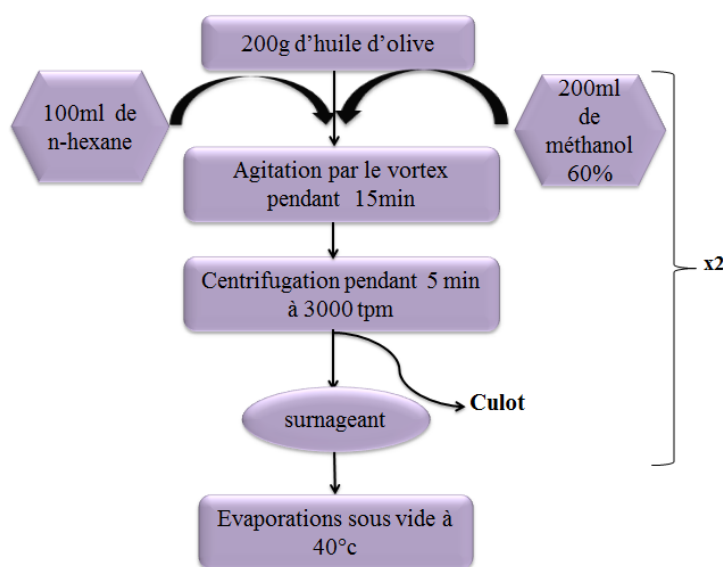


Figure 10 : Différentes étapes d'extraction des composés phénoliques d'huile d'olive.

3. Extraction des polyphénols de la margine

Dans le but d'obtention des composés phénoliques de la margine, nous avons adopté le protocole proposé par De Marco *et al.*, 2007. L'acidification de la margine à un $\text{pH}=2$; se fait par l'addition de l'HCl, ensuite 250 ml de la margine ont été ajoutés à 300 ml d'hexane en raison de la délipidation de la margine. Le mélange est agité pendant 2h puis centrifugé pendant 5min à 3000tpm ; ce procédé est répété successivement deux fois. La margine délipidée a été mélangée avec 250 ml d'acétate d'éthyle et agité, ensuite centrifugé pendant 5 min à 3000tpm. Cette opération est répétée quatre fois, à la fin l'évaporation de l'acétate d'éthyle est effectuée à 40 °C (Figure11).

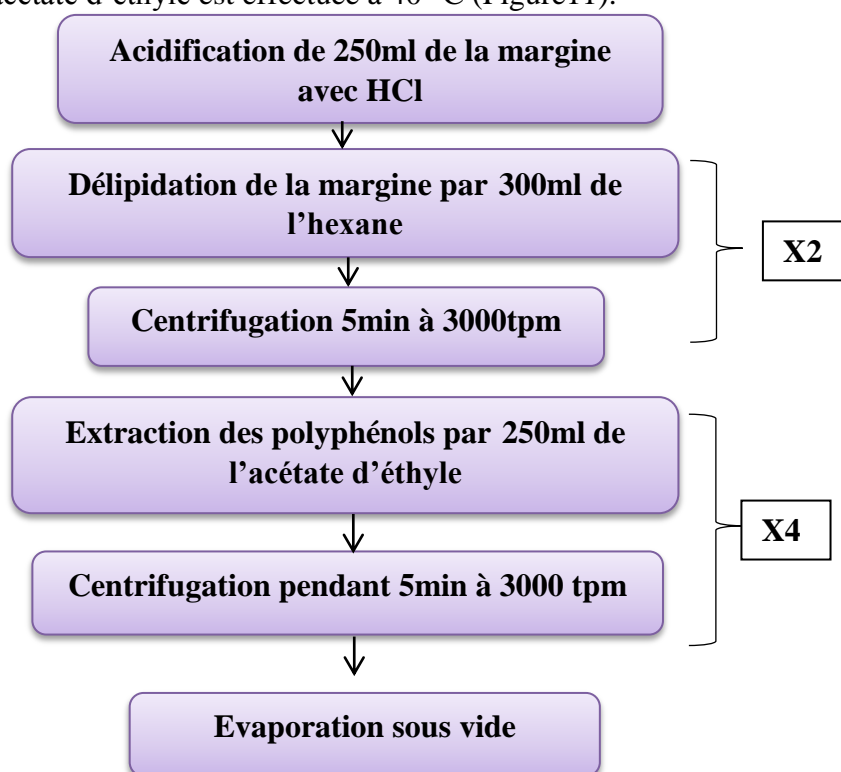


Figure11 : Différentes étapes d'extraction des composés phénoliques de la margine.

4. Dosage des polyphénols totaux par le réactif de folin – ciocalteau

Le dosage des polyphénols totaux est déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de folin– ciocalteau décrite par (Muller *et al.*, 2010).

4.1. Principe

Le réactif de folin –ciocalteau est un produit chimique de couleur jaune composé par l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3MO_{12}O_{40}P$). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxyde métallique de tungstène et de molybdène de couleur bleue, la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux est proportionnelle à la coloration bleue produite dont l'absorption maximale est comprise entre 750 et 765 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression d'une courbe étalonnage ($y=ax + b$) qui a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoire en utilisant l'acide gallique comme une référence à différentes concentrations (Figure 12).

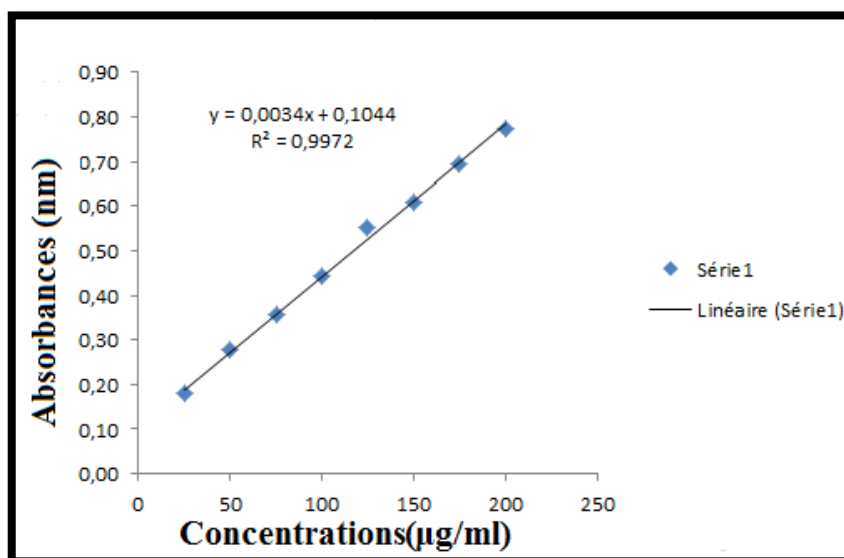


Figure 12: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

4.2. Mode opératoire

Une quantité de 20 µl d'extrait de plante a été ajoutée à 100µl de FCR et 75 µl de carbonate de sodium (7,5%), ensuite le mélange a été mis à l'obscurité pendant 2h, et une

lecture a été faite à la longueur d'onde 765 nm. Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol).

4.3. Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

Des dilutions d'étalon de l'acide gallique ont été préparées à partir d'une solution mère d'une concentration de 0,1mg/ml. Cette dernière a été obtenue par le mélange d'une prise de 0,5 mg de l'acide gallique et 5 ml de méthanol. Dans une microplaque à 96 puits ; un volume de 100 µl du réactif FC dilué 10 est ajouté à 20µl de chaque dilution et suivi par l'addition d'un volume de 75µl du Na₂CO₃ à 7,5%. La microplaque est incubée pendant 2h, et la lecture est réalisée à la longueur d'onde 765 nm.

La préparation de la solution étalon est réalisée dans 8 tubes eppendorfs différents en combinant les solutions secondaires comme suit : tableau 3.

Tableau 3: Gamme d'étalon de l'acide gallique.

Tubes	Concentrations (acide gallique)	Solution mère	Méthanol
1	25µg/ml	25µl	175µ
2	50µg /ml	50 µl	150µl
3	75µg/ml	75 µl	125µl
4	100µg/ml	100µl	100µl
5	125µg /ml	125µl	75 µl
6	150µg /ml	150µl	50 µl
7	175 µg /ml	175µl	25µl
8	200µg /ml	200 µl	/

5. Dosage des flavonoïdes totaux

5.1. Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adapté par Zhishen *et al.*, (1999) et Kim *et al.*, (2003). Le chlorure d'aluminium forme un complexe très stable de couleur rose avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des

flavonoïdes qui absorbent dans le visible à 510 nm (Ali Rachedi F. *et al.*, 2018) ; les concentrations des flavonoïdes contenues dans les extraits de la margine et l'huile d'olive sont déduites en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard et sont exprimées en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (Figure 13).

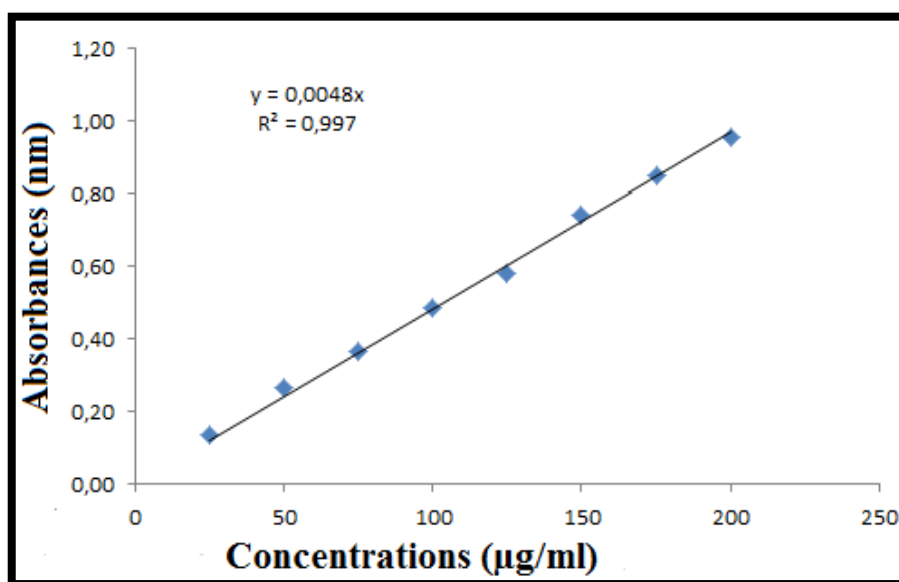


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

5.2. Mode opératoire

Dans une microplaque de 96 puits 130 µl du méthanol a été ajouté à 50 µl d'extrait de plante, 10 µl d'acétate de potassium (CH_3COOK) et 10 µl de nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). La microplaque a été incubée pendant 40 min et la lecture a été faite à 415 nm. Le blanc a été préparé dans les derniers puits de la microplaque, en remplaçant l'extrait par le méthanol.

5.3. Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine

Une masse de 1 mg de la quercétine a été dissoute dans 5 ml de méthanol en raison de la préparation de la solution mère (S_m) à une concentration de 0,2 mg/ml. Les dilutions de la quercétine sont préparées dans des eppendorfs comme montré dans le tableau 4.

Tableau 4: Gamme d'étalon de la quercétine.

Tubes	Concentrations (Quercétine)	Solution mère	Méthanol
1	25µg/ml	25µl	175µ
2	50µg /ml	50 µl	150µl
3	75µg/ml	75 µl	125µl
4	100µg/ml	100µl	100µl
5	125µg /ml	125µl	75 µl
6	150µg /ml	150µl	50 µl
7	175 µg /ml	175µl	25µl
8	200µg /ml	200 µl	/

6. Evaluation *in vitro* des activités biologiques

6.1. Activité antioxydante

6.1.1. Le test de piégeage du radical DPPH

6.1.1.1. Principe

L'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques est le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, cette délocalisation provoque l'apparition de la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH• (Figure 14). La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH• (Cristina P. *et al.*, 2009).

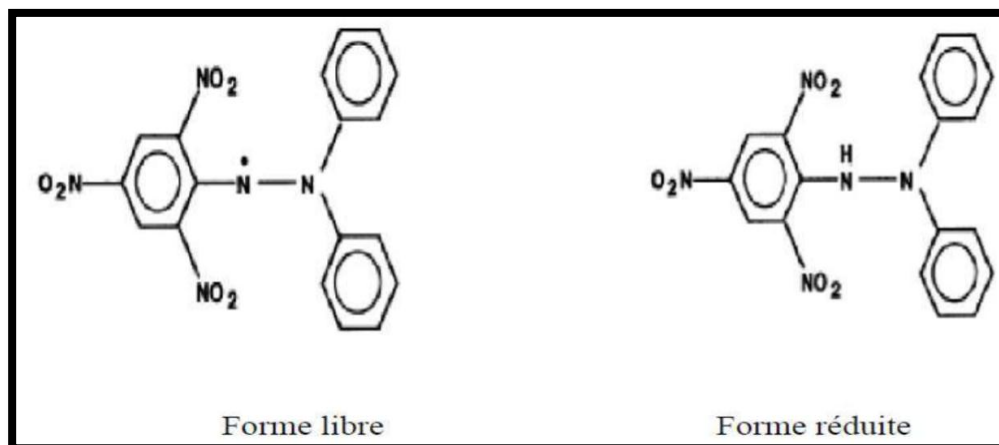


Figure 14 : Forme libre et réduite du DPPH (Mohammedi , 2006).

6.1.1.2. Mode opératoire

La préparation de la DPPH est effectuée par la dissolution de 6 mg du radical DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol ; cette préparation est gardée à -20°C à l'abri de la lumière.

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

Un volume de 40 μl de chaque extrait méthanolique a été introduit dans les puits de la microplaque par la suite 160 μl du DPPH préparé précédemment ont été ajoutés aux extraits, le témoin a été préparé par le mélange de 40 μl du méthanol et 160 μl du DPPH. À l'abri de la lumière l'incubation a été faite pendant 30 min suivie de la lecture à 517 nm, les standards antioxydants utilisés sont l' α -tocophérol, le BHT et le BHA.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité anti radicalaire DPPH est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

6.1.2. Test de l'activité ABTS

6.1.2.1. Principe

La technique de l'ABTS implique la production directe de chromophore bleu/vert par la réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium. Cela a une absorption maximale aux longueurs d'onde 645 nm, 734 nm et 815 nm (Re R. *et al.*, 1999).

6.1.2.2. Mode opératoire

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

Une quantité de 19,2 mg de l'ABTS (7 mM) et 3,3 mg du persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) (2.45 mM) ont été mélangés avec 5ml d'eau distillée et mis à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par l'éthanol ou l' H_2O à 0.700 nm (± 0.020) à 734 nm avant l'usage. Par la suite 160 µl de l'ABTS⁺ préparé précédemment ont été ajoutés à 40 µl de chaque extrait ; après 10 min une lecture à 734 nm a été faite, les absorbances obtenus ont été comparées avec celles des antioxydants normes qui sont BHA et BHT.

6.1.3. Superoxide DMSO alcalin

6.1.3.1. Principe

L'activité Superoxide DMSO alcalin est déterminée par la méthode de Rao M.N.A. et Kunchandy E. 1990.

6.1.3.2. Mode opératoire

Le DMSO alcalin a été préparé à partir du 20 mg de NaOH dissous dans 1 ml de H_2O et complété par le DMSO à 100 ml et le NBT a été préparé à partir de 10 mg du NBT dissous dans 10 ml de l'eau distillée.

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

Dans une microplaque de 96 puits ; 40 µl de chaque extrait, 130 µl DMSO alcalin et 30 µl NBT ont été ajoutés pour chaque puits suivi par une lecture à 560 nm. L'acide tannique et l'α-tocophérol sont les standards utilisés.

$$\text{Fe}^{2+} \text{ chelating effect (\%)} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

6.1.4. Pouvoir réducteur

6.1.4.1. Principe

L'activité pouvoir réducteur est déterminée par la méthode de Oyaizu (1986) avec une légère modification.

6.1.4.2. Mode opératoire

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

Dans une microplaque à 96 puits ; 10 µl de la solution d'extrait a été ajoutée à 40 µl du tampon phosphate (pH 6.6) suivi par l'addition de 50 µl potassium ferricyanide (1%) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (préparé à partir de 1 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dissoudre dans 100 ml d'eau distillée) et une incubation à 50°C pendant 20mn. Après l'incubation ; on rajoute 50 µl du tri-chloro acetic acid (TCA) (10%) (1 g de TCA dissous dans 10 ml H_2O), 40 µl d'eau distillée et 10 µl de ferric chloride FeCl_3 (0.1%) (0,1 g de FeCl_3 dissous dans 100 ml H_2O). L'absorbance a été déterminée à 700 nm, les standards utilisés sont l'acide ascorbique, l'acide tannique et l'α-tocophérol.

6.1.5. Activité de chélation du cuivre (CCA)

6.1.5.1 Principe

L'activité de chélation du cuivre (CCA) est déterminée par la méthode décrite par R. Sánchez Vioque (2013) elle est basée sur la formation du complexe Cu^{2+} -PV de couleur bleue. La couleur bleue devient jaune en présence d'agents chélateurs qui dissocient le complexe, et l'activité chélatante peut donc être estimée par la mesure du taux de réduction de la couleur (Figure 15).

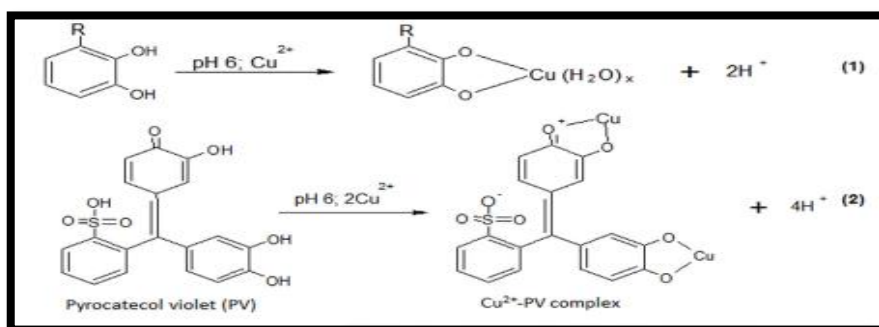


Figure 15 : Principe de la réaction de l'activité de chélation du cuivre

6.1.5.2. Mode opératoire

Le tampon acétate de sodium a été préparé à partir de deux solutions ; (5,22 ml) de la première solution préparée par la dilution de 1,148 ml d'acide acétique dans 200 ml d' H_2O et (94,78 ml) de la deuxième solution issue de la dilution de 1.64 g d'acétate de sodium dans 200 ml d' H_2O .

La préparation de pyrocatechol violet (PV) consiste à dissoudre 15,4 mg dans 10 ml du tampon, et le sulfate de cuivre (CuSO_4) a été préparé par la dilution de 12,5 mg de sulfate de cuivre CuSO_4 dans 10 ml du tampon.

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

Les extraits (40 μl) ont été mélangés avec 140 μl de tampon d'acétate de sodium (50 mM, pH 6.0), et 10 μl de sulfate de cuivre (CuSO_4) (5 mM) et incubés pendant 30 min

à 25°C. Après l'incubation 10 µl de pyrocatechol violet (PV) (4mM) a été ajouté au mélange, après 30min l'absorbance a été mesurée à 632 nm.

6.1.6. Dosage de balayage du radical hydroxyle

6.1.6.1. Principe

L'activité est décrite par Smirnof et Cumbes (1989).

6.1.6.2. Mode opératoire

Le sulfate de fer (8 mM) a été préparé à partir de 22.24 mg de (FeSO₄, 7H₂O) dissous dans 10 ml d'eau distillée, et l'eau oxygénée a été préparée à partir de 30µl H₂O₂ diluée dans 19.94 ml H₂O. Concernant l'acide salicylique sa préparation a été faite à partir de 4 mg d'acide salicylique dissous dans 10ml d'H₂O.

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

Un volume de 40 µl de chaque extrait est additionné à un volume de 24 µl de sulfate de fer(FeSO₄) (8mM), 20 µl d'eau oxygénée (H₂O₂) et 80 µl d'acide salicylique (3mM). Après une incubation à 37°C pendant 30 min ; 36 µl H₂O ont été ajoutés suivi par une lecture à 510 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme un standard.

6.2. Activité enzymatique

6.2.1. Activité d'acétylcholinestérase

La mise en évidence du pouvoir enzymatique de la margine et huile d'olive, via le test d'acétylcholinestérase par la méthode décrite par (Ellman *et al.*, 1961).

6.2.1.1. Mode opératoire

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

Dans une microplaque à 96 puits ; 150 μ l de tampon du phosphate de sodium (pH=8) (100Mm) a été ajoutée à 10 μ l d'extrait dissoudre dans l'éthanol a différentes concentrations suivi par l'addition de 20 μ l AChE (5.32 \times 10⁻³ U) solution après faire une incubation pendant 15min à 25°C, ensuite; on rajoute 10 μ l de DTNB (0.5mM) et 10 μ l d'acetylthiocholine iodide à la fin la microplaque est lue à λ =412 à 0min et 15min.

6.2.2. Activité butyrylcholinesterase inhibitrice

6.2.2.1. Principe

L'activité butyrylcholinesterase inhibiteur est déterminée selon la méthode décrite par (Ellman *et al.*, 1961).

Une quantité de 8 mg de chaque extrait a été dissoute dans 1 ml de méthanol ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour les différents extraits avec des concentrations de 400/200/100/50/25/12.5/6.25 μ g/ml.

Dans une microplaque à 96 puits ; 150 μ l de tampon du phosphate de sodium (pH=8) (100Mm) a été ajoutée à 10 μ l d'extrait dissoudre dans l'éthanol a différentes concentrations suivi par l'addition de 20 μ l BChE (6.85 \times 10⁻³ U) solution après faire une incubation pendant 15min à 25 °C, ensuite; on rajoute 10 μ l de DTNB (0.5mM) et 10 μ l de butyrylthiocholine chloride (0.2 mM) à la fin la microplaque est lue à λ =412 à 0 min et 15min.

6.2.3. L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase

6.2.3.1. Principe

Le 4-Nitrophényl- α -D-galactopyranoside (PNPG) est un substrat chromogénique de l' α -glucosidase, libérant le glucose et le p-nitrophénol, L'activité de l' α -glucosidase est déterminée en utilisant le p-nitrophénol qui a une absorbance mesurée à 405 nm, le taux de la formation de p-nitrophénol est traduit par une augmentation de l'absorbance (Souza *et al.*, 2011 ; Sulistiyani *et al.*, 2016)(Figure 16).

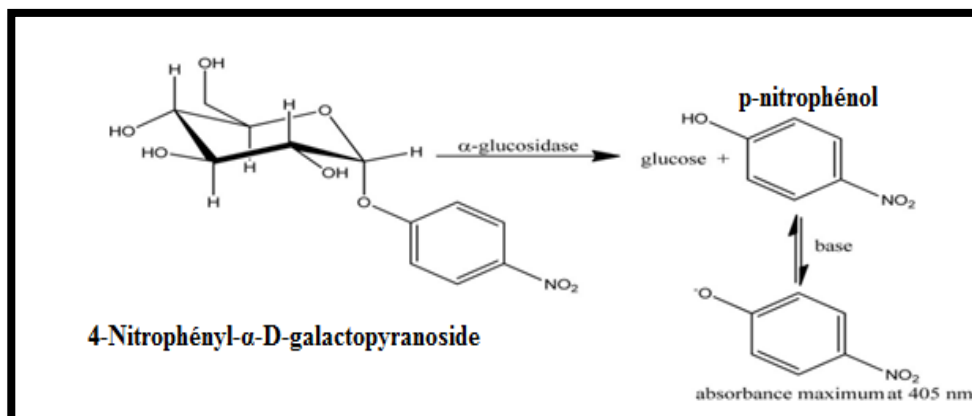


Figure 16 : Mode d'action de l'activité de l' α -glucosidase.

6.2.3.2. Mode opératoire

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

Dans une microplaque de 96 puits, 50 μ l d'extrait a été ajouté à 100 μ l de l'enzyme α -glucosidase suivi par l'addition de 50 μ l de solution de substrat, par la suite une incubation pendant 10 min à 37°C, et une lecture a été faite à 405 nm chaque 10 min, pendant 30 min (0-10-20-30 min).

*Résultats et
discussion*

1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux

Les résultats du dosage des polyphénols des deux extraits ; la margine et l'huile d'olive sont réalisés par la méthode colorimétrique à l'aide d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par millilitre d'extrait ($\mu\text{g GAE/ml}$), le profil de la microplaque est représenté à la figure 19.

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par une méthode adaptée par Zhishen *et al.*, (1999) et Kim *et al.* (2003), la quercitine à différentes concentrations a été utilisée pour établir la gamme d'étalonnage, les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de quercitine par millilitre d'extrait ($\mu\text{g QE/ml}$). Les résultats du dosage sont exprimés au tableau 5 et l'histogramme de la figure 18.



Figure 17 : Profil de la microplaque de dosage des polyphénols totaux.

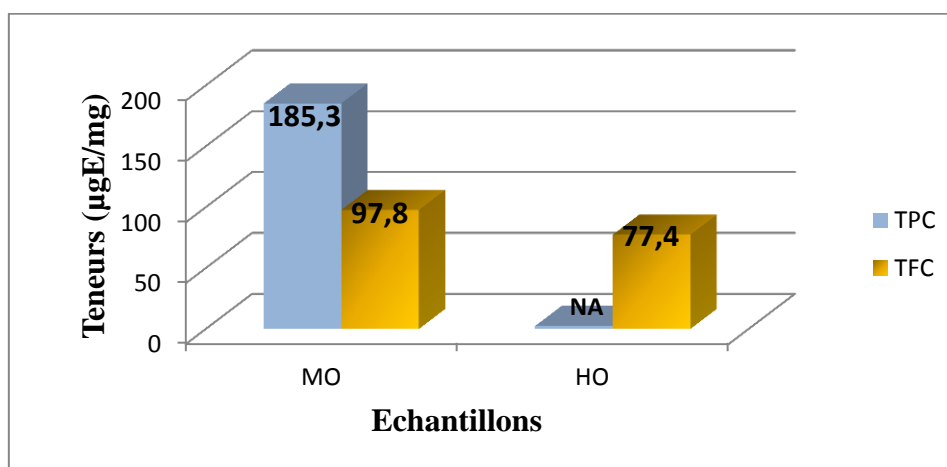


Figure 18 : Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux (TPC) et en flavonoïdes (TFC) des extraits.

Tableau 5 : Teneur en polyphénols totaux (TPC) et en flavonoïdes (TFC) des extraits.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux (µg GAE/mg)	Teneur en flavonoïdes totaux (µg QE/mg)
Extrait de la margine d'olive (EMO)	185,3 ±0,34	97,8±0,88
Extrait d'huile d'olive (EHO)	NA	77,4±2,65

Les valeurs ont été exprimées en tant que moyennes ± SD (n = 3), NA : No Absorbance

Le profil de la microplaque à la figure 17 montre l'apparition de la couleur bleue au niveau des puits contenant l'extrait de la margine ce qui indique la présence des polyphénols, mais pour l'extrait de l'huile d'olive il n'y a aucun changement de la couleur cela signifie l'absence des polyphénols. Les résultats présentés au tableau 5 et l'histogramme de la figure 18 montre que l'extrait de la margine d'olive possède des teneurs élevés en flavonoïdes totaux avec une valeur égale à 97,8±0,88 µg QE/mg en comparaison à celle de l'extrait d'huile d'olive avec une valeur égale à 77,4±2,65 µg QE/mg. Les teneurs en polyphénols totaux montrent qu'elles sont de l'ordre de 185,3 ±0,34 µg GAE/mg pour l'EMO par contre pour l'EHO aucune absorbance n'a été remarquée, ceci peut être du aux erreurs de manipulations.

Plusieurs études se sont intéressés à la détermination des taux des polyphénols sur des extraits d'huile d'olive ; notamment Gulfranz *et al.*, (2009) ayant mené une étude sur des variétés Pakistanaises ; ils ont trouvé des valeurs variant entre 23,6 à 92,4 mg EAG/Kg. Aussi Medjedoub I. (2016) a trouvé une valeur de 184,63mg EAG/Kg et 129,49 mg EAG/Kg lors d'une étude réalisée sur les deux variétés *Chemlal* et *Azeradj* successivement.

Pour la margine la teneur en composés phénoliques est supérieure aux résultats obtenus par E. Ouabou^a *et al.*, (2014) avec une teneur de 2,32 ± 0,03 g/l ainsi que celle obtenue par Amiar F et Zouaoui N (2016) avec des valeurs varie entre 2.5 à 11.81 gEAG/l . De même la teneur en flavonoïdes des extraits de la margine de la présente étude est supérieure à celle obtenue par Amiar F et Zouaoui N en 2016 de teneur varie entre 0.159 à 0.166 gEQ/l et celle de Laribi R. (2015) pour les onzes variétés traités lors de leur étude avec des valeurs de 10.13 à 49mg/kg.

D'après Maria Z.T. (2017), E. Ouabou^b *et al.*, (2014) et Laribi R. (2015) la différence dans la teneur en composés phénoliques dans la margine et l'huile d'olive est due

principalement à l'effet variétal, les engrais apportés, l'irrigation, la date de récolte et la nature de sol.

2. Etude de l'activité antioxydante

Récemment les antioxydants sont devenus un sujet d'intérêt croissant, non seulement aux chercheurs en sciences de la santé et de l'alimentation et les experts médicaux, mais aussi au grand public. Malheureusement, une méthode validée est encore non développée pour la quantification de l'activité antioxydante des aliments et des échantillons biologiques (De Marco E. *et al.*, 2007). Dans notre étude les tests utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante sont les suivants : le balayage du radical libre DPPH, Chélate de cuivre, activité de l'ABTS scavenging, le superoxide DMSO alcalin, pouvoir réducteur, métal chélate et le radical hydroxyle.

2.1. Dosage de balayage du radical libre DPPH

En raison de sa stabilité en forme radicalaire et la simplicité de l'analyse, le radical DPPH° est généralement considéré comme l'un des composés les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante (Bozin *et al.*, 2008) , Le composé chimique 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) a été utilisé pour la détection de l'activité anti radicalaire des deux extraits : la margine et l'huile d'olive. Les molécules anti-oxydantes peuvent neutraliser les radicaux libres DPPH• et les convertir en d'autres composés plus stables, ce qui induit une diminution de la coloration violette, le profil de la microplaque contenant les deux extraits est représenté à la figure 19. Les IC₅₀ des deux extraits sont montrées au tableau 6 et exprimées en microgramme par millilitre d'extrait.

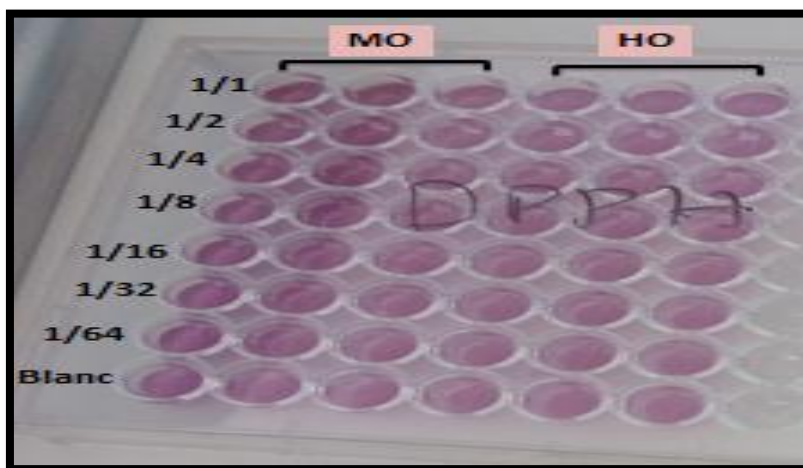


Figure 19 : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti radicalaire DPPH.

Tableau 6 : Valeurs d'IC₅₀ du test DPPH des extraits.

Extraits/Standards	IC ₅₀ µg/ml
Extrait de la margine d'olive (EMO)	NA
Extrait d'huile d'olive (EHO)	NA
BHA	6.14±0.41
BHT	12.99±0.41
α-Tocophérol	13.02±5.17

D'après les résultats obtenus dans la figure 19 et le tableau 6 ; on constate qu'il n'y a aucun changement de couleur dans le profil de la microplaque et aucune absorbance pour les deux extraits ce qui montre qu'il y a pas une activité anti radicalaire DPPH tandis que les standards : BHA, BHT et l'α-Tocophérol possèdent une activité anti radicalaire avec des valeurs d'IC₅₀ : 6.14±0.41, 12.99±0.41 et 13.02±5.17 µg/ml respectivement.

D'autres études contradictoires ont montré une activité antiradicalaire du DPPH, à savoir Abdelaziz M *et al.*, (2014) ayant trouvé une valeur d'IC₅₀ de 25,38 ± 0, 64 mg/kg pour l'extrait d'huile d'olive. Aussi karray M.H. (2013) qui a trouvé une valeur d'IC₅₀ égale à 45 ug/ml pour leur étude sur l'extraits de la margine.

2.2. Activité de chélation du cuivre (CCA)

La figure 20 représente le profil de la microplaque obtenue pour l'évaluation de l'activité de chélation du cuivre.

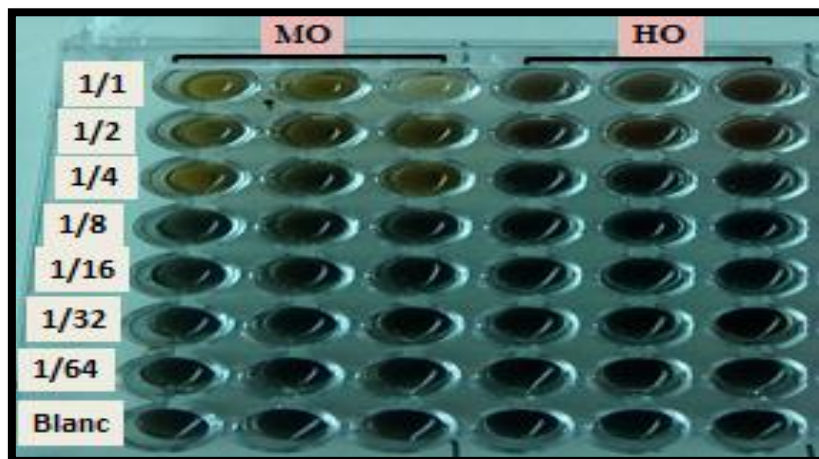


Figure 20 : Profil de la microplaque du dosage de l'ACC.

Les résultats de l'activité de chélation du cuivre (CCA) des deux extraits sont représentés à la figure 21, on constate que le pourcentage d'inhibition et la concentration sont proportionnels, en plus on remarque qu'aux concentrations faibles l'huile d'olive ne possède aucun pourcentage d'inhibition.

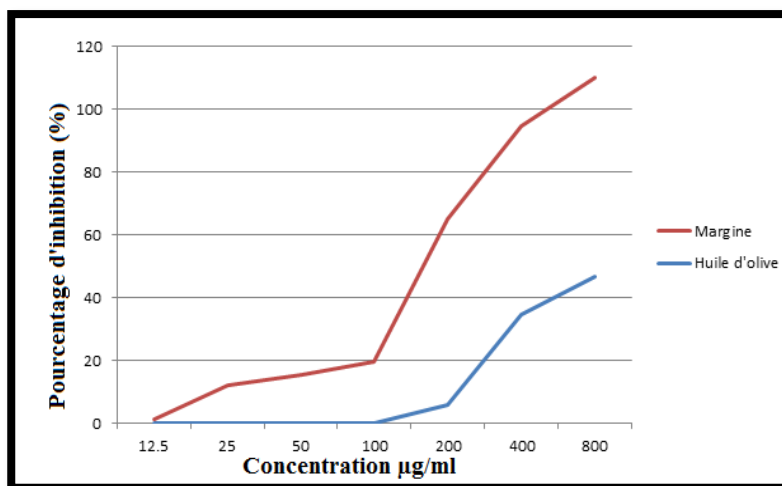


Figure 21 : Courbes représentent les pourcentages d'inhibition de l'activité de chélation du cuivre des extraits en fonction des concentrations.

D'après le tableau 7, l'extrait d'huile d'olive possède la plus grande valeur d'IC₅₀ qui est supérieur à 800 donc une très faible activité chélatrice de cuivre suivi par l'extrait de la

marginé ayant une valeur d'IC₅₀ de 177.12±8.00 µg/ml. L'EDTA utilisé comme standard présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé.

En raison de l'absence d'études qui ont réalisé l'ACC sur les extraits d'intérêt, nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux d'autres études.

Tableau 07 : Valeurs d'IC₅₀ du test de chélation du cuivre des extraits.

Extraits/Standards	IC ₅₀ µg/ml
Extrait de la margine d'olive (EMO)	177.12±8.00
Extrait d'huile d'olive (EHO)	>800
EDTA	59.04±0.56

2.3. Dosage de balayage ABTS

La disparition de la coloration bleue est proportionnelle à la capacité d'inhiber le radical ABTS^{•+}. Le profil de la microplaque obtenue est représenté à la figure 22.

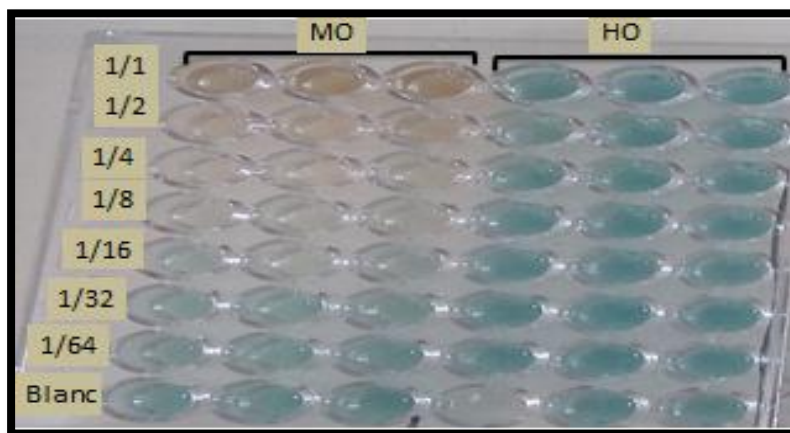


Figure 22 : Profil de la microplaque de l'activité de balayage ABTS

Le tableau 8 présente les valeurs ($A_{0.50}$) du pouvoir antioxydant (ABTS) des échantillons et des standards BHA et BHT.

Tableau 08 : Valeurs($A_{0,50}$) du test de balayage ABTS des extraits.

Extraits/Standards	$A_{0,50}$ $\mu\text{g/ml}$
Extrait de la margine d'olive (EMO)	82.91 \pm 2.19
Extrait d'huile d'olive (EHO)	NA
BHA	1.03 \pm 0.00
BHT	1.59 \pm 0.03

D'après les résultats obtenus, on observe que seulement l'extrait de la margine qui possède une faible activité antiradicalaire ABTS avec une valeur d' $A_{0,50}$ égale à 82,91 \pm 2,19 $\mu\text{g/ml}$ tandis que l'extrait d'huile d'olive ne possède aucune activité en raison de l'absence de l'absorbance. En comparaison aux standards ; on remarque que la margine possède une valeur d' $A_{0,50}$ plus élevée par rapport à celle du BHT et BHA qui ont une valeur d' $A_{0,50}$ égale à 1.03 \pm 0.00 $\mu\text{g/ml}$, 1.59 \pm 0.03 $\mu\text{g/ml}$ respectivement ; donc on conclue que l'extrait de la margine présente une activité très faible par rapport à celle des standards.

Les résultats de notre étude sont différentes avec ceux d'autres études, en effet lors d'une étude réalisée sur des huiles d'oléastres (*Olea europaea* var. *oleaster*) de la région de Béjaïa, les résultats ont montré des valeurs d' $A_{0,50}$ pour l'huile d'olive qui varient entre 57,72 et 144,80 mg /Kg (Boucheff S. 2011), de même dans une autre étude menée par Benidjer M. et Meziani Z. (2017), les auteurs ont montré que les valeur d' $A_{0,50}$ pour l'huile d'olive varie entre 310 et 619 mg/Kg.

2.4. Balayage du radical hydroxyl

Le profil de la microplaque du test de balayage du radical hydroxyl est mentionné à la figure 23, on remarque qu'aucun changement de la couleur n'a été remarqué pour tous les puits des deux extraits.

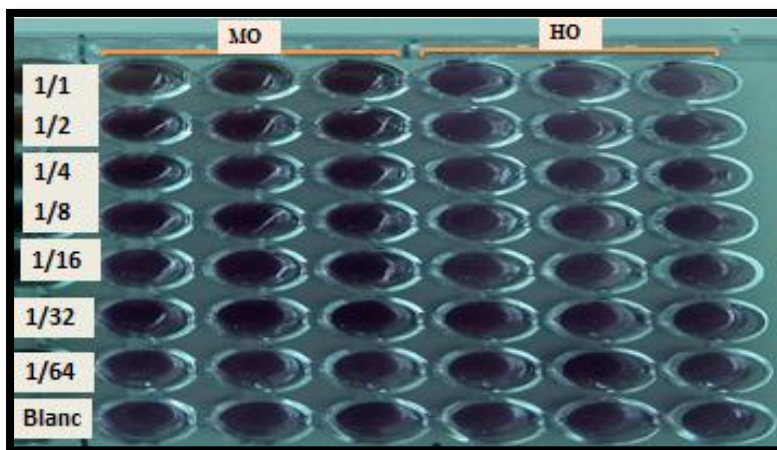


Figure 23 : Profil de la microplaque du Balayage du radical hydroxyle.

Les Valeurs d'IC₅₀ pour les extraits d'huile d'olives et la margine ainsi que le standard sont représentés au tableau 9.

Tableau 9 : Valeurs d'IC₅₀ du test de Balayage du radical hydroxyle des extraits.

Extraits/Standards	IC ₅₀ µg/mL
Extrait de la margine d'olive (EMO)	NA
Extrait d'huile d'olive (EHO)	NA
Acide ascorbique	32,33±1,17

D'après les résultats obtenus on remarque que l'extrait d'huile d'olive et de la margine n'ont pas une activité de balayage du radical hydroxyle, contrairement aux résultats obtenus par Lee *et al.*, 2008 les auteurs ont travaillé sur cinq variétés d'huile d'olive extra vierge et ont montré des pourcentages d'inhibition élevés.

2.5. Pouvoir réducteur

La méthode du pouvoir réducteur est un essai simple et rapide, elle est considérée comme un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance, ayant une propriété réductrice tels que les polyphénols ; réagissant comme donneurs d'électrons entraînant la réduction du complexe ferrique (couleur jaune) en fer ferreux (couleur bleu verdâtre) (Paixao *et al.*, 2007, Gülçin *et al.*, 2007). Le profil de la microplaque obtenu pour l'estimation de l'activité du pouvoir réducteur est présenté à la figure 24.

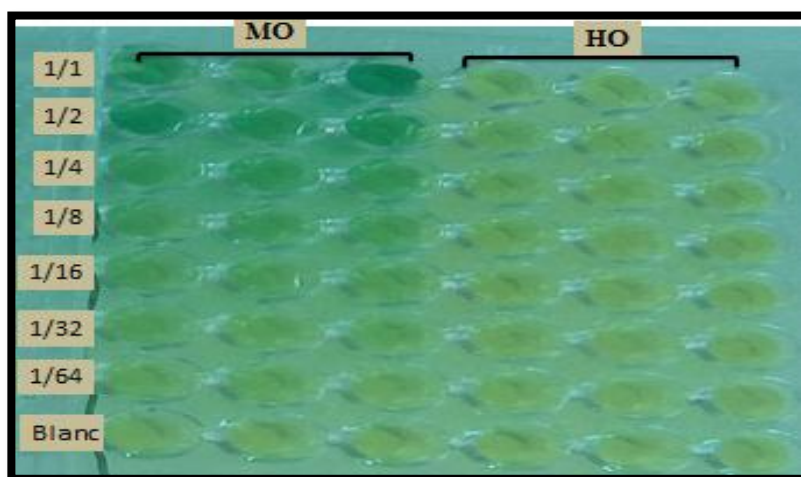


Figure 24 : Profil de la microplaque de l'activité de pouvoir réducteur.

Sur le profil de la microplaque, on note qu'il y a un changement de couleur dans l'extrait de la margine du jaune au bleu verdâtre, mais pour huile d'olive il n'y a aucun changement de couleur. Nous pouvons conclure que la margine a la capacité de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Les résultats du pouvoir réducteur des extraits et des antioxydants de référence (l'acide ascorbique, l'acide Tannique, et l' α -Tocophérol) sont exprimés au tableau 11 à la figure 25.

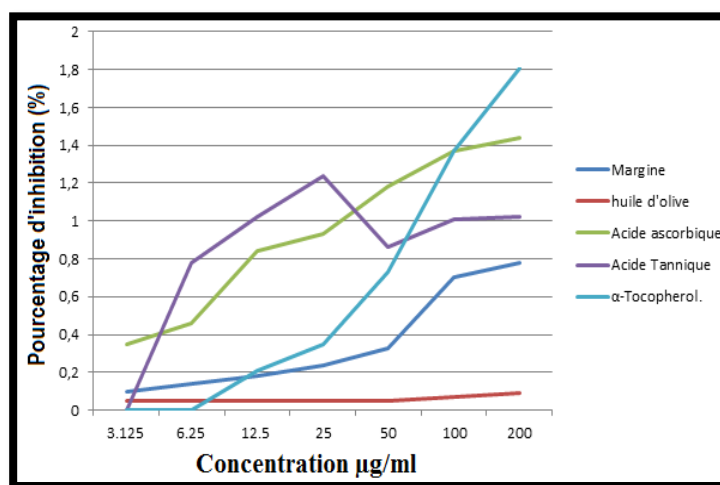


Figure 25 : Courbes représentent le pouvoir d'inhibition des différents extraits et standards.

D'après la figure 25 ; on remarque que l'activité réductrice augmente significativement avec la concentration des extraits phénoliques et antioxydants. A la concentration 12.5 µg/ml l'extrait de la margine et l' α -tocophérol présente la même absorbance. La margine montre un pouvoir réducteur faible et moins prononcé que celui des standards à la concentration 100 µg/ml. L'absorbance d'huile d'olive augmente faiblement et enregistre le plus faible pouvoir réducteur.

Tableau 10 : Valeurs ($A_{0.50}$) du test pouvoir réducteur des échantillons et standards.

Extraits/standards	$A_{0.5}$ $\mu\text{g/ml}$
Extrait de la margine d'olive (EMO)	65.97 \pm 1.08
Extrait d'huile d'olive (EHO)	>200
Acide ascorbique	6.77 \pm 1.15
Acide Tannique	5.39 \pm 0.91
α -Tocophérol.	34.93 \pm 2.38

D'après les résultats du tableau 10, nous remarquons que l'extrait d'huile d'olive a une valeur $A_{0.5}$ >200 $\mu\text{g/ml}$ supérieure à celle de la margine (65.97 \pm 1.08 $\mu\text{g/ml}$), donc huile d'olive a une activité très faible par rapport à la margine qui lui-même a une activité faible ; en comparaison avec les antioxydants standards (l'acide tannique, l'acide ascorbique et l' α -tocophérol) ayant des $A_{0.5}$ égale à 5.39 \pm 0.91 $\mu\text{g/ml}$, 6.77 \pm 1.15 $\mu\text{g/ml}$ et 34.93 \pm 2.38 $\mu\text{g/ml}$ respectivement.

L'activité du pouvoir réducteur de l'extrait de la margine de la présente étude est inférieure à celle obtenue par Nadour M. (2015). Ce dernier a travaillé sur les polysaccharides et les polyphénols issus des sous- produits oléicoles et il a montré des valeurs d' $A_{0.5}$ variant entre 7.65 \pm 0.43 $\mu\text{g/ml}$ et 57.94 \pm 4.44 $\mu\text{g/ml}$.

Lors d'une autre étude réalisé par Mbourmad S. (2011) sur les polyphénols issus de la margine et huiles végétales, l'auteur a enregistré un pouvoir réducteur supérieur à celui de notre étude avec des $A_{0.5}$ qui varie entre 0.293 et 1.697 $\mu\text{g/ml}$. Aussi les résultats d'une étude de Benidjer M et Meziani Z, (2017) ont révélé des valeurs d' $A_{0.5}$ qui varient entre 165 et 379 mg/Kg, lors des expériences effectuées sur des extraits d'huile d'olive. Ceci prouve que nos extraits ont un faible pouvoir de réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}).

2.6. Activité superoxyde DMSO alcalin

Dans la méthode DMSO alcalin, un radical superoxyde O_2 est généré par l'addition d'hydroxyde de sodium à l'air saturé DMSO, le superoxyde généré reste stable dans la solution qui réduit le nitro bleu tétrazolium (NBT) de couler jaune en formazan de couleur pourpre. Le tableau 11 montre les résultats obtenus de l'activité superoxyde DMSO alcalin de la margine et l'huile d'olive comparés avec les standards BHA et BHT.

Tableau 11 : Valeurs d'IC₅₀ de l'activité superoxyde DMSO alcalin des extraits et standards.

Extraits /Standards	IC ₅₀ µg/ml
Extrait de la margine d'olive (EMO)	23,09±0,83
Extrait d'huile d'olive (EHO)	NA
BHA	< 3,125
BHT	< 3,125

D'après les valeurs du tableau10 ; on remarque que l'extrait de la margine possède une activité superoxyde DMSO alcalin avec une valeur d'IC₅₀ 23,09±0,83 µg/ml, il possède une activité inférieure à celle des standards BHA et BHT ayant une IC₅₀ <3,125µg/ml. L'extrait de l'huile d'olive ne possède aucune absorbance ce qui prouve qu'il n'a pas une activité superoxyde DMSO alcalin.

En raison de l'absence d'études qui ont réalisé l'activité superoxyde DMSO alcalin sur les extraits d'intérêt, nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux d'autres études.

3. Etude de l'activité enzymatique

3.1. Activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase

L'inhibiteur de l'alpha-glucosidase a un rôle dans la diminution de l'absorption intestinale des sucres (monosaccharides), il affecte négativement l'activité des enzymes (alpha-glucosidase) qui agissent pour la destruction des sucres alimentaires en mono et disaccharides, sont essentiellement actifs sur l'hyperglycémie post-prandiale, donc il diminue la glycémie (Ruse.A.J.J. et Wisselaar.H.A., 1994). D'où l'intérêt accordé à ces inhibiteurs pour pouvoir évaluer la capacité des extraits à avoir une activité antidiabétique.

Ce test est basé sur l'utilisation de *p*-nitrophénol qui a une absorbance mesurée à 405 nm, les résultats obtenus du test inhibiteur de l'alpha-glucosidase sont représentés au tableau 12.

Tableau 12 : Valeurs d'IC₅₀ de test inhibiteur de l'alpha-glucosidase des extraits et du standard.

Extraits/ Standards	IC ₅₀ µg/ml
Extrait de la margine d'olive (EMO)	287,64±9,26
Extrait d'huile d'olive (EHO)	85,92±1,70
Acarbose	275,43±1,59

Le tableau 12 montre qu'il existe une différence des valeurs d'IC₅₀ pour les deux échantillons : l'huile d'olive et la margine, ce dernier ayant enregistré la plus grande valeur d'IC₅₀ estimée à 287,64±9,26 µg/ml. Cette valeur est proche de celle enregistrée pour le standard l'ascarbose qui est égale à 275,43±1,59 µg/ml.

L'extrait d'huile d'olive enregistre une valeur d'IC₅₀ égale à 85,92±1,70 µg/ml, cette valeur est inférieure aux IC₅₀ enregistrées par l'extrait de la margine et le standard, ceci confirme que l'extrait d'huile d'olive possède un meilleur pouvoir d'inhibition de l'alpha-glucosidase et par conséquent une activité anti-diabétique. Le résultat obtenu par la présente étude est confirmé par Collado-G,J. *et al.*, (2017) ; les auteurs ont effectué un travail sur cinq types d'huiles d'olives extra vierges espagnoles, l'évaluation de l'activité inhibitrice d'alpha-glucosidase a montré des valeurs d'IC₅₀ variant entre 0,44 µg /ml et 1,30 µg /ml. Cette différence des valeurs d'IC₅₀ peut être expliquée par la nature du solvant utilisé, les auteurs de la même étude ont confirmé qu'une activité plus forte contre l'enzyme d'alpha glucosidase peut être observée en utilisant des extraits éthanoliques qui sont meilleurs que les extraits méthanoliques.

3.2. Activité inhibitrice d'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase

Il a été prouvé que des taux élevés des deux enzymes l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BCHE) entraînent une diminution des quantités de neurotransmetteur acétylcholine (ACh). Rétablir les niveaux de ce neurotransmetteur via l'inhibition de ces enzymes est en fait l'approche thérapeutique la plus utile pour traiter la maladie d'Alzheimer et les autres formes de démence (M. Figueiredo-G *et al.*, 2018). Nous nous sommes intéressés au cours de notre étude à tester l'activité anti-Alzheimer en se basant sur les deux tests d'inhibition des deux enzymes l'AChE et la BCHE. Le profil de la microplaque est présenté à la figure 26.

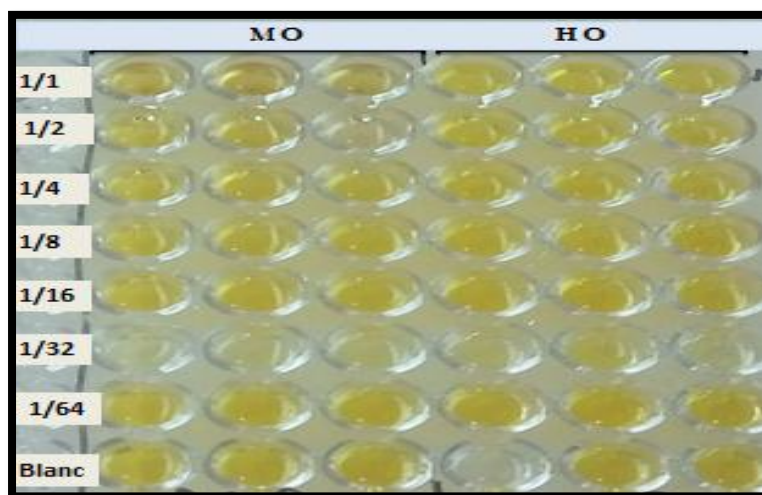


Figure 26 : Profil de la microplaque de l'activité inhibitrice d'AChE.

Les valeurs d'IC₅₀ de l'activité inhibitrice d'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase sont montrées aux tableaux 13, les résultats du dosage pour les deux activités sont représentés aux figures 27 et 28 respectivement.

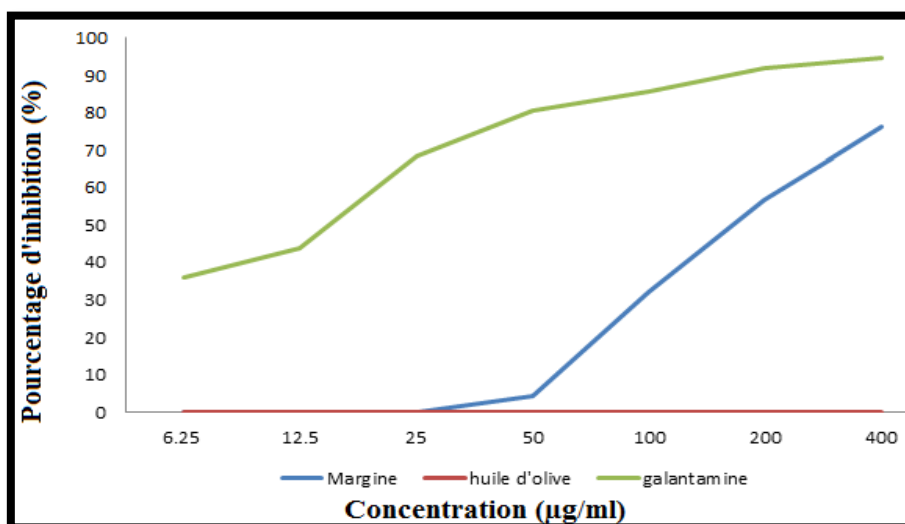


Figure 27 : Courbes représentent le pourcentage d'inhibition de l'activité acétylcholinestérase par les extraits en fonction des concentrations.

Tableau 13: Valeurs d'IC₅₀ du test de l'activité inhibitrice d'AChE et du BChE des extraits et du standard.

Extraits /Standards	IC ₅₀ µg/ml (test d'activité inhibitrice d'AChE)	IC ₅₀ µg/ml (test d'activité inhibitrice du BChE)
Extrait de la margine d'olive (EMO)	174.37±5.75	173.65±0.16
Extrait d'huile d'olive (EHO)	NA	350.72±59.04
Galantamine	6.27±1.15	34.75±1.99

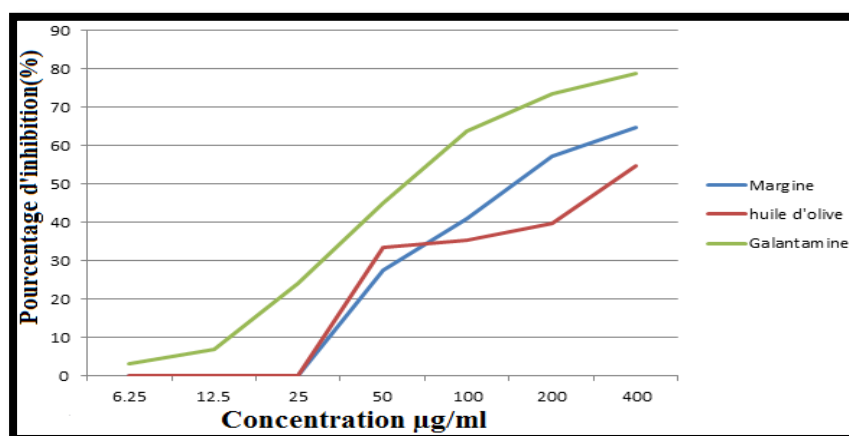


Figure 28: Courbes représentent le pourcentage d'inhibition de l'activité butyrylcholinestérase par les extraits et le standard en fonction des concentrations.

La courbe des figures 27 et 28 montre que le pourcentage d'inhibition de l'activité des deux enzymes (AChE et BChE) par les deux extraits et le standard est proportionnel à la concentration. La figure 27 montre que l'EHO n'a aucun pourcentage d'inhibition de l'activité d'AChE tandis que l'EMO commence à avoir un pourcentage d'inhibition à la concentration 25 µg/ml et augmente avec l'augmentation de la concentration. Pour l'activité d'inhibition de la BChE ; la figure 28 montre qu'à des concentrations faibles les deux extraits ne manifeste aucun pourcentage d'inhibition de l'activité butyrylcholinestérase, une augmentation de la courbe est remarquée à la concentration 25 µg/ml.

D'après les résultats présentés au tableau 13 ; on observe que l'EMO a une valeur d'IC₅₀ égale à 174.37±5.75 µg/ml, cette valeur est plus élevée par rapport à celle du standard (Galantamine), par contre l'EHO ne présente aucune absorbance, donc il n'est pas doté d'une activité d'inhibition de l'enzyme AChE. Les IC₅₀ du test de l'activité inhibitrice de la BChE, montrent que l'EHO a la plus grande valeur d'IC₅₀ 350.72±59.04 µg/ml suivi de l'EMO

(173.65 ± 0.16 $\mu\text{g/ml}$) et le standard (34.75 ± 1.99 $\mu\text{g/ml}$) donc l'EMO a un pouvoir d'inhibition de la BChE supérieur à celui de l'EHO.

Les valeurs d'IC₅₀ obtenus du test d'inhibition de l'activité des deux enzymes sont inférieures à celles obtenues par M. Figueiredo-G *et al.*, (2018) qui ont trouvé des valeurs d'IC₅₀ qui varient de 156 ± 4 à 308 ± 33 mg/ml sur des EHO de la variété *cornicabra* et *picual*. Les mêmes auteurs ont trouvé des valeurs d'IC₅₀ égale à 503 ± 36 $\mu\text{g/ml}$ sur les mêmes EHO en évaluant l'activité d'inhibition de l'AChE.

Concernant l'EMO aucune étude n'a apporté des résultats qui se rapportent aux deux tests enzymatiques.

En conclusion, on peut dire que les résultats de ce travail nous a permis d'affirmer que les deux extraits étudiées présentent des bonnes activités antidiabétique et anti-Alzheimer et des propriétés antioxydantes considérables qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les produits oléicoles mondiaux se concentrent essentiellement dans le bassin méditerranéen, actuellement ils marquent un intérêt primordial dans la recherche grâce à leur richesse en biomolécules qui suscitent l'intérêt de plusieurs chercheurs.

Au cours de cette étude une estimation du taux des polyphénols et flavonoïdes a été effectuée sur des extraits de la MO et l'HO suivi d'une évaluation de leurs activités antioxydantes et enzymatiques.

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en flavonoïdes totaux enregistrées dans l'EMO et l'EHO sont faiblement considérables. Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant montre que l'EHO présente une faible activité aux tests CCA et le pouvoir réducteur et il n'a aucune activité lors de l'utilisation des autres tests. L'EMO a montré une très faible activité aux différents tests : chélation du cuivre, l'effet scavenger à l'ABTS, l'effet superoxide DMSO alcalin et le pouvoir réducteur. L'activité antidiabétique évaluée par le test d'inhibition d'alpha-glucosidase a montré que les deux extraits possèdent une activité assez importante comme inhibiteurs, et un faible pouvoir d'inhibition a été noté pour l'extrait d'HO. De même l'activité anti-Alzheimer estimée par deux tests enzymatiques ; a prouvé que les deux extraits enregistre des activités d'inhibition de la BChE et que seulement l'EMO possède une activité d'inhibition de l'AChE.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances d'origine naturelle biologiquement active. Cette étude nécessite d'autres recherches qui s'intéressent à :

- ✓ Evaluer le travail sur d'autres variétés algériennes et internationales.
- ✓ Déterminer les différents constituants des composés phénoliques étudiés.
- ✓ Réaliser une étude in vivo, afin de mieux cerner le pouvoir antioxydant des deux extraits.
- ✓ Utiliser d'autres solvants organiques (acétone, éthanol) pour extraire le maximum de composants antioxydants.

*Références
bibliographiques*

(A)

Abdelaziz Merouane , Abdallah Noui , Housseine Medjahed, Kamel Nedjari Benhadj Ali et Abdelkader Saadi, (2014), Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle, Int. J. Biol. Chem. Sci. 8(4): 1865-1870.

Aggoun-Arhab Moufida, (2016), Caractérisation de la composition en micro constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière, thèse de doctorat de l'université, Frères Mentouri-Constantine, Algérie, pages 31,40.

Akroum Souâd, (2011), thèse de doctorat : Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Université Mentouri de Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie Animale.

AlgecirasSchimnich,A.,Cook,W.J., Milz,T.C.,Saenger,A.K.,&Karon,B.S.(2007), Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stik samples collected for determination of neonatal bilirubin.ClinicalBiochemistry,40,1311-1316.

Ali –Rachdi, F.,Meraghni,S., Touaibia ,N., et M ,M.(2018).Analyse Quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne Scabisa Atropurpurea sub .Maritima L. Bulletin de la société Royale des Sciences de Liege .87, P.13-21.

Allouche noureddine, Ines fki et Sami Sayadi, (2004),Toward a High Yield Recovery of Antioxidants and Purified Hydroxytyrosol from Olive Mill Wastewaters, J. Agric. Food Chem., 52, 267-273.

Amarti Fatiha, Satrani Badr, Ghanmi Mohamed, Aafi Abderrahmen, Farah Abdellah, Aarab Lotfi, El Ajjouri Mustapha, Guedira Aabelhamid et Chaouch Abdelaziz (2011), Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc, Acta Botanica Gallica 158 (4), 513-523.

Amiar Fatima & Zouaoui Nassima, (2016), Caractéristiques physico-chimiques des margines issues de deux systèmes d'extraction, Mémoire de Master, Université A. MIRA, Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Alimentaires, Bejaia.

(B)

Beaudeau J, Let Geneviève D, (2011), Biochimie médicale : Marqueurs actuelles et perspectives, 2^{ème} édition .Edition : Lavoisier Chantal Arpino ,p 130,131.

Bellebcir Leila,(2008), Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales, mémoire de magister, université mentouri de Constantine faculté de biologie département de biologie et écologie, Algérie, Constantine.

Benguerba Adlen, (2008), Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'especes *Inula crithmoides L*, mémoire de magister, Université Mentouri Constantine faculté Sciences exactes, département de Chimie, Algérie, Constantine.

Benidjer ,M., Meziani ,Z., (2017), Etude des effets du stockage sur le potentiel antioxydant de l'huile d'olive, Université A. MIRA, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Alimentaires, Algérie, Bejaia.

Bensakhria, Ayoub. (2018), livre : toxicologie général, chapitre 09: le stress oxydatif, ReserchGate, 70-86.

Benyahia Nadia, Zein Karim, Janvier (2003), Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées, 8, page 2

Berzas Nevadoa J.J, Penalvo G.C, Robledoa V.R et Martínez G.V (2009).New CE–ESI-MS analytical method for the separation, identification and quantification of seven phenolic acids including three isomer compounds in virgin olive oil Talanta 79: 1238–1246

Bianco A., Buiarelli F., Cartoni G., Coccioli F., Jasionowska R. et Margherita P. (2003). Analysis by liquid chromatography tandem mass spectrometry of biophenols compounds in olives and vegetation waters, part 1. Journal of Separation Science, 26,409-416.

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

Bonnefont Rousselot, (2007), stress oxydant et vieillissement, *Spectra Biologie* n° 157.

Boucheffa S. (2011), Mémoire de magister : Caractéristiques physico-chimiques et activité antioxydante de quelques huiles d'oléastres (*Olea europaea* var. *oleaster*) de la région de Béjaïa, Université Abderahmane MIRA de Bejaia.

Bozin B. Mimica-Dukic N., Simia N., Anackov G., (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem*, 54: 1822-1828.

Bruna Romana-Souza, Andréa Monte-Alto-Costa, (2019), Olive oil reduces chronic psychological stress-induced skin aging in mice through the NF- κ B and NRF2 pathways, *Journal of Functional Foods* 54, 310–319.

(c)

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

Claudine Manach, Augustin Scalbert, Christine Morand, Christian Rémésy, and Liliana Jiménez, (2004), Polyphenols: food sources and bioavailability, *Am J Clin Nutr* 2004;79:727-47.

Claudio Peri, (2014), The Extra-Virgin Olive Oil Handbook, Edité par: Claudio Peri, chapitre 2: Virgin olive oil: definition and standards.

Collado-González, J., Grosso, C., Valentão, P., Andrade, P.B., Ferreres, F., Durand, T., Guy, A., Galano, J-M., Torrecillas, A., Gil-Izquierdo, A., (2017), Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by Spanish extra virgin olive oils: the involvement of bioactive compounds other than oleuropein and hydroxytyrosol, *Food Chemistry*.

Cristina Angeloni, Marco Malaguti , Maria Cristina Barbalace et Silvana Hrelia, (2017), Bioactivity of Olive Oil Phenols in Neuroprotection ,18, 2230,2.

Cristina Popovici, Ilonka Saykova, Bartek Tylkowski ,(2009), Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de génie industriel, 4, 25-39.

(D)

Debosree Ghosh (2015), Tannins from Foods to Combat Diseases, International Journal of Pharma Research & Review; 4(5):40-44.

Delattre J, Beaudoux J.L et Bonnefont-Rousselot, (2005), Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologique et pathologique, Édition : Lavoisier TEC&DOC éditions Médicales Internationales, paris, p 14, 93,94.Opere, C.

Denis Ollivier, Estelle Boubault, Christian Pinate, Sylvie Souillo, Michel Guérère, et Jacques Artaud (2004), Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique -N°965-pp.169-196.

Denys Durand, Damon Mary, Gobert Myléne, (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. Cahiers de nutrition et de diététique, 48, 218-224.

Dinis, P., Pineda, M., Aguilar, M., (1999). Spectrophotometric quantity of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of Vitamin E. Anal. Biochem. 269, 337–341.

Duranteau, J., (2008).Conséquences cliniques du stress oxydant, Réanimation : Hors-série, 3, 5-6.

(E)

E. Ouabou^a, A. Anouar et S. Hilali, (2014), Élimination des polluants organiques présents dans la margine d'huile d'olive par filtration sur colonne d'argile et sciure de bois d'eucalyptus, Journal of Applied Biosciences 75:6232– 6238, ISSN 1997–5902.

E. Ouabou^b, A. Anouar et S. Hilali, (2014), Traitement de la margine brute d'huile d'olive par distillation suivi de neutralisation par la chaux, *Journal of Applied Biosciences* 79:6867 – 6872, ISSN 1997–5902.

Ebru Deveci, Gulsen Tel-Çayan, and Mehmet Emin Duru (2018), Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta* *international journal of food properties* 21,1, 771–783.

El Boustani, E., Prost, J., Benkhalti, F., El Yodafar ,C., Stocker, P., Jimenez, F., Prerez, (2004), Régime alimentaire méditerranéen et protection contre les maladies cardiovasculaire. Congrès international de biochimie. Forum des jeunes chercheurs Marrakech. Maroc.

Elena De Marco, Maria Savarese, Antonello Paduano, Raffaele Sacchi, (2007), Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters, *Food Chemistry*, 104, 858–867.

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

(F)

François Zaviska, Patrick Drogui, Guy Mercier, Jean-François Blais, (2009), Procédé d'oxydation avancé dans le traitement des eaux et des effluents industriels : application à la dégradation des polluants réfractaires, *Revue des sciences de l'eau*, 22, 4,461-573.

(G)

Gharby S, H. Harhar, Z. Bouzoubaa, A. Roudani, I. Chafchaoui, B. Kartah, Z. Charrouf, (2014), Effet des Polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol (Effect of Polyphenols extracts from margins on the stability of sunflower oil), *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (2) 464-469.

Goudable Joelle, Favier Alain, (1997), Radicaux libres oxygénés et anti oxydantes. *Nutr clin Mdtabol*, 11:115-20.

Gulfranz Muhammd, Rehana Kasuar, Gulshan Arshad, Sajid Mehmood, Nisar Minhas, Muhammad Javid Asad, Asif Ahmad and Farzana Siddique, (2009), Isolation and

characterization of edible oil from wild olive, African Journal of Biotechnology Vol. 8 (16), pp. 3734-3738.

Gülçin I., Elias R., Gepdiremen A., Boyer L. et Köksal E. (2007), A comparative study on the antioxydant activity of fringetree (*Chiomanthusvirginicus* L) extracts. African journal of biotechnology, 6 (4): 410-418.

(H)

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007), Le stress oxydant, Rev Med Liege 62 : 10 : 628-638.

Huet, O., Duranteau,J.,(2008). Dysfonction endothéliale: rôle des radicaux libres Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. Réanimation, 17, 387-392.

(I)

Ilkhani F, Banafshe H et Saedisomeolia, (2016), Niacin and oxidative stress. Journal of Nutritional Medicine and Diet care ISSN: 2572-3278.

(J)

John W, Hilton Ph.D, (1989), Les anti oxydants rôles, types et nécessites dans les aliments pour animaux de compagnie, Can Vet J volume 30.

karray Manel Hamza, (2013), Bioconversion enzymatique des composés phénoliques des effluents issus de l'extraction d'huile d'olive : une voie prometteuse de la valorisation par la production de l'hydroxytyrosol naturel, thèse de doctorat de l'université de Sfax école nationale d'ingénieur de Sfax, Tunisie.

Kim D-O. Chun O.K. Kim Y.J. Moon H-Y et Lee C.Y. (2003), Quantification of polyphenolics and Their Antioxidants Capacity in Fresh plums. Journal Agricultural Food Chemistry, 51: 6509-6515.

kriker Soulef , Yahia A (2013) Effect of flavonoid extract of the medicinal plant (*Glycyrrhiza glabra* L.) in the region of Djamaa (south of Algeria) on the growth of some human pathogenic bacteria, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; 2 (4): 58-62.

(L)

Laplante Marc André, (2007), thèse de doctorat: la production de l'anion superoxyde par l'angiotensine, l'endothéline et les voies de signalisation dépendantes de l'acide arachidonique dans les tissus vasculaire dont le développement de l'hypertension, université de Montréal, Canada.

Lapornik, B., Prosek, M., et Wondra A.G., (2005), Comparaison of exact prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering*. 71:214-222.

Laribi Rahima, (2015), les composés phénoliques de quelques variétés de l'huile d'olive algérienne : identification et propriétés, mémoire de Doctorat, université Ferhat Abbas Sétif 1, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Algérie, Sétif.

Lee O.-H., Lee B.-Y., Kim Y.-C., Shetty K., et Kim Y.-C., (2008), Radical Scavenging-Linked Antioxidant Activity of Ethanolic Extracts of Diverse Types of Extra Virgin Olive Oils, *Journal of food science*, 73, 7, 519—525.

Luisa Hernández, Dolores Sicardo, Miguel Alfonso et José Martínez-Rivas, (2019) Transcriptional Regulation of Stearoyl-Acyl Carrier Protein Desaturase Genes in Response to Abiotic Stresses Leads to Changes in the Unsaturated Fatty Acids Composition of Olive Mesocarp,10,(251),2.

(M)

M. Figueiredo-González, P. Reboredo-Rodríguez, C. GonzálezBarreiro, J. Simal-Gándara, P. Valentão, A. Carrasco-Pancorbo, P.B. Andrade, B. CanchoGrande(2018), Evaluation of the neuroprotective and antidiabetic potential of phenol-rich extracts from virgin olive oils by in vitro assays, *Food Research International*.

Mansouri F., Ben Moumen A., Houmy N., Richard G., Fanconnier M.L., Sindic M., Serghini-Caid H., El Amrani, (2016), Evaluation of the oxidative stability of blends of Arbequina olive oils with other monovarietal olive oils. *Olivae*, 120: 23-30.

Marc F., Davin A., Degléne-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M. et Fritisch P, (2004), Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Médecine Sciences, 20 (4), 458-463.

Maria Z.T, (2006) chapitre 6- Olive Oil Quality, Olive Oil Chemistry and Technology, livre 2éme Edition, Editer par : Dimitrios Boskou, Pages 93-111.

Mario J. Soares, (2010), Chapter 92 : The Effect of Olive Oil on Postprandial Thermogenesis, Fat Oxidation and Satiety: Potential Implications for Weight Control, olives and olive oil in Health and Disease prevention ,ScienceDirect ,Editer par :Victor R preedy and Ronald Ross Watson , pages 863-870, Marseille. Page1.

Mbourmad S., (2011), mémoire de magister : Extraction des polyphénols à partir des margines et valorisation en tant qu'antioxydant naturel dans les huiles végétales, Ecole Nationale Supérieur Agronomique El Harrach-Alger.

Medjedoub Imene, (2016), Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'huile d'olive, Mémoire de Master, Université A. MIRA, Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Alimentaires, Bejaia.

Menvielle-Bourg F. Joanny, (2005), La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. Phytothérapie 3: 118-121.

Merghem rachid, ,1ére édition (2009), Eléments de biochimie végétale, bahaeddine éditions, nombre de page 172.

Migdal C, M. Serres, (2011), Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant, médecine/sciences 27 : 405-12.

Mohammedi, Z. (2006), Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister .Tlemcen.

Moktar Hamdi, (1991), thèse de doctorat : Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents liquides de l'extraction de l'huile d'olive, centre de biotechnologie université du sud à Sfax, Tunisie, page 7 et 3.

(N)

Nadour malika, (2015), Extraction, caractérisation des polysaccharides et des polyphénols issus des sous-produits oléicoles. Valorisation des polysaccharides à visée alimentaire, thèse de doctorat de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie, pages 40.

Nefzaoui A, (1991), Valorisation des sous-produits de l'olivier. In : Tisserand J.-L. (ed.), Alibés X. (ed.). Fourrages et sous-produits méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, p. 101-108 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 16.

Niki, L., Reynaert, S. W., Aesif, T. M., Amy, B., Emeil F.M., Wouters, C. G., Irivin., Yvonne, M. W., et Janssen-Heininger. (2007), Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse .the journal of Immunology, 178, 3814_3821.

(O)

Obeid H.K., Allen M.S., Bedgood D.R., Prenzler P.D., Robards K. et Stockmann R. (2007). Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 823-837.

Ohla S.E, Opere C.A et Leday A.M, (2005), Pharmacological consequences of oxidative stress in ocular tissues , MutationResearch,579,22-36.

Orban,J ,C. (2011). Oxygène, stress oxydant, Désordres métabolique et réanimation, le point sur springer, paris. p 427-437.

Oyaizu M. (1986), Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition, 44, 307–315.

Özge Seçmeler, et Charis M. Galanakis, (2019), Olive Fruit and Olive Oil, Innovations in Traditional Foods, publier dans: science Direct, Édité par: Charis M. Galanakis, Pages 193-220.

(P)

Paixão N., Perestrelo R., Maques J. et Câmara j. S. (2007), Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red rosé and white wines. Food Chemistry, 105 : 204-214.

(R)

R. Sánchez-Vioque , M. Polissiou , K. Astraka , M. de los Mozos-Pascual, P. Tarantilis, D. Herraiz-Penalver, O. Santana-Méridas (2013): Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry. Industrial, Crops and Products 49, 150–159.

Rao M.N.A. et Kunchandy Elizabeth, (1990), Oxygen radical scavenging activity of curcumin, Elsevier International Journal of Pharmaceutics, 58, 237-240.

Re Roberta, Nicoletta Pellegrini, Anna Proteggente, Ananth Pannala, Min Yang, et Catherine Rice-Evans, (1999), Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radical Biology & Medicine, 26, 9/10, 1231-1237.

Reuser A, Wisselaar H. (1994), An evaluation of the potential side-effects of alpha-glucosidase inhibitors used for the management of diabetes mellitus, Eur J Clin Invest: 24(Suppl 3) :19 – 24.

Roberfroid M.B, Coxam V, et Delzenne N.M, (2008), Aliments fonctionnels. 2^{ème} édition. Edition lavoisier TEC DOC, p 209,215.

(S)

Satish ,B ,N ., Dilipkumar,P. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms, cite this: RSC Adv5, 27986.

Smirnoff N, Cumbes QJ, (1989), Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. Phytochemistry. 28:1057–1060.

Souza S-P., Luciana L., Pereira S., Alline A., Souza C-D., Santos D., 2011-Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharis trimera*: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases, Revista Brasileira de Farmacognosia.

Stamler J.S et Slivka A, (1996), Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular- related disease. *Nutrition reviews*, 54(1), 1-30.

Sulistiyani Mega S., Yoana P., 2016-Inhibition of α -glucosidase activity by ethanolic extract of *Melia azedarach* L. leaves, IOP Publishing, Series: Earth and Environmental Science, 31,012025.

(T)

Tabuti J,R,S Lye K,A et Dhillion S ,S ,2003 Traditional herbal drugs of Bulamogi , Uganda : plants ,use and administration .*J Ethnopharmacology*,88,19-44.

(V)

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

Veillet Sébastien (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

(Z)

Zhishen J, Mengcheng T, et Jianming, W, (1999), The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555– 559.

Zullo. B.A, G. Ciafardini (2019), Evaluation of physiological properties of yeast strains isolated from olive oil and their *in vitro* probiotic trait, *Food Microbiology* 78, 179–187.

Sites numériques:

Démarchez Michel, (2012), livre en ligne biologie de la peau, chapitre : Le stress oxydant cutané <https://biologiedelapeau.fr/spip.php?article64>, Consulter le 14/03/2019.

Giol Marc Vilamajó Y, (2008), Le peroxyde d'hydrogène dans la désinfection et l'entretien de l'hygiène des installations d'eau en élevage, Article en ligne :

https://www.3trois3.com/articles/le-peroxyde-dhydrogene-dans-la-desinfection-et-lentretien-de-lhygie_802/ Consulter le : 18/04/2019.

Lakonis produits grecs, Lakonis, [en ligne], disponible sur :

<https://www.huilemielolives.com/content/20-les-differents-types-d-huiles-d-olive> Consulter le : 16/04/2019.

Tremblay Sébastien, (2004), thèse de doctorat: l'oxydation de la cytosine dans l'ADN et sa réparation, mémoire en ligne :<https://Savoirs.Usherbrooke.ca/handle/11143/4199> Consulter le : 18/04/2019.

Summary

The place of olive oil and olive by-products such as vegetable water is of considerable importance in the development of future medicines and in the prevention of certain diseases. This study was conducted in order to evaluate the antioxidant, anti-Alzheimer and antidiabetic activity of olive oil extracts and vegetable water.

Total polyphenol and flavonoid contents of both extracts were determined using Folin-Ciocalteu reagent and tri-aluminum chloride respectively; the results revealed that the vegetable water has a very high polyphenol and flavonoid content ($185.3 \pm 0.34 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ and $97.8 \pm 0.88 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$). The evaluation of the antioxidant activity of the extracts is determined by several tests in particular: the DPPH test and the radical hydroxyl test which showed no absorbance for the two extracts, the test of the copper chelation which revealed an important activity for the EMO with an IC_{50} value of $177.12 \pm 8.00 \mu\text{g} / \text{ml}$. The scavenger activity of the ABTS radical has proved that the EMO has a high antioxidant power with an $\text{A}_{0.5}$ value of $82.91 \pm 2.19 \mu\text{g} / \text{ml}$, the reducing power of the EMO is higher than that olive oil with a value of $\text{A}_{0.50}$ of 65.97 ± 1.08 , also we found that the EMO exhibited good activity by the alkaline DMSO test with an IC_{50} value of $23.09 \pm 0.83 \mu\text{g} / \text{ml}$ compared to the OME which showed no absorbance.

In this study an evaluation of the anti-diabetic activity was carried out using an enzymatic enzyme inhibition test of the alpha-glucosidase enzyme, the results revealed that the olive oil has a good alpha activity. glucosidase with an IC_{50} value of $85.92 \pm 1.70 \mu\text{g} / \text{ml}$. On the other hand, the anti-Alzheimer's activity evaluated using two tests of inhibition of AChE activity and BChE; proved that the vegetable water extract exhibited a high capacity of inhibition of these two enzymes with an IC_{50} of 174.37 ± 5.75 and $173.65 \pm 0.16 \mu\text{g} / \text{ml}$ respectively.

In conclusion, our study confirms that olive oil and vegetable water have considerable antioxidant power and a powerful ability to prevent the onset of diabetes and Alzheimer's disease.

Key words: olive oil, vegetable water, DPPH, ABTS, alkaline DMSO, flavonoids, polyphenols, biological activity, antioxidant activity.

ملخص

مكان زيت الزيتون ومشتقاته مثل المياه النباتية له أهمية كبيرة في تطوير الأدوية المستقبلية وفي الوقاية من بعض الأمراض. أجريت هذه الدراسة من أجل تقييم النشاط المضاد للأكسدة ومضاد الزهايمر ومضادات السكري لمقتطفات زيت الزيتون والمياه النباتية.

تم تحديد إجمالي محتويات البوليفينول والفلافونويد في كلا المستخلصين باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu وكوريد ثلاثي الألومنيوم على التوالي ؛ أظهرت النتائج أن الماء النباتي يحتوي على نسبة عالية جدًا من البوليفينول والفلافونويد (0.34 ± 185.3 ميكروغرام / EAG ملغ و 0.88 ± 97.8 ميكروغرام مكافئ / ملغ). يتم تحديد تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المستخلصات من خلال العديد من الاختبارات على وجه الخصوص: اختبار DPPH واختبار الهيدروكسيل الجذري الذي لم يُظهر أي امتصاص للمستخلصين ، اختبار المخلاب النحاسي الذي كشف عن نشاط مهم ل EMO بقيمة IC_{50} تبلغ 177.12 ± 8.00 ميكروغرام / مل. لقد أثبت نشاط الزاحف لـ ABTS root أن لدى EMO قدرة عالية مضادة للأكسدة بقيمة $A_{0.5}$ تبلغ 2.19 ± 82.91 ميكروغرام / مل ، قوة تقليل EMO أعلى من تلك زيت الزيتون بقيمة $A_{0.5}$ من 1.08 ± 65.97 ، كما وجدنا أن EMO أظهر نشاطًا جيدًا من خلال اختبار DMSO القلوي بقيمة IC_{50} تبلغ 0.83 ± 23.09 ميكروغرام / مل مقارنة مع OME التي لم تظهر أي امتصاص.

في هذه الدراسة تم إجراء تقييم للنشاط المضاد للسكري باستخدام اختبار تثبيط إنزيم إنزيم α -glucosidase ، وكشفت النتائج أن زيت الزيتون لديه نشاط ألفا جيد. الجلوكوزيداز بقيمة IC_{50} تبلغ 1.70 ± 85.92 ميكروغرام / مل. من ناحية أخرى ، تم تقييم نشاط مضاد الزهايمر باستخدام اختبارين لتثبيط نشاط AChE و BChE ؛ أثبت أن مستخلص المياه النباتية أظهر قدرة عالية على تثبيط هذين الإنزيمين مع IC_{50} من 5.75 ± 174.37 و 0.16 ± 173.65 ميكروغرام / مل على التوالي.

في الختام ، تؤكد دراستنا أن زيت الزيتون والماء النباتي لهما قوة كبيرة مضادة للأكسدة وقدرة قوية على منع ظهور مرض السكري ومرض الزهايمر.

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون، المياه النباتية ، DPPH ، ABTS ، DMSO القلوية ، الفلافونويد ، البوليفينول ، النشاط البيولوجي .

Résumé

La place de l'huile d'olive et des sous-produits oléicoles tels que la margine occupent une importance non négligeable dans la mise au point des futurs médicaments et dans la prévention de certaines maladies. Cette étude a été réalisée dans l'objectif d'évaluer l'activité antioxydante, anti-Alzheimer et antidiabétique des extraits d'huile d'olive et la margine.

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des deux extraits ont été déterminés en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et le tri-chlorure d'aluminium respectivement ; les résultats ont révélé que la margine a une teneur en polyphénols et en flavonoïdes très élevée ($185,3 \pm 0,34 \mu\text{g EAG/mg}$ et $97,8 \pm 0,88 \mu\text{g QE/mg}$). L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits est déterminée par plusieurs tests notamment : le test DPPH et le test hydroxyl radical qui n'ont montré aucune absorbance pour les deux extraits, le test de chélation de cuivre qui a révélé une activité importante pour l'EMO avec une valeur d' IC_{50} de $177,12 \pm 8,00 \mu\text{g/ml}$. L'activité scavenger du radical ABTS a prouvé que l'EMO possède un pouvoir antioxydant élevé avec une valeur d' $A_{0,5}$ de $82,91 \pm 2,19 \mu\text{g/ml}$, le pouvoir réducteur de l'EMO est plus élevé à celui l'huile d'olive avec une valeur d' $A_{0,50}$ de $65,97 \pm 1,08$, aussi nous avons constaté que l'EMO présenté une bonne activité par le test du DMSO alcalin avec une valeur d' IC_{50} de $23,09 \pm 0,83 \mu\text{g/ml}$ en comparaison à l'EHO qui n'a présenté aucune absorbance.

Au cours de cette étude une évaluation de l'activité anti diabétique a été réalisée en utilisant un test enzymatique d'inhibition de l'enzyme alpha-glucosidase, les résultats ont révélé que l'huile d'olive a une bonne activité d'alpha glucosidase avec une valeur d' IC_{50} $85,92 \pm 1,70 \mu\text{g/ml}$. Par contre l'activité anti-Alzheimer évaluée en utilisant deux tests d'inhibition de l'activité de l'AChE et la BChE ; a prouvé que l'extrait de la margine a manifesté un grand pouvoir d'inhibition de ces deux enzymes avec une IC_{50} de $174,37 \pm 5,75$ et $173,65 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

En conclusion, notre étude confirme que l'huile d'olive et la margine possèdent un pouvoir antioxydant considérable et une puissante capacité de prévention contre l'apparition du diabète et la maladie d'Alzheimer.

Mots clés : ABTS, activité antioxydante, activité biologique, DMSO alcalin, DPPH, flavonoïdes, Huile d'olive, margine, polyphénols.

TLILANI ZINEB

Date de soutenance : 21/07/2019

BENSAIDA OUMEIMA

Année universitaire : 2018/2019

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

Thème : Etude de l'activité antioxydante, anti Alzheimer et anti diabétique d'huile d'olive et de la margine.

Résumé :

La place de l'huile d'olive et des sous-produits oléicoles tels que la margine occupent une importance non négligeable dans la mise au point des futurs médicaments et dans la prévention de certaines maladies. Cette étude a été réalisée dans l'objectif d'évaluer l'activité antioxydante, anti-Alzheimer et antidiabétique des extraits d'huile d'olive et la margine.

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des deux extraits ont été déterminés en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et le tri-chlorure d'aluminium respectivement ; les résultats ont révélé que la margine a une teneur en polyphénols et en flavonoïdes très élevée ($185,3 \pm 0,34 \mu\text{g EAG/mg}$ et $97,8 \pm 0,88 \mu\text{g QE/mg}$). L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits est déterminée par plusieurs tests notamment : le test DPPH et le test hydroxyl radical qui n'ont montré aucune absorbance pour les deux extraits, le test de chélation de cuivre qui a révélé une activité importante pour l'EMO avec une valeur d' IC_{50} de $177,12 \pm 8,00 \mu\text{g/ml}$. L'activité scavenger du radical ABTS a prouvé que l'EMO possède un pouvoir antioxydant élevé avec une valeur d' $A_{0,5}$ de $82,91 \pm 2,19 \mu\text{g/ml}$, le pouvoir réducteur de l'EMO est plus élevé à celui l'huile d'olive avec une valeur d' $A_{0,50}$ de $65,97 \pm 1,08$, aussi nous avons constaté que l'EMO présente une bonne activité par le test du DMSO alcalin avec une valeur d' IC_{50} de $23,09 \pm 0,83 \mu\text{g/ml}$ en comparaison à l'EHO qui n'a présenté aucune absorbance.

Au cours de cette étude une évaluation de l'activité anti diabétique a été réalisée en utilisant un test enzymatique d'inhibition de l'enzyme alpha-glucosidase, les résultats ont révélé que l'huile d'olive a une bonne activité d'alpha glucosidase avec une valeur d' IC_{50} $85,92 \pm 1,70 \mu\text{g/ml}$. Par contre l'activité anti-Alzheimer évaluée en utilisant deux tests d'inhibition de l'activité de l'ACHé et la BChE ; a prouvé que l'extrait de la margine a manifesté un grand pouvoir d'inhibition de ces deux enzymes avec une IC_{50} de $174,37 \pm 5,75$ et $173,65 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

En conclusion, notre étude confirme que l'huile d'olive et la margine possèdent un pouvoir antioxydant considérable et une puissante capacité de prévention contre l'apparition du diabète et la maladie d'Alzheimer.

Mots clés : ABTS, activité antioxydante, activité biologique, DMSO alcalin, DPPH, flavonoïdes, Huile d'olive, margine, polyphénols.

Membres du jury :

Présidente du jury : M^{me} Medoukali I. Maître de conférences « b »- UFM constantine 1.

Encadreur : M^{me} Moussaoui S. Maître de conférences « b »- UFM constantine 1.

Examinatrice : M^{me} Guendouze A. Maître Assistante « b » - UFM constantine 1.