

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaïa

Faculté des Science de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologies

Filière : Biotechnologie et santé



Réf :.....

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Thème

Etude des propriétés physico-chimiques et activité antidiabétique des feuilles *d'Olea europaea* L. de trois provenances.

Présenté par :

M^{elle} AIT SALAH Lilia Zineb & M^{elle} CHENA Cylia

Soutenu le : 01 Juillet 2024

Devant le jury :

M ^{me} BOUDJOU S.	MCB	Présidente.
Mr. BENADJAOUD A.	MCA	Encadreur.
M ^{me} LAIB Y.	MCB	Examinatrice.
Mr. ZEGHBIB W.	MAB	Co-encadreur.

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciement

Louange à Dieu, le miséricordieux, sans Lui rien n'aurait pu être.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à notre directeur de mémoire, Mr. Benajaoud Ali, pour son encadrement, sa patience et sa confiance tout au long de ce travail de recherche. Ses précieux conseils, son expertise et son soutien inébranlable ont été d'une aide inestimable et ont grandement contribué à l'aboutissement de ce projet.

Nous remercions également Mr. Boudjouan F et Mr. Zeghib W pour toute l'aide et les explications apportées. Ils nous ont été d'un grand secours durant notre pratique. Tout le mérite leur revient.

Nous exprimons également notre gratitude à l'ensemble du personnel technique du laboratoire pédagogique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Bejaia, qui nous ont bien reçus et accueillis.

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude aux membres du jury de notre soutenance de mémoire pour avoir accepté de faire partie du jury. Leurs remarques et suggestions ont été précieuses et ont permis d'améliorer la qualité de notre travail.

Dédicace 1

*À ceux qui m'ont donné sans rien attendre en retour,
À ceux qui m'ont encouragée et soutenue dans mes moments les plus difficiles,
Et à ceux à qui je dois tant.*

*À mes chers parents « Djamilia & Arezki » pour leur amour et leur soutien
continu,
Je vous dois tous mes succès, tous mes bonheurs et toutes mes joies.
Je suis très heureuse et fière de votre présence à mes côtés.*

*À mon cher frère « Ithri »,
À mes très chères sœurs « Thiziri, Nassima, Kahina » et à mes beaux-frères «
Massy, Mouhoub ».
À mes adorables neveux « Danis, Dylan » et ma chère nièce « Arinas ».*

*À ma chère grande-mère « Taous »,
À tous mes amies « Wissam, Lisa, Sara, Khadidja, Asma, Chaima... ».*

*À mon soutien moral et source de joie et de bonheur, « Bylka »,
Pour l'encouragement et l'aide qu'il m'a toujours accordés.*

*À ma binôme Lilia et toute sa famille.
À toute la promotion "Biotechnologie et Santé" (étudiants et enseignants).*

*Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde
reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi.
Que Dieu le Tout-Puissant vous procure continuellement santé, bonheur et
tranquillité.*

CyLIA

Dédicace 2

J'aimerais dédier ce mémoire à ma mère, qui m'a toujours soutenue et encouragée dans mes études. Sa bienveillance et son amour inconditionnel ont été une source d'inspiration.

Mon père, qui m'a transmis des valeurs essentielles telles que la persévérance, l'intégrité et le respect. Ses conseils m'ont toujours guidé vers la bonne voie.

Ma sœur, complice de mes joies et de mes peines, a été mon roc pendant ces années d'études. Sa présence et son soutien ont été inestimables.

Enfin, à moi-même, pour avoir persévéré, pour chaque nuit passée à étudier, pour chaque effort consenti. Je suis fière du chemin parcouru.

Lilia

Liste des abréviations

A : Absorbance.

ABTS: 2-2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).

A ctr : Absorbance contrôle.

A ext : Absorbance d'extrait.

ANOVA : Analyse de la variance.

CH₃COOH : Acide acétique.

ctr : contrôle.

DCPIP : 2,6-dichlorophénolindophénol.

DO : densité optique.

EAA : Equivalent d'acide ascorbique.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EC : Equivalent de catéchine.

EBSA : Equivalent d'albumine sérique bovine.

EPro : Equivalent de proline.

EQ : Equivalent de quercétine.

ET : Equivalent de Trolox.

EGlc : Equivalent du glucose.

K_m : concentration du substrat

LSD : Différence significative la moins significative.

m/v : masse par volume.

MF : matière fraîche.

MDA : malondialdéhyde.

MDA-TBA : complexe malondialdéhyde-acide Trichloroacétique.

min : minute.

MS : Matière sèche.

NO[•] : oxyde nitrique.

R² : coefficient de détermination.

TBA : acide thiobarbiturique.

TCA : acide Trichloroacétique.

TEAC : capacité antioxydante équivalente de Trolox.

TFC : Teneur en flavonoïdes totaux.

TPC : Teneur en polyphénols totaux.

tr/min : tour par minute.

v/v : volume par volume.

var : variété.

Vmax : vitesse maximale

XIXe siècle : 19^{ème} siècle.

Liste des figures

N° de la Figure	Titre	Page
Figure 1	Aspect général de l'olivier (<i>Olea europaea</i> L.) de la région d'Akkache, Tameridjt	3
Figure 2	Zone de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le bassin méditerranéen.	4
Figure 3	<i>Olea europaea</i> L. : (a) arbre ; (b) feuilles ; (c) inflorescences ; (d) fruits mûrs ; (e) écorce de tige.	6
Figure 4	Lieu de provenance des échantillons de feuilles d' <i>Olea europaea</i> L. collectées des régions de Tazmalt (zone de plaine), d'El kseur et de Tamridjet (zones montagneuses) de la wilaya de Bejaïa.	11
Figure 5	Photographie originale des feuilles d'oliviers. A) feuilles lavées, B) feuilles sèches C) poudre de feuilles tamisées.	12
Figure 6	Teneur en cendres des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	22
Figure 7	Teneur en acide ascorbique de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	23
Figure 8	Teneur en protéines des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	23
Figure 9	Teneur en proline des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	24
Figure 10	Teneur en sucres solubles et en amidon des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	25
Figure 11	Teneur en MDA des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes	26

Figure 12	Teneur en chlorophylles (a), (b) et totales (a+b) de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	27
Figure 13	Teneur en phéophytines (a), (b) et totales (a+b) de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	28
Figure 14	Teneur en caroténoïdes totaux de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	30
Figure 15	Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	33
Figure 16	Détermination de la teneur en polyphénols totaux des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	33
Figure 17	Détermination de la teneur en tanins condensés des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	34
Figure 18	Détermination de la capacité antioxydante équivalente de Trolox (TEAC) des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	35
Figure 19	Pourcentage d'inhibition de NO [•] des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.	36
Figure 20	Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes référencées à un standard acarbose.	37

Liste des tableaux

N° du Tableau	Titre	page
Tableau I	Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche).	8
Tableau II	Composés bioactifs des plantes en général et leur mode d'activité antidiabétique.	9
Tableau III	Localisation géographique et caractéristiques climatiques des échantillons par région.	12
Tableau IV	Tableau indiquant les teneurs en chlorophylles, en phéophytines et en caroténoïdes totaux des 3 différentes provenances des feuilles de l'olivier (mg/g MS). Les rapports phéophytines / chlorophylles ont été déterminés pour chacun des 3 échantillons considérés.	29
Tableau V	Récapitulatif des paramètres considérés sur les poudres provenant des feuilles d'oliviers de 3 provenances différentes.	31
Tableau VI	Récapitulatif des paramètres considérés sur les extraits de poudres provenant des feuilles d'oliviers de 3 provenances différentes.	38

Table de matière

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Table de matière

Introduction 1

Chapitre I Synthèse bibliographique

I.1 Généralités sur l'olivier (<i>Olea europaea</i> L.).....	3
I.1.1 Histoire et origine	3
I.1.2 Répartition géographique.....	4
I.1.3 Position systématique	5
I.1.4 Description botanique et écologie de l'espèce	6
I.2 Métabolisme secondaire et application aux feuilles de l'olivier	7
I.2.1 Aperçu sur les métabolites liés au métabolisme secondaire.....	7
I.2.2 Composition chimique globale des feuilles d'olivier.....	7
I.2.3 Importance et usages traditionnels.....	8
I.2.4 Bienfaits sur la santé.....	9
I.2.4.1 Activité antidiabétique.....	9
I.2.4.2 Activité antioxydante	10

Chapitre II Matériels et méthodes

II.1 Matériel végétal.....	11
II.1.1 Collecte des feuilles	11
II.1.2 Préparation des échantillons.....	12
II.2 Méthodes appliquées aux poudres sèches des feuilles de l'olivier	13
II.2.1 Teneur en cendres	13
II.2.2 Dosage d'acide ascorbique.....	13
II.2.3 Dosage des protéines.....	14
II.2.4 Dosage de la Proline.....	14
II.2.5 Dosage des sucres solubles et amidon	15
II.2.6 Mesure de la teneur en malondialdéhyde (MDA).....	16
II.2.7 Dosage des pigments photosynthétiques et phéophytines	16
II.3 Méthodes appliquées aux extraits de poudres des feuilles de l'olivier	18
II.3.1 Détermination du pH.....	18
II.3.2 Détermination de la conductivité	18
II.3.3 Dosage des flavonoïdes totaux	18

II.3.4	Dosage des polyphénols totaux	18
II.3.5	Dosage des tanins condensés	19
II.3.6	Capacité antioxydante équivalente de Trolox (TEAC)	19
II.3.7	Inhibition d'oxyde nitrique (NO [*])	20
II.3.8	Test d'inhibition de l' α -amylase.....	21

Chapitre III Résultats et discussion

III.1	Analyses effectuées sur les poudres sèches	22
III.1.1	Teneur en cendres	22
III.1.2	Teneur en acide ascorbique.....	22
III.1.3	Teneur en protéines.....	23
III.1.4	Teneur en proline	24
III.1.5	Teneur en sucres solubles et amidon	25
III.1.6	Teneur en malondialdéhyde (MDA).....	26
III.1.7	Teneur en chlorophylles, en phéophytines et en caroténoïdes totaux	27
III.1.8	Synthèse	30
III.2	Méthodes appliquées aux extraits de poudres des feuilles de l'olivier	31
III.2.1	Potentiel hydrogène (pH) et conductivité	32
III.2.2	Teneur en flavonoïdes totaux	32
III.2.3	Teneur en polyphénols totaux	33
III.2.4	Teneur en tanins condensés	34
III.2.5	Capacité antioxydante équivalente de Trolox (TEAC).....	35
III.2.6	Dosage d'oxyde nitrique (NO [*]).....	36
III.2.7	Test d'inhibition de l' α -amylase	37
III.2.8	Synthèse	38
Conclusion.....		40

Liste bibliographique

Annexes

Introduction

Introduction

En tant que ressources naturelles, les plantes médicinales et leurs composants phytochimiques sont de plus en plus recherchés en raison de leurs propriétés thérapeutiques bien connues. En effet, les plantes proposent une multitude de substances antioxydantes naturelles qui possèdent diverses caractéristiques pharmacologiques, avec en prime peu d'effets secondaires, et qui préservent la santé humaine de différentes infections (**Sharifi-Rad et al., 2019**). D'après ces derniers auteurs, les produits naturels ont la capacité de prévenir les maladies graves telles que le cancer. Selon **Abousalim et Brhadda, (2005)**, le regain d'intérêt pour l'exploitation des plantes médicinales est principalement attribué à leur importance socioéconomique, environnementale et à leurs qualités sanitaires et nutritionnelles.

Les feuilles d'olivier, l'un des principaux sous-produits de l'industrie de la transformation des olives et qui peuvent être aussi obtenus du processus de la taille des oliviers. Ces feuilles sont riches en nombreux composés bioactifs. Ces composés présentent de nombreux avantages potentiels pour la santé, tels que l'activité antioxydante, les propriétés anti VIH, les effets antiprolifératifs et apoptotiques, ainsi que des effets protecteurs contre la leucémie et la réduction du taux de lipides (**Benjeddou et al., 2019**).

Olea europaea L. suscite également un intérêt particulier, car contenant différentes classes de bio-phénols, notamment des acides phénoliques, des alcools phénoliques et des sécoïridoïdes, dont le principal composé dénommé oleuropéine (**Bouaziz et Sayadi, 2005**). Selon **Garcia-Gómez et al. (2003)**, l'utilisation industrielle des feuilles d'olive est restreinte à l'alimentation animale et à la phytothérapie. Dans l'économie circulaire, l'industrie agroalimentaire pourrait jouer un rôle essentiel en valorisant de tels déchets de manière durable. Leurs propriétés antioxydantes et leurs avantages pour la santé sont particulièrement captivants (**Lakhal et al., 2018**).

Le diabète sucré est une condition où le métabolisme du glucose dans le corps est perturbé, ce qui entraîne une hausse du taux de glucose dans le sang (hyperglycémie). Si jamais l'organisme ne produit pas suffisamment d'insuline ou si les cellules ne réagissent pas à l'insuline, un excès de sucre reste dans le sang, ce qui entraîne le diabète sucré. Les propriétés antioxydantes et antidiabétiques des extraits de feuilles d'olivier ont été démontrées, ce qui en fait un traitement prometteur pour le diabète de type 2. Ils ont la capacité de diminuer le taux de sucre dans le sang et de préserver les organes tels que le foie, les reins et le pancréas (**Alam et al., 2022**).

C'est dans cette optique que nous avons entrepris notre étude axée objectivement sur les possibilités de valorisation des feuilles d'*Olea europaea* L. pour la récupération de composés bioactifs. Avant d'entrevoir cette possibilité, notre intention d'investir un tel domaine s'est portée sur une évaluation de quelques paramètres physico-chimiques parmi tant d'autres, ainsi qu'une approche de l'activité antidiabétique in vitro via des extraits des feuilles d'*Olea europaea* L.

L'étude a concerné trois provenances différentes de la wilaya de Bejaia : Tazmalt, El Kseur et Tamridjt. C'est une volonté de cerner un plus large patrimoine de ressources phytogénétiques liées à l'espèce d'étude dans des environnements différents : de la plaine vers la montagne.

Les tests physico-chimiques ont été menés incluant dans une première partie directement les poudres issues des feuilles desséchées. Dans une seconde partie, notre étude s'est concentrée sur les extraits de feuilles obtenus par décoction. En marge de ce travail réalisé sur ces extraits de feuilles, l'activité antioxydante ainsi qu'une étude in vitro de l'activité antidiabétique ont été également approchés.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1 Généralités sur l'olivier (*Olea europaea* L.)

L'olivier (**Fig. 1**), connu sous le nom scientifique d'*Olea europaea* L., tire son appellation du mot grec "elea" et compte parmi les plus anciens arbres cultivés répertoriés à travers le monde. Il semble plausible qu'à l'époque où l'Homme avait initialement prélevé des branches d'olivier sauvage pour alimenter un feu ou les utiliser comme arme, il ait également remarqué leurs énormes potentialités. Le processus d'appivoisement de l'olivier sauvage et l'émergence de la culture de l'olivier ont débuté bien avant l'invention de l'écriture (**Kiritsakis, 1998**). L'olivier est étroitement lié à l'histoire des civilisations qui ont émergé autour du bassin méditerranéen (Grecque, Phénicienne, Carthaginoise, Etrusque...) (**Palamarev, 1987**).

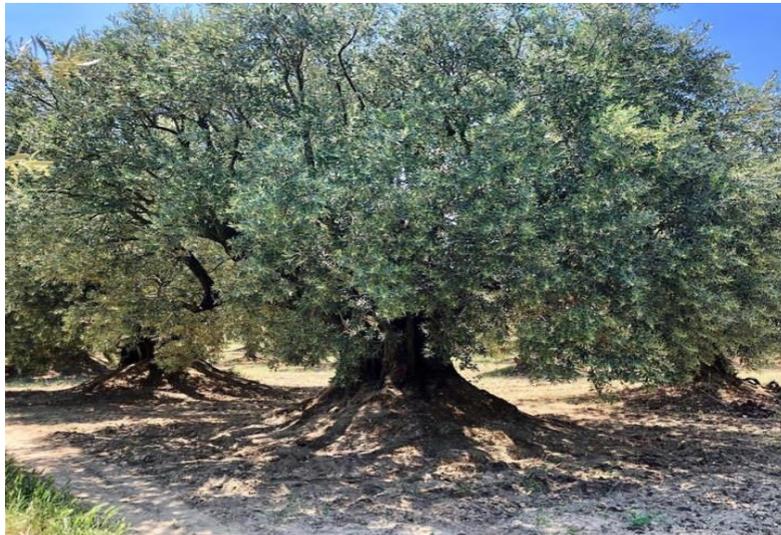


Figure 1 : Aspect général de l'olivier (*Olea europaea* L.) de la région d'Akkache, Tameridjt
(Originale).

I.1.1 Histoire et origine

L'olivier, arbre emblématique, avec une histoire remontant à environ 6000 ans. Les premiers centres de culture étaient en Syrie, en Israël, au Liban, à Chypre et en Crète. Les archéologues pensent que la richesse du royaume minoen de Crète (3500-1000 av. J.-C.) était due au commerce florissant de l'huile d'olive et des olives. Vers 600 av. J.-C, la culture de l'olivier s'est propagée de la Crète au reste de la Grèce, puis à l'Italie et l'Europe méridionale, avant d'être introduite en Espagne par les Grecs, les Romains et les Arabes. Plus tard, les colons espagnols l'ont introduit en Amérique du Nord (**Kostelenos et Kiritsakis, 2017**).

I.1.2 Répartition géographique

L'olivier est cultivé dans diverses régions du globe situées entre les latitudes 30° et 45° Nord dans les deux hémisphères, couvrant ainsi les Amériques, l'Australie et s'étendant jusqu'en Chine, au Japon, en Afrique du Sud et dans d'autres régions (**Palamarev, 1987**). Actuellement, il y a plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais la majeure partie se trouve dans le bassin méditerranéen, où près de 95 % des oliveraies mondiales sont concentrées (**Fig. 2**) (**Hannachi et Breton, 2008**).



Figure 2 : Zone de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le bassin méditerranéen (**Schatz et al., 2013**).

En Algérie, la culture de l'olivier est principalement concentrée dans six wilayas, trois situées dans la région centrale du pays, représentant plus de la moitié de la surface oléicole nationale (Bejaia, Tizi-ouzou et Bouira), et trois dans la région Est (Bordj Bouarreridj, Sétif et Jijel). Les autres zones de culture de l'olivier se situent à l'ouest (Tlemcen, Mascara et Relizane) et sont dédiées à la production d'olives de table (**Lamani et Ilbert, 2016**).

Dans la région de Bejaia (nord de la Kabylie), on compte plus de 4 millions d'oliviers. Les variétés principales sont *Chemlal*, *Limli* et *Azeradj*, qu'on trouve en zones montagneuses accidentées et sur des terres irrégulières et marginales (**Boucheffa et al., 2017**).

I.1.3 Position systématique

La classification de l'*Olea europaea* L. selon **Cronquist (1981)** est la suivante :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Scrophulariales

Famille : Oleaceae

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea* L.

Six sous-espèces d'oliviers sont identifiées en fonction de leurs caractéristiques morphologiques et de leur répartition géographique :

- Sous-espèce *cuspidata* : largement présente en Afrique et en Asie,
- Sous-espèce *laperrinei* : se trouve principalement dans le désert du Sahara,
- Sous-espèce *maroccana* : est principalement associée au Maroc,
- Sous-espèces *guanchica* et *cerasiformis* sont respectivement présentes dans les îles Canaries et à Madère,
- Sous-espèce *europaea* : est répartie uniformément dans tout le bassin méditerranéen et se décline en deux variétés botaniques distinctes : l'olivier cultivé (var. *europaea*) et l'olivier sauvage ou oléastre (var. *sylvestris*).

Il y a lieu de noter que la plupart des sous-espèces de l'olivier sont diploïdes ($2n = 46$), la sous-espèce *cerasiformis* est tétraploïde et la sous-espèce *maroccana* possède un cytotype hexaploïde (**Fanelli et al., 2022**).

I.1.4 Description botanique et écologie de l'espèce

L'olivier peut atteindre une hauteur de 10 m, son tronc est tortueux et son écorce de couleur grisâtre est crevassée. Il présente des feuilles simples, opposées, persistantes et peu pétiolées, également coriaces et vertes sur la face supérieure, blanchâtres sur la face inférieure. Elles sont de forme ovale elliptique, généralement pointue à l'extrémité. Cette plante porte des fleurs d'avril à juin, de couleur blanc lait et sont groupées en grappes dressées, naissant à l'aisselle des feuilles. Le fruit ou la drupe, possède une forme sphérique, allongée ou bien ovoïde, sa couleur change lors des différents stades de maturité du vert au noir, avec un noyau dur fusiforme (**Fig. 3**) (**Ghedira, 2008 ; Arab, 2013**).

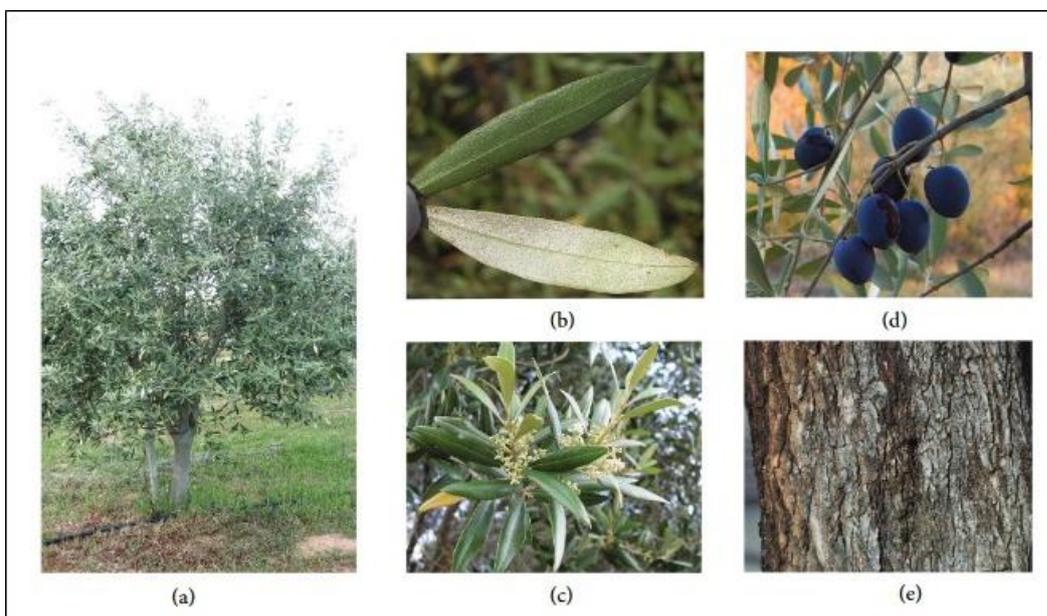


Figure 3 : *Olea europaea* L. : (a) arbre ; (b) feuilles ; (c) inflorescences ; (d) fruits mûrs ; (e) écorce de tige (**Hashmi et al., 2015**).

L'olivier est un arbre dont l'espérance de vie peut atteindre ou même dépasser 500 ans (**Rhizopoulou, 2007**). Sa croissance étant lente, on le retrouve poussant aussi bien sur sol calcaire ou sur sol schisteux, en climats doux et secs, avec une température qui reste souvent autour de 16°C pendant plusieurs jours, et où la limite de son aire de culture correspondrait à un isotherme de 12°C. Il est fort tolérant du stress hydrique, mais ne tolère pas la salinité (**Ghedira, 2008 ; Arab, 2013 ; Popay, 2016**).

I.2 Métabolisme secondaire et application aux feuilles de l'olivier

I.2.1 Aperçu sur les métabolites liés au métabolisme secondaire

Les métabolites secondaires sont des composés qui jouent un rôle crucial dans la santé et la survie des plantes en interagissant avec leur environnement, tels que la communication intercellulaire, l'adaptation des plantes à leur environnement, la défense contre les prédateurs et la régulation des cycles catalytiques (Bourgaud *et al.*, 2001 ; Sauvion *et al.*, 2013).

Ces métabolites peuvent être classés en fonction de divers critères tels que leur structure chimique, leur composition, leur solubilité dans différents solvants et la voie de biosynthèse utilisée (Macheix *et al.*, 2005 ; Tiwari *et al.*, 2015). On en distingue :

- **Les alcaloïdes** : composés végétaux basiques contenant de l'azote et ayant une activité pharmacologique. Ils peuvent entraîner une large gamme d'effets indésirables allant des hallucinations à la mort, en passant par la perte de coordination et les convulsions (Bourgaud *et al.*, 2001).
- **Les phénoliques** : composés constitués d'un cycle aromatique hydrocarboné (arène) et d'un ou plusieurs groupes hydroxyle –OH qui y sont attachés. Ils peuvent perturber la digestion, ralentir la croissance, bloquer l'activité enzymatique et la division cellulaire, ou simplement avoir un goût désagréable (Macheix *et al.*, 2005).
- **Les terpènes** : ce sont des hydrocarbures dont les structures sont souvent dérivées de l'isoprène. Ils peuvent agir comme des agents allélopathiques, des insecticides, ou encore influencer la pollinisation et la régulation hormonale végétale (Tiwari *et al.*, 2015).
- **Les flavonoïdes** : composés polyphénoliques, se présentant avec une structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal. Ils forment les pigments, jouent un rôle dans la photoprotection et luttent contre les stress biotiques et abiotiques (Dai *et Mumper*, 2010).

I.2.2 Composition chimique globale des feuilles d'olivier

La composition chimique des feuilles de l'olivier diffère selon les variétés, les conditions climatiques, le moment de la récolte et l'âge de la plante. Cependant, en général, la matière sèche représente environ 50 %, avec une proportion importante de polysaccharides et de lignines. La composition en minéraux des feuilles d'olivier est présentée dans le **Tableau I**, où

le minéral le plus abondant dans les feuilles est le fer avec une concentration de 273 g/ Kg de matière sèche (Fegeros et al., 1995).

Tableau I : Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche) (Fegeros et al., 1995).

Minéraux	Concentration (g/Kg MS)
Calcium (Ca)	12,7
Phosphore (P)	2,1
Manganèse (Mg)	1,9
Potassium (K)	6,3
Fer (Fe)	273,0
Cuivre (Cu)	10,7
Zinc (Zn)	21,3
Magnésium (Mn)	50,0

Les feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L.) sont considérée comme une source potentielle de biophénols, notamment des acides phénoliques, des alcools phénoliques (hydroxytyrosol et tyrosol), des flavonoïdes (lutéoline 7-O-glucoside, rutine, apigénine 7-O-glucoside, lutéoline 4-O-glucoside) et des séco-iridoïdes (oleuropéine) (Ghanbari et al., 2012).

I.2.3 Importance et usages traditionnels

Les feuilles d'olivier ont d'abord été utilisées à des fins médicinales dans l'ancienne Égypte et étaient le symbole du pouvoir céleste. On utilisait l'huile extraite des feuilles lors des cérémonies de momification (Rhizopoulou, 2007).

Le folklore traditionnel, rapporte sur les effets thérapeutiques du thé à base de feuilles d'olivier contre diverses maladies telles que la toux, les maux de gorge, la fièvre et la cystite dans la culture du Moyen-Orient depuis des centaines d'années. Au milieu du XIXe siècle, le thé aux feuilles d'olivier était utilisé pour prévenir le paludisme. De plus, la feuille était un remède pour les maladies dermatologiques, également bénéfiques dans le traitement de maladies telles la dengue, la diarrhée sévère, ainsi que les infections dentaires, auriculaires, des

voies urinaires et chirurgicales, notamment dans les cultures méditerranéennes (**Şahin et Bilgin, 2017**). Selon **Komaki et al. (2003)**, les feuilles sont particulièrement bien connues en Europe comme un remède traditionnel contre le diabète et l'hypertension.

I.2.4 Bienfaits sur la santé

Le criblage chimique des feuilles d'olivier a révélé divers composés ayant une activité antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne (**Beyaz et al., 2022 ; Contreras et al., 2022 ; Melguizo-Rodríguez et al., 2022**). Ils jouent également un rôle comme agents hypoglycémisants et anticancéreux (**Abdallah et al., 2023**).

I.2.4.1 Activité antidiabétique

Le diabète est une maladie du métabolisme des glucides, des graisses et des protéines, causée par une diminution de la production d'insuline ou une croissance de la résistance à son action. Les traitements naturels à bases de plantes contre le diabète ont été utilisés chez les patients souffrant d'insuline dépendante et non-insuline dépendante. Différentes plantes sont connues pour leurs mécanismes d'action antidiabétique. Dans le cas d'*Olea europaea* L., le constituant responsable de cette activité antidiabétique est ses feuilles qui stimulent le glucose, libèrent de l'insuline et augmentent l'absorption périphérique du glucose (**Bhushan et al. 2010**). Le **tableau II** ci-dessous explique plus en détails les constituants de la plante et leurs modes d'activité antidiabétique.

Tableau II : Composés bioactifs des plantes en général et leur mode d'activité antidiabétique (Bhushan et al. 2010)

Constituants	Mode d'Activité
Alcaloïdes	Inhibent l' α -glucosidase et diminuent le transport du glucose à travers l'épithélium intestinal.
Composés imidazolines	Stimulent la sécrétion d'insuline de manière dépendante du glucose.
Polysaccharides	Augmentent les niveaux d'insuline sérique, réduisent les taux de glucose sanguin et améliorent la tolérance au glucose.
Flavonoïdes	Suppriment le taux de glucose, réduisent significativement le cholestérol et les triglycérides plasmatiques et augmentent

	probablement leur activité de glucokinase hépatique en améliorant la libération d'insuline par les îlots pancréatiques.
Fibres alimentaires	Adsorbent efficacement le glucose, retardent la diffusion du glucose et inhibent l'activité de l' α -amylase, ce qui peut être responsable de la diminution du taux d'absorption du glucose.
Saponine (triterpénoïdes + glycosides stéroïdiens)	Stimulent la libération d'insuline et bloquent la formation de glucose dans la circulation sanguine.
Acide férulique	Effets stimulants sur la sécrétion d'insuline.

I.2.4.2 Activité antioxydante

Un antioxydant est une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit oxydable, peut ralentir ou inhiber l'oxydation. Ce terme englobe toutes les substances protégeant les systèmes biologiques contre les effets nocifs de l'oxydation excessive (**Lu et al., 2004**). Des études ont montré que les flavonoïdes, en particulier ceux avec un groupement carbonyle en C4 et une double liaison entre les carbones C2 et C3, possèdent de fortes activités antioxydantes (**Picman et al., 1995**). Les épidémiologistes ont récemment souligné l'importance des antioxydants alimentaires dans la prévention des maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et certains cancers (**Aljuhr et al., 2022**).

Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1 Matériel végétal

II.1.1 Collecte des feuilles

Les feuilles d'*Olea europaea* L. ont été collectées au mois de février de l'année 2024 au niveau de trois régions de la wilaya de Bejaia : Tazmalt (à 80 Km au sud-ouest du chef-lieu de la wilaya), El-Kseur (à 24 km au sud-ouest) et Tamridjet (à 50 km à l'est) (**Fig. 4**). Les données géographiques et climatiques sont résumées dans le **Tableau III**.



Figure 4 : Lieu de provenance des échantillons de feuilles d'*Olea europaea* L. collectées des régions de Tazmalt (zone de plaine), d'El kseur et de Tamridjet (zones montagneuses) de la wilaya de Bejaïa.

Tableau III : Localisation géographique et caractéristiques climatiques des échantillons par région. Source : <https://fr.db-city.com/>

	Tamridjt	El-kseur	Tazmalt
Latitude	36.572	36.6845	36.3844
Longitude	5.3738	4.85213	4.39927
Coordonnées géographiques	36° 34' 19" Nord, 5° 22' 26" Est	36° 41' 4" Nord, 4° 51' 8" Est	36° 23' 4" Nord, 4° 23' 57" Est
Altitude	471 m	276 m	464 m
Climat	Climat méditerranéen avec été chaud	Climat méditerranéen avec été chaud	Climat méditerranéen avec été chaud

II.1.2 Préparation des échantillons

Après la récolte, les feuilles fraîches d'*Olea europaea* L. ont été lavées à l'eau potable pour éliminer les impuretés et la poussière, puis égouttées avant d'être étalées sur des feuilles de papier absorbant. Elles ont ensuite été séchées pendant une quinzaine de jours dans un endroit sec, à l'abri du soleil, et à température ambiante (Fig. 5 A & B).



Figure 5 : Photographie originale des feuilles d'oliviers. A) feuilles lavées, B) feuilles sèches C) poudre de feuilles tamisées (**Originale**).

II.2 Méthodes appliquées aux poudres sèches des feuilles de l'olivier

Toutes les méthodes utilisées ci-dessous ont été effectuées sur les poudres tamisées obtenues à partir des feuilles desséchées et broyées.

II.2.1 Teneur en cendres

- **Principe**

La détermination de la teneur en cendres consiste à incinérer un échantillon de matière organique à haute température (environ 500-600°C) dans un four. Cela brûle toutes les substances organiques, ne laissant que les résidus inorganiques (cendres) (Ismail, 2017).

- **Mode opératoire**

2 g de poudre de feuilles d'olivier des différentes provenances, ont été calciné dans un four à moufle à 550°C (Nabertherm GmbH, Allemagne) pendant 3 heures, jusqu'à combustion complète de la matière organique et obtention de cendres.

La teneur en cendres (**T**) exprimée en pourcentage est calculée selon la formule suivante :

$$T\% = \frac{W_1 - W_2}{W_3} \times 100$$

Avec **W1**, masse du creuset + cendres (g) ; **W2**, masse du creuset vide (g) et **W3**, masse de l'échantillon avant calcination (g).

II.2.2 Dosage d'acide ascorbique

- **Principe**

Le 2,6-dichlorophénolindophénol (DCPIP) est utilisé comme indicateur pour l'évaluation de l'acide ascorbique (vitamine C) dans un milieu acide, la présence de la vitamine C, qui est un bon agent réducteur conduit à la décoloration de ce réactif qui est bleu dans son état oxydé (Pénicaud et al., 2010).

- **Mode opératoire**

La teneur en acide ascorbique est déterminée selon la méthode modifiée de (Klein et Perry, 1982). Sur une plaque agitatrice (Denchtop Low Speed Centrifuge, Chine), 2 g de poudre de feuilles d'olivier des différentes provenances ont été mélangés avec 10 mL d'acide oxalique (3 %, *m/v*) à température ambiante pendant 30 minutes. Après centrifugation, 100 µL de cette solution ont été mélangés avec 1 mL de 2,6-dichloroindophénol (DCPIP) à 143 µM, et les absorbances mesurées à 515 nm (spectrophotomètre *Biotech Engineering Management CO. LTD*, Royaume-Uni). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'Acide Ascorbique par

gramme de matière sèche (mg EAA/g MS), suivant l'équation de la courbe $y = -3,596x + 0,564$ ($R^2 = 0,99$) (courbe étalon d'acide ascorbique, **Annexe 1**).

II.2.3 Dosage des protéines

- **Principe**

Le principe de cette méthode développée par **Bradford (1976)**, repose sur la réaction entre les protéines présentes dans un échantillon et la solution de Bradford dans un milieu acide. Le bleu de Coomassie comme réactif principal de cette solution se lie aux résidus d'acides aminés basiques présents dans les protéines, notamment l'arginine, l'histidine, la phénylalanine, le tryptophane et la tyrosine, ainsi que sur les interactions hydrophobes, ce qui provoque un changement de couleur du marron vers le bleu (**Nouroozi et al., 2015**).

- **Mode opératoire**

Les protéines ont été extraites des échantillons selon le protocole décrit par **Landi-Librandi et al. (2007)**. Une quantité de 0,4 g d'échantillons ont été agités à température ambiante avec 10 mL d'éthanol (70 %, v/v) pendant 24 heures (VELP SCIENTIFICA, Italie). Ensuite, la teneur totale en protéines a été mesurée selon la méthode de **Bradford (1976)**, en mélangeant 50 μ L de chaque extrait avec 1,25 mL de réactif de Bradford. Après incubation pendant 5 minutes à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 595 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'albumine sérique bovine par gramme de matière sèche (mg EBSA/g MS) suivant l'équation $y = 3,2539x + 0,0408$; ($R^2 = 0,99$) (Courbe étalon des protéines, **Annexe 2**).

II.2.4 Dosage de la Proline

- **Principe**

Cette méthode est basée sur le principe selon lequel la proline réagit en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine, en donnant un composé de couleur rouge orangé soluble dans le toluène (**Troll et Lindsley, 1955**).

- **Mode opératoire et calculs**

Le dosage de la proline a été effectué selon la méthode modifiée de **Bates et al. (1973)**. Pour cette analyse, 100 mg d'échantillon ont été agités avec 3 mL de méthanol à l'aide d'un vortex (Velp scientifica, Italie) puis chauffés à 85°C dans un bain-marie (Bunsen, Espagne) pendant 1 h. Après refroidissement, 1 mL d'extrait obtenu a été mélangé avec 1 mL d'acide acétique (CH_3COOH) et 1 mL du réactif de ninhydrine (1,25 g de ninhydrine ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$) dissous

dans une solution de 30 mL d'acide acétique glacial, 7,5 mL d'acide orthophosphorique (H_3PO_4) et 12,5 mL d'eau distillée). Ce mélange a été porté à ébullition pendant 30 minutes (période après laquelle la solution prend une coloration rouge). Après refroidissement, à 1 mL de l'extrait on rajoute 3 mL de toluène et une pincée de Sulfate de sodium (Na_2SO_4) afin d'éliminer l'eau résiduelle. Suite à l'agitation et une nuit de décantation, la phase contenant la proline a été récupérée à l'aide d'une pipette Pasteur, puis la densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 515 nm. Les résultats ont été exprimés en μg équivalent de proline par gramme de matière sèche (μmol EPro/g MS) en utilisant l'équation $y = 0,0386x - 0,0238$; ($R^2 = 0,995$) (Courbe étalon de la proline, **Annexe 3**).

II.2.5 Dosage des sucres solubles et amidon

- **Principe**

C'est une méthode colorimétrique basée sur la déshydratation des oses en milieu acide (acide sulfurique (H_2SO_4) concentré) et à chaud. Les dérivés furfuraliques obtenus (5-hydroxyméthyl-furfural pour les hexoses) se condensent avec l'anthrone pour donner des produits colorés (**McCready et al., 1950**).

- **Extraction**

Les sucres solubles totaux ont été dosés selon la méthode de **McCready et al. (1950)**. Après une agitation vigoureuse de 100 mg de matériel végétal avec 4 mL d'éthanol à (80%, v/v), le mélange a été centrifugé pendant 10 minutes à 5000 tr/min. Le surnageant contenant les sucres solubles a été récupéré, tandis que le culot a été soumis à deux autres extractions avec à chaque fois 3 mL d'éthanol bouillant à (80%, v/v), suivies de centrifugations successives à 5000 tr/min pendant 10 minutes. Puis les surnageants des trois extractions ont été combinés et ajusté à un volume final de 10 mL avec de l'éthanol à (80%, v/v).

Pour l'amidon, le culot restant est resuspendu dans 2 mL d'eau distillée froide et acidifié avec 3 mL d'acide perchlorique (60 %, v/v). Cette solution a ensuite été incubée pendant 15 minutes dans un bain de glace pour favoriser l'hydrolyse de l'amidon. Après une centrifugation de 10 minutes à 5000 tr/min, le surnageant a été récupéré, et le culot a ensuite été soumis à une deuxième extraction avec 2 mL d'eau distillée froide et 3 mL d'acide perchlorique (60 %, v/v), suivi d'une nouvelle incubation de 10 minutes dans la glace. Le surnageant obtenu après une deuxième centrifugation de 10 minutes à 5000 tr/min a été combiné avec le premier surnageant pour former un seul échantillon. Ce mélange a été ajusté à un volume final de 10 mL avec de l'eau distillée.

- **Dosage**

Pour le dosage des sucres solubles et de l'amidon, aux dilutions à 1/20 des extraits on a rajouté 2 mL du réactif d'anthrone (0,2 g d'anthrone dissous dans 100 mL de H₂SO₄ à 91 %, *v/v*). L'agitation au vortex est suivie d'une incubation de 7 minutes au bain-marie à 100 °C. Après refroidissement, la densité optique est mesurée à 630 nm, au spectrophotomètre. La quantité en sucres solubles et en amidon, moyenne de trois répétitions, ont été exprimés en mg équivalent de Glucose par gramme de matière sèche (mg EGlc/g MS) en utilisant l'équation $y=0,012x-0,0096$; ($R^2=0,998$) (courbe étalon des sucres solubles, **Annexe 4**).

II.2.6 Mesure de la teneur en malondialdéhyde (MDA)

- **Principe**

Dans un milieu acide et à chaud, une molécule de MDA se condense en présence de deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose, susceptible d'un dosage spectrophotométrique à 532 nm (**Draper et Hadley, 1990**).

- **Mode opératoire et calculs**

100 mg de poudre de feuilles d'olivier des différentes provenances ont été agités avec 2 mL d'acide Trichloroacétique (TCA) à 1 %, *m/v*. Le mélange a été centrifugé à 5000 tours/min pendant 20 minutes, puis le surnageant a été récupéré.

Dans un tube, 1 mL de ce surnageant a été mélangé à l'aide d'un vortex avec 2 mL d'acide TBA à 0,5 %, *m/v* (dissous dans du TCA à 20%, *m/v*). L'échantillon a été incubé pendant 30 minutes à 95 °C dans un bain-marie, il a ensuite été refroidi et laissé toute une nuit pour décantation. La densité optique a été mesurée à deux longueurs d'onde à 532 nm et à 600 nm (la DO à 600 nm étant utilisé pour corriger l'absorption résultant de substances autres que le complexe MDA-TBA). La teneur en MDA (mmol g⁻¹ MS) a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire du MDA ($\epsilon = 155 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

II.2.7 Dosage des pigments photosynthétiques et phéophytines

- **Principe**

Le dosage des pigments photosynthétiques et des phéophytines repose sur l'extraction des pigments, leur dosage par spectrophotométrie à des longueurs d'onde spécifiques tel que décrit par **Lichtenthaler (1987)**.

- **Mode opératoire**

On a pesé 100 mg de poudre sèche à laquelle on a ajouté 10 mL d'acétone (80%, v/v). Toutes les manipulations ont été effectuées dans des conditions de faible éclairage et à froid. Le mélange a ensuite été centrifugé pendant 5 minutes à 5000 rpm. Les absorbances de l'extrait ont été mesurées à différentes longueurs d'onde (663,2 nm, 646,8 nm, et 470 nm) à l'aide du spectrophotomètre, en utilisant un blanc constitué d'acétone (80%, v/v).

Immédiatement après la lecture de l'absorbance, la cuve contenant l'extrait a été récupérée et une goutte d'acide chlorhydrique (25%, v/v) a été ajoutée afin de transformer les chlorophylles en phéophytines. Les absorbances ont été mesurées à nouveau après 30 à 60 secondes à différentes longueurs d'onde (665,4 nm, 653,4 nm et 470 nm), en utilisant le même blanc constitué d'acétone (80%, v/v).

- **Calculs**

Les teneurs en pigments photosynthétiques et phéophytines ont été déterminées pour le solvant utilisé (acétone 80 %) par les équations de **Lichtenthaler (1987)** :

$$\text{Chlorophylle (a) } (\mu\text{g/mL}) = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8}$$

$$\text{Chlorophylle (b) } (\mu\text{g/mL}) = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}$$

$$\text{Chlorophylles (a + b) } (\mu\text{g/mL}) = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8}$$

$$\text{Phéophytine (a) } (\mu\text{g/mL}) = 22,42 A_{665,4} - 6,81 A_{653,4}$$

$$\text{Phéophytine (b) } (\mu\text{g/mL}) = 40,17 A_{653,4} - 18,58 A_{665,4}$$

$$\text{Phéophytines (a + b) } (\mu\text{g/mL}) = 3,84 A_{665,4} + 33,36 A_{653,4}$$

$$\text{Caroténoïdes totaux } (\mu\text{g/mL}) = \frac{1000 A_{470} - 1,82 \text{ Chl}(a) - 85,02 \text{ Chl}(b)}{198}$$

Avec (A) qui représente l'absorbance lue à chacune des longueurs d'onde indiquées.

La quantité de pigments a été déduite de la moyenne de cinq mesures avec calcul de l'écart-type. Les résultats ont été exprimés en mg de pigments par gramme de matière sèche.

II.3 Méthodes appliquées aux extraits de poudres des feuilles de l'olivier

Dans ce qui suit, sont décrites toutes les méthodes utilisées sur les extraits de poudres des feuilles de l'olivier. Les extraits ont été obtenus par décoction optimisée avec le choix d'un ratio de 1 g pour 100 mL d'eau distillée, une température de 76 °C, pendant un temps de 24 minutes. Les extraits ont été recueillis après décantation et filtration. Ils ont été conservés à -20°C avant toute utilisation.

II.3.1 Détermination du pH

Le potentiel hydrogène (pH) a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Bante modèle 920, Chine) sur les extraits des 3 provenances.

II.3.2 Détermination de la conductivité

La conductivité de l'extrait a été mesurée à l'aide d'un conductimètre (Bante modèle 920, Chine).

II.3.3 Dosage des flavonoïdes totaux

- **Principe**

Cette méthode colorimétrique repose sur le principe selon lequel le réactif à base de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) forme des complexes acides stables avec les groupes cétone en C-4, ainsi qu'avec les groupes hydroxyle en C-3 ou C-5 de flavones et des flavonoïdes, et même avec les groupes ortho-dihydroxyle situés dans les cycles A ou B de ces composés (**Makuasa et Ningsih, 2020**).

- **Mode opératoire et calculs**

La mesure des flavonoïdes totaux (TFC) a été évaluée selon le protocole amélioré par **Boudjouan et al. (2022)**. Un mélange composé de 250 μL d'extrait, 750 μL d'éthanol, 50 μL d'acétate de potassium ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$, 1 M dans l'éthanol), 50 μL de chlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10%, *m/v* dans H_2O), et 1,4 mL d'eau a été incubé pendant 40 minutes à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance du produit a été mesurée à 415 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) suivant l'équation $y = 6,3949x + 0,039$, ($R^2 = 0,9987$) (Courbe étalon des flavonoïdes totaux, **Annexe 5**).

II.3.4 Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

Le réactif de Folin Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Lorsque les polyphénols sont

oxydés en présence de carbonate de sodium, ce réactif est réduit, produisant un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Georgé *et al.*, 2005).

- **Mode opératoire et calculs**

La mesure des polyphénols totaux (TPC) a été réalisée selon le protocole modifié de Zeghib *et al.* (2022). Un mélange de 200 μ L d'extrait et de 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (0,1 N) a été pré-incubé pendant 5 minutes dans l'obscurité, puis 800 μ L de carbonate de sodium (7,5 %, *m/v*) ont été rajoutés. Après incubation dans l'obscurité pendant 5 minutes à 50 °C, l'absorbance du produit de réaction a été mesurée à 760 nm avec un spectrophotomètre. La teneur en TPC a été exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS), en utilisant l'équation $y=6,4067x+0,0525$; ($R^2 = 0,999$) (Courbe étalon des polyphénols totaux, Annexe 6).

II.3.5 Dosage des tanins condensés

- **Principe**

Cette méthode repose sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en milieu acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (Tine *et al.*, 2010).

- **Mode opératoire et calculs**

La teneur en tanins condensés dans les extraits de feuilles d'olivier a été déterminée selon le protocole modifié de Sun *et al.* (1998). Un volume de 125 μ L de l'extrait a été ajouté à 750 μ L de la solution vanilline (4%, *m/v*) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 375 μ L de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été additionnés. Après 15 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats ont été exprimés en microgramme (μ g) équivalent de la catéchine par gramme de matière sèche (μ g EC/g MS) suivant l'équation $y=0,0023x-0,0024$; ($R^2 = 0,9932$) (Courbe étalon des tanins condensés, Annexe 7).

II.3.6 Capacité antioxydante équivalente de Trolox (TEAC)

- **Principe**

L'activité antioxydante d'un produit est déduite de sa capacité à neutraliser le radical $ABTS^{*+}$, obtenu à partir de l'ABTS : sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis- (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS généralement avec la présence de persulfate de potassium qui donne une solution d'une couleur bleu intense (Re *et al.*, 1999).

- **Mode opératoire et calculs**

Le test TEAC a été réalisé selon le protocole modifié de **Re et al. (1999)**. Pour cette analyse 100 µL d'extrait de feuilles d'olivier ont été mélangés avec 1 mL d'une solution éthanolique de radical ABTS (ABTS^{•+}) (solution d'ABTS^{•+} a été préparée en mélangeant 7 mM d'ABTS et 2,4 mM de persulfate de potassium v/v 1:1, puis incubée pendant 12 à 16 heures à l'abri de la lumière et à température ambiante). Après incubation pendant 7 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière, l'absorbance du produit réactionnel résultant de la décoloration de l'ABTS^{•+} a été mesurée à 734 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de Trolox par gramme de matière sèche (mg ET/g MS) en utilisant l'équation $y = -11,143x + 0,5705$; ($R^2 = 0,996$) (Courbe étalon du TEAC, **Annexe 8**).

II.3.7 Inhibition d'oxyde nitrique (NO[•])

- **Principe**

Cette méthode repose sur le principe selon lequel le nitroprussiate de sodium en solution aqueuse, à pH physiologique, génère spontanément de l'oxyde nitrique, qui interagit ensuite avec l'oxygène pour produire des ions nitrites. Ces ions nitrites peuvent être quantifiés à l'aide du réactif de Griess (**Ebrahimzadeh et al., 2010**).

- **Mode opératoire et calculs**

Le test d'inhibition des radicaux d'oxyde nitriques (NO[•]) a été réalisé selon le protocole de **Lopes et al. (2012)**. Pour cela 450 µL d'extrait de feuilles d'olivier ont été mélangés avec 1 mL de solution nitroprussiate de sodium (10 mM), puis incubés à la lumière, à température ambiante pendant 60 minutes. Ensuite un volume de 450 µL de réactif de Griess fraîchement préparé (un mélange 1:1 (v/v) de deux solutions distinctes : (1%, m/v) de sulphanilamide et de (0.1%, m/v) de N-(1-naphtyl) éthylène diamine dissous dans (2%, v/v) d'acide phosphorique H₃PO₄) a été ajouté au mélange et incubé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 10 minutes. Un témoin sans extrait a été réalisé en même temps que les échantillons. L'absorbance du produit réactionnel a été mesurée à 562 nm, Les pourcentages des radicaux nitriques ont été calculés selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{A_{ctr} - A_{ext}}{A_{ctr}}$$

Avec A_{ctr} , absorbance contrôle ; A_{ext} , absorbance de l'extrait.

II.3.8 Test d'inhibition de l' α -amylase

- **Principe**

Le principe du test d'inhibition de l' α -amylase repose sur la réaction de l'acide dinitrosalicylique (DNS) avec un sucre réducteur (tel que le glucose) pour former de l'acide 3-amino-nitrosalicylique. Simultanément, les groupes aldéhydes des sucres réducteurs sont oxydés en groupes carboxyle. Cela crée un changement de couleur observable qui peut être mesuré pour quantifier la présence du sucre (**Draper et Hadley, 1990**).

- **Mode opératoire et calculs**

L'activité antidiabétique a été réalisée selon le protocole de **Miller (1959)** avec quelques modifications. Un volume de 200 μ L d'extrait a été mélangé avec 200 μ L d'amidon (1%, *m/v*), suivi d'une incubation de 10 minutes à température ambiante. Ensuite, 200 μ L d'enzyme à une concentration de 0.5 mg/mL ont été ajoutés au mélange, suivi d'une nouvelle incubation de 10 minutes à température ambiante. Après cette étape, 400 μ L de solution de DNS diluée à 1/2 ont été ajoutés au mélange. Le tout est ensuite placé dans un bain marie et chauffé à 100°C pendant 5 minutes. Après cette incubation, les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 540 nm. Les pourcentages d'inhibitions ont été calculés selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{A_{ctr} - A_{ext}}{A_{ctr}}$$

Avec *A_{ctr}*, absorbance contrôle ; *A_{ext}*, absorbance de l'extrait.

- ❖ **Analyse statistique**

Tous les résultats rapportés représentent une moyenne de 5 répétitions différentes avec calcul de l'écart-type. Le logiciel Statistica 7.0 a été utilisé pour les comparaisons statistiques par l'analyse de la variance (ANOVA) et les différences entre les moyennes ont été déterminées à l'aide du test LSD-Fisher en considérant un niveau de signification à $p \leq 0,05$.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1 Analyses effectuées sur les poudres sèches

III.1.1 Teneur en cendres

La Figure 6 illustre les teneurs en cendres (%) des poudres de feuilles d'olivier des trois provenances : Tazmalt (TZ), Timri (TM) et Akkache (AK).

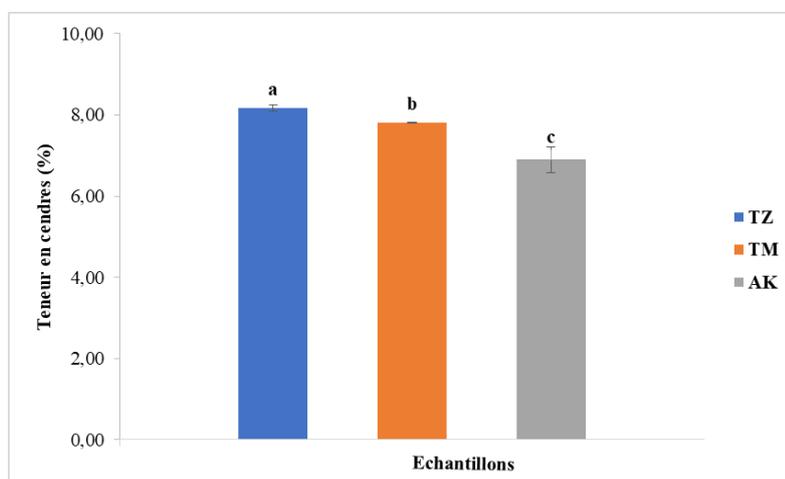


Figure 6 : Teneur en cendres des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage des teneurs en cendres est variable. Il est de $8,17 \pm 0,08\%$ pour l'échantillon de Tazmalt, de $7,81 \pm 0,01\%$ pour celui de Timri et de $6,90 \pm 0,32\%$ pour la provenance d'Akkache (**Fig. 6**). Ces valeurs sont en accord avec les résultats trouvés par **Greche et Ennabili (2007)** qui ont travaillé sur les feuilles de différentes variétés d'olivier d'origine tunisienne (*Zarrazi, Chétoui, Chemlali et Chemchali*). Les résultats rapportés varient entre $6,60 \pm 0,22$ et $9,82 \pm 0,09\%$. Ces résultats sont légèrement supérieurs à ceux trouvés par **De Oliveira et al. (2024)**, qui ont travaillé sur des feuilles de trois cultivars portugais (*Cobrançosa, Madural et Verdeal*) et dont les teneurs en cendres sont de $4,34 \pm 0,30$ à $4,79 \pm 0,04\%$.

III.1.2 Teneur en acide ascorbique

La teneur en acide ascorbique des 3 échantillons étudiés a donné lieu à des différences significatives particulièrement entre les provenances de Tazmalt ($0,645 \pm 0,008$ mg EAA/g MS) et Timri ($0,619 \pm 0,004$ mg EAA/g MS) vis-à-vis de celle d'Akkache ($0,413 \pm 0,006$ mg EAA/g MS) (**Fig. 7**).

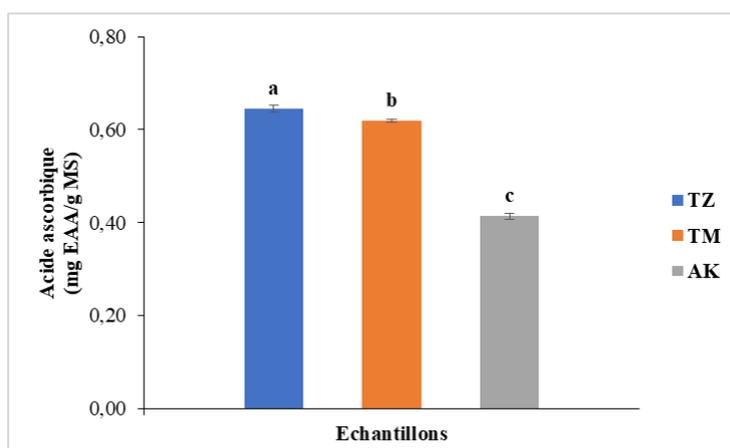


Figure 7 : Teneur en acide ascorbique de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Pour des fins de comparaisons, nous n'avons pas trouvé dans la littérature scientifique d'études relatant cet aspect qui concerne l'acide ascorbique dosé au niveau des feuilles de l'olivier. Sinon, au niveau du fruit il a été trouvé que la teneur en acide ascorbique varie de 0,03 à 7,38 mg/100 g MF selon les variétés et l'état des fruits (López et al., 2005).

III.1.3 Teneur en protéines

Les protéines solubles dosées par la méthode de Bradford (1979) ont donné lieu à une teneur assez faible dans l'échantillon de Tazmalt ($6,224 \pm 0,460$ mg EBSA/g MS) comparativement à ce qui a été trouvé dans les deux autres provenances à savoir Timri et Akkache, qui se caractérisent d'ailleurs par une teneur en protéines assez identique (≈ 9 mg EBSA/g MS) statistiquement (Fig. 8).

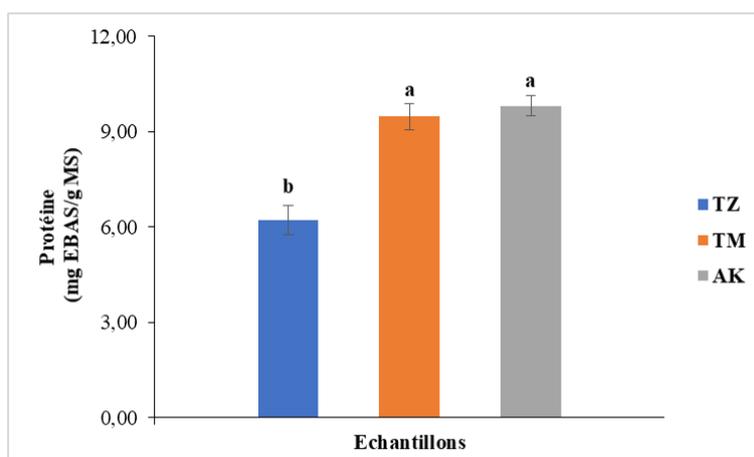


Figure 8 : Teneur en protéines des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Analysant une variété d'olivier dénommée *Mari* cultivée en Iran, il a été trouvé que la quantité en protéines des feuilles est de $13,08 \pm 0,06\%$ MS (Hukerdi et al., 2018). C'est à peu

près les mêmes quantités trouvées par **Cavalheiro et al. (2015)** qui ont travaillé sur plusieurs variétés de l'olivier originaires du Brésil. Les quantités trouvées varient de 10,50 à 13,10% MS (**Cavalheiro et al., 2015**).

C'est un peu moins que les cas des variétés espagnoles qui exhibent des teneurs en protéines des extraits de feuille de 7% MS (**García et al., 2003**) jusqu'à 10% MS (**Molina-Alcaide et Yáñez-Ruiz, 2008**). C'est encore moins que ce qui a été cité pour 3 variétés poussant au Portugal, dont la teneur en protéines tourne entre $3.81 \pm 0.02\%$ à $6.43 \pm 0.09\%$ (**De Oliveira et al., 2024**).

III.1.4 Teneur en proline

L'acide aminé, la proline a été quantifié au sein des 3 échantillons considérés dans notre étude. Les résultats obtenus montrent, tout comme pour les protéines, une quantité en proline beaucoup moindre dans l'échantillon de Tazmalt par rapport aux deux autres échantillons. Ainsi, la diminution est de 13% lorsqu'on compare entre ce qui a été trouvé dans l'échantillon de Tazmalt ($1,880 \pm 0,084 \mu\text{mol/mg MS}$) par rapport à la quantité en proline dosée dans l'échantillon d'Akkache. Le pourcentage de diminution passe à 16,5%, lorsqu'on la compare à la quantité trouvée dans l'échantillon de Timri. Par ailleurs, les 2 échantillons d'Akkache ($2,16 \pm 0,085 \mu\text{mol/mg MS}$) et Timri ($2,25 \pm 0,224 \mu\text{mol/mg MS}$) présentent statistiquement une même quantité de proline (**Fig. 9**).

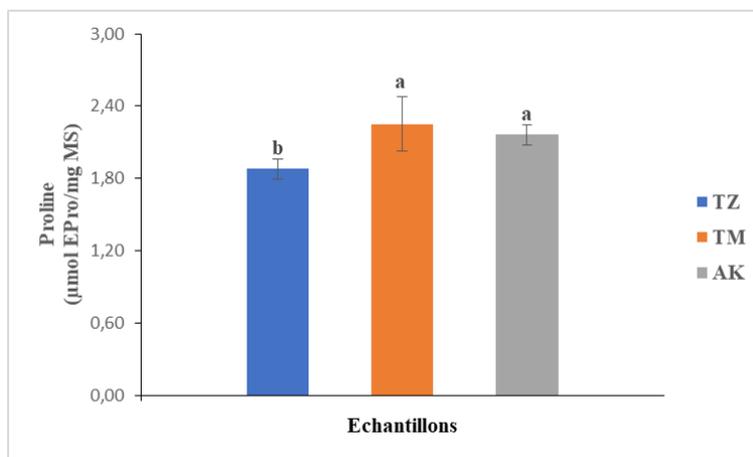


Figure 9 : Teneur en proline des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Sofa et al. (2004) trouvent dans les feuilles fraîches d'oliviers du sud de l'Italie, des valeurs en proline variant entre $0,53 \pm 0,01$ et $1,59 \pm 0,03 \mu\text{mol/mg MF}$ pour ce qui est des feuilles stressées par de la sécheresse. C'est un peu moins dans le cas des feuilles témoins d'oliviers

irrigués, dont la quantité en proline est entre $0,47 \pm 0,02$ et $0,65 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/mg MF}$ (Sofu *et al.*, 2004).

Il y a lieu de noter que nos dosages ont été réalisés sur les poudres desséchées et nos résultats ont donc été exprimés par rapport à de la matière sèche.

III.1.5 Teneur en sucres solubles et amidon

La figure 10 ci-dessous rapporte les résultats combinés des teneurs en sucres solubles et en amidon. Celui relatif à la teneur en sucres solubles atteint une valeur moyenne de $130,50 \pm 1,67$ mg EGlc/g MS dans l'échantillon de Tazmalt. C'est relativement la même quantité dans l'échantillon d'Akkache ($123,50 \pm 10,37$ mg EGlc/g MS), à un degré moindre dans celui de Timri ($116,00 \pm 5,52$ mg EGlc/g MS) (Fig. 10).

Ceux relatifs aux teneurs en amidon, révèlent des valeurs similaires entre les échantillons de Tazmalt et d'Akkache, tout autant d'ailleurs que ce qui a été observé pour les sucres solubles pour les 2 types d'échantillons. Par contre, pour l'échantillon de Timri, là où nous avons observé moins de sucres solubles, en revanche la quantité d'amidon dosée ($44,559 \pm 5,561$ mg EGlc/g MS) surpasse celles observées dans les échantillons de Tazmalt ($36,338 \pm 2,623$ mg EGlc/g MS) et d'Akkache ($36,825 \pm 3,075$ mg EGlc/g MS) (Fig. 10).

D'ailleurs on trouve de 3,3 à 3,5 fois plus de sucres solubles que d'amidon dans les échantillons de Tazmalt et Akkache. Par contre, dans l'échantillon de Timri, le rapport sucres solubles / amidon n'est que de 2,6. Ceci indique qu'une réserve d'amidon existe un peu plus dans l'échantillon de Timri que chez les deux autres provenances.

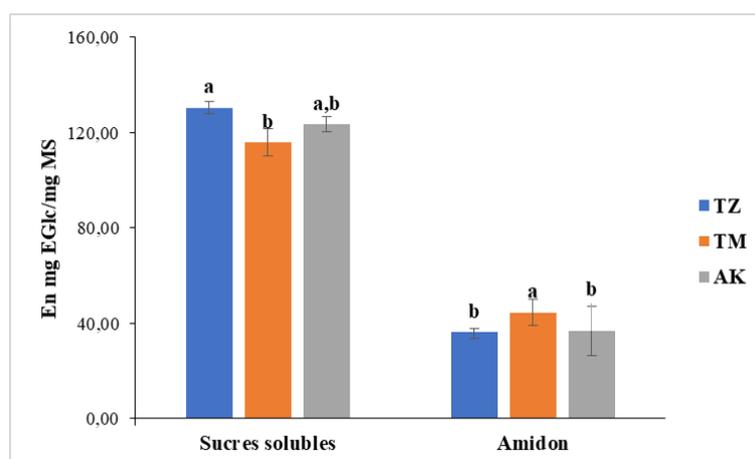


Figure 10 : Teneur en sucres solubles et en amidon des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Dans une étude de caractérisation de la composition lignocellulosique et de sucres menée sur des feuilles issues de différents cultivars de l'olivier, il a été trouvé un contenu en sucres solubles de l'ordre de $12,79 \pm 0,39$ à $15,14 \pm 0,12$ % MS. Par ailleurs, il a été trouvé que parmi les sucres solubles majoritaires, ce sont le glucose de 6,22 à 9,32 % et le mannitol (de 3,26 à 5,23) qui sont les plus représentatifs. D'autres sucres y sont présents mais faiblement tels que le xylose, le galactose, l'arabinose et le xylitol. Aussi, cette composition diffère d'un cultivar à un autre (Lama-Muñoz *et al.*, 2020).

Il y a lieu aussi de dire que le contenu total en sucres solubles varie selon les saisons. C'est ce qui a été constaté par Eris *et al.* (2007) qui ont rapporté un contenu en sucres solubles de 12 à 13 mg EGlc/g MF aux mois d'août, septembre et octobre pour passer à des contenus de 24 à 27 mg EGlc/g MF aux mois de janvier, février et mars (Eris *et al.*, 2007).

Dans une autre étude, le dosage des sucres solubles dans les feuilles de l'olivier donne un contenu de près de 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MS. Celui relatif au contenu en amidon est voisin de 50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MS. Ces dosages ont été réalisés sur les feuilles d'oliviers poussant en conditions normales, sans stress hydrique et sans stress hautes températures (Araújo *et al.*, 2019). Il y a lieu de faire remarquer que ces contenus varient en fonction des conditions du milieu. Sur ce plan, un stress hydrique fait augmenter de près de deux fois le contenu de l'amidon alors que l'augmentation des sucres solubles ne suit pas celle de l'amidon (Araújo *et al.*, 2019).

III.1.6 Teneur en malondialdéhyde (MDA)

La teneur en MDA mesurée ne varie pas chez les 3 provenances. Statistiquement, pas de différences significatives entre ce qui a été dosé pour l'échantillon de Tazmalt ($11,771 \pm 1,193$) par rapport à celui de Timri ($12,474 \pm 1,205$) et d'Akkache ($11,427 \pm 0,988$ $\mu\text{g}/\text{g}$) (Fig. 11).

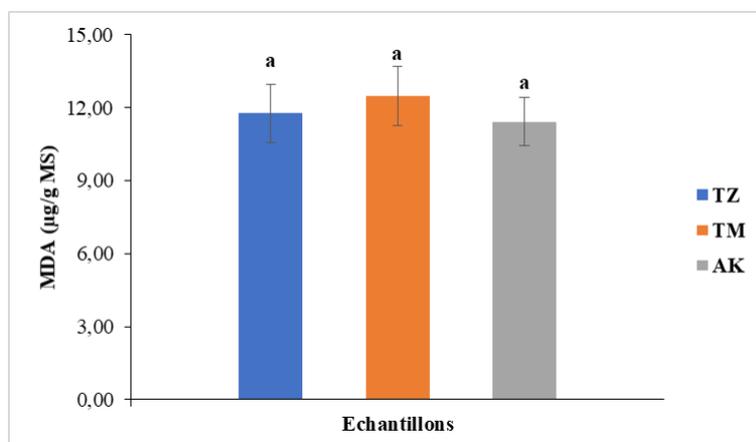


Figure 11 : Teneur en MDA des poudres de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Une forte accumulation du MDA est la conséquence d'un stress, notamment hydrique. C'est ce qui a été constaté au niveau des parties foliaires de l'olivier du sud de l'Italie stressées par un manque d'eau. Les teneurs en MDA enregistrées sont de $73,78 \pm 2,39$ à $256,06 \pm 13,27$ nmol/g MF alors que dans les conditions normales de non stress hydrique, la teneur en MDA n'est que de $8,00 \pm 8,39$ à $68,33 \pm 5,30$ nmol/g MF (Sofa *et al.*, 2004).

III.1.7 Teneur en chlorophylles, en phéophytines et en caroténoïdes totaux

▪ Teneur en chlorophylles

Sur les pigments chlorophylliens, les dosages effectués montrent sensiblement les mêmes teneurs en chlorophylle (a) et en chlorophylle (b) lorsqu'on les considère par provenance. En revanche, chacune des provenances se distingue par une teneur en chlorophylle distincte, et ce qu'elle soit pour la chlorophylle (a) ou la chlorophylle (b).

En effet, l'échantillon d'Akkache montre un contenu en chlorophylle (a) comme en chlorophylle (b), supérieur à celui de Timri, encore plus par rapport à celui de Tazmalt. On le constate lorsqu'on considère le total des chlorophylles (a+b), où l'on enregistre un total de $2,446 \pm 0,070$ mg/g MS pour celui d'Akkache, supérieur de 8,8% par rapport à celui de Timri et de 23% par rapport à celui de Tazmalt (Fig. 12).

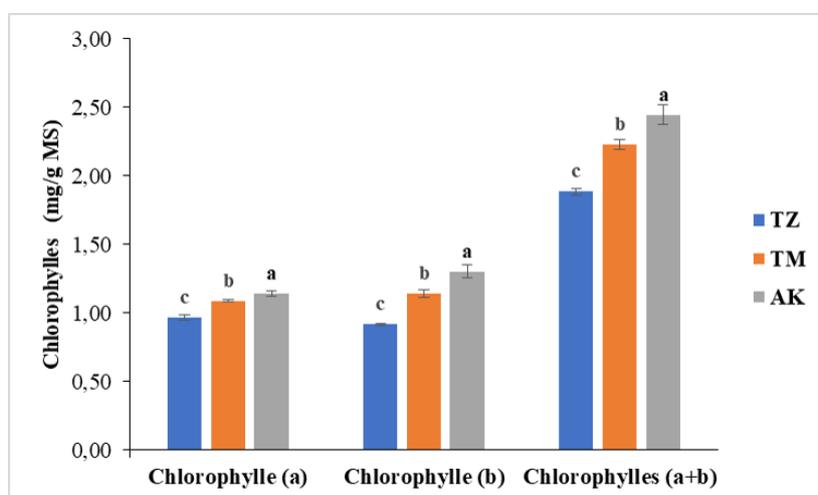


Figure 12 : Teneur en chlorophylles (a), (b) et totales (a+b) de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Dans l'étude consacrée aux feuilles d'oliviers poussant en conditions normales, sans stress hydrique et sans stress hautes températures, il a été trouvé un contenu en chlorophylles totales d'environ 0,45 mg/g MS, avec un rapport en chlorophylle (b) deux fois plus élevé que celui relatif à la chlorophylle (a). Cependant, lorsqu'on applique un stress hydrique, la

chlorophylle (b) diminue pendant que la chlorophylle (a) augmente de moitié (Araújo *et al.*, 2019).

Dans le travail d'Antunes *et al.* (2021) sur les feuilles de différentes variétés d'olivier (*Arbosana*, *Arbequina*, *Frantoio*, *Manzanilla* et *Koroneiki*) du nord-ouest du Paraná (Brésil), il a été trouvé des quantités en chlorophylle (a) variant de $0,27 \pm 0,02$ à $0,33 \pm 0,01$ mg/g MF ou bien des quantités en chlorophylle (b) variant entre $0,11 \pm 0,01$ à $0,15 \pm 0,01$ mg/g MF. Ces quantités sont assez faibles par rapport aux quantités que nous avons trouvées.

▪ Teneur en phéophytines

Les phéophytines dérivent des chlorophylles. Leur dosage donne lieu aux résultats rapportés dans la figure 13. Autant pour les phéophytines (a) que pour les phéophytines (b), la provenance d'Akkache se distingue par une teneur plus élevée que celle de Timri, encore plus que celle de Tazmalt. C'est d'ailleurs le cas lorsqu'on considère le total des phéophytines, où l'on trouve dans l'échantillon d'Akkache une teneur de $3,119 \pm 0,075$ mg/g MS, supérieure à celle de Timri ($2,935 \pm 0,040$ mg/g MS) et de Tazmalt ($2,498 \pm 0,059$ mg/g MS).

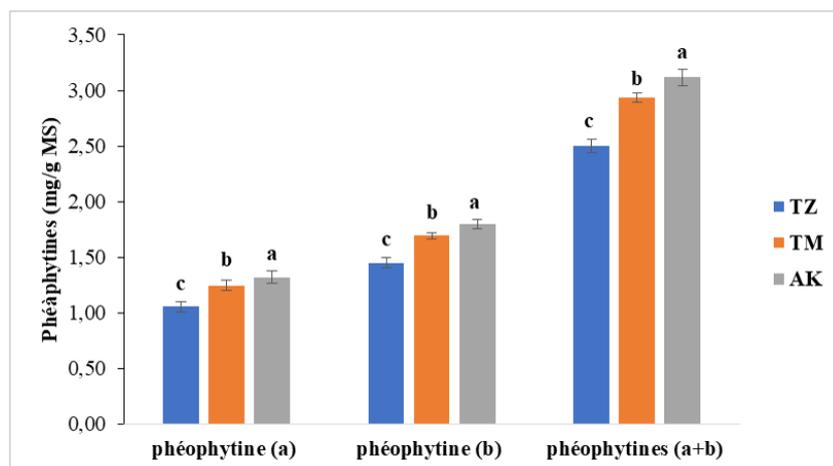


Figure 13 : Teneur en phéophytines (a), (b) et totales (a+b) de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

A chaque fois que l'on compare la teneur en phéophytine(s) trouvée par rapport à la teneur en chlorophylle(s) correspondante, on trouve qu'elle est toujours supérieure dans tous les cas considérés. La différence entre phéophytine (a) et chlorophylle (a) étant moins importante que celle constatée entre la phéophytine (b) et la chlorophylle (b). Autrement, la différence ne peut être qu'intermédiaire entre phéophytines (a+b) et chlorophylles (a+b) (Tab. IV).

Donc, il y a plus de phéophytine (b) que de chlorophylle (b). Ce n'est pas le cas pour la chlorophylle (a) qui est presque de même ordre que la phéophytine (a). La principale déduction est que la chlorophylle (b) est plus sensible que la chlorophylle (a). Cette sensibilité se voit beaucoup plus pour l'échantillon de Tazmalt (1,57) que celui de Timri (1,48), pendant que celui d'Akkache présente un rapport le moins élevé (1,37) concernant la comparaison phéophytine (b) / chlorophylle (b) (**Tab. IV**).

Dans un travail de **Minguez-Mosquera et al. (1994)** qui ont mesuré l'activité de la chlorophyllase dans le fruit d'*Olea europaea*, il a été trouvé que les valeurs K_m et V_{max} obtenus de l'hydrolyse de tous les substrats présentent une forte affinité pour la chlorophylle (b), pendant que le taux maximum de la réaction le plus élevé se passe pour la phéophytine (a). L'inhibition du substrat a été observé avec la phéophytine (b) (**Minguez-Mosquera et al.,1994**).

Tableau IV : Tableau indiquant les teneurs en chlorophylles, en phéophytines et en caroténoïdes totaux des 3 différentes provenances des feuilles de l'olivier (mg/g MS). Les rapports phéophytines / chlorophylles ont été déterminés pour chacun des 3 échantillons considérés.

	Tazmalt	Timri	Akkache
Chlorophylle (a)	0,966±0,019 ^c	1,090±0,012 ^b	1,142±0,020 ^a
Phéophytine (a)	1,052±0,042 ^c	1,245±0,044 ^b	1,319±0,054 ^a
Phé (a) / Chl (a)	1,08	1,14	1,15
Chlorophylle (b)	0,919±0,007 ^c	1,140±0,029 ^b	1,304±0,051 ^a
Phéophytine (b)	1,446±0,045 ^c	1,690±0,025 ^b	1,799±0,043 ^a
Phé (b) / Chl (b)	1,57	1,48	1,37
Chlorophylles (a+b)	1,885±0,024 ^c	2,230±0,038 ^b	2,446±0,070 ^a
Phéophytines (a+b)	2,498±0,059 ^c	2,935±0,040 ^b	3,119±0,075 ^a
Phé (a+b) / Chl (a+b)	1,32	1,31	1,27
Caroténoïdes totaux	0,172±0,016 ^a	0,141±0,005 ^b	0,139±0,005 ^b

▪ Teneur en caroténoïdes totaux

A l'inverse des chlorophylles, le contenu en caroténoïdes totaux de l'échantillon d'Akkache, tout comme d'ailleurs pour l'échantillon de Timri est de 18,6% moins important que celui exhibé par l'échantillon de Tazmalt (**Fig. 14 et Tab. IV**).

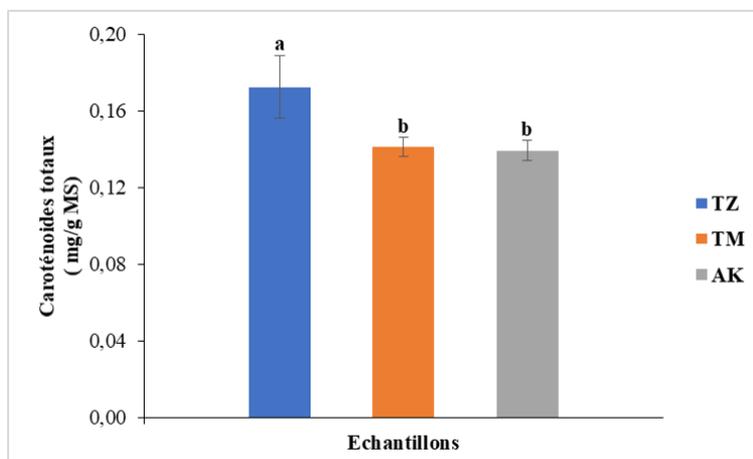


Figure 14 : Teneur en caroténoïdes totaux de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Par comparaison à d'autres travaux notamment ceux de **Brahmi et al. (2013)**, qui ont travaillé sur les feuilles de deux variétés d'olivier (chemlali et neb jmel) collectées en Octobre et en Janvier dans le centre de la Tunisie. Les dosages des caroténoïdes totaux montrent une variation saisonnière pour les 2 variétés considérées. A ce titre, la variété chemlali montre une teneur en caroténoïdes totaux variable de 51.00 mg/100 g MF en octobre à 12,11 mg/100 g MF en janvier. Pour la variété neb jmel, la teneur en caroténoïdes totaux varie entre 35.24 mg/100 g MF en octobre et 9.01mg/100 g MF en janvier (**Brahmi et al., 2013**).

III.1.8 Synthèse

Tous les paramètres considérés dans cette première partie ont portés sur les poudres de feuilles d'oliviers provenant de 3 oliveraies situées dans 3 endroits différents. 2 sites sont montagneux (Timri et Akkache), un site fait partie de la plaine de la vallée de la Soummam (Tazmalt).

Le tableau V regroupe toutes les analyses effectuées. Hormis pour la teneur en MDA qui est la même pour les 3 échantillons, trois autres caractéristiques considérées sont plus ou moins différentes d'une provenance à une autre, nous citerons, les cendres, l'acide ascorbique et la teneur en chlorophylles, (a) ou bien (b). Sinon, les sites de Timri et Akkache montrent des teneurs identiques en protéines et en proline qui sont notablement supérieures à celles déterminées dans la provenance de Tazmalt.

Encore plus, les sites de Timri et Akkache se caractérisent par des teneurs en d'autres métabolites qui sont identiques, mais inférieures cette fois-ci à celles correspondantes dans la provenance de Tazmalt. Ici, nous citerons les sucres solubles et les caroténoïdes totaux. Il reste l'amidon, sa teneur est identique entre les provenances de Tazmalt et Akkache, supérieure à celui correspondant dans la provenance de Timri (**Tab. V**).

Tableau V : Récapitulatif des paramètres considérés sur les poudres provenant des feuilles d'oliviers de 3 provenances différentes.

	Tazmalt	Timri	Akkache
Teneur en acide ascorbique (mg EAA/g MS)	0,645±0,008 ^a	0,619±0,004 ^b	0,413±0,006 ^c
Teneur en protéines (mg EBSA/g MS)	6,224±0,460 ^b	9,472±0,403 ^a	9,810±0,312 ^a
Teneur en proline (µmol EPro/g MS)	1,761±0,087 ^b	2,145±0,231 ^a	2,052±0,088 ^a
Teneur en sucres solubles (µg EGlc/g MS)	130,50±1,67 ^a	116,00±5,52 ^b	123,5±10,37 ^{ab}
Teneur en amidon (µg EGlc/g MS)	36,338±2,623 ^b	44,559±5,561 ^a	36,825±3,075 ^b
Teneur en MDA (µg/g MS)	11,771±1,193 ^a	12,474±1,205 ^a	11,427±0,988 ^a

La variabilité observée dans notre étude pour les tests physico-chimiques effectués, en comparaison avec la littérature pourrait être due à plusieurs paramètres : variabilité géographique, climatique, pédologique et agronomique. Ces différents aspects peuvent avoir un impact notable sur la composition chimique des plantes et particulièrement au niveau des parties foliaires, qui sont le siège principal de différents processus métaboliques, dont le processus le plus important lié à la photosynthèse (**Rodríguez-López et al., 2020**).

Par ailleurs, les conditions liées aux stress biotiques ou abiotiques ainsi que la part représentée par les conditions édaphiques et les éléments nutritifs influencent également le métabolisme en général et le fonctionnement des feuilles en particulier (**Djenane et al., 2012**). L'ensemble ne peut que modifier et influencer les principaux composants dont ceux que nous avons considérés dans cette première partie.

III.2 Méthodes appliquées aux extraits de poudres des feuilles de l'olivier

Dans ce qui suit, ce sont des résultats opérés sur les extraits de poudres des feuilles de l'olivier. Ces extraits ont été obtenus par décoction réalisée à travers des conditions

préalablement optimisées : ratio de 1 g pour 100 mL d'eau distillée, température de 76 °C, durée de 24 minutes.

III.2.1 Potentiel hydrogène (pH) et conductivité

A l'aide d'un pH-mètre *Bante 920*, les mesures du potentiel hydrogène ont donné lieu aux résultats qui distinguent les échantillons provenant de 3 endroits différents : celui de Tazmalt se distingue par un pH de 5,93, celui de Timri par un pH de 5,66 alors que celui d'Akkache se présente avec un pH qui est de 5,55.

A l'aide d'un conductimètre, les mesures effectuées donnent lieu à des résultats sensiblement différents. La valeur mesurée pour l'échantillon extrait de feuilles provenant de Tazmalt est de 312 S/m, celui propre à Timri est de 323 S/m, pendant que la conductivité mesurée dans l'échantillon d'Akkache est de 350 S/m.

Selon **Antunes et al. (2021)**, les résultats du pH de l'extrait de feuilles d'*Olea europaea* de 5 variétés différentes (*Arbosana*, *Arbequina*, *Frantoio*, *Manzanilla* et *Koroneiki*) cultivés au Brésil, varient entre $5,25 \pm 0,18$ et $5,89 \pm 0,04$. Nos résultats se situent dans cette gamme de pH. Pour ce qui de la conductivité, nous n'avons pas trouvé de point de comparaison par rapport à cette situation précise.

III.2.2 Teneur en flavonoïdes totaux

Le dosage quantifiant les flavonoïdes totaux des 3 provenances montre des teneurs qui varient statistiquement. La teneur la plus élevée est obtenue avec l'extrait de Timri, qui est de $4,958 \pm 0,159$ mg EQ/g MS (**Fig. 15**). Juste après, on trouve par ordre décroissant une teneur de $3,877 \pm 0,135$ mg EQ/g MS pour l'extrait de Tazmalt, puis de $2,330 \pm 0,088$ mg EQ/g MS pour l'extrait d'Akkache (**Fig. 15**).

Nos résultats ne sont pas aussi équivalents de ceux rapportés par **Lins et al. (2018)**, qui obtiennent une teneur en flavonoïdes totaux de 19.4 ± 1.3 mg EQ/g MS dosée à partir des extraits de feuilles d'*Olea europaea* L. provenant du Brésil. Il y a lieu de signaler que ces dosages correspondent à des extraits méthanoliques.

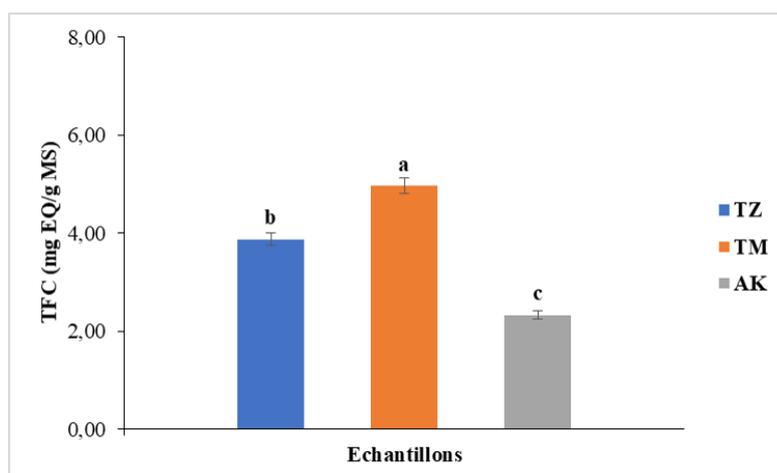


Figure 15 : Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

III.2.3 Teneur en polyphénols totaux

A l'opposé des flavonoïdes totaux, les quantités dosées en polyphénols totaux révèlent des différences notables entre 2 provenances vis-à-vis d'une seule provenance, en l'occurrence celle de Tazmalt. Celle-ci se distingue par une teneur la plus élevée ($78,272 \pm 1,759$ mg EAG/g MS) par rapport aux teneurs sensiblement égales (64 mg EAG/g MS) des extraits de feuilles provenant de Timri et Akkache (**Fig. 16**).

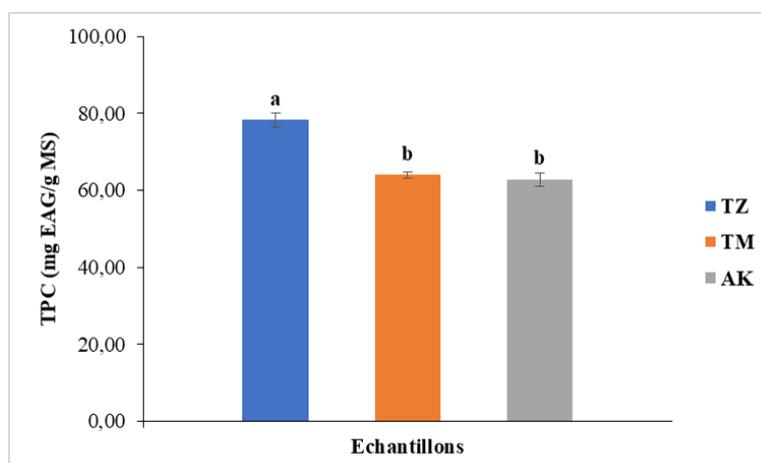


Figure 16 : Détermination de la teneur en polyphénols totaux des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Aussi bien que pour les flavonoïdes totaux, les quantifications des polyphénols totaux sont inférieures à celles obtenues par **Lakache et al. (2019)**, qui ont travaillé avec des extraits de feuilles d'*Olea europaea* méthanoliques. Les résultats obtenus avec de tels extraits de l'ordre

de $115,35 \pm 2,24$ mg EAG/g, surpassent bien les nôtres (Lakache et al., 2019). Cependant, nos résultats sont en parfaite accord avec ceux obtenus par Ben Salah et al. (2012), qui trouvent des teneurs en composés phénoliques variant entre $73,05 \pm 15,52$ et $144,19 \pm 10,27$ mg EAG/g. Ces résultats ont été obtenus depuis les extraits éthanoliques de feuilles d'olivier d'origine tunisienne.

III.2.4 Teneur en tanins condensés

De très moindre importance, les teneurs en tanins condensés ne montrent de différence significative que pour la provenance de Timri, qui tourne autour d'une teneur de $1,930 \pm 0,075$ mg EC/g MS. Cette teneur est significativement supérieure à celle de Tazmalt et d'Akkache, qui montrent par ailleurs des résultats similaires, respectivement de $1,713 \pm 0,097$ et $1,670 \pm 0,147$ mg EC/g MS (Fig. 17).

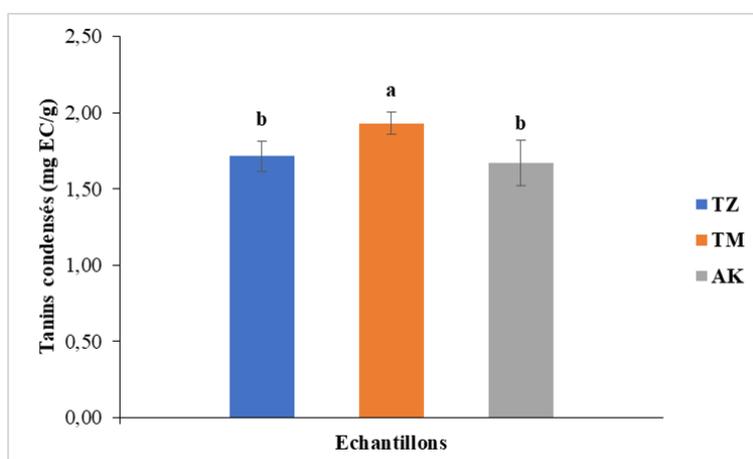


Figure 17 : Détermination de la teneur en tanins condensés des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Antunes et al. (2021) trouvent que les teneurs en tanins condensés varient d'une teneur de $0,0002 \pm 0,00$ à $0,01 \pm 0,00$ mg EC/g pour les variétés d'olivier *Arbosana*, *Arbequina*, *Frantoio*, *Manzanilla* et *Koroneiki*. Ces variétés sont celles cultivées dans le nord-ouest du Paraná au Brésil. Comparativement à nos résultats, de telles teneurs sont encore plus faibles, cela ne peut qu'indiquer d'une présence à faible concentration de ces tannins condensés.

Les résultats obtenus concernant les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins condensés spécifient l'extrait de Tazmalt par un contenu appréciable en polyphénols totaux par rapport aux 2 autres extraits. Timri en revanche se distingue un tant soit peu par un contenu en flavonoïdes totaux assez appréciable comparativement aux 2 autres provenances. A moindre échelle, c'est aussi le cas pour les tanins condensés.

La teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés des feuilles d'olivier varient de celles qui sont décrites dans plusieurs travaux. Ces différences sont tributaires de plusieurs facteurs. Premièrement, la méthodologie d'extraction et d'analyse joue un rôle crucial. Les techniques et les solvants utilisés peuvent influencer considérablement les résultats obtenus. A titre indicatif, des études ont montré que les variations dans les méthodes d'extraction par solvant et les conditions analytiques peuvent conduire à des différences significatives dans les concentrations de composés phytochimiques (**Dai et Mumper, 2010**). Aussi, les changements tant qualitatifs que quantitatifs des composés phénoliques sont dépendants du cycle biologique de l'olivier, de l'organe étudié et de la variété considérée (**Brahmi et al., 2013**).

Selon **Altıok et al. (2008)**, les concentrations en composés polyphénoliques dans les feuilles de l'olivier changent en fonction de la qualité, de l'origine du matériel végétal et de la zone d'étude.

III.2.5 Capacité antioxydante équivalente de Trolox (TEAC)

La Figure 18 rend compte de la capacité antioxydante équivalente de Trolox des feuilles d'*Olea europaea*.

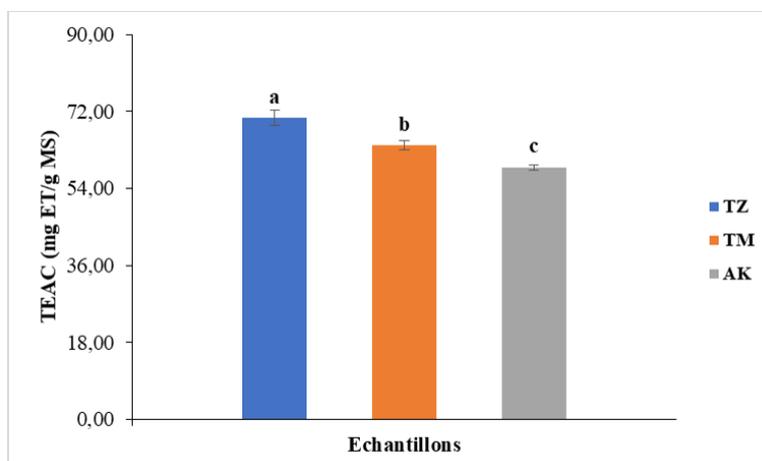


Figure 18 : Détermination de la capacité antioxydante équivalente de Trolox (TEAC) des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Cette capacité varie de la plus élevée trouvée dans l'extrait de Tazmalt ($70,421 \pm 1,792$ mg ET/g MS), à la plus faible trouvée dans l'extrait d'Akkache ($58,952 \pm 0,584$ mg ET/g MS) en passant par une teneur intermédiaire trouvée pour l'extrait de Timri ($54,067 \pm 0,997$ mg ET/g MS).

Ce qui a été trouvé comme documentation sur ce sujet, est que **Benavente-García et al. (2000)** rapportent pour la mesure du TEAC depuis les extraits des feuilles d'*Olea europaea* L cultivé en Espagne des capacités antioxydantes de l'ordre de 1.58 ± 0.06 mM.

III.2.6 Dosage d'oxyde nitrique (NO[•])

Les résultats de l'analyse d'inhibition de NO[•] (oxyde nitrique) dans les échantillons de feuilles d'olivier révèlent des similitudes entre les extraits des différents échantillons étudiés. Celui de Tazmalt se distingue par un pourcentage d'inhibition de $75,64 \pm 0,25\%$, légèrement supérieur à celui exhibé par l'extrait de Timri et d'Akkache, quasi-identique de 73% (**Fig. 19**).

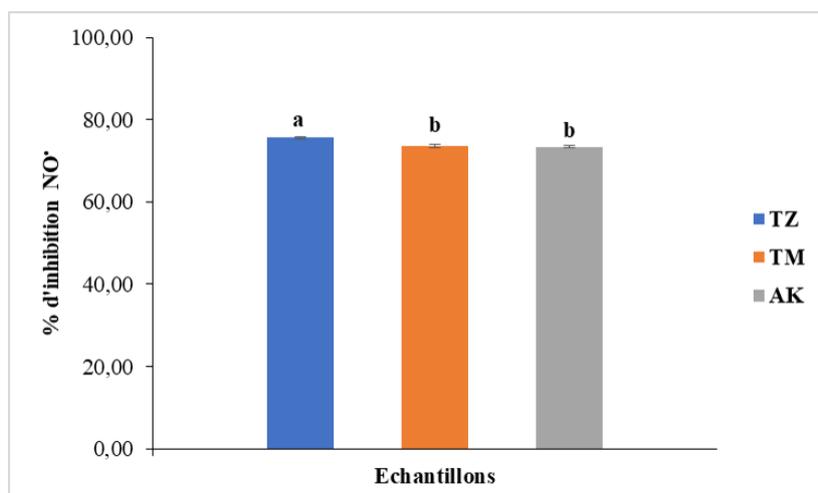


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition de NO[•] des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes.

Les résultats de notre étude d'inhibition de NO[•] ont montré des valeurs significativement plus élevées par rapport aux données rapportées par **De Oliveira et al. (2024)**, notamment pour des extraits hydroéthanoliques obtenus des feuilles d'olivier de différentes variétés portugaises (*Madural*, *Cobrançosa* et *Verdeal*). Les % d'inhibition obtenus varient entre 24,8 et 47,3% (**De Oliveira et al., 2024**).

L'oxyde nitrique est un médiateur pléiotrope, principalement produit par une voie enzymatique impliquant l'oxyde nitrique synthase (NOS) et ses isoformes. Ce radical libre participe à de nombreux mécanismes physiologiques, notamment la transmission des signaux. Toutefois, en excès, le NO[•], avec sa courte durée de vie, est extrêmement réactif et peut interagir avec l'oxygène et d'autres molécules pour produire des radicaux réactifs aux effets néfastes pour les cellules (**Luiking et al., 2010**).

III.2.7 Test d'inhibition de l' α -amylase

La Figure ci-dessous présente les pourcentages d'inhibition de l' α -amylase pour les trois échantillons d'extraits de feuilles d'olivier référencés par rapport à un standard Acarbose à 1 mg/ml (**Fig. 20**).

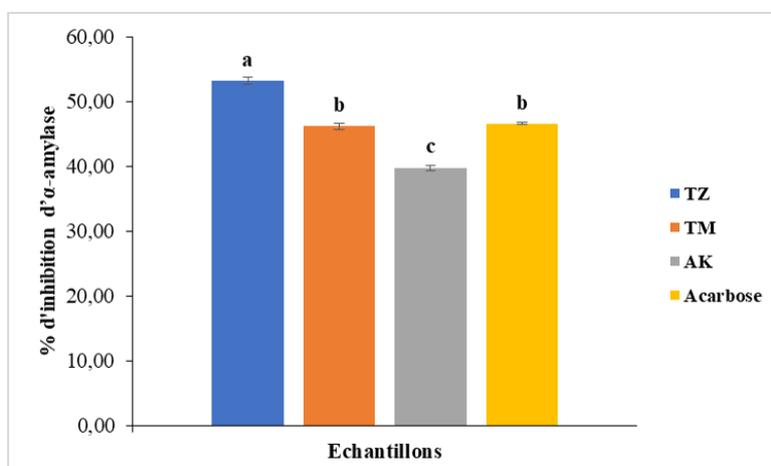


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase des extraits de feuilles d'olivier de 3 provenances différentes référencés à un standard acarbose.

Les résultats de l'analyse de l'inhibition enzymatique de l' α -amylase dans les échantillons de feuilles d'olivier ont révélé des variations significatives entre les différents échantillons étudiés. Le % d'inhibition obtenu pour l'échantillon de Tazmalt est le plus élevé avec $53,15\pm 0,53\%$, suivi immédiatement de celui de Timri avec $46,15\pm 0,52\%$. Celui d'Akkache affiche le pourcentage d'inhibition le plus bas avec $39,75\pm 0,41\%$ (**Fig. 20**).

Ces valeurs sont comparativement inférieures à celles obtenues par **Chigurupati et al. (2021)** qui ont rapporté des pourcentages d'inhibition de l'alpha-amylase dans les feuilles d'olivier de la région de Qassim en Arabie Saoudite de 95,16%. Aussi, la valeur d'inhibition de l'acarbose dans notre étude qui est de $46,55\pm 0,17\%$ est également inférieure à celle de 94,35% observée par **Chigurupati et al. (2021)**.

Il est important de noter que plusieurs facteurs pourraient expliquer ces différences, notamment les variations dans les sources des échantillons, les méthodes d'extraction et les concentrations utilisées. Dans l'étude de **Chigurupati et al. (2021)**, l'utilisation de différentes concentrations d'éthanol absolu pourrait avoir permis une extraction plus efficace des composés actifs responsables de l'inhibition de l' α -amylase. De plus, les différences géographiques et environnementales entre les régions de collecte des échantillons pourraient également

influencer la composition chimique des feuilles d'olivier et par conséquent, leur activité enzymatique (Chigurupati et al., 2021).

III.2.8 Synthèse

Dans cette seconde partie, on s'est intéressé à un ensemble d'analyses regroupés en 3 grands groupes : le contenu en composés phyto-chimiques issu du métabolisme secondaire, les activités antioxydantes et antidiabétique. Ces 3 paramètres ont été étudiés sur les extraits de feuilles obtenus par décoction. Les feuilles ont été récoltées de 3 endroits distincts : Timri, Akkache et Tazmalt.

Le tableau VI regroupe les résultats obtenus pour ces 3 grands groupes d'analyses effectuées.

Tableau VI : Récapitulatif des paramètres considérés sur les extraits de poudres provenant des feuilles d'oliviers de 3 provenances différentes.

	Tazmalt	Timri	Akkache
Flavonoïdes totaux (mg EQ /g MS)	3,877±0,135 ^b	4,958 ± 1,509 ^a	2,330 ± 0,088 ^c
Polyphénols totaux (mg EAG /g MS)	78,272±1,759 ^a	64,037±0,775 ^b	62,813±1,767 ^b
Tanins condensés (mg EC /g MS)	1,713 ± 0,097 ^b	1,930 ± 0,075 ^a	1,670 ± 0,147 ^b
TEAC (mg ET/g MS)	70,421±1,792 ^a	64,067±0,997 ^b	58,952±0,584 ^c
NO [•] (%)	75,64±0,25 ^a	73,66±0,35 ^b	73,45±0,19 ^b
L'α-amylase (%)	53,15±0,53 ^a	46,15±0,52 ^b	39,75±0,41 ^c

Ce qui ressort de l'analyse de ce tableau est que les composés phénoliques totaux sont bien représentés dans l'échantillon de Tazmalt, beaucoup plus que ce qui a été trouvé dans l'échantillon de Timri et d'Akkache. Les flavonoïdes peu représentatifs distinguent la provenance de Timri par rapport aux provenances de Tazmalt et d'Akkache. Alors que le contenu en tanins condensés est insignifiant et les différences entre les 3 provenances sont très peu marquées.

Le comportement différentiel des trois variétés vis-à-vis de ces métabolites secondaires pourrait traduire une stratégie spécifique propre à chacune dans son endroit où elle pousse par rapport à son environnement immédiat. Le comportement de la plante dans son cycle biologique est étroitement lié aux conditions climatiques, conditions de croissance, ainsi qu'à l'influence des différents stress (Sahin et Bilgin, 2018 ; Munekata et al. 2020).

Aussi, le contenu en substances phénoliques est changeant en fonction des méthodes employées lors de l'extraction comme le type de solvant, les préparations préliminaires des échantillons, la composition du solvant, la taille des particules, la température d'extraction, le temps, le pH et la pression (**Şahin et Bilgin, 2018 ; Munekata et al., 2020**). C'est aussi le cas des flavonoïdes totaux, dont la variabilité est déterminée par la différence entre variétés utilisées est transposable également aux techniques testées (**Özcan et Matthäus, 2017**).

Les 2 activités antioxydantes considérées dans ce travail sont la capacité antioxydante équivalente de Trolox et le % d'inhibition d'oxyde nitrique. Dans les deux cas, ces activités distinguent la provenance de Tazmalt par rapport aux 2 autres échantillons considérés. D'autre part, si l'activité via le trolox est plus importante dans l'échantillon de Timri par rapport à l'échantillon d'Akkache, le % d'inhibition de NO[•] est sensiblement le même entre ces deux dernières provenances.

La caractérisation de l'activité antioxydante des extraits est difficile, puisqu'elle dépend de la technique utilisée et qui doit être performante tenant compte de plusieurs paramètres qu'il faut contrôler. Les difficultés découlent des mécanismes réactionnels associés à l'effet antioxydant (**Karadag et al., 2009**). Sinon, les feuilles de l'olivier comptent des composés antioxydants. Leur capacité à piéger des radicaux libres est avérée avec un effet retardant sur les réactions oxydatives (**Şahin et al., 2018**). Ces activités sont liées à plusieurs facteurs comme la position géographique, les conditions de préparation des extraits et la période de la récolte des échantillons (**Sánchez-Gutiérrez et al., 2021**).

Quant à l'activité antidiabétique via l' α -amylase, la différence est observée pour les 3 provenances. Elle est importante dans l'échantillon de Tazmalt, moins dans l'échantillon de Timri, encore moins dans l'échantillon d'Akkache. L'inhibition de l' α -amylase peut être due à la richesse de la plante en composés phénoliques capables de ralentir le diabète en inhibant la conversion de l'amidon en glucose (**Mehenni et al., 2016**). Les polyphénols protègent également contre les dommages oxydatifs induits par un excès de glucose et peuvent moduler la sécrétion d'insuline chez les humains (**Stull et al., 2010**).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

L'objectif de cette étude est d'essayer de confirmer ou d'infirmier de possibles disparités d'ordre physiologiques et/ou biochimiques de l'olivier (*Olea europaea* L.) cultivé dans différentes régions de la wilaya de Bejaia. Pour rappel, les feuilles ont été collectées d'une oliveraie irriguée de la région de Tazmalt située en pleine vallée de la soummam. Les 2 autres provenances sont montagneuses, il s'agit de Timri et d'Akkache.

Akkache d'où on a ramené les feuilles est proche d'une rivière ainsi que d'un site dédié à l'élevage de volailles. Timri est en revanche un site isolé, non entretenu et fortement exposé à l'incidence directe du soleil.

La première approche a concerné les poudres obtenues depuis les feuilles desséchées des 3 sites. Les différentes analyses effectuées ont donné lieu aux constatations suivantes :

	Tazmalt	Timri	Akkache
Cendres (%)	+++	++	+
Rôle d'antioxydant / Défense contre le stress			
Acide ascorbique (mg / g MS)	+++	++	+
Métabolisme protéinique			
Protéines (mg / g MS)	++	+++	+++
Indicateur de stress / Ajustement osmotique / Protecteur			
Proline (μmol / g MS)	++	+++	+++
Hydrolyse de l'amidon en sucres solubles / Métabolisme des sucres			
Sucres solubles (μg / g MS)	+++	++	++
Amidon (μg / g MS)	++	+++	++
Photosynthèse			
Chlorophylles (a+b) (mg / g MS)	+	++	+++
Pouvoir protecteur contre la photoinhibition			
Caroténoïdes totaux (mg / g MS)	+++	++	++
Installation d'un stress oxydatif			
MDA ($\mu\text{g/g}$ MS)	+++	+++	+++

De prime abord, les feuilles récoltées du site de Tazmalt souffrent plus que Timri. Pendant que les feuilles récoltées du site d'Akkache montrent certaines caractéristiques qui vont dans le sens indiquant que l'espèce dans son site naturel est bien portante.

Conclusion

La seconde approche a concerné les extraits de poudres obtenus par décoction. Les analyses effectuées ont donné lieu aux constats suivants :

	Tazmalt	Timri	Akkache
Système de défense / Adaptation			
Polyphénols totaux (mg /g MS)	+++	++	++
Flavonoïdes totaux (mg /g MS)	++	+++	+
Tanins condensés (mg /g MS)	++	+++	++
Activité antioxydante			
TEAC (mg /g MS)	+++	++	+
NO [•] (%)	+++	++	++
Hydrolyse de l'amidon / Mobilisation des réserves			
L' α -amylase (%)	+++	++	+

+++ : Quantité élevée, ++ : Quantité modérée, + : Quantité faible

De l'interprétation qui ressort de ces teneurs en métabolites secondaires, l'activité antioxydante et le % d'inhibition de l' α -amylase, il paraît plus que probable que ce qui a été récolté du site d'Akkache est plus résistant que ce qui est du cas de Timri, encore plus pour celui de Tazmalt.

C'est encore plus probable lorsqu'on sait que l'oliveraie de Tazmalt de la plaine vallée, nécessite une irrigation sinon la récolte en souffre.

D'autre part, il y a lieu de ne pas négliger l'aspect énergétique, lorsqu'on sait que les sucres provenant de l'activité de l' α -amylase sont essentiels pour les processus métaboliques, y compris ceux impliqués dans la synthèse de composés phénoliques et autres antioxydants.

Liste bibliographique

Liste bibliographique

A

Abdallah, M., Ben Aoun, R., Ben Amor, M., Touhami, I., Habibi, M., & Trabelsi, N. (2023). Useful bioactive compounds from olive tree by-products (Leaves, Branches, Fruits). *Agricultural waste: environmental impact, useful metabolites and energy production*, 331-358.

Abousalim, A., & Brhadda, N. (2005). Essais de prolifération et d'enracinement de matériel issu de rajeunissement par bouturage d'oliviers adultes (*Olea europaea* L.) et de germination in vitro: effets de cytokinine et d'auxines. *BASE*.

Alam, S., Sarker, M. M. R., Sultana, T. N., Chowdhury, M. N. R., Rashid, M. A., Chaity, N. I., ... & Mohamed, I. N. (2022). Antidiabetic phytochemicals from medicinal plants: prospective candidates for new drug discovery and development. *Frontiers in endocrinology*, 13, 800714.

Aljuhr, S. A., Abdelaziz, G., Selim, A. A., Zaghary, W. A., & Sakr, T. M. (2022). Anti-cancer, anti-inflammatory and antioxidant effects of Vit-A/C@ SeNPs in mutual diethylnitrosamine and carbon tetrachloride induced hepatocellular damage in albino rats. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 75, 103723.

Altıok, E., Bayçın, D., Bayraktar, O., & Ülkü, S. (2008). Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology*, 62(2), 342-348.

Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2013). Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 159-166.

B

Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A. D. R. J., & Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food chemistry*, 68(4), 457-462.

Benjeddou, H., Ahmed, C. B., & Rouina, B. B. (2019). Influence of antioxidative enzymes, phytohormones and pigments in alternate bearing of three olive cultivars. *Scientia Horticulturae*, 253, 17-23.

Liste bibliographique

Beyaz, S., Gök, Ö., & Aslan, A. (2022). A research paper on the immunomodulatory and anti-inflammatory activities of olive tree (*Olea europaea* L.) leaf. *International Journal of Secondary Metabolite*, 9(3), 348-359.

Bhushan, M. S., Rao, C. H. V., Ojha, S. K., Vijayakumar, M., & Verma, A. (2010). An analytical review of plants for anti diabetic activity with their phytoconstituent & mechanism of action. *Int J Pharm Sci Res*, 1(1), 29-46.

Bouaziz, M., & Sayadi, S. (2005). Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107(7-8), 497-504.

Boucheffa, S., Miazzi, M. M., di Rienzo, V., Mangini, G., Fanelli, V., Tamendjari, A., ... & Montemurro, C. (2017). The coexistence of oleaster and traditional varieties affects genetic diversity and population structure in Algerian olive (*Olea europaea*) germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64, 379-390.

Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851.

Chigurupati, S., Alharbi, F. S., Almahmoud, S., Aldubayan, M., Almoshari, Y., Vijayabalan, S., ... & Venugopal, V. (2021). Molecular docking of phenolic compounds and screening of antioxidant and antidiabetic potential of *Olea europaea* L. Ethanolic leaves extract. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(11), 103422.

C

Contreras, M. D. M., Gómez-Cruz, I., García-Vargas, M. C., Romero, I., & Castro, E. (2022). Bioactives and Pharmacology of *Olea europaea* L.(Family: Oleaceae). In *Bioactives and Pharmacology of Medicinal Plants* (pp. 357-367). Apple Academic Press.

Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia university press.

D

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.

Liste bibliographique

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, *15*(10), 7313-7352.

F

Fanelli, V., Mascio, I., Falek, W., Miazzi, M. M., & Montemurro, C. (2022). Current Status of Biodiversity Assessment and Conservation of Wild Olive (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris*). *Plants*, *11*(4), 480.

Fegeros, K., Zervas, G., Apsokardos, F., Vastardis, J., & Apostolaki, E. (1995). Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*, *17*(1), 9-15.

G

García, A. M., Moumen, A., Ruiz, D. Y., & Alcaide, E. M. (2003). Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves. *Animal Feed Science and Technology*, *107*(1-4), 61-74.

Garcia-Gómez, A., Roig, A., & Bernal, M. P. (2003). Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresource technology*, *86*(1), 59-64.

Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A. H., & Saari, N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*, *13*(3), 3291-3340.

Ghedira, K. (2008). L'olivier. *Phytothérapie*, *6*(2), 83-89.

H

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

Hashmi, M. A., Khan, A., Hanif, M., Farooq, U., & Perveen, S. (2015). Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Olea europaea* (olive). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2015*(1), 541591.

Liste bibliographique

K

Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food analytical methods*, 2, 41-60.

Kiritsakis, A. K. (1998). Flavor components of olive oil—A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(6), 673-681.

KOMAKI, E., YAMAGUCHI, S., MARU, I., KINOSHITA, M., KAKEHI, K., OHTA, Y., & TSUKADA, Y. (2003). Identification of anti- α -amylase components from olive leaf extracts. *Food Science and Technology Research*, 9(1), 35-39.

Kostelenos, G., & Kiritsakis, A. (2017). Olive tree history and evolution. *Olives and olive oil as functional foods: bioactivity, chemistry and processing*, 1-12.

L

Lakache, Z., Tigrine, C., Aliboudhar, H., & Kameli, A. (2021). Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea*. *Phytothérapie*, 19(2), 83.

Lamani, O., & Ilbert, H. (2016). Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie): pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. *L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours: pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques*. Montpellier: CIHEAM, 149-159.

Lins, P. G., Pugine, S. M. P., Scatolini, A. M., & de Melo, M. P. (2018). In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. *Heliyon*, 4(9).

Lu, G., Shimizu, I., Cui, X., Itonaga, M., Tamaki, K., Fukuno, H., ... & Ito, S. (2004). Antioxidant and antiapoptotic activities of idoxifene and estradiol in hepatic fibrosis in rats. *Life Sciences*, 74(7), 897-907.

Luiking, Y. C., Engelen, M. P., & Deutz, N. E. (2010). Regulation of nitric oxide production in health and disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 13(1), 97-104.

M

Liste bibliographique

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.

Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarçay, S., Perrin, D., Gérardin, P., & Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of Pistacia lentiscus leaf and fruit extracts. *Journal of food and drug analysis*, 24(3), 653-669.

Melguizo-Rodríguez, L., González-Acedo, A., Illescas-Montes, R., García-Recio, E., Ramos-Torrecillas, J., Costela-Ruiz, V. J., & García-Martínez, O. (2022). Biological effects of the olive tree and its derivatives on the skin. *Food & Function*, 13(22), 11410-11424.

Munekata, P. E., Domínguez, R., Budaraju, S., Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Mallikarjunan, K., ... & Lorenzo, J. M. (2020). Effect of innovative food processing technologies on the physicochemical and nutritional properties and quality of non-dairy plant-based beverages. *Foods*, 9(3), 288.

O

Özcan, M. M., & Matthäus, B. (2017). A review: Benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *European Food Research and Technology*, 243, 89-99.

P

Palamarev, E. (1989). Paleobotanical evidences of the Tertiary history and origin of the Mediterranean sclerophyll dendroflora. In *Woody plants—evolution and distribution since the Tertiary: Proceedings of a symposium organized by Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina in Halle/Saale, German Democratic Republic, October 9–11, 1986* (pp. 93-107). Springer Vienna.

Picman, A. K., Schneider, E. F., & Picman, J. (1995). Effect of flavonoids on mycelial growth of *Verticillium albo-atrum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 23(7-8), 683-693.

Popay, I. (2016). *Olea europaea* subsp. *europaea* (European olive). *Forestry Compendium*, (37336).

R

Rhizopoulou, S. (2007). *Olea europaea* L. A botanical contribution to culture. *Am J Agric Environ Sci*, 2, 382-387.

Liste bibliographique

S

Şahin, S., & Bilgin, M. (2018). Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1271-1279.

Şahin, S., Elhussein, E., Bilgin, M., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., & Roohinejad, S. (2018). Effect of drying method on oleuropein, total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant activity of olive (*Olea europaea*) leaf. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(5), e13604.

Salah, M. B., Abdelmelek, H., & Abderraba, M. (2012). Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. *Med chem*, 2(5), 107-111.

Sánchez-Gutiérrez, M., Bascón-Villegas, I., Rodríguez, A., Pérez-Rodríguez, F., Fernández-Prior, Á., Rosal, A., & Carrasco, E. (2021). Valorisation of *Olea europaea* L. olive leaves through the evaluation of their extracts: Antioxidant and antimicrobial activity. *Foods*, 10(5), 966.

Sauvion, N., Calatayud, P. A., Thiéry, D., & Marion-Poll, F. (2013). *Interactions insectes-plantes*. Editions Quae.

Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Boyunegmez Tumer, T., Oluwaseun Adetunji, C., El Omari, N., Balahbib, A., ... & C. Cho, W. (2019). Natural products and synthetic analogs as a source of antitumor drugs. *Biomolecules*, 9(11), 679.

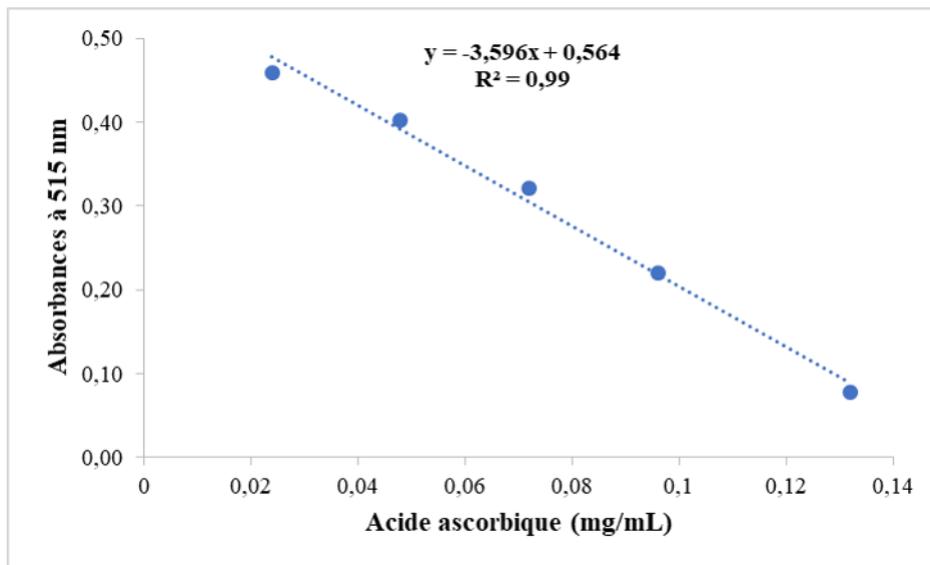
Stull, A. J., Cash, K. C., Johnson, W. D., Champagne, C. M., & Cefalu, W. T. (2010). Bioactives in blueberries improve insulin sensitivity in obese, insulin-resistant men and women. *The Journal of nutrition*, 140(10), 1764-1768.

T

Tiwari, R., & Rana, C. S. (2015). Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(5), 661-670

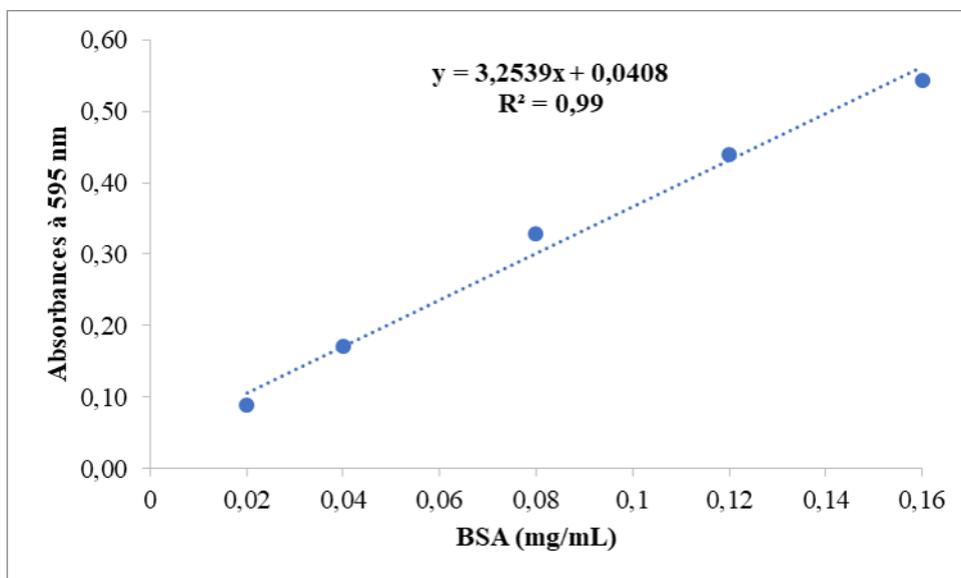
Annexes

Annexe 1 : Dosage d'acide ascorbique.



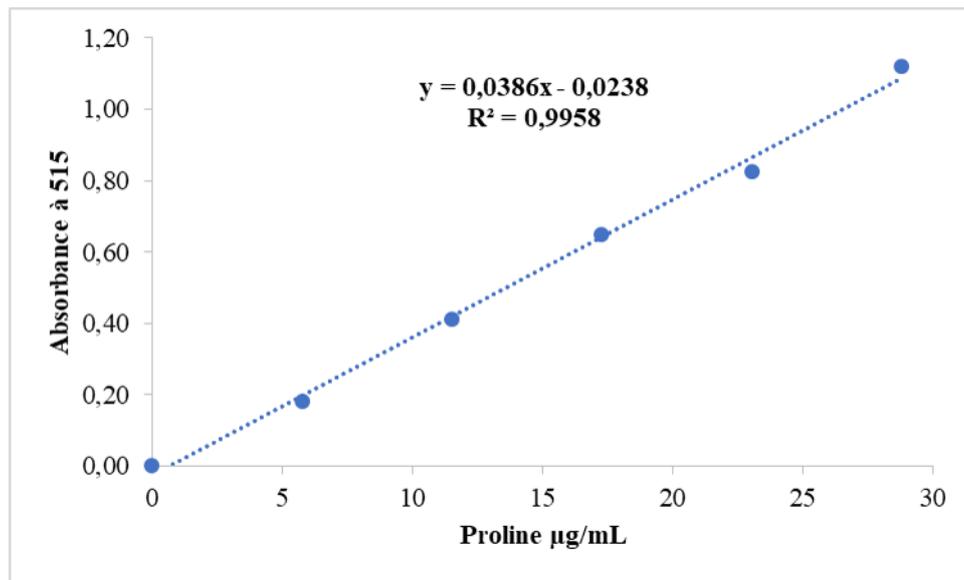
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Annexe 2 : Dosage des protéines.



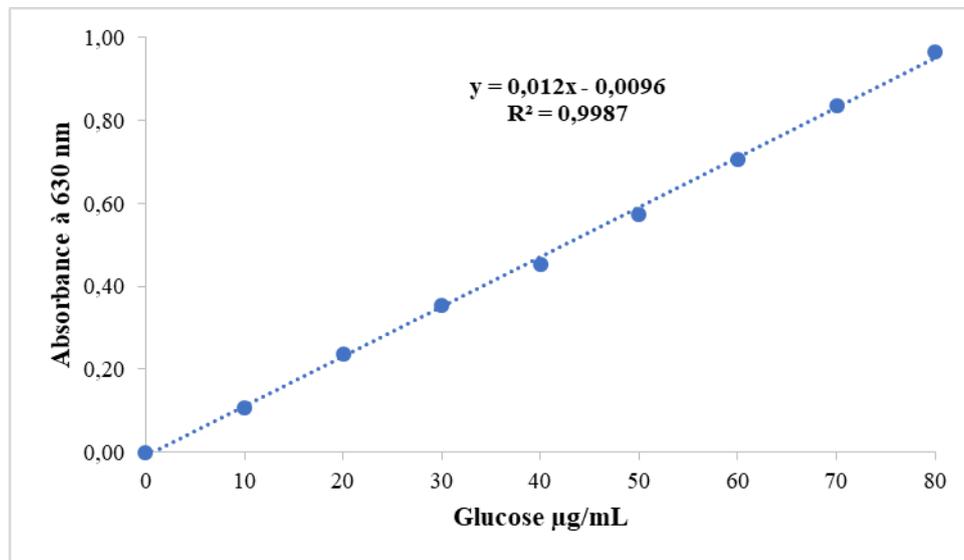
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la BSA pour le dosage des protéines.

Annexe 3 : Dosage de la proline.



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de la proline.

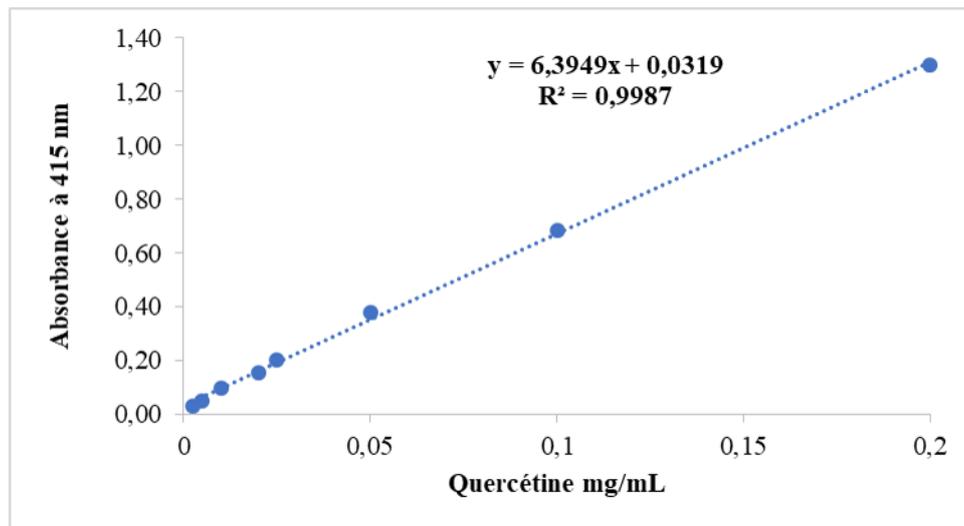
Annexe 4 : Dosage des sucres solubles



Annexe 4 : Courbe d'étalonnage de Glucose pour le dosage des sucres solubles.

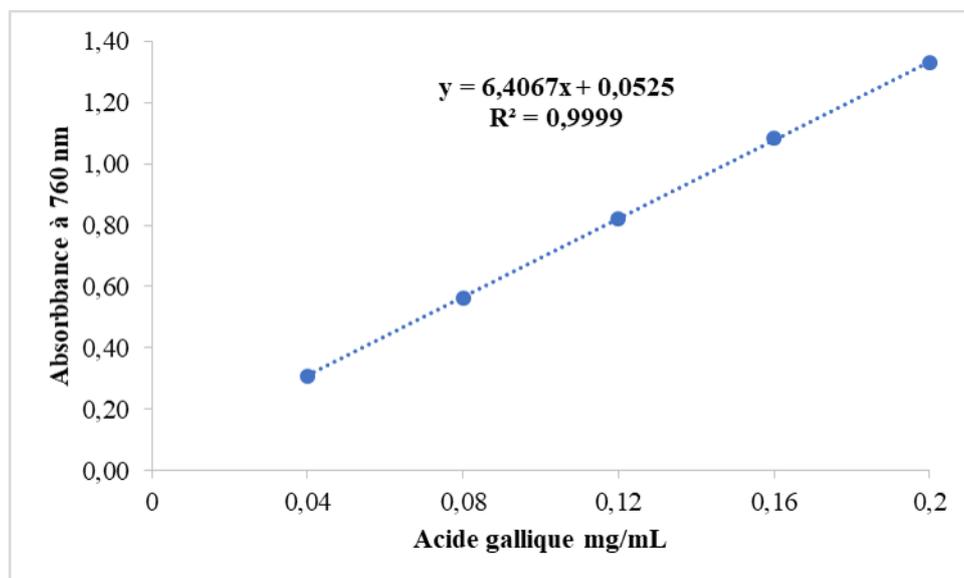
Annexes

Annexe 5 : Dosage des flavonoïdes totaux



Annexe 5 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

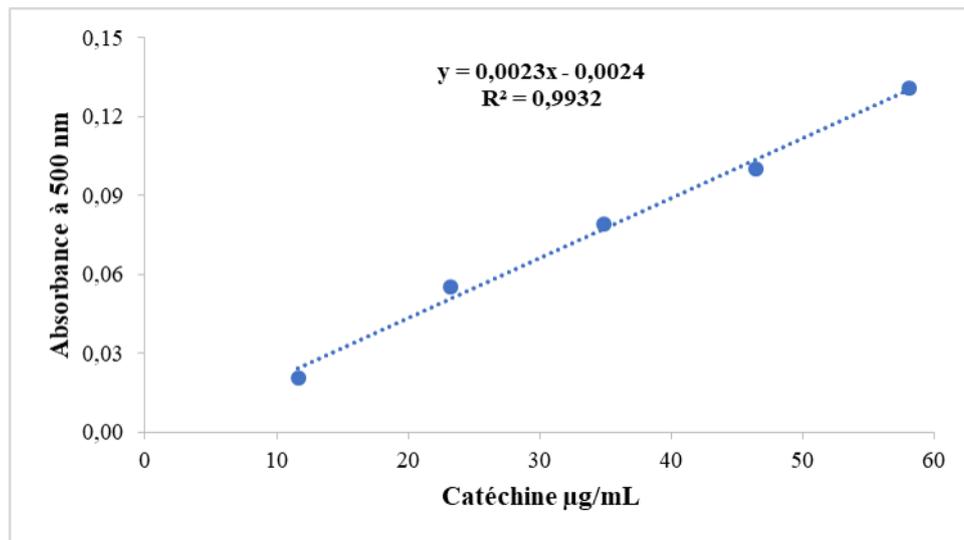
Annexe 6 : Dosage des polyphénols totaux



Annexe 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

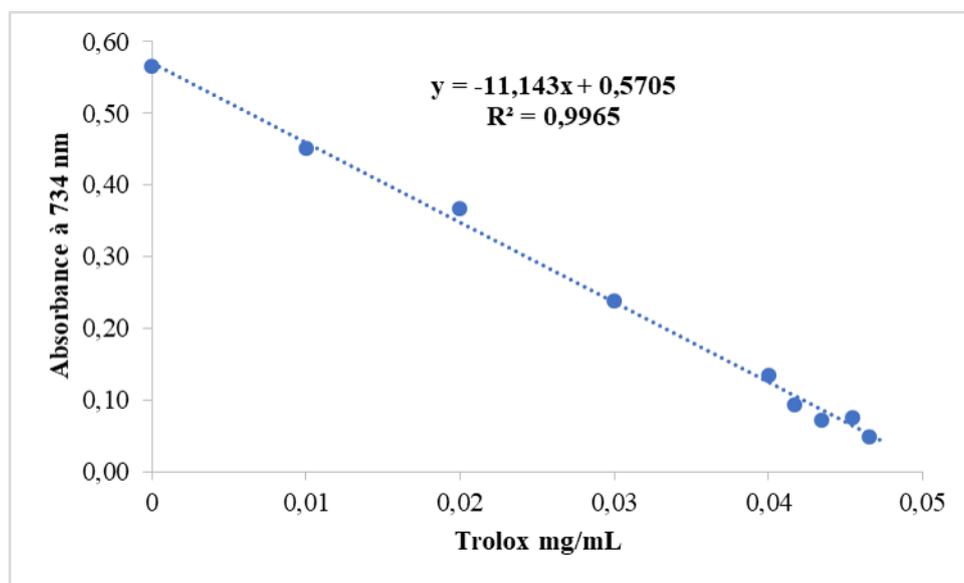
Annexes

Annexe 7 : Dosage tanins condensés



Annexe 7 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Annexe 8 : Capacité antioxydante



Annexe 8 : Courbe d'étalonnage de Trolox pour le dosage de la capacité antioxydante.

Résumé

Cette étude vise à évaluer les caractéristiques physico-chimiques des feuilles d'*Olea europaea* L. de trois provenances (Tazmalt, Timri et Akkache). C'est objectivement pour une étude plus comparative entre les trois provenances. Les analyses ont ciblé les poudres desséchées obtenues des feuilles, puis à partir des extraits de feuilles obtenus par décoction.

Les premières analyses sur les poudres de feuilles desséchées donnent un premier aperçu en faveur de l'oliveraie d'Akkache qui prime en tous points analysés sur celle provenant de Timri, encore plus sur celle provenant de Tazmalt.

La seconde approche qui a porté sur les extraits de feuilles obtenus par la méthode de décoction confirme l'hypothèse selon laquelle la provenance d'Akkache est plus sauvegardée des effets stressants que la provenance de Timri encore plus par rapport à la provenance de Tazmalt. Ce sont les analyses des métabolites secondaires, des activités antioxydantes et de l'activité inhibitrice de l' α -amylase qui confortent cette hypothèse.

Mots clés : *Olea europaea* L., caractérisation physico-chimiques, activités antioxydantes, activité α -amylase

Abstract

This study aims to evaluate the physico-chemical characteristics of *Olea europaea* L. leaves from three provenances (Tazmalt, Timri and Akkache). This is objectively for a comparative study between the three provenances. Analyses focused on dried powders obtained from leaves, then from leaf extracts obtained by decoction.

The first analyses on dried leaf powders gave an initial indication in favor of the Akkache olive grove, which outperformed the Timri grove in every respect, and even more so the Tazmalt grove.

The second approach, which focused on leaf extracts obtained using the decoction method, confirms the hypothesis that the Akkache provenance is better protected from stressful effects than the Timri provenance, and even more so than the Tazmalt provenance. Analyses of secondary metabolites, antioxidant activity and α -amylase inhibitory activity support this hypothesis.

Key words: *Olea europaea* L., physicochemical characterization, antioxidant activities, α -amylase activity

ملخص الدراسة:

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الخصائص الفيزيائية والكيميائية لأوراق *Olea europaea* L. من ثلاثة أصول تازمالت. وتيمري وعكاش. وكان الهدف هو إجراء دراسة مقارنة بين الأصول الثلاثة استهدفت التحاليل المساحيق المجففة التي تم الحصول عليها من الأوراق، ثم من مستخلصات الأوراق التي تم الحصول عليها عن طريق ديكوتيون. أعطت التحاليل الأولى لمساحيق الأوراق المجففة انطباعاً أولياً لصالح بستان زيتون أكاش، الذي تفوق على بستان تيمري من جميع النواحي، بل وأكثر من ذلك بستان تازمالت.

أما النهج الثاني، الذي ركز على مستخلصات الأوراق التي تم الحصول عليها باستخدام طريقة ديكوتيون، فقد أكد الفرضية القائلة بأن أصل العكاش محمي بشكل أفضل من التأثيرات المجهددة مقارنة بالأصل التيمري، بل وأكثر من أصل تازمالت تدعم هذه الفرضية تحليلات المستقلبات الثانوية. والنشاط المضاد للأكسدة والنشاط المثبط للأميلاز ألفا.

الكلمات المفتاحية: *Olea europaea* L. الفيزيائي الكيميائي، الأنشطة المضادة للأكسدة، نشاط الأميليز ألفا