



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



Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et
de l'Univers
Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-Chimie, Synthèse et Activité
Biologique

Mémoire de Master

Biologie

Option

Biochimie Appliquée

Présenté par :

SASSI Messaouda

KARAOUI Ghizlene

Evaluation de l'activité antioxydante des
feuilles d'olivier sauvage (*Olea europaea*
sylvestris)

Soutenu le : 24 juin 2020.

Compositions des jurys :

Président	Mr LAHFA F.B.	Professeur	Université de Tlemcen
Promotrice	Mlle MEZOUAR D.	Maitre de conférences B	Université de Tlemcen
Examineur	Mr CHAOUICHE M.T.	Maitre de conférences A	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2019-2020

Dans le Coran (souret « El Nour », la Lumière), Dieu évoque les bienfaits et les bénéfices de l'olivier : « Allah est la lumière des cieux et de la terre. Sa lumière est semblable à une niche où se trouve une lampe. La lampe est dans un (récipient de) cristal et celui-ci ressemble à un astre de grand éclat ; son combustible vient d'un arbre béni : un olivier ni oriental, ni occidental dont l'huile semble éclairer sans même que le feu la touche. Lumière sur lumière. Allah guide vers sa lumière qui Il veut. Allah propose aux hommes des paraboles et Allah est Omniscient ».

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant qui nous a donné la santé,
la*

Volonté, la puissance pour réaliser ce modeste travail.

Terme de ce travail, nous tenons à adresser nos vifs et sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et leur soutien, en particulier de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail :

*Nous avons l'honneur d'exprimer notre profonde gratitude à **Melle. Mezouar Dounia** notre encadreur pour le temps et l'intention qu'ils aient bien voulu consacrer au bon déroulement de ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont également aux membres de jury **Mr. Lahfa. F.B.**
et Mr*

***Chaouche M.T.** qui ont accepté d'examiner et de juger ce travail.*

*A mes enseignants de primaire jusqu'à l'université et tous les étudiants de notre promotion **Master II Biochimie Appliquée 2020.***

*Nous tenons aussi à remercier toutes les personnes qui nous ont accueillie et aidé durant la partie expérimentale réalisée au niveau du laboratoire de recherche des produits naturels (**LAPSAB**), Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie (**SNV**) et sciences de la terre et de l'univers (**STU**),*

Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen



Dédicace

Je dédie ce travail à :

*A la personne la plus chère à mon cœur, à ma mère **Zineb**, qui a le droit de recevoir mes chaleureux remerciements pour tous les sacrifices qu'elle a consentis pour me permettre de suivre mes études dans les meilleures conditions possibles et n'avoir jamais cessé de m'encourager tout au long de mes années d'études en lui souhaitant une longue vie pleine de joie et de santé ; je t'aime Mama.*

*Une spéciale dédicace à mon père **Badene abdelkader** rabi yerahmou.*

Mes parents, qui m'ont toujours beaucoup encouragé et aidé durant tout mon parcours avec beaucoup de tendresse de dévouement de gentillesse et d'amour

*A mon frère **Mohamed** et mes sœurs **Fatima, Hafida et Chaima***

*Aux enfants de la famille **Rida, Rahaf, Rania et Rafif***

*Ma grand-mère **Khaira**, je vous souhaite une longue vie et une bonne santé.*

*A la famille **Badene** et **Sassi** ou qu'elles soient*

*A mes chères amis **Meriem** et **Walid**.*

*A mon binôme, ma copine, **Ghizlene** et à tout sa famille.*

Messaouda



Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mes chers parents pour leur amour inestimable,
Leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices
et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.*

A ma très chère mère

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mon parcours. 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. Puisse le puissant te donner sante, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mon cher Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Qu'Allah le tout puissant te préserve, t'accorde sante bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A mes chères sœurs, Nour el houda et Hadjer

merci d'être toujours là, de me comprendre et de m'avoir toujours soutenue quoi qu'il arrive. Vous avez toujours cru en moi bien plus que moi et je ne changerai de sœurs pour rien au monde.

A mon très cher frère Sidi mohammed

merci de ta présence dans tous mes moments d'examens par ton soutien moral et tes belles surprises sucrées. Je te souhaite un avenir plein de succès et de bonheur.

*A ma chère cousine Asmae,
merci d'être là, je sais que je pourrai toujours compter sur toi*

A mes chères copines

Wafa, Yousra, Sabira,

*merci pour tous ces moments partagés, même si on est loin j'espère vraiment qu'on
restera amies pour la vie !*

Mon chère binôme Nabila

Merci pour ta présence dans les bons et les mauvais moments de ce travail

Ghizlene

الملخص

في العالم وفي سياق تقييم الطب التقليدي، كان هناك اهتمام متزايد في الآونة الأخيرة حول دراسة النباتات الطبية واستعمالاتها التقليدية في مختلف أنحاء العالم من أجل علاج العديد من الأمراض. ومن بين هذه النباتات، شجرة الزيتون البري الذي تنتمي الى الفصيلة الزيتونية المستعملة بكثرة في الجزائر.

تم تحضير المستخلصات الخامة من أوراق نبات الزيتون البري بالنقع في الماء / الأسيون (70 / 30) (ح / ح) والماء / الميثانول (70 / 30) (ح / ح). كشفت النتائج أن المستخلص الهيدروأسيون له عائد أفضل مقارنة بالمستخلص الهيدروميثانولي.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال تقنية تثبيط الجذر DPPH وإرجاع الحديد FRAP. من بين المستخلصين الخامين لـ *Olea europaea sylvestris*، أظهر المستخلص الهيدروأسيون أعلى نشاط مضاد للجذور الحرة بتركيز مثبط يساوي 0.16 ± 7.95 ميكروغرام /ملل، مقارنة بالمستخلص الهيدروميثانولي الذي أعطى قيمة أعلى بنسبة 13.14 ± 0.18 ميكروغرام /ملل.

في الختام، تؤكد هذه النتائج ثراء أوراق نبات الزيتون البري بالمركبات الكيميائية المضادة للأكسدة والإستخدام التقليدي لهذا النبات كمضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية : *Olea europaea sylvestris*، المستخلص الهيدروميثانولي، المستخلص الهيدروأسيون، النشاط مضاد للأكسدة.

Résumé

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, ces dernières décennies, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles dans différentes régions du monde pour traiter plusieurs maladies. Parmi celles-ci, *Olea europaea* var. *sylvestris* L. est un arbre qui appartient à la famille des Oléacées, et est largement utilisé en Algérie.

Les feuilles de l'olivier sauvage ont été soumises à une extraction par macération dans l'eau/acétone (30/70) (v/v) et l'eau/ méthanol (30/70) (v/v). Les résultats révèlent que l'extrait hydroacétonique a un rendement meilleur par rapport à l'extrait hydrométhanolique.

L'activité antioxydante a été évalué par la technique de piégeage du radical libre DPPH et la réduction de fer FRAP. Parmi les deux extraits d'*Olea europaea sylvestris*, l'extrait hydroacétonique a montré l'activité antiradicalaire la plus élevée avec une CI_{50} de $7,95 \pm 0,16$ $\mu\text{g/ml}$, par rapport à l'extrait hydrométhanolique qui a présentait une CI_{50} légèrement supérieure de l'ordre de $13,14 \pm 0,18$ $\mu\text{g/ml}$.

En conclusion, ces résultats confirment la richesse d'*Olea europaea sylvestris* en substances chimiques antioxydantes et l'usage traditionnel de cette plante comme antioxydante.

Mots clés : *Olea europaea sylvestris*, extrait hydrométhanolique, extrait hydroacétonique, activité antioxydante.

Abstract

In the context of the enhancement of traditional medicine, in recent decades, there has been an increasing interest for the study of medicinal plants and their traditional uses in different regions of the world to treat several diseases. Among them, *Olea europaea sylvestris* L. is a tree which belongs to the family of the Oleaceae, and is widely used in Algeria.

The leaves of the oleastre tree were macerated in water /acetone (30/70) (v/v) and water/ methanol (30/70) (v/v). The results reveal that the hydroacetic extract has a higher yield compared to the hydromethanolic extract.

The antioxidant activity of wild olive leaf extracts was evaluated by the DPPH free radical scavenging technique and the method of FRAP (Ferric reducing antioxidant power). Among the two extracts of *Olea europaea sylvestris*, the hydroacetic extract showed the highest scavenging activity with an IC₅₀ of $7.95 \pm 0.16 \mu\text{g} / \text{ml}$, compared to the hydromethanolic extract which had an IC₅₀ slightly higher on the order of $13.14 \pm 0.18 \mu\text{g} / \text{ml}$.

In conclusion, these results confirm the richness of *Olea europaea sylvestris* in antioxidant chemical substances and the traditional use of this plant as antioxidant.

Key word : *Olea europaea sylvestris*, hydromethanolic extract, hydroacetic extract, antioxidant activity.

Liste des figures

<i>Figure 01</i> : Composés phénoliques présents dans les feuilles de l'oléastre.....	06
<i>Figure 02</i> : Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen	08
<i>Figure 03</i> : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant.....	13
<i>Figure 04</i> : Le radical DPPH et sa forme réduite.....	21
<i>Figure 05</i> : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	22
<i>Figure 06</i> : Rendement des extraits macérés de l'oléastre.....	24
<i>Figure 07</i> : Pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique et des extraits des feuilles de l'olivier sauvage.....	25
<i>Figure 08</i> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique de l'olivier sauvage.....	27
<i>Figure 09</i> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroacétonique de l'olivier sauvage.....	27
<i>Figure 10</i> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	28

Liste des tableaux

Tableau 01 : les travaux antérieurs.....	09
Tableau 02 : Principaux nutriments antioxydants et leur sources alimentaires.....	16
Tableau 03 : Caractéristiques des extraits hydroalcooliques des feuilles de l'olivier sauvage.....	25
Tableau 04 : Valeurs des concentrations efficaces CE ₅₀ des extraits de l'olivier sauvage...	26
Tableau 05 : Valeurs des concentrations inhibitrices CI ₅₀ des extraits de l'olivier sauvage.....	28

Liste des photos

Photo 01 : L'oléastre de la station de l'Ourit la région de Tlemcen.....	07
Photo 02 : les feuilles de l'oléastre.....	07
Photo 03 : Extraits hydroacétonique (1) et hydrométhanolique (2) des feuilles de l'olivier sauvage.....	19
Photo 04 : Filtration de l'extrait sur papier Wattman.....	19
Photo 05 : Evaporation sous vide des extraits de l'olivier sauvage.....	19
Photo 06 : : résultats d'essai de FRAP.....	25
Photo 07 : résultat d'essai de DPPH.....	26

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléotide

CI50 : Concentration inhibitrice nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH

DPPH: 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl

FRAP: ferric reducing-antioxidant power.

EOA : Espèces oxygénées activées

ROS : espèces réactives oxygénées

SOD : superoxyde dismutase

CAT : la catalase

GPx : la glutathion peroxydase

Table des matières

Introduction générale.....	1
I. <i>Olea europae</i> var. <i>sylvestris</i>.....	4
1. Introduction	4
2. Classification taxonomique :	4
3. Compositions chimiques :	5
3.1. Composés phénoliques :	5
4. Description botanique :	6
5. Répartition géographique :	7
6. Propriétés biologiques :	8
7. Utilisation traditionnelle :	8
II. Stress oxydatif :	12
1. Radicaux libres :	12
2. Origine des radicaux libres :	12
3. Stress oxydatif :	12
4. Antioxydants	13
4.1. Définition des antioxydants :	13
4.2. Les antioxydantes enzymatiques :	13
4.2.1. Les superoxydes dismutases (SOD) :	13
4.2.2. Les catalases :	14
4.2.3. Les glutathions peroxydases et réductases (GSHPX) :	14
4.3. Antioxydants non enzymatiques	14
4.3.1. La vitamine C.....	14
4.3.2. La vitamine E.....	14
4.3.3. Les oligoéléments :	15
4.3.4. Polyphénols	15
Matériel et méthodes	18
1. Matériel végétal	18
2. Méthodes	18
2.1. Préparation des extraits bruts :	18
2.2. Evaluation de l'activité antioxydante	20
2.2.1. Réduction de fer FRAP :	20
2.2.2. Test de piégeage de radical libre DPPH	20
Résultats et interprétation	24
1. Rendements des extraits bruts :	24

2. Etude de l'activité antioxydante des feuilles de l'olivier sauvage :	25
2.1. Réduction du fer FRAP	25
2.2 Piégeage du radical libre DPPH :	26
Discussion	30
Conclusion générale	34
Références bibliographiques	36

Introduction générale

Introduction générale

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme. Nos habitudes alimentaires et notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), augmentent la production des EOA dans notre organisme.

A long terme, ce déséquilibre peut provoquer l'apparition de nombreuses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires. Dans un souci de prévention, il conviendra donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydatif chez un individu afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimiser nos défenses antioxydantes et diminuer les dégâts oxydatifs induits par les EOA au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides **(Haleng et al, 2007)**.

Les radicaux libres en général et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en particulier sont impliqués dans plusieurs pathologies humaines allant de l'inflammation au cancer tout en passant par les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'arthrite rhumatoïde, et les processus d'apoptose, en plus de leur action directe en attaquant les macromolécules stable (protéines, glucides et lipides). Pour cela, il est très intéressant de rechercher et d'identifier des antioxydants naturels à partir de plantes **(Cheurfa et Allem, 2016)**.

De nos jours, malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales a conservé une large place du fait de leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques. Actuellement, leur utilisation occupe une place primordiale dans la vie de l'homme. En effet, les connaissances ancestrales sont transmises de générations en générations, permettant ainsi la conservation de ce savoir. **(Lazli et al., 2019)**.

Les propriétés redox de l'activité anti-oxydante des composés phénoliques présents dans les plantes permettent d'agir en réduisant les agents donneurs d'hydrogène et d'extinction de l'oxygène singulet. Les composés phénoliques peuvent aussi avoir des propriétés de chélation des métaux **(Cheurfa et Allem, 2016)**.

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour sa diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendue entre le bassin méditerranéen et l'Afrique subsaharienne. L'olivier est très répandu en Algérie grâce à ses propriétés médicinales et est largement utilisé par les populations locales dans le traitement de différentes maladies **(Arab et al, 2013)**.

Introduction générale

L'olivier sauvage se distingue de l'olivier cultivé par une longue période juvénile et une plus grande capacité de survie dans des environnements difficiles. Plusieurs travaux sur l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage ont été réalisés, notamment les études réalisées par l'équipe « Recherche d'activités biologiques de la flore locale » du laboratoire LAPSAB. Parmi ces activités, l'effet inhibiteur des extraits bruts hydro-méthanolique et hydroacétonique des feuilles d'*Olea europaea sylvestris* de l'activité de l'alpha amylase.

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts des feuilles de l'olivier sauvage, récoltées dans la région de l'Ourit. Le travail expérimental est divisé en deux parties

- ✓ Préparation des extraits bruts hydro-méthanolique et hydroacétonique macérés ;
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante de ces extraits par deux méthodes : réduction du fer et piégeage du radical libre DPPH.

Partie bibliographique

Partie bibliographique

I. *Olea europae* var. *sylvestris*

1. Introduction

Depuis près de 3500 années, l'olivier est cultivé dans le bassin méditerranéen, le nom scientifique de l'arbre *Olea* vient d'un mot grec qui signifie « huile ». L'olivier est une plante qui a accompagné le développement de la civilisation méditerranéenne. Il est connu pour sa longue durée de vie (en moyenne 500 ans). Cet arbre caractéristique des pays tempérés et tropicaux fait partie des arbres les plus anciennement cultivés.

Les populations d'oliviers sauvages sont réparties dans divers milieux, et les altitudes peuvent être une source très importante de sa résistance aux stress abiotiques tels que la sécheresse, le sel, le vent et la baisse de la température (Aranda *et al.*, 2011).

Olea europae L. var *sylvestris*, plus communément nommé oléastre « *Azeboj en berbère* » apparaît comme un buisson épineux dont les rameaux ont une section presque carrée, avec des feuilles et des fruits persistants généralement petits et non comestible. Dans des zones soumises à une activité humaine, ces espèces peuvent atteindre jusqu'à 15 mètres de hauteur (Carrion *et al.*, 2010).

L'oléastre, se présente sous deux formes non distinguables morphologiquement, indigène ou sauvage dérivant de descendant ensauvagé d'olivier. Il est caractérisé par une croissance lente et une transition tardive en phase de production ainsi qu'une remarquable longévité.

2. Classification taxonomique :

L'olivier sauvage appartient à la famille des oléacées. Le genre de « *Olea* » regroupe 30 espèces différentes sur le globe terrestre. L'espèce *Olea europae* var *sylvestris* se trouvait naturellement dans la région méditerranéenne et l'espèce *Olea europae* var *europaeae* est cultivé à cette même région (Zerrouh *et al.*, 2017).

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

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Magnoliophyta*.

Sous-embranchement : *Magnoliophytina*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Sous-classe : *Dialypétales*.

Partie bibliographique

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Oleaceae*.

Genre : *Olea*.

Espèce : *Olea europea L.*

Sous-espèces : *O. europea subsp. europaea var. sylvestris*

O. europea subsp. europaea var. europaea

3. Compositions chimiques :

Les feuillettes de l'olivier sauvage sont très riches en matière lipidique et en composés phénoliques :

3.1. Composés phénoliques :

Les composés phénoliques qui se trouvent dans l'olivier sont très importants car ils jouent un rôle dans la contribution de la couleur, de goût, de texture de l'olivier et aussi de ses propriétés **(Marsilio et al.,2001)**.

Le pourcentage de ces éléments est variable selon la physiologie végétale, les conditions d'environnement et le degré de maturité à la récolte **(Léger 1999 ; Perrinjaquet-Moccetti et al., 2008 ; Polzonetti et al., 2004)**. Parmi les composés phénoliques majeurs, on trouve :

- L'oleuropéine **(Şahin et al.,2013)** qui est responsable de l'amertume de goût de l'extrait vierge de l'olivier.
- Les caroténoïdes et les tocophérols (vitamine E) **(Djenane et al.,2012)**.
- Les triterpènes comme l'acide maslinique, l'acide oléanolique et l'acide hydroxyoléanolique.
- Les flavonoïdes comme l'utéoline, kaempférol, myricétine, quercétine, apigénine, rutoside, quercitrine et les glucosides de l'apigénine et de la lutéoline sécoiridoides comme l'oleuropéoside, 11-diméthyl-oleuropéoside, oléoside, diméthylester oléoside et ligustroside oleuroside.
- Et autres acides phénols tels que l'acide caféique, acide caféoylquinique, acide coumarique et verbascoside **(Ghedira, 2008)**.

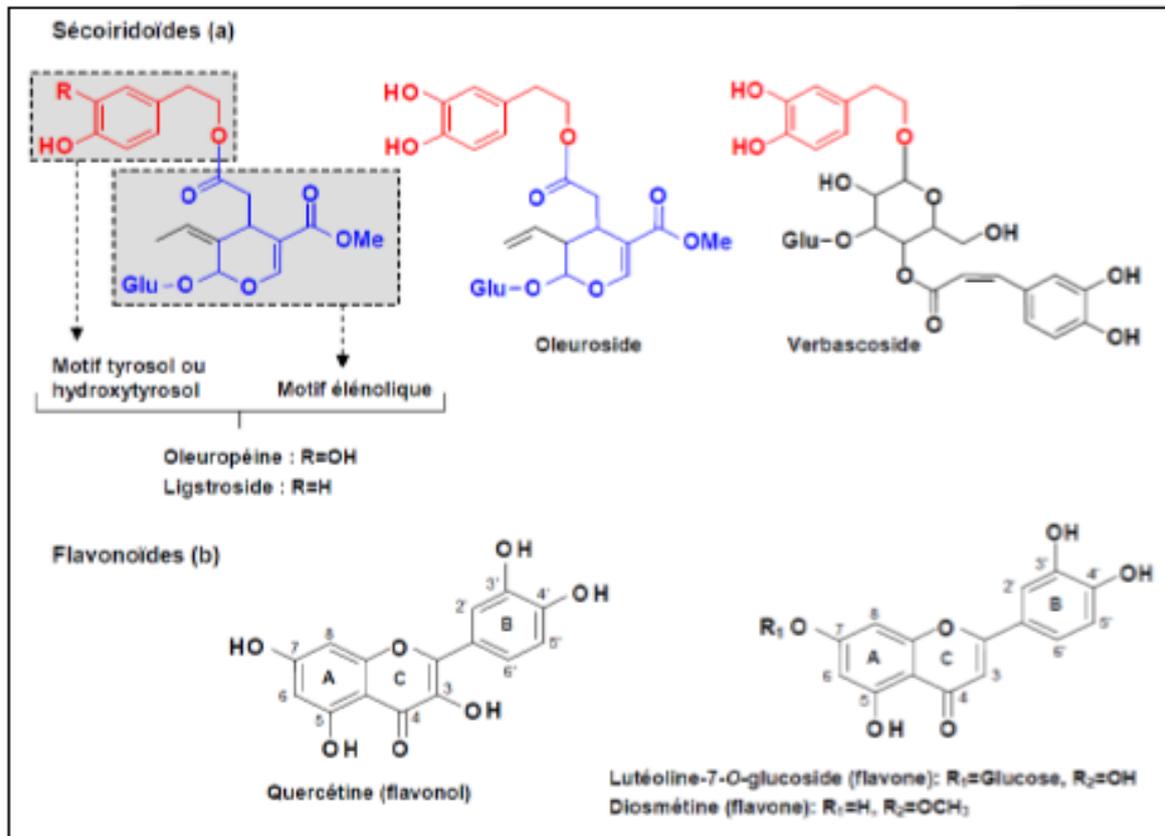


Figure 01 : Composés phénoliques présents dans les feuilles de l'oléastre (**Laguerre et al., 2009**)

Les extraits des feuilles de l'olivier peuvent contenir du cinchonidine, un alcaloïde quinoléique qui a des propriétés antipaludiques (**Ghadira, 2008**) et aussi les oligoéléments tels que le sélénium, la vitamine C, le zinc et une grande partie des acides aminés (**Polzonetti et al., 2004**).

4. Description botanique :

L'olivier est un arbre qui peut atteindre 10 m de long. Il se reconnaît facilement à l'aspect tortueux de son tronc élancé, à ses feuilles de forme oblongues à ovales-lancéolées et à ses fleurs regroupées en petites inflorescences en forme de grappes dressées, naissant à l'aisselle des feuilles. Ses feuilles matures sont elliptiques et caractérisées par une couleur vert grisâtre à la face supérieure et blanc argenté à la face inférieure (Figure 2) (**Arab et al., 2013**). Elles sont de petite taille (de 3 à 8 cm de long et de 1 à 2,5 cm de large) (Figure 3) (**Labdaoui, 2017**).

Partie bibliographique



Photo 01 : L'oléastre de la station de l'Ourit
la région de Tlemcen.



photo 02 : les feuilles de
L'oléastre

Une corrélation importante et significative des dimensions du fruit et la teneur en huile a été observée. Cela pourrait être d'intérêt pour l'utilisation des oliviers sauvages. En dépit de cela, il convient de mentionner que les oliviers sauvages avec des poids de fruits de 1,3 g et le pourcentage d'huile d'olive dans la matière sèche 33,8 % est comparable aux valeurs mentionnées pour certains cultivars d'oliviers (**Hannachi et al., 2008**).

5. Répartition géographique :

L'olivier ou *Olea europaea* subsp *europaea* var *europaea*, est cultivé depuis l'antiquité dans la méditerranée avec une importance culturelle et économique remarquable. L'olivier est originaire des régions tropicales et chaudes. Il est cultivé dans beaucoup d'autres pays, comme les Etats Unies (Californie), Australie, la Chine et l'Afrique (**Fao et Who, 2003**).

A ce jour, plusieurs travaux se sont concentrés sur l'évaluation des zones de distribution et de la variabilité entre les olives cultivées et sauvages. Plusieurs centaines de divers cultivars d'oliviers géographiquement existent dans le bassin méditerranéen. La sélection de nouveaux cultivars de la population de l'olivier sauvage devient problématique, même dans les régions où l'olivier est très répandu. D'autre part, la pollinisation croisée entre les oliviers sauvages restants et les cultivars domestiqués plantés pourraient avoir à une augmentation des olives sauvages (**Lavee, 2013**).

Les conditions qui prévalent dans la région algérienne favorisent la croissance des oliviers sauvages, et procurent à la population algérienne des avantages diététiques et économiques depuis les temps anciens (**Djenane et al, 2019**).

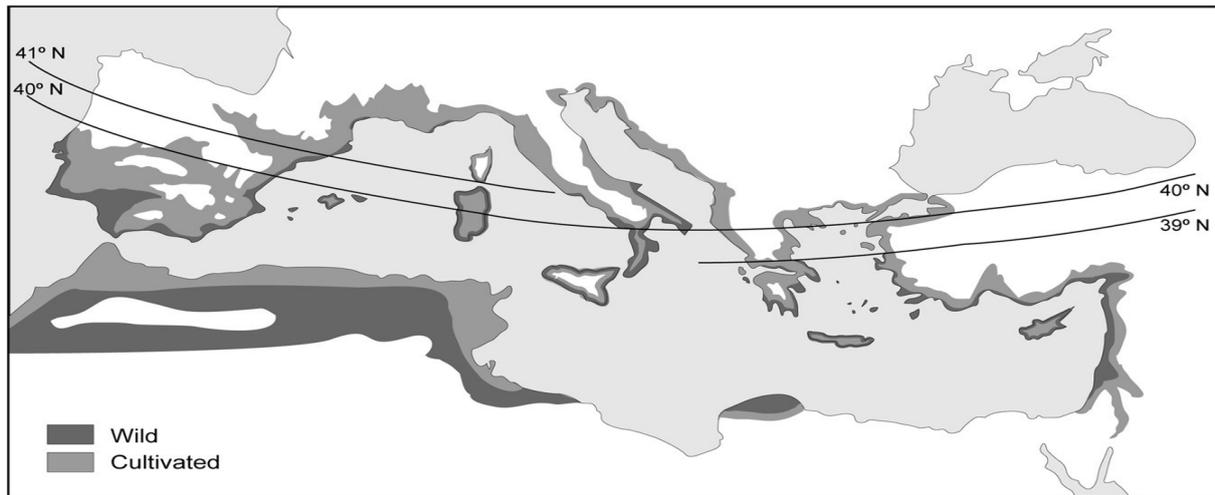


Figure 02: Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen
(Carrion *et al.*, 2010)

6. Propriétés biologiques :

L'olivier et ses dérivés peuvent être considérés comme une source potentielle d'antioxydants naturels et qui peuvent être utilisés dans l'industrie pharmaceutique (Savarese *et al.*, 2007).

L'utilisation d'*O. europaea* dans la prévention de certaines maladies notamment de cœur et de Certains cancers (Djenane *et al.*, 2012). Les feuilles d'olivier ont un effet hypoglycémiant et hypotenseur (Arab *et al.*, 2013), Ils sont employés pour désinfecter les blessures cutanées (Bouaid, 2012).

Les feuilles d'olivier améliorent tout particulièrement le système immunitaire grâce à leurs constituants qui neutralisent sans endommager les bactéries non pathogènes (Bardoulat, 2004).

De nombreuses activités ont été attribuées à la plupart des composants phénoliques de l'olivier, ils agissent comme des agents antioxydants, anti-inflammatoires, antiviraux, anti-cancérogènes, anti-ulcérogène et anti-âge (Bardoulat, 2004).

L'oleuropéine, l'hydroxytyrosol, l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique possèdent également une activité anticancéreuse efficace en perturbant les filaments d'actine (Bouallaqui *et al.*, 2011).

7. Utilisation traditionnelle :

L'olivier est utilisé en médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses pathologies notamment dans l'hypertension artérielle, le diabète (en l'abaissant la glycémie), cette utilisation pourrait être due à son activité antioxydante, une autre utilisation pour lutter contre

Partie bibliographique

la constipation, les douleurs du foie, la fièvre, les hémorroïdes, les oblitérations intestinales, le paludisme ...etc. (Bardoulat, 2004).

L'huile d'olivier a des propriétés laxatives légères est utilisée comme cholérétique et cholagogue, en usage externe, c'est un adoucissant et un émollient utilisé contre les brûlures et les coups de soleil (Ghedira, 2008).

Les propriétés médicinales de l'olivier sont surtout attribuées aux feuilles en tant que des anti-inflammatoires, antidiabétiques, antihypertensives, anti-ulcéreux et hypocholestérolémiantes (Bardoulat, 2004).

Les feuilles ont été consommées sous forme d'un extrait, d'un ensemble de poudre de herbor ou de tisane.

Tableau 01 : Présentation des travaux antérieurs sur l'olivier sauvage

	Auteur et Année	Méthode et solvant d'extraction	Activité évaluée, Technique utilisée et CI50
1	Hseini et Kahouadji, 2007		Contre l'otite. Trouble Digestif. Antidiabétique
2	Khan <i>et al.</i> , 2007		Trouble cardiovasculaire Activité anti inflammatoire Activités thyroïdiennes Activités anti viral Activités anti oxydante Activités antidibétique Activités hypolipédémiques Activités anti microbienne
3	Djenane <i>et al.</i> , 2012	L'infusion Des feuilles dans l'eau	Test de diffusion sur gélose Concentration minimale inhibitrice Test de Microdilution
4	Arab <i>et al.</i> , 2013	Macération des feuilles dans méthanol	DPPH CI50 de 0,24 mg / ml. Activité antioxydante
5	Abdul Khaliq <i>et al.</i> , 2015	Infusion des feuilles Extrait aqueux	DPPH et FRAP CI50 variaient entre 22,46 et 198 µl/ml

6	Ghazghazi <i>et al.</i> , 2015	Extraction des Pulpe de fruit par soxhlet Solvant : cylohexane	<p>1. Antioxydante DPPH CI50 = 28 µg/ml</p> <p>2. Antimicrobienne Concentration minimale d'inhibition CMI (3,125 à 25 mg/ml) Zone d'inhibition (13 à 18 mm)</p> <p>Les souches :</p> <p>a. Bactéries <i>E. coli</i>, <i>Salmonella typhimurium</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Aeromonas hydrophila</i>, <i>Listeria monocytogenes</i> et <i>Bacillus cerus</i></p> <p>b. Champignons : <i>Aspergillus niger</i> et <i>Aspergillus flavus</i>.</p> <p>c. Levure : <i>Candida albicans</i></p>
7	Haniche, 2017	Maceration et soxhlet des feuilles. Extrait acétonique et éthanolique	DPPH CI50 de l'extrait éthanolique= 10,753µg/ml. FRAP (DO)= 1,94 ± 0,52
8	Justyna <i>et al.</i> , 2017	Extrait aqueux des feuilles et branches	<p>Antioxydante : DPPH CI50=0,29µl/ml Test a acide thiobarbiturique (TBA) pour détecter la peroxydation lipidique des liposomes.</p> <p>Cytotoxicité : Contre le cancer de prostate Utilisé dans la médecine traditionnelle comme chimio prévention du cancer.</p>
9	Manallh, 2018		DPPH Blanchissement de β carotène et de pouvoir réducteur.
10	Zerioush, <i>et al.</i> , 2018	Infusion extrait aqueux	<p>Test de viabilité cellulaire. Evaluation de la voie apoptotique mitochondriale. Mesure de concentration libre de calcium intracellulaire [Ca²⁺] Détection de l'apoptose par cytométrie en flux. Analyse Western blot. Test de quantification RT-PCR.</p>

Partie bibliographique

			Détection des activités caspase-3 et caspase-7.
11	MIRAD <i>et al.</i> , 2019	Macération des feuilles Extrait hydro-ethanolique 50% et 70%.	DPPH de l'extrait d'olivier sauvage a la plus forte activité de piégeage du radical DPPH 94,61% Diffusion en milieu gélose. Test + sur <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Escherichia coli</i> .

II. Stress oxydatif :

1. Radicaux libres :

Les radicaux libres sont des atomes ou molécules possédant un ou plusieurs électrons célibataires sur leur couche externe. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome. Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène (**Serteyn et al., 2002**).

Les radicaux libres sont considérés comme des éléments indispensables pour la transduction de signaux cellulaires suite à l'implication de leurs effets bénéfiques, par exemple, les radicaux oxygéniques exercent des actions critiques sur les gènes de transcription, et sur les signaux de traduction. Les cellules phagocytaires (macrophages) utilisent également les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS) pour attaquer les agents infectieux (bactéries et virus). Ces mêmes radicaux peuvent causer des dégâts oxydatifs cellulaires, endommagement des tissus et même la mort des cellules et le développement des processus pathologiques (**McDonagh, 2017**).

2. Origine des radicaux libres :

La pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, la prise de pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique, autant des sources de production d'espèces réactifs oxygénés détruisent le potentiel du corps humain à stabiliser les radicaux libres (**Barouki, 2006**).

3. Stress oxydatif :

Défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se combattre contre l'agression des espèces réactives oxygénées (ROS), suite à un déséquilibre entre la production des radicaux libres ou composés pro-oxydants et leur élimination par les systèmes de défenses antioxydantes (**Zerargui, 2015**).

Ce qui produit des dégâts tissulaires à travers les modifications oxydatives des macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'ADN.

A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers, diabète, Alzheimer, les rhumatismes ou les maladies cardio-vasculaires (**Gammoudi et al., 2013**).

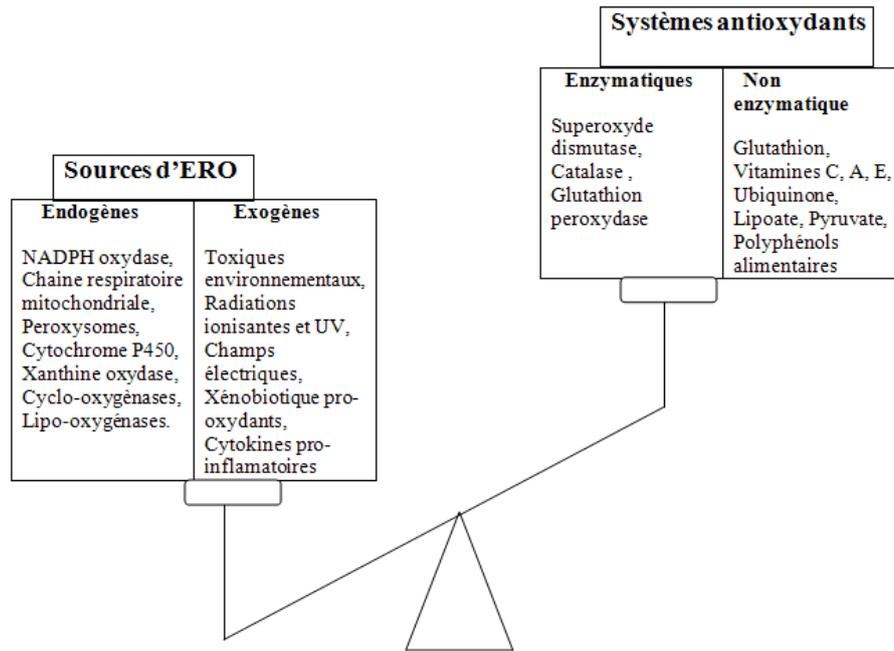


Figure 03 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (Nkhili, 2009)

4. Antioxydants

4.1. Définition des antioxydants :

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou réduire les radicaux libres en annihilant leur action dans l'organisme. Ces antioxydants sont définis aussi comme des agents redox qui réagissent avec les oxydants afin d'inhiber ou ralentir l'oxydation induite par l'oxygène moléculaire, et ainsi ajust l'équilibre redox cellulaire (El Kalamouni, 2010).

Les antioxydants se divisent en deux : des antioxydants endogènes ou enzymatiques et antioxydants exogènes ou non enzymatiques

4.2. Les antioxydantes enzymatiques :

Les antioxydants enzymatiques sont reconnus comme étant les plus performants. Il s'agit principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

4.2.1. Les superoxydes dismutases (SOD) :

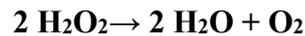
Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD : SOD1, SOD2 et SOD3 qui utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs sont nécessaires à l'activité enzymatique. Alors que la SOD₂ mitochondriale utilise le manganèse, dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde l'O₂^{•-} en espèces oxygénées moins réactives qui sont H₂O₂ et O₂ selon la réaction (Afonso *et al.*, 2007).

Partie bibliographique



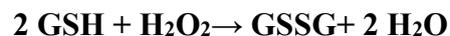
4.2.2. Les catalases :

La catalase est l'une des principales enzymes du système antioxydant biologique. Son rôle est très important dans les voies de défenses antioxydantes. Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et des hépatocytes et elle est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire (Arockiaraj *et al.*, 2012).



4.2.3. Les glutathions peroxydases et réductases (GSHPX) :

Les glutathions peroxydases et réductases sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part, les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Elle catalyse la réduction des hydro peroxydes (H_2O_2) et des peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène selon la réaction ci-dessous (Marfak, 2003).



4.3. Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme mais apportés par notre alimentation. Dans cette catégorie, nous retrouvons les antioxydants comme les vitamines E et C, les polyphénols, les oligoéléments et la glutathion réduit (GSH) (Kanoun, 2011).

4.3.1. La vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme une molécule soluble dans l'eau. La vitamine C présente un pouvoir antioxydant élevé, aidant à prévenir des dommages cellulaires et la contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, vis-à-vis des radicaux libres générés au cours d'un exercice intense. Il est impliqué dans un certain nombre de processus métaboliques dans le corps humain, y compris ceux qui peuvent être importantes pour le fonctionnement optimal du système d'énergie à l'oxygène. (Cholewa *et al.*, 2008)

4.3.2. La vitamine E

La vitamine E seule peut, dans certaines conditions, induire la peroxydation d'acides gras ou de lipoprotéines alors que, normalement, elle prévient l'oxydation de ces mêmes lipides. Elle

Partie bibliographique

réagit avec les radicaux HO et O_2^- directement et ainsi casser la chaîne d'oxydation (**Hermes-Lima, 2005**).

La vitamine E désigne un ensemble d'isomères, les α -, β -, γ - et δ -tocophérols et tocotriénols. La vitamine E et particulièrement l' α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble. Elle est capable d'empêcher la propagation de la peroxydation lipidique qui réagit directement avec les espèces réactives de l'oxygène (**Haleng et al., 2007**)

4.3.3. Les oligoéléments :

Les oligoéléments jouent un rôle de cofacteur pour maintenir l'activité catalytique des enzymes antioxydantes tels que le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer qui représentent des métaux essentiels dans l'attaque contre le stress oxydant (**Garait, 2006**).

- ✓ Ainsi, **le sélénium (Se)** joue un rôle primordial dans la protection des cellules et de leurs constituants dans la défense d'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases, et à l'activité biologique anti radicalaire des scléroprotéines (**Lhuillier, 2007**).
- ✓ **Le zinc (Zn) et le Cu** est un des cofacteurs essentiels de la SOD ainsi pour de nombreux enzymes. **Le zinc** protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires (**Bouldjadj, 2009**).
- ✓ **Le cuivre (Cu)** : A concentrations physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzyme comme la SOD, le cytochrome C oxydase. Cependant, en tant que métal de transition, a une concentration très élevée, le cuivre est devenu pro-oxydant en déclenchant la réaction de production d'espèces réactifs oxygéné (**Haleng et al., 2007**).

4.3.4. Polyphénols

Ils constituent une famille de molécules largement présente dans le règne végétal. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des espèces réactifs oxygéné et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Haleng et al., 2007**).

Les polyphénols constituent une famille de molécules largement présente dans le règne végétal.

Tableau 02 : Principaux nutriments antioxydants et leur sources alimentaires (**Mohammedi, 2013**).

Principaux nutriments Antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre et dans les œufs et les noix
β – carotène	Légumes et fruits orangés et vert foncés
Sélénium	Poisson, œufs, viandes, céréales et volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huitres et produits laitiers
Flavonoïdes	Fruit, légumes et thé vert
Acide phénoliques	Céréales complètes, baies et cerises
Tanin	Lentilles, thé, raisins et vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou, œufs, poissons et viandes

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Cette étude expérimentale est réalisée au niveau du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-Chimie, Synthèse et Activité Biologique LabSap, du département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers – Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen.

Cette étude est divisée en deux parties :

- ✓ Préparation des extraits des feuilles de l'oléastre ;
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits en utilisant deux techniques : le piégeage du radical libre DPPH et la réduction de fer FRAP.

1. Matériel végétal

Dans notre étude, les feuilles de l'olivier sauvage sont récoltées à la station de l'Ourit – Tlemcen au mois de Décembre 2019.

Le séchage est effectué à l'air libre dans un endroit non humide et à température ambiante à l'abri de la lumière.

Les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre le jour de l'expérimentation.

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits bruts :

L'extraction est réalisée par macération sous agitation pendant 24 heures selon les deux protocoles suivants :

- 1- Extraction de 20 g de la poudre des feuilles avec un mélange de 200 ml d'eau/acétone (30 : 70) (v : v) ;
- 2- Extraction de 20 g de la poudre des feuilles avec un mélange de 200 ml d'eau/méthanol (30 : 70) (v : v).

Les extraits sont filtrés sur papier Wattman, puis, concentrés au rotavapeur pour éliminer la phase organique. Les phases aqueuses de chaque extrait sont laissées séchées dans des boîtes Pétri en verre dans une étuve à 35 °C. Les résidus obtenus sont conservés à + 4°C.

Matériel et méthodes



Photo 03 : Extraits hydroacétonique (1) et hydrométhanolique (2) des feuilles de l'olivier sauvage.



Photo 04 : Filtration de l'extrait sur papier Wattman.



Photo 05 : Evaporation sous vide des extraits de l'olivier sauvage.

Matériel et méthodes

2.2. Evaluation de l'activité antioxydante

2.2.1. Réduction de fer FRAP :

Le test de pouvoir réducteur du fer est un test simple, reproductible et rapide. La réduction de fer est une méthode colorimétrique de transfert d'électrons. Elle est basée sur la capacité des produits testés à passer de la forme ferrique (couleur jaune) vers la forme ferreux (couleur vert) (réduction de fer) (*pellegrini et al., 2003*)

La méthode FRAP est réalisée selon le protocole de Yen et Chen, 1995 avec quelques modifications. Les extraits de feuilles de l'olivier sauvage hydro-acétonique et hydro-méthanolique (0,5 - 1 mg) sont dissouts dans 1 ml d'eau distillée et mélangés avec 2,5 ml de tampon phosphate 2 M à pH 6,6 et 2,5 ml de ferricyanure de potassium 1%. Ce mélange est incubé à 50 °C pendant 20 minutes.

Après incubation, il faut stopper la réaction par l'ajout de 2,5 ml de trichloracétique 10%. Ensuite, 1,25 ml sont prélevés de chaque tube et mélangés avec 1,25 ml de l'eau distillé et 250 µl de la solution de chlorure de fer (FeCl₃) 0,1 %.

L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.

L'acide ascorbique est testé comme un témoin dans l'expérimentation, dans les mêmes conditions expérimentales.

Ces tests sont réalisés en triplicate pour chaque extrait ainsi que pour l'acide ascorbique.

2.2.2. Test de piégeage de radical libre DPPH

C'est un essai largement employé pour explorer l'utilisation des extraits de plantes médicinales comme antioxydants en utilisant une réaction d'oxydo-réduction en raison de son évaluation rapide et direct de l'activité antioxydante.

Le DPPH, 2,2-diphényl-1-pikrylhydrazyl, est l'un des radicaux azotés organiques les plus stables qui porte une couleur violette grâce à son électron non apparié de l'azote. Cette méthode colorimétrique est basée sur la perte de la couleur à 517 nm due à la réduction de DPPH (*Villano et al., 2007 ; Anabela Borges et al., 2020*).

Matériel et méthodes

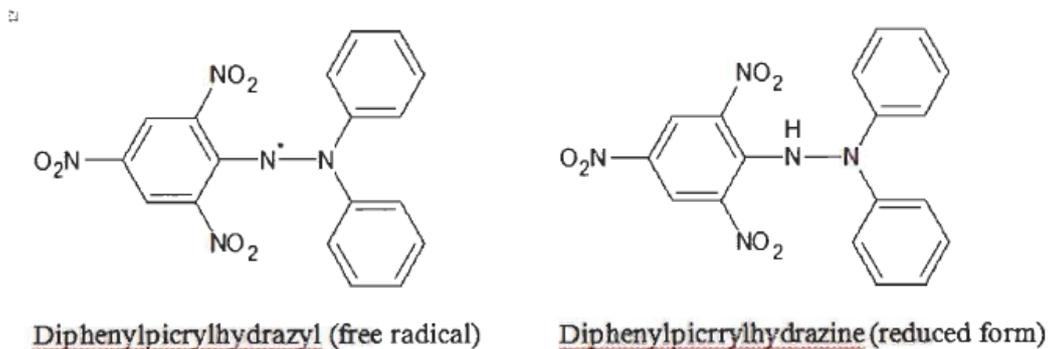


Figure 04 : Le radical DPPH et sa forme réduite (Agatonovic-Kustrin *et al.*, 2014)

Pour réaliser ce test, nous avons suivi la méthode donnée par **Atoui et ses collaborateurs en 2005**. le DPPH est préparé dans le méthanol à une concentration de $6,34 \times 10^{-5}$ M. Les extraits hydro-acétonique et hydrométhanolique ainsi que l'acide ascorbique sont préparés dans le méthanol.

Un volume de 1950 μ l de la solution méthanolique de DPPH est mélangé avec 50 μ l de la solution d'échantillon (extraits ou acide ascorbique). Après incubation pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante, les absorbances sont mesurées avec un spectrophotomètre UV-visible contre un blanc.

Le contrôle positif a été préparé dans les mêmes conditions expérimentales avec un mélange de 1950 μ l de la solution méthanolique de DPPH et 50 μ l de méthanol.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH est calculé de cette manière :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Avec :

A contrôle : Absorbance du milieu réactionnel (solution méthanolique du DPPH sans l'échantillon)

- **A extrait** : Absorbance de l'extrait (Chaouche *et al.*, 2015).

Ces expérimentations sont réalisées en triplicate pour chaque extrait ainsi que pour l'acide ascorbique.

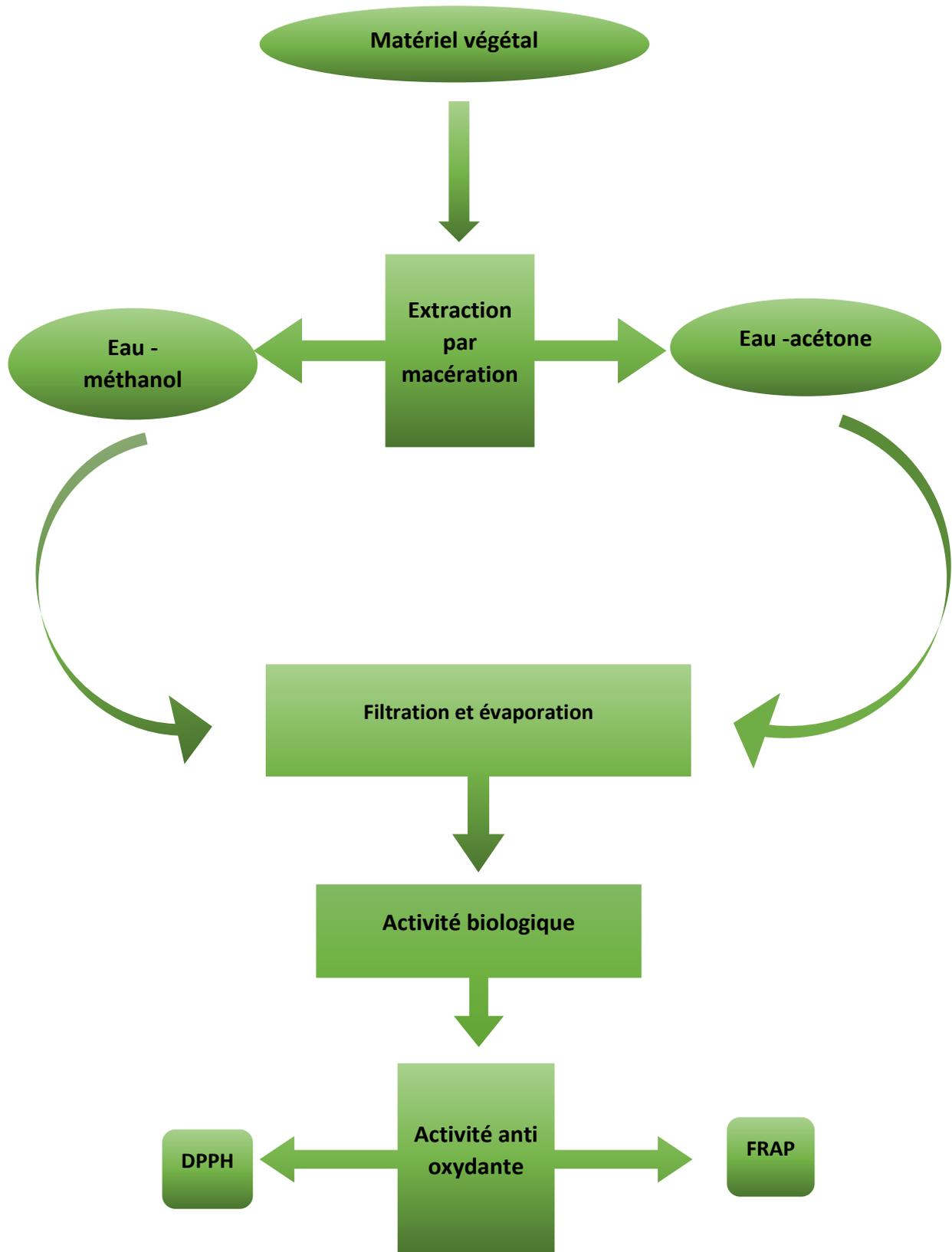


Figure 05 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

1. Rendements des extraits bruts :

Le rendement signifie la masse de l'extrait hydroalcoolique déterminée après évaporation des solvants organiques et aqueux. Il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale du matériel végétal soumis à l'extraction.

Le rendement est exprimé en pourcentage, à partir de la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (M_0/M_1) \times 100$$

Où, M_0 : Masse du résidu obtenu après évaporation du solvant d'extraction en gramme ;

M_1 : Masse de la matière végétale sèche initial en gramme.

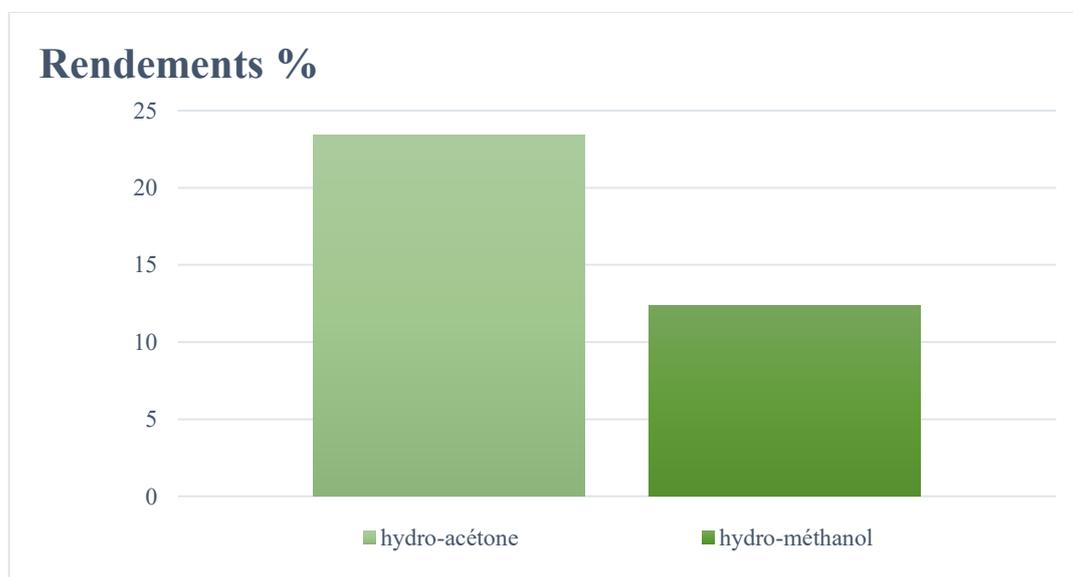


Figure 06 : Rendement des extraits macérés de l'oléastre

D'après la figure, nous observons que l'extrait hydro-acétonique (30/70) (v/v) a permis d'obtenir le meilleur rendement avec 23,41 % (p/p), suivi par l'extrait hydro-méthanolique avec 12,33 % (p/p).

Résultats et interprétation

Tableau 03 : Caractéristiques des extraits hydroalcooliques des feuilles de l'olivier sauvage.

Mode d'extraction	Aspect	Couleur	Rendement%
Eau-méthanolique	Cristallisé	Vert noir	12,33
Eau-acétonique	Cristallisé	Vert	23,41

2. Etude de l'activité antioxydante des feuilles de l'olivier sauvage :

2.1. Réduction du fer FRAP

En présence de la molécule antioxydante dans l'extrait, l'activité réductrice du fer se traduit par la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}).

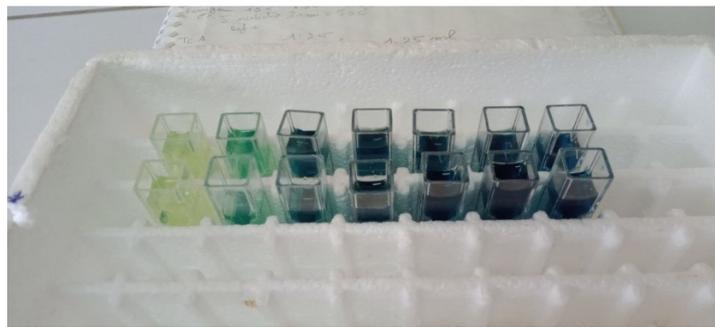


Photo 06: résultats d'essai de FRAP.

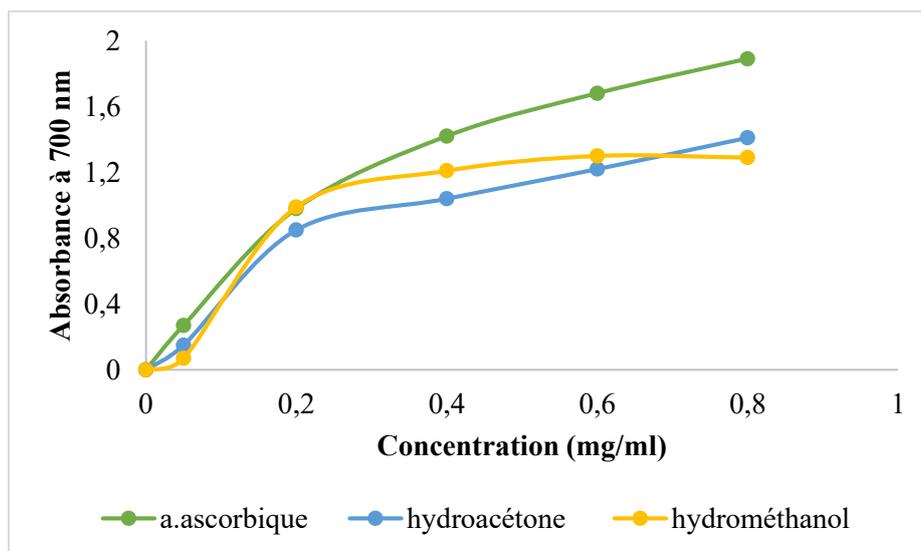


Figure 07 : Pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique et des extraits des feuilles de l'olivier sauvage.

Résultats et interprétation

D'après les résultats représentés sur le graphe (Figure 12), nous observons que l'extrait hydroacétonique et l'extrait hydrométhanolique sont présentés une activité pour réduire le fer très rapprochés ou l'extrait l'hydrométhanol a un CE50 égal a 0,25 mg/ml et l'extrait hydroacétone présenté un CE50 égal à 0,24 mg/ml. De plus, nous constatons que l'augmentation de la réduction de fer est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des extraits des feuilles de l'oléastre.

Le contrôle positif qui est employé dans cette méthode, est l'acide ascorbique, et a montré le pouvoir réducteur le plus élevé qui présenté un CE50 de 0,18 mg/ml.

Donc, nous pouvons dire que l'olivier sauvage possède une activité antioxydante très intéressante avec la technique de FRAP utilisée.

Tableau 04 : Valeurs des concentrations efficaces CE₅₀ des extraits de l'olivier sauvage.

Extrait	Hydroacétonique	Hydrométhanolique	Acide ascorbique
CE 50 exprimé en mg/ml	0,24 ±0,64	0,25 ±0,66	0,18 ±0,85

2.2 Piégeage du radical libre DPPH :

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits et de l'acide ascorbique.

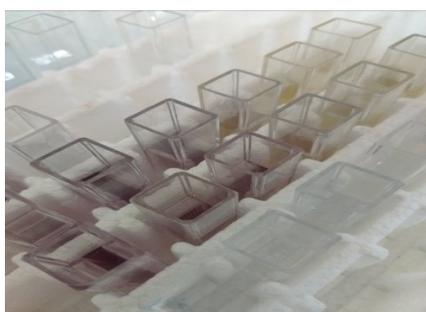


Photo 07 : résultat d'essai de DPPH.

Résultats et interprétation

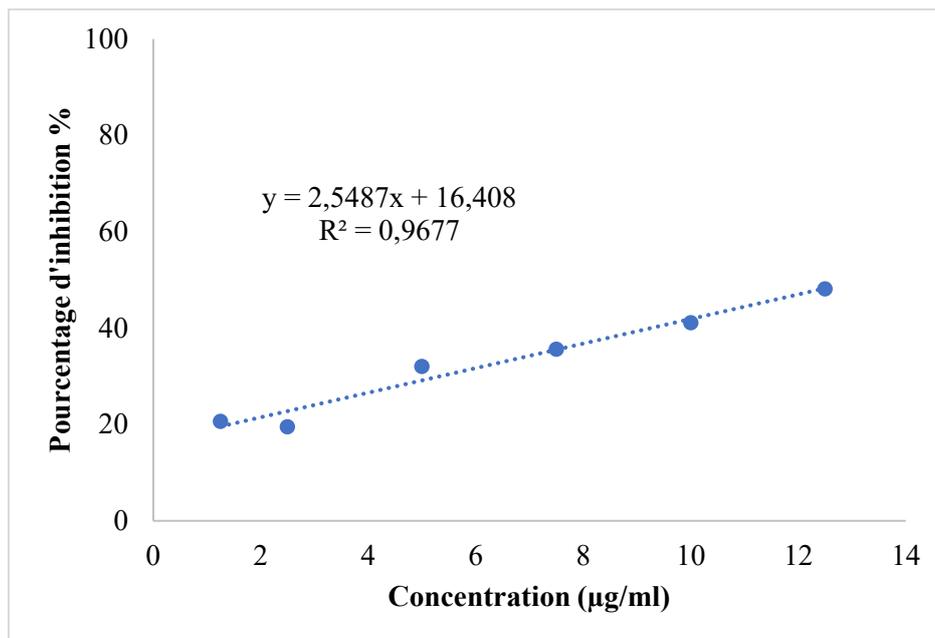


Figure 08 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique de l'olivier sauvage

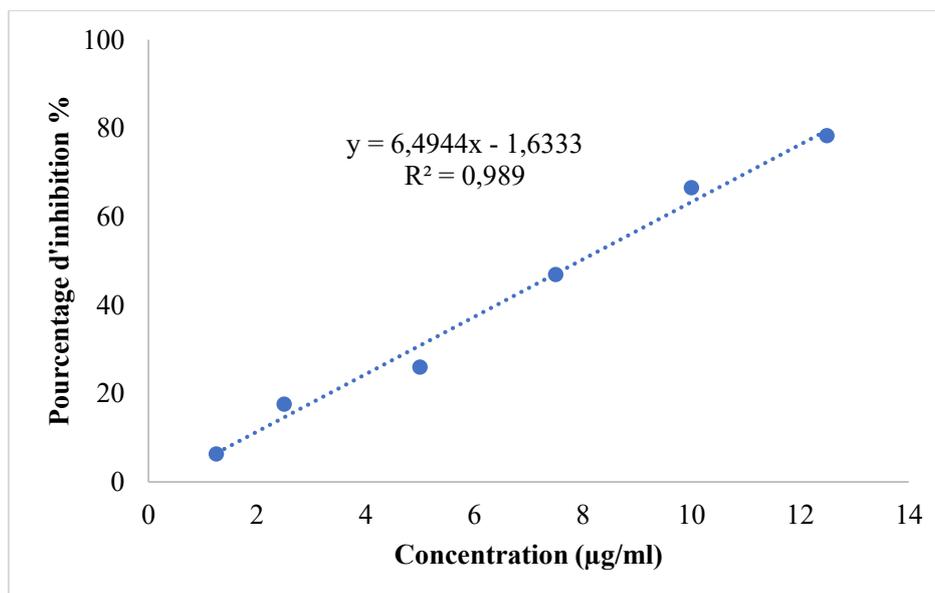


Figure 09 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroacétonique de l'olivier sauvage

Résultats et interprétation

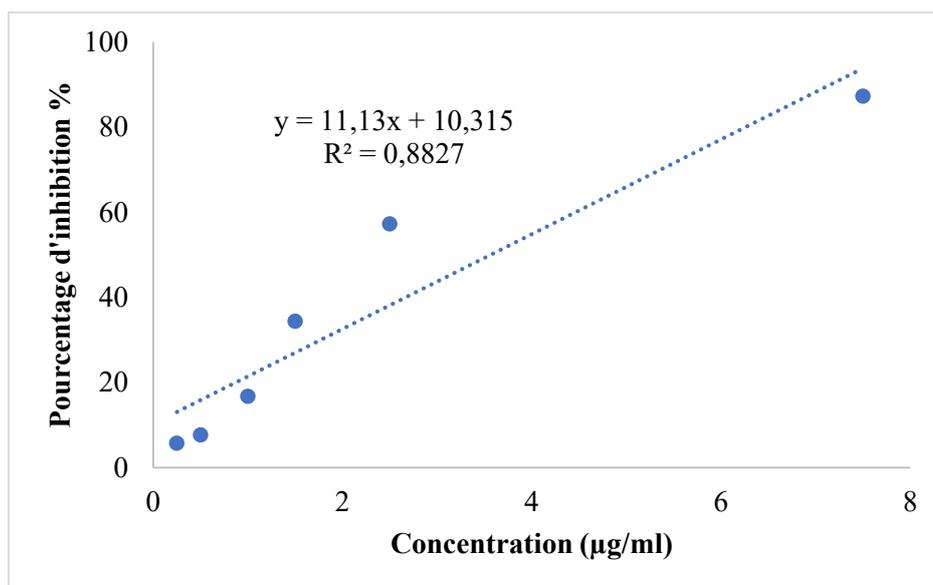


Figure 10 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique

L'extrait hydroacétonique a montré la meilleure activité antiradicalaire avec de faibles concentrations par rapport à l'extrait hydrométhanolique. A une concentration de 12,5 µg/ml, l'extrait hydrométhanolique a produit un pourcentage d'inhibition de 41,17 % ± 0,05. A cette même concentration, l'extrait hydroacétonique a produit un pourcentage d'inhibition égale à 78,35% ± 0,16.

Selon ces résultats obtenus, l'activité des deux extraits reste inférieure à celle de l'acide ascorbique qui est de 87,33% à une concentration de 7,5 µg/ml.

CI₅₀ est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les valeurs inférieures de CI₅₀ indiquent un pouvoir antioxydant plus fort ainsi l'efficacité de l'extrait.

Tableau 05 : Valeurs des concentrations inhibitrices CI₅₀ des extraits de l'olivier sauvage.

Extrait	Hydrométhanolique	Hydroacétonique	Acide ascorbique
CI ₅₀ exprimée en µg/ml	13,14 ± 0,18	7,95 ± 0,16	3,56

Les résultats présentés dans le tableau ont montré que l'extrait hydroacétonique a la meilleure activité avec une faible CI₅₀ par rapport à l'extrait hydrométhanolique.

Néanmoins, l'acide ascorbique présente la faible valeur de CI₅₀, et par conséquent, la meilleure activité antioxydante.

Discussion

Discussion

Discussion

Depuis l'antiquité, l'olivier été largement répandue dans le bassin méditerranéen, notamment, en Algérie. Les propriétés médicinales de l'olivier sauvage sont attribuées aux feuilles qui font l'objet de nombreuses recherches scientifiques.

Olea europaea est utilisé depuis des centaines d'années en médecine traditionnelle en réponse à des problèmes de santé dans divers pays. Ses feuilles, son écorce, son bois, ses fruits, ses graines et son huile sont utilisés sous différentes formes, seuls ou parfois en combinaison avec d'autres herbes (**Hashmi et al., 2015**).

Notre objectif dans cette recherche est d'évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts des feuilles d'*Olea europaea* var. *sylvestris*.

Au premier temps, nous avons préparé des extraits à partir de la poudre des feuilles de l'oléastre qui sont séchés à l'obscurité afin de protéger la plante contre les radiations ultraviolettes de la lumière solaire.

Pour l'extraction, nous avons utilisé deux solvants hydroalcooliques : hydroacétonique et hydrométhanolique de polarité différente et aux proportions (30/70) (v/v). Selon nos résultats obtenus, nous pouvons dire que l'extrait hydroacétonique présente le rendement le plus élevé avec 23,41%, par rapport à l'extrait hydrométhanolique qui a présenté un rendement de 12,33%.

Ces valeurs sont similaires avec ceux obtenus des travaux de **Bouabdallah** en 2014, et qui a montré que l'extrait hydroacétonique des feuilles de l'oléastre récoltées en décembre 2013 à la région de l'Ourit a un meilleur rendement avec 30%, suivi par l'extrait hydrométhanolique avec un rendement de 24%.

La méthode d'extraction utilisée, le solvant utilisé, la température, le temps de l'extraction et la composition de l'échantillon ainsi que la polarité sont des conditions qui influencent sur le rendement de l'extraction (**Quy-Diem et al., 2014**).

Arab et al., 2013, ont réalisé une étude de l'activité biologique sur l'olivier sauvage et l'olivier cultivé. Ils ont obtenu un rendement de **38,74%** de l'extrait hydrométhanolique de l'olivier sauvage, tandis que l'olivier cultivé avait un rendement de **35,72%** pour le même extrait. Ces résultats dépassent les taux que nous avons obtenus.

Une étude phytochimique des extraits obtenus par macération a montré que la macération hydroéthanolique (30/70) (v/v) a donné le rendement le plus élevé (**40,66%**), suivi par la macération hydrométhanolique (30/70) (v/v) qui a donné (**33,84%**) (**Hniche et al., 2017**).

Discussion

Zeriuoh et ses **collaborateurs** en 2017, ont réalisé une extraction méthanolique pour l'évaluation de l'activité antioxydante, le rendement présenté est de 23,79 %.

Massouni en 2019 a montré que l'extrait hydroacétonique macéré des feuilles de l'olivier sauvage, avait le meilleur rendement (**19.76%**) par rapport à l'extrait hydrométhanolique (**13.77%**), ce qui confirme nos résultats.

De même, ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans l'étude de **Benmessaoud** en 2019, où l'extrait hydroacétonique préparé par décoction des feuilles d'oléastre révèle le meilleur rendement (**29.96 %**), suivi par l'extrait décocté hydrométhanolique (**23.05 %**), ensuite, les extraits hydrométhanoliques et hydroacétoniques macérés qui ont présenté un rendement de **23.05 %** et **13.95 %**, respectivement. D'après ses résultats, aucune différence entre les deux méthodes d'extraction pour l'extrait hydrométhanolique.

Dans l'étude de **Mirad** et ces collaborateurs, des extraits des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé, ont été macéré dans l'éthanol 50%, puis dans l'éthanol 70%, les rendements obtenus sont respectivement 17,55% et 5,39% (**Mirad et al., 2019**).

Après la préparation de nos extraits, nous avons réalisé l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Olea europaea sylvestris* par deux méthodes : réduction du fer FRAP et piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats de la méthode FRAP ont montré que l'extrait hydrométhanolique a présenté la meilleure activité antiradicalaire tandis que l'extrait hydroacétonique présenté une faible activité antioxydante.

Les résultats de la méthode FRAP, ont montrés que l'activité des deux extraits est presque la même, ou l'extrait hydroacétonique présente un CE50 égal à 0,24 mg/ml et hydrométhanolique présente un CE50 égal à 0,25 mg/ml. Ces résultats diffèrent par rapport à ceux obtenus par **Bouabdelah** en 2014 et **Sghir** en 2019, où, les résultats de la méthode de réduction du fer FRAP a montré une activité très élevée pour l'extrait hydrométhanolique des feuilles de l'olivier. Cette différence peut être due à la région et la période de récolte.

Selon **Cigalem** en 2011, l'utilisation de la méthode de piégeage de radical libre DPPH sur un extrait aqueux des feuilles de l'olivier sauvage donne une CI₅₀ égal à 22,46 µg/ml.

Dans une autre étude, le potentiel de piégeage du radical DPPH de l'extrait hydrométhanolique de feuilles d'oléastre obtenus par macération a présenté une CI₅₀ de 0,24 µg/ml (**Arab et al., 2013**).

Discussion

Selon **Bouabdellah** en **2014**, les CI_{50} des extraits sous reflux hydrométhanolique, hydroacétonique et aqueux sont de l'ordre de 12 $\mu\text{g/ml}$, 16.96 $\mu\text{g/ml}$ et 19,5 $\mu\text{g/ml}$. Dans une autre étude réalisée par **Moussouni** en **2019**, l'extrait hydrométhanolique présente la meilleure activité avec une CI_{50} égal à 0.18 $\mu\text{g/ml}$. Nos résultats obtenus montrent que c'est l'extrait hydroacétonique qui possède la meilleure activité, à l'inverse des résultats de Bouabdellah et Moussouni.

Haniche et ses collaborateurs en **2017**, ont évalué l'activité antioxydante des feuilles d'*Olea europaea* var *sylvestris*. Les auteurs ont conclu que l'extrait hydroéthanolique macéré exhibe la meilleure activité antiradicalaire avec une CI_{50} de 10,753 $\mu\text{g/ml}$, tandis que l'extrait hydrométhanolique a présenté une CI_{50} égale à 12,01 $\mu\text{g/ml}$.

Djenane et ses collaborateurs en **2018**, ont évalué l'activité antioxydante des feuilles d'*Olea europaea* subesp. *europaea* var. *sylvestris*. L'extrait hydrométhanolique macéré a montré une capacité à réduire le radical libre DPPH avec une CI_{50} de 19,2 $\mu\text{g/ml}$.

Mirad et **Badis** en **2019**, ont obtenu une CI_{50} de 22,46 $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait hydrométhanolique macéré de feuilles de l'olivier sauvage.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales occupent une place importante dans la thérapeutique de diverses maladies. Les feuilles d'*Olea europea* var *sylvestris* ont un grand intérêt dans la prévention contre les maladies liées au stress oxydatif tel que le diabète, les maladies cardiovasculaires, l'inflammation, les cancers et le vieillissement.

Ceci nous a amené à nous pencher sur l'étude des activités antioxydantes des extraits des feuilles de la plante « *Olea europaea sylvestris* » de la région de l'Ourit à Tlemcen.

L'extraction par macération des feuilles de l'olivier sauvage avec deux systèmes de solvants a montré de bons rendements. Les résultats obtenus montrent que l'extrait hydroacétonique a le rendement le plus élevé par rapport à l'extrait hydrométhanolique.

L'activité antioxydante de l'olivier sauvage a été évaluée par deux techniques : la réduction du fer FRAP et le piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats de la technique de réduction de fer montrent que la capacité réductrice de l'extrait hydroacétonique est plus élevée que celle de l'extrait hydrométhanolique à la concentration de 1 mg/ml.

Pour la deuxième technique, les résultats révèlent que l'extrait hydroacétonique macéré des feuilles de l'olivier sauvage présente l'activité la plus élevée avec une CI_{50} de 7,95 $\mu\text{g/ml}$ suivi de l'extrait hydrométhanolique macéré avec une CI_{50} de 13,18 $\mu\text{g/ml}$.

Les résultats obtenus dans cette étude, montre qu'*Olea europea* var *sylvestris* est une plante riche en substances chimiques et qui pourraient représenter une nouvelle source potentielle de molécules bioactives possédants des propriétés antioxydantes d'origine naturelle qui sont utilisées dans la médecine traditionnelle. Il serait intéressant de réaliser d'autres techniques et méthodes comme :

- Rechercher et identifier certains composants chimiques majoritaires d'*Olea europaea* var *sylvestris*
- Tester le pouvoir antioxydant par d'autres méthodes
- Evaluation d'autres activités comme : l'activité antibactérienne, antidiabétique, anticancéreuse.... etc.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

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

Alghazeer, R., Whida, F., Abduelrhman, E., Gammoudi, F., & Azwai, S. (2013). Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya.

Altinyay, Ç., Güvenç, A., & Altun, M. L. (2011). Antioxydante activities of *Olea europein* and the aqueous extractsof *Olea europaea L. varieties* growing in Turkey. *Turk J. Pharm. Sci*, 8(1), 23-30.

Altinyay, Ç., Güvenç, A., & Altun, M. L. (2011). Antioxydante activities of oleuropenind and the aqueous extract of *olea europaea L.varieties* growing in turkey . *Turk J. Pharm. Sci*, 8(1), 23-30.

Argenson C., Régis S., Jourdian J. M., Vaysse P. 1999. L'olivier. 22, rue Bergère

Arockiaraj, J., Easwvaran, S., Vanaraja, P., Singh, A., Othman, R. Y., & Bhassu, S. (2012). Molecular cloning, characterization and gene expression of an antioxidant enzyme catalase (MrCat) from *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & shellfish immunology*, 32(5), 670-682.

Arockiaraj, J., Easwvaran, S., Vanaraja, P., Singh, A., Othman, R. Y., & Bhassu, S. (2012). Molecular cloning, characterization and gene expression of an antioxidant enzyme catalase (MrCat) from *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & shellfish immunology*, 32(5), 670-682.

ARTAUD M. L'OLIVIER Sa contribution dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique 2008.

Asma G. Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait d'Olea europea var.oleaster et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques: UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA; 2015.

Baba, E., Acar, Ü., Yılmaz, S., Zemheri, F., & Ergün, S. (2018). Dietary olive leaf (*Olea europea L.*) extract alters some immune gene expression levels and disease resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & shellfish immunology*, 79, 28-33.

Références bibliographiques

Bardoulat, M. (2004). L'olivier, trésor de santé : un arbre, un fruit, une huile aux vertus millénaires. Alpen Editions sam.

Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272

Borges, A., José, H., Homem, V., & Simões, M. (2020). Comparison of Techniques and Solvents on the Antimicrobial and Antioxidant Potential of Extracts from *Acacia dealbata* and *Olea europaea*. *Antibiotics*, 9(2), 48.

Bouabdallah A. Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris* 2014

Bouallagui, Z., Han, J., Isoda, H., & Sayadi, S. (2011). Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Food and chemical toxicology*, 49(1), 179-184.

Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Toubal, S., Benhabyles, N., Laoufi, R., & Arab, K. (2018). Comparative study of olive oils from five regions of Algeria (Bouira, Bejaia, Biskra, Delly and Jijel). *AgroBiologia*, 8(2), 1038-1046.

Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Toubal, S., Benhabyles, N., Laoufi, R., & Arab, K. (2018). Comparative study of olive oils from five regions of Algeria (Bouira, Bejaia, Biskra, Delly and Jijel). *AgroBiologia*, 8(2), 1038-1046.

Bouldjadj, R. (2009). Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine (Doctoral dissertation, Thèse de magister).

Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*, 28.

Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*, 28.

Bouxi, H. (2012). Les plantes médicinales et le diabète de type 2 (A propos de 199 cas). Université Sidi-Mohammed-Ben-Abdellah. Faculté de médecine et de pharmacie Fès-Maroc, 59-60.

Carrion, Y., Ntinou, M., Badal, E. (2010). *Olea europaea* L. in the North Mediterranean

Références bibliographiques

Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., ... & Larbat, R. (2015). Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial crops and products*, 64, 182-187.

Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., ... & Larbat, R. (2015). Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial crops and products*, 64, 182-187.

Chourfa, M., & Allem, R. (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie in vitro. *Phytothérapie*, 14(3), 181-187

De Marco, E., Savarese, M., Paduano, A., & Sacchi, R. (2007). Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food chemistry*, 104(2), 858-867.

Djenane D, Yangüela J, Derriche F, Bouarab L, Roncales P. Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technology*. 2012(7):53

Djenane D, Yangüela J, Derriche F, Bouarab L, Roncales P. Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens ; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technology*. 2012(7) :53).

Djenane, D., Gómez, D., Yangüela, J., Roncalés, P., & Ariño, A. (2019). Olive Leaves Extract from Algerian Oleaster (*Olea europaea* var. *sylvestris*) on Microbiological Safety and Shelf-life Stability of Raw Halal Minced Beef during Display. *Foods*, 8(1), 1

El Kalamouni, C. (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse).

Ghedira K. 2008. L'olivier. *Phytothérapie* 6:pp. 83–89.

Ghiringhelli F., Rialland M., Hichami A. 2017. Phenolic extract from oleaster (*Olea*

Giese, B., Au-Yeung, C. K., Herrmann, A., Diefenbach, S., Haan, C., Küster, A., ... & Müller-Newen, G. (2003). Long term association of the cytokine receptor gp130 and the Janus kinase Jak1 revealed by FRAP analysis. *Journal of Biological Chemistry*, 278(40), 39205-39213.

Références bibliographiques

GRUMEZESCU A. NUTRIENT DELIVERY N anotechnology in the Agri-Food

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

Hannachi, H., Breton, C., Msallem, M., El Hadj, S. B., El Gazzah, M., & Bervillé, A. (2008). Differences between native and introduced olive cultivars as revealed by morphology of drupes, oil composition and SSR polymorphisms: a case study in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 116(3), 280-290.

Hashmi, M. A., (n, A., Hanif, M., Farooq, U., & Perveen, S. (2015). Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Olea europaea* (olive). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.

Bucharest, Bucharest, Romania: Nikki Levy; 2017. Available from: www.elsevier.com/permission

KANOUN, K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L.(Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine).

Kilani, S., Sghaier, M. B., Limem, I., Bouhlel, I., Boubaker, J., Bhourri, W., ... & Ghedira, K. (2008). In vitro evaluation of antibacterial, antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of the tubers infusion and extracts of *Cyperus rotundus*. *Bioresource technology*, 99(18), 9004-9008.

L'olivier et ces contributions dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique. pp 06-07.

Labdaoui J. 2017. Impact socio-économique et environnemental du modèle

LABDAOUI, D. (2017). Impact socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases et possibilités de sa diffusion dans la région de Bouira (Algérie) (Doctoral dissertation).

Laguerre, M., López Giraldo, L.J., Lecomte, J., Villeneuve, P. (2009). Widespread methods and new analytical approaches in antioxidant evaluation. sous presse, 22 :1-5.

Lavee Shimon. Evaluation of the need and present potential of olive breeding indicating the nature of the available genetic resources involved. *Scientia Horticulturae*, Volume 161, 2013; 333–339.

Références bibliographiques

Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., & Nouri, N. E. H. (2019). Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,-Nord-est algérien). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.

Leduc, R. J. (2002). Hierarchical interface-based supervisory control. PhD thesis, Department of Electrical and Computer Engineering, University of Toronto, 2002. 101.

Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Presse médicale (Paris, France : 1983)*, 30(21), 1076-1081.

Mezouar, D., Lahfa, F. B., Djaziri, R., & Boucherit-Otmani, Z. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante de *Berberis vulgaris* L. *Phytothérapie*, 12(5), 297-301.

MOHAMMEDI, Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie (Doctoral dissertation).

Mostaganem, 161 p.

Murtaza B., Patoli D., Thomas C., Apetoh L., Rébé C., Delmas D., Akhtar Khan N.,

Nkhili, E. Z. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Université Cadi Ayyad-Marrakech.

Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. *J .Nutr*,

Ouelhadj, A., Salem, L. A., & Djenane, D. (2019). Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pelargonium x asperum* et son potentiel synergique avec la nisine. *Phytothérapie*, 17(3), 140-148.

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of nutrition*, 133(9), 2812-2819.

Perrinjaquet-Moccetti T., Busjahn A., Schmidlin C., Schmidt A., Bradl B., and Aydogan C., (2008). Food supplementation with an olive (*Olea europaea* L.) leaf extract reduces blood pressure in borderline hypertensive monozygotic twins. *Phytotherapy Research*. Vol. 22; pp 1239-1242.

Polzonetti V., Egidi D., Vita A., et al., (2004). Involvement of oleuropein in digestive metabolic pathways. *Food Chemistry*. Vol. 88 ; pp: 1-15

Références bibliographiques

Rachid, A., Rabah, D., Farid, L., Zohra, S. F., Houcine, B., & Nacéra, B. (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(10), 2041-2050.

Rajabiesterabadi, H., Ghelichi, A., Jorjani, S., Hoseini, S. M., & Akrami, R. (2020). Dietary olive (*Olea europaea*) leaf extract suppresses oxidative stress and modulates intestinal expression of antioxidant-and tight junction-related genes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 520, 734676.

Rajabiesterabadi, H., Ghelichi, A., Jorjani, S., Hoseini, S. M., & Akrami, R. (2020). Dietary olive (*Olea europaea*) leaf extract suppresses oxidative stress and modulates intestinal expression of antioxidant-and tight junction-related genes in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 520, 734676.

Şahin S, Şamlı R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013 ;20(1):595-602 133: 2812-2819.75009 Paris : pp. 08-19.

Terral JF., Arnold- Simard G., Beginnings of olive cultivation in eastern Spain in relation to Holocene bioclimatic changes. *Quaternary Res*. 46, 1996 ; 176-85.

Tsumbu, C. N., Deby-Dupont, G., Tits, M., Angenot, L., Frederich, M., Kohnen, S., ... & Franck, T. (2012). Polyphenol content and modulatory activities of some tropical dietary plant extracts on the oxidant activities of neutrophils and myeloperoxidase. *International journal of molecular sciences*, 13(1), 628-650.

Villa P. 2003. La culture de l'olivier. De Vecchi S.A. Paris : pp. 09-11.

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

Villano,D.,Fernandez-Pachon, MS.,Moya, ML.,Troncoso, AM.,Garcia-Parilla,MC. (2007). Radical scavenging ability of phenolic compoundstowards DPPH free radical. *Talanta*,71 :

Zerargui, F., Boumerfeg, S., Charef, N., Baghiani, A., Djarmouni, M., Khennouf, S., ... & S Mubarak, M. (2015). Antioxidant potentials and xanthine oxidase inhibitory effect of two furanocoumarins isolated from *Tamus communis* L. *Medicinal Chemistry*, 11(5), 506-513.

Références bibliographiques

Zeriouh, W., Nani, A., Belarbi, M., Dumont, A., de Rosny, C., Aboura, I., ... & Apetoh, L. (2017). Phenolic extract from oleaster (*Olea europaea* var. *sylvestris*) leaves reduces colon cancer growth and induces caspase-dependent apoptosis in colon cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. *PloS one*, 12(2).

Zohary D., Hopf M., Weiss E. 2012. Domestication of plants in the Old World. 4. Ed. Oxford : Oxford University Press. 243 p