



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences biologique



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire

Thème :

**Caractérisation phytochimique des feuilles d'olivier de
quelques variétés locales**

Présenté par : Loucif khalida

Devant le jury :

Nom, Prénom	Affiliation
Président : Mr Touati Nour Eddine (MCA)	Faculté SNV-STU, Univ. Bordj Bou Arreridj
Encadrant : Mr Guissous Mokhtar (MCB)	Faculté SNV-STU, Univ. Bordj Bou Arreridj
Examineur : Mr BenYoucef Nabil (MCB)	Faculté SNV-STU, Univ. Bordj Bou Arreridj

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

En premier lieu et avant tout, je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le Tout-Puissant, le Clément, le Miséricordieux de m'avoir aidé tout au long de mes années d'étude, de m'avoir donné la patience, la force et le courage pour atteindre (arriver à) ce stade et d'accomplir ce modeste travail car sans Sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

D'abord Mes grands remerciements et ma profonde reconnaissance à le au professeur « Guissous Mokhtar » qui a encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants. Mes remerciements s'adressent aux membres du jury Mr Touati Nour Eddine et Mr BenYoucef Nabil pour leur disponibilité à évaluer le présent mémoire et leur participation au jury de soutenance.

Je tiens à remercier gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je tiens aussi a remercié l'ensemble des techniciens de laboratoire surtout : (DEHAMNAA WASSIMA, WAHIBA, BEN YETOU KHADIDJIA, RAHMOUNI AFAF, BEN YAHIA FADILA, SABRINA, ET SAHLI ISMAHEN) pour leur gentillesse et leur aide durant la période que j'ai passé dans le laboratoire.

Enfin, un remerciement très chaleureux à A tous les collègues pour leur aide, leur soutienne en particulier, ceux de notre promotion.

Merci, merci infiniment...

LOUCIF KHALIDA



Dédicace

Je dédis le fruit de mes 18 bougies d'études et ce modeste travail aux plus aux deux être les plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour a mes parents :

Mon père :Meftah loucif

Mon diamant, mon support dans ma vie, mon plus haut exemple et mon magnifique modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras le seul qui m'a toujours épaulé en toutes circonstances et sur lequel je pouvais compter sans failles. Il m'a orienté à prendre les décisions les plus justes. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts. Je t'aime papa, merci papa tu seras toujours mon modèle et un exemple à suivre, et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A ma source de bonheur mon adorable mère :Wahiba ghoul

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement la seule qui a toujours été, la première qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Je te vois la maman parfaite, toujours prête à se sacrifier pour le bonheur de ses enfants ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte, Je t'aime mama, merci pour ta confiance inconditionnelle et d'avoir cru en moi et en ce que je pouvais accomplir, puisse dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour

*me voir réussir, que dieu te protège, **mon cher frère « youcef ».***

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie à ma très chères sœur « **rahma** » je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde. A mes adorables sœur « **hassna** » et « **faiza** », ont toujours été présents pour moi. que la solidarité que nous cultivons ne s'estompe jamais. Vous êtes mon fort soutien surtout dans mes moments les plus difficiles, merci pour votre encouragement et confiance, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour vous, que dieu les garde en bonne santé et leurs offres un bonheur éternel et longue vie.*

*Ames tantes, mes oncles et mes cousins et cousines... et toute ma grande famille « **loucif** » et ma famille « **ghoul** ».*

*Toutes personnes qui sont trop cher pour moi surtout « **ben djeddou linda et hannachi mounia** ».*

*A mes meilleures amies que j'aime beaucoup. pour tous les bons moments qu'on a vécu ensemble, plus particulièrement « **lamia hanifi** ».*

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Chapitre I Généralités sur l'olivier	
I.1. Définition de l'olivier	3
I.2. Classification botanique de l'arbre de l'olivier	3
I.3. Les feuille d'olivier	3
I.3.1. Définition des feuilles d'olivier	3
I.3.2. Composition chimique des feuilles d' <i>Olea europaea</i>	4
I.3.3. Domaines d'utilisations des feuilles d'olivier	4
Chapitre II Matériel et méthodes	
II.1. Présentation de la zone	5
II.2. Matériel végétal	5
II.3. Etude morphologique des feuille d'olivier	5
II.4. Préparation de matériel végétal	6
II.5. Etude physicochimique feuille d'olivier	6
II.5.1. Détermination du taux d'humidité	6
II.5.2. Détermination du taux de cendre(Tc)	6
II.5.3. Détermination de la teneur en matière lipidique	7
II.6. Etude phytochimique des feuilles d'olivier	8
II.6.1. Préparation des extraits	8
II.6.2. Analyse phytochimique	9
II.6.2.1. Dosage des polyphénols	9
II.6.2.2. Dosage des flavonoïdes	10
II.6.2.3. Dosage des tanins condensé	10
II.6.2.4. Dosage des pigments chlorophylliens	11
II.6.2.5. Dosage des caroténoïdes	12
II.7. Etude de l'activité antioxydante in-vitro	12
II.7.1. Capacité antioxydant totale (TAC)	12
II.7.2. Piégeage du radical libre DPPH	13

Chapitre III Résultats et discussions

III.1.	Résultats de l'étude morphologique.....	15
III.2.	Résultats d'analyses physicochimiques.....	16
III.2.1.	Taux d'humidité.....	16
III.2.2.	Taux de cendre.....	17
III.2.3.	Teneur en matière lipidique.....	18
III.3.	Rendement de extraction.....	18
III.4.	Résultats de l'étude phytochimique.....	19
III.4.1.	Teneur en polyphénols totaux.....	19
III.4.2.	Teneur en flavonoïdes.....	20
III.4.4.	Teneur en tanins condensés.....	21
III.4.3.	Teneur en Pigments chlorophylliens.....	22
III.4.5.	Teneur en caroténoïdes.....	23
III.5.	Résultats de l'étude de l'activité antioxydant.....	24
III.5.1.	Capacité antioxydant totale.....	24
III.5.2.	Piégeage du radical libre DPPH.....	24
Conclusion.....		26

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Liste des abréviations

AA : Acide ascorbique

AG :Acide gallique

BHA : Hydroyanisolebutylé.

DPPH : 2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl.

EAA : Equivalent acide ascorbique

E β-C : Equivalent Beta carotène.

EC : Equivalent catéchine.

EAG : Equivalent acide gallique

EQ : Equivalent quercétine.

ES : Extrait sec

H₂SO₄: Acide sulfurique

HCl : Acide chlorhydrique

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

MG : Matière gras.

MS : Matière sèche.

rpm : Rotation par minute

Tc : Taux de cendre.

TAC : Total antioxidante capacity.

Liste des figures

Figure 1: Localisation géographique de la zone de récolte à Sidi aiche.....	5
Figure 2: Extraction de la matière lipidique.....	8
Figure 3: L'extraction éthanolique des feuilles d'olivier.....	9
Figure 4: L'extraction et dosage des caroténoïdes des feuilles d'olivier.....	13
Figure 5: Réaction de réduction de radical DPPH	14
Figure 6: Morphologie des feuilles d'olivier des variétés étudiées.....	15
Figure 7: Morphologie des feuilles d'olivier des variétés étudiées.....	16
Figure 8: Taux d'humidité et matière sèche des variétés étudiées.....	17
Figure 9: Taux de cendre des variétés étudiés.....	18
Figure 10: Teneur en matière lipidique des variétés étudiées.....	18
Figure 11: Rendement d'extraction des variétés étudiées.....	19
Figure 12: Concentration en polyphénols totaux des différents extraits d'olivier étudiés.....	20
Figure 13: Concentration en flavonoïdes des différents extraits d'olivier.....	21
Figure 14: Concentration en tanins condensés des différents extraits d'olivier étudiés.	22
Figure 15: Concentration en caroténoïdes des différents extraits d'olivier étudiés.....	23
Figure 16: Capacité antioxydant totale des différents extraits d'olivier étudiés.....	24
Figure 17: Activité scavenger à l'égard du radical DPPH.....	25

Liste des tableaux

Tableau 1: Résultat de détermination des caractères morphologiques des feuilles.....16

Tableau 2: Concentration en pigments chlorophylliens25

Introduction

Introduction

Feuilles d'olivier, cette biomasse produite en grande quantité dans les pays méditerranéens ne doivent pas être considérées comme un déchet encombrant, mais comme une richesse qu'on doit utiliser, car ils sont connus par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leur richesse en composés phénoliques, pouvoirs antioxydant, anticancéreux et antimicrobien qui les rendent très importants pour la santé et l'industrie agroalimentaire (Aouidi, 2012). Elles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres. Ils contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs (Wainstein *et al.*, 2013).

Aussi, elles sont des diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle modérée. L'extrait de feuilles est utilisé comme adjuvant dans les formes légères de diabète (au cours de la grossesse ou en cas d'obésité) (Ghedira, 2008). Elles sont aussi largement utilisées en tant que remède pour le traitement de la fièvre et d'autres maladies comme le paludisme, consommé sous forme d'un extrait, poudre ou tisane. Les feuilles possèdent également des propriétés antimicrobiennes contre certains micro-organismes tels que des bactéries, des champignons et mycoplasmes (Ghanbari *et al.*, 2012). Les polyphénols constituent une grande classe chimique qui disposent un extrême variété de structures et d'activités biologiques (Queiroz-Moniciet *et al.*, 2005). Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Boizot et Charpentier, 2006). Des recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les cultures agricoles et horticoles ou les plantes médicinales (Bougandoura et Bendimerad., 2012). Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils possèdent la même structure de base (C6-C3-C6), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base. (Tapas *et al.*, 2008). Les caroténoïdes sont des pigments rouges ou jaunes, possédant un chromophore caractéristique (au moins 10 doubles liaisons conjuguées) expliquant leur couleur jaune-orangée et leur sensibilité à l'oxydation. La capacité antioxydante est le principal rôle physiologique attribué aux polyphénols (Navarro *et al.*, 2008), (Veliogluet *et al.*, 1998).

Le présent travail a pour objectif l'identification et la caractérisation morphologique, physicochimique et phytochimique des feuilles de quelques variétés d'olivier (*Zeletni, Cosmopolit, Longue de Miliana, Hamra*) qui se trouvent dans la collection variétal de l'ITAFV sidi aich.

Les tests phytochimiques portent sur les dosages des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés, pigment chlorophyllien, β -caroténoïdes) et paramètre d'activité antiradicalaire par la méthode de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrozyl) des extraits des feuilles d'olivier étudiées ainsi que l'activité antioxydante totale.

Ce mémoire est présenté selon le plan suivant:

Un premier chapitre qui présente une recherche bibliographique sur les feuilles d'olivier.

Un deuxième chapitre (expérimental) présentant le matériel végétal utilisé, les méthodes d'analyse et statistique des feuilles d'olivier étudiées.

Un troisième chapitre concernant les résultats obtenus, leurs analyses et leurs discussions.

Et enfin, une conclusion qui résume les différents résultats obtenus.

Chapitre I

Généralités sur l'olivier

I.1. Définition de l'olivier

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen de 6 à 8 m de hauteur (Ghedira,2008)et vivre très longtemps. Il s'adapte aux conditions extrêmes de l'environnement, mais exige une intensité lumineuse importante et un sol aéré (Ghedira, 2008)à tronc tortueux, porte des feuilles opposées, lancéolées, coriaces et persistantes, vertes sur le dessus et argentées au-dessous. Les petites fleurs verdâtres donnent le fruit universellement connu, l'olive. Les olives sont des drupes à peau lisse, à enveloppe charnue renfermant un noyau très dur, osseux. Sa couleur d'abord vertes, vire au bleu violacé (Gingon, 2010).

I.2. Classification botanique

La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon (Guignard, 2004):

Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Eu dicotylédones
Sous classe :	Astéridées
Ordre :	Lamiales
Famille :	Oléacées
Genre :	Olea
Espèce :	<i>Olea europaea</i>
Sous-espèce:	<i>Olea europaea</i> L. ssp.Oleaster Hoffm.

I.3. Feuille d'olivier

I.3.1. Définition:

Les feuilles réparties sur les rameaux ont une position opposée, elles sont de petites tailles de 3 à 8cm de long et de 1 à 1,25 cm de large. La durée de vie moyenne des feuilles d'olivier étant de deux années et demie. La forme, la taille et les caractéristiques des feuilles d'olivier peuvent être différentes selon les cultivars et suivant les variétés (Vila,2003). Ont été largement utilisées en traitement traditionnel dans les pays européens et méditerranéens. Ils ont été utilisés dans l'alimentation humaine sous forme d'extraits, de tisanes et de poudres qui contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs pouvant avoir des propriétés antioxydante, anti-hypertensives, anti-inflammatoires, hypoglycémiques et hypocholestérolémiants (Karakaya, 2009).

I.3.2.Composition chimique des feuilles d'*Olea europaea L.*

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs : l'origine géographique, le nombre de branches de l'arbre, la présence des moisissures, la variété, les conditions climatiques, l'âge des plantations, et la proportion de bois (Molina,2008). Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates, elles sont riches essentiellement en triterpènes et en polyphénols. Le composé majeur des feuilles d'olivier étant l'oleuropéine. (Molina, 2008). La matière sèche (MS) des feuilles vertes se situe autour de 50 à 58% (Civantos,1983).La teneur en matières azotées totales (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%, la solubilité de l'azote est faible, et se situe entre 8 et 14%, selon la proportion de bois. La teneur en matières grasses (MG) se situe autour de 5 à 7%, mais celle des constituants pariétaux en particulier de la lignine est constamment élevée (18 à 20%) (Civantos, 1983).

I.3.3.Domains d'utilisations des feuilles d'olivier:

A. Domaine de l'alimentation animale:

Les feuilles sont utilisées dans l'alimentation des moutons et chèvres (Delgado- Pertinez *et al.*, 2000). Elles sont également utilisées dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes (Botsoglou *et al.*, 2010).

B. Domaine thérapeutique:

La consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé (Giaoet *al.*, 2007). Les feuilles d'olivier ont un pouvoir anti- inflammatoire, antifongique et antimicrobien (Talhaoui *et al.*, 2015).

C. Domaine cosmétologique:

Les feuilles sont utilisées dans la formulation des produits cosmétiques, tel que les savons, et les crèmes (Tadashi, 2006).

E. Industries Alimentaires:

Les feuilles peuvent être utilisées comme ingrédients dans la formulation d'aliments pour les hyper-glycémiques (Komaki., 2003).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II.1. Présentation de la zone d'échantillonnage

La zone d'échantillonnage est la collection variétale de la station ITAFV, située au niveau de la commune de « Sidi-Aiche » à 46 Km à l'ouest de la ville de Bejaia.



Figure 1: Localisation géographique de la zone d'échantillonnage.

II.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est constitué des feuilles d'olivier de quatre variétés différentes :

- ✓ *Zeletni.*
- ✓ *Cosmopolit.*
- ✓ *Longue de miliana.*
- ✓ *Hamra.*

II.3. Etude morphologique des feuilles d'olivier

Nous prenons 30 feuilles de chaque variété étudiée, choisies parmi les plus représentatives à la hauteur de l'observateur. Nous avons mesuré la longueur, la largeur, le rapport (longueur/largeur) et les entre-nœuds des 30 feuilles d'olivier étudiées à l'aide d'un pied à coulisse (mm). Nous avons également déterminé aussi à l'œil nu la forme de limbe et la présence ou l'absence des boutons floraux des rameaux d'olivier.

II.4. Préparation du matériel végétal

Récoltées les feuilles d'oliviers le 15 mars 2022, dans la collection variétal de l'ITAFV de sidi-aiche. Après la récolte, les feuilles d'oliviers des quatre variétés étudiées ont été conservées dans des sacs en papier hermétiquement fermé, les feuilles ont été séchées à l'ombre et à l'abri et de l'humidité pendant 20 jours, puis séchées deuxième fois dans l'étuve à 40°C pendant 24 h. Après l'opération de séchage, a l'aide d'un moulin à café électrique la matière végétal a été réduite en poudre, puis tamisées à l'aide d'un tamis de 200 μm . La poudre résultante est conservée à l'abri de l'aire et de la lumière dans un flacon en verre hermétiquement fermé jusqu'à son utilisation.

II.5. Etude physicochimique des feuilles d'olivier

II.5.1. Détermination de taux d'humidité

On prend 30 feuilles de chaque variété étudié, on les place dans des feuilles d'aluminium préalablement tarés, ensuite on les place dans une étuve à 105°C pendant 24h. On laisse les feuilles d'aluminium refroidir et on le pèse. Le pourcentage d'humidité relative au poids total est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{H\% = [(poids \alpha - poids \beta) / poids \alpha] \times 100}$$

Considérons :

α → Poids de l'échantillon "feuilles fraîche".

β → poids de l'échantillon "feuilles sèche".

$H\%$ → taux d'humidité exprimé en pourcentage.

II.5.2. Détermination du taux de cendre

On met 2g de poudre dans un creuset préalablement taré puis on place le creuset dans un four à moufle à une température de 550C° pendant 2 heures jusqu'à combustion complète de la matière organique et puis l'obtention d'une masse de cendres. On laisse refroidir dans un dessiccateur et on pèse. Le taux de cendre est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{T = (M - M' / E) \times 100}$$

Où :

M : masse finale (creuset + cendres totales).

M' : masse du creuset vide.

E : prises d'essais de la matière.

II.5.3.Détermination de la teneur en matière lipidique

L'extraction a été effectuée par un appareil de type Soxhlet. L'échantillon solide (poudre de feuille) est pesé (10 g) et placé dans une cartouche de cellulose. L'échantillon est extrait en continu par 250ml de l'éther de pétrole à ébullition (P.E. 61°C) qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther est évaporé, sur un évaporateur rotatif, et la matière grasse est pesée (AOCS, 1990).



Figure 2: L'extraction de la matière lipidique par Soxhlet.

Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante :

$$MG(\%) = (Pf - Pi) / ME \times 100$$

Pi : poids du ballon vide.

Pf : poids du ballon après évaporation.

ME : masse de la prise d'essai.

II.6. Analyse phytochimique des feuilles d'olivier

II.6.1. La préparation des extraits éthanolique des feuilles d'olivier

Principe :

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux des composants inactifs ou inertes à l'aide des solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides, ou poudres exclusivement destinés à un usage orale ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (Handas S, 2008).

Dans la présente étude, la méthode utilisée est celle de l'extraction par macération, en utilisant un solvant (éthanolique 75%) afin d'obtenir des extraits riches en molécules d'intérêt.

Mode opératoire

La poudre des feuilles d'olivier (5 g) ont été ajoutés dans un volume de 75 ml de solvants éthanol (75%). Après 1.5h d'agitation, le mélange a été filtré sur papier filtre. Le filtrat est récupéré et le même volume de solvant est ajouté pour faire une deuxième macération dans les mêmes conditions. Après la deuxième filtration, on mélange les filtrats et on évapore le solvant à 40°C à l'aide d'un rota-vapeur. Les extraits obtenus ont été séchés dans une étuve à une température de 40° pendant 3 jours pour éliminer le reste de solvant. Les extraits bruts obtenus ont été conservés dans des boites en verre au réfrigérateur à température jusqu' à son utilisation (Yaye *et al.*, 2011).



Figure 3: L'extraction éthanolique des feuilles d'olivier.

Calcul du rendement

Selon *Falleh et al. (2007)*, le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M_{ext} / M_{éch}) \times 100$$

Où :

R : Rendement en (%).

M_{ext}: Masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g).

M_{éch}: Masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

II.6.2. Analyse phytochimique des feuilles d'olivier

II.6.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Les polyphénols représentent une classe de métabolites secondaires. Ils sont très largement représentés dans le règne végétal et donc dans notre alimentation. Nous les consommons sous forme de fruits ou de légumes par exemple. Leur structure comporte un ou plusieurs groupes phénoliques. La teneur totale en phénol des extraits a été estimée en utilisant une méthode de Folin-Ciocalteu, légèrement modifiée décrite par *Singleton et Rossi., (1965)*.

Principe

La réaction est basée sur la réduction de l'acide phosphotungstique du réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune vers un complexe de couleur bleu, dans une solution alcaline en présence des composés phénoliques. Le réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (*Boizot et Charpentier., 2006*).

Mode opératoire

On ajoute 1ml de réactif de Folin (10 fois dilué) à 200 µl d'échantillon ou standard avec des dilutions convenables, Après 4 min, ajouté 800 µl de carbonate de sodium (75%). Après 2h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765 nm (*Liet al.,2007*). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et est exprimée en mg d'équivalent d'acide

gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/ gES). Le témoin est préparé en mélangeant 200 µl d'éthanol avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 800 µl de solution de carbonate de sodium. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

II.6.2.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de plantes possédant une structure similaire avec deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone. Ils se présentent, la plupart du temps, sous forme d'hétérosides (Thomas, 2016).

La quantification des flavonoïdes, dans les extraits des feuilles d'olivier a été effectuée par la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), en suivant le protocole de (Bahorun *et al.*, 1996), avec quelques modifications.

Principe

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau Gayon *et al.*, 1972).

Mode opératoire

A 1ml d'extraits, on ajoute 1 ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2%. On laisse incuber pendant 1h à température ambiante. Les absorbances sont lues à 430 nm au spectrophotomètre. On réalise la même opération avec la quercétine à la place des extraits à différentes concentrations en introduisant 1ml ces dernières dans une série de tubes. Pour le témoin, l'extrait est remplacé par les solvants d'extraction. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits des feuilles d'olivier des quatre variétés sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent quercétine par g d'extrait sec (mg EQ/ g ES).

II.5.2.3. Dosage des tanins condensés

Les tanins se définissent comme des composés polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible, ceci s'explique par la création de liaisons entre les molécules de tanin et les fibres de collagène de la peau. Ces molécules présentent de nombreuses fonctions hydroxyles et phénoliques qui vont leur permettre de se complexer avec

de nombreuses macromolécules telles que les protéines (Bravo, 1998). La teneur des tanins est mesurée en suivant le protocole de (Sun *et al.*, 1998) modifié par Oyedmi et Afolayan. (2011), avec quelques modifications.

Principe

Il est basé sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (Ba *et al.*, 2010).

Mode opératoire

Un volume de 0.5 ml de la solution d'extrait (1mg/ ml) est mélangé avec 3ml de la solution de vanilline (4% P/V), préalablement préparée dans du éthanol, et 1.5 ml d'HCl (37%). Le mélange est bien agité, puis incubé pendant 15min à température ambiante. Les absorbances sont lues à 500 nm. Un témoin est préparé en mélangeant 0,5 ml d'extraits avec 3ml d'éthanol et 1.5ml de HCl. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata. Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions, en utilisant la catéchine comme standard et la concentration est exprimée en mg équivalent catéchine par g d'extraits sec (mg EC /g ES).

II.6.2.4. Dosage des pigments chlorophylliens

Les teneurs en β -carotène, lycopène et chlorophylle des différents extraits ont été déterminées selon la méthode de (Nagata et Yamashita., 1992) avec quelque modification. 100 mg de chaque extrait sont ajoutés à 10 ml d'un mélange acétone-hexane (4:6 V/V) puis agités vigoureusement pendant 1 min, ensuite le tout est filtré à travers un papier Whatman N°4. L'absorbance des filtrats est mesurée à différentes longueurs d'ondes :

453 nm, 505 nm, 645 nm et 663 nm.

La teneur en Pigments est calculée suivants les équations indiquées ci-dessous et les résultats sont exprimés en mg de chlorophylle, caroténoïdes ou β -carotène /g d'extrait sec.

$$\checkmark \beta\text{-carotène (mg/100 ml)} = 0.216 \times A_{663} - 1.22 \times A_{645} - 0.304 \times A_{505} + 0.452 \times A_{453}.$$

$$\checkmark \text{Lycopène (mg/100 ml)} = - 0.0458 \times A_{663} + 0.204 \times A_{645} - 0.372 \times A_{505} + 0.0806 \times A_{453}.$$

$$\checkmark \text{Chlorophylle a (mg/100 ml)} = 0.999 \times A_{663} - 0.0989 \times A_{645}.$$

$$\checkmark \text{Chlorophylle b (mg/100 ml)} = - 0.328 \times A_{663} + 1.77 \times A_{645}.$$

II.6.2.5.Extraction et dosage des caroténoïdes :

Les caroténoïdes contiennent plusieurs doubles liaisons conjuguées dans leur structure, ces doubles liaisons sont responsables de l'absorption dans la lumière par excitation des électrons des liaisons(Rodriguez-Amaya,2001).Le dosage et l'extraction des caroténoïdes à été effectuée par la technique de Sass-Kiss *et al.* (2005), avec quelques modifications.

Le protocole consiste à mélanger 100mg de la poudre avec 10 ml d'un mélange de solvant (hexane, acétone, éthanol), en agite le mélange 15 min, le mélange sera met dans une centrifugeuse qui tourneras a 4500 tour/min pendant 15 min. On récupère la partie hexadique qui contient les pigments et dans les mêmes conditions en met le culot à une deuxième extraction. En mélange les deux phases hexadique puis en mesure l'absorbance à 450 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent B-carotène par g de matière végétalesèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la β -carotène (mg E β -C/g ES).



Figure 4: L'opération d'extraction et dosage des caroténoïdes des feuilles d'olivier

II.7. Activité antioxydante des feuilles d'olivier étudiées

Dans la présente étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits a été réalisée par des techniques chimiques à savoir : la capacité antioxydante totale (TAC), et le piégeage du radical libre DPPH.

II.7.1.Capacité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits de feuilles de l'olivier sauvage a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène de (Prieto *et al.*, 1999).

Un volume de 0.3 ml de l'extrait est introduite dans les tubes à essais, puis 3 ml de solution à préparer sont additionnés (la solution contient de l'acide sulfurique 0.6 M, du phosphate de

sodium 28 mM et du molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes sont agités et incubés au bain-marie à 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement. L'absorbance est mesurée à 695 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide ascorbique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide ascorbique par g d'extrait sec (mg EAA /g ES).

II.7.2. Piégeage du radical DPPH

Principe

L'inhibition du radical libre 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH.) a été effectuée selon la méthode proposée par **Blois en (1958)**. Cette méthode permet de mesurer le pouvoir piégeur et de calculer la concentration inhibitrice médiane IC50 des substances antioxydantes. Le DPPH est un radical libre de couleur violette (forme oxydée), qui devient jaune (forme réduite) sous l'effet des substances antioxydantes.

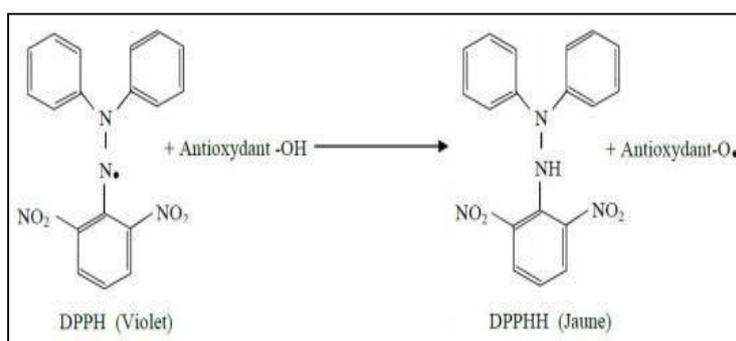


Figure 5: La formule de réaction de réduction de radical DPPH.

Mode opératoire

Selon la méthode décrite par **Boumerfeg et al. (2012)**. Le DPPH a été dissout dans 100 ml de méthanol pure pour préparer une solution mère, la solution étalon de travail a été préparée en diluant la solution mère de DPPH avec du méthanol pour obtenir une absorbance de (0.98 ± 0.02) à 517 nm. Un total de 100 µl de chaque extrait à différentes concentrations a été ajouté à 2.5 ml de solution méthanolique de DPPH diluée. Les mélanges ont été agités et maintenus dans l'obscurité pendant 30 minutes, puis les absorbances de la solution résultante ont été mesurées à 517 nm. Un contrôle a été préparé en remplaçant la solution des extraits par le méthanol. Un blanc pour chaque extrait a été préparé en mélangeant 1.25 ml de méthanol avec 50 µl des solutions des extraits. Utilisée l'acide ascorbique comme standard. Le

pourcentage de l'activité scavenger du radical DPPH de chaque extrait est calculé comme suit:

$$\% \text{ de l'activité scavenger du radical DPPH} = ((A_c - (A_t - A_e)) \times 100) / A_c$$

Où :

A_c : Absorbance du contrôle ; c'est l'absorbance du blanc contenant seulement le DPPH.

A_t : Absorbance du test ; c'est l'absorbance de la solution de DPPH contenant l'extrait.

A_e : Absorbance de Blanc ; c'est l'absorbance de la solution de l'extrait sans le DPPH.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1.Paramètre morphologique

Les résultats obtenus pour les mesures des caractères morphologiques (la couleur et la forme de la feuille) des feuilles sont regroupés dans le tableau ci dessous :

Tableau 1: Résultats d'étude des caractères morphologiques des feuilles d'olivier.

Les variétés/les paramètres	Forme de limb	La couleur	Le bouton floral
<i>Zeletni</i>	Elliptique lancéolée	Vert bleu	Précoce
<i>Longue de Miliana</i>	Lancéolée	Vert bleu	Précoce
<i>Hamra</i>	Elliptique	Vert bleu	Tardive
<i>Cosmopolite</i>	Elliptique lancéolée	Vert jaune	Précoce

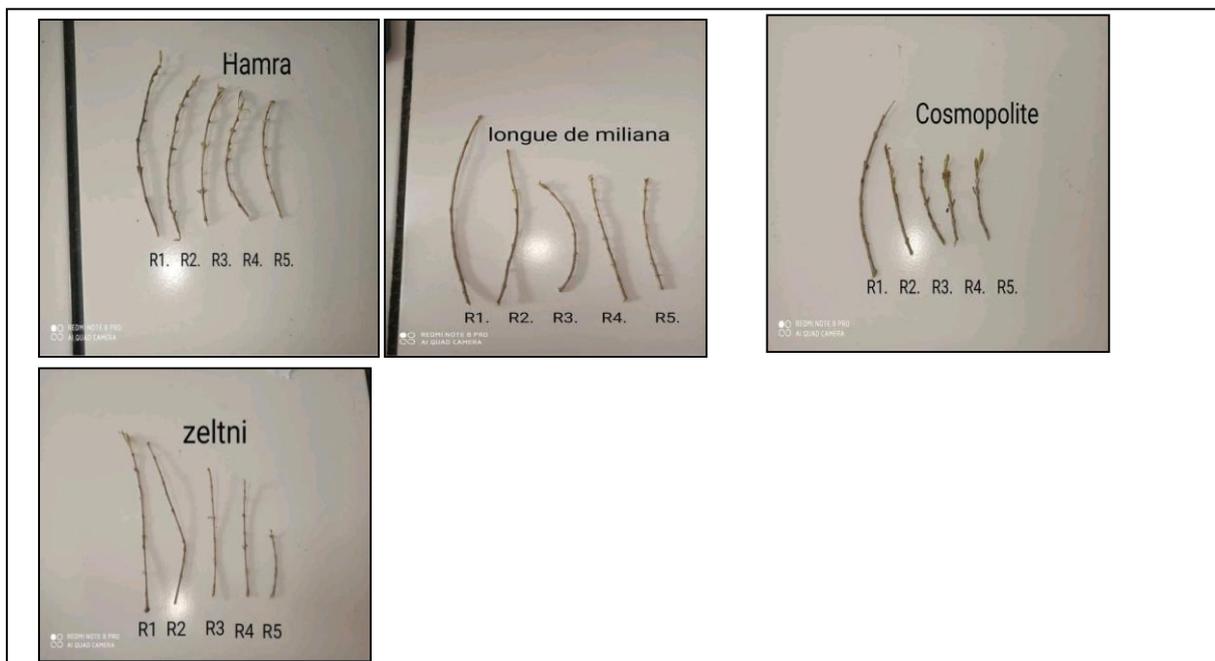
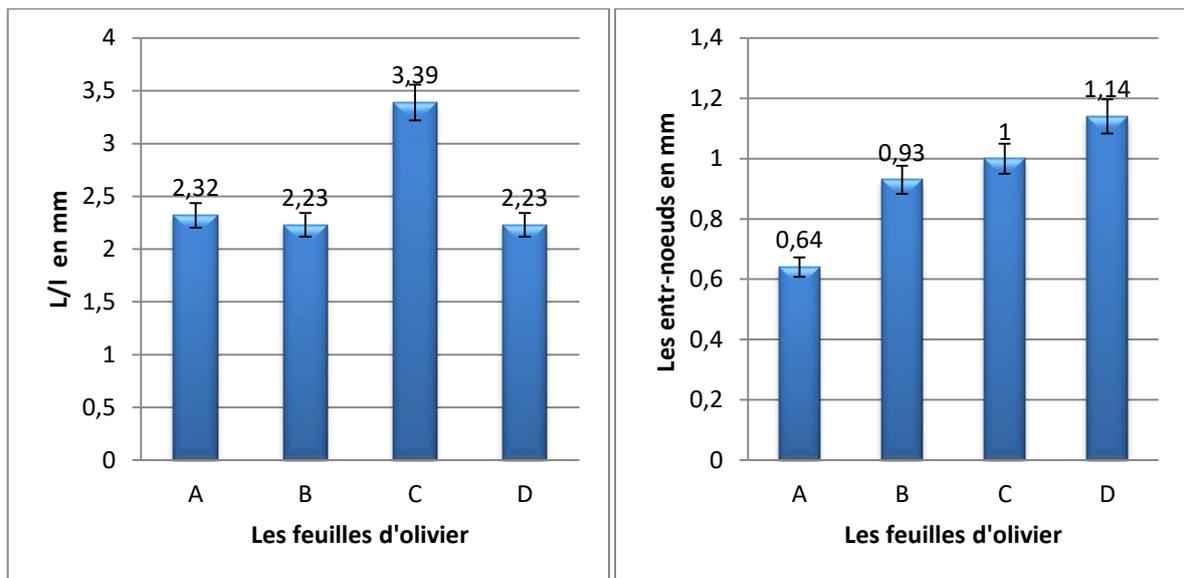


Figure 6: La morphologie entre nœuds des rameaux d'olivier des variétés étudiées.



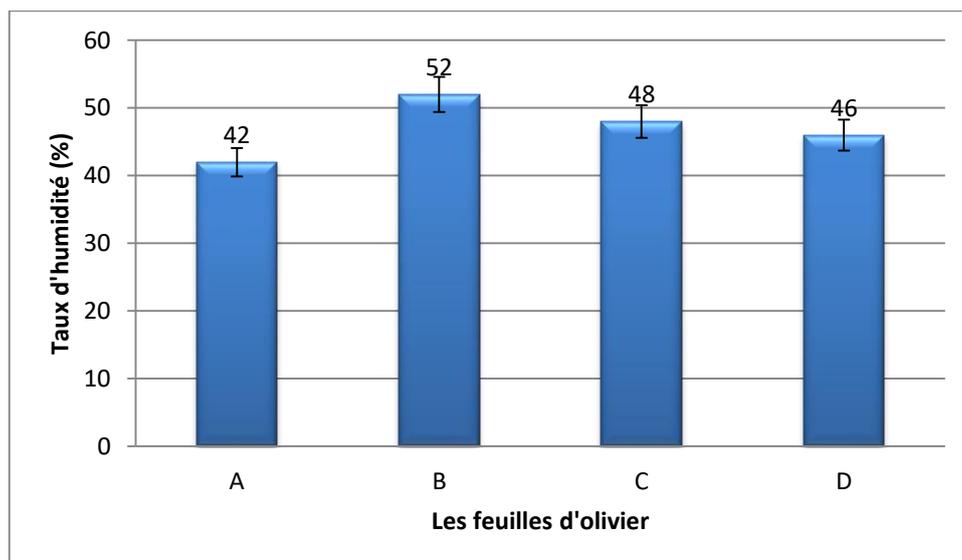
A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

Figure 7: Les caractères morphologiques des feuilles d'olivier des variétés étudiées.

III.2. Analyses physicochimiques des feuilles d'olivier

III.2.1. Taux d'humidité

Le pourcentage d'humidité dans les feuilles d'olivier fraîches de variétés étudiées a donné les résultats illustrés dans la figure 8.



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

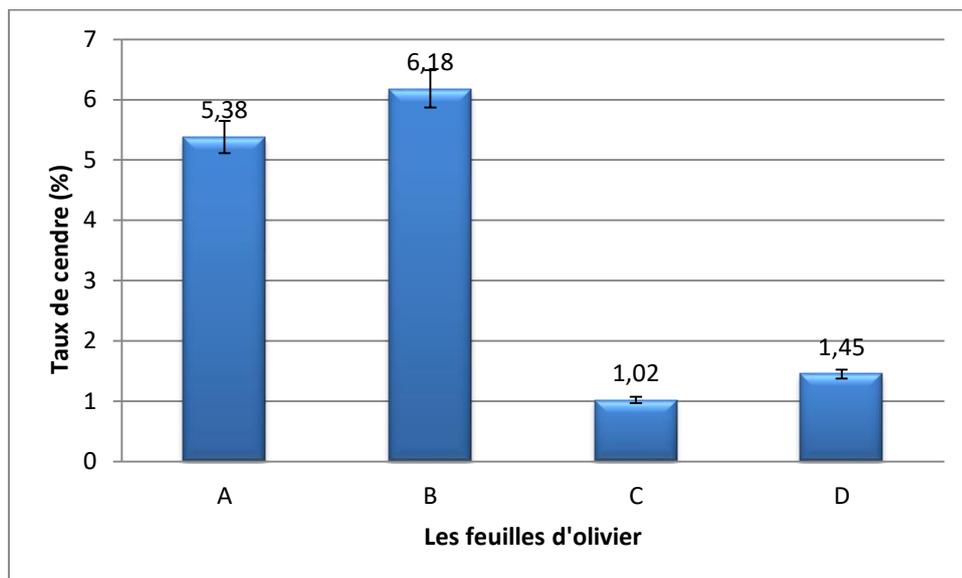
Figure 8: Le pourcentage d'humidité dans les feuilles d'olivier.

Les résultats obtenus révèlent que les feuilles d'olivier de la variété *Hamra* présentent le pourcentage le plus élevé ($52\% \pm 0,01$), suivies par les feuilles de variété *longue de Miliana* ($48\% \pm 0,06$), puis les feuilles de variété *Zeletni* ($46\% \pm 0,04$), tandis que les feuilles de variété *Cosmopolite* présentent le pourcentage le plus faible ($42\% \pm 0,02$).

L'analyse de taux d'humidité des feuilles d'olivier a montré que la moyenne de pourcentage d'humidité est $46,85\%$.

III.2.2. Taux de cendre

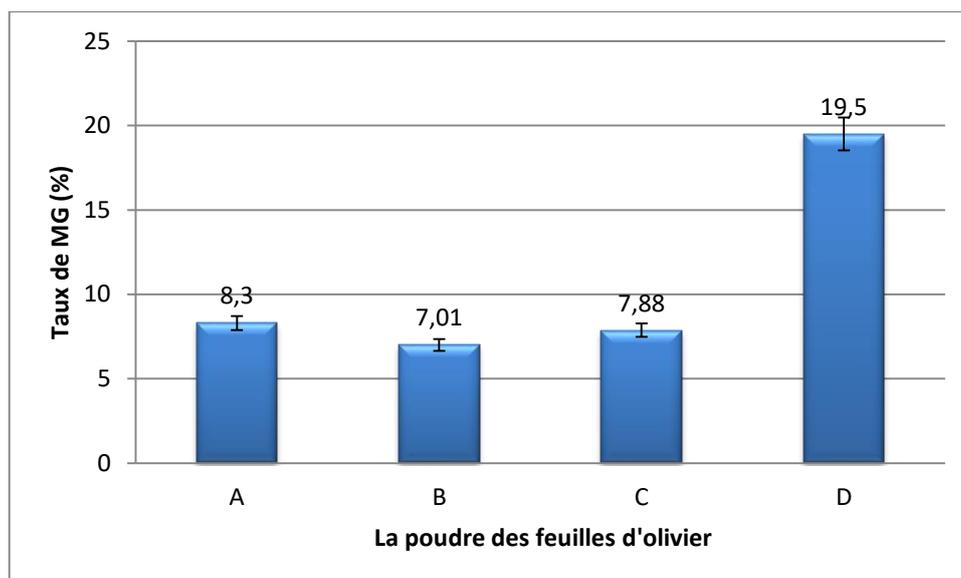
Les résultats du taux de cendre montrent que les feuilles d'olivier de la variété *Hamra* présentent le pourcentage le plus élevé ($6,18\% \pm 0,007$), suivies des feuilles de la variété *Cosmopolite* ($5,38\% \pm 0,006$). Puis les feuilles de la variété *Zeletni* ($1,45\% \pm 0,004$), les feuilles de la variété *Longue de Miliana* présentent le pourcentage le plus faible ($1,02\% \pm 0,003$). Les résultats de taux de cendre des échantillons révèlent que la moyenne est $3,5\%$, ces résultats sont légèrement inférieurs à ceux obtenus par (Mettaï et Halilou., 2021), qui rapportent des teneurs moyennes de $5,82\%$.



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

Figure 9: Le pourcentage de Taux de cendre dans les feuilles d'olivier.

III.2.3. Teneur en matière lipidique



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

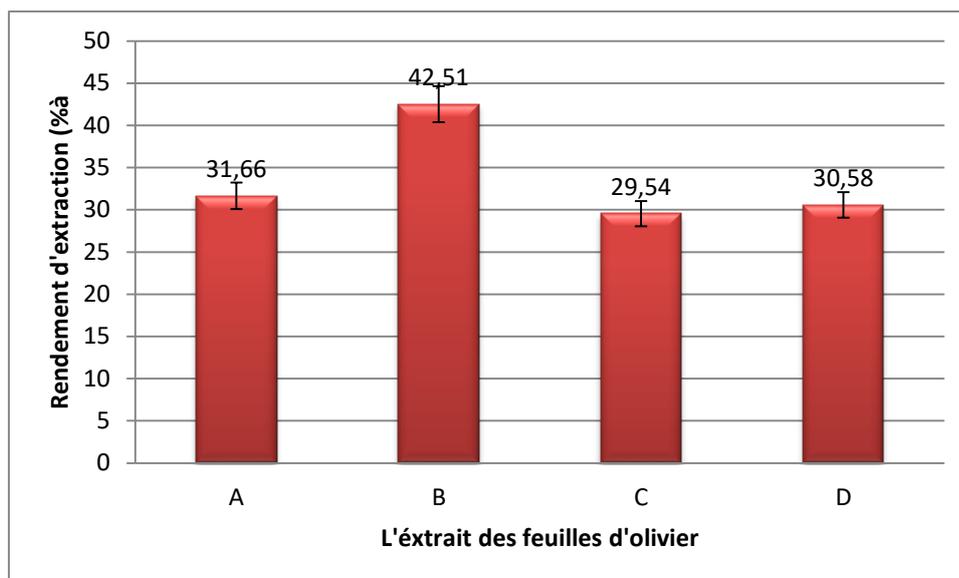
Figure 10: Le taux de matière lipidique dans les feuilles d'olivier.

Dans la présente étude, les résultats du taux de matière lipidique des feuilles d'olivier ont montré que : les feuilles de la variété *Zeletni* présente le pourcentage le plus élevé ($19,5\% \pm 0,02$), suivi les feuilles de la variété *Cosmopolite* ($8,3\% \pm 0,002$) puis les feuilles de la variété *Hamra* ($7,88\% \pm 0,05$), tandis que les feuilles de la variété *Longue de Miliana* présente le pourcentage le plus faible ($7,01\% \pm 0,003$).

L'analyse physico-chimique de la poudre de différente variété montre que le taux en matière grasse des feuilles d'olivier étudiées présente une moyenne est $10,67\%$.

III.3. Rendement d'extraction des feuilles d'olivier

On a utilisé les feuilles des quatre variétés d'olivier (*Zeletni*, *Cosmopolit*, *Longue de Miliana*, *Hamra*), pour l'extraction des composés bioactifs. Le rendement de l'extraction (en moyenne \pm écart type) obtenu en pourcentage (%), des l'extraits sont illustrés dans la figure ci-dessous.



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

Figure 11: Le rendement d'extraction les feuilles d'olivier.

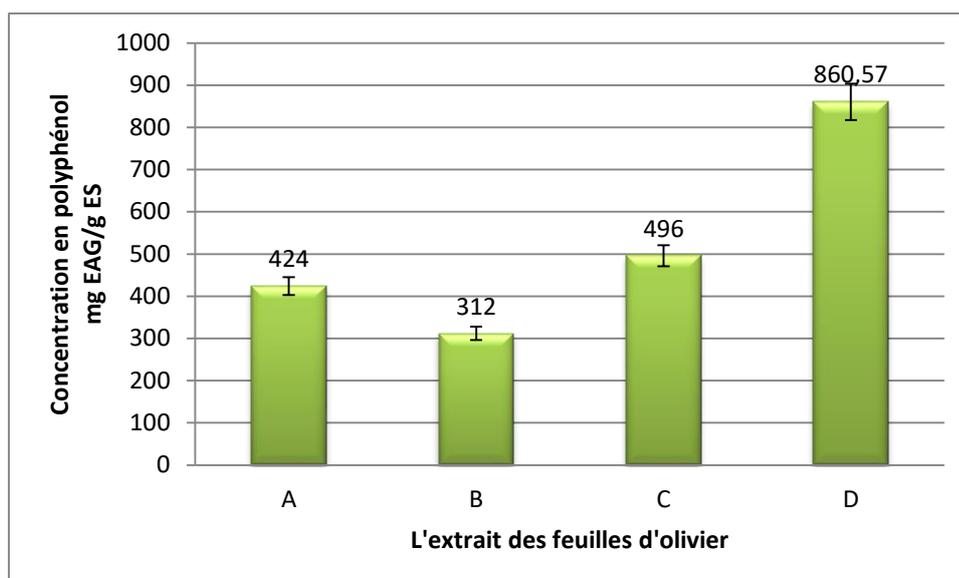
Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction varié d'une variété à l'autre, tandis que l'extrait de la variété *Hamra* présente le pourcentage le plus élevé ($42,512\% \pm 0,02$), suivi par l'extrait de la variété *Cosmopolite* ($31,66\% \pm 0,01$), puis l'extrait de la variété *Longue de Miliana* ($30,58\% \pm 0,04$), tandis que l'extrait de la variété *Zeletni* présente le pourcentage le plus faible ($29,54\% \pm 0,03$). Les résultats montrent que la moyenne de rendement est ($33,57\%$), ces résultantes sont légèrement supérieures à celles obtenues par (ACILA, 2018) qui rapporte une moyenne ($30,55\%$).

III.4. Résultat de l'étude phytochimique quantitative

III.4.1. Teneur en polyphénols totaux

L'analyse quantitative des polyphénols totaux a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent d'acide gallique par gramme de poudre végétale (Annexe 1).

Les résultats de calcul de différentes concentrations en composés phénoliques des différentes variétés sont représentés dans la figure ci-dessous.



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

Figure 12: Les concentrations en polyphénols totaux des feuilles d'olivier.

Les résultats des dosages des composés phénoliques montrent que la teneur la plus élevée en polyphénols dans l'extrait de la variété *Zeletni* ($860,57 \pm 0,7$ mg EAG/ g d'ES), suivie par l'extrait de la variété de *Longue de Miliana* ($496 \pm 0,65$ mg EAG/ g d'ES), puis l'extrait de la variété *Cosmopolite* ($424 \pm 0,57$ mg EAG/ g d'ES), tandis que l'extrait de la variété *Hamra* présente la teneur la plus faible ($312 \pm 0,46$ mg EAG/ g d'ES).

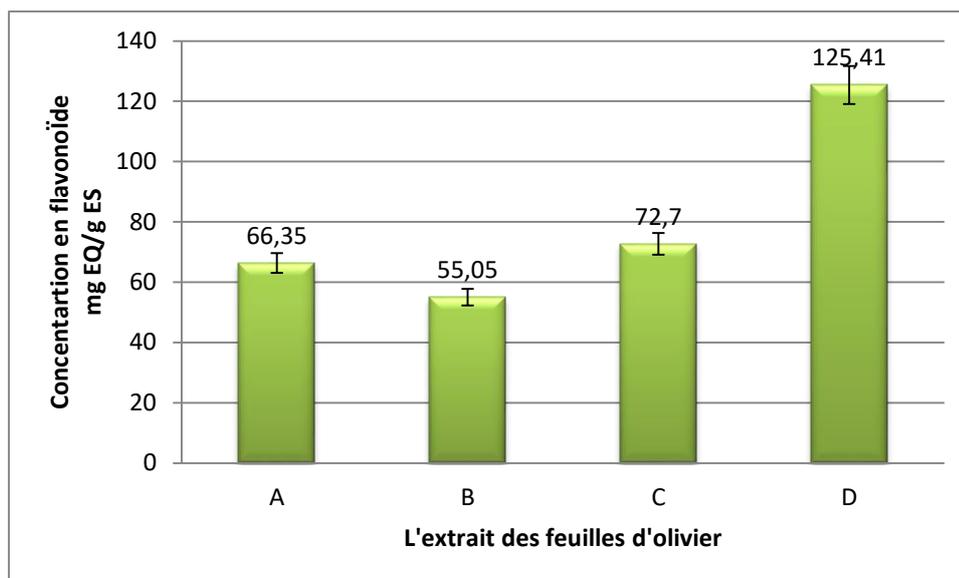
Les résultats révèlent que les moyennes de dosage de polyphénols totaux dans l'extrait des feuilles d'olivier ($523,14 \pm 0,105$ mg EAG/ g d'ES). Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par (Lafdal et tamssaouete., 2021) et (Mettai et halilou., 2021) qui se trouvent des teneurs moyennes ($304,908 \mu\text{g EAG/ mg d'ES}$) et ($206,348 \pm 0,08$ mg EAG/ g d'ES).

Les variations entre les teneurs en polyphénols totaux dans les feuilles d'olivier dépendent de plusieurs facteurs tels que : la variété, la sensibilité de la méthode d'analyse.

III.4.2. Teneurs en flavonoïdes

L'analyse quantitative des flavonoïdes a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent quercétine par gramme de poudre végétale (Annexe 2).

Les résultats du calcul de différentes concentrations en composés phénoliques des différentes variétés sont représentés dans la figure ci-dessous.



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zletni*

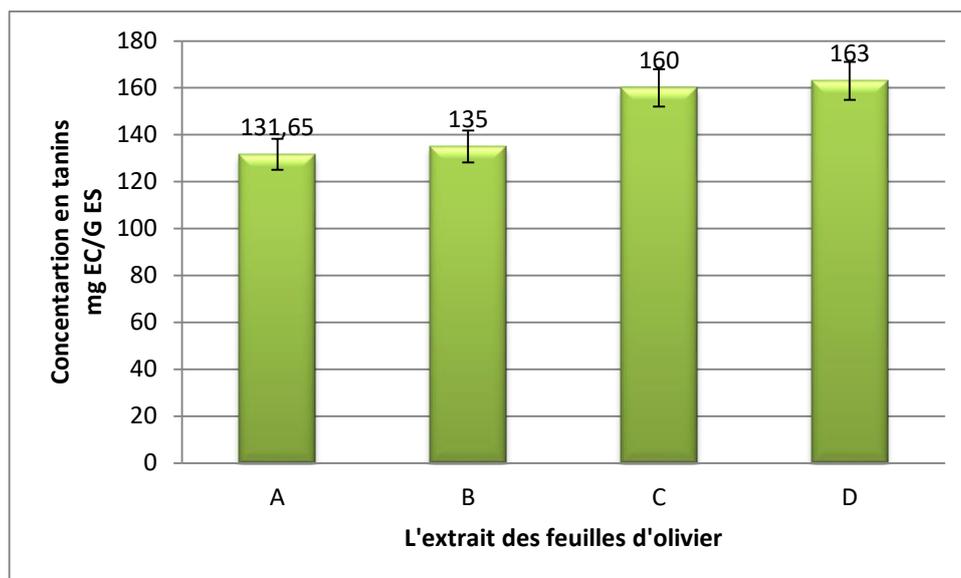
Figure 13: Les concentrations en flavonoïdes des feuilles d'olivier.

Les teneurs en flavonoïdes des différentes variétés montrent que l'extrait de la variété *Zletni* possède une importante concentration en flavonoïdes ($125,41 \pm 0,03$ mg EQ/ g d'ES), suivi par l'extrait de la variété *Longue de Miliana* ($72,7 \pm 0,005$ mg EQ/ g d'ES), puis l'extrait de la variété *Cosmopolite* ($66,35 \pm 0,45$ mg EQ/ g d'ES), tandis que l'extrait de la variété *Hamra* présente la plus faible concentration qui est ($55,05 \pm 0,05$ mg EQ/ g d'ES). Le dosage quantitatif des flavonoïdes de l'extrait des feuilles d'olivier révèle que la teneur moyenne des flavonoïdes est ($79,87 \pm 0,209$ mg EQ/ g d'ES). Ces résultats sont légèrement inférieurs à ceux trouvés par (Madani yousfi., 2017), qui rapportent une teneur moyenne ($98,75 \pm 0,017$ mg EQ/ g d'ES) qui sont légèrement supérieurs à ceux de (Benlagha et al., 2019), qui ont trouvé, une teneur en flavonoïdes de ($59 \pm 0,005$ µg EAG/mg ES). La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement des feuilles d'olivier.

III.4.3. Teneur en tanins condensés

La teneur en tanins des différents extraits étudiés a été calculée par la méthode spectrophotométrique de vanilline à partir de la courbe d'étalonnage établie avec différentes concentrations de catéchine (Annexe 3).

Les résultats du calcul de différentes concentrations en composés phénoliques des différentes variétés sont représentés dans la figure ci-dessous.



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

Figure 14 : Les concentrations en tanins condensés des feuilles d'olivier.

Les résultats du dosage des tanins montrent que l'extrait de la variété *Zeletni* présente la concentration la plus élevée ($163 \pm 0,518$ mg EC/ g d'ES), suivie de l'extrait de la variété *Longue de Miliana* ($160 \pm 0,04$ mg EC/ g d'ES), puis l'extrait de la variété *Hamra* ($135 \pm 0,05$ mg EC/ g d'ES), tandis que l'extrait de la variété *Cosmopolite* présente la concentration la plus faible ($131,65 \pm 0,095$ mg EC/ g d'ES). Les résultats révèlent que la teneur moyenne de dosage des tanins condensé est ($147,41 \pm 0,126$ mg EC/ g d'ES). Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par (Madani Yousfi., 2017) qui rapporte une valeur moyenne ($164,28$ mg EAG/ g d'ES $\pm 0,004$) qui ont réalisé cette étude sur les variétés *Chemlal* et *Sigoise* dans la région de Bordj Bou Arreridj.

III.4.4. Teneur en pigments chlorophylliens

Le tableau n° 2 montre que la teneur en pigments chlorophylliens des différents extraits des feuilles d'olivier étudiées, Cependant le lycopène est absent dans l'extrait de variétés *Cosmopolite*.

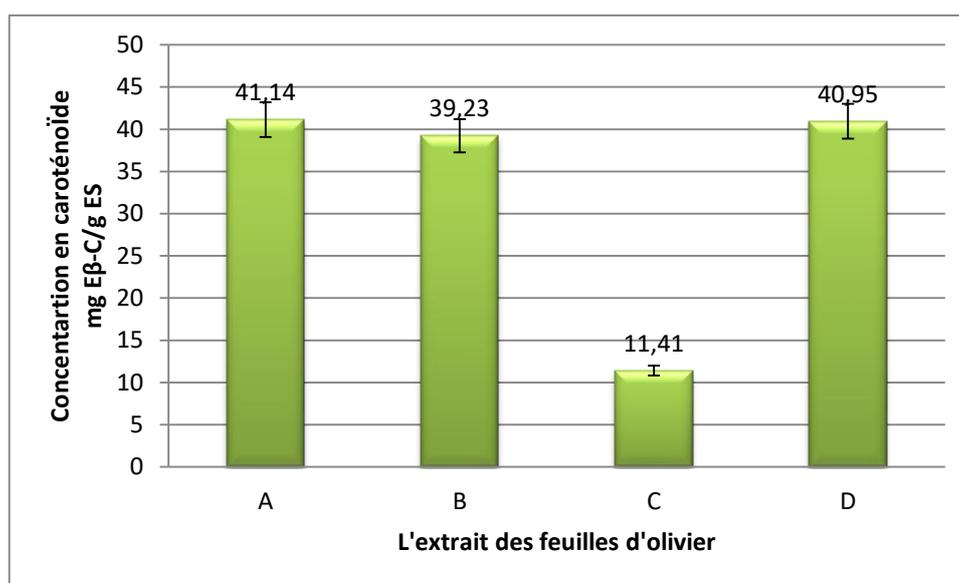
Tableau 2: Les concentrations en pigments de différents extraits de feuilles d'olivier étudié.

Les feuilles / les pigments(mg/g)	<i>Zeletni</i>	<i>Cosmopolite</i>	<i>Longue de Miliana</i>	<i>Hamra</i>
B-carotène	3.8088	2.65520	2.0196	3.019
Chlorophylle a	17.13	10.088	4.2100	10.669
Lycopène	1.1978	/	51.9148	3.7520
Chlorophylle b	/	4.436	2.5952	7.0263

III.4.5. Teneur en caroténoïdes

L'analyse quantitative des caroténoïdes des extraits étudiés déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec la B-carotène (**Annexe 4**).

Les résultats obtenus sont exprimés mg équivalent de β -carotène par gramme de la matière sèche (mg E β -C /g MS).



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

Figure 15: Les concentrations en caroténoïdes des feuilles d'olivier.

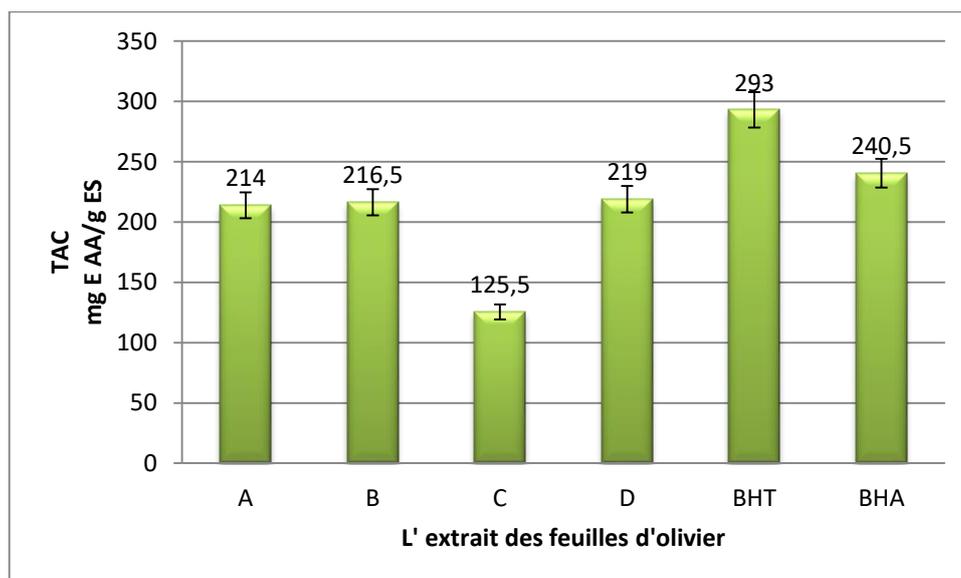
Le dosage des caroténoïdes montre que la teneur la plus élevée est dans l'extrait de la variété *Cosmopolite* ($41,14 \pm 0,150$ mg E β -C /g MS), suivi par l'extrait de la variété *Zeletni* ($40,95 \pm 0,109$ E β -C /g MS), puis l'extrait de la variété *Hamra* ($39,23 \pm 0,162$ E β -C /g MS), tandis que l'extrait de la variété *Longue de Miliana* est le plus faible ($11,41 \pm 0,09$ mg E β -C /g

MS). Les résultats révèlent que la teneur moyenne de dosage des caroténoïdes ($33,18 \pm 0,126$ mg E β -C/ g d'ES).

III.5. Activité antioxydante des feuilles d'olivier

III.5.1. Activité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale des extraits étudiés est estimée à partir de l'équation de courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (**Annexe 5**).



A: *Cosmopolite* ; B: *Hamra* ; C: *Longue de Miliana* ; D: *Zeletni* ; BHT: Butylhydroxytoluène ; BHA: Hydroxyanisolebutylé

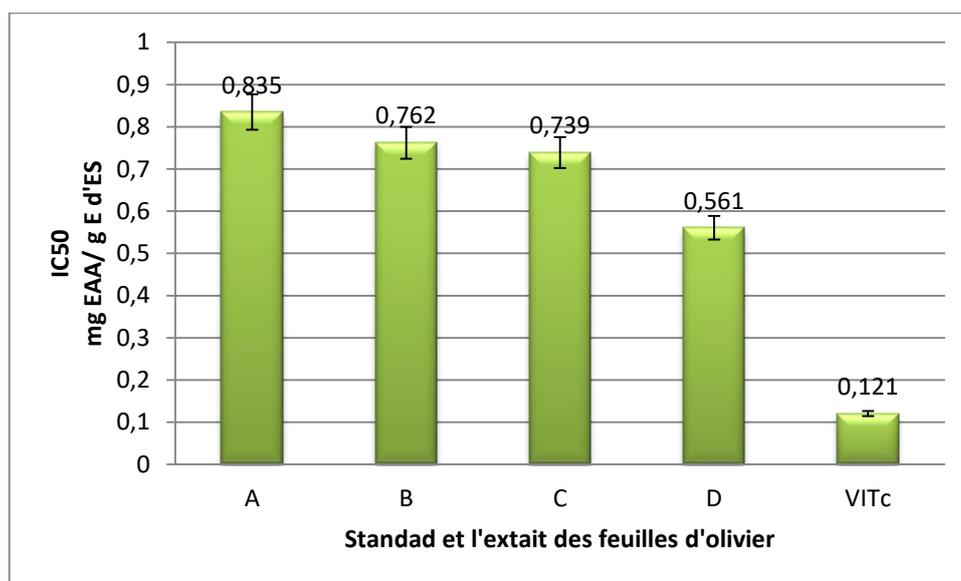
Figure 16: La capacité antioxydante totale des feuilles d'olivier.

On peut déterminer que les feuilles d'olivier révèlent d'une activité antioxydante totale importante dans l'extrait de variété *Zeletni* ($219 \pm 0,519$ mg EAA/g ES), suivi de l'extrait de la variété *Hamra* ($216,5 \pm 0,264$ mg EAA/g ES), puis l'extrait de la variété *Cosmopolite* ($214 \pm 0,380$ mg EAA/g ES), tandis que l'extrait de la variété *Longue de Miliana* possède une activité antioxydant faible ($125,5 \pm 0,346$ mg EAA/g ES). Les résultats ont révélé que les extraits possèdent une activité antioxydant totale légèrement faible par rapport aux BHT et BHA ($240,5 \pm 0,018$ mg EAA/g ES), ($293 \pm 0,02$ mg EAA/ g ES) respectivement.

III.5.2. Activité de piégeage du radical libre DPPH

Le test DPPH est le test le plus utilisés pour déterminer l'activité anti-radicalaire des extraits des feuilles d'olivier. L'activité antioxydant des extraits des feuilles d'olivier et de

l'antioxydant standard (Vitamine C) vis-à-vis le radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre, puis en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par le changement de la couleur violette vers une couleur jaune mesurable à 517 nm. La capacité antioxydante des différents extraits des feuilles d'olivier évaluées à partir IC50 (concentration inhibitrice à 50%), c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres (DPPH), donc plus IC50 est faible, plus l'activité antioxydante des extraits est élevée.



A : *Cosmopolite* ; B : *Hamra* ; C : *Longue de Miliana* ; D : *Zeletni*

Figure17: L'activité scavenger à l'égard du radical DPPH. des feuilles d'olivier.

Les résultats révèlent que l'extrait de la variété *Cosmopolite* possède une activité antiradicalaire inférieure avec d'IC50 ($0,83 \pm 0,003$ mg/g ES), suivi de l'extrait de la variété *Hamra* ($0,76$ mg/g ES $\pm 0,007$), puis l'extrait de la variété *Longue de Miliana* ($0,73 \pm 0,009$ mg/g ES), tandis que l'extrait de la variété *Zeletni* possède une activité anti radicalaire supérieure avec d'IC50 ($0,56 \pm 0,021$ mg/g ES). D'autre part, on compare nos résultats avec l'antioxydante standard vitamine C qui possède IC50 ($0,121 \pm 0,001$ mg/ml). Les différents extraits étudiés qui possèdent une activité anti radicalaire faible avec IC50 ($0,718$ mg/g ES $\pm 0,007$) par rapport au vitamine C. D'après les résultats de la technique du piégeage du radical libre DPPH, montre que les variétés possèdent une activité anti radicalaire moyenne avec IC50 ($0,718 \pm 0,007$ mg/g ES). Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par (Mettai et halilou, 2021) qui rapporte une faible activité anti radicalaire avec IC50 ($2,17 \pm 0,053$ mg/g ES).

Conclusion

Conclusion

Les propriétés médicinales des produits oléicoles ont fait l'objectif de nombreuses recherches scientifiques. L'étude a consisté à évaluer la teneur en composés phénoliques ainsi que les propriétés antioxydantes sur les extraits éthanolique (extraction par macération dans une solution éthanolique) des feuilles des quatre variétés d'olivier dans la collection de l'ITAFv de Sidi-Aiche.

L'étude morphologique sur les feuilles des quatre variétés d'olivier ont montré une grande variation entre les variétés.

Les analyses physico-chimiques ont montrées que l'extrait de la variété *Hamra* possède le taux le plus élevée d'humidité, cependant l'extrait de la variété *Zeletni* possède la teneur la plus forte en matière grasse.

Les résultats phytochimiques obtenus montrent que la variété *Zeletni* est riche en flavonoïde, en polyphénols selon (la méthode de Folin-Ciocalteu), en tanins, et en chlorophylle a et β -carotènes. L'évaluation de l'activité antioxydante totale (TAC) ainsi que l'activité anti radicalaire (DPPH) est supérieure dans la variété *Zeletni* par rapport aux autres variétés étudiées.

L'ensemble des résultats de ce travail a permis de constater que les feuilles d'olivier, sont très intéressantes sur le plan médicinal qui dispose d'un grand intérêt pharmacologique (contient des effets bénéfiques sur la santé humaine), due principalement à leurs richesses en composés phénoliques et leurs activités biologiques.

Références bibliographique

Références bibliographiques

- Aouidi F., 2012.** Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. Molécules, Étude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europea* dans L'industrie Agro-Alimentaire. *Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie)* ; vol(12) ; pp. 1153-1162.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin JC., Pinkas M., Luycky M & Gazin M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Drug Research*, 1-6.
- Bravo L., 1998:** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11): 317-33.
- Ba K., Emmanuel T., Jacqueline D., Ndiaga C. & Philippe T. (2010).** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt .*Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14(1), 131-139
- Cherif S., Rahal N., Haouala M. & al., (1996).** A clinical trial of a titrated olea extract in the treatment of essential arterial hypertension. *J.Pharm.*
- Civantos L. (1983).** Valorisation des sous-produits de l'olivier, *Réunion du comité technique* (FAO), 143-145.
- Cowan M-M.(1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews.* 12 (4): 564-582.
- Delgado-Pertinez M., Gomez-Cabrera A. & Garrido A. (2000).** Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemical composition and in vitro studies. *Animal Feed Science and Technology* 87,187-201.
- Ghanbari Rahele., Farooq Anwar., Alkharfy Khalid M., Gilani Anwarul-Hassan. & Saari Nazamid., 2012.** Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europea* L.)—A Review. *Int.J. Mol. Sci* ; 13, 3291-3340.
- Ghedira K.(2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie* 3(4), 162-169.
- Ghedira K. (2008).** L'olivier. *Phytothérapie* 6, 83-89.

Guignard J., Dupont F. (2004). Systématique moléculaire. Botanique : la famille des plantes. Editions Masson, Paris, France. 336.

Hagerman AE.(1988). Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *Journal of Chemical Ecology* 14(2): 453-61.

Handas S. (2008). An overview of Extraction Technics for Medicinal and Aromatic Plants. (Eds) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Center for Science and High Technology, Trieste. Italy, p: 21-54.

KarakyaS., El S.(2009). Olive tree (*Olea europaea*) leaves : potential beneficial effects on human health. *Nutr. Rev* **67**, 632-638.

Lafdal H., Tamssaouete C. (2021). Etude morphologique et phytochimique des cinq variétés d'olivier dans la région de Tefreg wilaya de Bordj Bou Arreridj, Mémoire de Master, Université Mohamed El bachir El Ibrahimi B.B.A.

Li H B., Cheng K W., Wong CC., Fan K W., Chen F & Jiang Y.(2000). Evaluation of antioxidant capacity.

Lee O.H., Lee B.Y., Lee J., Lee H.B., Son J.Y., Park C.S., Shetty K. & Kim Y.C.(2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresour. Technol* **100**, 6107-6113.

Mettai I., Halilou K.(2021) . Etude morphologique et phytochimique des cinq variétés d'olivier dans la région Djaafra-Bordj Bou Arreridj, Mémoire de Master, Université Mohamed El bachir El Ibrahimi B.B.A.

Molina-Alcaid E., Yanez-Ruiz DR. (2008). Potentiel use of olive by products in ruminant feeding. review *Aninfeed sci -technol* 147, 247-264

Muzzalupo I ; Vendramin G.G et Chiappetta A.(2014). Genetic Biodiversity of Italian Olives (*Olea europaea*) Germplasm Analyzed by SSR Markers. *The Scientific World Journal*, 12 pages.

Nagata M. & Yamashita I.(1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J. Japan. Soc Food Sci Technol*, 39 (10), 925-928.

Navarro J-M., Flores P., Garrido C. et Martinez V. (2008). Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*. 96: 66-73.

Oyedemi S. O & Afolayan A. j. (2011). In vitro and in vivo Antioxidant Activity of Aqueous Leaves Extract of *Leonotis* (L.) R.Br. *International Journal of Pharmacology*. 7(2): 248-256.

Organisation Mondiale de la santé (OMS). (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. WHO/EDM/TRM, Genève, p. 65

Orozco-Solano M., Ruiz-Jiménez J. and Luque de Castro M.D. (2010). Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1217**, 1227-1235.

Rodriguez-Amaya, D. B.(2001). A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. ILSI Human Nutrition Institute. One Thomas Circle, NW, *Washington DC*, 20005-5802, 64.

Riaz U., Alghtani A., Noman O., Algahtani A., Ibn moussa S., and Bourhia M. (2020). A review on ethno-medicinal plants used in traditional medicine in the Kingdom of Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

Sass-Kiss A., Kiss j., Milotay P., Kerek M. M. & Toth-Markus M.(2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruit and vegetables. *Food research international*, 20:1023-1029.

Tapas, A. R., Sakarkar D. M. & Kakde R. B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7 (3), 1089-1099.

Talhaoui N., Taamalli A., Gómez-Caravaca A. M., Fernández-Gutiérrez A. and Segura-Carretero A. (2015). Phenolic compound in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International* **77**, 92–108.

Tadashi U. (2006). Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese, 7.

Velioglu ,Y.S., Mazza, G., Gao. L., Oomah, B.D.(1998). Antioxidant activity and total phenolics in; selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem*, **46**: 4113–17.

Visioli F., Poli A. et Gall C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal research reviews*, 22(1), 65-75.

Références bibliographique

Vila García., Auxi Soriano., Victorino Vega. & Fereres E.(2003).Productivity of olive orchards in response to tree density. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*.

Wainstein J., Ganz T., Boaz M., Bar Dayan Y., Dolev E., Kerem Z & Madar Z., 2013. Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Natural medicine* ; 01-477.

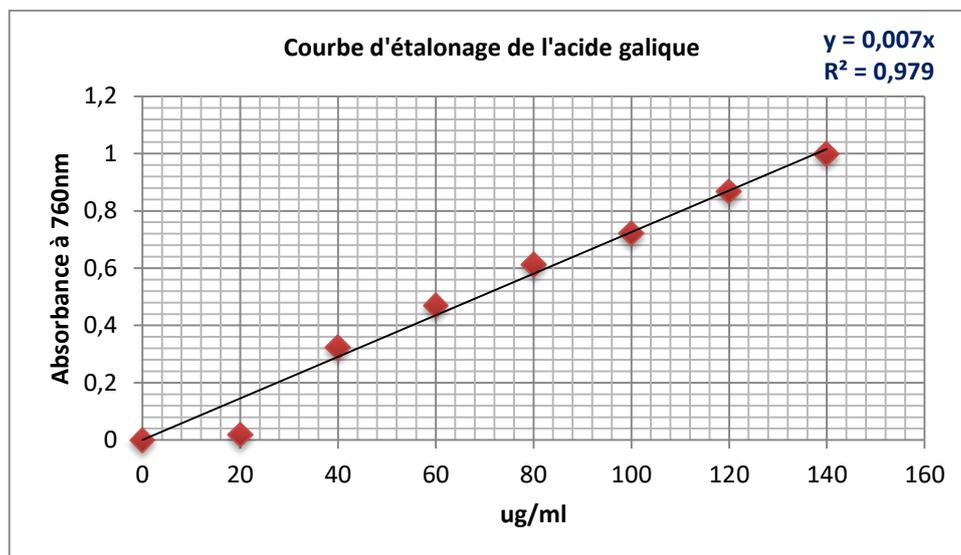
Yuhong L., Qingsheng L., Huiqing K., Chen Z., Xiong L., Qiuyan L. and Meiling L. (2006). Study on using microwave to extract flavonoid antioxidants from olive leaves. *Journal written in Chinese* **8**, 111-114.

Annexe

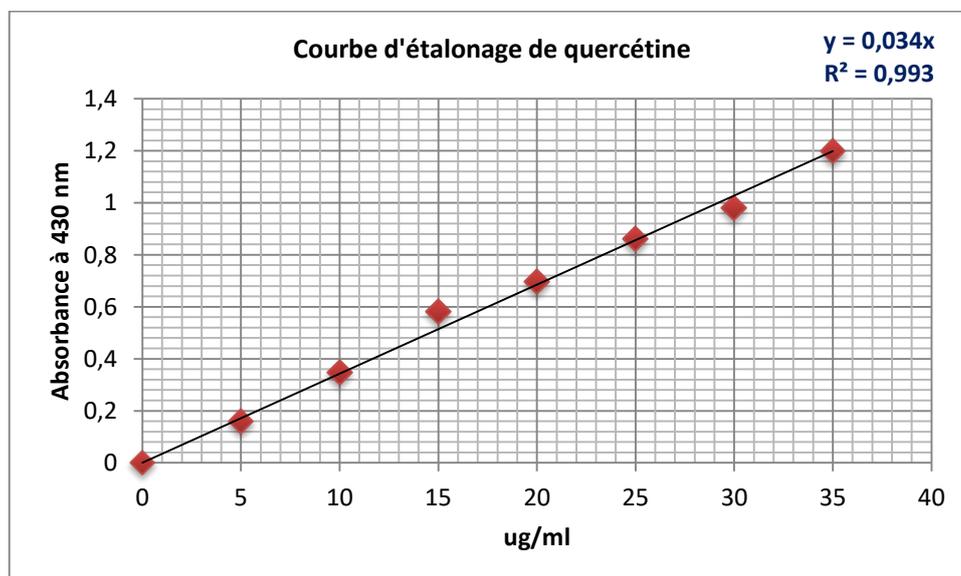
Annexe

Courbes d'étalonnages

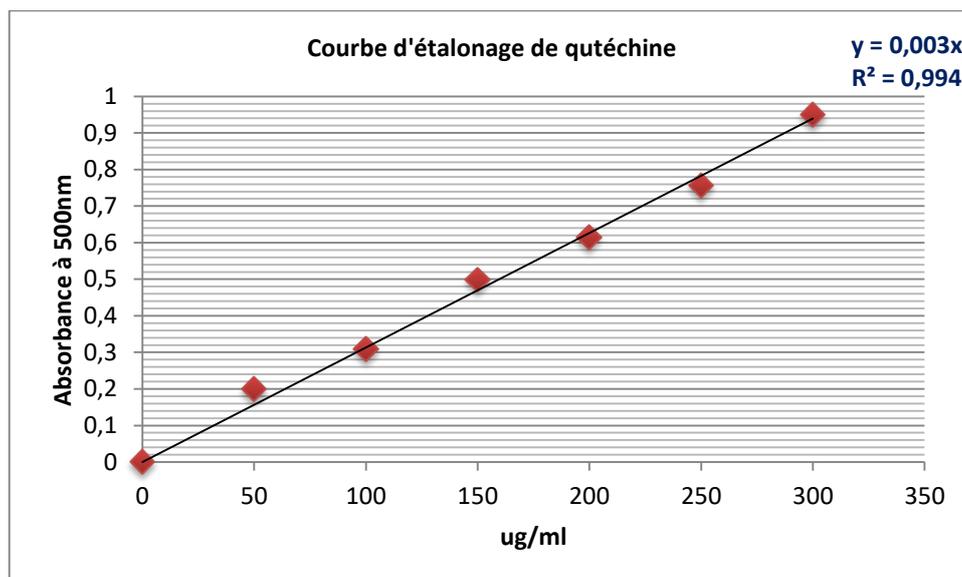
Annexe1 : Dosage des polyphénols



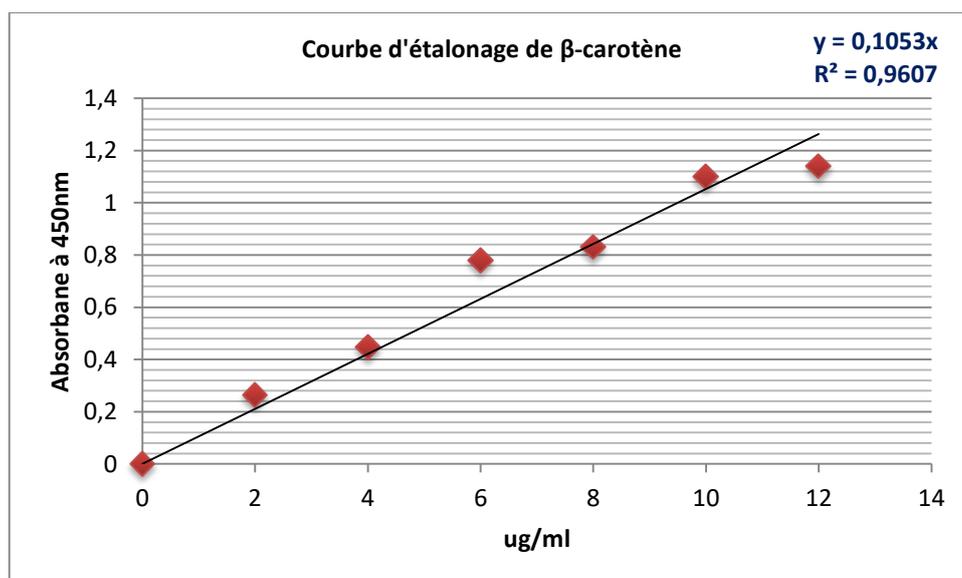
Annexe 2 : Dosage des flavonoïdes



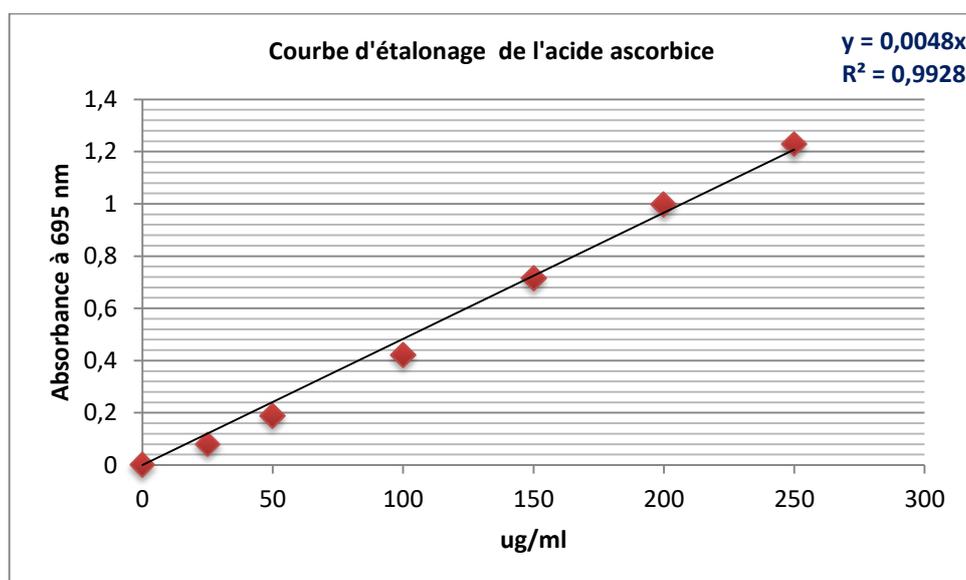
Annexe 3 : Dosage des tanins condensés



Annexe 4 : Dosage des caroténoïdes



Annexe 5 : Capacité antioxydante total



الملخص

هو نبات دائم معروف منذ العصور القديمة وله عدة فضائل طبية, حيث تعود الخصائص الطبية للزيتون بشكل أساسي أساسيا لأوراق الزيتون, فمن الضروري إجراء دراسة مقارنة متعمقة على أساس التشكل وعلم وظائف الأعضاء والكيمياء النباتية لأربعة أصناف مختلفة للزيتون المزروعة بمنطقة سيدي عيش. من خلال النتائج المتحصل عليها في الدراسة المرفولوجية لأوراق الزيتون تبين أن هناك اختلاف بين الأصناف. تظهر نتائج التحليل الفيزيائي الكيميائي أن الصنف ب يحتوي على أعلى مستويات الرطوبة والمواد العلمية والمحصول. ويحتوي الصنف د على أعلى محتوى من الدهون. تظهر النتائج الكيميائية النباتية التي تم الحصول عليها أن الصنف ب يحتوي على أعلى مستويات من الكلوروفيل ب و الصنف س يحتوي على أعلى مستويات من ليزوبان وان الصنف أ يحتوي على أعلى مستويات من الكاروتينويد وأن الصنف د يحتوي على أعلى مستويات من الفلافونويد و البوليفينول والعفص و الكلوروفيل أ و ب-كاروتان ومضادات الأكسدة. الكلمات المفتاحية: الزيتون الكيمياء النباتية, الأصناف

د : Zeleti

أ : Cosmopolit

ب : Hama

س : Longue de Miliana

Abstract

Olea europaeis a perennial plant know since antiquity and has several medicinal virtus, the medical properties of the olive tree are mainly attributed to the leaves; it is necessary to carry out an in-depth comparative study based on the morphology, physiology and phytochemistry on four varieties different of *Olea. Europaea* L... (*Zeletni, cosmopolit, hamra et longue demiliana*). Cultivated in the region of sidi-aiche. After, the results obtained from the morphological study of olive leaves revealed different between the varieties. The results of physicochemical analysis show that the *hamra* variety has the highest levels of moisture, mineral matter and yield. And the *zeletni* variety has the highest fat content. The phytochemical results obtained show that the *zeletni* variety has the highest levels of, TAC, DPPH, flavonoïde, polyphénol, tanins, chlorophyll a and b- carotènes, the *cosmopolit* variety has the highest levels of caroténoïdes. and the *longue de miliana* variety has the highest levels of Lycopène . the *hamra* variety have the highest level of Chlorophylle b.

Key words: olive, phytochemicale, , varieties.