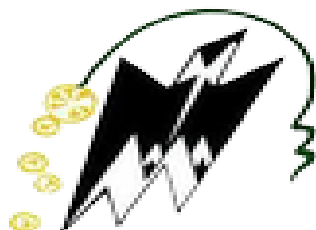


Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques

Département d'agronomie



Mémoire de fin d'étude

Présenté en vue d'obtention d'un diplôme de master

Spécialité : Culture pérenne

Influence du facteur variétal sur le pourcentage des extraits phénoliques de huit variétés de feuilles d'olivier (*Olea europaea* L)

Présenté par :

Ait Hadda Ferroudja
Sarri Nassim

Devant le jury :

Mme Louni	Présidente
Mme Hedjal Mariem	Promotrice
Mr Faci Massinissa	co-promoteur
Mme Ait mouloud	Examinatrice

Année 2020/2021

Dédicace :

Dieu merci.

Au nom de tous les efforts qu'on a fournis pour présenter cet humble travail, on le dédit à nos parents, qui seront toujours très fière de notre réussite.

Et à tout nos proches qui nous ont soutenu, et nous ont aidé de loin ou de près à fin que ce travail soit accomplie.

C'est un chapitre de notre vie qui s'achève, on souhaite être toujours là l'un pour l'autre.

Résumé

L'olivier en Algérie est très diversifié, vu les différents reliefs et la diversité du climat. La variété dominante au centre est Chemlal avec 55% de toute la superficie oléicole du pays, et Sigoise est dominante à l'ouest.

L'olivier est connue pour ses avantages et vertus pour la santé humaine, son huile et son fruit ont des propriétés antioxydantes qui préviennent plusieurs maladies. De récentes études ont démontré que même les feuilles d'oliviers ont des vertus pour leurs richesses en composés phénoliques.

8 échantillons de feuilles d'oliviers ont été le sujet d'une étude sur l'influence de la variété sur les concentrations de composés phénoliques. Cela par une extraction et une lecture au spectrophotomètre. Les résultats statistiques du taux de phénols totaux, ortho diphénols, flavonoïdes, pigments chlorophylliens, ont été obtenus par le test ANOVA ($p\text{-value} < 0.05$) ont été hautement significatifs, ce qui nous a confirmé que le facteur variétal influence effectivement sur les composés phénoliques des feuilles d'olivier.

Abstract

The olive tree in Algeria is very diversified, given the different reliefs and the diversity of the climate. The dominant variety in the center is Chemlal with 55% of the entire olive growing area of the country, and Sigoise is dominant in the west.

The olive tree is known for its benefits and virtues for human health, its oil and fruit have antioxidant properties that prevent several diseases. Recent studies have shown that even the leaves of olive trees have virtues for their richness in phenolic compounds.

8 samples of olive leaves were the subject of a study on the influence of the variety on the concentrations of phenolic compounds. This was done by extraction and spectrophotometer reading. The statistical results of total phenols, ortho diphenols, flavonoids, chlorophyll pigments, were obtained by ANOVA test ($p\text{-value} < 0.05$) were highly significant, which confirmed that the varietal factor does influence the phenolic compounds of olive leaves.

Sommaire

Introduction.....	1
Synthèse bibliographique	2
Chapitre I : l'olivier.....	2
I.1.Description botanique de l'olivier :.....	2
I.2.Systématique :.....	2
I.3.Diversité du verger oléicole en Algérie	3
I.3.1. présentation des variétés.....	4
I.4.Production oléicole	6
I.4.1.huile d'olive	6
I.4.1.1. Composition chimique	6
I.4.1.2. Les phénols dans l'huile d'olives	7
I.4.1.3. les effets nutritionnels et thérapeutiques.....	7
I.4.2. les olives	9
I.4.2.1. Définition et structure du fruit de l'olive	9
I.4.3. Les produits de l'olivier	10
I.4.3.1. Les grignons.....	10
I.4.3.2. les margines.....	10
I.4.3.3. Les Feuilles et brandilles	11
Chapitre II. Étude des Feuilles d'olivier	12
II.1. Description.....	12
II.2. La composition chimique.....	12
II.3. Utilisation des feuilles d'olivier	14
II.3.1. Pour la santé humaine	15
II.3.1.1. Effet antiallergique.....	15
II.3.1.2. Effet anti-inflammatoire.....	15
II.3.1.3. Effet anticancéreux	16
Chapitre III. Les composés phénoliques	17
III.1. Définition	17
III.2.Classification des polyphénols.....	17
III.2.1. Polyphénols simples	18
III.2.1.1. Acides phénoliques.....	18
III.2.1.2. Flavonoïdes	19
III.2.1.3. Alcools phénoliques	21

III.2.2. Polyphénols complexes (tanins)	22
III.3. Effet thérapeutique et antioxydant	22
III.3.1. Dans l'agronomie	23
III.3.2. Dans l'agroalimentaire.....	23
III.3.3. Dans la santé humaine	23
III.4. Activité antioxydante.....	24
III.5. Les composés phénoliques dans les feuilles d'olivier	24
III.5.1. Les conditions qui influencent sur la composition phénoliques des feuilles	26
III.5.2. Importance des composés phénoliques dans les feuilles	26
Partie expérimentale	28
I. Matériel et méthodes	28
I.1. Matériels	28
I.1.1 Matériel végétal.....	28
I.2. Préparation du matériel végétal	28
I.2.1 Séchage	28
I.2.2 Broyage et tamisage	28
I.3. Extraction et dosage des composés phénoliques	29
I.3.1. Extraction.....	29
I.3.2. Dosage et composés phénoliques	29
I.3.2.1. Phénols totaux	29
I.3.2.2. Ortho diphénols.....	31
I.3.2.3. Flavonoïdes	33
I.3.3. Dosage des Chlorophylles	34
Analyse statistiques :	34
II. Résultats et discussion	35
I. Interprétation des résultats :.....	35
I.1. Les phénols totaux.....	35
I.2. Flavonoïdes.....	36
I.3. Ortho diphénols.....	38
I.4. Pigments chlorophylliens	39
I.4.1. Chlorophylles a	39
I.4.2. Chlorophylles b	40
I.4.3. Chlorophylles totaux	42
Conclusion.....	45

Références bibliographiques :	47
ANNEXES	54

Introduction

L'olivier (*Olea europea* L.) est l'arbre caractéristique du bassin méditerranéen. Il a une grande importance nutritionnelle, sociale et économique pour les peuples de cette région, où il est largement distribué KAFOTOS, 1995. Ainsi, la culture de l'olivier est une composante majeure de l'économie agricole de certains pays. D'après FAO (2012), 95 % de la production mondiale de l'olivier est issue des pays méditerranéens, en outre, l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Turquie sont les quatre premiers pays producteurs de l'olivier, ils représentent à eux seuls près de 80 % de la production mondiale.

En Algérie, la culture de l'olivier constitue une composante importante du processus du développement durable Sahli et Mekersi, 2005. L'Etat algérien a mis en place un Plan National Oléicole PNO en 2000. Ce plan avait comme objectifs, l'extension de la superficie des oliveraies à 500 000 ha, à l'horizon 2010 ; la valorisation de la production ; répondre aux exigences et aux normes internationales pour la promotion de la qualité des produits de l'olivier et l'amélioration de l'organisation professionnelle Argenson, 2008.

L'olivier est consommé pour son fruit « l'olive de table » ou son huile à plusieurs vertus. Des recherches ont montré que mêmes les sous produits de l'olivier sont bénéfique pour la santé ; et parmi ses produits on retrouve les feuilles de l'olivier qui contiennent des substances intéressantes.

Les sous-produits d'olivier (margines, grignons, feuilles et brandilles) devront être considérer comme une richesse qu'on doit l'utiliser, La valorisation de ces résidus est devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole.

Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques, notamment l'oleuropéine. Ces composés possèdent, entre autres, des pouvoirs antioxydant, anticancéreux, antimicrobien qui les rendent très importants dans les domaines de la santé et l'industrie agroalimentaire. Aouidi, 2012

C'est dans ce contexte que s'ensuit notre travail, dans le but d'évaluer les composés phénoliques (phénols totaux, ortho-diphénols et flavonoïdes), les pigments et l'activité antioxydant des feuilles d'olivier de différentes variétés Algériennes.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : l'olivier

I.1.Description botanique de l'olivier :

L'olivier est un arbre au tronc tortueux et à écorce crevassée, qui peut être plusieurs fois centenaire. Les feuilles sont persistantes, petites et résistantes, grisâtres sur leur face supérieure et blanchâtres sur la face inférieure (figure 1). Les petites fleurs blanchâtres donnent des drupes à noyau dur. Loussert et *al.*, 1978.



Figure 1 un tronc d'arbre d'olivier *Olea europaea*

I.2.Systématique :

La classification de l'olivier est représentée comme suit selon Conquist 1981:

Règne : Plantae.
Sous-règne : Tracheobionta
Division : Magnoliophyta.
Classe : Magnoliopsida.
Sous-classe : Asteridae
Ordre : Scrophulariales.
Famille : Oleaceae.
Genre : *Olea*.
Espèce : *Olea europaea* L

Sous-espèces: -ssp *europaea* var *europaea* (variété cultivé), olivier domestique

-ssp *europaea* var *sylvestris* oléastre, ou olivier sauvage. Il existe cependant cinq autres sous-espèces : *Olea e.laperrinei*, *Olea e.cerasiformis*, *Olea e.guanchica*, *Olea e.maroccana*, et *Olea e.cuspidata*

La famille des Oleaceae

L'olivier appartient à la famille largement distribuée des Oleaceae qui comprend 25 genres et plus de 500 espèces. C'est une famille très distincte, surtout caractérisée par ses fleurs régulières, souvent de parfum agréable, qui a une corolle gamopétale à 4 lobes. . CASTIGLIONE, 1993. *Olea europaea* Linné est l'unique espèce méditerranéenne représentative du genre *Olea*. Certaines classifications distinguent deux sous-espèces:

- l'olivier cultivé: *Olea europaea* L variété *sativa*

Il est constitué par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage.

- L'olivier sauvage, encore appelé oléastre : *Olea europaea* L variété *silvestris*

L'oléastre se différencie de l'olivier cultivé par ces caractères: c'est un arbrisseau, il possède des rameaux épineux et quadrangulaires, ses fruits sont petits et nombreux et son huile est peu abondante. BOTTANI, 1994

I.3.Diversité du verger oléicole en Algérie

L'arboriculture fruitière est très diversifiée en Algérie. Elle est constituée de l'olivier, du figuier, de la vigne et des agrumes, qui sont économiquement très rentable. Issolah, 2008. La culture de l'olivier revêt une importance non négligeable pour l'Algérie et surtout la région de Kabylie. Le verger oléicole représente 168.080 ha, soit 2,24% de SAU (surface agricole utilisée) et plus de 34,09% du verger arboricole national Abdelguerfi, 2002. Le verger oléicole national se compose de 83% d'oliviers à huile dont 60% sont concentré au centre-nord du pays Brenes et al., 2000.

Chaux 1952 et Hauville 1953 ont décrits les principales variétés cultivées en Algérie dont le nombre dépasserait les 150, et cela entre les variétés locales (tableau2) et les variétés d'introduction.

En Kabylie, les vergers se caractérisent par une densité irrégulière (espacée ou très rapprochée) et sont conduits en sec majoritairement Sekour, 2012.

Les moyens de production font appel à des technologies légères, car le relief accidenté ne permet pas l'implantation d'infrastructures lourdes. Le relief et le milieu physique, et les conditions économiques faibles de cette région. Sont les facteurs qui entravent le développement de cette culture.

Fonctionnant sur le modèle de l'agriculture familiale, les grands travaux tels que retourner la terre, tailler les arbres ou encore grimper sur les arbres pour la cueillette des olives, sont effectués par les hommes. LAMANI, 2006.

Les oliveraies se trouvant dans les régions ouest, tel que les zones de Sig, Mohammedia et Tlemcen qui sont plantées en ligne et qui sont toutes irriguées ILBERT, 2005. Les rendements moyens sont d'environ 2200 kg d'olives/hectare pour les oliviers à huile. Les rendements moyens des olives de table sont d'environ 1160 kg d'olives/hectare. ITAF, 2008.

Les statistiques données par le tableau 1 révèlent une évolution de 6,1 et de 1,3 de la superficie récoltée et de la production des olives entre 2015 et 2017 en Algérie.

Tableau 1 Evolution de la production des olives en Algérie (FAO stat 2019)

	2015	2016	2017	Part (%) 2017
Superficie récoltée (Ha)	406 571	424 028	432 961	4.01
Rendement (Q/Ha)	16 079	16 424	15 809	/
Production (tonnes)	653 725	696 436	648 461	3.28

I.3.1. présentation des variétés

Les Variétés d'Olivier en Algérie sont présentées dans le tableau 2, Montre Qu'il y a des variétés à double aptitude (À l'huile et d'olive de table). a Bejaïa il ya les variétés à double aptitude comme *Aberkane*, *Bouchouk*, *Agraraz* et la variété la plus connue c'est *Azeradj* Qui occupe 10 % de la surface oléicole. Les variétés à l'huile comme *Boughounfous*, *Tabelout*, *Tkesrit* et *Limli* occupent 8 % de la surface oléicole.

En Kabylie il y a la variété à huile *Chemlal* qui est la plus répandue elle occupe 40% de la surface oléicole. À Mascara il y a la variété à double aptitude *la Sigoise* qui prend 25% de la surface oléicole. Nous trouvons aussi d'autres variétés à l'huile à Khenchla (Souidi et Mekki), et à Mitidja (Rougette).

Tableau 2 : caractéristiques des variétés Algérienne (anonyme 1998)

Variétés	Arbre			Feuille			Origine	oléicole	Surface	utilisation
	Vigueur	port	Densité du Feuillage	Forme	Longueur	Largeur				
<i>Aberkane</i>	moyenne	dressé	Moyen	Lancéolé	Longue	Moyenne	Akbou	-		Double aptitude
<i>Azeradj</i>	Faible	Etalé	Compacte	Elliptique lancéolé	Moyen	Moyenne	Bejaïa (Seddouk)	10%		Double aptitude
<i>Bouchouk Soummam</i>	Moyenne	Etalé	Moyenne	Lancéolé	Longue	Moyenne	Bejaïa (Sidi-Aich)	-		Double aptitude
<i>Chemlal</i>	Forte	Dressé	Moyenne	Elliptique lancéolé	Moyenne	Moyenne	Kabylie	40%		huile
<i>Agraraz</i>	Faible	Etalé	Moyenne	Elliptique lancéolé	Moyenne	Moyenne	Bejaïa	-		Double aptitude
<i>Boughenfous</i>	Moyenne	Etalé	moyenne	Elliptique lancéolée	Moyenne	Moyenne	Bouandas	-		Huile
<i>Tabelout</i>	Forte	Etalé	Moyenne	Elliptique Lancéolé	Moyenne	Moyenne	montagne (Bejaïa)	-		Huile
<i>Limli</i>	Moyenne	Etalé	Moyenne	Elliptique lancéolé	Moyenne	Moyenne	Sidi-Aich (Bejaia)	8%		Huile
<i>Sigoise</i>	Moyenne	Dressé	Moyenne	Elliptique lancéolé	Moyenne	Longue	Mascara (Sig)	25%		Double aptitude
<i>Souidi</i>	Moyenne	Dressé	Lâche	Lancéolé	Moyenne	Moyenne	Khenchla	-		Huile
<i>Takesrit</i>	Moyenne	Etalé	Moyenne	Elliptique lancéolé	Moyenne	Moyenne	Bejaïa	-		Huile
<i>Rougette</i>	Moyenne	Etalé	Moyenne	Elliptique lancéolé	Moyenne	Moyenne	Mitidja	-		Huile
<i>Mekki</i>	Moyenne	Etalé	Moyenne	Elliptique	Moyenne	Moyenne	Khenchla	-		huile

I.4. Production oléicole

I.4.1. huile d'olive

Selon le conseil oléicole international, l'huile d'olive est une huile provenant uniquement du fruit d'olivier (*Olea Europeaa L*) contrairement aux huiles obtenues par des solvants ou des procédés de réestérification.

L'huile d'olive contient des composés « exclusifs » qu'aucune autre huile végétale ne contient, le profil des acides gras de l'huile d'olive, avec prépondérance de l'acide oléique, la rend également particulière parmi les huiles d'origine végétale.

I.4.1.1. Composition chimique

L'huile d'olive est constituée d'une part lipidique prédominante, comprenant les triglycérides et les acides gras libres. Une petite fraction non glycéridique et des composés hydrophiles dans une moindre proportion (Mariani et Fedeli, 1993; Berra, 1998). Les constituants de l'huile d'olive sont souvent classés en deux catégories :

la fraction saponifiable constituée d'acides gras et de leurs dérivés, et la fraction insaponifiable qui comprend les stérols, les alcools aliphatiques, les pigments, les hydrocarbures, les composés aromatiques, les tocophérols et les composés phénoliques (Inglese, 1994; Berra, 1998; Ollivier *et al.*, 2004).

a). La Fraction saponifiable

Représente 98-99% de la composition chimique de l'huile d'olive (Naudet, 1992)
Triglycérides (96 %)- Diglycérides (2 %)- Acides gras libres (0.5%) (Zarrouk *et al.*, 1996).

b). La fraction insaponifiable

Représente 1-2% de la composition chimique de l'huile d'olive
Les Composés relatifs aux acides gras sont les Phospholipides varient entre 40-135 mg/kg les Cires 250 mg/kg approx, et les Stérides.
Les Composés non relatifs aux acides gras sont les Hydrocarbures - Squalène (8000 mg/kg) - β -Carotène, précurseur de la Vitamine A (4 mg / un kg) - Alcools gras (1500-2000 mg/kg) - Stérols. Majoritairement le b-Sitostérol (1000-2000 mg/kg) - Tocophérols, Vitamine E (50-300 mg/kg) - Pigments (40 mg/kg) - Polyphénols (50-800 mg/kg) - Composé organique volatils et aromatiques]. (Philips *et al.*, 2002).

I.4.1.2. Les phénols dans l'huile d'olives

L'huile d'olive contient une quantité appréciable de composés phénoliques. Les polyphénols passent dans l'huile lors de son extraction. Les ortho-diphénols (comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine) sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation. Ils lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant Tanouti *et al.*, 2011.

Les composés phénoliques majeurs de l'huile d'olive sont les aglycones de l'oleuropéine et de ligstroside, l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'acide élénolique, l'acide élénolique glucoside et la forme dialdehydique de l'acide élénolique liée à l'hydroxytyrosol et au tyrosol (Montedoro *et al.*, 1993; Caponio *et al.*, 1999; Medina *et al.*, 2006). L'huile d'olive contient également des acides cinnamiques (caféique, p-coumarique et sinapique,...) et des acides phénoliques simples (gallique, homovanillique, p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique et syringique,...), les flavonoides principalement : la lutéoline et l'apigénine et de faibles teneurs en lignanes à savoir : le pinorésinol, l'acetoxypinorésinol (Brenes *et al.*, 1999; Oliveras-Lopez *et al.*, 2007; Bester *et al.*, 2008).

D'après Tanouti *et al.* (2011) les polyphénols de l'huile d'olive ayant la plus forte activité antioxydante sont ceux appartenant au groupe d'ortho-diphénol principalement l'hydroxytyrosol.

I.4.1.3. les effets nutritionnels et thérapeutiques

L'huile d'olive est l'une des huiles les plus appréciées des consommateurs pour des raisons organoleptiques (riche en arômes et en saveurs), mais aussi pour des raisons de santé humaine comme agent préventif Pinelli *et al.*, 2003; Samaniego-Sanchez *et al.*, 2007.

L'huile d'olive est riche en substances antioxydantes qui sont impliqués dans la protection contre certaines maladies : maladies cardiovasculaires, certaines cancers et maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) Servili *et al.*, 2004. Ces maladies étant liées aux espèces réactives de l'oxygène impliquées dans le stress oxydant, syndrome au cours duquel les éléments pro-oxydants surpassent les capacités antioxydantes de l'organisme Pincemail *et al.*, 2002; Manach *et al.*, 2004; Hennebelle *et al.*, 2004. Il en résulte un déséquilibre entre

antioxydants et pro-oxydants en faveur de ces derniers Favier, 2003; Moffarts *et al.*, 2005; Koechlin-Ramonatxo, 2006.

L'huile d'olive de part sa richesse en acides gras monoinsaturés (l'acide oléique), contribue à l'augmentation du taux des HDL, diminue et empêche l'oxydation des LDL, en diminuant ainsi le risque d'athérosclérose et des maladies cardiovasculaires Jacotot *et al.*, 1985; Delplanque *et al.*, 1999; Visioli *et al.*, 2002. La teneur élevée en acide oléique diminue le risque des cancers du sein, des ovaires, de l'estomac et du colon Owen *et al.*, 2003; Cololmer et Menéndez, 2006 ; Baccouri *et al.*, 2008.

La vitamine E, les caroténoïdes et les composés phénoliques sont des antioxydants qui ont démontrés des effets considérables dans la prévention de certaines maladies et de vieillissement Huang *et al.*, 2008.

Selon Berra (1998) et Giuffrida *et al.* (2006), les caroténoïdes sont considérés comme agents préventifs des maladies cardiovasculaires et réduisent les risques d'apparition des cancers. La lutéine et la zéaxantine préviennent les pathologies dégénératives et la formation de la cataracte (Beltran *et al.*, 2005).

I.4.2. les olives

I.4.2.1. Définition et structure du fruit de l'olive

L'olive est le fruit de l'olivier. Il a une drupe peau lisse ovoïde et globuleuse, de taille variable. Sa couleur est selon le stade de maturité. D'abord elle est verte puis au noire a maturité (entre octobre et décembre)

-L'épicarpe : est la peau externe de l'olive recouverte de matière cireuse, imperméable a l'eau, au stade maturation, l'épicarpe passe de la couleur verte à la couleur violette puis noirâtre.

-Le mésocarpe : la chaire du fruit, il est constitué de cellules qui stockent l'huile.

-L'endocarpe : le noyau fusiforme, dur. Il représente 18 a 20% du poids du fruit. Il est constitué de la lignine (bois) et renferme la graine (DE BARRY 1999).

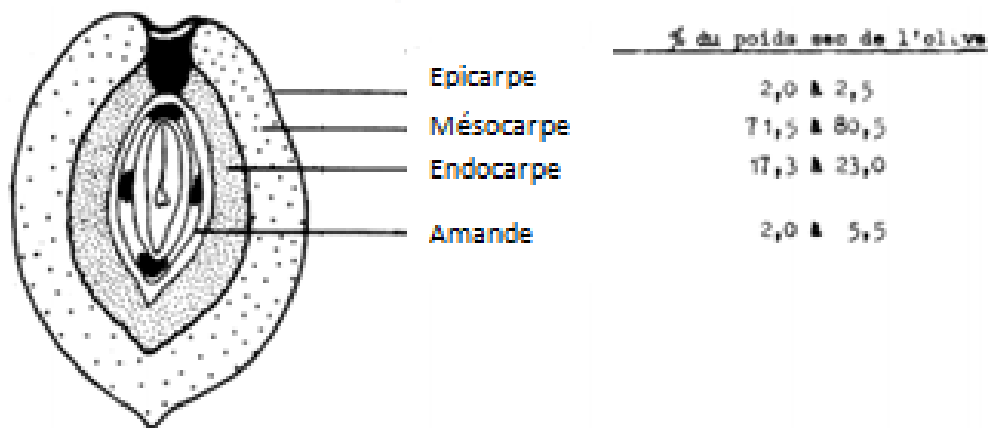


Figure 2 : section transversal d'une olive (Maymone et al 1961)

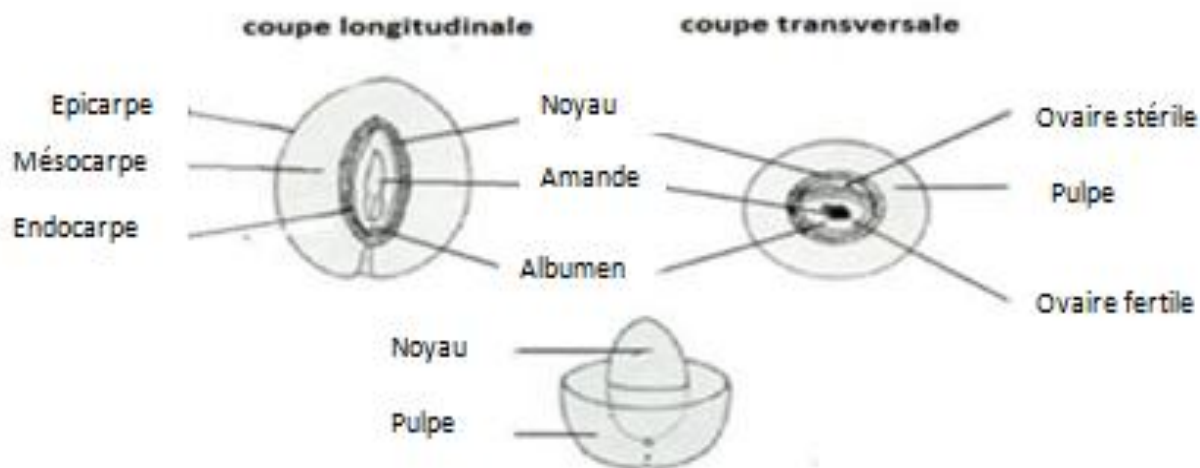


Figure 3 coupes longitudinales et transversales de l'olive (Sansoucy, 1984)

I.4.3. Les produits de l'olivier

L'industrie oléicole, en plus de sa production principale qui est l'huile. Il laisse deux résidus l'un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons) qui représentent 30 et 50 % du poids total des olives traitées. De plus, l'olivier, à travers la taille engendre d'énormes quantités de feuilles, de brindilles et du gros bois (CHOUCHENE *et al.*, 2012).

I.4.3.1. Les grignons

Les grignons sont des résidus solides issus de la première pression ou centrifugation. Ils sont formés de pulpes et de noyaux d'olives. Ce sous-produit peut être transformé en un produit destiné à l'alimentation animale ou en huile dite l'huile du grignon d'olive après extraction chimique (CHIOFALO *et al.*, 2004).

I.4.3.2. les margines

Les margines, sont des résidus liquides bruns séparés de l'huile d'olive à partir de l'eau contenue dans le fruit, et celle ajoutée au cours des étapes de trituration par sédimentation après le pressage ou par centrifugation, Elles contiennent un pourcentage d'huile résiduelle et de matières solides provenant de la pâte, qui varie en fonction de la technologie d'extraction (El Antari A., *et al* 2003).

Ces effluents constituent un important facteur de pollution dans l'aire méditerranéenne à cause de leur charge élevée et toxique en matières organiques, ainsi que leur acidité moyennement élevée (JEGUIRIMA *et al.*, 2012).

I.4.3.3. Les Feuilles et brandilles

En moyenne, les feuilles de l'olivier mesurent de 2 à 8 centimètres de long et de 0.5 à 1.5 centimètres de large (figure 4).

Ce ne sont pas les débris de la taille mais des feuilles recueillies après le lavage et le nettoyage des olives à l'entrée de l'huilerie. Leur quantité est estimée de 5 à 6 kg de matières sèches par arbre et par an (NEFZAOU, 1991) (tableau 3). Les feuilles peuvent être valorisées comme des antioxydants naturels (HERRERO et *al.*, 2011) destinés aux industries agroalimentaires et pharmaceutiques (LEE et *al.*, 2009).

Tableau 3 : quantités de bois et feuilles et rameaux obtenues en fonction du type de taille et l'âge de l'arbre (NEFZAOU, 1991).

Age de l'arbre	Types de taille	Quantité totale de bois kg/arbre	% feuilles et ramilles	Quantité de feuilles et rameaux kg/arbre
Jeune	Légère sévère	-	-	-
		30	60	18
Adulte	Légère sévère	50	50	25
		100	30	30
Vieux	Légère sévère	-	-	-
		100	12	12



Figure 4 : un olivier cultivé dans INRA de Montpellier (France)

Chapitre II. Étude des Feuilles d'olivier

II.1. Description

POLESE (2015) dit que les feuilles de l'olivier sont opposées avec un pétiole court d'une forme étroite, allongée sur les bords, coriaces et elles mesurent de 3 à 8 cm selon la variété. Elles sont persistantes (durée de vie : 3 ans), simples, entières, lancéolées ; coriaces ; vert foncé dessus (cuticule importante), argentées dessous (nombreux poils pour limiter la déperdition d'eau) (AILLAUD, 1985).

Les feuilles peuvent en effet subir diverses modifications leur permettant de s'adapter à des situations environnementales particulière, et cela grâce aux trichomes qui contribue à réduire la transpiration ; en diminuant la turbulence de l'air à la surface de la feuille (RUBY., 1918).



Figure 5 : feuilles d'olivier cultivé RUBY., 1918

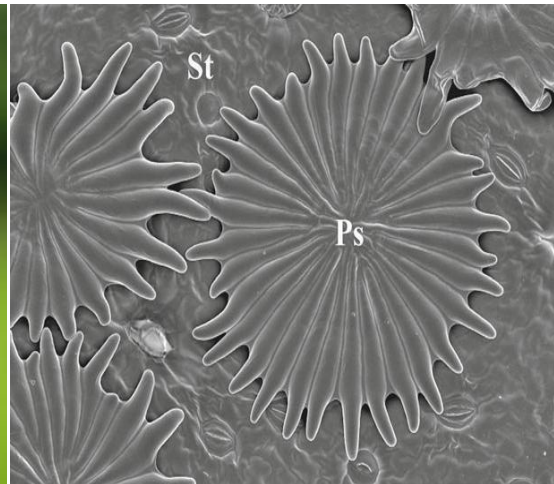


Figure 6 : observations au microscope électronique de feuilles du cultivar (cv. Leccino), Surface inférieure. Les trichomes

II.2. La composition chimique

Les feuilles fraîches d'olivier sont caractérisées par une matière sèche aux alentours de 50%. La composition chimique des feuilles d'oliviers varie en fonction de nombreux facteurs ; qui sont la variété, les conditions climatiques, l'époque de prélèvement et l'âge des plantations (Manallah.,2012 ; Meftah ., al.,2014) . Le (tableau4) montre la composition chimique globale des feuilles d'oliviers. La matière organique est constituée par des protéines,

des lipides, des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tel que la cellulose et l'hémicellulose). Elles contiennent également divers acides aminés, malgré leur faible teneur en protéines (tableau 5).

La composition en minéraux des feuilles d'olivier est présentée dans le Tableau 6. Le minéraux le plus abondant dans les feuilles est le fer avec une concentration de 273 g/ Kg de matière sèche.

Tableau 4 composition chimique globale des feuilles d'oliviers (Boudhrioua et al., 2009)

Composition chimique	Concentration (%)
Matière sèche	50 – 55 %
Eau	46 - 47 %
Protéines	5.0 – 7.6 %
Lipides	1.0 – 1.3%
Minéraux	2.8 – 4.4%
Carbohydres	37.1 %
Fibres brutes	18,0 %
Celluloses	11,4%
Hémicellulose	18 – 20%
Lignine	14,2
Polyphénols totaux	1,3-2,3
Tannins solubles	0,3
Tannins condensés	1,0

Tableau 5 composition en acides aminés des feuilles d'oliviers fraîches (MARTINGARCIA et MOLINA-ALCOIDE. 2008).

Acides aminés	Concentration (g par Kg d'azote total)
Acide aspartique	27.5
Acide glutamique	35.1
Sérine	44.5
Glycine	79.6
Arginine	25.4
Thréonine	162.0
Alanine	46.8
Proline	73.8
Tyrosine	84.2
Valine	32.3
Méthionine	74.8
Cystéine	5.3
Isoleucine	1.6
Leucine	104
Phénylalanine	51.8
Lysine	19.1
Acides aminés essentiel	547
Acides aminés non essentiel	379
acides amines totaux (sans tryptophane)	926

Tableau 6 composition en minéraux des feuilles d'oliviers (FEGEROS, 1995)

Minéraux	Concentration (g par Kg de matière sèche)
Calcium (Ca)	12.7
Phosphore (P)	2.1
Magnésium (Mg)	1.9
Potassium (K)	6.3
Fer (Fe)	273.8
Cuivre (Cu)	10.7
Zinc (Zn)	21.3
Magnésium (Mn)	50.0

II.3. Utilisation des feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine. Elles sont riches en composés phénoliques, notamment l'oleuropéine. Ces composés possèdent des pouvoirs antioxydant, anticancéreux, antimicrobien qui les rendent très importants pour les domaines de la santé et l'industrie agroalimentaire (BISIGNANO, 1999).

Cette biomasse est produite en grande quantité durant la récolte et la taille des oliviers (25 kg de feuilles).

II.3.1. Pour la santé humaine

Depuis l'Antiquité, les feuilles d'olivier sont utilisées en phytothérapie. Les Grecs utilisaient les feuilles pour désinfecter les plaies cutanées (BOTTANI 1994). Ils les attribuent à la vertu antiseptique et à la capacité de combattre diverses infections (GUERRAA 2001) et en raison de l'utilisation généralisée des antibiotiques, ces utilisations ont été abandonnées pendant un certain temps. Cependant, les professionnels de la santé modernes ont commencé à utiliser l'extrait de feuille d'olivier. Ainsi en 1995, il a été démontré que les feuilles d'olivier ont de nombreuses propriétés curatives pour de nombreuses maladies et sont bénéfiques pour le maintien de la santé globale (García-Ruiz et *al.*, 2008 ; Kempf et Zeitouni., 2009).

II.3.1.1. Effet antiallergique

Ces effets sont attribués à l'influence des polyphénols des feuilles sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et l'ATPase Ca^{2+} -dépendante, responsable de la libération de l'histamine à partir des Mastocytes et des basophiles (Di Carlo et *al.*, 1999).

II.3.1.2. Effet anti-inflammatoire

Landolfi et son groupe ont montré que certains flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes (Jürgen et *al.*, 2009).

L'administration d'un volume de 2mL de tisane, préparée à partir de 50 g de feuille, à des rats rendus diabétiques par une dose de 150mg/kg d'alloxane a provoqué une diminution très hautement significative ($P < 0.0005$) de la glycémie et des variations non significative ($p > 0.05$) de cholestérolémie et de triglycérides (Karim Arab, et *al.*, 2013).

Les radicaux libres ne causent pas de dommages sévères grâce à la protection offerte par les antioxydants, ce qui permet de maintenir un équilibre jusqu'à un certain point. Si la balance est gâchée, cependant, le stress oxydatif de produit, entraînant une détérioration des fonctions cellulaires normales et même de la mort cellulaire (Obdulio.,et *al* 2000).

Les antioxydants naturels dans les feuilles d'olivier, joue un rôle important dans la prévention contre le stress oxydatif. Les phénols ont d'innombrables propriétés biologiques. L'hydroxytyrosol inhibe l'agrégation plaquettaire et il est anti-inflammatoire. l'oleuropéine

encourage la formation d'acide nitrique, qui est un puissant vasodilatateur et exerce un fort effet anti-bactérien

II.3.1.3. Effet anticancéreux

Les dommages oxydatifs dans l'ADN peuvent causer un cancer. Il a été proposé que les polymorphismes dans ces enzymes soient associés à un endommagement de l'ADN et, par la suite, le risque individuel de susceptibilité au cancer. Ses antioxydants Présent pratiquement dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, et dans les feuilles d'olives on trouve la Catéchine a montré une activité anti-tumorale (Boudjouref *et al.*, 2013).



Figure7 : Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'oliviers pour la consommation humaine. (Benavente-Garcia et al., 2000)

Chapitre III. Les composés phénoliques

III.1. Définition

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Bruneton, 1993). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Bruneton, 1993). Contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Harbone, 1993). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig. 8), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Dubois *et al.*, 1977).

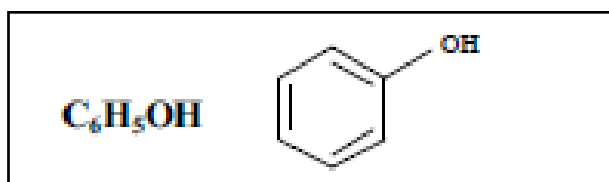


Figure 8 : Formule brute et chimique d'une fonction phénol

III.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Tableau 6). Ces molécules sont généralement trouvées conjuguées aux sucres et les acides organiques.

Tableau 7 la classification des différents composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple
C6	Phénols simples	Catéchol
C6 – C1	Acide hydrobenzoïques	p-Hydroxybenzoïque
C6 – C3	Acide hydroxycinnamiques coumarines	Acides caféique, férulique scopolétine, esculétine
C6 – C4	Naphtoquinones	Juglone
C6 – C2 – C6	Stilbènes	Resvératrol
C6 – C3 – C6	Flavonoïdes	
	• Flavonols	Kaempférole
	• Anthocyanes	Cyanidine,
	• Flavanols	catéchine
	• Flavonones	naringénine
	• Isoflavonoides	daidzéine
(C6 – C3) ₂	Lignanes	pinorésinol
(C6 – C3) _n	Lignines	
(C15) _n	Tannins	

Il existe deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes.

III.2.1. Polyphénols simples

III.2.1.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes μ les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique. (LUC G. 1996)

□ *Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6C1)*

Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais. (Havsteen, 2002) Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque les plus répandus sont illustrés dans la figure suivante :

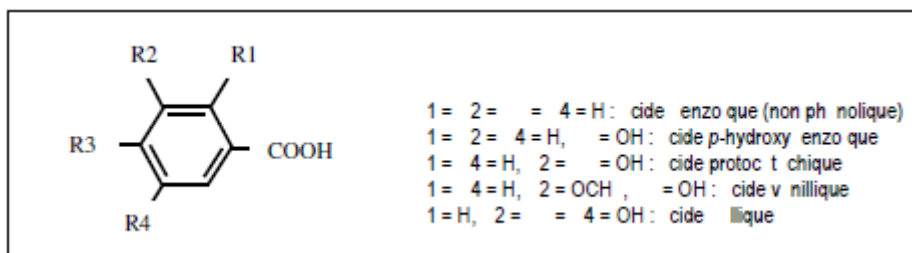


Figure 9 : structure chimique des acides hydroxybenzoïque

□ Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C₆-C₃)

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, O-arylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique. (Mukohata *et al.*, 1978)

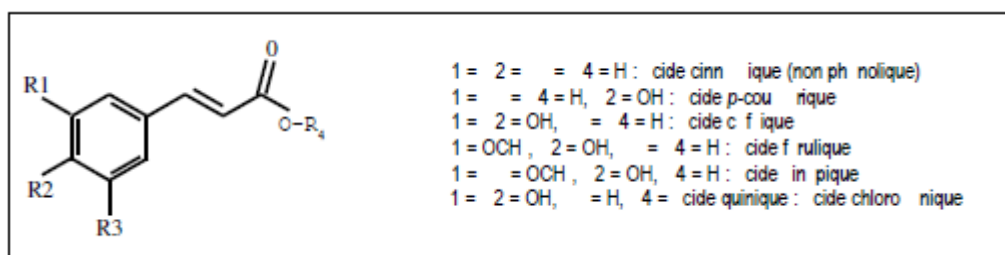


Figure 10: structure chimique des acides hydroxycinnamique

III.2.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C₆-C₃-C₆ (Fig. 11) Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes. Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...) (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006).

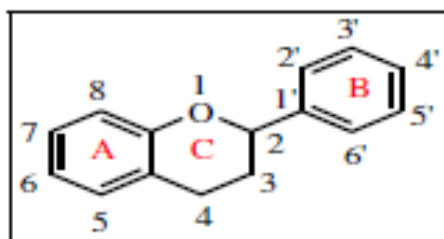


Figure 11 : Squelette de base des flavonoïdes

□ *Flavanones:*

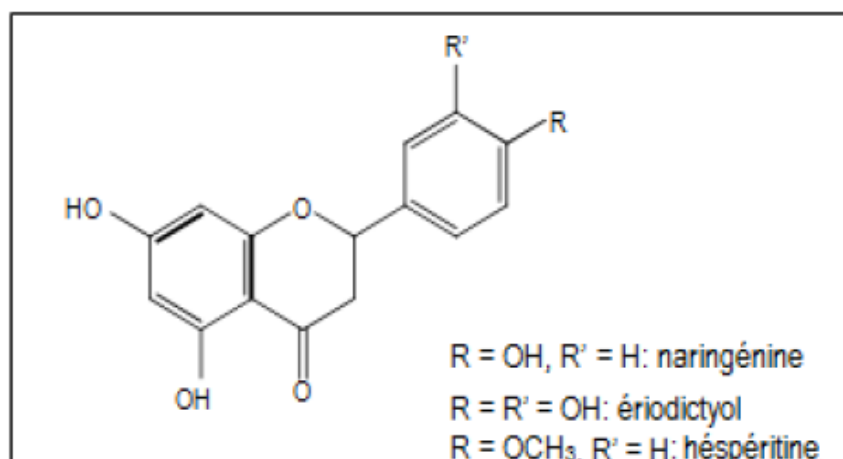


Figure12: Structure chimique des flavanones

□ *Flavonols*

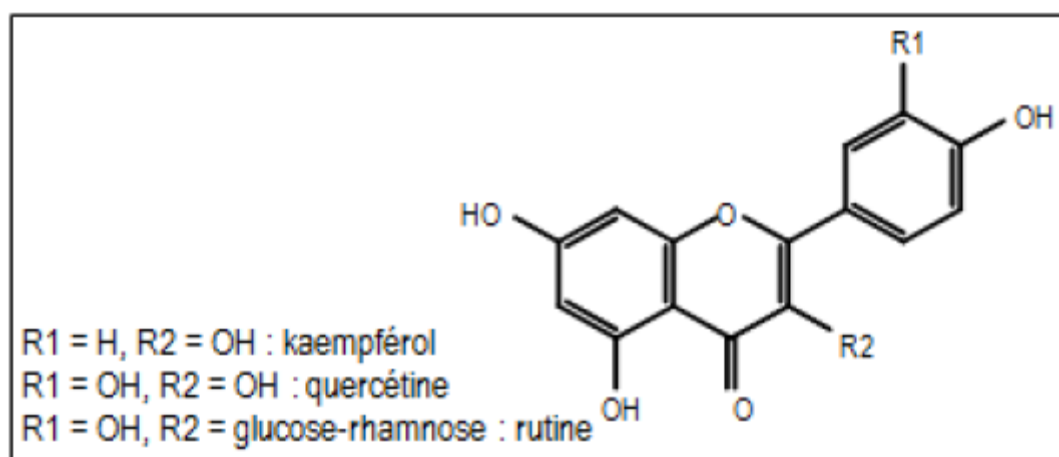


Figure13: structure chimique des flavonols

□ *Flavan-3ols*

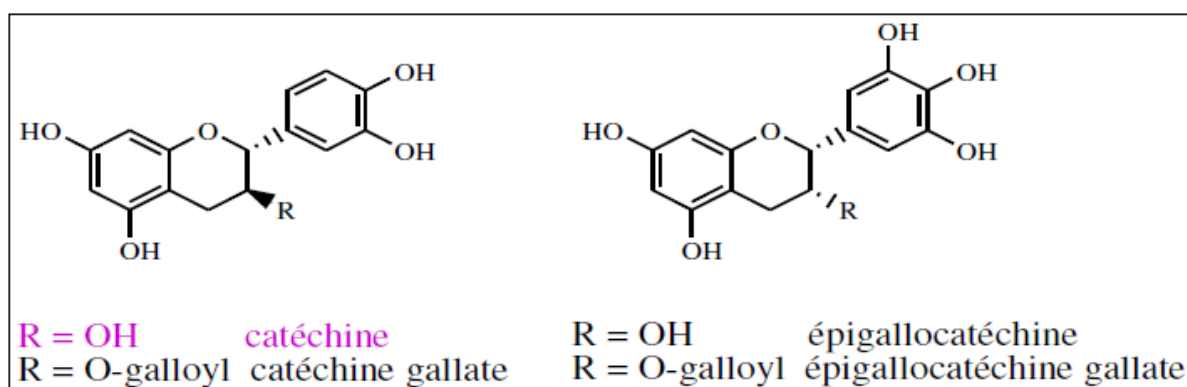


Figure 14: structure chimique des flavan-3ols

□ Anthocyanidines

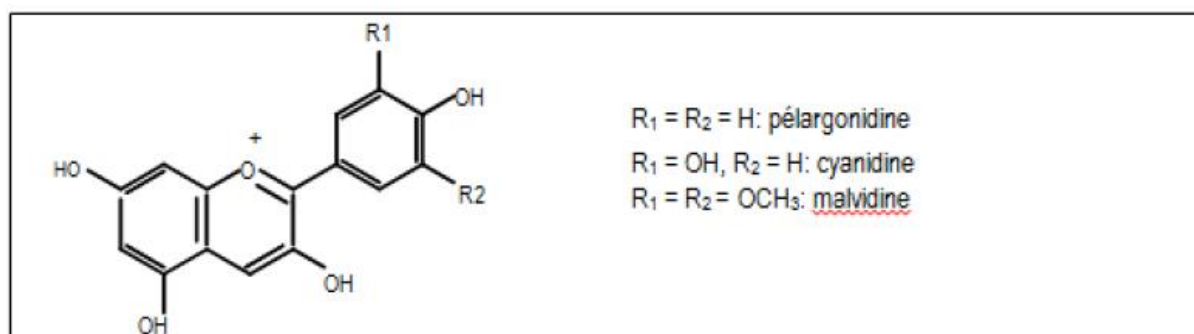


Figure 15: structure chimiques de quelques anthocyanidines courantes

III.2.1.3. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique.

Le principal alcool phénolique de l'olive (responsable de l'amertume du fruit) est l'oleuropéine (LUC G. 1996).

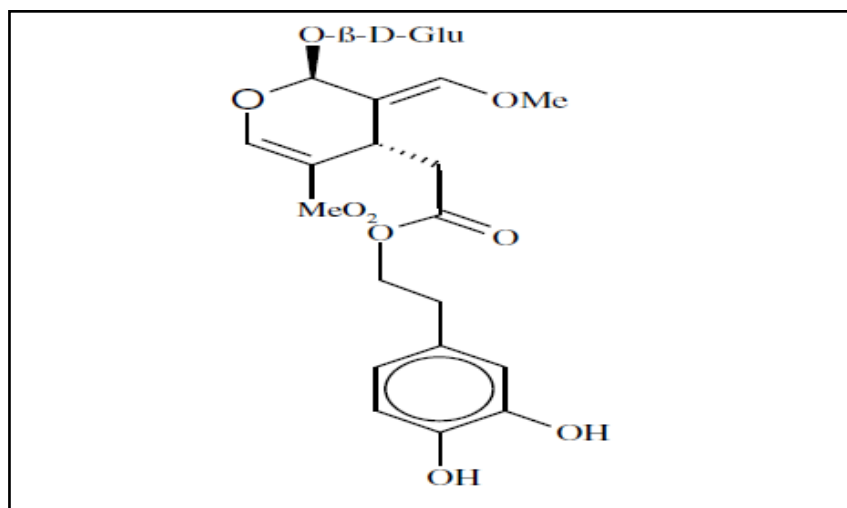


Figure16: structure chimique de l'oleuropéine

III.2.2. Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles. Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (LEGER CL. 1999).

- Tanins hydrolysables : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase). (fig17)
- Tannins condensés : les tannins condensés ou les pro-anthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6. (fig17). LUC G. Antioxydants et athérosclérose (Med et nutr, 1996).

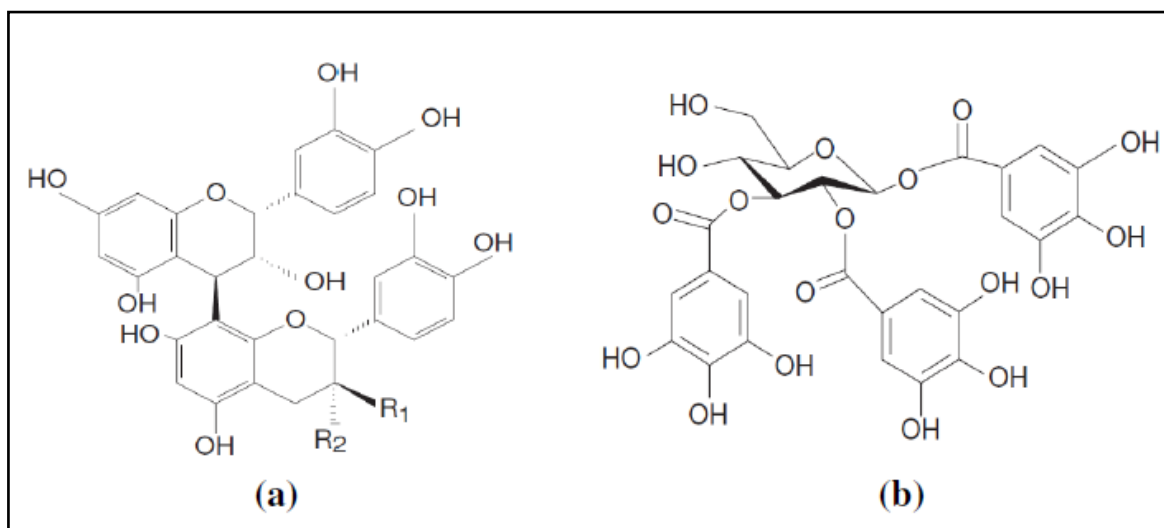


Figure17: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un Gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose)

III.3. Effet thérapeutique et antioxydant

Les composés phénoliques sont des métabolites, qui jouent un rôle important dans plusieurs secteurs, tel que :

III.3.1. Dans l'agronomie

Ils ont un rôle primordial dans la protection contre les ravageurs et dissémination des espèces.

(Servili et Montedoro, 2002), Les polyphénols ont un effet sur la coloration des fruits et légumes. En effet, ils sont essentiels à la plante notamment parce que certains d'entre-eux lui offrent de la couleur et lui permettent d'attirer les insectes (Antolovich et *al.* 2000).

III.3.2. Dans l'agroalimentaire

Les composés phénoliques sont un complexe de produits naturel, présent dans les plantes et important dans le régime alimentaire, (Manna et *al.* 1999; Servili et *al.* 2004; De la Torre-Carbot et *al.* 2005). Pour plusieurs raisons; comme leurs capacités à retarder les phénomènes d'oxydation dans les aliments au cours des procédés technologiques du transport et du stockage, et sont fréquemment utilisé pour stabiliser les graisses ; huiles et les lipides contenant dans les aliments. (Byun et *al.* 2010; Wanasundara et Shahidi, 2005).

III.3.3. Dans la santé humaine

Les effets biologiques sont plusieurs, tel que ; les antibactériens, anti-inflammatoire, antiallergiques, hépato-protecteurs, antithrombotiques, antiviraux, anticarcinogènes, cardioprotecteurs et vasodilatateurs, Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002).

Les anthocyanes sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire (vigne rouge, *Vitis vinifera* L.), mais aussi comme diurétiques, voire même antiseptiques urinaires (Hennebelle et *al.*, 2004)

Les tanins sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie (Chung et *al.*, 1998).

Les acides phénols et ces dérivés sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés (Hennebelle et *al.*, 2004).

L'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (Cowan, 1999).

Alors, l'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris *in vitro* et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer (Kawada et al., 2001 in Rangkadilok et al., 2007).

Les caroténoïdes sont également connus pour être des antioxydants, luttant contre le stress oxydatif et débarrassant l'organisme des ERO. Le lycopène aurait d'ailleurs un pouvoir antioxydant plus élevé que le bêta-carotène.

III.4. Activité antioxydante

L'oleuropéine et ses dérivés l'hydroxytyrosol et le tyrosol ont montré un pouvoir anti radicalaire important. Ils sont capables de piéger les ERO et les espèces réactives de l'azote ce qui permet la protection d'ADN contre les lésions (De la Puerta et al., 2001).

Les flavonoïdes exercent aussi leur activité antioxydante via leur groupe hydroxyle. Cette action est également due à la présence de tri-terpènes, piégeurs d'anions superoxyde et donneurs d'hydrogène (Cillard et al., 2006). En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxyde et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrice (Niki, 2010).

Mécanisme d'action des antioxydants :

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

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

III.5. Les composés phénoliques dans les feuilles d'olivier

L'intérêt pour les composés phénoliques a augmenté attention pour son étude sur les oliviers et autres parties de l'olivier. des études ont démontré ainsi l'importance des sous produits, qui contiennent d'importantes quantités en polyphénols voir même plus que l'huile elle-même ; comme les feuilles d'olivier.

Les feuilles de l'olivier, *Olea europaea*, sont riches en biophénols (BP), tels que l'oleuropéine (Ole), le verbascoside, le ligstroside, le tyrosol ou l'hydroxytyrosol.

Ces composés ont montré plusieurs activités biologiques telles que des propriétés antioxydantes, (Visioli et al., 1998; Benavente-García et al., 2000) Antithrombotiques, et même photoprotectrices de la peau (Saija and Uccella, 2001).

En outre, certains de ces composés ont démontré une activité antimicrobienne en inhibant la croissance d'une grande variété de bactéries, de champignons et de virus (Renis, 1969; Hirschman, 1972). Le principal BP de l'extrait éthanolique de feuilles d'olivier est le sécoiridoïde oleuropéine (variant de 20 à 25% (p/p) du poids sec total) (Benavente- García et al., 2000).

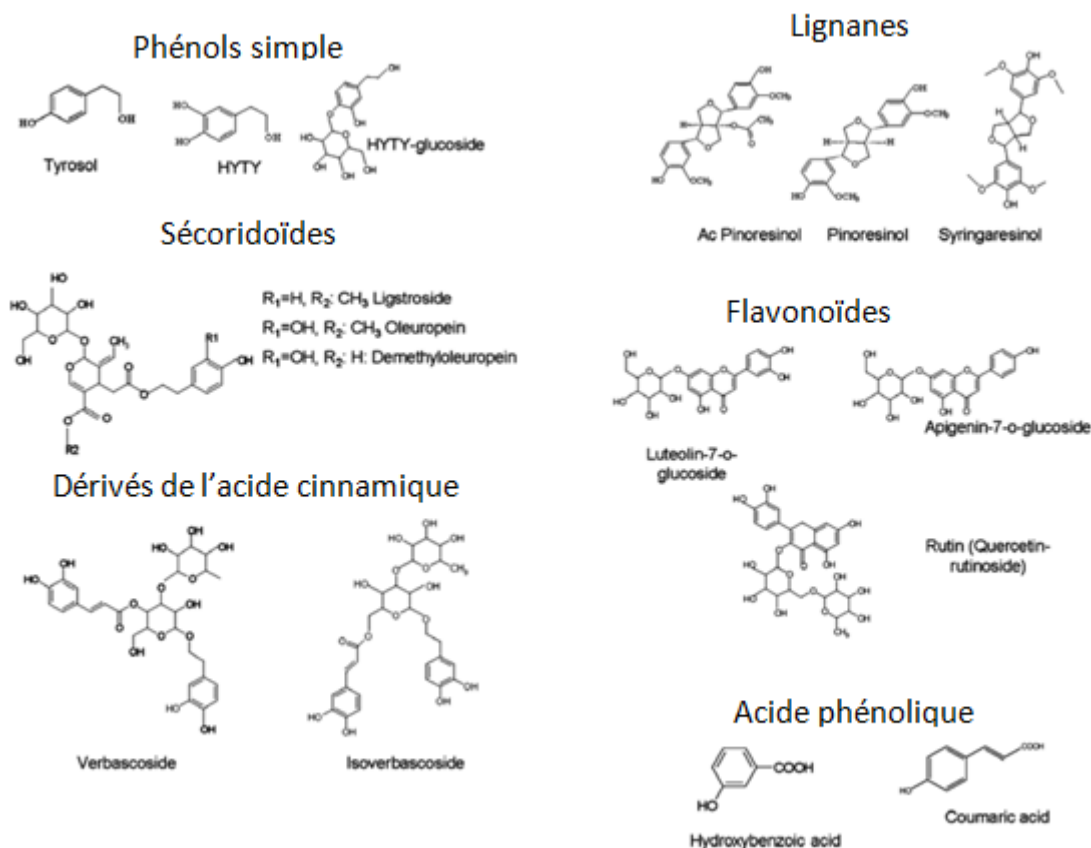


Figure18: les composés phénoliques répandus dans les feuilles d'olivier (Benavente- García et al., 2000).

Les composés phénoliques des feuilles d'olive (figure 18) sont nombreux et de nature diverse. Ils sont regroupés en fonction des principales caractéristiques moléculaires que sont les phénols simples et les acides, les lignanes, les secoiridoïdes et les flavonoïdes, y compris les flavones (lutéoline-7-glucoside, apigénine-7-glucoside, diosmetin-7-glucoside, lutéoline et diosmetin), les flavonols (rutine), le flavan-3-ols (catéchine), phénols substitués (tyrosol, hydroxytyrosol, vanilline, acide vanillique et acide caféique) et oleuropéine. L'oleuropéine, les secoiridoïdes apparentés et d'autres dérivés sont les principaux composés des feuilles d'olive dont le principal composé fréquemment signalé est l'oleuropéine. Les flavonoïdes peuvent être présents en quantités appréciables. Les phénols simples et les acides sont présents en quantités moindres.

III.5.1. Les conditions qui influencent sur la composition phénoliques des feuilles

Plusieurs facteurs peuvent influencer la composition phénolique qualitative et quantitative des feuilles d'olive, Parfois, la teneur en polyphénols varie à l'intérieur même du fruit. Parmi lesquels on peut citer la date de collecte, les conditions de séchage, la zone de culture, la procédure d'extraction et le cultivar. (L.I Somova a et al., 2002) le type d'agriculture pratiquée, l'exposition au soleil, la quantité des précipitations, le niveau de maturation à la cueillette, la transformation industrielle et le stockage influencent également la teneur en polyphénols des aliments. (Civantos L. 1983) En revanche, il est impossible de savoir quels facteurs influencent précisément le teneur en polyphénols d'un fruit ou d'un légume spécifique, tout comme il est impossible de connaître la perte exacte de chaque polyphénol à l'exposition de ces différents facteurs (Tanja Weinbrenner et al., 2004).

III.5.2.Importance des composés phénoliques dans les feuilles

Des données expérimentales obtenues à partir d'études humaines et animales démontrent que les composés phénoliques des feuilles d'Olea europaea ont des activités biologiques qui peuvent être importantes pour la réduction du risque et de la gravité de certaines maladies chroniques. Par conséquent, un profilage précis des phénoliques est une question cruciale. (Halliwell, 1997; Halliwell & Gutteridge, 1999).

Certaines industries, liées à la production d'additifs alimentaires, de cosmétiques et de produits pharmaceutiques, ont accru leurs efforts pour obtenir des composés bioactifs à partir de produits naturels par extraction et purification. Les composés antioxydants peuvent

augmenter la durée de conservation en retardant le processus de peroxydation des lipides, qui est l'une des principales raisons de la détérioration des produits alimentaires pendant le traitement et le stockage.(L.I. Somova a, et al., 2002)

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée durant le mois de juin 2021, au sein du laboratoire d'entomologie appliquée du département biologie, campus Hessnaoua2 Université Mouloud Maameri – Tizi Ouzou. La partie expérimentale se divise en deux parties :

La 1^{ère} partie : dosages des polyphénols totaux, des ortho-diphénols, des flavonoïdes, et des chlorophylles.

La 2^{ème} partie : évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des feuilles.

I.1. Matériels

I.1.1 Matériel végétal

Nôtre étude a été réalisé sur 8 échantillons de feuilles d'olivier de 8 variétés algériennes (INRA Bejaïa) ; *azeradj*, *Bouchouk*, *Chemlal*, *Agraraz*, *Thaqesrith*, *Aberkane*, *Tabelout*, *Boughounfous*.

Les échantillons ont été sécher et broyer a l'aide d'un moulin.

I.2. Préparation du matériel végétal

I.2.1 Séchage

Après la récolte, les feuilles fraîches ont été transportées au laboratoire puis nettoyées à l'eau pour enlever la poussière. Nous les avons étalé et séchés sur un filet à l'air libre (à l'abri du soleil) et à température ambiante dans un endroit sec, ventilé et ombragé. Ensuite, ces feuilles ont été séchée à 40°C dans un étuve.

I.2.2 Broyage et tamisage

Les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre de feuilles séchées dans le but d'augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant d'extraction et à faciliter l'extraction. La poudre est tamisée (taille des particules est 0,2 mm) ; puis conservé a l'obscurité dans le réfrigérateur a une température de 4°C.

I.3. Extraction et dosage des composés phénoliques

I.3.1. Extraction

Nous avons pesé 0.5g de chaque échantillon à l'aide d'une balance analytique et on met dans un tube conique de 15 ml.

Entre temps, on prépare un mélange d'éthanol-eau (70/30, v : v) on pipete 10ml du mélange éthanol-eau et on verse dans chacun des échantillons.

Nous avons mélangé pendant 30 a 60s, avant de mettre les échantillons dans un bain a ultrason (20hz) pendant 10minutes, a fin de libérer les polyphénols dans la solution.

Nous avons transférer les tubes a la centrifugation, pendant 10minutes pour séparer les autres compositions du mélange.

Nous avons pipeter la solution sans atteindre le culot, et on met dans un tube de 15ml conservé dans l'obscurité et le froid jusqu'à réutilisation.

I.3.2. Dosage et composés phénoliques

I.3.2.1. Phénols totaux

la méthode colorimétrique Folin Ciocalteu avec spectrophotométrie U-V visible

nous avons mélanger 0.5 ml d'échantillon avec 2.5 ml de réactif de Folin (diluée 10 fois), laisser 8 minutes puis rajouter 2 ml de $\text{Na}_2 \text{CO}_3$ 75g(L⁻¹) et incubé le mélange à 50° C (8min). Laisser refroidir puis passer au spectrophotomètre à 760nm. *Skerget et al.,2005*

Pour déterminer les concentrations des phénols totaux on fait une courbe d'étalonnage en prenant l'acide gallique comme référence.

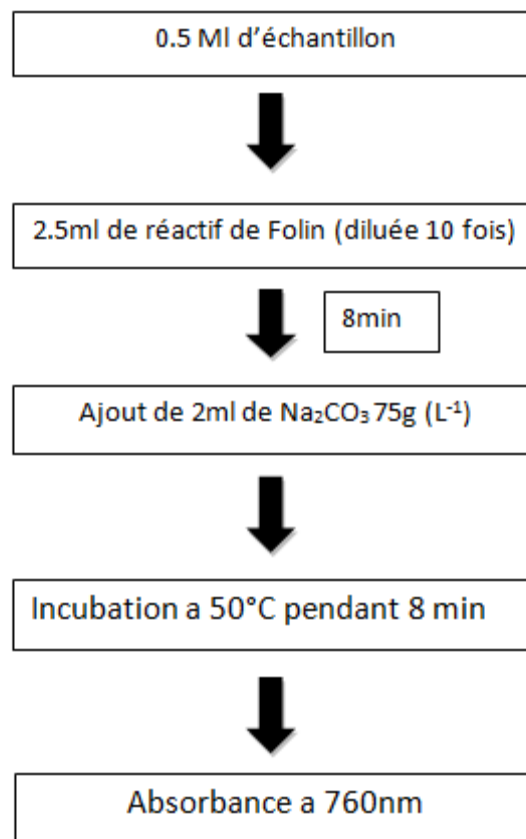


Figure 19 protocole du dosage des phénols totaux

Dosage de l'acide gallique

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations de 0 à 10 mg/l.

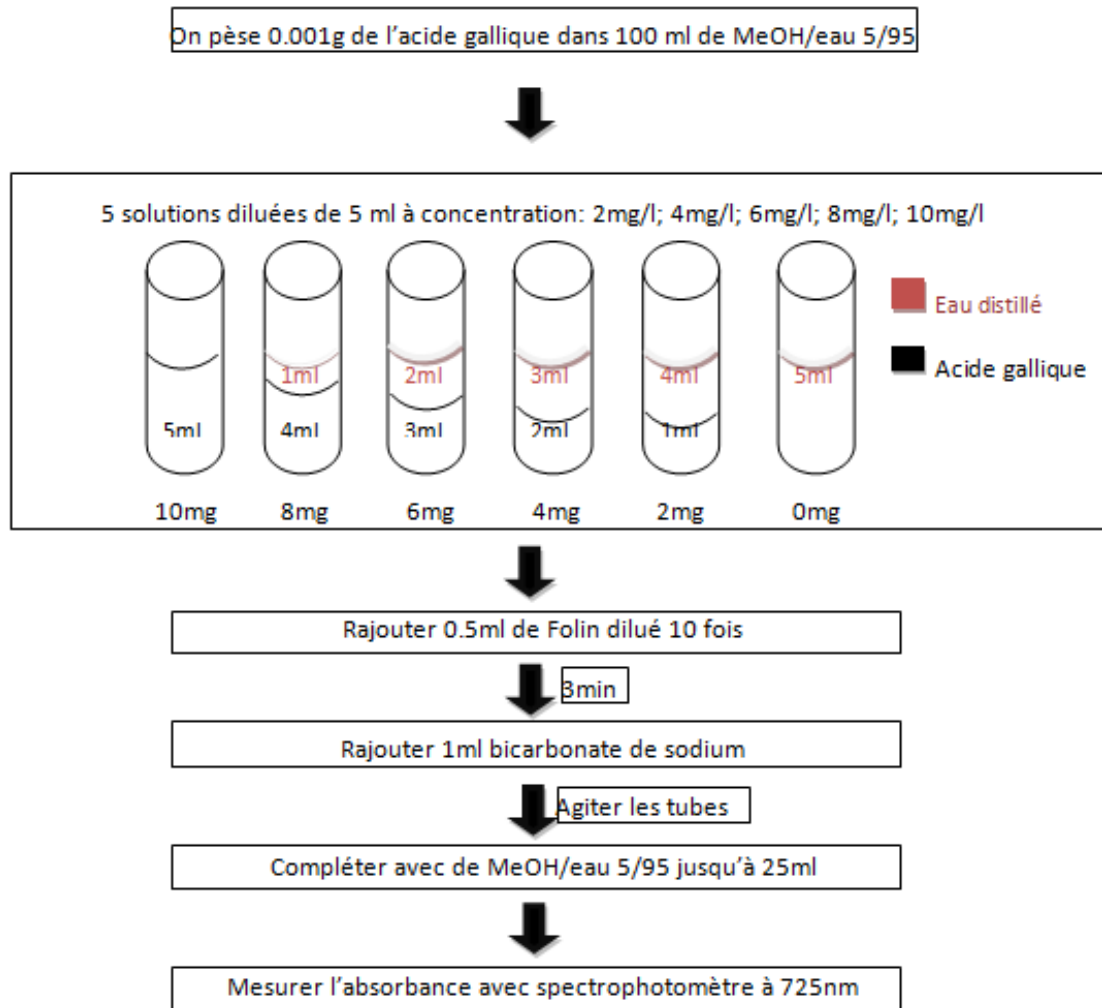


Figure20: protocole du dosage de l'acide gallique

I.3.2.2. Ortho diphénols

0.3 ml d'extrait phénolique concentrer obtenues sont dilués dans des fioles de 20 ml avec du méthanol-eau (1:1, v/v) (selon Mateos et al 2001).

Mélanger 4 ml des solutions diluées avec 1ml d'une solution de molybdate de sodium déshydraté ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 5% préparé dans de l'éthanol-eau (1:1, v/v).

Nous avons agiter vigoureusement après 15 min mesurer les absorbances à 370nm. Pour déterminer les concentrations des ortho diphénols on fait une courbe d'étalonnage en prenant le tyrosol comme référence, (Blekas et al.,2002) en suivant le protocole suivant :

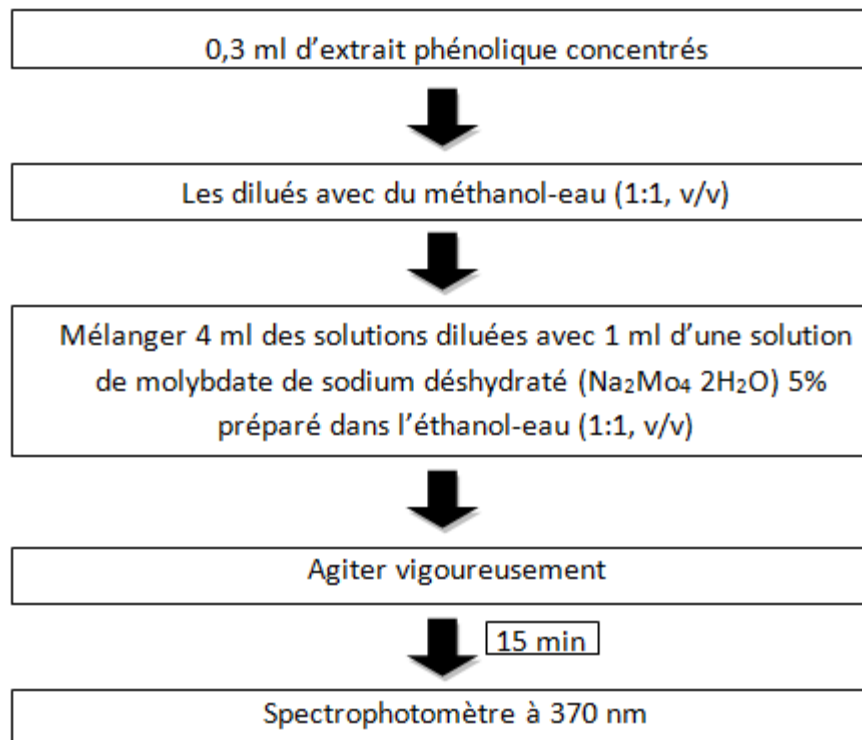


Figure21: protocole de dosage des ortho diphénols

Dosage du tyrosol

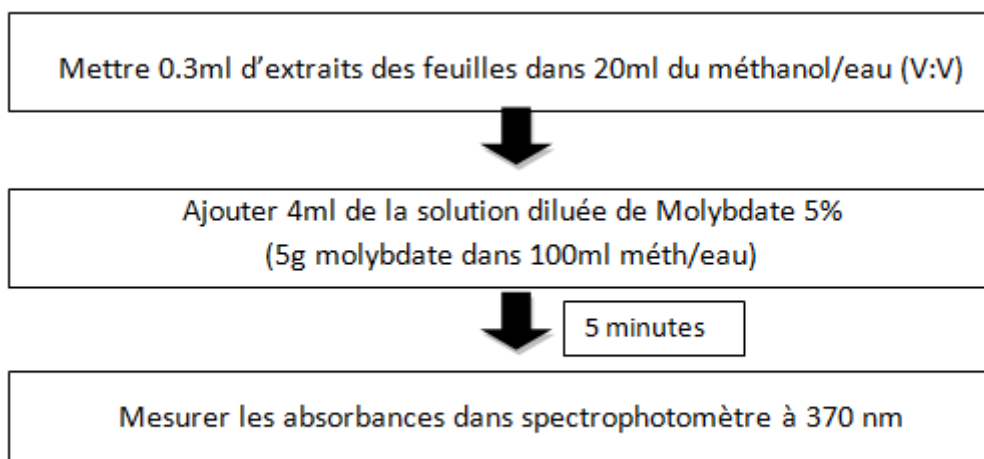


Figure22: protocole de dosage du tyrosol

I.3.2.3. Flavonoïdes

A l'aide d'une micro pipette mettre 0.125 ml d'extrait de feuilles dans un tube pour chaque variété et nous avons ajouter 1.375 ml de l'eau distillé dans chaque tube.

Préparer une solution de sodium nitrite 5% (Na_3NO_2^-) 1g/2ml puis pipeter 75 μl dans chaque tube. Et une solution d'aluminium chloride 10% (Cl Al_3) 2g dans 20 ml de l'eau distillé puis pipeter 150 μl dans chaque tube, laisser 6 minutes puis ajouter 0.5 ml de 1 M Sodium hydroxyde et 275 μl de l'eau distillé et agiter. *Dewanto et al., 2002*

Mesurer les absorbances avec spectrophotomètre à 510 nm

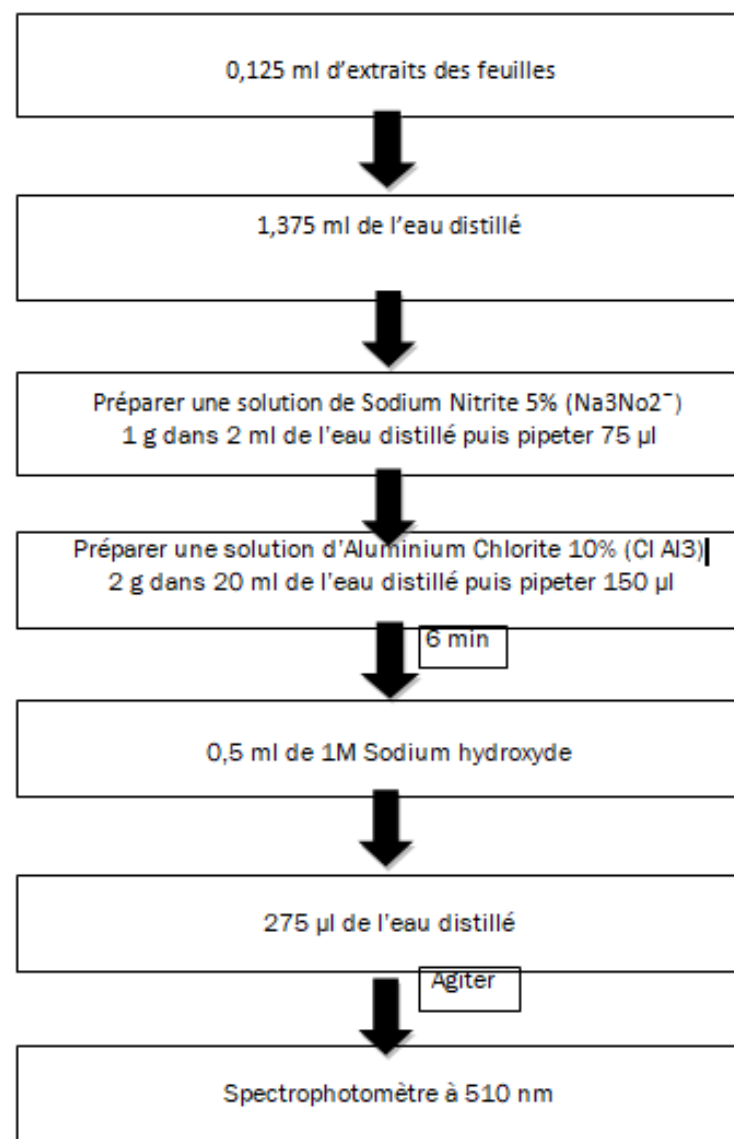


Figure23: protocole de dosage des flavonoïdes

I.3.3. Dosage des Chlorophylles

Des lectures d'absorbance de la solution (les échantillons conservés dans le froid et l'obscurité) ont été enregistrées à la longueur d'onde 660 et 642,5 nm en utilisant un spectrophotomètre UV.

Les concentrations de chlorophylle totale, de chlorophylles a et b (ppm) ont été calculées comme suit :

$$\text{Total chlorophyll} = 7.12 A_{660} + 16.8 A_{642.5} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\text{Chlorophyll a} = 9.93 A_{660} - 0.777 A_{642.5} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{Chlorophyll b} = 17.6 A_{642.5} - 2.81 A_{660} \quad (\text{Eq. 3})$$

Analyse statistiques :

Les résultats statistiques sont obtenus par le test ANOVA en utilisant le logiciel Minitab, version 2019.

Le Minitab est un logiciel qui vous aide à analyser les données. Il fournit un moyen simple et efficace d'entrer les données statistiques, de manipuler ces données, d'identifier les tendances et les modèles, puis d'extrapoler les réponses aux problèmes actuels. C'est le logiciel le plus largement utilisé par les entreprises de toutes tailles - petites, moyennes et grandes.

II. Résultats et discussion

I. Interprétation des résultats :

I.1. Les phénols totaux

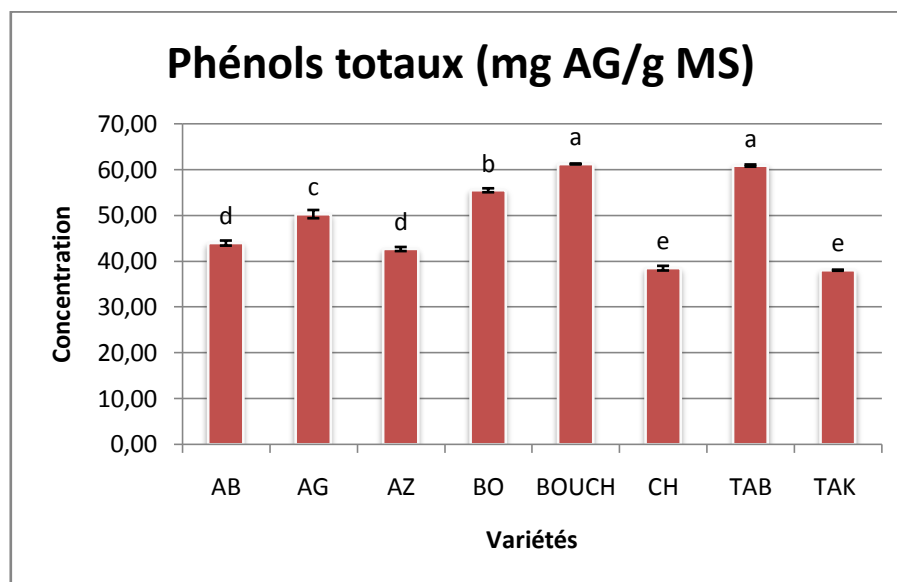


Figure 24 : taux de phénols totaux des variétés d'oliviers

ce sont les métabolites qui possèdent des capacités antioxydants importantes, ses propriétés leurs permettant d'absorber et neutraliser les radicaux libres (Ouahiba Souf., Et all. 2014).

Les valeurs obtenues sont exprimées en (mg AG/g MS) (Tableau 8) et dans l'histogramme (figure19).

Tableau 8 valeurs des phénols totaux dans les feuilles d'olivier

Phénols totaux	
Variété	mg AG/gMS
<i>Bouchouk</i>	61,2161
<i>Tabelout</i>	60,867
<i>Boughenfous</i>	55,475
<i>Agraraz</i>	50,273
<i>Aberkane</i>	43,949
<i>Azeradj</i>	42,646
<i>Chemlal</i>	38,472
<i>Takesrit</i>	38,0275

Les valeurs des phénols totaux (tableau 8) dans les variétés étudiées alternent entre 61.22ppm (la variété *Bouchouk*) et 38.03ppm (la variété *Takesrit*) ces deux valeurs montrent la différence du taux des phénols totaux qui est plus importante dans les feuilles de la variété *Bouchouk*, et moins importante chez la variété *Takesrit* (Figure 24).

D'après le test ANOVA, les résultats sont hautement significatifs, car la P-VALUE ≤ 0.01 . Et donc le taux de phénols totaux dans les feuilles d'oliviers dépend effectivement de la variété d'olivier.

La variété dominante en Algérie est *Chemlal*, elle contient 38.47ppm des phénols totaux, qui est moins importante que la variété *Bouchouk*.

I.2. Flavonoïdes

Ce sont des produits largement distribué dans le règne végétal, ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydant. (Ghedira., 2005)

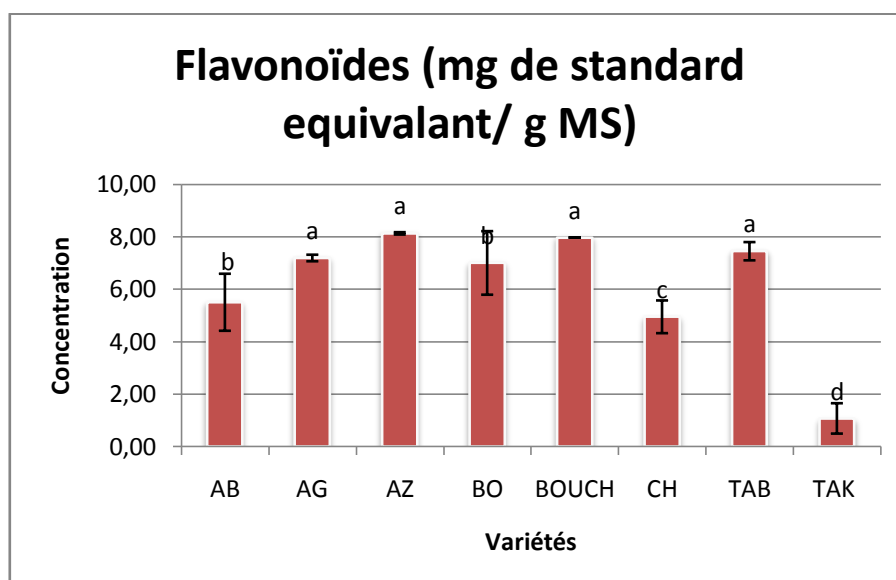


Figure 25 : concentrations des feuilles d'oliviers en flavonoïdes

Les concentrations des flavonoïdes des extraits sont exprimés en termes de mg EQ/g ES et mg EQ/g MS (tableau 9). Et classer par l'histogramme (figure 25)

Les résultats du taux de flavonoïdes des variétés étudiés (tableau 8) varient entre 1.073ppm (*Takesrit*) et 8.13ppm (*Azeradj*), la variété *Azeradj* est la plus riche en flavonoïdes, le taux est plus supérieur que la variété dominante *Chemlal* qui est de 4.95 ppm.

Tableau 9 taux de flavonoïdes dans les feuilles d'olive

Les flavonoïdes	
variétés	Moyenne
<i>Azeradj</i>	8,1349
<i>Bouchouk</i>	7,977
<i>Tabelout</i>	7,454
<i>Agraraz</i>	7,1955
<i>Boughenfous</i>	7,006
<i>Aberkane</i>	5,506
<i>Chemlal</i>	4,951
<i>Takesrit</i>	1,073

Les différents extraits des variétés sont déterminés par l'analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie par le test de Tukey pour les comparaisons multiples avec un risque d'erreur fixé à 5%

Les résultats statistiques sont hautement significatifs, car les résultats de l'analyse de variance à un facteur ANOVA ont montré que la $P\text{-value} \leq 0.01$.

I.3. Ortho diphénols

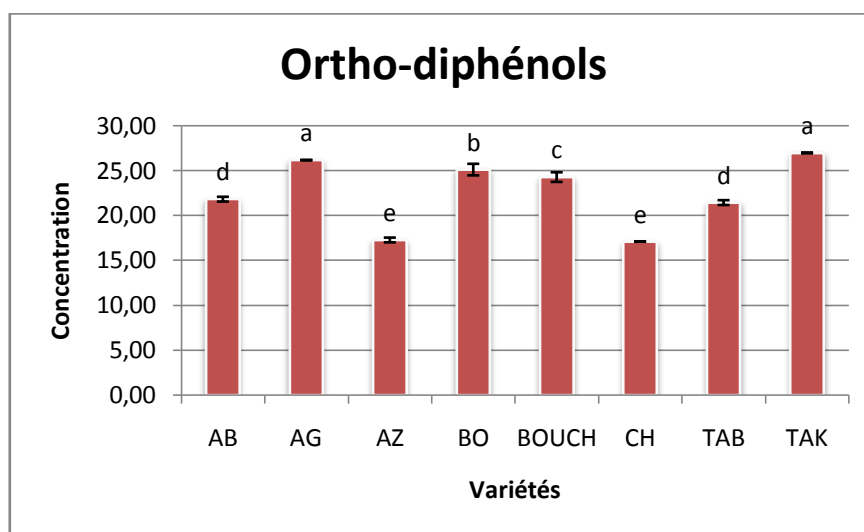


Figure 26: Taux d'ortho-diphénols des variétés d'olivier

Ce sont des composés phénoliques importants présents dans l'olive, constitués en grande partie de l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine (Brenes Balbuena et al., 1992), ils sont caractérisés par leur fonction Odihydroxyle dans le noyau catéchol, qui leur confèrent une grande capacité antioxydante (Mc Donald et al., 2001 ; Lewis, 2002)

Les différents extraits des variétés sont déterminés par l'analyse de variance à un facteur (ANOVA) sont hautement significatifs, car la P-value obtenu par l'analyse est ≥ 0.01 . Les résultats du taux d'ortho diphénols des variétés étudiés (tableau 10) varient entre 26.95ppm (*takesrit*) et 17.08 (*chemlal*) a le plus faible taux d'ortho diphénols.

La concentration des ortho diphénols sont exprimés en termes de mg EQ/g ES et mg EQ/g MS (tableau 10).

Tableau 10 taux d'ortho-diphénols dans les feuilles d'olivier

<i>Takersrit</i>	26,9542
<i>Agraraz</i>	26,16
<i>Boughenfous</i>	25,1
<i>Bouchouk</i>	24,268
<i>Aberkane</i>	21,809
<i>Tabelout</i>	21,43
<i>Azeradj</i>	17,268
<i>Chemlal</i>	17,08
Ortho diphénols	

I.4. Pigments chlorophylliens

Les chlorophylles a et b et leurs produits immédiats de dégradation, phéophytines a et b, sont des photo-sensibilisateurs. En présence de lumière, et les chlorophylles jouent un rôle important dans l'activité oxydante du produit, due à leur nature antioxydante dans l'obscurité. (Ben Tekaya, Hassouna, 2007)

I.4.1. Chlorophylles a

La concentration du t aux de chlorophylles a dans les feuilles d'olivier, sont calculer par l'équation suivante :

$$\text{Chlorophylles a} = 9.93 A_{660} - 0.777 A_{642.5}$$

Les teneurs en chlorophylles a des différentes variétés de feuilles d'olivier sont exprimés en mg EQ/g ES et mg EQ/g MS (tableau 10) les variétés sont classé en ordres (de grande a faible teneur)

Tableau 10 taux de chlorophylles a dans les feuilles d'olivier

<i>Agraraz</i>	12,851
<i>Bouchouk</i>	11,873
<i>Azeradj</i>	11,2
<i>Tabelout</i>	10,539
<i>Takesrit</i>	10,287
<i>Aberkane</i>	9,663
<i>Chemlal</i>	9,013
<i>Boughenfous</i>	7,801

Le taux de chlorophylles a varient entre 12.851 (*Agraraz*) et 7.801 (*Boughenfous*), tandis que (*Chemlal*) a une faible teneur en chlorophylles qui est de 9.013.

Le test statistiques, ANOVA a définit que les résultats des teneurs en chlorophylles a sont significatifs car la P-value < 0.01 ce qui conclut que la variété influe effectivement sur le teneur des feuilles en chlorophylles a.

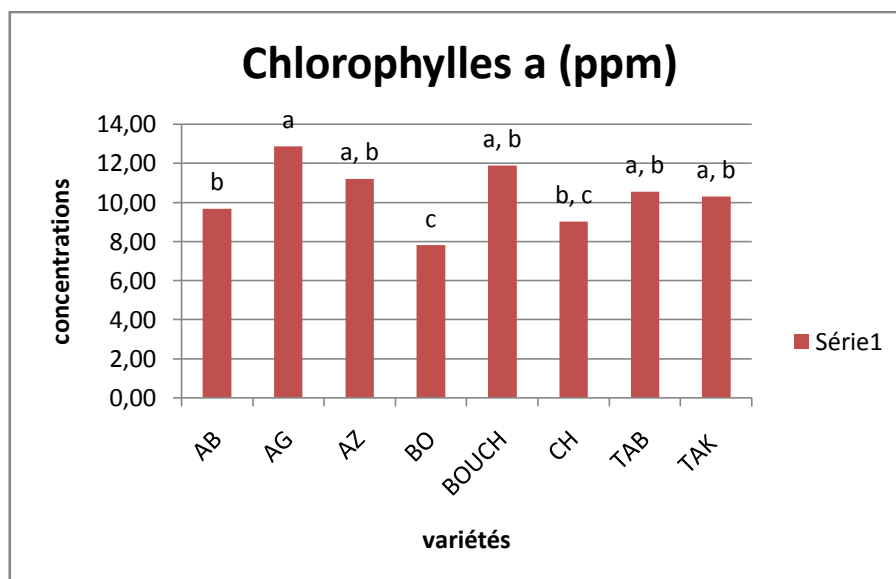


Figure 27 : Valeurs des chlorophylles a dans les feuilles d'olivier

I.4.2. Chlorophylles b

La concentration en chlorophylles b est calculer par l'équation :

$$\text{Chlorophylles b} = 17.6 A_{642.5} - 2.81 A_{660}$$

Les teneurs des feuilles d'olives en chlorophylles b, sont ordonnées dans le **tableau 11**, et exprimé dans l'histogramme (**figure 23**)

Les résultats de l'analyse statistiques montrent que la variété qui a la plus forte teneur en chlorophylles b est *Agraraz* (11.31), et la variété qui a la faible teneur est *Boughenfous* (7.108) la différence est importante. Ainsi *Chemlal* sa teneur en chlorophylles b est de 8.295 qui est très faible. en outre les résultats du test ANOVA, ont montré que les résultats sont hautement significatifs ; P-value <0.01 ont distingue donc que la teneur des feuilles d'oliviers en chlorophylles b, dépend également de la variété d'olivier

Tableau 11 teneur en chlorophylles b dans les feuilles d'olivier

<i>Agraraz</i>	11,31
<i>Bouchouk</i>	10,379
<i>Takesrit</i>	9,7591
<i>Azeradj</i>	9,414
<i>Tabelout</i>	8,932
<i>Aberkane</i>	8,89275
<i>Chemlal</i>	8,295
<i>Boughenfous</i>	7,1083

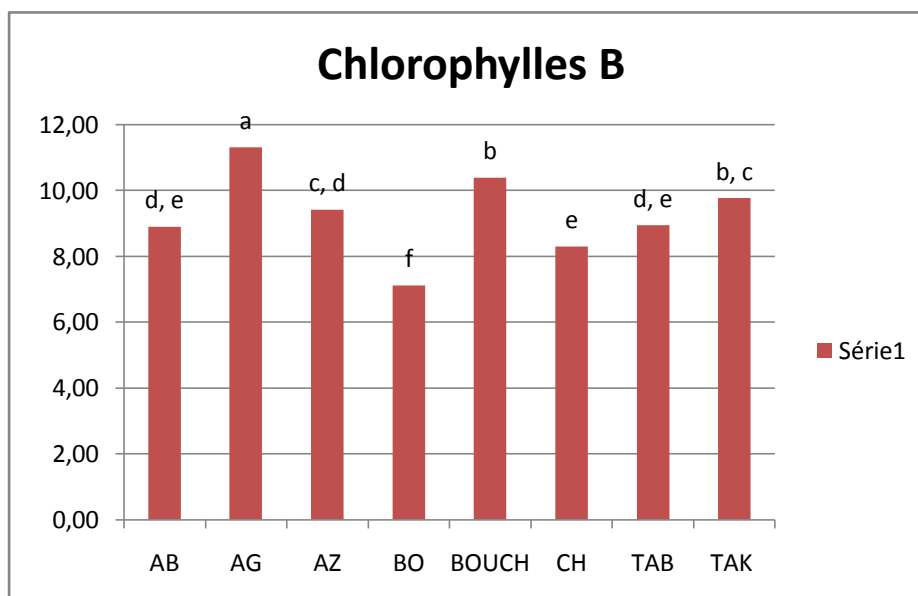


Figure 28: histogramme des teneurs en chlorophylles des feuilles d'olivier

I.4.3. Chlorophylles totaux

La concentration du taux de chlorophylles totaux dans les feuilles d'olivier est calculée par l'équation suivante :

$$\text{Chlorophylles totaux} = 7.12 A_{660} + 16.8 A_{642.5}$$

Tableau 12 teneurs des feuilles d'olivier en chlorophylles totaux

<i>Agraraz</i>	24,142
<i>Bouchouk</i>	22,234
<i>Azeradj</i>	20,597
<i>Takesrit</i>	20,029
<i>Tabelout</i>	19,455
<i>Aberkane</i>	18,541
<i>Chemlal</i>	17,293
<i>Boughenfous</i>	14,897

Les teneurs en chlorophylles totaux selon le tableau 12 et l'histogramme en figure 24 varient entre 24,142 (*Agraraz*) et 14,897(*Boughenfous*), une différence de teneurs importante. La variété *Chemlal* a une faible teneur en chlorophylles totaux (17.293) Le test ANOVA à démontrer que les résultats des teneurs en chlorophylles totaux sont hautement significatifs P-Value <0.01

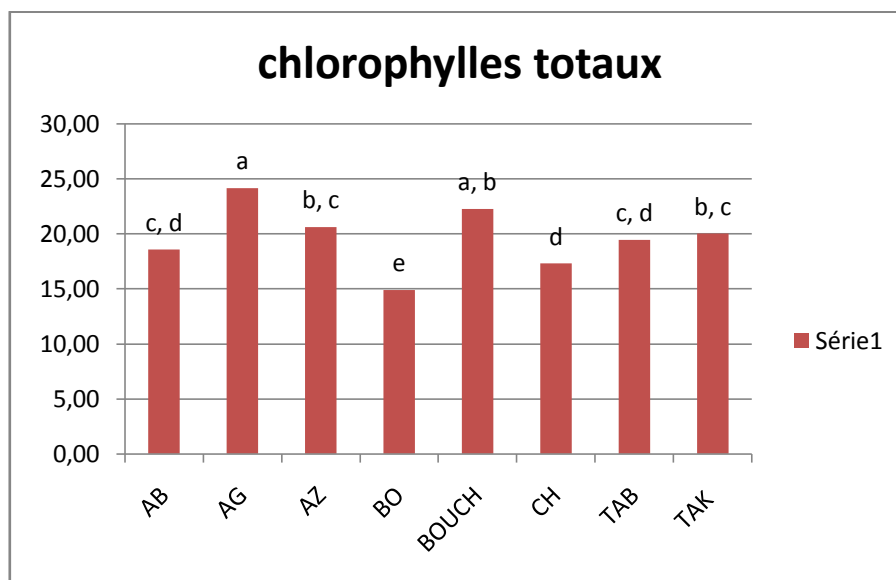


Figure 29: Teneurs en chlorophylles totaux des feuilles d'olivier

Le taux de polyphénols dans les feuilles d'olives, dépend effectivement des variétés d'après (FIESTAS ROS DE URSINOS et BORJA, 1992 ; ZIOGAS et *al.*, 2010). Mais d'après (Fabbri A., et *al* 2008) la teneur la plus élevée en ingrédients aux propriétés médicinales actives dans les feuilles d'olivier coïncide avec le début de la floraison.

D'après (Fatiha Aouidi., et *al* 2009) la concentration moyenne des phénols totaux dans les feuilles d'olives de variété française, cultivé a Marseille, est de 29.57 mg/g MS, on remarque que ce taux est très faible comparer aux variétés étudiées (*Takesrit* 38,0275 mg/g). de plus, d'après Briante et *al.* (2002) et de Malik & Bradford, (2006) qui ont fait étude sur la relation, des ortho diphénols avec l'âge de maturité des feuilles, les résultats étaient non significatifs, tandis que notre étude est hautement significatif; on peut donc conclure que le taux d'ortho diphénols dans les feuilles sont indépendant de leurs âge de maturité, mais dépendent de la variété.

(Aouidi F., et *al* 2011) a étudié la teneur des feuilles d'olives en flavonoïdes par radiations GAMA, de la variété *Chemlali* de Tunisie qui est de 18,68 mg/g MS, si on compare avec notre variété dominante *Chemlal* qui est de 4.95 mg/g MS, le taux est moins important chez notre variété, ça peut être due a la différenciation de la méthode d'extraction, de plus, (Aouidi F., et *al* 2011) confirme qu'il n'existe pas d'étude qui confirme l'influence des radiations GAMA sur les flavonoïdes.

Les chlorophylles des feuilles d'olivier semblent varier selon la variété. En effet, les quantités de chlorophylle a et b étaient significatifs ($p < 0,05$). Ainsi confirmer par (N.

Bahloul., et *al* 2014) que facteurs génétiques influencent sur la teneur en chlorophylle. Ils ont fais une étude comparative sur des variétés Tunisiennes (*chemchali*, *Zarrazi*,) le taux de chlorophylle totaux pour *Chemchali* c'est 1800ppm (1.8 mg/g), *Zarrazi* 1795.93ppm (1.79 mg/g), tandis que pour les variétés Algériennes la variété *Agraraz* (24,142 mg/g MS) est celle qui a le taux le moins élevée de chlorophylles totaux. Pour les chlorophylles a *Chemchali* 800ppm (0.8mg/g), *Zarrazi* 600ppm (0.6 mg/g) pour ce qui concerne les variétés Algériennes *Agraraz* (12,851 mg/g MS) c'est un taux faible comparer aux variétés Tunisiennes. Les concentrations en Chlorophylles b des variétés tunisiennes sont ; *Chemchali* 851.83ppm (0.851 mg/g), *Zarrazi* 1114.23ppm (1.114 mg/g) c'est des taux beaucoup plus élevé que les variétés Algériennes qui est *Agraraz* (11,31mg/g MS).

Cette différence peut être due à des facteurs environnemental, tel la température, nitrogène, l'irrigation, et le taux de maturité de l'arbre nous confirme (Chen *et al.* 2011; Lee *et al.* 2011)

Conclusion

Au terme de ce travail, qui a porter sur l'influence du facteur variétal sur les extraits phénoliques de feuilles d'olivier (*Olea europaea L.*), nous pouvons dire effectivement le caractère variétal est l'un des facteurs qui influence sur le taux de polyphénols dans les feuilles d'olivier.

Notre travail contient ; la morphologie, l'origine et l'utilisation des variétés d'olivier Algérienne, de plus parler sur la capacités antioxydante, et l'effet des feuilles d'oliviers sur la santé humaine, et leurs intérêt dans plusieurs domaine tel l'agroalimentaire.

Dans l'optique d'une analyse qualitative, des feuilles d'olivier de 8 variétés Algérienne (*Azeradj*, *Chemlal*, *Tabelout*, *Takesrit*, *Agraraz*, *Boughenfous*, *Bouchouk*, *Aberkane*) ont été collectées, séché et broyer et préparées pour être analysées par spectroscopie a fin de déterminer la concentration des :

- ✓ Phénols totaux qui a pour rôle neutralisé les radicaux libres, les résultats varient entre (61,2161– 38.0275 Mg/g MS) qui est une quantité très acceptable comparé à d'autres variétés européenne, nos variétés locales sont donc très recommandable pour la santé humaine, spécialement la variété Bouchouk qui contient 61.2161 Mg Ag/g MS.
- ✓ Les flavonoïdes leurs rôle est de moduler l'activité de certaine enzymes, les résultats de nôtre analyses varient entre (8.1349 – 1.073 Mg/g MS) qui est une concentration très basse comparer aux variétés Tunisienne, la variété local qui contient le plus de flavonoïdes est la variété Azeradj (8.1349 Mg/g Ms).
- ✓ Ortho diphénols ce sont des composés phénoliques a grande capacité antioxydante, les concentrations varient entre (26.9542 – 17.08 mg Ag/g MS) c'est des variétés acceptable spécialement la variété Takesrit (26.9542 mg Ag/g Ms), lors de la comparaison on a également déduit que le taux d'ortho diphénols ne dépend pas de l'âge de maturité des feuilles, mais uniquement de la variété.
- ✓ Pigments chlorophylliens ce sont des pigments photo-sensibilisateurs en présence de lumière, et a nature antioxydant dans l'obscurité.
 - les chlorophylles totaux, varient entre (24,142 – 14.897 mg/g) c'est très élevé comparer aux variétés tunisiennes, spécialement la variété local Agraraz (24.142 mg/g).
 - Chlorophylles A varient entre (12.851 – 7.801 mg/g) en leur tête la variété Agrarz (12.851 mg/g) c'est élevé comparer aux variétés tunisiennes.

-Chlorophylles B varient entre (11.31 – 7.1083 mg/g) dont la variété Agraraz (11.31 Mg/g) est en tête, c'est élevé comparé aux variétés tunisiennes.

La variété Agraraz est très riche en chlorophylles, c'est donc un excellent antioxydant et peut apporter beaucoup de vertus à la santé humaine.

Ces différences sont dues à plusieurs facteurs, environnemental, et essentiellement génétique.

Références bibliographiques :

Abad, M. J., Bermejo, P., Gonzales, E., Iglesias, I., Irurzun, A., Carrasco, L. (1999). Antiviral activity of Bolivian plant extracts. *General Pharmacology: The Vascular System*, 32(4), 499-503.

ABDELGUERFI, A. (2002).— RESSOURCES GENETIQUES D'INTERET PASTORAL ET/OU FOURRAGER : DISTRIBUTION ET VARIABILITE CHEZ LES LEGUMINEUSES SPONTANEEES (MEDICAGO, TRIFOLIUM, HEDYSARUM ET ONOBRYCHIS) EN ALGERIE. THÈSE DE DOCTORAT D'ÉTAT EN SCIENCES AGRONOMIQUES

AGUILERA C.M. SUNFLOWER, VIRGIN OLIVE AND FISH OILS DIFFERENTIALLY AFFECT THE PROGRESSION OF AORTIC LESIONS IN RABBITS WITH EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS *ATHEROSCLEROSIS*, 2002,162, p335-344

AMOURITTI, M.ET COMET, G. (1985) LE LIVRE DE L'OLIVIER. ED. EDISUD.
ANDERSON, O.M.,MARKHAM, K.R. FLAVONOIDS: CHEMISTRY, BIOCHEMISTRY AND APPLICATIONS, EDITED BY TAYLOR & FRANCIS GROUP, LLC, CRC PRESS, 2006; 01-32-397-425.

AOUIDI F., AYARI S., FERHI H., ROUSSOS SEVASTIANOS, HAMDI M.. GAMMA IRRADIATION OF AIR-DRIED OLIVE LEAVES : EFFECTIVE DECONTAMINATION AND IMPACT ON THE ANTIOXIDATIVE PROPERTIES AND ON PHENOLIC COMPOUNDS. *FOOD CHEMISTRY*, 3, 2011. 0308-8146

BAHLOUL, N., KECHAOU, N., & MIHOUBI, N. B. (2014). COMPARATIVE INVESTIGATION OF MINERALS, CHLOROPHYLLS CONTENTS, FATTY ACID COMPOSITION AND THERMAL PROFILES OF OLIVE LEAVES (*OLEA EUROPAEA* L.) AS BY-PRODUCT. *GRASAS Y ACEITES*, 65(3), e035-e035.

BENAVENTE-GARCÍA, CASTILLO, LORENTE, ORTUNO, & DEL RIO, 2000; BOUAZIZ & SAYADI, 2005; BRIANTE, CARA, FEBBRAIO, PATUMI, & NUCCI, 2002; BRIANTE ET AL., 2002; MEIRINHOS ET AL., 2005; PAIVA-MARTINS & GORDON, 2001; RANALLI ET AL., 2006; SAVOURNIN ET AL., 2001).

BENAVENTE-GARCÍA, O., CASTILLO, J., LORENTE, J., ORTUÑO, A., DEL RÍO, J.A., 2000. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PHENOLICS EXTRACTED FROM *OLEA EUROPAEA* L. LEAVES. *FOOD CHEM.* 68, 457–462.

BEN TEKAYA I, HASSOUNA M, EFFETS DES CHLOROPHYLLES, DU

BETACAROTENE, DE L'ALPHATOCOPHEROL, DU TYROSOL ET DE LEURS INTERACTIONS SUR LA STABILITE OXYDATIVE DE L'HUILE D'OLIVE TUNISIENNE, OCL VOL. 14 N° 1 JANVIER-FEVRIER 2007

BISIGNANO ET ALL 1999 . ON THE IN-VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OLEUROPEINE AND HYDROXYTYROSOL.

BOTTANI D. LE GUIDE DES ROUTES DE L'OLIVIER LYON: LA MANUFACTURE, 1994,116p

BROUSSE G. L'OLIVIER, TECHNIQUES AGRICOLES ET PRODUCTION MEDITERRANEENNE PARIS: MAISONNEUVE ET LAROSE, 1978,128p

BRENES BALBUENA M., GARCIA GARCIA P.1 & GARRIDO FERNANDEZ A. (1992). PHENOLIC COMPOUNDS RELATED TO THE BLACK COLOR FORMED DURING THE PROCESSING OF RIPE OLIVES. JOURNAL OF AGRICULTURAL FOOD CHEMISTRY, 40 : 1192-1196.

BRENES M., HIDALGO F. J., GARCIA A., RIOS J. J., GARCIA P., ZAMORA R. & GARRIDO A. (2000) PINORESINOL AND 1-ACETOXYPINORESINOL, TWO NEW PHENOLIC COMPOUNDS IDENTIFIED IN OLIVE OIL. JOURNAL OF AMERICAN OIL CHEMIST'S SOCIETY. 77 (7) PP 715-720.

BRIANTE R, PATUMI M., LIMONGELLI S., FEBBRAIO F., VACCARO C., DI SALLE A, LA CARA F. ET NUCCI R., 2002. CHANGES IN PHENOLIC AND ENZYMATIC ACTIVITIES CONTENT DURING FRUIT RIPENING IN TWO ITALIAN CULTIVARS OF OLEA EUROPAEA L. PLANT SCIENCE, 162: 791-798.

BLEKAS G., PSOMIADOU E., TSIMIDOU M. ET BOSKOU D. 2002. ON THE IMPORTANCE OF TOTAL POLAR PHENOLS TO MONITOR THE STABILITY OF GREEK VIRGIN OLIVE OIL. EUROPEAN JOURNAL OF LIPID SCIENCE AND TECHNOLOGY, 104(6): 340-346

BOUDJOUREF, M. (2011) ; EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE DES EXTRAITS PHENOLIQUES D'URTICA DIOICA L , MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DE DIPLOME DE MASTER ACADEMIQUE EN BIOLOGIE, UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

BOUDHIOUA1 , I. BEN SLIMEN, N. BAHLOUL ET N. KECHAOU REVUE DES ENERGIES RENOUVELABLES SMSTS'08 ALGER (2008) 111 – 116 111 ETUDE DU SECHAGE PAR INFRAROUGE DE FEUILLES D'OLIVIER D'ORIGINE TUNISIENNE PARTIE 2: INFLUENCE DU SECHAGE ET DU BLANCHIMENT SUR LES COMPOSES PHENOLIQUES TOTAUX.

CASTIGLIONE C. UNE VIE D'OLIVIER DIGNE-LES-BAINS: HAUTE PROVENCE
EDITION, 1993, 190P

CODEX STAN, 2012. NORME CODEX POUR LES OLIVES DE TABLE

CILLARD, JOSIANE, ET PIERRE CILLARD. « MECANISMES DE LA PEROXYDATION
LIPIDIQUE ET DES ANTI-OXYDATIONS ». OLEAGINEUX, CORPS GRAS, LIPIDES 13, NO
1 (JANVIER 2006): 24- 29. [HTTPS://DOI.ORG/10.1051/ocl.2006.6666](https://doi.org/10.1051/ocl.2006.6666).

CIVANTOS L, VALORISATION DES SOUS-PRODUITS DE L'OLIVIER, REUNION DU
COMITE TECHNIQUE (FAO) 1983, 143-145

CHEN MJ, LI J, DAI X, SUN Y, CHEN FZ. 2011. EFFECT OF PHOSPHORUS AND
TEMPERATURE ON CHLOROPHYLL A CONTENTS AND CELL SIZES OF SCENEDESMUS
OBLIQUUS AND MICROCYSTIS AERUGINOSA. LIMNOLOGY 12, 187–192.
[HTTP://DX.DOI.ORG/10.1007/s10201-010-0336-y](http://dx.doi.org/10.1007/s10201-010-0336-y).

DI CARLO G., MASCOLO N., IZZO, A.A., CAPASSO F, FLAVONOIDS: OLD AND NEW
ASPECTS OF A CLASS OF NATURAL THERAPEUTIC DRUGS, REVIEW. LIFE SCI. 1999,
65: 337-53.

DE BARRY N. ABCDAIRE DE L'HUILE D'OLIVE PARIS: FLAMMARION, 1999,120P

DUBOIS, G.E., GROSBAY, G.A., SAFFRON, P. (1977). NON NUTRITIVE SWEETENERS:
TASTE STRUCTURE RELATIONSHIPS WITH FOR SOME NEW SIMPLE
DIHYDROCHALCONES. SCIENCE, 195: 397-399.

ENDANG SUSALIT A,1, NAFRIALDI AGUS B,2, IMAM EFFENDI A,1, RAYMOND R.
TJANDRAWINATAC,* , DWI NOFIARNYC,3, TANIA PERRINJAQUET-MOCSETTI D,4,
MARIAN VERBRUGGEND,4. OLIVE (OLEA EUROPAEA) LEAF EXTRACT EFFECTIVE IN
PATIENTS WITH STAGE-1 HYPERTENSION: COMPARISON WITH CAPTOPRIL.
PHYTOMEDICINE 2011,

EL ANTARI A., EL MOUDNI H., AJANA H., CERT A. (2003). ETUDE DE LA
COMPOSITION LIPIDIQUE DE DEUX COMPARTIMENTS DU FRUIT D'OLIVE (PULPE ET
AMANDE) DE SIX VARIETES D'OLIVIERS CULTIVEES AU MAROC. OLIVAE, 98 : 20-28)
FABBRI A, GALAVERNA G., GANINO T., 2008. POLYPHENOL COMPOSITION OF OLIVE
LEAVES WITH REGARD 10 CULTIVAR, TIME OF COLLECTION AND SHOOT TYPE. IN
PROCEEDINGS OF THE \LH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON OLIVE GROWING. ISHS
ACTA HORTICULTURAE 791

GUERRA A LE REGIME MEDITERRANEEN EST-IL EN TRAIN DE DISPARAITRE?
ANNALS OF NUTRITION AND METABOLISM, 2001, 45, p78-81

- GARCIA-VERDUGO ,C. , FORREST ,A.,BALAGUER, L.,FAY ,C.,VARGAS ,P.,(2010) ;.PARALLELEVOLENTION OF INSULAR OLEA EUROPAEA SUBSPECIES BASED ON GEOGRAPHICAL STRUCTURING OF PLASTIDADN VARIATION AND PHENOTYPIC SIMILARITY IN LEAF TRAITS.BOT.J.LINN.SOC.,162 :54-63.
- HARBONE, J.B. (1993). INTRODUCTION TO ECOLOGICAL BIOCHEMISTRY, 4TH ED; ACADEMIC PRESS:LONDON.
- HALLIWELL B AND GUTTERIDGE J M C (2007). FREE RADICALS IN BIOLOGY AND MEDICINE. OXFORD UNIVERSITY PRESS, OXFORD (FOURTH EDITION).
- HAVSTEEN, B.H. (2002). THE BIOCHEMISTRY AND MEDICAL SIGNIFICANCE OF THE FLAVONOIDS. PHARMACOL. THERAPEUT, 96: 67– 202
- [HTTPS://WWW.GREYCAMPUS.COM/OPENCAMPUS/MINITAB/INTRODUCTION-ON-MINITAB](https://www.greycampus.com/opencampus/minitab/introduction-on-minitab)
- [HTTPS://DSpace.UNIVBBA.DZ/BITSTREAM/HANDLE/123456789/106/M428.PDF?SEQUENCE=1&IS_ALLOWED=Y](https://dSPACE.UNIVBBA.DZ/BITSTREAM/HANDLE/123456789/106/M428.PDF?SEQUENCE=1&IS_ALLOWED=Y)
- HUMBERT F. HUILES D'OLIVE: GRANDS CRUS ET PIQUETTES QUE CHOISIR, N03933, p8-12
- ISSOLAH, R. (2008).— LES FOURRAGES EN ALGERIE : SITUATION ET PERSPECTIVES DE DEVELOPPEMENT ET D'AMELIORATION. RECHERCHE AGRONOMIQUE, 22 : 34-47
- ITAFV, (2008). L'OLEICULTURE EN ALGERIE – SITUATION ACTUELLE DE L'OLEICULTURE EN ALGERIE.
- JACOTOT,B .,(2009); VITAMINE E ET ATHEROSCLEROSE. REV MED INTERNE 15,1997 ; 627-629.LEVERVE XAVIER. STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS. CAHIERS DE NUTRITION ET DE DIETETIQUE VOLUME 44, ISSUE 5, 219–224.
- KAFOTOS A.G, (1995). LA CONSOMMATION D'HUILES D'OLIVE EN GRETE : UNE DES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DU REGIME ALIMENTAIRE MEDITERRANEEN – GETOIS, OLIVA, 56, 22-24.
- KARIM ARAB, OUAHIBA BOUCHENAK ET KARIMA YAHIAOUI. ÉVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES FEUILLES DE L'OLIVIER SAUVAGE ET CULTIVE, AFRIQUE SCIENCE 09(3) (2013) 159 – 166)
- K. GHEDIRA., LES FLAVONOÏDES: STRUCTURE, PROPRIETES BIOLOGIQUES, ROLE PROPHYLACTIQUE ET EMPLOIS EN THERAPEUTIQUE, 2005.
- L.I. SOMOVA A,*, F.O. SHODE B , P. RAMNANAN A , A. NADAR A, A DEPARTMENT OF HUMAN PHYSIOLOGY, ANTIHYPERTENSIVE, ANTIATHEROSCLEROTIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TRITERPENOIDIS ISOLATED FROM OLEA EUROPAEA, SUBSPECIES AFRICANA LEAVES UNIVERSITY OF DURBAN-WESTVILLE, 2002

LEE YJ, YANG CM, CHANG KW, SHEN Y. 2011. EFFECTS OF NITROGEN STATUS ON LEAF ANATOMY, CHLOROPHYLL CONTENT AND CANOPY REFLECTANCE OF PADDY RICE. BOT. STUD. 52, 295–303.

LEGER CL. LES COMPOSES PHENOLIQUES ET LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES CORPS GRAS LIPIDES, 1999 ; 6 (1) : p60-63

LUC G. ANTIOXYDANTS ET ATHEROSCLEROSE MED ET NUTR, 1996, TOME 32, N 0 1, p8-16

MALIK N.S.A., BRADFORD J.M. 2006. CHANGES IN OLEUROPEIN LEVELS DURING DIFFERENTIATION AND DEVELOPMENT OF FLORAL BUDS IN "ARBEQUINA" OLIVES. SCIENTIA HORTICULTURAE, 110(3): 274-278

MANALLAH., (2012) ; MEFTAH ., AL., (2014) : CONTRIBUTION A L'ETUDE DES CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUE ET L'APPRECIATION ORGANOLEPTIQUES DE QUELQUES VARIETES D'HUILE D'OLIVE DE QUELQUES WILAYAS DE L'EST ALGERIEN

MAYMONE, B., BATTAGLINI, A. ET TIBERIO, M. 1961 RICERCHES SUL VALORE NUTRITIVO DELLA SANSA D'OLIVE. ALIMENTAZIONE ANIMALE, 2 (4): 219–250

MCDONALD, S., PRENZLER, P. D., ANTOLOVICH, M., & ROBARDS, K. (2001). PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF OLIVE EXTRACTS. FOOD CHEMISTRY, 73(1), 73-84.

MUKOHATA, Y., NAKABAYASHI, S., & HIGASHIDA, M. (1978). QUERCETIN, AN ENERGY TRANSFER INHIBITOR IN PHOTOPHOSPHORYLATION. FEBS LETT, 85: 215–218.

MOREAUX S. L'OLIVIER ARLES: ACTE SUD, 1997, 96p

NEFZAOU, A., 1991. VALORISATION DES SOUS-PRODUITS DE L'OLIVIER. OPTIONS MEDITERRANEENNES. SERIE A. SEMINAIRES MEDITERRANEENS, 16:101-108

ABDULIO BENAVENTE-GARCIA, JOSEPH CASTILLO, J. LORENTE, A. ORTUNO, ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PHENOLICS FROM OLEA EUROPAEA L. LEAVES, 2000, FOOD CHEMISTRY 49(4):2480-2485

OUASSILA LAMANI*, HELENE ILBERT** - NEW MEDIT N. 3/2016. LA SEGMENTATION DU MARCHE OLEICOLE. QUELLES POLITIQUES DE REGULATION DU MARCHE D'HUILE D'OLIVE EN ALGERIE? -

OUAHIBA SOUFI, CONCEPCIÓN ROMERO, LOUAILECHE HAYETTE , ORTHO-DIPHENOL PROFILE AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ALGERIAN BLACK OLIVE CULTIVARS: EFFECT OF DRY SALTING PROCESS. FOOD CHEMISTRY. VOLUME 157. 2014)

PU-JUN XIE.ALL. PHENOLIC COMPOSITIONS, AND ANTIOXIDANT PERFORMANCE OF OLIVE LEAF AND FRUIT (OLEA EUROPAEA L.) EXTRACTS AND THEIR STRUCTURE–ACTIVITY RELATIONSHIPS

RENIS, H.E., 1969. IN VITRO ANTIVIRAL ACTIVITY OF CALCIUM ELENOLATE. ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER. 9, 167–172.

RUBY J., MONOGRAPHIE SUR LES VARIETES FRANÇAISES DE L'OLIVIER, 1918

SANSOUCY, R. 1981 L'UTILISATION DES SOUS-PRODUITS DE L'OLIVIER POUR L'ALIMENTATION DES ANIMAUX. IN SEMINAIRE SUR LA VALORISATION DES SOUS-PRODUITS DE L'OLIVIER. MONASTIR, TUNISIE, PNUD/FAO/COI, DECEMBRE 1981. PP73–78

SAIJA, A., UCCELLA, N., 2001. OLIVE BIOPHENOLS: FUNCTIONAL EFFECTS ON HUMAN WELLBEING. TIFS 11, 357–363.

SEKOUR B. (2012). PHYTOPROTECTION DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE PAR AJOUT DES PLANTES VEGETALES UNIVERSITE MHAMED BOUGARA BOUMERDES. T

SILVA,1,2,* L. GOMES,3 F. LEITÃO,4 A.V. COELHO,2,5 AND L. VILAS BOAS2,6 - INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO, AV. ROVISCO PAIS 1049–001 LISBOA, PORTUGAL. PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF OLEA EUROPAEA L. FRUITS AND LEAVES- S.

TANJA WEINBRENNER,* MONTSERRAT FITO´ ,* RAFAEL DE LA TORRE,†‡
GUILLERMO T. SAEZ,†† PHILIP RIJKEN,‡‡ CARMEN TORMOS,†† STEFAN COOLEN,‡‡
MAGÍ FARRE´ ALBALADEJO,† ** SERGIO ABANADES,** HELMUT SCHRODER,*
JAUME MARRUGAT,* ** AND MARIA-ISABEL COVAS*2 OLIVE OILS HIGH IN
PHENOLIC COMPOUNDS MODULATE OXIDATIVE/ANTIOXIDATIVE STATUS IN MEN J.
NUTR. 134: 2314–2321, 2004

TSIMOGIANNINS, D.I., OREOPOULOU, V. (2006). THE CONTRIBUTION OF FLAVONOID C-RING ON DPPH FREE RADICAL SCAVENGING EFFICIENCY. A KINETIC APPROACH FOR THE 3', 4'-HYDROXY SUBSTITUTED MEMBERS. INNOVAT FOOD SCI EMERG TECH, 7: 140-146.

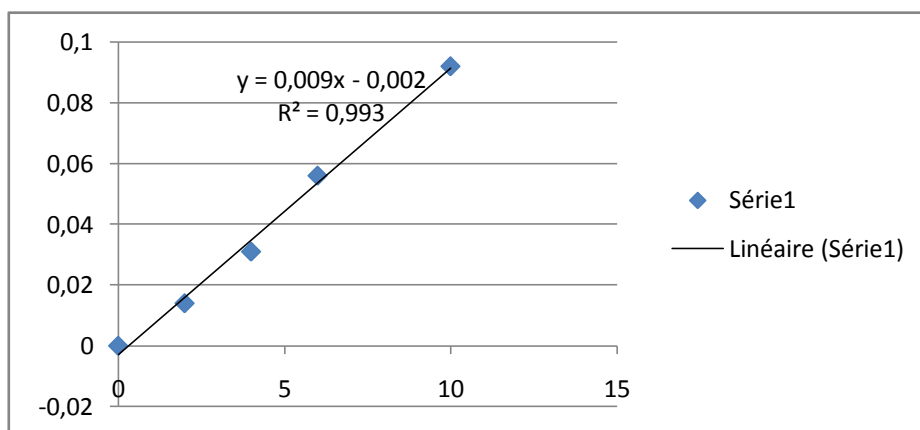
VISIOLI, F., BELLOMO, G., GALLI, C., 1998. FREE RADICAL-SCAVENGING PROPERTIES OF OLIVE OIL POLYPHENOLS. BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN.

247,60–64.

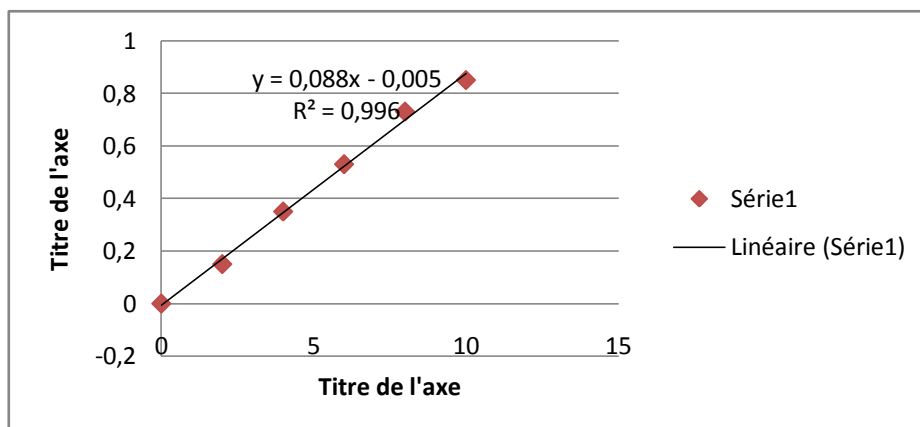
VISIOLI F. THE ROLE OF ANTIOXYDANT IN THE MEDITERRANEAN DIET LIPIDS,
2001,36, p549-552

ANNEXES

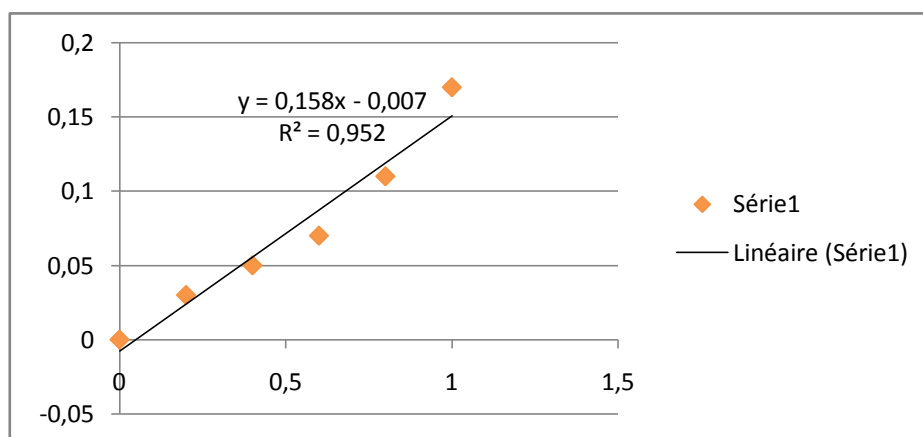
Les courbes d'étalonnage



Courbe 9 : La courbe de l'acide gallique



Courbe 10 : La courbe du Tyrosol



Courbe 11 : La courbe de Catéchine

Abréviation

Abs : absorbance

AG : acide gras

AGMI : acide gras monoinsaturé

AMP cyclique : Adénosine monophosphate cyclique

BP : biophénols

COI : conseil oléicole international

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Hz : hertz

IP : indice de peroxyde

Ole : oleuropéine

ITAF : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière

COI : Conseil Oléicole International

HDL : High Density Lipoprotein (lipoprotéines à haute densité)

LDL : Low Density Lipoprotein (lipoprotéines à faible densité)

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

MS : Matière Sèche

UV : Ultra violet

Ppm : Partie par million

Glossaire

Antithrombotiques : substance qui empêche la formation de caillots de sang.

Cardiovasculaire : relatif au cœur et aux vaisseaux sanguins

Cholestérol HDL : dit ‘‘bon cholestérol’’, lipoprotéine qui ramène le cholestérol au foie

Cholestérol LDL : dit ‘‘mauvais cholestérol’’ lipoprotéine qui ramène le cholestérol au tissus

Chélatrice : chélation, processus physico-chimique au cour du quel est formé un complexe.

Gamopétale : une fleur dont les pétales sont reliés entre elles

phosphodiesterase : une enzyme qui brise une liaison phosphodiester dans un oligonucléotide.

Vasodilatateur : propriété de dilater les vaisseaux sanguins.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Evolution de la production des olives en Algérie (FAO stat 2019)

Tableau 2 : Caractéristiques des variétés Algériennes (ITAF catalogue des variétés)

Tableau 3 : Composition chimique globale des feuilles d'oliviers (Fegeros, 1995)
(Boudhrioua et al., 2009)

Tableau 4 : Composition en acides aminées des feuilles d'oliviers fraîches
(MARTINGARCIA et Molina-Alcoide 2008)

Tableau 5 : Composition en minéraux des feuilles d'oliviers (Fegeros, 1995)

Tableau 6 : La classification des différents composés phénoliques

Tableau 7 : Valeurs des phénols totaux

Tableau 8 : Valeurs des flavonoïdes

Tableau 9 : Taux d'ortho-diphénols dans les feuilles d'olives

Tableau 10 : Taux de chlorophylles a dans les feuilles d'olivier

Tableau 11 : Taux de chlorophylles b dans les feuilles d'olivier

Liste des figures

Figure 1 : Un tronc d'arbre d'olivier

Figure 2 : Section transversal d'une olive (Maymone et al 1961)

Figure 3 : Coupes longitudinales et transversales de l'olive (Sansoney, 1984)

Figure 4 : olivier cultivé

Figure 5 : feuilles d'olivier cultivé

Figure 6 : Observation au microscope électronique de feuilles du cultivar (cv. Leccino),
Surface inférieure. Les trichomes.

Figure 7 : Les différentes formes d'utilisation des feuilles d'oliviers pour la consommation
humaine (Benavente-Garcia et al., 2000)

Figure 8 : Formule brute et chimique d'une fonction phénol

Figure 9 : Structure chimique des acides hydrox benzoïque

Figure 10 : Structure chimique des acides hydroxycinnamique

Figure 11 : Squelette de base des flavonoïdes

Figure 12 : Structure chimique des flavonones

Figure 13 : structure chimique des flavonols

Figure 14 : Structure chimique des flavan-3ols

Figure 15 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes

Figure 16 : Structure chimique de l'oleuropéin

Figure 17 : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose)

Figure 18 : Les composés phénoliques répandus dans les feuilles

Figure 19 : protocole des phénols totaux.

Figure 20 : protocole du dosage de l'acide gallique.

Figure 21 : protocole du dosage des ortho diphénols.

Figure 22 : protocole de dosage du tyrosol

Figure 23 : protocole de dosage des flavonoïdes

Figure 24 : Histogramme du taux de phénols totaux des variétés d'oliviers

Figure 25 : Histogramme des concentrations des feuilles d'oliviers en Flavonoïdes

Figure 26 : Histogramme du taux d'ortho-diphénols des variétés d'olivier

Figure 27 : Histogramme des valeurs des Chlorophylles a dans les feuilles d'olivier

Figure 28 : Histogramme des teneurs en Chlorophylles b dans les feuilles d'olivier

Figure 29 : Histogramme des teneurs en Chlorophylles totaux des feuilles d'olivier

Matériels utilisés



Figure 19 Centrifugeuse à haute vitesse, pour tube à hémolyse (20 x 5ml) 5000T/min



Figure 20 Spectrophotomètre UV/Visible



Figure 21 Réfrigérateur de laboratoire



Figure 22 balances analytiques de laboratoire



Figure 23 bain marie

Produits chimiques et réactifs

- Folin Ciocalteu
- Na_2Co_3 75g(L⁻¹)
- Molybdate de sodium déshydraté ($\text{Na}_2\text{Mo}_4\text{2H}_2\text{O}$) 5%
- Ethanol-eau (1:1; V/V)
- Sodium nitrite 5% Na_2NO_3^-
- Aluminium chlorite 10% Cl Al_3
- 1M sodium hydroxyde
- Méthanol-eau
- Acide gallique
- Bicarbonate de sodium
- MeOH/eau 5/95