

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليجي بالأغواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES

قسم البيولوجيا

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de master*

*Filière : Science Biologique*

*Option : Biochimie appliquée*

**THEME :**

**Etude de l'activité antioxydante de deux espèces locales  
*Olea europaea L* et *Phoenix canariensis L* de la région  
d'ANFOUSS**

Présenté par : Melle GUIESS Zohra

Devant le jury :

Mme HADJ AISSA Fatima Zohra	Promotrice	MAA Université Amar thelidji – Laghouat
M Chaibi Rachid	Président	MAA Université Amar thelidji – Laghouat
M ZEROUK Salim	Examineur	MAA Université Amar thelidji – Laghouat

Année universitaire : 2019/2020

## Résumé

*Olea europaea L* et *Phoenix canariensis L* sont deux plantes très répandues et très utilisées dans la médecine traditionnelle. Dans ce travail nous nous sommes intéressés aux extraits phénoliques des différentes parties de ces plantes (feuilles, tiges et racines) dont l'objectif principal est d'analyser la composition chimique et évaluer l'activité antiradicalaire. D'après les résultats obtenus nous avons enregistré des teneurs moyennes en polyphénols allant de 17,02 à 110,84 mg EAG/g MS et des teneurs moyennes aussi en flavonoïdes entre 1,66 et 8,95 mg EQR/g MS, pour *Olea europaea L* et *Phoenix canariensis L* respectivement. L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par deux méthodes: le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) et la réduction du fer (FRAP). Les résultats obtenus nous montrent une activité élevée de l'extrait des feuilles avec une  $EC_{50}=0,161$  mg/ml et 0,183mg/ml pour *Phoenix canariensis L* et *Olea europaea L* respectivement ; L'extrait des racines de *Phoenix canariensis L* et les tiges *Olea europaea L* présentent une bonne capacité de réduction du fer. Les méthodes de l'activité antioxydante montrent que tous les extraits des plantes étudiées présentent des propriétés antioxydantes avec les deux tests utilisés. Les extraits du *Phoenix canariensis L* présentent aussi une bonne source des molécules bioactives qui ont des propriétés biologiques meilleures par rapport les extraits *Olea europaea L*.

**Mots clés :** *Olea europaea L*, *Phoenix canariensis L*, Polyphénols, flavonoïdes, DPPH, FRAP, Activité antioxydante.

## Abstract

*Olea europaea L* and *Phoenix canariensis L* are two plants that are widespread and widely used in traditional medicine. In this work we were interested in phenolic extracts from different parts of these plants (leaves, stems and roots), the main objective of which is to analyze the chemical composition and evaluate the anti-free radical activity. According to the results obtained we recorded average contents of polyphenols ranging from 17.02 to 110.84 mg EAG / g DM and average contents also of flavonoids between 1.66 and 8.95 mg EQR / g DM for *Olea europaea L* and *Phoenix canariensis L* respectively. The antioxidant activity of the different extracts was assessed by two methods: scavenging of the free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) and iron reduction (FRAP). The results obtained show us a high activity of the extract of the leaves with an  $EC_{50} = 0.161$  mg / ml and 0.183 mg / ml for *Phoenix canariensis L* and *Olea europaea L* respectively; *Phoenix canariensis L* root extract and *Olea europaea L* stems show good iron reduction capacity. The methods of antioxidant activity show that all the extracts of the plants studied exhibit antioxidant properties with the two tests used. The extracts of *Phoenix canariensis L* also present a good source of bioactive molecules which have better biological properties than the extracts of *Olea europaea L* ..

Key words: *Olea europaea L*, *Phoenix canariensis L*, Polyphenols, flavonoids, DPPH, FRAP, Antioxidant activity.

## ملخص

تعتبر النبتتان *Olea europaea L* و *Phoenix canariensis L* من النباتات واسعة الانتشار التي تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. في هذا العمل اهتمنا بالمستخلصات الفينولية من أجزاء مختلفة (الأوراق والسيقان والجذور)، والهدف الرئيسي منها هو تحليل التركيب الكيميائي وتقييم النشاط المضاد للجذور الحرة. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها، سجلنا متوسط محتويات البوليفينول، يتراوح من 17.015 إلى 110.842 ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك/1 غ من المسحوق الجاف، ومتوسط محتوى الفلافونويد: أيضاً بين م 1.662 و 8.953 ميكروغرام مكافئ لكيرستين / 100 غ من المسحوق الجاف ل *Olea europaea L* و *Phoenix canariensis L*. ثم تقييم نشاط مضادات الأكسدة للمستخلصات المختلفة بطريقتين: القدرة على تثبيط الجذر الحر (2,2-ديفينيل-1-بيكريل هيدرازيل) DPPH وإرجاع الحديد FRAP. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها عليها فعالية عالية لمستخلص الأوراق مع التركيز الفعال  $50IC = 0.161$  ملغ/مل و 0.183 ملجم / مل لكل من *Olea europaea L* و *Phoenix canariensis L* على التوالي يحتوي مستخلص جذر *Phoenix canariensis L* وسيقان *Olea europaea L* على قدرة جيدة على إرجاع الحديد. توضح طرق نشاط مضادات الأكسدة أن جميع المستخلصات من النباتات المدروسة تقدم خصائص مضادة للأكسدة مع اثنين من الاختبارات المستخدمة. تقدم مستخلصات *Phoenix canariensis L* أيضاً مصدرًا جيدًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا التي لها خصائص بيولوجية أفضل من مستخلصات *Olea europaea L*.

الكلمات المفتاحية: *Olea europaea L*, *Phoenix canariensis L*, بوليفينول، فلافونويد، DPPH، FRAP، نشاط مضاد للأكسدة.

## *Dédicace*

*A ALLAH tout puissant qui m'a inspiré, qui m'a guidé dans le bon chemin. Je vous dois ce que me suis devenu louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde*

*A mon très cher père Kouider aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma très chère mère Azza tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*La femme de mon père Soumia et le joyau le plus précieux de ma vie est sa fille Nour*

*A mes sœur Hamra, son mari Kady et leurs deux enfants, Heba et Omar, pour leur amour, soins et encouragements.*

*A mes frères Kada et Amine et Abdou et Anse pour leur soutien et leur amour.*

*A celui que je suis très fière de l'avoir et tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour que je lui porte : mon très cher fiancé Yahia, qui a été toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, que dieu le garde pour moi, et à toute sa famille.*

*A Tous mes amis (es) surtout : Souad, Khalil, Zoulika, Farida, Soumia et Zeineb, Fatima et Djawhar à Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin. A Ma chère collègue Wahiba qui m'a accompagnée durant ce travail, et à toute sa famille.*

*A Toute la promotion Biochimie Appliquée 2019-2020.*

# *Remerciements*

*Je remercie tout d'abord Dieu, le tout puissant de m'avoir accordé santé, courage et foi .*

*Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique du département de biologie de l'université Amar Telidji - Laghouat - sous la direction de Mme Hadj Aissa Fatima.*

*Je remercie tout particulièrement l'encadrement Mme Hadj Aissa Fatima. Pour son acceptation de moi encadrée, de la direction, de la confiance qu'elle moi a accordée et de son suivi régulier du développement et des conseils qu'elle moi a prodigués tout au long de ce travail.*

*J'exprime reconnaissance envers les membres du jury, qu'il moi soit ainsi permis de moi remercie très sincèrement pour avoir spontanément accepté de juger ce travail et d'avoir consacré une partie de votre temps précieux à l'examen de ce mémoire.*

*Un grand merci le M, Tahri Djailali, pour son soutien, ses conseils avisés et son aide précieuse, merci beaucoup.*

*Je remercie moi collègues étudiant(es), avec qui moi avons eu le plaisir d'étudier durant ces cinq années.*

*Enfin, on remercie moi l'équipe administrative et enseignante du département de biologie de l'université Amar Telidji.*

*Merci à tous*

# Table de matière

**RESUME**

**LISTES DES TABLEAUS**

**LISTES DES FIGURES**

**ABREVIATION**

**INTRODUCTION** .....2

**CHAPITRE I: Etude**

**Bibliographique**.....4

1..Description des Plantes étudiées .....6

1.1. L'olivier ; Oléa européa .....6

1.1.1. Origine et répartition géographique .....6

1.1.2. Caractéristiques botaniques .....7

1.1.3. La systématique de la plante .....8

1.2.4. Composition chimique .....8

1.1.5. Utilisation et intérêt biologique .....8

1.2.Palmier ; Pheonix canariesis .....9

1.2.1. Origine et répartition géographique .....9

1.2.2. Caractéristiques botaniques .....10

1.2.3. La systématique de la plante .....11

1.2. 4. Utilisation et intérêt biologique .....11

2. Stress oxydatif et L'activité antioxydante .....12

2.1 . Les radicaux libres .....12

2.1.1 Formes des radicaux libres .....13

2.1.2. Sources des radicaux libres .....13

2.2 Les antioxydants .....14

2.2.1. Sources d'antioxydants .....14

2.2.2. Les types d'antioxydants .....14

2. 2. 3. Antioxydants enzymatiques .....	14
2. 2. 4. Antioxydants non enzymatiques .....	15
3. Les composés phénoliques .....	15
3.1. Généralité sur les polyphénols .....	15
3.2 . Classification des composés phénolique .....	16
3.3. Propriétés biologiques des polyphénols .....	16
3.3.1.Chez les végétauxl.....	18
3.3.2. Chez homme.....	18
<b>CHAPITRE II: Matériels et Méthodes .....</b>	<b>19</b>
1. Matériels.....	20
1.1. Choix de la plante .....	20
1.2.pretraitment des echantions .....	21
2. Méthodes d'extraction des polyphénols .....	21
3. Dosage des composés phénoliques .....	23
3.1. Dosage des phénols totaux .....	23
3.2. Dosage des flavonoïdes .....	24
4. Evaluation de pouvoir antioxydant .....	26
4.1. Effet scavenger du radical libre DPPH.....	27
4.2. Test FRAP .....	29
<b>CHAPITREIII: Résultats et discussions .....</b>	<b>30</b>
1. Détermination du rendement d'extraction.....	32
2.Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes .....	33
3.Étude du pouvoir antioxydant des extraits des deux plantes étudiées .....	36
3.1. Évaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH .....	37
3.2. Évaluation de l'activité antioxydants par le test FRAP .....	41
<b>Conclusion et perspective.....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Listes des Tableaux

<b>Tableau 1</b> : Différents types des espèces réactives .....	13
<b>Tableau 2</b> : Activités biologiques de quelques composés phénoliques .....	18
<b>Tableau 3</b> : Les rendements des extraits des plantes étudiées.....	24
<b>Tableau 4</b> : Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des deux plantes étudiées.....	34
<b>Tableau 5</b> : les valeurs d'IC <sub>50</sub> du test DPPH de chaque extrait.....	39

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Origine et expansion de l'olivier .....	6
<b>Figure 2</b> : Aspect morphologique de la plante <i>Olea europaea</i> L. et leurs parties.....	7
<b>Figure 3</b> : Répartition géographique des 14 espèces du genre <i>Phoenix</i> L.....	9
<b>Figure 4</b> : Définition espèce de palmier phoenix.....	10
<b>Figure 5</b> : Aspect morphologique de la plante <i>Phoenix canariensis</i> et leurs parties .....	11
<b>Figure 6</b> : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants .....	12
<b>Figure 7</b> : Les sources des radicaux libres.....	13
<b>Figure 8</b> : Structure du phénol .....	16
<b>Figure 9</b> : Classification des polyphénols .....	16
<b>Figure 10</b> : Structures chimiques de principaux polyphénols .....	17
<b>Figure 11</b> : Carte géographique montre la région de récolte les deux plantes étudiées .....	20
<b>Figure 12</b> : Procédure de l'extraction des composés phénoliques.....	22
<b>Figure 13</b> : Structure d'acide gallique .....	23
<b>Figure 14</b> : Courbes d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux .....	24
<b>Figure 15</b> : structure de la quercitrine .....	25
<b>Figure 16</b> : Courbes d'étalonnage de quercitrine pour le dosage des flavonoïdes .....	25
<b>Figure 17</b> : Structure chimique du radical DPPH <sup>•</sup> et de sa forme réduite.....	27
<b>Figure 18</b> : Représentation graphique du test DPPH de Vit C.....	28
<b>Figure 19</b> : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP .....	29
<b>Figure 20</b> : Le pouvoir réducteur de Vit C .....	30
<b>Figure 21</b> : Histogramme montre les rendements de l'extraction .....	32

<b>Figure22</b> : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes pour les différents extraits des plantes étudiées (Olivier et Palmier ; F : feuilles ;T: tige ;R :racines).....	35
<b>Figure23</b> : Comparaison les teneurs en polyphénols et flavonoïdes entre des deux plantes étudiées. ....	35
<b>Figure 24</b> : Représentations graphique du test DPPH des extraits des feuilles Olivier.....	37
<b>Figure 25</b> : Représentations graphique du test DPPH des extraits des tiges Olivier.....	37
<b>Figure 26</b> : Représentations graphique du test DPPH des extraits des racines Olivier.....	38
<b>Figure 27</b> : Représentations graphique du test DPPH des extraits des feuilles Palmier .....	38
<b>Figure 28</b> : Représentations graphique du test DPPH des extraits des tiges Palmier .....	38
<b>Figure 29</b> : Représentations graphique du test DPPH des extraits des racines Palmier .....	39
<b>Figure 30</b> : Les résultats des <b>IC50</b> de test DPPH pour les extraits des plantes étudiées .....	40
<b>Figure 31</b> : Le pouvoir réducteur des extraits d'Olivier testé par la méthode de FRAP. ....	41
<b>Figure 32</b> : Le pouvoir réducteur des extraits du Palmier testé par la méthode de FRAP. ....	42

# Abréviations

**1O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet

**AH** : Antioxydant oxydée

**AG** : Acide Gallique

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'Aluminium

**BHT321** : 3,5-Ditertiobutyl-4-Hydroxytolne

**BHA 320** : 3-Tertiobutyl-4-Hydroxyanisole

**C°** : degré Celsius

**C. *Humilis*** : *Chamaerops humilis*

**DPPH** : 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyle

**EGA** : Equivalant Acide Gallique

**ERO** : Espèce réactive oxygénée

**F** : feuilles

**Fe** : Fer

**FRAP** : Ferric Reducing Antioxydant Power

**HCl** : chlorure d'Hydrogène

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

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide Phosphotungstique

**HOCl** : Acide hypochlorique

**IC<sub>50</sub>** : concentration inhibitrice à 50%

**I%** : pourcentage d'inhibition

**LH** : Molécule Lipidique

**LOOH** : Lipide Hydroperoxyde

**MS** : Matière sèche

**NO•** : Monoxyde d'azote

**O** : *Olea europaea*

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxyde

**OH•** : Radical hydroxyle

**ONOOH** : Nitroperoxyde

**ONOO** : Peroxynitrite

**1O<sub>2</sub>** : Oxygène Singulet

**O<sub>2</sub><sup>o-</sup>** : Anion Superoxyde

**Ph** : *Phoenix*

**P** : *Phoenixcanariensis*

**Qr** : Qeurchitine

**R** : Racine

**Rd%** : Rendement

**RL** : Radical Libre

**RNS** : Espèces réactives de l'azote

**RO•** : Radical Alkoxyde

**ROO•** : Radical Peroxyle

**ROOH** : Peroxyde organique

**ROS** : Espèces réactives de l'oxygène

**SOD** : Super Oxyde Dismutase

**T** : tige

**TPTZ** : Tri pyridyltriazine

**Vit C** : Acide Ascorbique

# **Introduction Générale**

Depuis toujours, les hommes ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes, qui forment des sources riches en produits naturels pour soigner diverses maladies. Il est estimé qu'environ 60% à 75% de la population mondiale et 80% de la population Africaine recourt à la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins pour lesquelles la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs de ces dernières, c'est parce que' elles produisent une large gamme de composés phytochimiques qui sont utilisés par la plante comme un produit chimique de défense contre les prédateurs (**Laouini., 2014**).

Les composés phénoliques ont suscité ces dernières années un vif intérêt due la reconnaissance de leurs propriétés anti oxydantes et ainsi leurs implications probables dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Ces composés marquent de manière originale, une famille, un genre ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Chez les végétaux, ils sont soumis à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, ce qui témoigne d'une dynamique biochimique incontestable. Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers d'où l'importance croissante des études consacrées à ces composés (**Khelfallah. , 2013**).

L'Olivier est l'un des arbres les plus caractéristiques de la région méditerranéenne; il a une grande importance nutritionnelle, sociale, culturelle et économique sur les populations de cette région où il est largement distribué (**Claridge et Walton, 1992**). Immortel et sa durée de vie est très longue : plusieurs fois centenaires voire atteindre un millénaire. Il peut vivre jusqu'à 1000 ans et, si à cet âge canonique on le coupe, il produira immédiatement un rejet qui vivra lui aussi des centaines d'années. Il est parfaitement adapté au climat méditerranéen, En effet, la plupart de la superficie mondiale dédiée à cette culture se trouve, justement, dans le Bassin méditerranéen que se concentrent 95 % de la production et 85 % de la consommation mondiale. Il supporte parfaitement des sécheresses prolongées.

En Algérie, l'olivier compte environ 32 millions d'arbres (**Bensemmane, 2009 ; Mendil, 2009**), répartie sur une superficie d'environ 328.884 hectares (**Faostat., 2013**), soit 34,09% du verger arboricole national. L'oléiculture algérienne est située principalement dans la partie nord du pays, où la plupart des vergers (80%) sont situés dans des zones montagneuses avec des sols pauvres. L'Olivier présente une remarquable rusticité et une plasticité lui permettant de produire dans des conditions difficiles (adaptation à une large gamme de sol et une insuffisance de l'irrigation), mais sa productivité reste toujours limitée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques.

Les palmiers du genre *Phoenix*, bien que souvent considérés comme des arbres, sont des Angiospermes monocotylédones dioïque à port arborescent. Le genre *Phoenix* appartient à la famille des *Arecaceae*, comprenant plus de 2 800 espèces (**Govaerts & Dransfield, 2005**), ce qui en fait l'une des familles les plus importantes parmi les monocotylédones. Ces palmiers présentent plusieurs caractéristiques morphologiques uniques dans la famille des *Arecaceae* : les feuilles sont pennées, les folioles forment un V (indupliquées) et à la base de la feuille, elles sont modifiées en épines ou acanthophylles (**Dransfield et al., 2008**). Le genre *Phoenix* regroupe 14 espèces (**Govaerts & Dransfield, 2005**) distribuées depuis les îles de l'Atlantique (Macaronésie) jusqu'aux confins du Pacifique (plateau de la Sonde) et à travers les régions chaudes de l'Afrique et de l'Eurasie.

Les palmiers représentent un potentiel considérable par les énormes usages qu'ils peuvent proposer à partir des différentes parties de la plante : fruits, bourgeons, graines, coquilles de noix, fleurs, racines, feuilles, faux-tronc, ou stipe, et des différents produits qu'ils offrent, principalement de l'huile, de la sève, le chou-palmiste (ou cœur de palmier) et de l'amidon. Ils jouent un rôle important en tant que sources de matières premières, comestibles ou non. C'est même la famille de plante dont on recense le plus grand nombre d'utilisations.

En raison de valoriser les potentialités que culminent les extraits de ces deux espèces, que nous avons menés ce travail, en vue de mettre en évidence leur composition chimique et leur pouvoir antioxydant et antiradicalaire. D'où nous avons cherché à évaluer l'activité antiradicalaires des extraits éthanolique extraites à partir de différentes parties des deux espèces locales très connus pour leurs intérêts nutritionnels, biologiques écologiques et ethnopharmacologiques; qui ont été récoltées dans les environs du Aflou (ANFOUSS) au niveau de la willaya de **LAGHOUAT**.

Cette étude est entamée par cette introduction qui donne une idée de l'importance du thème abordé tout en exposant clairement les objectifs visés. Le choix des plantes est justifié d'une part par une vaste utilisation de ces plantes dans la médecine traditionnelle.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en trois parties :

- La première partie concerne l'étude bibliographique, commençant une description (les caractères botaniques et la systématique) des différentes espèces végétales, l'intérêt biologique et quelques travaux antérieurs réalisés sur ces plantes. suivi par quelques généralités sur les polyphénols, leur classification et quelques

activités biologiques attribués à différentes familles de ces composés, le stress oxydatif et les antioxydants ;

- La deuxième partie concerne le détail du matériel utilisé et les méthodes suivies pour évaluer l'activité antioxydante ;
- La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

Le manuscrit se termine par une conclusion et des perspectives.

# **Étude Bibliographique**

## 1. Description des plantes étudiées

### 1.1. L'olivier ; *Olea europaea* L.

L'olivier est classé dans la famille des Oléacées, famille unique de l'ordre des Ligustales (dicotylédones), le genre est appelé *Olea*, et comporte 30 espèces différentes réparties à la surface du globe (Abidi., 2010).

#### 1.1.1. Origine et répartition géographique

L'olivier est d'origine très ancienne, natif d'Asie, son premier foyer se trouve au niveau de la frontière irano-syrienne. Les scientifiques considéraient que les Oléastres étaient un groupe homogène confiné à l'Est du bassin méditerranéen et que l'ensemble des oliviers cultivés dérivent d'un seule et même groupe d'Oléastres (Loussert R. et Brousse G., 1978).

Dans l'hémisphère Nord, l'aire de culture de l'olivier se situe entre 30° et 45° de latitude nord et entre 30° et 45° de latitude sud (figure 01) (Civantos, 1998).

L'olivier est un arbre auquel le climat méditerranéen convient parfaitement: hivers doux, automnes au printemps pluvieux, étés chauds et secs, une grande luminosité. Il lui faut une moyenne annuelle de température comprise entre 13 et 22 °C. Le cycle végétale de l'arbre manifeste après le repos hivernal (de novembre à février) un réveil en mars-avril au cours du quel apparaissent les nouvelles poussées terminales et éclosent les bourgeons. En mai-juin, c'est la floraison. Le noyau du fruit se durcit en juillet-août et atteint sa taille normale en octobre. La maturation est alors plus en moins rapide suivant les variétés. Un arbre produit en moyenne de 15 à 50 kg d'olives, il peut donner 3 à 10 litres d'huile d'olive selon les variétés (Selaimia., 2018).



Figure 1 : Origine et expansion de l'olivier (Civantos, 1998)

### 1.1.2. Caractéristiques botaniques

L'arbre de l'olivier peut atteindre jusqu'au 15 mètres de hauteur et il peut vivre plus de 1000ans. Le bois d'olivier est brun clair veiné de marbrures sombres.

Les feuilles de l'olivier ne tombent pas, leur situation sur le rameau est dite "opposée", le pétiole est court. La face supérieure des feuilles est luisante vert foncé, tandis que la face inférieure présente un aspect argenté dû à la pruine.

Les fleurs de l'olivier sont blanches forment des grappes courtes.

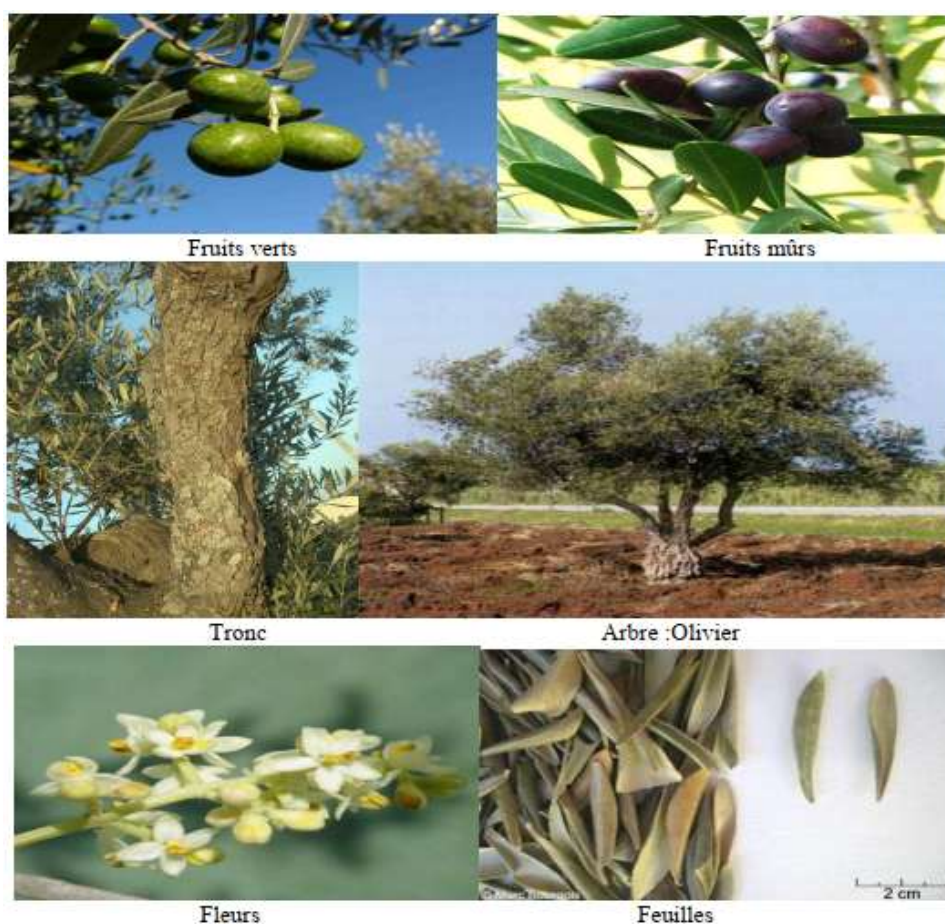
Le fruit, l'olive, est une drupe avec une pulpe charnue riche en matière grasse.

D'abord vert, il devient noir à maturité complète, vers octobre novembre. Il est constitué de trois parties:

Epicarpe, Mésocarpe (pulpe), Endocarpe (paroi de noyau).

Le noyau (amandon) est très dur, osseux, contient une graine, rarement deux

(Zhishen et al.,1999).Figure 2.



**Figure 2** : Aspect morphologique de la plante *Olea europaea* L.et leurs parties.

(ManAllah . ,2012)

### **1.1.3. La systématique de la plante**

La classification botanique de l'olivier selon GUIGNARD (2004) (Boursali, 2014).

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Astidées

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Oléacées

**Genre :** *Olea*

**Espèce :** *Olea europaea* L.

### **1.1.4. Composition chimique :**

La recherche phytochimique effectuée sur *Olea europaea* a conduit à l'isolement des flavonoïdes, des flavones glycosides, des flavanones, des iridoïdes, des glycosides, des secoiridoïdes, des triterpènes, des biophénols (Obied, 2013). Des dérivés de l'acide benzoïque, des isochromans, et quelques autres types de métabolites secondaires à partir de différentes parties.

Les composés phénoliques, les flavonoïdes, les secoiridoïdes (Jerman *et al.*, 2010). Sont présents dans presque toutes les parties de l'*Olea europaea*.

### **1.1.5. Utilisation et intérêt biologique**

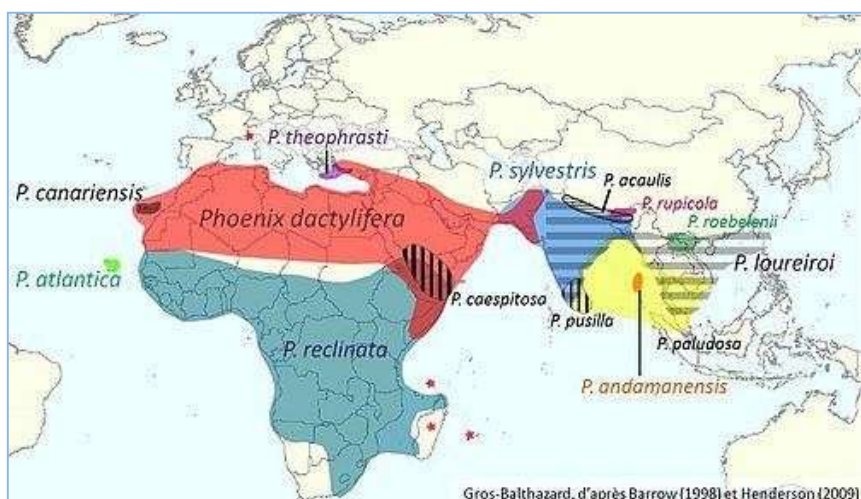
Les feuilles d'olivier, contiennent aussi des Flavonoïdes (antioxydant), ces antioxydants aident à neutraliser les radicaux libres, et jouent un rôle important dans la protection de la paroi artérielle. De plus, les feuilles d'olivier ont une action préventive sur l'artériosclérose et les maladies coronariennes, par ces propriétés elles diminuent le mauvais cholestérol (LDL) en augmentant le bon (HDL), ce qui en fait un inestimable complément du traitement du diabète non insulino-dépendant (Farhi., 2009).

## 1.2. Palmier ; *Phoenix canariensis* L

Le **dattier des Canaries** ou **palmier des Canaries** (*Phoenix canariensis*), parfois appelé **faux dattier** est un palmier appartenant au genre *Phoenix* et à la famille des Arécacées. L'épithète spécifique *canariensis* indique sa provenance : les îles Canaries (Chabaud., 1882 ).

### 1.2.1. Origine et répartition géographique

Le genre *Phoenix*, est l'unique genre de la tribu des *Phœniceae*, il regroupe 14 espèces, toutes originaires des régions tropicales, subtropicales ou arides d'Afrique ou d'Asie Figure 3. La relation étroite entre les 14 espèces du genre *Phoenix* est expliquée par la facilité d'hybridation et par la pollinisation croisée. Plusieurs hybrides naturels ont été donc obtenus : *Ph. dactylifera* x *Ph. sylvestris* en Inde, *Ph. dactylifera* x *Ph. canariensis* en Algérie et au Maroc et *Ph. reclinata* x *Ph. dactylifera* au Sénégal Figure 4 (Bentrad., 2017).



**Figure 3** : Répartition géographique des 14 espèces du genre *Phoenix* L (Bentrad., 2017).



**Palmier des Canaries**

*Phoenix canariensis* L.

**Le palmier dattier**

*Phoenix dactylifera* L.

**Palmier nain**

*Chamaerops humilis* L.

**Figure 4 :** Référence espèce de palmier phoenix. (Tirichine., 2010).

### 1.2.2. Caractéristiques botaniques

le stipe est solitaire, de couleur marron ou gris, et atteint jusqu'à 20 mètres de hauteur et 60 cm de diamètre, à l'âge adulte. Il est recouvert de la base des anciens pétiotes. la couronne se compose de plus d'une centaine de feuilles. Elles sont pennées et mesurent plus de 5 mètres de longueur. Le pétiole peut mesurer jusqu'à un mètre, et est recouvert d'épines sur ses bords. Les folioles sont de couleur verte. Elles sont étroites, rigides et disposées de manière irrégulière sur le rachis. Inflorescences sont des palmiers dioïques. Les inflorescences sont interfoliaires. Elles sont courtes chez les spécimens mâles, et longues et chargées de fruits chez les femelles pollinisées. Fruits ils ont une couleur marron-orange, virant à l'orange à maturité, et contiennent une graine de 1,5 cm en moyenne. Il existe également une variété de *Phoenix canariensis* à fruits rouges. Les fruits ne sont pas toxiques, mais ont un goût désagréable qui les rend impropres à la consommation (Chabaud., 1882 ).



**Figure 5 :** Aspect morphologique de la plante *Phoenix canariensis* et leurs parties (Google images).

### 1.2.3. La systématique de la plante

La hiérarchie suivante a été adoptée par GOVAERTS et DRANSFIELD (2005) (Ghobrini., 2009)

**Embranchement:** Spermatophyta

**Sous embranchement :** Magnoliophyta

**Classe:** Monocots

**Ordre:** Arecales

**Famille:** Arecaceae

**Genre :** *Phoenix*

**Espèce:** *Phoenix canariensis*

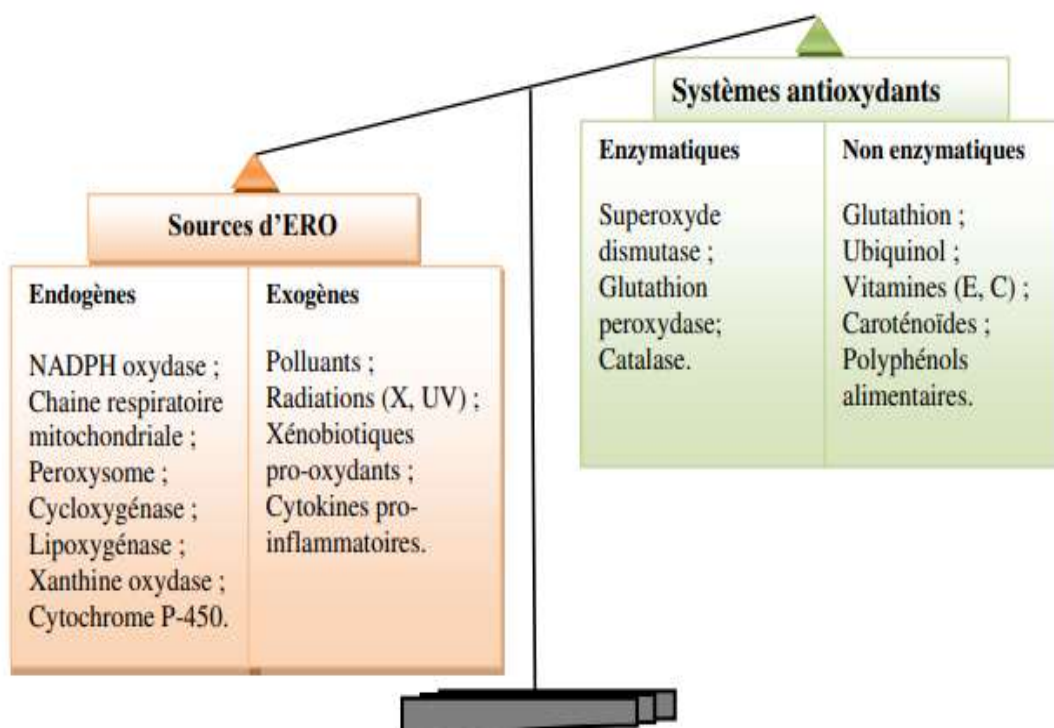
### 1.2.4. Utilisation et intérêt biologique

Une concoction aqueuse à partir des feuilles de palmier, est utilisée pour traiter le diabète. L'extrait aqueux des feuilles diminue le taux de cholestérol total et de triglycérides. Il a été suggéré dans cette étude que la plante peut devenir une bonne source antidiabétique et peut également être utile dans la gestion des complications secondaires du diabète (dyslipidémie)

Les résultats obtenus montrent que cet extrait a une activité antioxydante très importante. Cette activité semble être liée à la présence des composés phénoliques (Khoudali *et al.*, 2014).

## 2. Stress oxydatif et L'activité antioxydante

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (figure 6) (Boudjouref., 2011).



**Figure 6** : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants Achat., S. (2013).

### 2.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes, ou des molécules, avec un nombre impair d'électrons sur la loge extérieure, ils peuvent être dérivés de l'oxygène (ROS) ou d'azote (RNS). Ils sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité, leur temps de vie est généralement très court. (Dehimi., 2010)

### 2.1.1. Formes des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (Tableau 1), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule, et d'autre classification basé sur le type de radical en donnant deux groupes principales : des radicaux dérivé de l'oxygène (*Reactive oxygen species* : ROS) ou d'autres atomes comme l'azote (*Reactive Nitrogen Species* : RNS) (Trabsa., 2015).

Tableau 1: Différents types des espèces réactives (Trabsa., 2015).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	$NO^{\bullet}$	Oxygène singulet	$^1O_2$
Radical alkoxyde	$RO^{\bullet}$	Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$
Radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	$ROO^{\bullet}$	Peroxynitrite	ONOO

### 2.1.2. Sources des radicaux libres :

Les radicaux libres peuvent avoir des sources **endogènes** ou **exogènes** (figure 7).

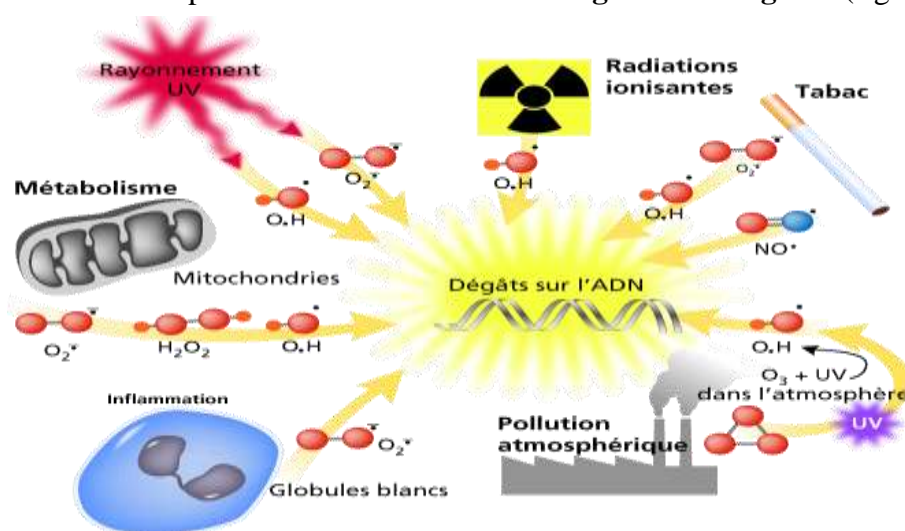


Figure 7 : Les sources des radicaux libres(Google images).

### **3.2- Les antioxydants:**

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres avant que les molécules vitales ne soient endommagées par ces radicaux. Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre (**Pelli et Lyly, 2003**).

#### **3.2.1. Sources d'antioxydants**

Les antioxydants peuvent être naturels ou synthétiques. Ils sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les microorganismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important d'antioxydants naturels comprend la vitamine E (Tocophérol), les flavonoïdes et autres composés végétaux. Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés en laboratoire, et principalement de composants chimiques (**Pelli et Lyly, 2003**).

#### **3.2.2. Les types d'antioxydants**

Les antioxydants forment un système de protection du corps contre les radicaux nocifs. Ce système peut être enzymatique, impliquant des enzymes telles que glutathion peroxydase, superoxyde dismutase et la catalase ; ou non enzymatique, impliquant des antioxydants obtenus à partir de l'alimentation tels que les vitamines E et C, les caroténoïdes, le sélénium, les folates, les flavonoïdes, les phytoestrogènes et les glucosinolates (**Dehimi., 2010**).

##### **3.2.2.1. Les antioxydants enzymatiques**

**La Superoxyde dismutase (SOD)** réagit contre les produits toxiques de métabolisme cellulaire, et catalyse la dismutation d'O<sub>2</sub><sup>•-</sup> en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Equation 1**) (**Papa et al ., 2014**). Cette enzyme associée à des cofacteurs métallique : ions de cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD) c'est une forme cytosolique et nucléaire, manganèse (Mn-SOD) c'est une forme mitochondriale et une forme extracellulaire (EC-SOD) (**Peng et al ., 2014**).

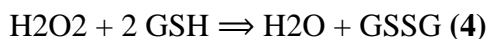


**La Catalase (CAT)** est une enzyme qui catalyse la transformation d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et oxygène moléculaire (**Equation 2**) (**Bonnefont-Rousselot et Collin, 2010**), et se

trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules (Tokarz *et al.*, 2014).



La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> et la réduction de divers hydroperoxydes lipidiques. Lors de cette réaction (Equation 3), deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion disulfure (GSSG) (Jacquot, 2013). Le GSSG ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) utilisant le NADPH comme donneur d'électron (Equation 4) (Foyer *et al.*, 2008 ; Lonn *et al.*, 2012). Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries (Trabsa., 2015).



### 3.2.2. 2. Antioxydants non enzymatiques

- **Endogène** : Composés de faibles poids moléculaires (glutathion, acide urique, bilirubine) et protéines chélatrices de métaux (ferritine, albumine).
- **Exogène** : Composés apportés par l'alimentation (vitamine C et E, caroténoïdes, polyphénols, flavonoïdes). (Meziti., 2008)

## 3. Les composés phénoliques

### 3.1. Généralité sur les polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux, non essentiels à la survie de la plante. Ils sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique et d'un ou plusieurs groupements phénoliques dans leur structure (Figure 8 ) (M'hiri., 2015) Il existe environ 8000 composés phénoliques, allant de molécules à bas poids moléculaire à d'autres hautement polymérisés. Ils peuvent être liés à un ou plusieurs résidus sucrés ou ils peuvent être liés avec d'autres composés chimiques, tel que les acides carboxyliques, les amines ou les lipides (Mratin et Andriantsitohaina ;2002)

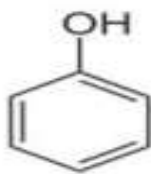


Figure8. Structure du phénol (M'hiri., 2015)

## 2.2. Classification des composés phénolique

La large variété de polyphénols peut être divisée en une dizaine de classes dont la structure chimique (figure 9) peut être répartie en deux grands groupes, les **flavonoïdes** et les **nonflavonoïdes** (figure 10) (Belhaoues., 2017)

- Les composés non-flavonoïdes regroupent les acides phénoliques et les stilbènes ; Ils ne possèdent pas de squelette « flavone ».
- Les composés flavonoïdes Ce sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Ces composés ont une structure de base formée de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique (Fellahi., 2018).

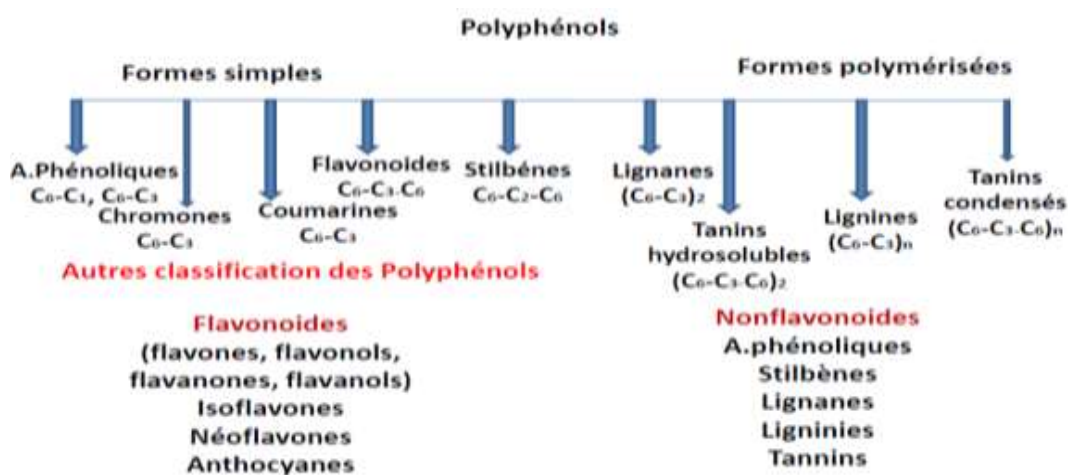


Figure 9 : Classification des polyphénols (Fellahi., 2018).

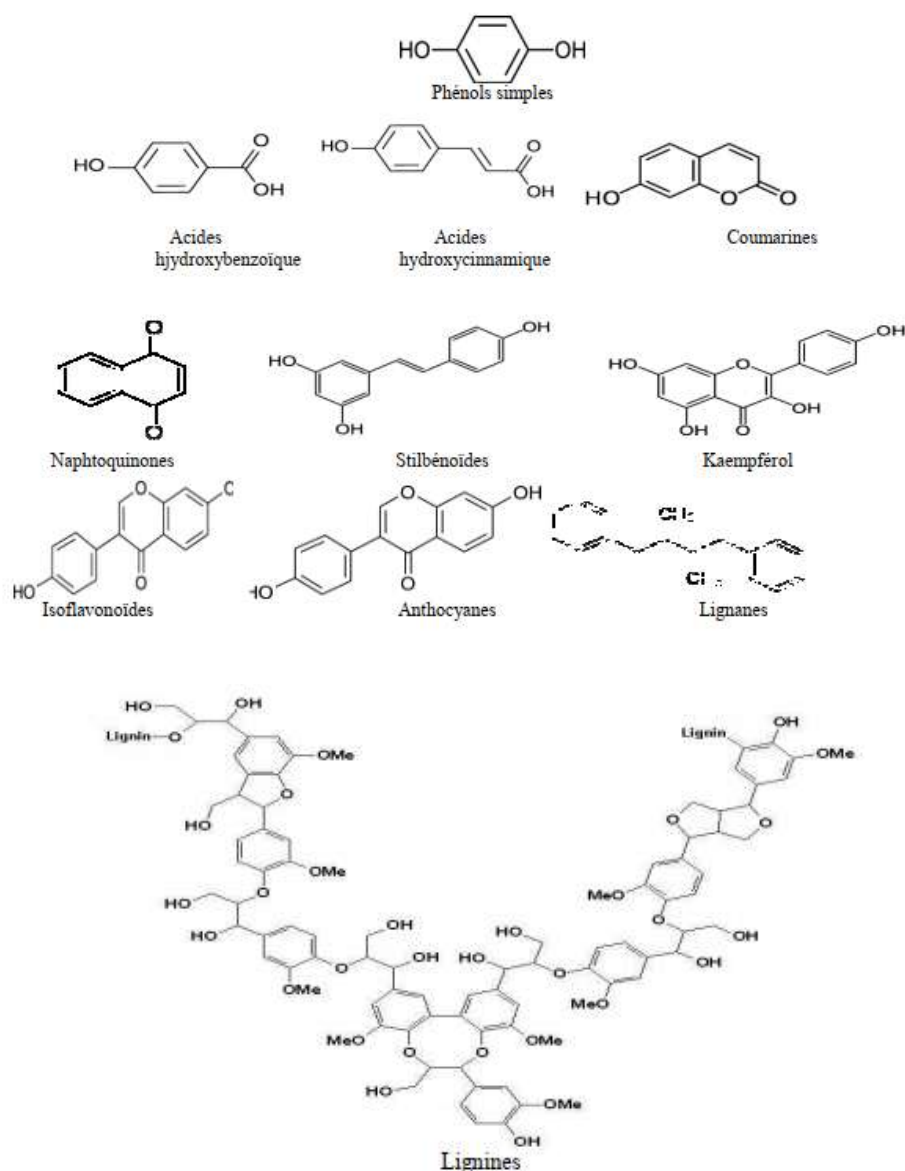


Figure 10 : Structures chimiques de principaux polyphénols (ManAllah . ,2012)

## 2. 3. Propriétés biologiques des polyphénols

### 2. 3. 1. Chez les végétaux

- Les polyphénols ont un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance.
- Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets .
- Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs.

- Représentent un système de défense contre les microorganismes pathogènes  
**Labiou, R. (2016)**

### 2.3.2. Chez homme

**Tableau 02 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques selon (Kebbab., 2014)**

<b>Composés phénoliques</b>	<b>Activité biologique</b>
<b>Acides Phénols</b>	Antifongique, antioxydante Antibactérienne
<b>Tanins</b>	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, antidiarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur.
<b>Flavonoïdes</b>	Antitumorale, anticarcinogène, anti-inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur, diurétique.
<b>Coumarines</b>	Anticoagulante, antioxydante, protectrice vasculaire et antioedémateuse.
<b>Anthocyanes</b>	Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant
<b>Proanthocyanidines</b>	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, antitumoraux, antifongiques et anti-inflammatoires.
<b>Tannins galliques et catéchiques</b>	Antioxydantes
<b>Lignanes</b>	Anti-inflammatoires, analgésiques

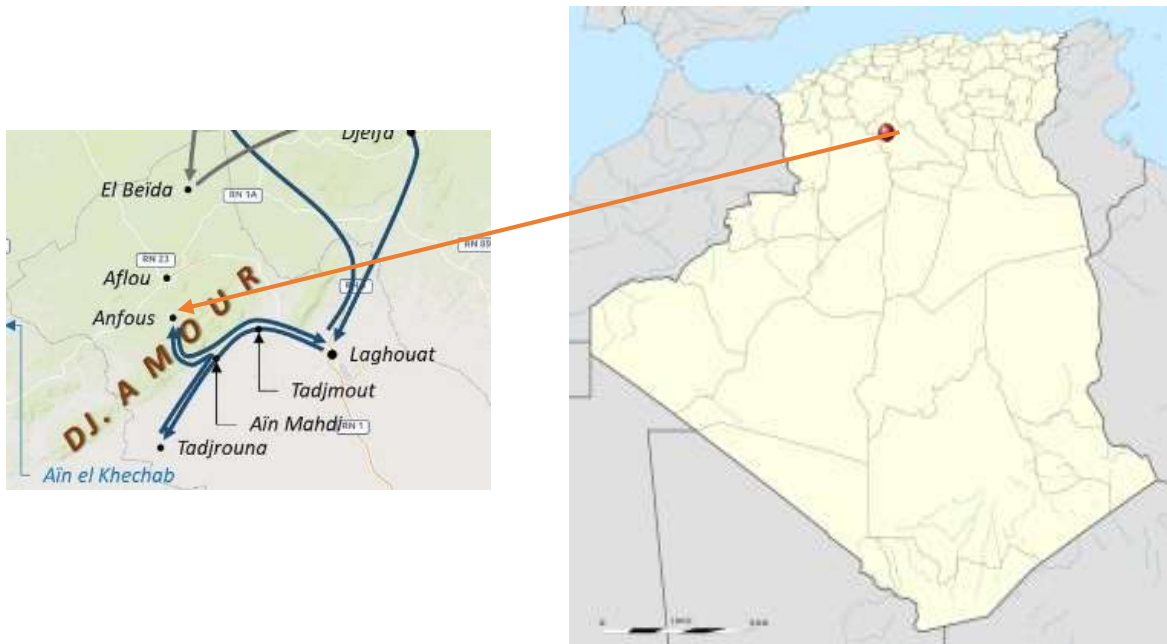
# **Matériels et Méthodes**

Notre travail à été réalisé au sein du laboratoire de Biochimie, département de biologie Université Ammar Telidji-LAGHOUAT. Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antiradicalaire des composés phénoliques des deux plantes largement utilisées en nutrition et dans la médecine traditionnelle à savoir l'**Olivier** (*Olea europaea* L.) et le **Palmier** (*Phoenix canariensis* L.) en utilisant les méthodes de piégeage des radicaux libre DPPH et le test de FRAP.

## 1. Matériels vegetates

### 1.1. Choix de la plante

Notre étude, a été réalisée sur deux plantes connus pour leurs intérêts nutritionnels, biologiques écologiques et ethnopharmacologiques, ont été récoltées dans les environs du flou (ANFOUSS) a willaya de **LAGHOUAT**, pendant le mois de FEVRIER 2020 (figure11).



**Figure 11** : Carte géographique montre la région de récolte les deux plantes étudiées

## **1.2. Prétraitement des échantillons**

Après la récolte, trois parties (feuilles, tiges, racines) de chaque plante ont été séchées à température ambiante, à l'abri de la lumière et dans un endroit sec et bien aéré. Une fois séchées, ils ont été broyées et tamisées en vue d'obtenir la même granulométrie, et conservées dans des sacs en papier bien fermés jusqu'à son utilisation pour l'extraction.

## **2. Méthode d'extraction des polyphenols**

Les composés phénoliques ont été extraits selon la méthode décrite par M.G.L. HERTOOG (1995). Cette méthode comporte trois étapes :

### **A. Macération**

1g de chaque matière végétale (feuilles, tiges et racines) des populations des deux espèces étudiées sont ajoutés à 100 ml d'une solution d'éthanol. Le mélange est macéré à froid pendant 24 heures à température ambiante et à l'obscurité. L'extrait est séparé du tourteau par filtration sur papier filtre (Whatman 0.7 $\mu$ m). Après filtration, le mélange a été évaporé à sec sous pression réduite à 40°C.

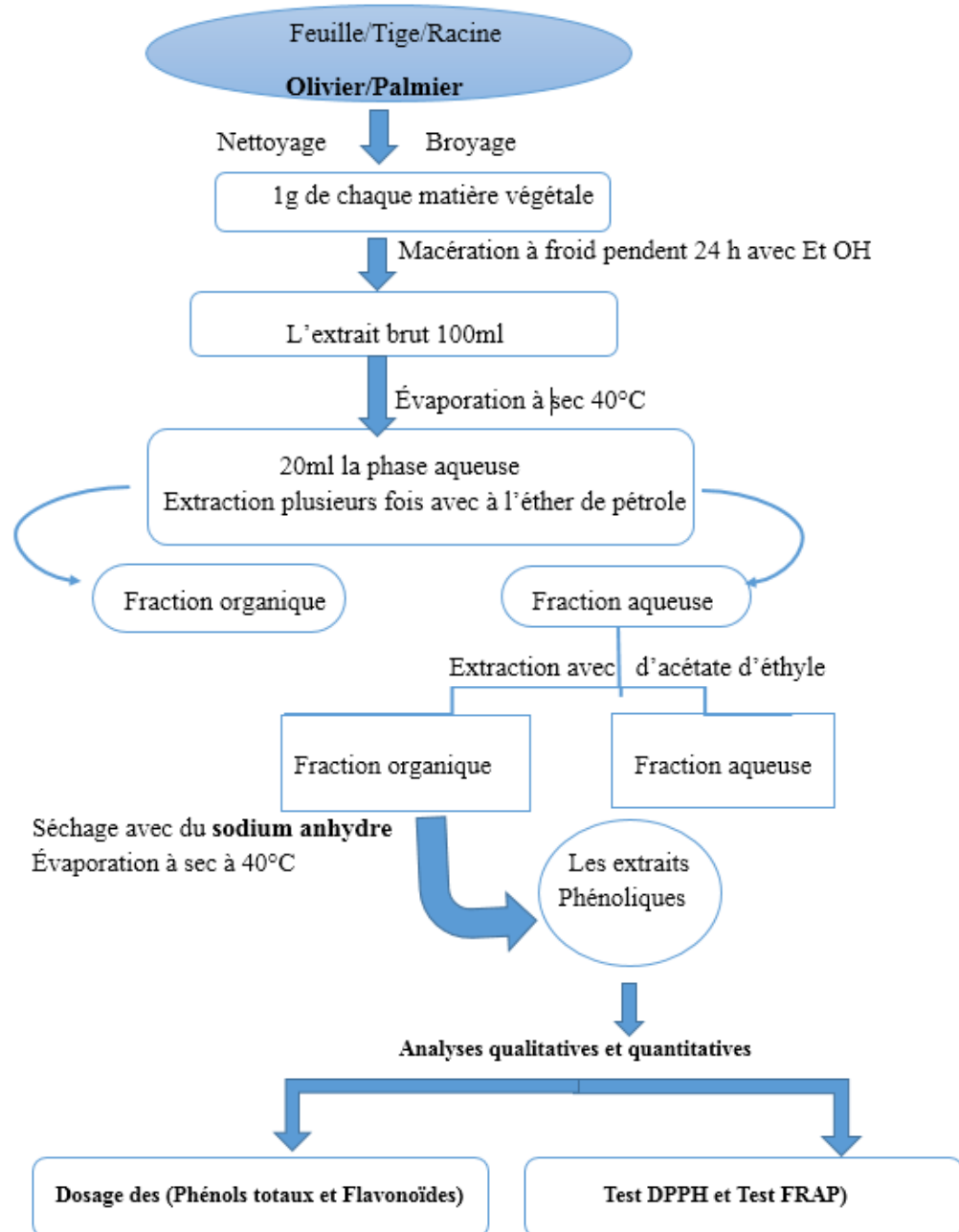
### **B. Dépigmentation**

La phase aqueuse ainsi obtenue est lavée 3 fois avec 25 ml d'éther de pétrole, jusqu'à l'épuisement des pigments et des lipides.

### **C. Purification**

La phase aqueuse a subi une décantation avec l'acétate d'éthyle (v/v), Par l'ajout de deux solutions aqueuses l'une de sulfate d'ammonium (20%) et l'autre de l'acide ortho-phosphorique (2%), qui facilitent le passage des substances phénoliques vers la phase organique. Les extraits organiques ainsi obtenus sont séchés avec du sodium anhydre (pour éliminer toute trace d'eau après extraction liquide-liquide) puis évaporés à sec à pression réduite à 40°C. Les résidus secs sont repris dans 10 ml de méthanol pur donnant la fraction phénolique correctement purifiée et conservée au réfrigérateur jusqu'à leur analyse) (HadjAissa., 2004).

La procédure d'extraction des deux espèces d'Olivier et Palmier est schématisée dans la figure 12, il consiste à effectuer une extraction solide-liquide par macération puis une dépigmentation par extraction liquide-liquide ensuite ils ont passé par la procédure de purification. Les extraits phénoliques subissent par la suite un ensemble d'analyses qualitatives et quantitatives.



**Figure12** : Procédure de l'extraction des composés phénoliques

Le rendement de l'extraction est déterminé à l'aide de l'équation suivante :

$$Rd\% = \frac{Mex}{Mmv} .100$$

**Rd%** : Rendement exprimé en %.

**Mex** : La masse en gramme de l'extrait sec

**Mmv** : La masse en gramme de matériel végétal.

Le rendement d'extraction est exprimé en gramme de résidu sec par 1 gramme de la matière sèche

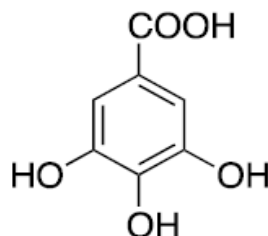
### 3. Dosage des composés phénoliques

#### 3.1 Dosage des phénols totaux

- **Principe**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé avec la méthode de Folin-Ciocalteu. Nous avons utilisé l'acide gallique comme standard Figure 13. En se basant sur la valeur d'absorbance de la solution de l'extrait, ayant réagi avec le réactif de Folin-Ciocalteu et comparée à la solution étalon en équivalence d'acide gallique (**Bentabt *et al.*, 2014**).

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximal est comprise entre 725 et 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les différents extraits. (**Boizot ; Charpentier.,2006**).

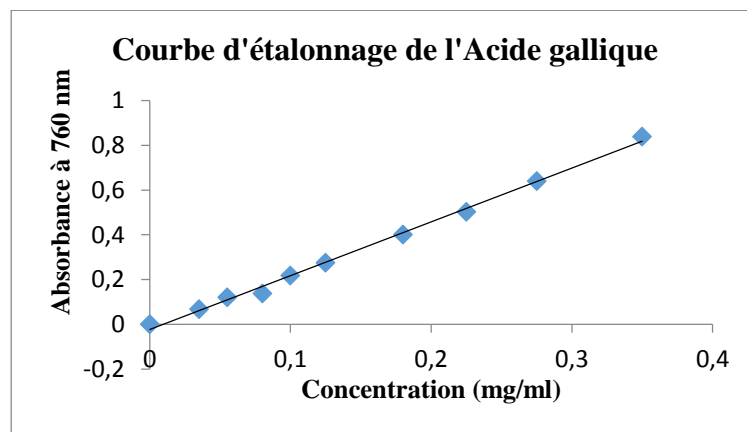


**Figure 13** : Structure d'acide gallique (**Bouchouka., 2016**).

- **Mode opératoire**

100µl de chaque extrait dilué dans le méthanol est mélangé avec 500µl du réactif de Folin Ciocalteu dilué dans méthanol et laissés agir 2 min, puis 2 ml d'une solution de carbonate de sodium NaCO<sub>3</sub> (20%) sont ajoutés au mélange avec 1 ml d'eau distillée, l'incubation se fait à l'obscurité pendant 2 heures. La lecture est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760nm (HadjAissa., 2004).

La courbe d'étalonnage était obtenue par les mêmes étapes en utilisant une gamme d'étalon d'acide gallique Figure 14. Les résultats sont ensuite calculés en mg de phénols totaux équivalent d'acide gallique (GAE) par gramme de l'extrait sec.

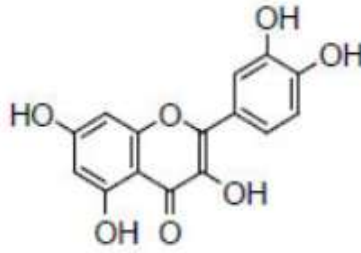


**Figure 14** : Courbes d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

### 3.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

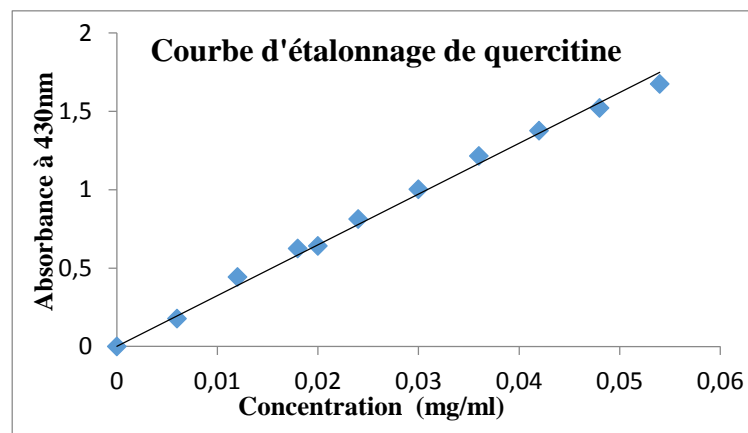
Le trichlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes. Ce complexe de coloration jaune, absorbe à une longueur d'onde de 430nm. Pour établir une courbe d'étalonnage, nous avons choisi la quercétine (figure15) comme standard pour quantifier les teneurs en flavonoïdes dans nos extraits (Maidi., 2014).



**Figure 15** : structure de la quercitrine (Marfek., 2003).

- **Mode opératoire**

À partir d'une solution méthanolique de la quercetine, des solutions diluées ont été préparées. 1 ml de chaque solution diluée ou de l'extrait dilué dans le méthanol est mélangé avec 1 ml de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) 2 % (m/v), ensuite, les solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc. Les valeurs ainsi obtenues, nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la quercetine Figure 16 (HadjAissa., 2004).



**Figure 16** : Courbes d'étalonnage de quercitrine pour le dosage des flavonoïdes.

La concentration des composés phénoliques a été déterminée par la formule suivante :

$$C = D \left( \frac{A}{K} \right) \left( \frac{V}{P} \right) \quad (\text{ManAllah., 2012})$$

D'où :

**C** : Concentration de phénols totaux /flavonoïdes en mg/g.

**A** : L'absorbance à  $\lambda = 760$  nm (Phénols totaux) / $\lambda=430$  nm (Flavonoides).

**K** : Tangente de la courbe.

**D** : Nombre de dilution.

**V** : Volume de récupération de l'extrait (ml).

**P** : Le poids d'initial de la plante (1 g).

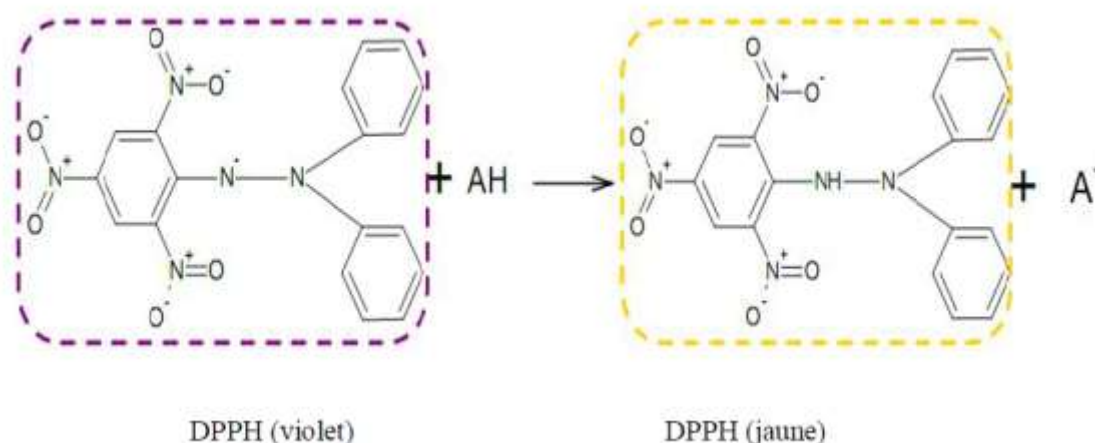
### **3. Évaluation de l'activité anti radicalaire (*in vitro*)**

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits polaires. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude, nous avons utilisé deux tests chimiques différents : l'effet scavanger d'un antioxydant sur le radical 2,2diphényl1-1-picryl-hydrazyl (DPPH), et le test Ferric Reducing Antioxydant Power assay (FRAP) qui mesure le pouvoir de réduction des ions de fer.

#### 4. 1. Effet scavenger du radical libre DPPH

La mesure de l'activité anti-radicalaire a été testée selon la méthode de Blois 1958, telle qu'elle a été décrite par (Brand-Williams *et al* 1995) avec quelques modifications. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) en solution dans le méthanol. L'addition d'un antioxydant dans une solution de DPPH conduit à une décoloration et réduit le radical DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune (Diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002) qui est directement proportionnelle à la capacité antioxydant du produit ajouté (Figure 17).

Cette décoloration peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm. Elle fournit donc un moyen pratique de mesurer l'activité antioxydante des extraits huileuse.



**Figure 17** : Structure chimique du radical DPPH<sup>•</sup> et de sa forme réduite (Bouchouka., 2016).

- **Mode opératoire**

100 µl de chaque extrait est dilué par 900 µl de méthanol, puis on ajoute à chacun d'eux un volume (20 µl – 100 µl) de la solution mère et on complète le volume avec le méthanol jusqu'à 500 µl, afin d'obtenir des solutions de différentes concentrations. Ces concentrations ont été ajoutées à 500 µl de la solution de DPPH fraîchement préparée. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et incubé 30 min à l'obscurité. Les absorbances ont été mesurées à 517nm (HadjAissa., 2004).

Un standard de référence représenté par l'acide ascorbique a également été analysé en respectant la même procédure (Figure 18).

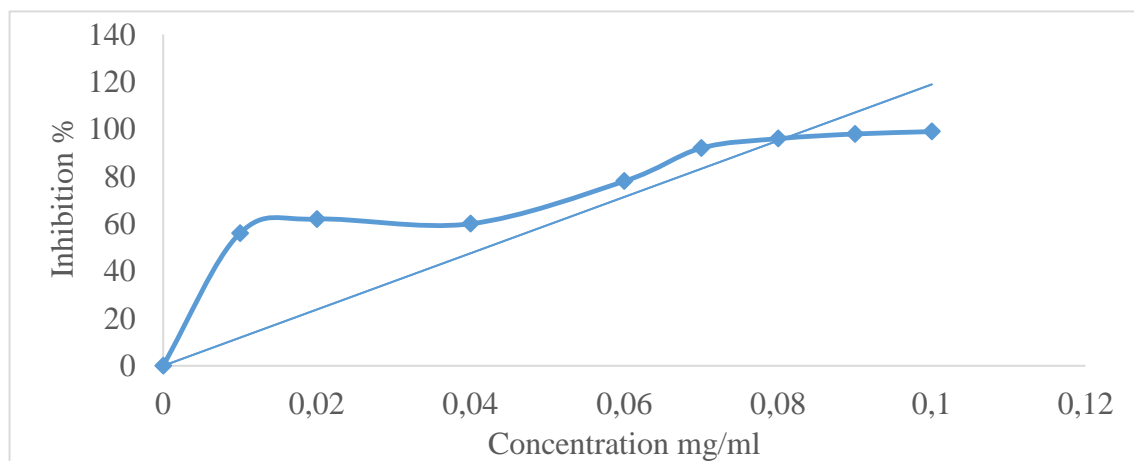
Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$I\% = \frac{[(Abs\ controle - Abs\ extrait)]. 100}{Abs\ controle}$$

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait

Une courbe de régression linéaire qui relie les différentes concentrations et les pourcentages d'inhibition appropriés permet de calculer les IC50 qui correspondent aux concentrations des échantillons qui entraînent 50% d'inhibition du radical DPPH. Notons que l'activité antioxydante est inversement proportionnelle à la valeur de l'IC50. Ainsi, l'échantillon qui présente l'IC50 la plus faible est celui qui présente l'activité antiradicalaire la plus importante (Belhaoues., 2017).



**Figure 18 :** Représentation graphique du test DPPH

#### 4.2. Test FRAP

Le test FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*) est une méthode de mesure de la puissance des substances de nos extraits à réduire le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux Fe<sup>2+</sup>. C'est une technique rapide, facile et reproductible (Figure 19). La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydant potentielle (Bentabte., 2014).

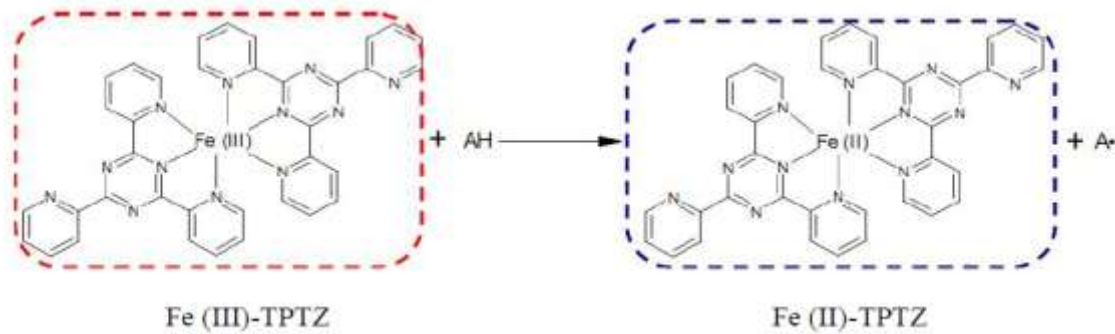
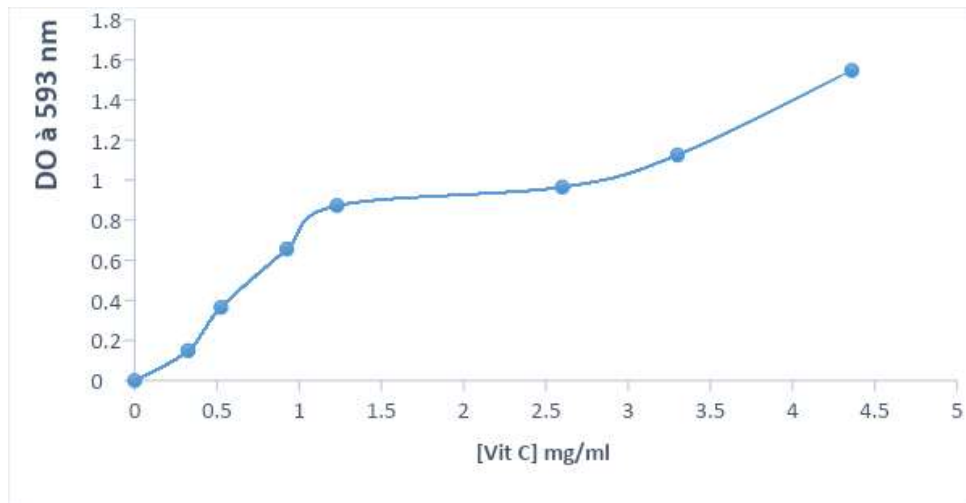


Figure 19 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP (Bouchouka., 2016).

- **Mode opératoire**

- ✓ Une solution tampon de 300 mM d'acétate, PH = 3.6 [3.1g d'acétate du sodium tri-hydraté (Riedel-dettæn, Geramny), plus 16 d'acide acétique glaciaire, dissoutes dans 1 litre d'eau distillé].
- ✓ Une deuxième solution, est préparée de 10Mm (0.01562g) TPTZ dissoute dans 5ml de HCL [40 mM (825µl de HCL dans 250ml d'eau distillée)].
- ✓ 0.5406 g de FeCl<sub>3</sub> (20mM) dans 100ml d'eau distillé.
- ✓ Le réactif de la méthode du FRAP (TPTZ) a été obtenu en mélangeant une solution de tripyridyltriazine (TPTZ), une solution tampon d'acétate de sodium et une solution FeCl<sub>3</sub> dans les proportions 1:10:1.
- ✓ 100 µl de chaque extrait dilué à ajouté à 1 ml de solution de FRAP et l'absorbance a été mesurée après 10 min à 593 nm. (HadjAissa., 2004)

Un standard de référence représenté par l'acide ascorbique a également été analysé en respectant la même procédure (Figure 19).



**Figure 20** : Le pouvoir réducteur de Vit C.

# **Résultats et discussions**

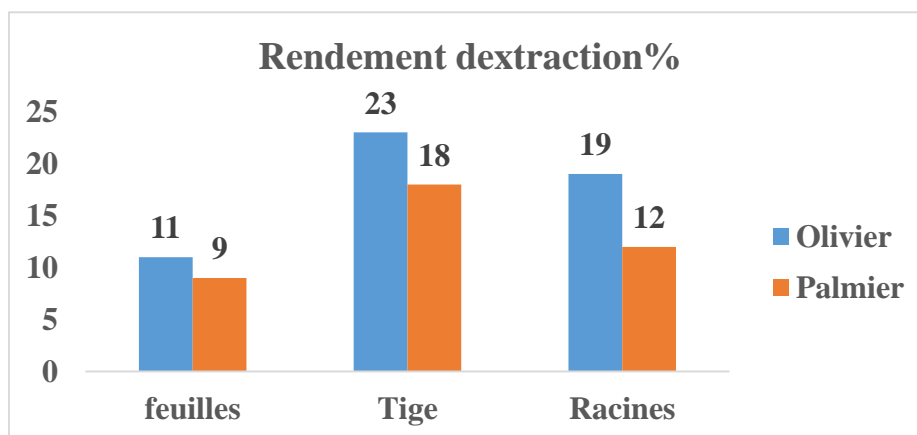
## 1. Détermination du rendement d'extraction

L'extraction par macération éthanolique des différentes parties (feuilles, tige et racines) des plantes étudiées nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait, notamment les extraits bruts de l'éthanol. Le rendement, qui a été déterminé en masse d'extrait par rapport à matière végétale sèche, est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau 3.

**Tableau 3** : Les rendements des extraits des plantes étudiées

La plante	Partie d'extrait	Couleur	Aspect	Masse (g)	Rendement%
<i>Olea europaea</i>	feuilles	Vert	Poudre	0,11	11
	Tige	Jaune	Poudre	0,23	23
	Racines	Blan casse	Poudre	0,19	19
<i>Phoenixcanariensis</i>	Feuilles	Vert foncé	Poudre	0,09	9
	Tige	Vert claire	Poudre	0,18	18
	racines	Blan casse	Poudre	0,12	12

En comparant les résultats de rendement de l'extraction pour la plante *Olea europaea* et *Phoenixcanariensis*, nous constatons que l'extrait olivier enregistre un fort rendement dans trois parties par rapport au palmier Figure21.



**Figure 21** : Histogramme montre les rendements de l'extraction.

Concernant les extraits éthanolique d' *Olea europaea* , le rendement le plus élevé est celui du tige de 23 %, suivi par les extraits des racines et les feuilles avec des pourcentages de 19 % et 11% respectivement. D'autres travaux ont montré que le rendement en polyphénols obtenu à partir des extraits méthanoliques de 1g des feuilles donnent un rendement élevé de 23,79% (Zerriouh., 2018). Le rendement d'extraction varie selon la nature du matériel végétal ainsi que la méthode et le solvant d'extraction.

Concernant les extraits du *Phoenixcanariensis* on remarque que l'extrait des tiges enregistre un fort rendement de l'ordre de 18 % suivi par l'extrait des racines à 12%. Tandis que l'extrait des feuilles présente le rendement le plus faible 9% ; Celui-ci est inférieurs du résultat obtenu par (Tirichine., 2010) avec un rendement de la fraction méthanoliques des feuilles du palmier dattier sont inférieurs à 29% mais plus élevés que les rendements des extraits des feuilles *P. canariensis* sont 22,73% et des feuilles *C. humilis* de 22,41%. mais mais plus élevés que les rendements des extraits hexaniques qui ne dépassent pas les 15% par(Tirichine., 2010).

Le rendement d'extraction est tributaire de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la nature de l'espèce végétale et l'organe utilisé, la taille des particules, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation. L'utilisation d'un mélange hydroalcoolique comme solvant donne des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction (Bouchouka., 2016).

## **2.Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes**

Les analyses quantitatives des phénols totaux et des flavonoïdes sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées successivement en mg équivalent de l'acide gallique ou de quercitrine par un gramme de la matière sèche (tableau 4)

Ils montrent une grande variabilité du taux des polyphénols et des flavonoïdes non seulement dans les extraits issus d'un même organe, mais aussi des différences très significatives par comparaison aux teneurs obtenues entre les deux plantes étudiée

**Tableau 4 :** Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des deux plantes étudiées

Les extraits		Phénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EQR/g MS)
<i>Olea europaea</i>	Feuilles	92,164±0,323	8,953±0
	Tige	17,015±0,095	1,865±0,401
	Racines	110,842±0,565	1,662±0,4835
<i>Phoenix canariensis</i>	Feuilles	31±0,110	7,848±0,336
	Tige	29,888±0,041	2,888±0,242
	Racines	106,75±0,186	3,200±0,402

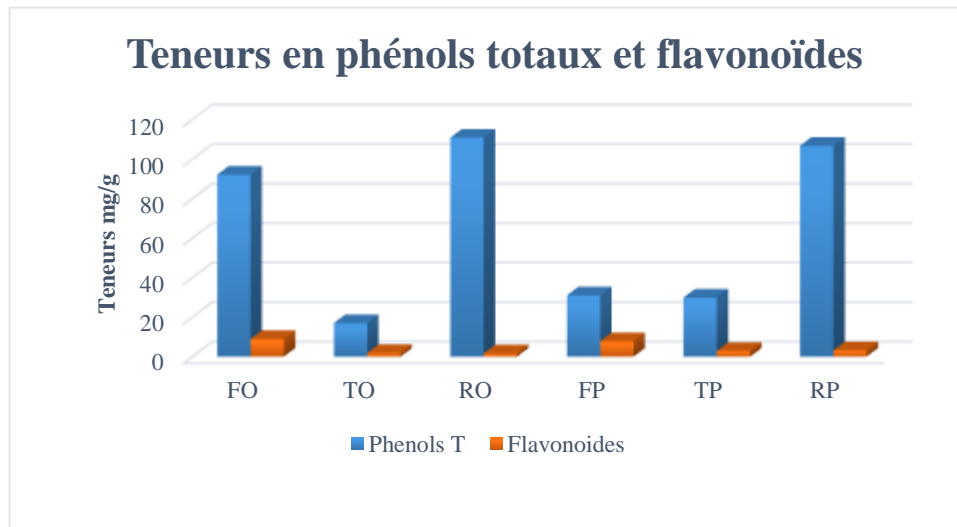
Les valeurs sont présentées par la moyenne et son écart type de deux mesures.

Les teneurs en phénols totaux dans toutes les extraits éthanoliques des trois parties des plantes étudiées ont été déterminées par la méthode de réactif de Folin-Ciocalteu.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 04, nous remarquons que :

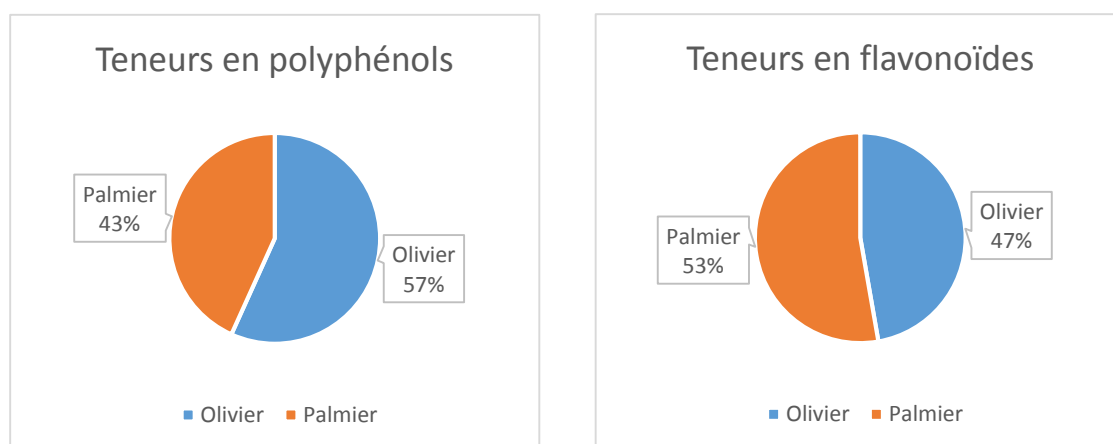
- les teneurs en phénols totaux varient largement entre les extraits bruts (de 17,015 à 110,842 mg EAG/g MS).
- Parmi les deux espèces étudiées, l'extrait des racines *Olea europaea* possèdent la meilleure teneur (110,842±0,565mgEAG/g MS). Les extraits des feuilles présentent des teneurs en composés phénoliques très élevées par rapport aux teneurs de tige (92,164±0,323et 17,015±0,095mg EAG/g MS) respectivement.
- Pour la Teneur en des extraits de *Phoenix canariensis* présente des teneurs plus élevées de phénols totaux dans les racines, feuilles et tiges (106,75±0,1865 et 31±0,1105 et 29,88889±0,041mg EAG/gMS) respectivement.
- Les teneurs en flavonoïdes de tous les extraits varient dans l'intervalle de (1,662à 8,953 mg EQR/g MS). les feuilles d' *Olea europaea* et feuilles de *Phoenixcanariensis* enregistre un teneurs plus enlevée en flavonoïdes *para pport* racines et tiges enregistre un teneurs mois enlevée pour Palmier (8,953±0 et 7,848±0,336 et

3,200±0,402 et 2,888±0,242mg EQr/g MS) respectivement ;et teneurs plus faibles pour les extraits de tige et racines d' *Olea europaea* (1,865±0,401et1,662±0,483mgEAG/g MS) respectivement. Figure 22)



**Figure22 :** Teneurs en polyphénols et flavonoïdes pour les différents extraits des plantes étudiées (O : *Olea europaea* et P : *Phoenixcanariensis*; F : feuilles ; T: tige ;R :racines)

Ils montrent une grande variabilité du taux des polyphénols et en flavonoïdes non seulement dans les extraits issus d'une espèce à une autre, mais aussi des différences très significatives par comparaison aux teneurs obtenues entre les différentes parties d'une même espèce (Figure 23). nous remarquons les extraits éthanolique *Olea europaea* sont plus riche en polyphénols avec **57%** par port les extraits du : *Phoenixcanariensis* **43%**, mais les teneurs des flavonoïdes sont plus élevée aux extraits du *Phoenixcanariensis* **53%** par contre les extraits *Olea europaea* **47%**.



**Figure23 :** Comparaison les teneurs en polyphénols et flavonoïdes entre des deux plantes étudiées.

En comparant ces résultats avec ceux obtenus par (Zeriouh., 2018), qui ont trouvé que les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extrait méthanolique des feuilles d' *Olea europaea* sont : (220,09±3,50mg eq AG/ g MV), (85,26±2,96 mg eq Cat / g MV) respectivement, des résultats qui sont nettement supérieur à nos résultats.

La variation de la concentration des composés phénoliques dans les feuilles d' *Olea europaea*, citée dans la littérature, dépend de la variété de l' *Olivier* (exemple : cultivé ou sauvage), des conditions climatiques, de temps de récolte des échantillons des feuilles, de l'âge des plantations et des échantillons des feuilles. En plus de ces facteurs de variabilité, il s'ajoute l'effet de la méthode de préparation des feuilles d' *Olivier* (déshydratation et broyage), du procédé et des techniques d'analyses qualitative et quantitative des composés phénoliques (Arab *et al.*, 2013).l'impact de type du solvant sur l'extraction des composés phénoliques est largement discuté dont l'utilisation de mélange de solvants organiques polaires (éthanol, méthanol) avec de l'eau est souvent recommandé (Gacioui, 2014) .

Les travaux réalisés par (Tirichine., 2010) sur les feuilles de quelques cultivars *Phoenix* les extraits méthanoliques de *Phoenix canariensis* L., sont les plus riches en polyphénols totaux dont les teneurs sont supérieures à 200 mg d'EAG/g d'extrait méthanolique sec et *Chamaerops humilis* L sont moins riches en polyphénols totaux dont les teneurs sont inférieures à 100 mg d'EAG/g d'extrait méthanolique sec. De même que les teneurs en flavonoïdes des extraits du *Phoenix canariensis* L présentent de très fortes teneurs en flavonoïdes est qui sont supérieures à 60 mg d'EC/g d'extrait méthanolique sec, tandis que dans les extraits du *Chamaerops humilis* L par (Tirichine., 2010), qui présente une teneur très faible de 8 mg d'EC/g d'extrait méthanolique sec. Cette dernière résultat sont nettement proche à nos résultats d'extrait éthanoliques des feuilles de *Phoenix canariensis* L.

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs: Facteurs climatiques et environnementaux ...etc. (Ebrahimi *et al.*, 2008) ; Le patrimoine génétique; la période de la récolte; le stade de développement de la plante (Miliauskas *et al.*, 2004). La méthode de quantification peut également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux et flavonoïdes (Lee *et al.*, 2003).

### **3.Étude du pouvoir antioxydant des extraits des deux plantes étudiées**

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits des plantes a été réalisée par deux techniques chimiques Le piégeage du radical libre DPPH et la réduction de fer FRAP.

### 3.1. Évaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH

La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits des plantes étudiées. Nous avons déterminé la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC50), qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait étudié en utilisant la courbe de régression linéaire :  $y = ax + b$  Figure 24 a Figure 29.

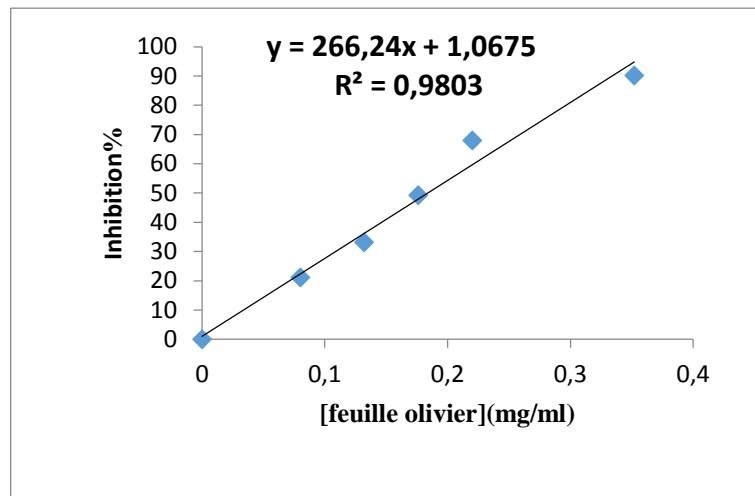


Figure 24 : Représentations graphique du test DPPH des extraits des feuilles olivier.

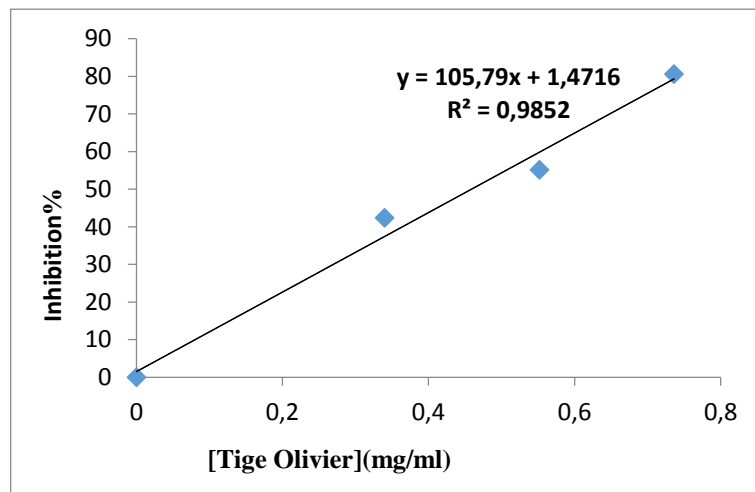


Figure 25 : Représentations graphique du test DPPH des extraits des tiges olivier

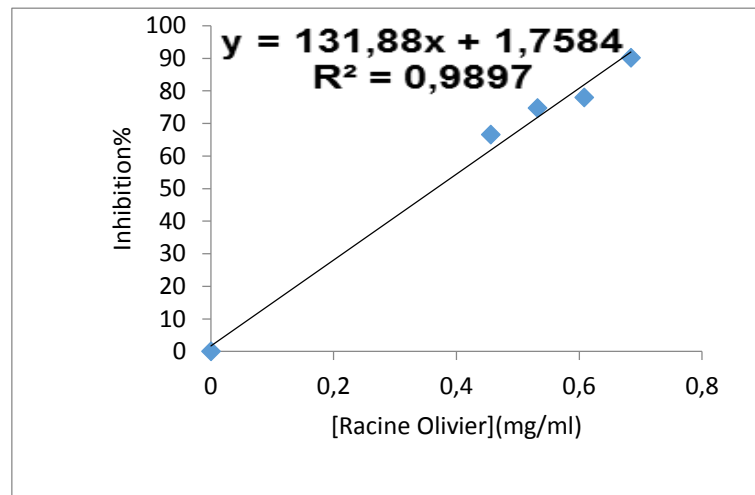


Figure 26 : Représentations graphique du test DPPH des extraits des racines olivier

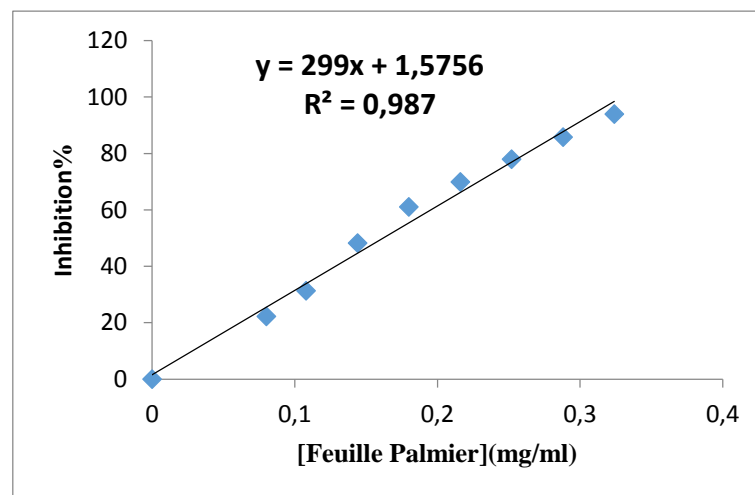


Figure 27 : Représentations graphique du test DPPH des extraits des feuilles Palmier.

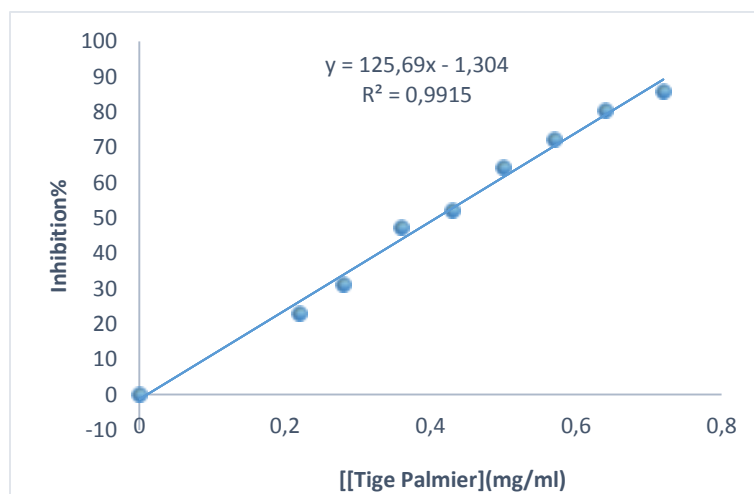
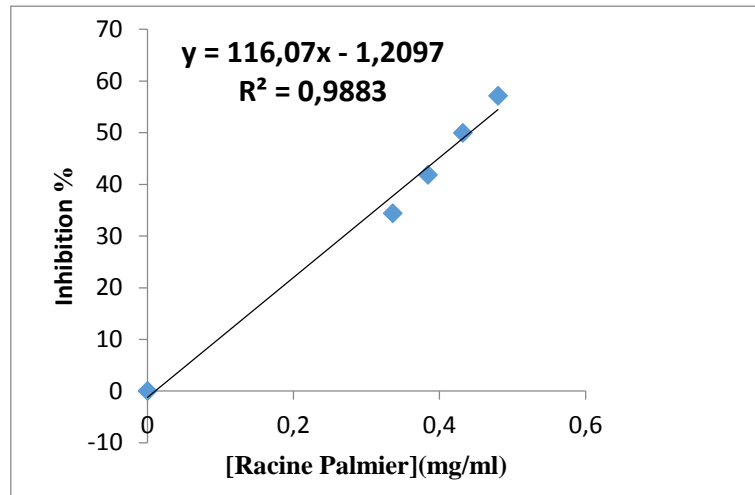


Figure 28 : Représentations graphique du test DPPH des extraits des tiges Palmier.

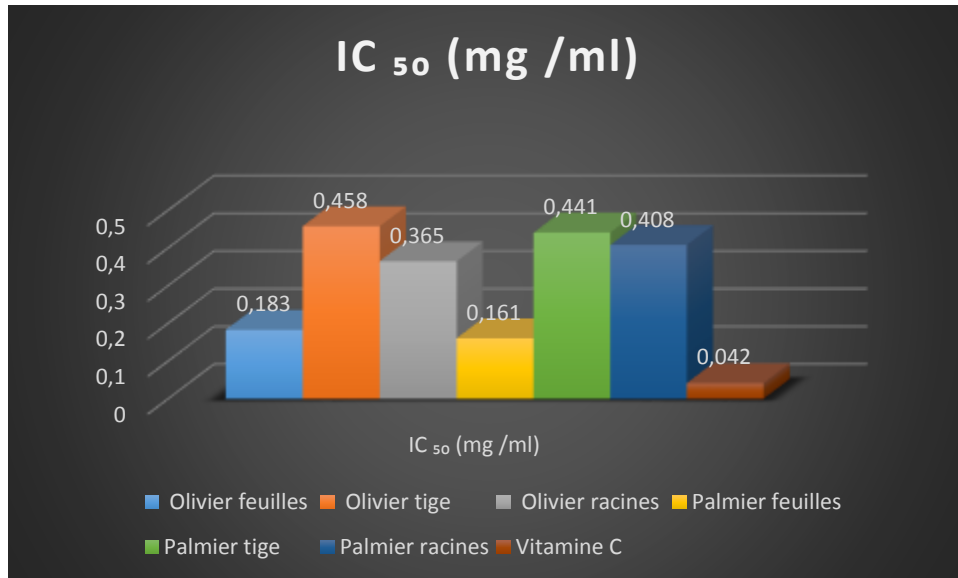


**Figure 29 :** Représentations graphique du test DPPH des extraits des racines Palmier

Ces résultats obtenus sont représentés dans le tableau 04. On rappelle que l'IC<sub>50</sub> représente la quantité de l'extrait nécessaire à l'inhibition de la moitié de la quantité initiale de radicaux libres présents Figure 24.

**Tableau 5:** les valeurs d'IC<sub>50</sub> du test DPPH de chaque extrait.

Les extraits		IC <sub>50</sub> (mg /ml)
<i>Olea europaea</i>	feuilles	<b>0,183</b>
	tige	<b>0,458</b>
	racines	<b>0,365</b>
<i>Phoenix canariensis.</i>	feuilles	<b>0,161</b>
	tige	<b>0,441</b>
	racines	<b>0,408</b>
<b>Vitamine C</b>		<b>0.042</b>



**Figure30:** Les résultats des **IC<sub>50</sub>** de test DPPH pour les extraits des plantes étudiées

D'après ces résultats, on constate que l'activité antioxydante varie considérablement entre les différents parties d'extraction, les valeurs d'**IC<sub>50</sub>** des extraits éthanoliques des plantes étudiées (*Olea europaea* et *Phoenixcanariensis*) et l'antioxydant de référence (Vitamine C) se présentent dans l'ordre suivant :

*Olea europaea*: Vit C < FO < RO < TO

*Phoenixcanariensis*: Vit C < FP < RP < TP

Vit C < FP < FO < RO < RP < TO < TP

On peut conclure que la capacité antioxydante des extraits des deux plantes est proportionnelle aux extraits utilisés. Les extraits des feuilles ont donné les meilleurs résultats (**0,161** et **0,183** mg/ml) pour *Phoenix canariensis* et *Olea europaea* respectivement suivis par les extraits des racines (0,365 et 0,458 mg/ml) pour *Olivier* et *Phoenixcanariensis* successivement. Les extraits des tiges ont donné le pouvoir antiradicalaire le plus faible. (**0,441** et **0,458** mg/ml) pour *Phoenixcanariensis* et *Olea europaea* respectivement.

En analysant les résultats de **IC<sub>50</sub>** des extraits éthanoliques des feuilles de l'olivier, **IC<sub>50</sub>** égale à **0,183** mg/mL, est proche de résultat de celle trouvée par (Bouchenak., 2013) par des extraits méthanoliques des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé avec un **EC<sub>50</sub>** égale à 0.29 mg/mL 0.30 mg/ml.

En analysant les résultats de IC<sub>50</sub> des extraits éthanoliques des feuilles *Phoenix canariensis* L de (IC<sub>50</sub> = **161** µg/ml) est largement supérieure à celle trouvée par (Belhaoues., 2017) qui ont obtenu une valeur de IC<sub>50</sub> de la fraction acétate d'éthyle des feuilles de *Chamaerops humilis* variant entre 12,41 et 136,5 µg/ml. Ces sont proches des résultats trouvés par (Tirichine., 2010) où IC<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique de *Chamaerops humilis* est de 159,34 µg/ml montrant une très faible activité antioxydante, par contre les valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits méthanoliques de *Phoenix canariensis* L égales 27,41 µg/ml montrant une activité très importante mais inférieure au palmier dattier qui ne dépassent pas IC<sub>50</sub> 25,74 µg/ml.

Des facteurs environnementaux, tels que les conditions climatiques, la croissance, le stade de maturation, la température, la durée de stockage et le traitement thermique peuvent avoir influé sur l'activité antioxydante (Motalleb G., 2005)

### 3.2. Évaluation de l'activité antioxydante par le test de FRAP

Dans notre travail, nous avons testé le pouvoir réducteur, par la méthode de FRAP, des extraits des différentes parties des plantes étudiées, et les résultats obtenus nous ont permis de tracer des courbes de l'absorbance en fonction de la concentration pour chaque plante, figures 25 et 26.

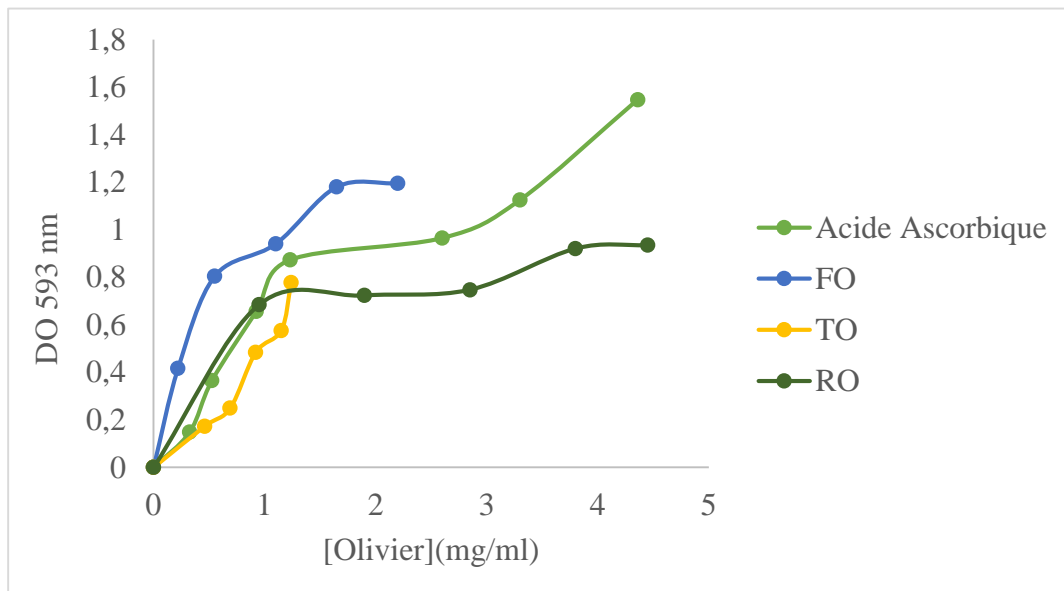
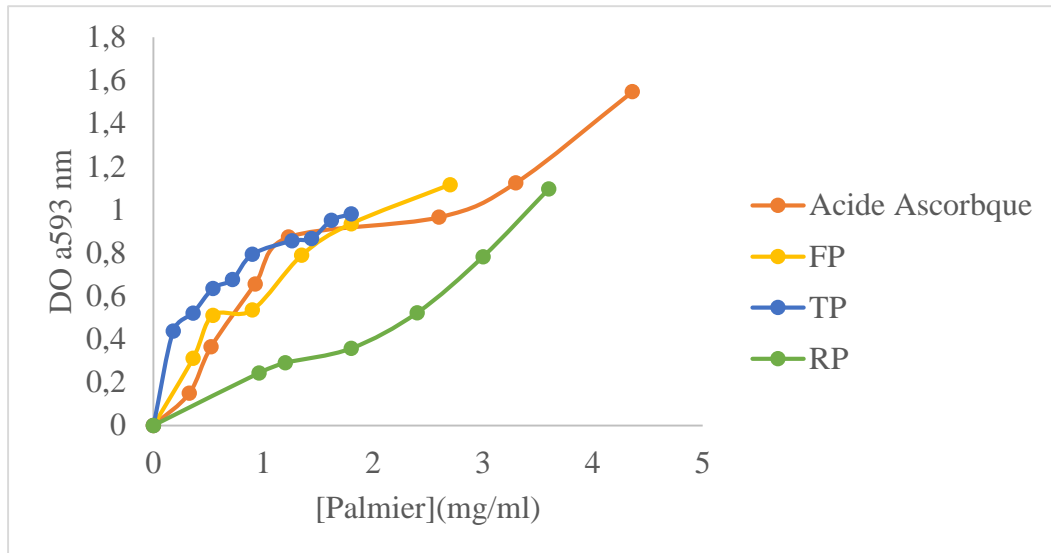


Figure 31 : Le pouvoir réducteur des extraits d'Olivier testé par la méthode de FRAP.



**Figure32 :** Le pouvoir réducteur des extraits du *Phoenix canariensis* testé par la méthode de FRAP.

Les résultats obtenus représentent les variations de l'absorbance des différentes parties des plantes étudiées (*Olea europaea* et *Phoenixcanariensis*) en fonction de leurs concentrations dans le milieu réactionnel. Ces courbes mettent ainsi en évidence une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration avec l'absorbance dans les extraits étudiés. Ce qui explique une augmentation du pouvoir réducteur en fonction de la concentration de l'extrait.

En analysant les résultats de FRAP, nous remarquons que les extraits des tiges d' *Olea europaea* et *Phoenixcanariensis* présentent des valeurs d'absorbance de 0.778 et 0.980 à des concentrations de 1.24 mg/ml et 1.8 mg/ml successivement. D'autres parties des feuilles ont des absorbances de 1.195 à une concentration de 2.2mg/ml pour *Olivier* et de 1,116 à 2.7mg/ml pour *Phoenixcanariensis* . Ces résultats restent plus importante par rapport aux absorbances des l'extraits des racines respectivement d' *Olea europaea* et *Phoenixcanariensis* et qui donne une valeur de 0.935 et 1.097 à une concertation de 4.45mg/ml et 3.6mg/ml.

En comparant ces résultats avec ceux obtenus par (Hayes *et al.*, (2011) dans l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles d' *Olea europaea* par la technique de réduction du fer FRAP, qui représente un indicateur significatif du pouvoir antioxydant des plantes. Les résultats montrent que la capacité réductrice de l'extrait hydrométhanolique est plus élevée que les extraits hydroacétonique et aqueux avec des densités optiques de 1.57,

1.38 et 1.24 respectivement à la concentration de 1 mg/ml ce qui explique un pouvoir réducteur supérieur à notre extrait éthanolique des feuilles de l'olivier qui a enregistré des densités optiques de 0.940 à la concentration de 1.1 mg/ml.

**(Belhaoues., 2017)** ont obtenu au niveau des feuilles de *C. humilis* que toutes les fractions ont montré la présence d'effets réducteurs; ces derniers augmentent proportionnellement avec l'augmentation de la concentration. La fraction acétate d'éthyle est la plus active suivie de la fraction du butanol tandis que les fractions dichlorométhanique, et aqueuse sont les moins efficaces à la réduction des complexes Fe<sup>3+</sup> mais ne dépassant pas 1.06 mg/ml pour un Absorbance de 1.5; Ce qui explique que l'activité antiradicalaire de notre extrait éthanolique des feuilles de *Ph.canariensis* est largement supérieure à celle trouvée par **(Belhaoues., 2017)**

# **Conclusion**

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacologie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le présent travail, différents aspects *Olea europaea* et *Phoenixcanariensis* ont été étudiés ; (la teneur en polyphénols totaux et flavonoides, les activités antioxydante des extraits éthanolique des différentes parties (feuilles, tiges et racines).

L'extraction des polyphénols totaux des extraits éthanoliques des différentes parties (feuilles, tiges et racines des plantes étudiées a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent selon la partie utilisée :feuilles**11%** ; tiges **23 %** ; racines**19 %** pour *Olea europaea* suivie feuilles**9%** ; tiges**18 %** ; racines à raison de **12%** pour *Phoenixcanariensis* respectivement.

Dans un premier temps, nous avons déterminé quantitativement les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits des plantes étudiées. Les résultats obtenus nous ont révélé que les deux plantes *Olea europaea* et *Phoenixcanariensis* constituent une bonne source de polyphénols, la valeur la plus élevée a été remarquée pour les extraits des racines (110,8421±0,565mgEAG/g MS 106,75±0,1865 mgEAG/g MS )successivement .

Elles présentent aussi des teneurs en flavonoïdes plus élevées pour les extraits des feuilles (8,953104±0 mg EQr/g MS 7,848545±0,336 mg EQr/g MS) *Olea europaea* et *Phoenixcanariensis* Successivement .

L'activité antioxydante des différents extraits des plantes étudiées a été évaluée par deux méthodes : La méthode de piégeage de radical libre DPPH, et la méthode de réduction de fer FRAP, Pour le premier test, les résultats ont montré que l'activité antiradicalaire est élevée dans l'extrait des feuilles dont IC<sub>50</sub> est égale à 1.161 mg/ml et 1.183 mg/ml pour *Phoenixcanariensis* et *Olea europaea* successivement, par contre, elle est moyennement et faible pour les deux autres extraits (tiges et racines). Pour le test de réduction de fer le pouvoir réducteur est élevé dans les extraits des racines par rapport aux autres extraits. D'autres études approfondies seront nécessaires et se résument dans les points suivants :

- ✓ Travailler sur plusieurs individus par cultivar et à partir de plusieurs régions.

- ✓ L'isolement et l'identification de la ou les molécule (s) bioactive (s) responsables de l'activité antioxydantes par des techniques chromatographiques et spectrales.
- ✓ Evaluer d'autres activités comme : antidiabétiques, antimicrobiennes, anticancéreuses... et autres.
- ✓ Des études *in vivo* seront souhaitables pour déterminer les tissus et organes cibles, et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire.

# **Références Bibliographiques**

**Abidi., M.** (2010). La Bioécologie De La Mouche De L'olive *Bactrocera Oleaedans* Deux Stations De Tizi-Ouzou (Maatkas Et Sidinaamane). Magister, Université Saad Dahlab De Blida, Blida

**Achat., S.** (2013). *Polyphénols De L'alimentation : Extraction, Pouvoirantioxydant Et Interactions Avec Des Ions Métalliques*. Thèse En Co-Tutelle, Université A. Mira-Bejaia , Bejaia .

**Arab Karim, Bouchenak Ouahiba et Yahiaoui Karima.** Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique SCIENCE*. 2013 ; 09 (3) 159 – 166.

**Belhaoues., S.** (2017). Etude Phytochimique Et Activités Biologiques Des Extraits De Feuilles Et De Fruits De *Chamaerops Humilis L.* Diplôme De Doctorat En Biologie, Université Badji Mokhtar - Annaba.

**Bensemmane., A** .2009. L'oléiculture: Développons Le Secteur De L'huile D'olive En Algérie. *Revue Fillaha Innove* N°4 Avril-Mai 2009. 23p.

**Bentabet N., Boucherit-Otmani Z., Boucherit.,**2014. Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Pharmacognosie Phétothérapie* © Springer-Verlag France. pp 1-8. Article.

**Bentrad., N.** (2017). Analyse Phytochimique Des Sous-Produits Du Palmier Dattier *Phoenix Dactylifera L.* (Arecaceae) Et Evaluation In Vitro De Leurs Activités Biologiques. Du Diplôme De Doctorat, Université Des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene, Algéri.

**Boizot N ; Charpentier J.P.** 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *INRA*, 79-82. Article.

**Bonnefont-Rousselot D. And Collin F.** (2010) Melatonin: Action As Antioxidant And Potential Applications In Human Disease And Aging. *Toxicology*, 278; 55-67

**Bouchenak ., E. Y.** (2013, 09 3). Evaluation De L'activité Biologique Des Feuilles De L'olivier Sauvage Et Cultivé. *Afrique Science* 09(3) (2013) 159 – 166, 159. Récupéré Sur *Afrique Science* 09(3) (2013) 159 – 166.

- Bouchouka, E.** (2016). Extraction Des Polyphénols Et Etude Des Activités Antioxydante Et Antibactérienne De Quelques Plantes Sahariennes. Thèse De Doctorat, Université De Annaba, Annaba.
- Boudjouref, M.** (2011). Etude De L'activité Antioxydante Et Antimicrobienned'extraits D'artemisia Campestris L. De Magister, Université Ferhat Abbes, Sétif, Sétif.
- Boursali, A.B.** (2014, Juille 03). Production Des Plantes D'olivier Par Bouturage Et Greffage dans La Pépinière De Saf-Saf Tlemcen. Projet De Fin D'étude Pour L'obtention Du Diplôme d'ingénieur D'état. Unwersite Abou Bekr Belkaid-Tlemcen -.
- Brand-Williams W., Cuvelier M E., Berset C.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*. 28 (1) : 25-30
- Civantos L.,** (1998). L'olivier, L'huile D'olive Et L'olive. Ed. C. O.I. 130 P.
- Chabaud,** (1882). Le Phoenix Canariensis. Provence Agric Hortic Ilustr, Vol. 19, P. 293–297
- Claridge M.F., Walton M.,** (1992). The European Olive And Its Pests-Management Strategies. *Bcpc.*, 52: 3-12.
- Dehimi, K.** (2010). Etude De Quelques Propriétés Des Extraits De Thymelaemicrophylla Coss. Et Dur. Magister, Université Mohamed Khider –Biskra, Biskra.
- Dransfield, J., Uhl, N.W., Asmussen, C.B., Baker, W.J., Harley, M.M. And Lewis, C.E.** Genera Palmarum. The Evolution And Classification Of Palms. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, U.K. (2008)
- Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Yousefadi M.,** (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages. *Food chemistry*. 110(4): 927-931.
- Ecosistemas Canarias ([http://www.gobiernodecanarias.org/educacion/general/gestorglobal/DocsUp/parrafos/5314UD\\_2\\_-\\_Ecosistemas\\_Canarios.pdf](http://www.gobiernodecanarias.org/educacion/general/gestorglobal/DocsUp/parrafos/5314UD_2_-_Ecosistemas_Canarios.pdf)) sur [gobiernodecanarias.org](http://www.gobiernodecanarias.org). Consulté le 21 septembre 201

**Farhi, H.** (2009). Effet De L'irradiation Gamma Sur Les Feuilles d'olivier Et Application Dans Les Produits Carnés. Université Du 7 Novembre A Carthage, Carthage.

**Faostat.**, (2013). Site Web : [Http://Faostat.Fao.Org](http://Faostat.Fao.Org)

Fayna Brenes Quevedo, «El Bosque Termófilo ([http://www.mundoguanche.com/portada/articulo.php?id\\_articulo=169](http://www.mundoguanche.com/portada/articulo.php?id_articulo=169)) » sur mundoguanche.com. Consulté le 20 septembre 2011

**Fellahi, Z. W.** (2018). Etude Des Propriétés Antioxydantes Del'extrait De La Feuille D'oléastre Et Son Effet Sur Des Cellules Cancéreuses. Doctorat En Biologie Cellulaire, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

**Civantos L.,** (1998). L'olivier, L'huile D'olive Et L'olive. Ed. C. O.I. 130 P

**Govaerts, R. Et Dransfield J.** (2005). World Checklist Of Palms. Royaume-Uni: Royal Botanic Gardens.

**Foyer C.H., Trebst A. And Noctor G.** (2008) Signaling And Integration Of Defense Functions Of Tocopherol, Ascorbate And Glutathione. In: Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation and Environment. Springer Science Business Media, Pp; 241-268

**Ghobrini, D.** (2009). Action Des Radiations Bleues Sur Le Développement Des Embryons Zygotiques Du Palmier Dattier (Phoenix Dactylifera L.) Cv. Takerboucht Cultivés In-Vitro. Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou.

**Hadjaissa, F. Z.** (2004). Etude De L'évolution De L'activité Antioxydant Et Antiradicalaire De Feuilles Et Fruits Du Pistachier De L'atlas. Thèse Magister, Université Amar Telidji, Lagouat.

**Hayes J.E., Allen P, Brunton N., O'Grady M.N., Kerry J.P.** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. Food Chemistry 126, 2011; 948–955.

**Jacquot J.P., Dietz K.J., Rouhier N., Meux E., Lallement P.A., Selles B. And Hecker A.** (2013) Redox regulation In Plants: Glutathione And "Redoxin" Related Families. In: Oxidative Stress And Redox regulation. Springer Science Business Media Dordrecht, Pp; 213-291.

**Jerman, T., Trebse P., Vodopivec BM. (2010).** Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. *Food Chemistry*, 123 :175-182.

**Khelfallah., A. (2013).** Etude Comparative Du Contenu Phénolique Etdu Pouvoir Antioxydant De Quelques Plantesmédicinales Et Des Céréales Alimentaires. Magister, Université Constantine 1, Constantine.

**Khoudali S., Benmessaoud D. , Essaqui1 A., Zertoubi M., Azzi M., Benaissa M. (2014).** Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis L.*) du Maroc. *Journal of Materials and Environmental Science*. 5 (3), 887-898

**Kebbab., R. (2014).** Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des marginesd'olives de la variété Chamlal : Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Diplôme de Magister, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou , Tizi-Ouzou .

**Labiod., R. (2016)** .Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calaminthanepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. diplôme de Doctorat En Biochimie, Université Badji Mokhtar- Annaba-, Annaba .

**Laouini., S.(2014).** Etude Phytochimique Et Activité Biologiqued'extrait De Des Feuilles De Phoenix Dactylifera Ldans La Région Du Sud D'algerie (La Région D'oued. Doctorat , Université Mohamed Khider Biskra, Chimie Industrielle, Biskra.

**Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., et Lee C.Y., (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*,51(25):7292-7295

**Loussert R. Et Brousseg. (1978).** L'Olivier. Paris: Ed . Maisoneuvre Et Larose.

Lospisosdevegetación:Zonadebosquetermófilo([http://www.gevic.net/info/contenidos/mostr ar\\_contenidos.php?idcat=27& idcap=202&idcon=746](http://www.gevic.net/info/contenidos/mostr ar_contenidos.php?idcat=27& idcap=202&idcon=746)) sur [gevic.net](http://www.gevic.net). Consulté le 21 septembre 2011

**Maidi, L.** (2014). Mise En Evidence Des Activités Antimicrobienneet Antioxydante Des Huiles Essentielles Et Desextraits De Ocimum Basilicum L. (Lamiaceae) Dela Région D'el Assafia (W. De Laghouat) Algérie. Diplôme De Magister, Université Ziane Achour –Djelfa, Djelfa.

**ManAllah ., A.**2012, Activité antioxydante et anticoagulation des polyphénols de la pulpe d'olive olea europaea, Mémoire de magister, Université de sétif

**Marfek A.,** 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issues des alcools: formation de psides, Thèse de doctorat. Université de Limoges.

**Martin S., Andriantsitohaina R.,** 2002. Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphénols on the endothelium. Annales de cardiologie et d'angéiologie51, 304-315

**Meziti, A.** (2008). Activité Antioxydante Des Extraits Des Graines Denigella Sativa Létude In Vitro Et In Vivo. Université El-Haj Lakhdar, Batna.

**M'hiri, N.** (2015, Novembre 25). Etude Comparative De L'effet Des Méthodes D'extraction Sur Les Phénols Et L'activité Antioxydante Des Extraits Desécorces De L'orange “ Maltaise Demi Sanguine” Etexploration De L'effet Inhibiteur De La Corrosion De L'acierau Carbone. Doctorat En « Sciences Agronomiques» , Université De Lorraine, Carthage , Sidi Thabet .

**Miliauskas G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A.,** 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*. 85(2):231- 237.

**Motalleb G., H. P.** (2005). Evaluation Of Phenolic Content And Total Antioxidant Activity In Berberis Vulgaris Fruit Extract. Journal Of Biological Sciences5(5), 648-653.

**Obied H K.** (2013). Biography of biophenols : past, present and future. *Functional Food in Health and Disease*, 3 :230-241.

**Papa L., Manfredi G. And Germain D.** (2014) Sod1, An Unexpected Novel Target For Cancer Therapy. *Genes And Cancer*, 5 (1-2); 15-21

**Pelli, K.,Lyly,M.,**(2003).Les Antioxydants Dans L'alimentation. Inra. France.Pp: 4-17

**Peng C., Wang X., Chen J., Jiao R., Wang L., Li Y.M., Zuo Y., Liu Y., Lei L., Ma K.Y., Huang Y. And Chen Z.Y.** (2014) Antioxidants Biology Of Ageing And Role Of Dietary. Biomed Researchinternational, Id 831841; 1-13

**Sanchez-Moreno.** (2002). Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International.*

**Selaimia., R.** (2018). Etude De L'huile D'olive D'algerie. Université 8 Mai 1945 Guelma, Guelma.

**Tirichine.,H.** (2010). Etude Ethnobotanique, Activité Antioxydante Et Analyse Phytochimique De Quelques Cultivars De Palmier Dattier (Phoenix Dactylifera L.) Du Sud-Est Algérien. Diplôme De Magister, Université D'oran –Essenia, Oran.

**Tokarz P., Kaarniranta K. And Blasiak J.** (2014). Role Of Antioxidant Enzymes And Small Molecularweight Antioxidants In The Pathogenesis Of Age-Related Macular Degeneration (Amd).Biogerontology, 14; 461-482

**Trabsa.,H.**(2015). Activité Antioxydante Et Anti-Inflammatoire Des Fractions Desplantesmédicinales : Sedum Sediforme Et Lycium Arabicum. Doctorat En Sciences, Ferhat Abbas Sétif, Sétif.

**Zeriouh., W.** (2018). Etude Des Propriétés Antioxydantes Del'extrait De La Feuille D'oléastre Et Son Effet Surdes Cellules Cancéreuses. Doctorat En Biologie Cellulaire, Universite Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, Tlemcen.

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

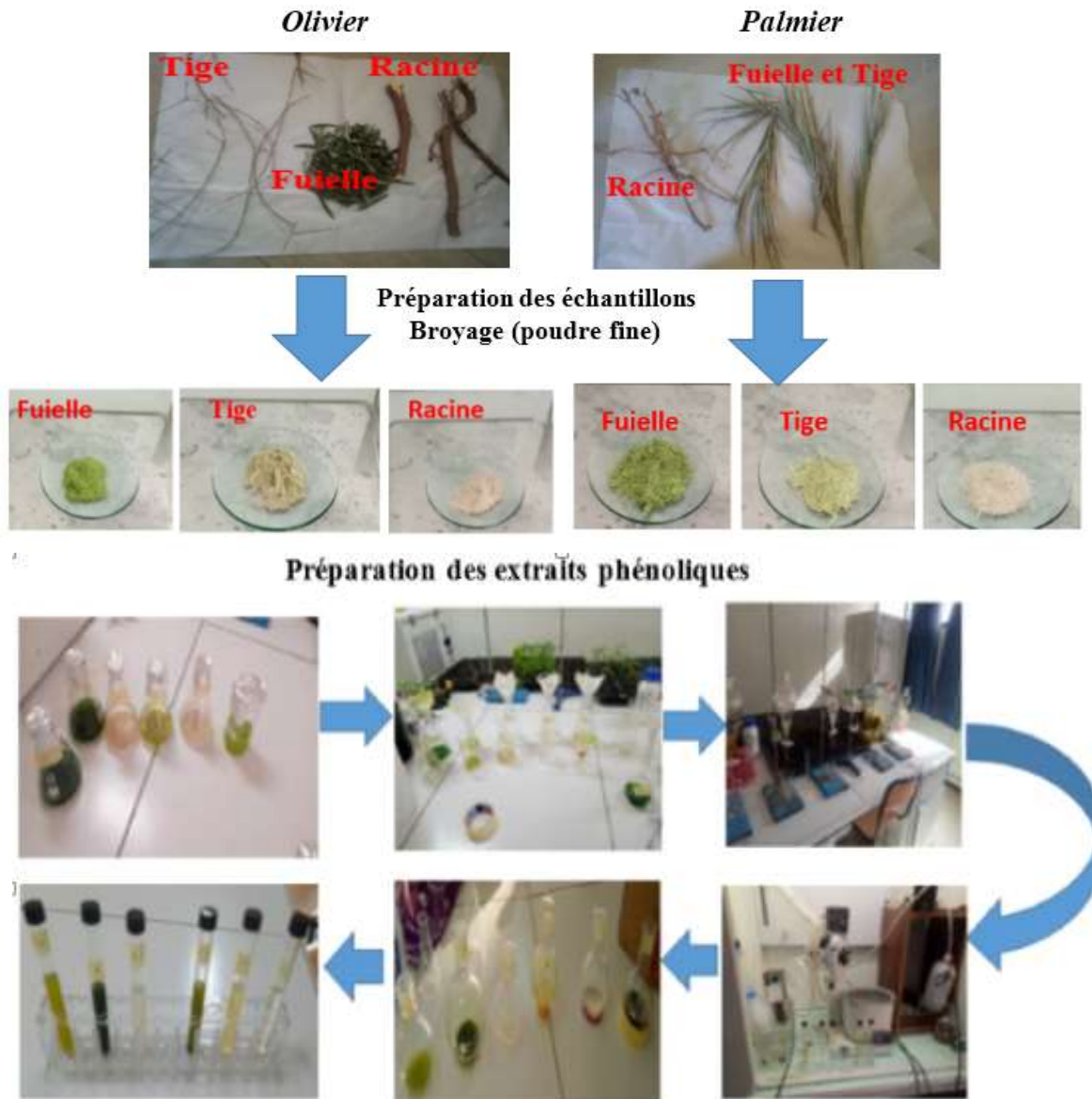
# **Annexe**

Tableau : Les principaux produits chimiques et les réactifs utilisés.

Produits Chimiques	Caractéristiques
<b>Solvants Organiques</b>	
Acétone (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O)	M=58.05 g/mol
éthanol(C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O)	M=46g/mol
Méthanol(CH <sub>3</sub> OH)	M=32.04 g/mol, 99.8%
<b>Solvants Inorganiques</b>	
Eau distillé (H <sub>2</sub> O)	M=18g/mol
<b>Réactifs</b>	
DPPH (C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> )	M=394.3 g/mol
Solution de folin Ciocalto	/
TPTZ	M=312.4 g/mol
<b>Acides /Bases</b>	
Acide chlorhydrique HCL	M=12.506g/mol
Acides acétique	M=17.485 g/mol
Acétate de sodium	M=82.03 g/mol
<b>Sels</b>	
Carbonate de Sodium( Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	M=105.99 g/mol
Trichlorure d'Aluminium (AlCl <sub>3</sub> )	M=133.34 g/mol
Chlorure de fer (FeCl <sub>3</sub> )	M=162.2 g/mol
<b>Références (Composés Phénoliques)</b>	
Acide gallique (C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> )	M=170.12 g/mol
Acides ascorbique(C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> )	M=176.12 g/mol
Quercitine (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> )	M=302.24 g/mol

Tableau : Appareille et instruments

Appareils et matériels	caractéristique
Agitateur magnétique	Stuart max 300°C
Rota vapeur	R220 BUCHI
Ballons pour le Rota vapeur	250 ml
Hot	/
Réfrigérateur	/
Balance électronique	KERN ALS220-4
Micropipette	10-100 µl/100-1000 µl
Spectrophotométrie	JENWAY 76405 UV/Vis Spectrophotmètre
Bain marie	Müve bath nb 20



**Figure :** Schéma descriptif des étapes pour extraction des poly phénols

