

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. MIRA-BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Biotechnologie  
Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Mémoire de Fin d'Études  
En vue de l'obtention du Diplôme de Master

### *Thème*

**Screening phytochimique et activité biologique des feuilles  
d'*Olea europaea* L. de trois provenances**

Présenté par :

**HANNOUCENE Sarah & LOUASLI Katia**

Soutenu le : 01 juillet 2024

Devant le Jury composé de :

Mme.	<b>ALLILI S.</b>	<b>MCA</b>	<b>Présidente</b>
Mme.	<b>ARKOUB L.</b>	<b>MCB</b>	<b>Examinatrice</b>
Mr.	<b>BENADJAUD A.</b>	<b>MCA</b>	<b>Encadreur</b>
Mr.	<b>ZEGHBIB W.</b>	<b>MAB</b>	<b>Co-Encadreur</b>

Année Universitaire : 2023 /2024

## *Dédicaces*

*Ce mémoire est dédié à nos parents précieux qui ont toujours été présents à nos côtés tout au long de nos années d'études.*

*À nos famille, nos frères et sœurs et ainsi à nos amies, et à ma binôme.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude envers nos enseignants en graduation : Monsieur Benadjaoud, Madame Meziani,*

*Monsieur Ramdani, Madame Farhi et Madame Bourebaba pour leurs conseils précieux et leurs encouragements.*

*Sarah et Katia*

## REMERCIEMENTS

En premier lieu, nous tenons à remercier notre promoteur, Mr. **BENADJAOU**, pour sa confiance, sa disponibilité, son aide et son temps pour mener à bien ce modeste travail. Je vous remercie pour votre encadrement et les commentaires pertinents, votre gentillesse et votre simplicité.

Nos hommages les plus respectueux s'adressent à Mme **ALLAL S.** Qui nous a fait l'immense honneur d'accepter la présidence de notre jury.

Nous adressons également tous nos remerciements à notre enseignante Mme **ARKOUB L.** d'avoir accepté d'être examinateur de notre mémoire.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères pour le Co-encadreur Mr. **ZEQHIB W.**, qui nous a tant apporté par son sens de direction durant la réalisation de notre travail dans toutes ses phases.

A Mr **BONDJOUAN** qui n'a pas lésiné en dépit de son précieux temps, à nous un salutaire coup de main pour mener à bien ce travail au laboratoire.

Nos hommages également à tous nos enseignants du département de biotechnologie pour avoir fortement contribué à enrichir nos connaissances.

On a l'honneur d'exprimer nos sincères remerciements et notre gratitude aux personnes qui ont contribué de près ou de loin l'accomplissement et l'achèvement de ce travail.

Nous adressons également nos remerciements à toute la promotion biotechnologie.

2023/2024

---

$\lambda$	Longueur d'onde
<b>Abs</b>	Absorbance
<b>ABTS</b>	Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Trichlorure d'aluminium
<b>EAG</b>	Equivalent Acide gallique
<b>EC</b>	Equivalent Catéchine
<b>EQ</b>	Equivalent Quercétine
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Fer ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Fer ferrique
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Trichlorure de fer
<b>Fig.</b>	Figure
<b>FRAP</b>	Pouvoir Réducteur Antioxydant Ferrique
<b>HCl</b>	Acide chlorhydrique
<b>JMP</b>	Java Memory Profiler (logiciel)
<b>L.</b>	Linné
<b>min</b>	Minute
<b>MS</b>	Matière sèche
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Carbonate de sodium
<b>NaOH</b>	Hydroxyde de sodium
<b>OH</b>	Groupe hydroxyle
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>PS</b>	Poids sec
<b>ROS</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>rpm</b>	Rotations par minute
<b>Tab.</b>	Tableau
<b>TPTZ</b>	2,4,6-tripyridyl-1,3,5-triazine
<b>Trolox</b>	Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique
<b>v/v</b>	volume par volume

---

<b>I. Introduction</b>	<b>01</b>
<b>II. Synthèse Bibliographique</b>	<b>03</b>
<b>II.1. Généralités sur l'olivier</b>	<b>03</b>
<b>II.1.1. Description morphologique et classification botanique</b>	<b>03</b>
<b>II.1.1.1. Description morphologique</b>	<b>03</b>
<b>II.1.1.2. Classification botanique</b>	<b>03</b>
<b>II.1.2. Répartition géographique</b>	<b>04</b>
<b>II.1.3. Composition chimique des feuilles de l'olivier</b>	<b>05</b>
<b>II.1.4. Importance et usages des feuilles de l'olivier</b>	<b>06</b>
<b>II.1.4.1. Utilisation traditionnelle</b>	<b>06</b>
<b>II.1.4.2. Activités biologiques des composés bioactifs des feuilles de l'olivier</b>	<b>06</b>
<b>II.2. Généralités sur les métabolites secondaires</b>	<b>07</b>
<b>II.2.1. Les composés phénoliques</b>	<b>07</b>
<b>II.2.1.1. Les phénols simples</b>	<b>07</b>
<b>II.2.1.2. Les acides phénols</b>	<b>08</b>
<b>II.2.1.3. Les coumarines</b>	<b>08</b>
<b>II.2.1.4. Les flavonoïdes</b>	<b>09</b>
<b>II.2.1.5. Les lignanes</b>	<b>09</b>
<b>II.2.1.6. Les tanins</b>	<b>10</b>
<b>II.2.2. Les terpènes</b>	<b>10</b>
<b>II.2.3. Les alcaloïdes</b>	<b>11</b>
<b>III. Matériel &amp; Méthodes</b>	<b>12</b>
<b>III.1. Matériel végétal</b>	<b>12</b>
<b>III.1.1. Echantillonnage du matériel végétal</b>	<b>12</b>
<b>III.1.2. Préparation du matériel végétal</b>	<b>12</b>
<b>III.2. Méthodes appliquées</b>	<b>13</b>
<b>III.2.1. Obtention des extraits de poudres</b>	<b>13</b>
<b>III.2.2. optimisation des paramètres de l'extraction</b>	<b>13</b>
<b>III.2.3. Screening phytochimique</b>	<b>15</b>
<b>III.2.4. Analyses phytochimiques et activités antioxydantes</b>	<b>16</b>
<b>III.2.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux</b>	<b>16</b>
<b>III.2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux</b>	<b>17</b>
<b>III.2.4.3. Dosage des tanins condensés</b>	<b>17</b>

---

<b>III.2.4.4.</b> Capacité antioxydante Trolox	<b>18</b>
<b>III.2.4.5.</b> Test FRAP	<b>19</b>
<b>III.2.5.</b> Analyse statistique	<b>19</b>
<b>IV. Résultats &amp; Discussion</b>	<b>20</b>
<b>IV.1.</b> Optimisation de l'extraction	<b>20</b>
<b>IV.2.</b> Screening phytochimique	<b>26</b>
<b>IV.3.</b> Analyses phytochimiques	<b>28</b>
<b>IV.3.1.</b> Composés phénoliques totaux	<b>29</b>
<b>IV.3.2.</b> Flavonoïdes totaux	<b>30</b>
<b>IV.3.3.</b> Tanins condensés	<b>31</b>
<b>IV.4.</b> Activités antioxydantes	<b>32</b>
<b>IV.4.1.</b> Capacité antioxydante équivalent Trolox	<b>32</b>
<b>IV.4.2.</b> Test FRAP	<b>33</b>
<b>IV.5.</b> Discussion	<b>34</b>
<b>V. Conclusion</b>	<b>38</b>
<b>VI. Références bibliographiques</b>	<b>39</b>
<b>Annexes</b>	

N°	Titre	Page
01	Photographie originale de l'olivier de la région de <i>Timri</i> (hauteurs d'El Kseur) de Bejaia, prise en période printanière.	03
02	Répartition en six différentes sous- espèces de la section <i>Olea</i> et de l'espèce <i>Olea europaea</i> L. (Breton et al., 2006).	04
03	Distribution des sous-espèces de l'olivier sur le pourtour méditerranéen, en Afrique, une partie de l'Europe et de du continent Asiatique (De Casas et al., 2006).	05
04	Structure de quelques phénols simples (tyrosol, hydroxytyrosol et hydroxytyrosol-glucoside) retrouvés dans les feuilles de l'olivier (Abaza et al., 2006).	07
05	Structure de l'acide hydrobenzoïque et de l'acide coumarique (= acide hydroxycinnamique avec un radical H), deux parmi les acides phénols caractéristiques des feuilles de l'olivier (Abaza et al., 2006).	08
06	Structure de deux dérivés issus de l'acide cinnamique, le verbascoside et l'isoverbascoside, qu'on trouve dans les feuilles de l'olivier (Abaza et al., 2006).	08
07	Structure de trois types de flavonoïdes les plus courants des feuilles de l'olivier (Abaza et al., 2006).	09
08	Structure de trois types de lignanes habituels dans les feuilles de l'olivier (Abaza et al., 2006).	09
09	Structure de trois types de séco-iridoïdes propres aux feuilles de l'olivier dont l'oleuropéine (Abaza et al., 2006).	11
10	Structure de deux alcaloïdes, la cinchonidine (CD) et la cinchonine (CN), que l'on trouve dans les feuilles de l'olivier (Bosak et al., 2018).	11
11	Localisation géographique des trois zones d'échantillonnage des feuilles de l'olivier, <i>Olea europaea</i> L., situées dans la wilaya de Bejaia.	12
12	Lavage et séchage des feuilles d' <i>Olea europaea</i> L. (a), puis réduites en poudre, tamisées et conservées au congélateur avant utilisation (b).	13
13	Diagrammes de surface de réponse montrant les effets du ratio (1 – 5 g) et de la température (50 – 90°C) (a) ; les effets du ratio (1 – 5 g) et du temps de l'extraction (10 – 30 min) (b) ainsi que les effets du temps de l'extraction (10 – 30 min) et de la température (50 – 90°C) (c) sur l'extraction des composés phénoliques totaux à partir des feuilles de l' <i>Olea europaea</i> L.	23

- 
- 14** Diagrammes de surface de réponse montrant les effets du ratio (1 – 5 g) et de la température (50 – 90°C) (**a**) ; les effets du ratio (1 – 5 g) et du temps de l'extraction (10 – 30 min) (**b**) ainsi que les effets du temps de l'extraction (10 – 30 min) et de la température (50 – 90°C) sur l'activité ABTS des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. **24**
- 15** Profileur de prédiction pour les conditions optimums obtenues pour l'extraction des composés phénoliques totaux (TPC) et du pouvoir antioxydant (ABTS) depuis les feuilles de l'*Olea europaea* L. traitées par la méthode de décoction. **25**
- 16** Effets de l'origine des échantillons sur le contenu total en composés phénoliques des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique (EAG) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ . **29**
- 17** Effets de l'origine des échantillons sur le contenu en flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine (EQ) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ . **30**
- 18** Effets de l'origine des échantillons sur le contenu en tanins condensés des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en catéchine (EC) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ . **31**
- 19** Effets de l'origine des échantillons sur la capacité antioxydante Trolox des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent Trolox (ET) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ . **32**
- 20** Effets de l'origine des échantillons sur le pouvoir réducteur des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent Trolox (ET) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ . **33**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Choix des paramètres à configurer pour l'optimisation de l'extraction par décoction via le dosage des polyphénols totaux et l'activité ABTS.	<b>14</b>
<b>02</b>	Configuration des paramètres à tester sur l'extraction par décoction selon les prédictions du logiciel JMP applicables au dosage des polyphénols totaux et à l'activité antioxydante ABTS.	<b>14</b>
<b>03</b>	Principaux tests effectués sur les extraits de feuilles de l'olivier.	<b>15</b>
<b>04</b>	Valeurs obtenues et valeurs prédites par le logiciel JMP applicables au dosage des polyphénols totaux et à l'activité antioxydante ABTS selon les différentes configurations paramétrées testées sur l'extraction par décoction depuis les feuilles de l'olivier.	<b>20</b>
<b>05a</b>	Tests d'effets paramétrés pour l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques totaux effectuée par décoction depuis les feuilles de l' <i>Olea europaea</i> L.	<b>21</b>
<b>05b</b>	Tests d'effets paramétrés pour l'optimisation de l'activité antioxydante par la méthode Trolox via l'ABTS effectuée sur les extraits obtenus par décoction depuis les feuilles de l' <i>Olea europaea</i> L.	<b>21</b>
<b>06</b>	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur le contenu total en composés phénoliques (TPC) et l'activité antioxydante ABTS.	<b>22</b>
<b>07</b>	Appréciation d'ordre qualitative des principaux métabolites révélés dans les extraits de feuilles de 3 origines différentes.	<b>26</b>

N°	Titre
01	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des alcaloïdes (tests de Dragendorff et de Mayer).
02	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des flavonoïdes (test au NaOH).
03	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des tanins (test au chlorure ferrique).
04	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des protéines (test de Biuret).
05	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des carbohydrates (tests de Benedict et de Fehling).
06	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des glycosides (test de Killiani).
07	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des saponines (test au Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ).
08	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des triterpénoïdes (test Horizon).
09	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des stéroïdes (test de Salkowski).
10	Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence de l'amidon (test à l'iode).
11	Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en acide gallique ( $\lambda = 760$ nm) qui servira au dosage des composés phénoliques totaux.
12	Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en Trolox ( $\lambda = 734$ nm) qui servira à quantifier la capacité antioxydante équivalent Trolox.
13	Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en quercétine ( $\lambda = 415$ nm) qui servira au dosage des flavonoïdes totaux.
14	Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en catéchine ( $\lambda = 500$ nm) qui servira au dosage des tanins condensés.
15	Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en Trolox ( $\lambda = 593$ nm) qui servira à quantifier le pouvoir réducteur antioxydant ferrique (test FRAP).

# ***INTRODUCTION***

L'homme est en évolution, il passe d'une étape à l'autre. Cependant, historiquement l'homme ne peut être séparé de la nature, on a beau se civiliser (moderniser), la nature demeure la plus grande richesse des nations, c'est ce qu'énonçait déjà **Adam Smith** (1723-1790) dans son ouvrage publié en 1776 et intitulé *Recherches sur la Nature et les Causes de la Richesse des Nations* (en abrégé *La Richesse des Nations*).

L'homme moderne a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement comme chasseurs et cueilleurs pour traiter et soigner toutes les maladies. Ces plantes ont un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'avoir un grand éventail d'activités biologique. Néanmoins, l'évaluation de ces activités est toujours très intéressante et peut susciter l'intérêt de nombreuses études (**Caujole, 2024**).

Justement et ce depuis des années, de nombreuses études ont été menées sur les plantes médicinales. Leur efficacité repose sur les principes actifs contenus dans ces plantes. Ces principes ont de nombreuses propriétés en tant que antioxydants ; antiseptique ; antidiabétique ; antivirale ; des hormones, et d'autres propriétés curatives et préventives (**Caujole, 2024**).

Une des espèces les plus étudiées est l'olivier, *Olea europaea* L. Le berceau de cette espèce est la région méditerranéenne. Cette espèce est une essence fruitière majeure, aussi bien par le nombre de variétés cultivées que par l'importance qu'elle représente tant de point de vue sociale, économique, de par sa culture et son rôle écologique. Il est possible d'utiliser l'écorce, les feuilles, les graines et l'huile sous différentes formes, soit seules, soit en combinaison avec d'autres herbes (**Breton et al., 2006**).

Les vertus pharmaceutiques de cet arbre sont pour beaucoup imputées aux feuilles et aux fruits. Par la voie orale, la décoction des feuilles et de fruits séchés sont utilisées pour traiter l'infection des voies respiratoires et voies urinaires, les maladies de l'estomac et de l'intestin, ainsi que pour nettoyer la bouche. L'infusion de feuilles fraîches ou le bouilli est également utilisé comme anti-inflammatoire. Les feuilles peuvent également être utilisées comme pommade pour traiter les infections oculaires ou comme un bain de bouche pour soulager les maux de gorge (**Hashmi et al., 2015**).

Les oliviers sont depuis longtemps appréciés pour leurs fruits qui produisent une huile de grande qualité. Or, ces feuilles ont été identifiées comme une opportunité exceptionnelle pour obtenir des composés bioactifs, cela offre la possibilité d'utiliser ces ressources de manière durable et de les valoriser (**Mir-Cerdà, 2024**).

Ce travail est initié dans le seul objectif d'entrevoir les possibilités d'exploitation des feuilles d'olivier dans le domaine médicinal et leurs mises en valeur, autrement leur possible

valorisation. Cette perspective de travail n'est envisagée qu'après avoir entrepris un travail préliminaire dédié à une approche d'investigation des potentialités que pourrait détenir de telles feuilles.

Un screening phytochimique est dès lors entrepris en lien avec une mise en évidence de possibles activités antioxydantes. Ce travail a porté sur des feuilles de trois provenances différentes, toutes de Bejaia : *Tazmalt*, *Timri*, *Akkache*. C'est dans un souci de voir le plus large possible le potentiel que pourrait receler en terme de ressources l'oliveraie de Bejaia de par sa diversité en terme de géolocalisation et d'incidences des facteurs liés au terrain, le mode de culture et l'environnement.

Les feuilles des trois provenances sont d'abord desséchées, puis sont réduites en poudres. Une décoction a été opérée et optimisée. Les extraits de feuilles ainsi obtenus sont étudiés.

Nos résultats sont exposés dans la troisième partie de ce mémoire, mais avant sont relatés le matériel et les techniques usuelles utilisées pour effectuer nos dosages et évaluer les activités antioxydantes. Bien avant toute une synthèse de données bibliographiques sur l'Olivier, les propriétés de leurs feuilles ainsi que les activités biologiques sont exposés dans la première partie.

***SYNTHESE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

## 1. Généralités sur l'olivier

### 1.1. Description morphologique et classification botanique

#### 1.1.1. Description morphologique

L'*Olea europaea* L. connu sous le nom d'olivier d'Europe, appartient à la famille des oléacées. C'est un arbre qui peut mesurer jusqu'à 15 m de hauteur dont les branches sont fortement ramifiées. Son système racinaire est formé de racines épaisses et profondes. Ses feuilles sont persistantes, de forme opposée et sont allongées. La floraison qui commence à partir du mois de mai, se décline en fleurs légèrement aromatiques, assez petites et organisées en grappes. Le fruit est une drupe qui change de couleur à maturité, du vert à rouge-violet en septembre à octobre (Polèse, 2009) (Fig. 1).



**Figure 1** : Photographie originale de l'olivier de la région de *Timri* (hauteurs d'El Kseur) de Bejaia, prise en période printanière.

#### 1.1.2. Classification botanique

La classification botanique de l'olivier est la suivante (Cronquist, 1981) :

**Règne** : *Plantae*

**Sous-Règne** : *Tracheobionta*

**Division** : *Magnoliophyta*

**Classe** : *Magnoliopsida*

**Sous-classe :** *Asteridae*

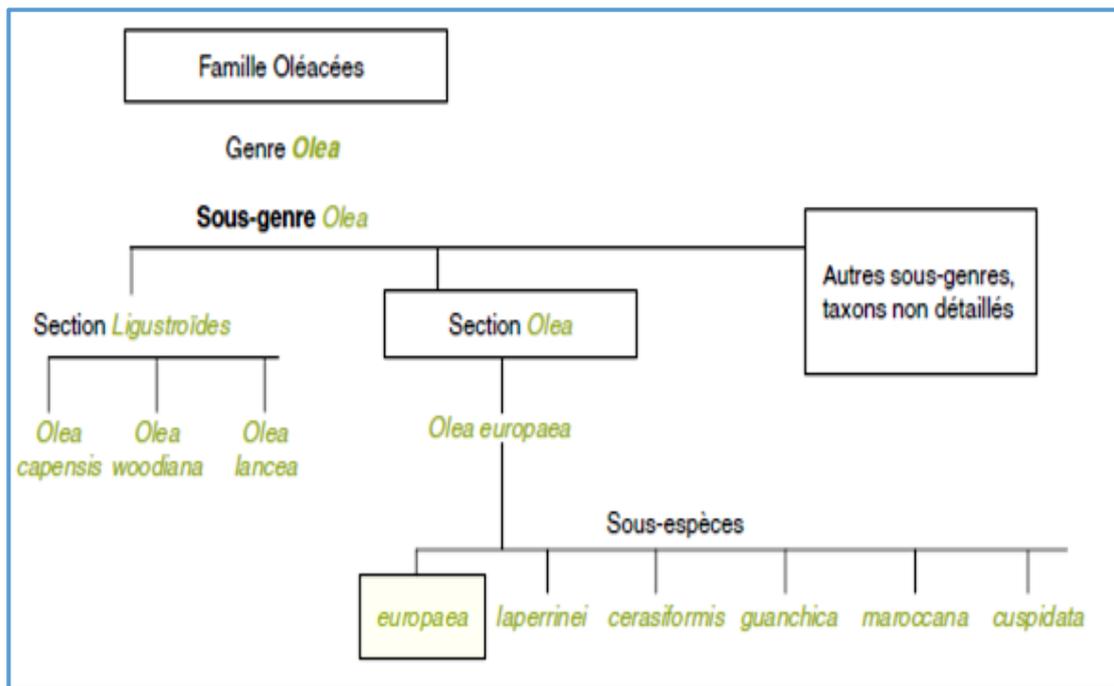
**Ordre :** *Scrophulariales*

**Famille :** *Oleaceae*

**Genre :** *Olea*

**Espèce :** *Olea europaea* L.

On distingue 6 sous-espèces différentes en fonction des caractères génotypiques, phénotypiques et géographiques (Breton et al., 2006 ; de Casas et al., 2006) (Fig. 2).

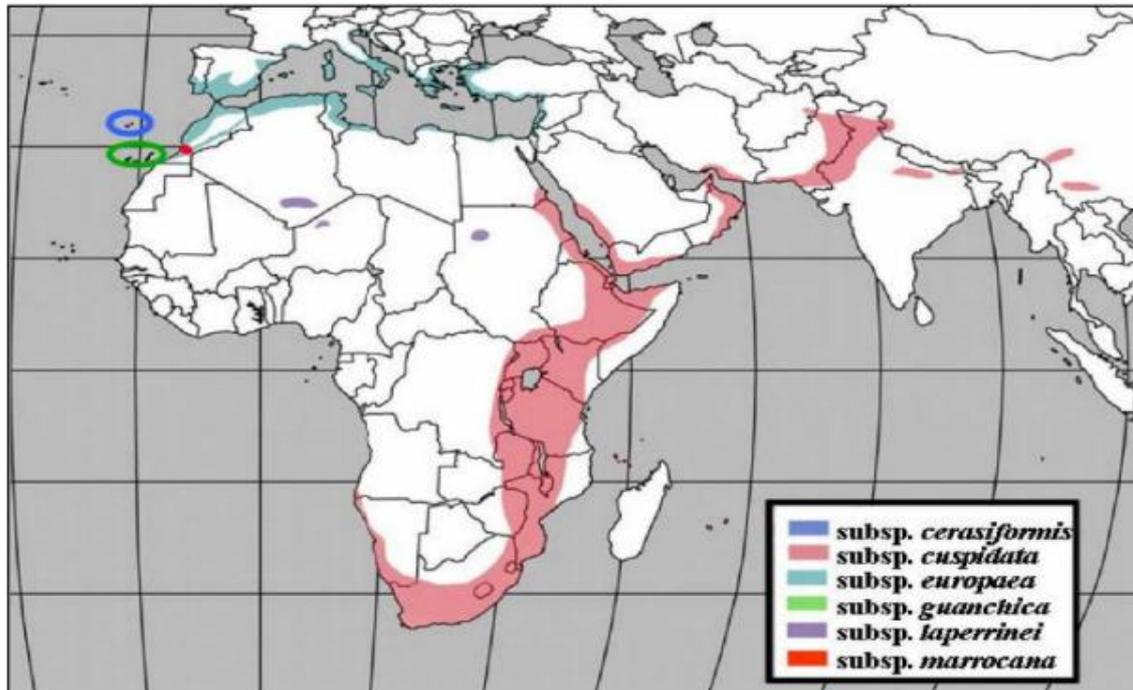


**Figure 2 :** Répartition en six différentes sous- espèces de la section *Olea* et de l'espèce *Olea europaea* L. (Breton et al., 2006).

## 1.2. Répartition géographique

L'olivier occupe la 24<sup>ème</sup> place parmi les espèces les plus cultivées dans le monde (Breton et al., 2006). C'est un arbre qui se trouve dans des zones caractérisées par un climat tempéré aux périodes hivernales assez courtes, tel que l'Amérique du nord, l'Asie, l'Australie et l'Afrique du sud (Muzzalupo and Micali, 2015).

L'origine de l'olivier est méditerranéenne, où il est d'une grande importance alimentaire et économique. C'est pour cette raison, qu'il a fait l'objet d'une introduction dans diverses parties dans le monde, entre autres la chine, le japon, l'Australie et l'Amérique du sud (Moutier et al., 2004) (Fig. 3)



**Figure 3** : Distribution des sous-espèces de l'olivier sur le pourtour méditerranéen, en Afrique, une partie de l'Europe et de du continent Asiatique (de Casas et al., 2006).

### 1.3. Composition chimique des feuilles de l'olivier

La composition chimique des feuilles de l'olivier est variable en fonction des variétés, des conditions climatiques, de la période de prélèvement et de l'âge de la plante. Globalement, on trouve par ordre de représentativité décroissante des carbohydrates, des lignines, des protéines et des acides aminés. Les minéraux les plus représentés sont le fer et le magnésium (Aouidi, 2012).

Pour les métabolites secondaires, on trouve beaucoup plus des séco-iridoïdes, des triterpènes, des composés phénoliques comme les flavonoïdes et des acides phénols (Chigurupati et al., 2021). En terme de teneur, celle des composés phénoliques varie de 2,8 mg/g de matière sèche à 44,3 mg/g de matière sèche, pouvant même atteindre 250 mg/g de matière sèche. Tout dépend de la variété, du climat, de la saison du prélèvement, de l'âge, mais aussi de la technique, du traitement et du solvant utilisé pour l'extraction de ces composés (Aouidi, 2012). Qualitativement, l'oleuropéine est le composé le plus abondant parmi tous les composés phénoliques, avec plus de 24% de pourcentage d'abondance dans un extrait de feuilles d'olivier.

Quant aux flavonoïdes, on trouve principalement de la catéchine, la lutéoline et la rutine, qui sont connus pour leurs effets antioxydants (Aouidi, 2012 ; Chigurupati et al., 2021).

## 1.4. Importance et usages des feuilles de l'olivier

### 1.4.1. Utilisation traditionnelle

L'utilisation des feuilles de l'olivier en phytothérapie est connue depuis longtemps, notamment pour le traitement du diabète et la désinfection des blessures cutanées (**Lakache et al., 2019**). Ces feuilles sont également utilisées traditionnellement dans le traitement de l'hypertension, des infections urinaires et pour diminuer l'asthme et les calculs biliaires (**Polèse, 2009**). L'extrait de feuilles agirait contre les infections intestinales, respiratoires, les ulcères gastriques et pourrait accélérer la circulation sanguine (**Himour et al., 2016**).

### 1.4.2. Activités biologiques des composés bioactifs des feuilles de l'olivier

La présence dans les feuilles de divers composés phénoliques et des flavonoïdes procure des effets bénéfiques et guérissant sur plusieurs problèmes en lien avec la santé (**Arab et al., 2013**), comme cela permet de renforcer la communication cellulaire et le système immunitaire (**El Adnany et al., 2023**).

#### ✓ **Activité antioxydante**

L'extrait de feuilles de l'olivier est doué d'une activité anti radicalaire puissante due à la présence de groupements hydroxyyles dans la structure des composés phénoliques, assurant une capacité de piégeage des radicaux libres et des pathogènes dans certaines maladies (**Addab et al., 2020**).

#### ✓ **Activité anti-inflammatoire**

Des études ont démontré que l'extrait méthanolique des feuilles de l'olivier stimule la libération de médiateurs importants à la synthèse d'une cyclo-oxygénase, inductrice d'une réponse anti-inflammatoire (**Özcan and Matthäus, 2017**). La présence de composés stéroïdes et des tri terpènes inhibe le métabolisme de l'acide arachidonique, bloque l'activité de la phospholipase et induit une réponse anti-inflammatoire (**Lakache et al., 2019**).

#### ✓ **Activité antidiabétique**

Un test est réalisé en traitant des rats avec un volume d'infusion à base de feuilles d'olivier. Les valeurs moyennes de la glycémie obtenue diminuent significativement signifiant que les feuilles sont un remède bien indiqué contre le diabète (**Arab et al., 2013**).

#### ✓ **Activité cardio-vasculaire**

Les extraits de feuilles de l'olivier diminuent la pression ventriculaire, la fréquence cardiaque et favorisent la circulation sanguine activités artérielle participent à la dilatation des vaisseaux et augmentent la circulation sanguine (**Scheffler et al., 2008 ; Amabeoku and Bamuamba, 2010**).

✓ **Activité anti tumorale**

Il a été démontré que l'extrait de feuilles d'olivier présente un effet anti proliférateur sur des cellules tumorales. Il agit sur l'expression des gènes tumoraux et ainsi sur la signalisation intracellulaire permettant l'apoptose des cellules atteintes (Tunca et al., 2012).

✓ **Activité antibactérienne**

Un des composés phénoliques de l'olivier, l'oleuropéine, joue un rôle majeur comme antibactérien et présente un mode d'action inhibiteur de la croissance des virus et de certains protozoaires (Medina et al., 2006).

## 2. Généralités sur les métabolites secondaires

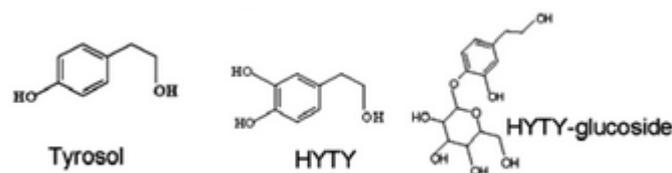
Les métabolites secondaires sont des substances chimiques synthétisées par les plantes en réponse à certains facteurs externes ou contraintes environnementales tels que durant l'attaque par un pathogène, un changement climatique ou simplement durant la pollinisation (Loulakakis et al., 2009). Ces métabolites sont classés en trois classes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Sagorin et al., 2021).

### 2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances chimiques assez répandues chez les plantes (Sarni-Manchado and Cheynier, 2006). Ils se composent d'un noyau aromatique (benzoïque) lié à un ou plusieurs groupement hydroxyles. Leur présence est essentielle dans la protection des plantes soumises aux différents stress (Arceusz et al., 2013). Ils englobent par taille croissante : les phénols simples, les acides phénols, les coumarines, les naphthoquinones, les stillbénoides, les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les anthocyanes, les lignanes, les lignines et les tanins (Khoddami et al., 2013).

#### 2.1.1. Les phénols simples

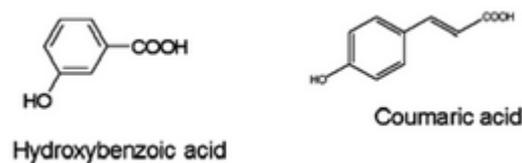
La plupart sont des phénols monoterpéniques. On citera le tyrosol, l'hydroxytyrosol (HYTY) et l'hydroxytyrosol-glucoside (HYTY-glucoside) que l'on peut trouver dans les feuilles de l'olivier (Fig. 4). Il s'agit de puissants anti-infectieux, non dénués de toxicité.



**Figure 4** : Structure de quelques phénols simples (tyrosol, hydroxytyrosol et hydroxytyrosol-glucoside) retrouvés dans les feuilles de l'olivier (Abaza et al., 2015).

### 2.1.2. Les acides phénols

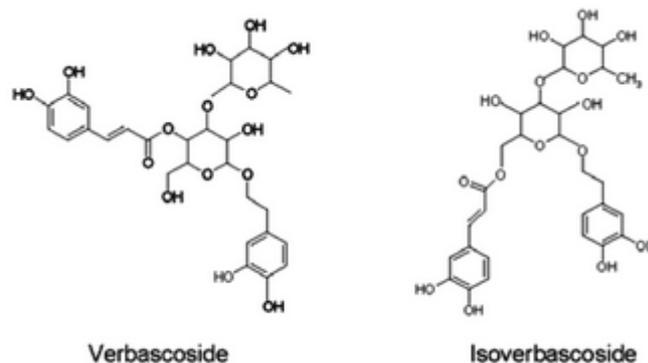
Ces composés sont des acides sur un noyau phénol. Ils dérivent de l'acide cinnamique et de l'acide benzoïque. Leur structure de base est de type (C6 – C1) pour l'acide hydroxybenzoïque et de type (C6 – C3) pour l'acide hydroxycinnamique (**Fig. 5**). On les retrouve sous forme de glycosides, d'esters ou combinés à des molécules organiques, tel que l'acide gallique, l'acide caféique ou encore l'acide férulique. Dans la bibliographie, on note leur action sur le drainage hépatique et rénal ainsi que les effets antioxydants, antidiabétiques, antimicrobiens, anti-inflammatoires, antimutagènes et anti-cancer (**Sarni-Manchado and Cheynier, 2006**).



**Figure 5** : Structure de l'acide hydrobenzoïque et de l'acide coumarique (= acide hydroxycinnamique avec un radical H), deux parmi les acides phénols caractéristiques des feuilles de l'olivier (**Abaza et al., 2015**).

### 2.1.3. Les coumarines

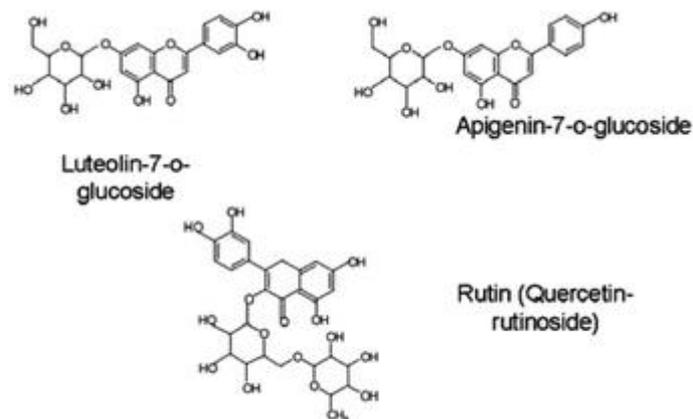
Ce sont des composés hétérocycliques et aromatiques dérivés du cinnamate. Leur structure de base est de type (C6 - C3) (**Fig. 5**). Ils sont soit libre ou lié à des hétérosides (**Morel-Salmi et al., 1999**). Les plus représentatifs dans les feuilles de l'olivier sont la verbascoside et l'isoverbascoside (**Fig. 6**). Les coumarines sont synthétisés lors d'une réponse biologique suite à une attaque pathogène, fongique ou bactérienne (**Bourgaud et al., 2006**).



**Figure 6** : Structure de deux dérivés issus de l'acide cinnamique, le verbascoside et l'isoverbascoside, qu'on trouve dans les feuilles de l'olivier (**Abaza et al., 2015**).

### 2.1.4. Les flavonoïdes

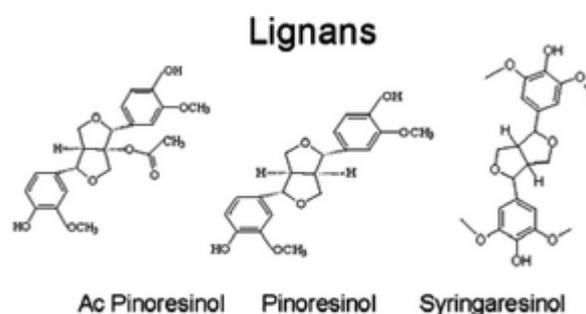
Ils représentent à eux seuls la moitié des composés phénoliques. Leur structure de base est composée de 2 noyaux phénol. Ils sont parfois libres, mais majoritairement sous forme d'hétérosides (**Fig. 7**). Ils sont classés selon leur structure en flavonols, flavones, flavanonols, isoflavones, flavanones, flavan-3-ols, anthocyanidines et les chalcones. Ils sont impliqués dans une fonction de protection contre les rayonnements et contre les stress. Ce sont également des molécules très actives impliquées en phytothérapie, recommandées dans toutes les maladies dites de civilisation et contre les effets de vieillissement (**Sagorin et al., 2021**).



**Figure 7** : Structure de trois types de flavonoïdes les plus courants des feuilles de l'olivier (**Abaza et al., 2015**).

### 2.1.5. Les Lignanes

Ils sont apparentés sur le plan des effets biologiques et nutritionnels aux flavonoïdes. Les plus représentatifs parmi les lignanes des feuilles de l'olivier sont représentés dans la figure 8 ci-dessous (**Fig. 8**).



**Figure 8** : Structure de trois types de lignanes habituels dans les feuilles de l'olivier (**Abaza et al., 2015**).

### 2.1.6. Les tanins

Ce sont des polymers phénoliques polaires et hydrosolubles qui se trouvent dans les graines, l'écorce et les feuilles. Leur structure chimique comporte deux ou trois groupes hydroxyles sur un cycle phényle qui peuvent se lier aux protéines et aux polysaccharides (**Okuda and Ito, 2011**). Les tanins sont de deux catégories (**McMahon et al., 2000**) :

- Les tanins dits hydrolysables : tanins ellagiques et galliques organisés autour du sucre et qui libèrent de l'acide ellagique et de l'acide gallique.
- Les tanins dits condensés : tanins cathéchiques ou proanthocyanidols composés d'oligomères pour polymères de flavanols.

Ces tanins permettraient de protéger les végétaux de la prédation. Ils ont des propriétés astringents, protectrices cutanées, vasomotrices, anti-inflammatoires et anti-infectieux. Ils sont antioxydants et inhibitrice de la cancérogenèse. Par ailleurs, ils sont toxiques à forte dose (**Ben Mansour-Gueddes et al., 2020**).

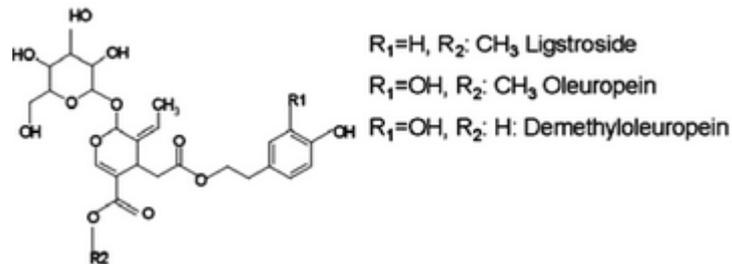
### 2.2. Les terpènes

Ce sont des molécules polymères de l'isoprène, à 5 atomes de carbone. Leur organisation permet la formation d'une multitude de molécules différentes, la plupart possédant une structure cyclique ou polycyclique. Leur nomenclature dépend donc de leur nombre de carbone (**Muschietti et al., 2013**) :

- C5 : hémiterpènes.
- C10 : monoterpènes, dans les huiles essentielles.
- C15 : sesquiterpènes, dans les huiles essentielles.
- C20 : diterpènes.
- C30 : triterpènes précurseurs des stéroïdes, phytostérols et saponosides.
- C40 : tétraterpènes dont les caroténoïdes.
- C45 et C50 : queues terpéniques des molécules d'ubiquinones et de plastoquinone.
- > C50 : polyterpènes dont le caoutchouc.

Les terpénoïdes sont formés par l'ajout d'un groupe fonctionnel supplémentaire sur le squelette carboné du terpène (alcool, aldéhyde, cétone, etc.). Les iridoïdes sont des monoterpènes servant majoritairement de précurseurs aux alcaloïdes. Ils confèrent une protection contre les infections mais également contre la prédation. Présents dans de nombreuses plantes médicinales, ils sont à l'origine d'effets cardiovasculaires, hépatiques, anti-inflammatoires, immun modulateur, antiviral, antimicrobien, antispasmodique, antimutagène, antitumoral, stimulant de l'appétit et purgatif (**Sagorin et al., 2021**).

Dans ce sens et parmi les iridoïdes, plus exactement les séco-iridoïdes les plus représentatifs dans les feuilles de l'olivier se trouve l'oleuropéine (**Fig. 9**). Ce composé possède une activité hypotensive, augmente le débit sanguin au niveau coronarien et présente des hypoglycémiantes et hypocholestérolémiantes significatifs accompagnés d'une diminution du cholestérol LDL (**Acar-Tek and Ağagündüz, 2020 ; Sagorin et al., 2021**).

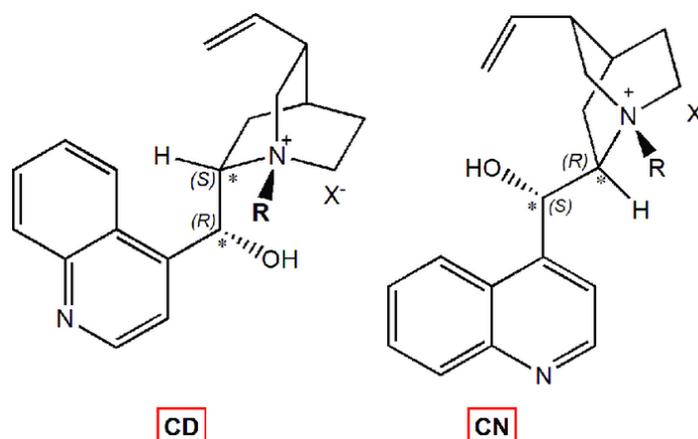


**Figure 9** : Structure de trois types de séco-iridoïdes propres aux feuilles de l'olivier dont l'oleuropéine (**Abaza et al., 2015**).

### 2.3. Les alcaloïdes

Molécules très actives pour ne citer au moins que la cocaïne, la caféine et la théine, contenant au moins un atome d'azote. Les alcaloïdes sont régulièrement accompagnés de tanins dans les plantes ce qui a pour intérêt d'en maîtriser la toxicité. Sinon, ce sont pour grand nombre d'entre eux, des agents mutagènes susceptibles de provoquer des tumeurs par modification de l'ADN. Ils peuvent également être directement toxiques pour le foie et les reins (**Sagorin et al., 2021**).

Dans les feuilles de l'olivier, les composés alcaloïdes les plus cités sont la cinchonine (CN) et la cinchonidine (CD) (**Al-Snafi, 2023**) (**Fig. 10**).



**Figure 10** : Structure de deux alcaloïdes, la cinchonidine (CD) et la cinchonine (CN), que l'on trouve dans les feuilles de l'olivier (**Bosak et al., 2018**).

***MATERIEL &  
METHODES***

## 1. Matériel végétal

### 1.1. Echantillonnage du matériel végétal

L'étude a été réalisée sur trois échantillons de feuilles de l'olivier *Olea europaea* L., provenant de différentes régions de la wilaya de Bejaia. Les feuilles ont été récoltées durant le mois de février 2024 (**Fig. 11**) :

- D'*Akkache* (36° 34' 19" Nord et 5° 22' 26" Est) située à *Tamridjt* au nord-est de la wilaya de Bejaia, à une altitude de 471 m et un climat méditerranéen avec été chaud.
- De *Tazmalt* (36° 23' 40" Nord et 4° 23' 57" Est) située au sud-ouest de la wilaya de Bejaia, à une altitude de 464 m et un climat méditerranéen avec été chaud.
- De *Timri* (36° 41' 40" Nord et 4° 51' 8" Est) située à *Fenaïa* au nord-ouest de la wilaya de Bejaia, à une altitude de 218,76 m et un climat méditerranéen avec été chaud.



**Figure 11** : Localisation géographique des trois zones d'échantillonnage des feuilles de l'olivier, *Olea europaea* L., situées dans la wilaya de Bejaia.

### 1.2. Préparation du matériel végétal

Les feuilles récoltées poussiéreuses sont lavées à l'eau puis étalées pour séchage dans un endroit sec et aéré pendant 3 à 4 semaines (**Fig. 12a**).

Une fois complètement desséchées, les feuilles sont pesées, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique (*Comaf, Chine*). La poudre obtenue est tamisée à l'aide d'un tamiseur (*Retsh, Allemagne*), à porosité de 200  $\mu\text{m}$ . La poudre ainsi obtenue est conservée au congélateur jusqu'à utilisation (**Fig. 12b**).



**Figure 12** : Lavage et séchage des feuilles d'*Olea europaea* L. (a), puis réduites en poudre, tamisées et conservées au congélateur avant utilisation (b).

## 2. Méthodes appliquées

### 2.1. Obtention des extraits de poudres

Les extraits de poudres sont obtenus sur un agitateur (*Raypa*) par décoction dans 100 mL d'eau distillée, en testant des ratios de 1 ; 3 et 5 g de poudres de feuilles d'olivier. Les températures appliquées à l'extraction sont de 50 ; 70 et 90°C durant 10 ; 20 et 30 minutes. Après refroidissement à température ambiante, les extraits sont filtrés sur papier filtre pour éliminer tout dépôt solide. Les extraits ainsi obtenus sont conservés au congélateur avant utilisation.

### 2.2. Optimisation des paramètres de l'extraction

Les paramètres optimaux de l'extraction via le dosage des polyphénols totaux et l'activité antioxydante ABTS sont effectuées avec 15 essais différents, selon les prédictions établies par le logiciel JMP. L'objet de la configuration a été réalisée par rapport au choix du ratio, au choix de la température et au choix du temps de l'extraction (**Tab. 1**).

**Tableau 1** : Choix des paramètres à configurer pour l'optimisation de l'extraction par décoction via le dosage des polyphénols totaux et l'activité ABTS.

	<b>- 1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Température (°C)</b>	50	70	90
<b>Ratio (g)</b>	1	3	5
<b>Temps (minutes)</b>	10	20	30

Soumis au logiciel JMP, les choix à expérimenter prédits pour effectuer nos extractions sont répertoriées dans le tableau (2) ci-dessous (**Tab. 2**).

**Tableau 2** : Configuration des paramètres à tester sur l'extraction par décoction selon les prédictions du logiciel JMP applicables au dosage des polyphénols totaux et à l'activité antioxydante ABTS.

<b>N°</b>	<b>Configuration</b>	<b>Température</b>	<b>Ratio</b>	<b>Temps</b>
<b>01</b>	- - 0	50°C	1 g	20 min
<b>02</b>	- + 0	50°C	5 g	20 min
<b>03</b>	+ - 0	90°C	1 g	20 min
<b>04</b>	+ + 0	90°C	5 g	20 min
<b>05</b>	0 - -	70°C	1 g	10 min
<b>06</b>	0 - +	70°C	1 g	30 min
<b>07</b>	0 + -	70°C	5 g	10 min
<b>08</b>	0 + +	70°C	5 g	30 min
<b>09</b>	- 0 -	50°C	3 g	10 min
<b>10</b>	+ 0 -	90°C	3 g	10 min
<b>11</b>	- 0 +	50°C	3 g	30 min
<b>12</b>	+ 0 +	90°C	3 g	30 min
<b>13</b>	0 0 0	70°C	3 g	20 min
<b>14</b>	0 0 0	70°C	3 g	20 min
<b>15</b>	0 0 0	70°C	3 g	20 min

### 2.3. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble de tests effectués sur les extraits de feuilles de l'olivier obtenus par décoction. Ces tests nous permettent d'avoir une idée sur la présence ou l'absence de certains métabolites primaires et secondaires chez les 3 provenances testées. Les molécules mises en évidence sont appréciées qualitativement par rapport à leur coloration ou non, le degré de coloration, la décoloration, l'apparition d'un précipité, etc... Le tableau 3 décrit toutes ces méthodes (**Tab. 3**).

**Tableau 3** : Principaux tests effectués sur les extraits de feuilles de l'olivier.

<b>01</b>	<b>Alcaloïdes</b>	<b>(Annexe N°01)</b>
<i>Test Dragendorff</i>	1 mL réactif Dragendorff + 2 mL extrait / Coloration rouge orangée.	
<i>Test Mayer</i>	3 gouttes réactif Mayer + 1 mL extrait / Coloration blanche ou jaune.	
<i>Test Hager</i>	3 gouttes réactif Hager + 2 mL extrait / Coloration Jaune.	
<b>02</b>	<b>Flavonoïdes</b>	<b>(Annexe N°02)</b>
	3 gouttes NaOH (10%) + 2 mL extrait / Coloration jaune / Décoloration à l'ajout 1 mL HCl.	
<b>03</b>	<b>Tanins</b>	<b>(Annexe N°03)</b>
<i>Galliques</i>	1 goutte chlorure ferrique + 1 mL extrait / Coloration bleu foncé.	
<i>Catéchiques</i>	1 goutte chlorure ferrique + 1 mL extrait / Coloration verte.	
<b>04</b>	<b>Protéines</b>	<b>(Annexe N°04)</b>
<i>Biuret</i>	2 gouttes sulfate de cuivre (3%) + NaOH + 1 mL extrait / Coloration rouge ou violet.	
<b>05</b>	<b>Carbohydrates</b>	<b>(Annexe N°05)</b>
<i>Benedict</i>	5 mL réactif Benedict + 10 gouttes extrait + incubation au bain Marie 5 min / Précipité rouge foncé.	
<i>Fehling</i>	2 mL réactif Fehling A et B (10 mL NaOH et 100 mL CuSO <sub>4</sub> ) + 2 mL extrait + incubation au bain Marie 5 min / Précipité rouge foncé.	
<b>06</b>	<b>Glycosides</b>	<b>(Annexe N°06)</b>
<i>Killiani</i>	0,5 mL acide acétique glacial + 2 gouttes de chlorure ferrique + 2 mL extrait + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Incubation 5 min / Coloration bleu foncé à la surface du tube.	
<b>07</b>	<b>Saponines</b>	<b>(Annexe N°07)</b>
	3 gouttes Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (7,5%) + 5 mL extrait / Apparition mousse persistante après agitation.	

<b>08</b>	<b>Triterpénoïdes</b>	<b>(Annexe N°08)</b>
<i>Horizon</i>	2 mL trichlorure d'acide (10%) + 1 mL extrait / Précipité rouge.	
<b>09</b>	<b>Stéroïdes</b>	<b>(Annexe N°09)</b>
<i>Salkowski</i>	2 mL chloroforme + 3 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 5 mL extrait / Coloration bleue.	
<b>10</b>	<b>Amidon</b>	<b>(Annexe N°10)</b>
<i>Iodine</i>	2 mL solution iodique + 2 mL extrait feuilles / Coloration bleue.	

## 2.4. Analyses phytochimiques et activités antioxydantes

### 2.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux sont dosés grâce au réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué de l'acide phosphotungstique ( $H_3[P(W_3O_{10})_4] \times H_2O$ ) et de l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). Le changement de couleur obtenu, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits analysés (**Boizot & Charpentier, 2006**).

La méthode adoptée pour le dosage des composés phénoliques totaux est celle de **Singleton & Rossi (1965)**, optimisée par **Zeghib et al. (2022)**.

Dans un tube à essai, on mélange 200  $\mu$ L de l'extrait de feuilles d'olivier avec 1 mL du réactif de Folin-Ciocalteu (1N dilué à 0,1N). Après une agitation au vortex et au bout d'une incubation de 5 mn à l'obscurité et à température ambiante, sont rajoutés au mélange 800  $\mu$ L de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$  à 7,5%). L'ensemble est agité au vortex, suivi d'une seconde incubation de 5 mn réalisée cette fois-ci au bain-marie à 50°C (*Raypa*, Espagne). Après refroidissement, la mesure de l'absorbance s'effectue au spectrophotomètre (*Biotech VIS-7220G*) à une longueur d'onde de 760 nm. L'étalonnage du spectrophotomètre est réalisé par un blanc constitué de 200  $\mu$ L d'eau distillée et 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage est obtenue par l'utilisation d'un polyphénol témoin, l'acide gallique ( $C_7H_6O_5$ ). La quantité en composés phénoliques totaux est exprimée en mg EAG.g<sup>-1</sup> de matière sèche [( $y = 6,4067 x + 0,0525$  ;  $R^2 = 0,999$ ) où "y" fait référence à l'absorbance et "x" fait référence à la concentration] (**Annexe N°11**). Tous les résultats expriment une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type.

### 2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le total des flavonoïdes est déterminé par colorimétrie au chlorure d'aluminium, où l'Al(III) est utilisé comme agent complexant. En effet et en raison de leurs nombreux groupements oxo et hydroxyle, les flavonoïdes ont une grande affinité pour lier les ions métalliques comme l'Al(III) (**Christ and Mueller, 1960**).

Le protocole utilisé pour le dosage des flavonoïdes totaux est celui de **Surana et al. (2016)**. Dans un tube à hémolyse en verre, on mélange 250 µL d'extrait de feuilles d'olivier + 750 µL d'éthanol absolu + 50 µL d'acétate de potassium (1 M dans de l'éthanol) + 50 µL de trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (10%, v/v dans  $\text{H}_2\text{O}$ ) + 1,4 mL d'eau distillée.

Ce mélange est vigoureusement agité puis mis à incuber durant 40 mn à l'obscurité et à température ambiante du laboratoire. Après incubation, l'absorbance est lue au spectrophotomètre (*Biotech VIS-7220G*) à une longueur d'onde de 415 nm contre un blanc où le chlorure d'aluminium est remplacé par de l'eau distillée.

La courbe étalon est réalisée avec différentes concentrations en quercétine ( $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ ). La quantité moyenne en flavonoïdes totaux est exprimée en mg EQ.g<sup>-1</sup> de matière sèche [(y = 6,726 x + 0,0233) ; R<sup>2</sup> = 0,9974 où "y" fait référence à l'absorbance et "x" fait référence à la concentration] (**Annexe N°13**). Tous les résultats expriment une valeur moyenne de 5 répétitions différentes ± écart-type.

### 2.4.3. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés ont été dosés par la méthode à la vanilline en présence de l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline (**Sun et al. 1998**).

Le protocole utilisé pour le dosage des tanins condensés est celui de **Julkunen-Titto (1985)**. Un volume de 125 µL d'extrait de feuilles d'olivier a été ajouté à 750 µL de la solution vanilline/méthano à 4%, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 375 µL d'HCl concentré a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est lue au spectrophotomètre (*Biotech VIS-7220G*) à une longueur d'onde de 500 nm contre un blanc.

Différentes concentrations comprises entre 0 et 0,07 mg/mL préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage. La quantité moyenne en tanins condensés ont été déterminés à partir de l'équation de la régression

linéaire de la courbe d'étalonnage [ $y = 2,3035 x - 0,0024$  ;  $R^2 = 0,9927$  où "y" fait référence à l'absorbance et "x" fait référence à la concentration] (**Annexe N°14**). Les résultats obtenus sont exprimés en mg EC.g<sup>-1</sup> de matière sèche et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type.

#### 2.4.4. Capacité antioxydante équivalent Trolox

Dans la méthode de la capacité antioxydante équivalent Trolox, l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup>, obtenu à partir de l'ABTS comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox®.

L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase) en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). Le radical ABTS<sup>•+</sup>, en contact avec un donneur de H<sup>•</sup> conduit à l'ABTS<sup>+</sup> et à la décoloration à 734 nm de la solution. La capacité antioxydante équivalent Trolox® correspond à la concentration (mmol/L ou mg/L) de Trolox® ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester (**Marc et al. 2004**).

Le protocole utilisé pour la mesure de la capacité antioxydante équivalent Trolox est inspiré de la méthode **Miller et al. (1993)** modifié par **Re et al. (1999)**. La veille du dosage, on doit préparer une solution d'ABTS en éthanol à 7 mM, à laquelle on ajoute du persulfate de potassium à la concentration de 2,4 mM (10 mg dans 15,11 mL de la solution d'ABTS). On laisse développer la réaction afin de générer le radical ABTS<sup>•+</sup> au minimum 6 h sous agitation, à température ambiante et à l'obscurité.

Le jour du dosage, la solution ABTS préparée est diluée dans de l'éthanol jusqu'à obtention d'une absorbance de  $0,7 \pm 0,02$  à 734 nm. Cette solution est maintenue en bain-marie à 30°C jusqu'au dosage proprement dit. Ce dosage s'effectue en mélangeant dans un tube à hémolyse en verre 100  $\mu$ L d'extrait de feuilles d'olivier avec 1 mL de la solution ABTS précédemment préparée. Avant de lire l'absorbance au spectrophotomètre (*Biotech VIS-7220G*) à une longueur d'onde de 734 nm, on incube le mélange durant 7 mn de temps à l'obscurité et à température ambiante.

La courbe standard pour la quantification de la capacité antioxydante équivalent Trolox a été obtenue en utilisant différentes concentrations de Trolox®, préparées dans le même solvant que les extraits à quantifier. De cette courbe, on détermine la quantité moyenne en capacité antioxydante équivalent Trolox [ $y = -11,143 x + 0,5705$  ;  $R^2 = 0,9965$  ; où "y" fait référence à l'absorbance et "x" fait référence à la concentration] (**Annexe N°12**). Les résultats ont été exprimés en mg E Trolox par g de MS et représentent pour chacun des échantillons une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type.

#### 2.4.5. Test FRAP (*Ferric Reducing antioxidant Power*)

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé par la méthode de FRAP (**Bassène, 2012**). Il se base sur la réduction du complexe ferrique 2,4,6-tripyridyl-1,3,5-triazine ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ). Ainsi, on mélange 1,9 mL de réactif de FRAP avec 100  $\mu\text{L}$  d'extrait, suivi d'une incubation de 30 min à 37°C en étuve. La lecture de la densité optique a été effectuée à une longueur d'onde de 593 nm contre un blanc formé de 1,9 mL de réactif de FRAP et 100  $\mu\text{L}$  d' $\text{H}_2\text{O}$ .

Les résultats ont été rapportés en mg équivalent Trolox par gramme de matière végétale sèche (mg/ g MS) (**Annexe N°15**).

Le réactif de FRAP est un mélange d'un tampon acétate de sodium à pH 3,6 ; 300 mM + TPTZ à 10 mM +  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  à 20 mM ; v/v/v : 10/1/1). Le tampon acétate est constitué de 0,31 g de sodium acétate trihydraté + 1,6 mL d'acide acétique glacial qu'on ajuste à 100 mL avec de l' $\text{H}_2\text{O}$ . Le TPTZ est constitué de 0,0375 g TPTZ + 10 mL d' $\text{H}_2\text{O}$  + 40  $\mu\text{L}$  HCl qu'on ajuste à 12 mL avec de l' $\text{H}_2\text{O}$ . Le  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  est constitué de 0,06486 g + 12 mL d' $\text{H}_2\text{O}$ .

#### 2.5. Analyse statistique

L'ensemble des résultats énumérés 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  $p \leq 0,05$ .

***RESULTATS &  
DISCUSSION***

## 1. Optimisation de l'extraction

L'optimisation des TPC et ABTS est basée sur la maximisation de l'extraction. On a utilisé l'analyse de la variance afin de visualiser la relation entre les réponses des données et nos expérimentations (**Tab. 4**).

**Tableau 4** : Valeurs obtenues et valeurs prédites par le logiciel JMP applicables au dosage des polyphénols totaux et à l'activité antioxydante ABTS selon les différentes configurations paramétrées testées sur l'extraction par décoction depuis les feuilles de l'olivier.

N°	Conf.	T°C	Ratio	Temps	TPC	ABTS	Prévue TPC	Prévue ABTS
01	--0	50°C	1 g	20 min	83.85	90,42402827	83,517125	89,321628388
02	++0	50°C	5 g	20 min	70.239	53,91342756	68,848875	54,047776795
03	+ - 0	90°C	1 g	20 min	88.033	89,71731449	87,870125	89,582965255
04	+++	90°C	5 g	20 min	79.097	59,5229682	78,019875	60,625368083
05	0--	70°C	1 g	10 min	86.909	91,30742049	84,07025	90,804991164
06	0-+	70°C	1 g	30 min	88.803	89,71731449	88,9735	91,456492934
07	0+-	70°C	5 g	10 min	70.473	63,76325088	70,8875	62,024072436
08	0++	70°C	5 g	30 min	76.17	55,50353357	77,63775	62,024072436
09	-0-	50°C	3 g	10 min	73.088	37,34393404	71,851625	38,948763249
10	+0-	90°C	3 g	10 min	77.926	42,11425206	78,029625	42,751030621
11	-0+	50°C	3 g	30 min	80.072	37,28504122	77,094375	36,648262659
12	+0+	90°C	3 g	30 min	86.207	41,28975265	84,440375	39,684923441
13	000	70°C	3 g	20 min	78.808	60,57714959	79,53633333	56,552807223
14	000	70°C	3 g	20 min	82.32	55,74793875	79,53633333	56,552807223
15	000	70°C	3 g	20 min	81.493	53,33333333	79,53633333	56,552807223

Les résultats d'analyse de la variance sont significatifs pour les deux tests considérés dans notre travail, tout d'abord pour ce qui est composés phénoliques totaux où  $P < 0,0137$  (**Tab 5a**) ou bien pour l'activité antioxydante par la méthode Trolox via l'ABTS où  $P > 0,001$  (**Tab 5b**), ce qui explique que le modèle prédit par le logiciel JMP donne un pourcentage élevé de réponses significatifs.

**Tableau 5a** : Tests d'effets paramétrés pour l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques totaux effectuée par décoction depuis les feuilles de l'*Olea europaea* L.

Source	Nbre coeff.	DDL	Somme des carrés	Rapport F	Prod. > F
Température (50 - 90)	1	1	72,08402	17,6618	0,0085*
Ratio (1 - 5)	1	1	333,02643	81,5973	0,0003*
Temps (10 - 30)	1	1	65,29959	15,9995	0,0103*
Température*Ratio	1	1	5,46391	1,3388	0,2995
Température*Temps	1	1	0,42055	0,1030	0,7612
Ratio*Temps	1	1	3,61570	0,8859	0,3898
Température*Température	1	1	3,46842	0,8498	0,3989
Ratio*Ratio	1	1	0,32414	0,0794	0,7894
Temps*Temps	1	1	1,73358	0,4248	0,5433

**Tableau 5b** : Tests d'effets paramétrés pour l'optimisation de l'activité antioxydante par la méthode Trolox via l'ABTS effectuée sur les extraits obtenus par décoction depuis les feuilles de l'*Olea europaea* L.

Source	Nbre coeff.	DDL	Somme des carrés	Rapport F	Prod. > F
Température (50 - 90)	1	1	23,3855	2,7714	0,1568
Ratio (1 - 5)	1	1	2062,8395	244,4638	0,0001*
Temps (10 - 30)	1	1	14,4002	1,7065	0,2483
Température*Ratio	1	1	9,9738	1,1820	0,3266
Température*Temps	1	1	0,1465	0,0174	0,9003
Ratio*Temps	1	1	11,1209	1,3179	0,3029
Température*Température	1	1	323,5855	38,3476	0,0016*
Ratio*Ratio	1	1	2535,1535	300,4369	0,0001*
Temps*Temps	1	1	217,9547	25,8295	0,0038*

En clair, l'analyse des résultats de la variance des facteurs affectant la teneur en composés phénoliques totaux et la capacité ABTS sont rapportés dans le tableau suivant (**Tab. 6**) :

**Tableau 6** : Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur le contenu total en composés phénoliques (TPC) et l'activité antioxydante ABTS.

Partie analysée	Variabiles	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajusté	Défaut d'ajustement < 5
Feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.	TPC	0,940815	0,834283	4,60411
	ABTS	0,992294	0,978422	4,9943

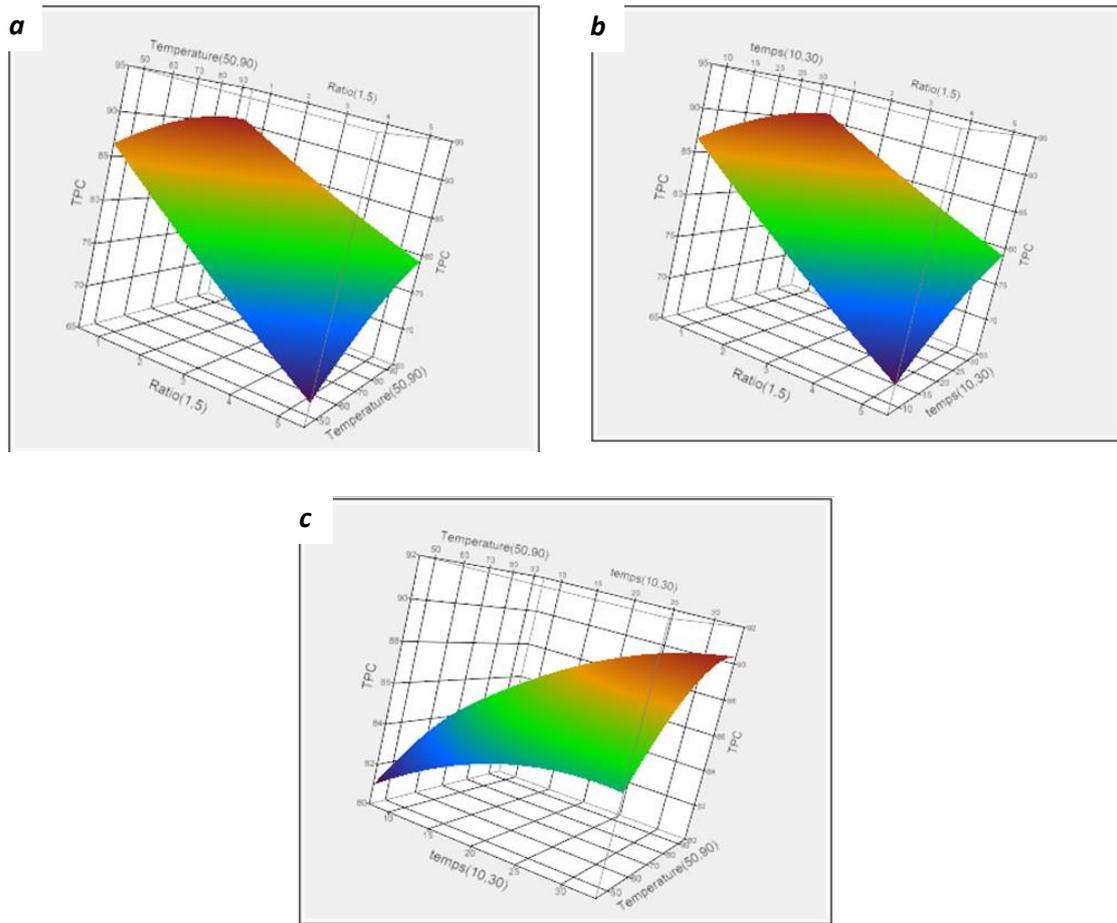
De ce tableau, l'ajustement indique que les résultats sont significatifs pour les 2 variables considérées. Pour ce qui est du total des composés phénoliques, l'erreur relative R<sup>2</sup> est de 0,940815 pour un R<sup>2</sup> ajusté de 0,834283, ce qui équivaut à un défaut d'ajustement de 4,60411 inférieur à 5. C'est le cas pour l'activité ABTS où l'erreur relative R<sup>2</sup> est de 0,992294 pour un R<sup>2</sup> ajusté de 0,978422, ce qui donne un défaut d'ajustement de 4,9943 également inférieur à 5 (**Tab. 6**). On estime donc dans l'ensemble, que les facteurs affectant le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante équivalent Trolox des extraits obtenus par décoction sont satisfaisantes.

Pour donner une meilleure compréhension de l'interaction entre les 3 facteurs, le diagramme de surface de réponse 3D a été construit pour les composés phénoliques totaux en fonction des différentes interactions, c'est ce qui a été d'ailleurs rapporté dans la **figure 13** où sont considérés tour à tour les interactions ratio (1 – 5 g) – température (50 – 90°C) (**Fig. 13a**) ; ratio (1 – 5 g) – temps d'extraction (10 – 30 min) (**Fig. 13b**) et temps d'extraction (10 – 30 min) – température (50 – 90°C) (**Fig. 13c**).

Les résultats illustrés montrent que le contenu en composés phénoliques augmente à chaque fois que l'on augmente la température tout en diminuant le ratio. C'est ce qui est déduit du diagramme de réponse représenté dans la **figure 13a**.

D'autre part, les résultats exprimés dans la **figure 13b** indiquent que lorsque le ratio augmente, le contenu en composés phénoliques diminue pendant qu'un temps d'application qui ne fait qu'augmenter, favorise une élévation des TPC (**Fig. 13b**).

Par ailleurs, les résultats rapportés dans la **figure 13c** montrent qu'une augmentation de la température ainsi que du temps d'application assurent une élévation du contenu total des composés phénoliques (**Fig. 13c**).

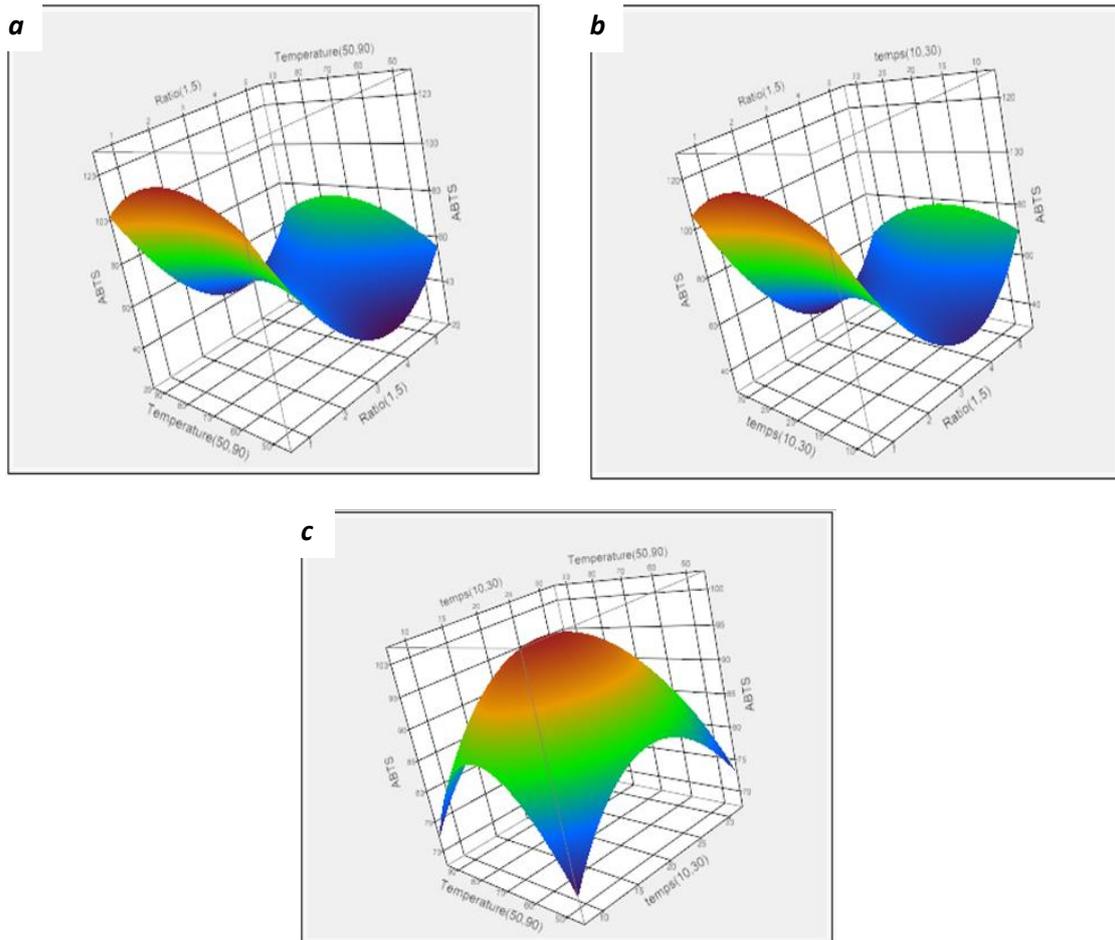


**Figure 13** : Diagrammes de surface de réponse montrant les effets du ratio (1 – 5 g) et de la température (50 – 90°C) (a) ; les effets du ratio (1 – 5 g) et du temps de l’extraction (10 – 30 min) (b) ainsi que les effets du temps de l’extraction (10 – 30 min) et de la température (50 – 90°C) (c) sur l’extraction des composés phénoliques totaux à partir des feuilles de l’*Olea europaea* L.

Pour ce qui est de l’activité antioxydante totale de l’extrait de feuilles de l’olivier qui a été déterminée par la méthode *Trolox* via l’ABTS, il a été observé une élévation de cette capacité avec une augmentation de la température, par contre une augmentation du ratio ne fait que diminuer cette capacité (**Fig. 14a**).

D’autre part, cette capacité ABTS augmente avec l’augmentation du temps consacré à l’extraction pour un ratio qui n’est pas élevé (**Fig. 14b**).

Idem, les résultats rapportés dans la figure **14c** montrent qu’une augmentation de la température ainsi que du temps d’application assurent une activité ABTS plus élevée (**Fig. 14c**).

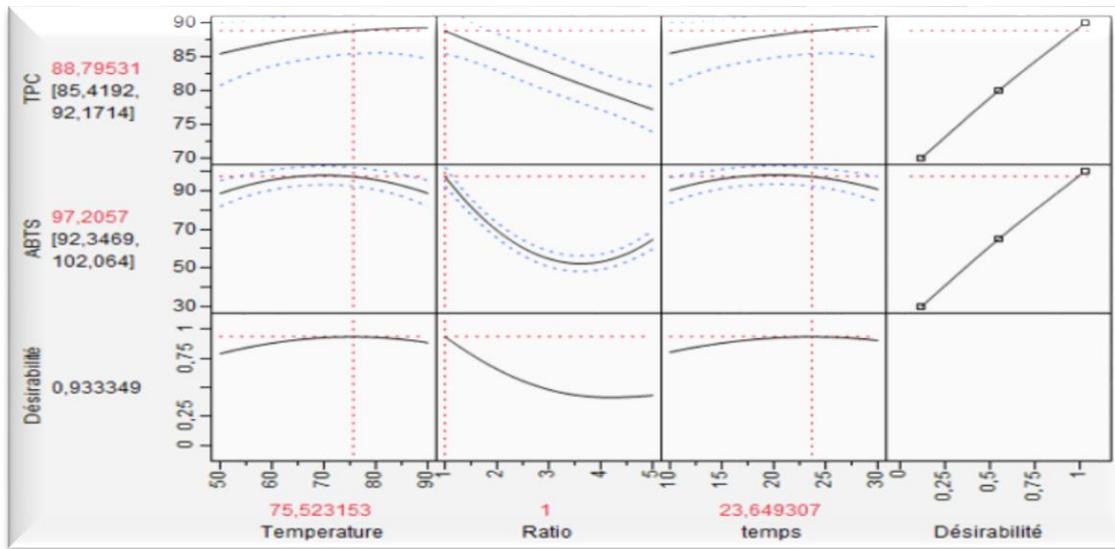


**Figure 14 :** Diagrammes de surface de réponse montrant les effets du ratio (1 – 5 g) et de la température (50 – 90°C) (**a**) ; les effets du ratio (1 – 5 g) et du temps de l’extraction (10 – 30 min) (**b**) ainsi que les effets du temps de l’extraction (10 – 30 min) et de la température (50 – 90°C) sur l’activité ABTS des extraits de feuilles de l’*Olea europaea* L.

Les conditions optimums pour l’extraction des polyphénols totaux et l’activité antioxydante ABTS par la méthode de décoction ont été déduites depuis les équations de régression de la méthodologie de surface de réponse (modèle mathématique du plan Box-Behnken), qui sont représentés dans la figure suivante (**Fig. 15**) et qui montre le profileur de prédiction pour les conditions expérimentées : température (50 – 90°C), ratio (1 – 5 g) et temps (10 – 30 min) consacré à l’extraction par décoction depuis les feuilles de l’olivier de la provenance de *Tazmalt* (**Fig. 15**).

Après avoir déterminé l’optimum des conditions et prédit la ou les réponses dans de tels conditions, il a été déduit qu’une température voisine de 76°C, un ratio de 1 g/100 mL d’H<sub>2</sub>O et un temps d’extraction proche de 24 min sont les mieux indiqués pour une extraction

la meilleure des polyphénols totaux et d'une bonne activité antioxydante via la méthode à l'ABTS (**Fig. 15**).



**Figure 15** : Profileur de prédiction pour les conditions optimums obtenues pour l'extraction des composés phénoliques totaux (TPC) et du pouvoir antioxydant (ABTS) depuis les feuilles de l'*Olea europaea* L. traitées par la méthode de décoction.

L'augmentation du ratio de l'extrait empêche la pénétration des composés bioactifs ce qui mène à la saturation de l'interaction entre l'extrait et le solvant et ainsi provoque une réduction du pourcentage de la masse de transfert. Le ratio indiqué par JMP est de 1 g de poudre de feuilles d'olivier, un paramètre qui joue un rôle important dans le phénomène de diffusion et permet d'avoir un meilleur rendement et une extraction optimum (**El Adnany et al. 2023**).

Prolonger le temps de contact entre l'extrait et le solvant augmente la surface de transfert des composés bioactifs. De même, une longue durée d'extraction a pour effet d'affecter la solubilité des composés antioxydants et de favoriser la migration et la dégradation des composés chimiques. Des durées plus longues d'extraction peuvent provoquer la dégradation et la perte des composés phénoliques (**Bachir Bey et al. 2014**).

Selon le paramétrage et les prédictions du logiciel JMP, la température optimum pour un meilleur rendement d'extraction des éléments chimiques des feuilles d'olivier est de 76°C. La température a un effet favorable dans l'extraction des composés phénoliques ; elle augmente le rendement et l'extraction en améliorant la solubilité et les réactions hydriques.

Cependant, des températures égales ou supérieures à 70°C peuvent induire une rupture des liaisons chimiques, ce qui a pour conséquence d’influencer la structure et l’effet des composés chimiques et diminuer le contenu en composés bioactifs en réduisant ou même annuler leurs propriétés antioxydantes (**Bachir Bey et al. 2014**).

## 2. Screening phytochimique

La combinaison température (76°C), ratio (1 g/100 mL) et temps d’extraction (24 min) ainsi optimisés pour les extraits de feuilles de l’olivier provenant de la région de *Tazmalt* sont appliquées à 2 autres échantillons provenant des régions de *Timri* et de *Akkache*.

Les extraits obtenus sont soumis à différents tests phytochimiques. Ces tests peuvent nous renseigner sur la présence ou non de certains métabolites qu’ils soient d’ordre primaires ou secondaires. L’appréciation de ces métabolites est avant tout qualitative, par rapport à leur coloration ou non, le degré de coloration, la décoloration, l’apparition d’un précipité, etc... Dans le tableau ci-dessous (**Tab. 7**) sont consignés les constatations d’appréciation.

**Tableau 7** : Appréciation d’ordre qualitative des principaux métabolites révélés dans les extraits de feuilles de 3 origines différentes

[(-) absence ; (+) faible présence ; (++) présence moyenne ; (+++) forte présence].

Provenance		<i>Akkache</i>	<i>Tazmalt</i>	<i>Timri</i>
<b>01</b>	<b>Alcaloïdes</b>	<i>(Annexe N°01)</i>		
	<i>Test Dragendorff</i>	+	+++	+
	<i>Test Mayer</i>	+	+++	+
	<i>Test Hager</i>	+	+++	+
<b>02</b>	<b>Flavonoïdes</b>	<i>(Annexe N°02)</i>		
		++	+++	++
<b>03</b>	<b>Tanins</b>	<i>(Annexe N°03)</i>		
	<i>Galliques</i>	+++	+++	+++
	<i>Catéchiques</i>	+++	+++	+++
<b>04</b>	<b>Protéines</b>	<i>(Annexe N°04)</i>		
	<i>Biuret</i>	+	+	+
<b>05</b>	<b>Carbohydrates</b>	<i>(Annexe N°05)</i>		
	<i>Benedict</i>	+	+	+

<i>Fehling</i>	+	+	+
<b>06</b>	<b>Glycosides</b>		<i>(Annexe N°06)</i>
<i>Killiani</i>	-	-	-
<b>07</b>	<b>Saponines</b>		<i>(Annexe N°07)</i>
	++	++	++
<b>08</b>	<b>Triterpénoïdes</b>		<i>(Annexe N°08)</i>
<i>Horizon</i>	+	-	+
<b>09</b>	<b>Stéroïdes</b>		<i>(Annexe N°09)</i>
<i>Salkowski</i>	-	++	++
<b>10</b>	<b>Amidon</b>		<i>(Annexe N°10)</i>
<i>Iodine</i>	-	-	-

Par nos différents tests, nous avons révélé la présence de plusieurs composés chimiques qu'ils soient du métabolite primaire ou bien secondaire.

D'abord, les protéines et les carbohydrates sont présents équitablement chez les 3 provenances. Glycosides et amidon n'ont pas été révélés par les essais que nous avons effectués (**Tab. 7**).

Le groupe formé d'alcaloïdes, flavonoïdes et tanins est bien représenté chez les 3 provenances. Par ordre d'importance décroissant on trouve plus de tanins, puis de flavonoïdes, ensuite les alcaloïdes. Cependant, il y a lieu de noter une plus forte abondance des alcaloïdes et des flavonoïdes chez l'échantillon de *Tazmalt* comparativement aux deux autres échantillons provenant d'*Akkache* et *Timri* (**Tab. 7**).

Les triterpénoïdes qui n'ont pas été détectés dans l'extrait provenant de *Tazmalt*, sont toutefois présents en faible quantité dans les 2 autres provenances. Les stéroïdes n'ont pas été détecté dans l'extrait provenant d'*Akkache*, on les trouve en revanche moyennement représentés dans les extraits issus de *Tazmalt* et de *Timri*. Les saponines sont présentes de façon équitable dans les extraits des 3 provenances (**Tab. 7**).

La majorité des composés chimiques connus sont présents dans nos extraits, assez bien représentées de point de vue qualitatif. Nos extraits sont obtenus par décoction dans un milieu aqueux. Ceci n'a pas empêché de les révéler presque tout autant que ce qui est obtenu avec d'autres extraits obtenus avec différents solvants (méthanol, éthanol, éthyle acétate et n-hexane). Les différences sont plutôt d'ordre variétales (**Ahmad et al. 2020**).

En effet, les variétés sauvages de l'olivier sont mieux fournies en composés notamment bioactifs que les variétés cultivées (**Ahmad et al. 2020**).

Les alcaloïdes ont été bien représentés dans l'échantillon de *Tazmalt* comparativement aux deux autres provenances. On sait qu'il est courant de trouver ce genre de composés au niveau des feuilles de l'olivier, dont les plus cités sont la cinchonine et la cinchonidine (**Al-Snafi, 2023**). Il s'agit de molécules potentiellement actives aux effets toxiques, qui doivent un rôle dans la défense contre les ravageurs. Ils sont néanmoins accompagnés de tanins dans les plantes, ce qui a pour intérêt d'en maîtriser la toxicité (**Sagorin et al., 2021**). C'est ce que d'ailleurs nous avons trouvé en forte quantité dans les feuilles des trois provenances, *Akkache*, *Tazmalt* et *Timri*.

Les composés phénoliques dont les plus représentatifs comme les flavonoïdes, les lignanes, les anthocyanes et les tanins sont assez importants dans leur capacité antioxydante de piégeage des radicaux libres. Cette composition est néanmoins variable selon les cultivars et se trouve affectée par les conditions prévalant dans le milieu écologique où prospère cette espèce, tout comme la période de collecte des feuilles. Ce sont autant d'atouts qui jouent sur la présence en abondance ou pas de ce genre de composés chez l'olivier (**Ahmad et al. 2020 ; Ben Mansour-Gueddes et al. 2020**).

Dans l'extrait aqueux de l'échantillon provenant de *Tazmalt*, nous n'avons pas détecté de triterpénoïdes, mais nous avons trouvé en revanche des stéroïdes et des saponines. Ce n'est pas le cas de l'échantillon des extraits de *Timri* et d'*Akkache*. Pour ce dernier représentant d'ailleurs, nous n'avons pas détecté de stéroïdes, mais plutôt des saponines et à un degré moindre des triterpènes. On sait bien que les composés terpéniques dont notamment les triterpènes sont des précurseurs de la synthèse des stéroïdes, des phytostérols et des saponosides (**Sagorin et al., 2021**).

Les protéines et les carbohydrates dont la présence est révélée chez les 3 échantillons sont des composés naturellement présents dans tout tissu végétal. L'amidon, un polysaccharide de réserve et les glycosides issus de la condensation d'un sucre et d'une substance non glucidique n'ont pas été en revanche trouvés au sein de nos trois différents extraits.

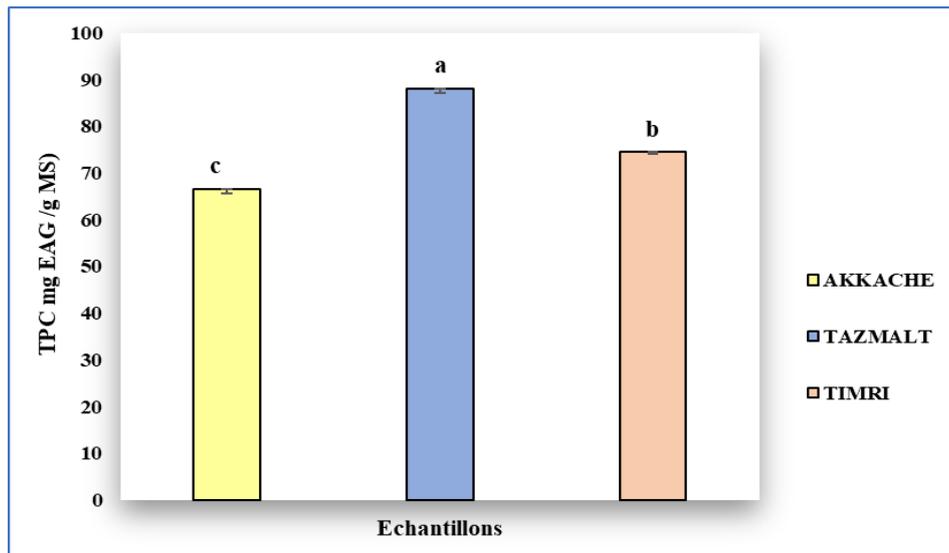
### 3. Analyses phytochimiques

Dans ce qui suit, sont dosés les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et les tanins condensés des extraits de feuilles de 3 provenances différentes pour effet de comparaison. Pour rappel, les extraits de feuilles sont obtenus après décoction en adoptant la combinaison : température de 76°C / ratio de 1 g dans 100 mL d'H<sub>2</sub>O / temps d'extraction de 24 min.

### 3.1. Composés phénoliques totaux

Le total des polyphénols a été obtenu par spectrophotométrie ( $\lambda = 760 \text{ nm}$ ) avec une équation de régression linéaire utilisant la courbe d'étalonnage à l'acide gallique ( $y = 6,4067x + 0,0525$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,999$  (**Annexe N°11**).

Les résultats obtenus pour les extraits de feuilles de 3 provenances différentes sont consignés dans la **figure 16** ci-dessous.



**Figure 16** : Effets de l'origine des échantillons sur le contenu total en composés phénoliques des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique (EAG) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ .

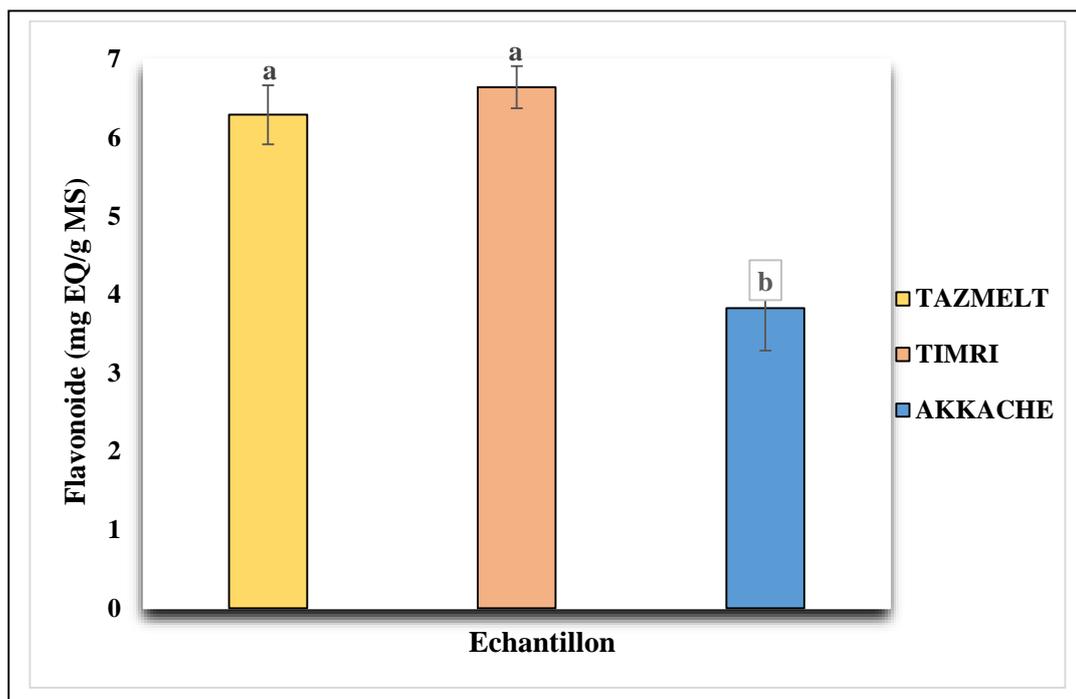
L'extrait de feuilles provenant de la région de *Tazmalt*, présente un contenu total en polyphénols de  $88,07 \pm 0,88 \text{ mg EAG/g MS}$ . Il dépasse de 15,4% par son contenu celui représenté par la provenance de *Timri* ( $74,46 \pm 0,35 \text{ mg EAG/g MS}$ ) et de 24,4% celui provenant de la région d'*Akkache* ( $66,56 \pm 0,87 \text{ mg EAG/g MS}$ ). La différence dans le contenu en polyphénols totaux entre les provenances de *Timri* et d'*Akkache* n'est que de 10,5% en faveur de l'extrait de *Timri* (**Fig. 16**).

Le dosage des composés phénoliques dont leur totalité par provenance (**Fig. 16**) est conforme à ce qui a été apprécié qualitativement par screening phytochimique (**Tab. 7**). Effectivement, nous avons noté une forte abondance des composés phénoliques dans leur totalité (flavonoïdes totaux + tanins) chez l'échantillon de *Tazmalt* comparativement aux deux autres échantillons provenant d'*Akkache* et *Timri* (**Tab. 7**).

### 3.2. Flavonoïdes totaux

Le total des flavonoïdes a été obtenu par spectrophotométrie ( $\lambda = 415 \text{ nm}$ ) avec une équation de régression linéaire utilisant la courbe d'étalonnage de la quercétine ( $y = 6,726 x + 0,0233$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9974$ ) (**Annexe N°13**).

Les résultats obtenus pour les extraits de feuilles de 3 provenances différentes sont rapportés ci-dessous (**Fig. 17**).



**Figure 17** : Effets de l'origine des échantillons sur le contenu en flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine (EQ) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ .

L'extrait de feuilles totaux de la provenance de *Tazmalt* contient une teneur en flavonoïdes totaux de  $6,29 \pm 0,37 \text{ mg EQ/g MS}$ . Cette teneur est significativement de même ordre que ce qui a été obtenu pour l'extrait de feuilles provenant de la région de *Timri* ( $6,64 \pm 0,27 \text{ mg EQ/g MS}$ ). L'extrait provenant de la région d'*Akkache* se distingue par un contenu en flavonoïdes totaux de 40% moins important ( $3,82 \pm 0,54 \text{ mg EQ/g MS}$ ) que ce qui a été observé précédemment chez les deux autres provenances (**Fig. 17**).

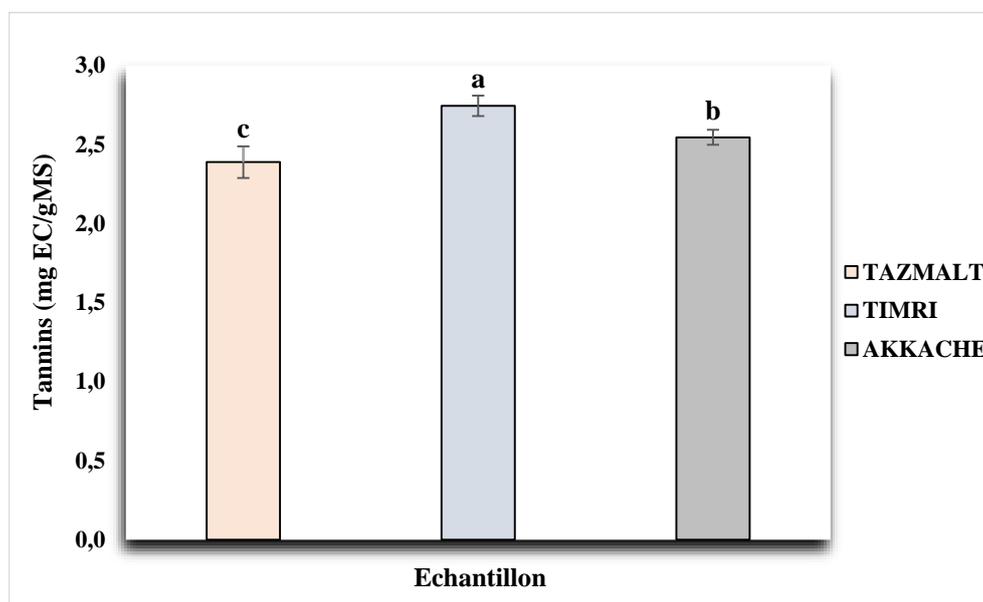
Contrairement aux composés phénoliques totaux, les flavonoïdes totaux qui représentent une part importante de ces composés phénoliques sont un peu mieux représentés dans la provenance de *Tazmalt* que dans les provenances de *Timri* et *Akkache* lorsqu'il s'agit

de l'appréciation par screening (**Tab. 7**). Cet état de fait n'a pas été totalement confirmé par les dosages que nous avons effectués puisque les provenances de *Tazmalt* et *Timri* montrent le même contenu en flavonoïdes totaux, assez supérieur à celui exhibé par la provenance d'*Akkache* (**Fig. 17**).

### 3.3. Tanins condensés

Le dosage des tanins condensés s'est déroulé par spectrophotométrie ( $\lambda = 500$  nm) avec une équation de régression linéaire utilisant la courbe d'étalonnage de la catéchine ( $y = 2,3035 x - 0,0024$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9927$ ) (**Annexe N°14**).

Les calculs effectués ont donné lieu à la représentation graphique ci-dessous (**Fig. 18**) où la teneur en tanins condensés de chacune des provenances a été représentée.



**Figure 18** : Effets de l'origine des échantillons sur le contenu en tanins condensés des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en catéchine (EC) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ .

C'est l'extrait de feuilles provenant de *Timri* qui se distingue par un contenu en tanins condensés ( $2,74 \pm 0,06$  mg EC/g MS) assez appréciable par rapport à celui des deux autres provenances. En effet, ce contenu est supérieur de 7,2 % par rapport à celui d'*Akkache* ( $2,54 \pm 0,04$  mg EC/g MS) et de 13,1 % par rapport à celui de *Tazmalt* ( $2,38 \pm 0,10$  mg EC/g MS). La différence dans le contenu en tanins condensés entre les provenances d'*Akkache* et de *Tazmalt* est minime de l'ordre de 6,2% seulement en faveur de l'extrait d'*Akkache* (**Fig. 18**).

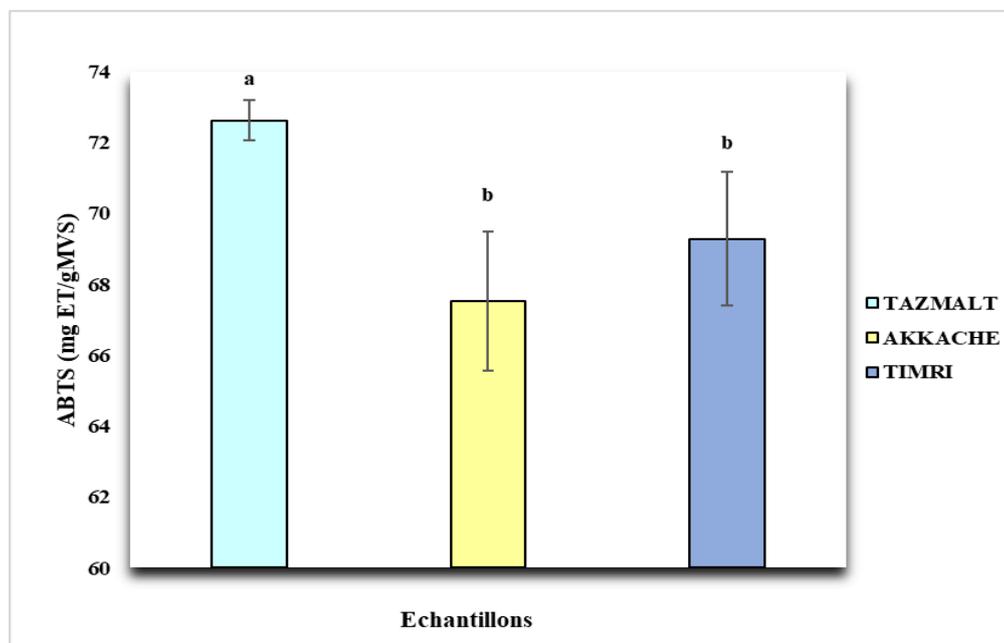
Le screening chimique effectué pour les tanins en général abonde dans le même sens que ce que nous avons trouvé lors de la mise en évidence de ces composés effectuée par dosage. En effet, les tanins ont été révélés abondamment dans les 3 extraits (**Tab. 7**). C'est ce qui se traduit par des quantités dosées assez proches entre les 3 provenances (**Fig. 18**).

#### 4. Activités antioxydantes

Dans cette partie, nous avons testé une capacité antioxydante via la méthode équivalent Trolox, ainsi qu'un pouvoir réducteur des extraits via la méthode FRAP (*Ferric Reducing antioxidant Power*). Cette partie a été effectuée sur les 3 extraits de feuilles de différentes provenances obtenues après optimisation de la méthodologie d'extraction. Une opération d'optimisation qui a été d'ailleurs réalisée entre autres sur la base d'une meilleure capacité antioxydante équivalent Trolox obtenue pour l'extrait provenant de Tazmalt (**voir Tableaux 4 et 5b ; Figures 14 et 15**).

##### 4.1. Capacité antioxydante équivalent Trolox

La capacité antioxydante équivalent Trolox a été déterminée par spectrophotométrie ( $\lambda = 734 \text{ nm}$ ) en utilisant l'équation  $y = -11,143 x + 0,5705$  avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9965$  (**Annexe N°12**). Les résultats obtenus ont été exprimés en mg équivalent Trolox par g de MS et sont représentés dans le graphique ci-dessous (**Fig. 19**).

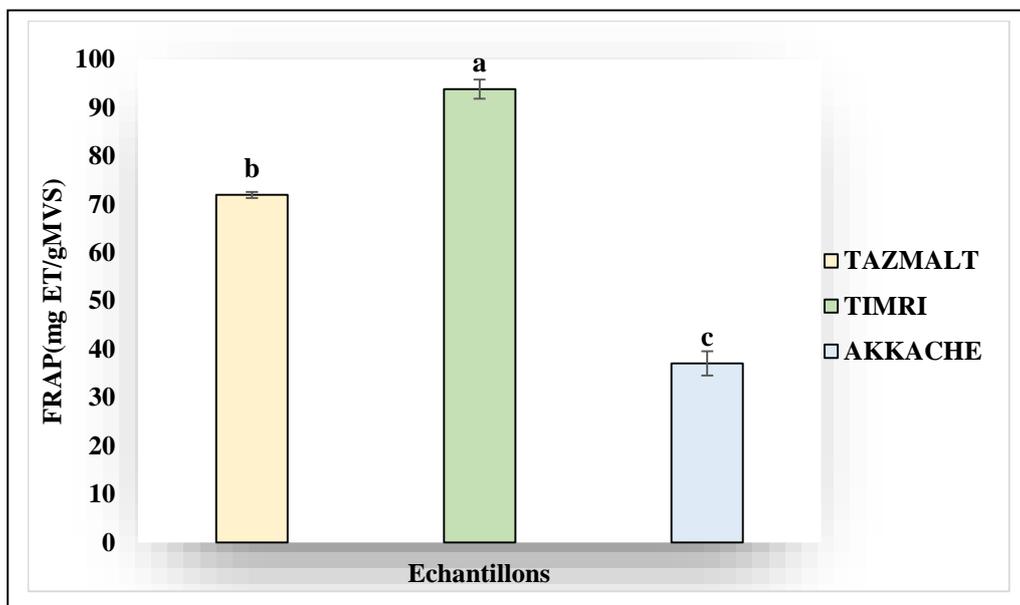


**Figure 19** : Effets de l'origine des échantillons sur la capacité antioxydante Trolox des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent Trolox (ET) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ .

L'extrait de feuilles provenant de la région de *Tazmalt*, présente une capacité antioxydante équivalent Trolox la plus élevée, de l'ordre de  $72,62 \pm 0,57$  mg ET/g MS. Cette capacité est un peu moindre, de 4,6 % par rapport à l'extrait provenant de *Timri* ( $69,27 \pm 1,92$  mg ET/g MS) et elle l'est un peu plus, de 7,0 % par rapport à l'extrait provenant de *Akkache* ( $67,52 \pm 1,87$  mg ET/g MS). La différence dans la capacité antioxydante équivalent Trolox entre les provenances de *Timri* et d'*Akkache* n'est pas statistiquement significative, donnant donc des capacités assez proches (**Fig. 19**).

#### 4.2. Test FRAP (*Ferric Reducing antioxidant Power*)

Le pouvoir réducteur des extraits de feuilles a été déterminé par spectrophotométrie ( $\lambda = 593$  nm) en utilisant l'équation  $y = 7,6295 x - 0,0026$  avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9933$  (**Annexe N°15**). Les résultats obtenus ont été rapportés en mg équivalent Trolox par gramme de matière végétale sèche (mg/ g MS) (**Fig. 20**).



**Figure 20** : Effets de l'origine des échantillons sur le pouvoir réducteur des extraits de feuilles de l'*Olea europaea* L. Les résultats sont exprimés en mg équivalent Trolox (ET) / g de matière sèche (MS) et représentent une valeur moyenne de 5 répétitions différentes  $\pm$  écart-type. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ .

Le pouvoir réducteur via le test FRAP est plus important dans l'échantillon de *Timri* ( $95,10 \pm 1,25$  mg ET/g MS), suivi par l'échantillon de *Tazmalt* ( $71,95 \pm 0,63$  mg ET/g MS) puis par l'échantillon d'*Akkache* ( $38,87 \pm 2,22$  mg ET/g MS). Les différences étant très significatives, le pouvoir réducteur par provenance est donc ordonné ainsi : *Timri* > *Tazmalt* > *Akkache* (**Fig. 20**).

## 5. Discussion

Les feuilles de l'olivier cueillies de trois régions différentes (*Tazmalt*, *Timri* et *Akkache*) sont d'abord séchées, puis sont réduites en poudre fine. De cette poudre des extraits ont été obtenus par le principe de la décoction dans de l'eau en combinant entre 3 types de paramètres : ratio, température et temps d'extraction.

Ces paramètres ont été optimisés vis-à-vis d'une extraction la meilleure des polyphénols totaux et d'une activité antioxydante équivalent Trolox maximum. Le logiciel JMP a prédit de tester une certaine gamme de combinaisons et les tests mathématiques utilisés en appui ont donné lieu au meilleur choix : un ratio de 1 g/100 mL d'H<sub>2</sub>O distillée, une température de 76°C et un temps d'extraction de 24 min.

Le choix de la méthodologie de la décoction est tout indiqué d'abord pour réduire les coûts et éviter ensuite les éventuelles toxicités qui pourraient en résulter, notamment de l'utilisation de divers solvants nuisibles à la santé.

Avec un tel choix ainsi optimisé et modélisé, l'extraction des composés phénoliques et l'activité antioxydante analysée ont été maximisées sur le double plan quantitatif et qualitatif. Cet état de fait ainsi déterminé a été appliqué à 3 de nos échantillons provenant de 3 endroits différents. Ces 3 provenances en question ont été choisies selon le déterminisme en lien avec l'aspect pédoclimatique et environnemental prévalant dans la région choisie. Ainsi, le choix s'est donc porté sur une oliveraie irriguée de *Tazmalt* située en pleine vallée de la Soummam mais confrontée à un climat assez rigoureux tant sur le plan température que stress hydrique. Les 2 autres provenances choisies sont montagneuses, d'abord *Akkache* assez proche d'une rivière et d'un site dédié à l'élevage de volailles très fourni donc en matière organique. Ensuite *Timri* considéré comme un site assez isolé, situé sur un plateau, non entretenu et fortement exposé à l'incidence du soleil.

Le screening phytochimique effectué sur les 3 provenances a tout de suite mis en exergue une variabilité notamment pour ce qui est en relation avec les métabolites secondaires. Le distinctif visuel est frappant entre le contenu d'abord en alcaloïdes puis en flavonoïdes les mieux représentés dans l'extrait provenant de *Tazmalt* comparativement aux 2 autres extraits élaborés depuis les feuilles de *Timri* et d'*Akkache*.

Ce screening a révélé également une diversité entre les 3 types d'extraits pour ce qui est du cas des triterpénoïdes. En effet, ces composés n'ont pas été détectés dans l'extrait de *Tazmalt*, mais sont assez présents dans les 2 autres provenances. En revanche, nous avons révélé la présence des stéroïdes et des saponines dans l'échantillon de *Tazmalt*. Le métabolisme lié aux triterpénoïdes est sans doute réorienté vers l'élaboration des stéroïdes, des phytostérols et des saponosides (Sagorin et al., 2021).

Au plan quantitatif, les composés phénoliques totaux sont assez bien représentés dans l'extrait de *Tazmalt*, un peu moins dans les extraits provenant de *Timri* puis d'*Akkache* en dernier lieu.

Il est évident que le profil phénolique extrait depuis les feuilles de l'olivier est variable en fonction d'abord de l'espèce elle-même. Ainsi, la nature de l'espèce, sauvage ou cultivée, l'origine géographique, la proportion des branches, le degré de maturité, l'âge, le contenu en humidité, les conditions climatiques et la nature des sols sont autant d'atouts qui déterminent le contenu phénolique des feuilles (**Goldsmith et al. 2014 ; Şahin and Bilgin, 2018**).

Cette variabilité est également susceptible aux méthodes usitées lors de l'extraction, comme la nature du solvant utilisé, la taille des particules, la température de l'extraction, le temps dédié à l'extraction, le pH et la pression appliquée (**Munekata et al., 2020**). Ceci est d'autant vrai qu'au cours de nos manipulations, nous n'avons maximisé l'obtention des polyphénols totaux qu'avec une température qui ne dépasse pas 76°C et un temps d'extraction qui va pas au-delà de 30 minutes.

Toutes ces considérations prises en compte, on sait que la quantité moyenne en composés phénoliques totaux extraits depuis les feuilles de l'olivier se situe entre 73,05 à 144,19 mg EAG/ g MS (**Özcan and Matthäus, 2017**). Avec notre extraction effectuée par décoction dans de l'H<sub>2</sub>O, nous ne situons dans une gamme très appréciable notamment pour l'extrait de *Tazmalt* (88,07 ± 0,88 mg EAG/g MS) et de *Timri* (74,46 ± 0,35 mg EAG/g MS), mais un peu moins pour l'extrait d'*Akkache* (66,56 ± 0,87 mg EAG/g MS).

Les flavonoïdes forment l'un des groupes le plus représentatif des polyphénols que l'on peut extraire à partir des feuilles de l'olivier. En dosant ces flavonoïdes dans leur totalité, depuis les extraits de feuilles obtenus des 3 provenances, on a trouvé des quantités variant de la moins importante trouvée dans l'extrait d'*Akkache* (3,82 ± 0,54 mg EQ/g MS) à la plus représentative trouvée dans l'extrait de *Timri* (6,64 ± 0,27 mg EQ/g MS) en passant par celle de *Tazmalt* (6,29 ± 0,37 mg EQ/g MS) de même ordre d'ailleurs que celle de *Timri*.

Dans la littérature dédiée aux flavonoïdes totaux extraits depuis les feuilles de l'olivier, on trouve que le total de ces composés varie non seulement en fonction des variétés considérées, mais aussi par rapport à la technique de l'extraction utilisée et également le solvant expérimenté. Ainsi, lorsqu'on utilise du méthanol à 80%, on peut doser entre 11,78 et 21,47 mg CE/g de flavonoïdes totaux. On en trouve entre 8,69 et 15,83 mg CE/g de flavonoïdes totaux lorsqu'on utilise de l'éthanol à 70%. Par contre, l'utilisation de l'acétone à 80% permet d'extraire entre 7,32 et 13,33 mg CE/g de flavonoïdes totaux. C'est l'extrait à base d'eau déminéralisée qui donne le moins de flavonoïdes totaux qu'on situe d'ailleurs entre 3,42 et 6,23 mg CE/g (**Özcan and Matthäus, 2017**).

Comme notre extraction s'est déroulée par décoction dans de l'eau distillée, c'est dans cette dernière gamme citée par **Özcan & Matthäus (2017)** que se situe nos dosages pour les trois échantillons expérimentés, avec une prépondérance des extraits provenant de *Timri* et de *Tazmalt* sur l'extrait obtenu de la provenance d'*Akkache*.

Les tanins condensés dosés dans nos extraits sont assez importants. Nous trouvons dans l'ordre décroissant une quantité de  $2,74 \pm 0,06$  mg EC/g MS trouvée dans l'extrait provenant de *Timri* ; de  $2,54 \pm 0,04$  mg EC/g MS trouvée dans l'extrait provenant d'*Akkache* et de  $2,38 \pm 0,10$  mg EC/g MS trouvée dans l'extrait provenant de *Tazmalt*.

Ce n'est pas du tout de même ordre que ce que rapporte **Ben Mansour-Gueddes et al. (2020)**, qui ont extraits ces composés par macération à partir des feuilles de l'olivier récupérées de trois zones différentes de la Tunisie. Ces auteurs rapportent des moyennes en tanins condensés de 0,84 et 0,74 mg EQ/g MS respectivement pour les provenances du sud et du centre. Les feuilles provenant des oliveraies cultivées au nord se distinguent par une teneur en tanins condensés plus faible, de l'ordre de 0,24 mg EQ/ g MS.

**Ben Mansour-Gueddes et al. (2020)** expliquent de tels différences par une augmentation des tanins condensés influencés par la rigueur du climat, les courants d'air et les températures élevées. Cependant, sous des climats plus favorables, dans la zone Nord par exemple, les concentrations en tanins dans les tissus foliaires formées sont plus faibles. Ces constatations sont conformes à ceux trouvés par **Top et al. (2017)**, qui constatent qu'un stress climatique induit chez *Quercus ruba* une production plus importante des tanins. Ces composés jouent un rôle protecteur contre les stress environnementaux (**Agarwal and Zhu, 2007 ; Top et al. 2017**).

Les feuilles de l'olivier comptent des composés antioxydants capables de piéger les radicaux libres qu'on peut estimer par différentes méthodes. De tels effets sont avérés avec même un effet retardant sur les réactions oxydatives (**Şahin et al., 2018**). Cependant, pour espérer obtenir de tels effets, il faut maîtriser la technique depuis le séchage au protocole de l'extraction proprement dit qui doit tenir compte du temps consacré à l'extraction, la nature du solvant utilisé ainsi que la proportion solvant/solide qui diffère d'ailleurs d'une variété à une autre (**De Bruno et al., 2018 ; Goldsmith et al., 2018**).

A cet effet, le résultat de l'activité radicalaire de l'extrait de feuilles de l'olivier obtenu est assez important mais diffère néanmoins entre la provenance de *Tazmalt* et celle de *Timri* et *Akkache*. En effet, la capacité antioxydante équivalent Trolox de l'échantillon de *Tazmalt* est de  $72,62 \pm 0,57$  mg ET/g MS. Celle de *Timri* n'est que légèrement inférieure ( $69,27 \pm 1,92$  mg ET/g MS) autant que celle trouvée pour *Akkache* ( $67,52 \pm 1,87$  mg ET/g MS).

Même si cette capacité est de loin moindre que celle trouvée par **Zhang et al. (2022)**, qui rapportent un résultat de 446,16 mg ET/g MS. Elle est simplement expliquée par la nature du solvant d'extraction utilisé, qui est de l'éthanol à 70%, pendant que nous avons fait nos extractions à base d'eau distillée.

Nos résultats sont plutôt concordants avec ce qui a été rapporté par **Sánchez-Gutiérrez et al. (2021)**, qui trouvent un résultat de 58,6 mg ET/g MS. Ces auteurs relient d'ailleurs ce résultat à plusieurs facteurs comme la position géographique, les conditions de préparation des extraits et la période de la récolte des feuilles.

Pour ce qui est de la seconde méthode liée au pouvoir antioxydant réducteur ferrique, il révèle une capacité certaine de réduire le  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  exhibée par les 3 types d'échantillons mais bien évidemment à des degrés moindres, tout à fait différente de ce qui a été trouvé dans la capacité antioxydante équivalent Trolox.

A cet effet, le pouvoir réducteur via le test FRAP se révèle plus important dans l'échantillon de *Timri* ( $95,10 \pm 1,25$  mg ET/g MS), suivi par celui de *Tazmalt* ( $71,95 \pm 0,63$  mg ET/g MS) ensuite celui d'*Akkache* ( $38,87 \pm 2,22$  mg ET/g MS). Les différences sont ainsi ordonnées : *Timri* > *Tazmalt* > *Akkache*.

Lorsqu'on compare cet de fait lié au pouvoir réducteur à celui de la capacité antioxydante équivalent Trolox, nous avons noté dans ce dernier cas de figure une capacité ordonnée ainsi : *Tazmalt* ( $72,62 \pm 0,57$  mg ET/g MS)  $\geq$  *Timri* ( $69,27 \pm 1,92$  mg ET/g MS)  $\approx$  *Akkache* ( $67,52 \pm 1,87$  mg ET/g MS).

Etant donné que nous avons exprimés les deux types d'activités antioxydantes par la même unité de mesure, nous pouvons dès lors les combiner deux à deux. Cette combinaison a donné lieu aux résultats ainsi ordonnés : *Timri* ( $164,37$  mg ET/g MS) > *Tazmalt* ( $144,57$  mg ET/g MS) > *Akkache* ( $106,39$  mg ET/g MS).

Cette combinaison montre combien la capacité antioxydante détenue par les extraits de feuilles de l'olivier est importante. Elle l'est d'autant importante dans l'extrait de *Timri*, suivi de près par l'extrait de *Tazmalt* et de loin par celui d'*Akkache*.

# **CONCLUSION**

Dans le cadre de la mise en valeur d'une espèce faisant partie du paysage et du patrimoine Algérien, une étude phytochimique ainsi qu'une évaluation du potentiel antioxydant ont été menées sur l'olivier, une espèce emblématique et connue pour ses très nombreuses vertus thérapeutiques. L'objectif principal de notre étude est d'analyser les extraits de feuilles de trois provenances différentes. L'une provenant de la plaine de la soummam nécessitant une irrigation (échantillon de *Tazmalt*), deux autres provenant des massifs montagneux opposés en terme de versants de la région de Bejaia (*Timri* au nord-ouest et *Akkache* au nord-est de la région de Bejaia).

L'approche a été initiée en comparant entre les trois provenances, leurs contenus en quelques composés liés notamment au métabolisme secondaire (composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux et tanins) et d'analyser leur potentiel antioxydant via au moins deux activités (techniques liées à l'ABTS et au pouvoir réducteur antioxydant ferrique).

Préalablement, les extraits de feuilles analysés ont été obtenus après une opération de décoction dans de l'eau distillée. Cette opération de décoction a nécessité une optimisation en contrôlant le ratio, la température et le temps nécessaire à une extraction optimum pour les composés phénoliques totaux, combinée à une activité antioxydante équivalent Trolox.

Un screening phytochimique d'appréciation a été mené comme préalable à nos investigations. Il révèle des différences notables en terme de présence en abondance ou non de quelques métabolites secondaires entre les trois provenances étudiées. Les tests quantitatifs menés par la suite convergent vers une diversité des résultats qui catégorisent l'échantillon de *Tazmalt* à part vis-à-vis des deux autres provenances, en l'occurrence *Timri* et *Akkache*. Dans ce sens, la rudesse du climat, la nature du terrain, l'exposition aux stress d'ordre biotiques ou abiotiques sont autant de facteurs qui influencent le métabolisme de l'olivier dans sa zone de croissance.

Au-delà de cette diversité somme toute logique puisque dépendante du milieu. Ce sont les proportions en métabolites secondaires trouvées dans les trois provenances qui augurent de la performance de l'espèce considérée, rehaussé d'ailleurs par des activités antioxydantes fort intéressantes. Il va de soi que ces résultats ont été obtenus par simple décoction des feuilles dans de l'eau distillée.

La technicité utilisée qui ne nécessite pas de surcoûts exorbitants, les feuilles usitées que l'on récupère facilement et en abondance après chaque campagne oléicole associés aux performances de l'olivier sont autant d'atouts qui nous incitent à chercher les moyens les plus appropriés pour bénéficier au mieux des performances de cette espèce par rapport au domaine de la santé au travers de la valorisation de ses feuilles.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abaza L., Taamalli A., Nsir H., Zarrouk M. **2015**. Olive tree (*Olea europaea* L.) leaves: importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants* 4, 682–698. DOI: [10.3390/antiox4040682](https://doi.org/10.3390/antiox4040682)
- Acar-Tek N., Ağagündüz D. **2020**. Olive leaf (*Olea europaea* L. folium): potential effects on glycemia and lipidemia. *Annals of Nutrition and Metabolism* 76(1), 10–15. DOI: [10.1159/000505508](https://doi.org/10.1159/000505508)
- Addab N., Fetni S., Hamlaoui F., Zerguine A., Mahloul K. **2020**. Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'*Olea europaea* L. de l'Est Algérien. *Journal de la Faculté de Médecine d'Oran*, 4(2). DOI: [10.51782/jfmo.v4i2.106](https://doi.org/10.51782/jfmo.v4i2.106)
- Agarwal M., Zhu J.-K. **2007**. Integration of abiotic stress signaling pathways. In book: *Plant abiotic stress* (Eds.). Blackwell Publishing. Oxford. DOI: [10.1002/9780470988503.ch8](https://doi.org/10.1002/9780470988503.ch8)
- Ahmad W., Khan H., Afridi M.S., Kanwal F., Akhtar M.T., Shah S.A., Islam Z.U., Bhutta N.K., Khan H., Zulqurnain, Ullah Z., Ayaz U. **2020**. Oleuropein determination, sequential phytochemicals analysis, antimicrobial and antioxidant activities of leaf extracts of two varieties *Olea europaea*. *International Journal of Botany Studies* 5(3), 431–439. ISSN: [2455-541X](https://doi.org/10.2455-541X)
- Al-Snafi A.E. **2023**. The nutritional and therapeutic importance of *Olea europaea*-a review. *TMR Integrative Medicine* 7:e23030. DOI: [10.53388/TMRIM202307030](https://doi.org/10.53388/TMRIM202307030)
- Amabeoku G.J., Bamuamba K. **2010**. Evaluation of the effects of *Olea europaea* L. subsp. *africana* (Mill.) P.S. Green (Oleaceae) leaf methanol extract against castor oil-induced diarrhoea in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 62(3), 368–373. DOI: [10.1211/jpp.62.03.0012](https://doi.org/10.1211/jpp.62.03.0012)
- Aouidi F. **2012**. Etude et valorisation des feuilles d'olivier *Olea europaea* dans l'industrie agro-alimentaire. Thèse de Doctorat en Génie Biologique. Université de Carthage, INSAT, Tunisie. 213pp. DOI: [10.13140/RG.2.2.33251.32809](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.33251.32809)
- Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K. **2013**. Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science* 09(3): 159-166. ISSN [1813-548X](https://doi.org/10.1813/548X), <http://www.afriquescience.info>
- Arceusz A., Wesolowski M., Konieczynski P. **2013**. Methods for extraction and determination of phenolic acids in medicinal plants: a review. *Natural Product Communications* 8(12):1821-1829. PMID: [24555304](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24555304/)

- Bachir Bey M., Meziant L., Benchikh Y., Louaileche H. **2014**. Deployment of response surface methodology to optimize recovery of dark fresh fig (*Ficus carica* L., var. Azenjar) total phenolic compounds and antioxidant activity. *Food chemistry* 162, 277–282. DOI: [10.1016/j.foodchem.2014.04.054](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.054)
- Bassène E. **2012**. Initiation à la recherche sur les substances naturelles : extraction-analyse-essais biologiques. Presse Universitaires de Dakar, 17, 94–96. 150pp. ISBN [9782913184749](https://www.isbn-international.org/product/9782913184749)
- Ben Mansour-Gueddes S., Saidana-Naija D., Bchir A., Braham M. **2020**. Climate change effects on phytochemical compounds and antioxidant activity of *Olea europaea* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 48(1), 436–455. DOI: [10.15835/nbha48111615](https://doi.org/10.15835/nbha48111615)
- Boizot N., Charpentier J.-P. **2006**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. *Le Cahier des Techniques de l'INRA. Numéro special.* 79-82. <https://researchgate.net/publication/341819016>
- Bosak A., Ramić A., Šmidlehner T., Hrenar T., Primožič I., Kovarik Z. **2018**. Design and evaluation of selective butyrylcholinesterase inhibitors based on *Cinchona* alkaloid scaffold. *PLOS ONE* 13(10), e0205193. DOI: [10.1371/journal.pone.0205193](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205193)
- Bourgau F., Hehn A., Larbat R., Doerper S., Gontier E., Kellner S., Matern U. **2006**. Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews* 5, 293–308. DOI: [10.1007/s11101-006-9040-2](https://doi.org/10.1007/s11101-006-9040-2)
- Breton C.M., Médail F., Pinatel C., Bervillé A.J. **2006**. De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures* 15(4) : 329-336.
- Caujole P. **2024**. La médecine et les médecins dans l'œuvre de H. De Balzac. Editeur : Forgotten Books (26 janvier 2024). 83 pp. ISBN-13 : [978-0266158905](https://www.forgottenbooks.com/978-0266158905).
- Chigurupati S., Alharbi F.S., Almahmoud S., Aldubayan M., Almoshari Y., Vijayabalan S., Bhatia S., Chinnam 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. DOI: [10.1016/j.arabjc.2021.103422](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103422)

- Christ B., Mueller K.H. **1960**. On the serial determination of the content of flavonol derivatives in drugs. *Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.* 293(65), 1033-1042. DOI: [10.1002/ardp.19602931202](https://doi.org/10.1002/ardp.19602931202)
- Cronquist A. **1981**. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York, 1262pp. ISBN: [9780231038805](https://www.isbn-international.org/product/9780231038805)
- De Bruno A., Romeo R., Fedele F.L., Sicari A., Piscopo A., Poiana M. **2018**. Antioxidant activity shown by olive pomace extracts. *J Environ Sci Health B.* 53(8). 526-533. DOI: [10.1080/03601234.2018.1462928](https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1462928)
- de Casas R.R., Besnard G., Schönswetter P., Balaguer L., Vargas P. **2006**. Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea* L. *Theoretical and Applied Genetics* 113(4). 575-583. DOI: [10.1007/s00122-006-0306-2](https://doi.org/10.1007/s00122-006-0306-2)
- El Adnany E.M., Elhadiri N., Mourjane A., Ouhammou M., Hidar N., Jaouad A., Bitar K., Mahrouz M. **2023**. Impact and optimization of the conditions of extraction of phenolic compounds and antioxidant activity of olive leaves (*Moroccan picholine*) using responses surface methodology. *Separations* 10, 326. DOI: [10.3390/separations10060326](https://doi.org/10.3390/separations10060326)
- Goldsmith C.D., Vuong Q.V., Stathopoulos C.E., Roach P.D., Scarlett C.J. **2014**. Optimization of the aqueous extraction of phenolic compounds from olive leaves. *Antioxidant (Basel)* 3(4):700–712. DOI:[10.3390/antiox3040700](https://doi.org/10.3390/antiox3040700) .
- Goldsmith C.D., Vuong Q.V., Stathopoulos C.E., Roach P.D., Scarlett C.J. **2018**. Ultrasound increases the aqueous extraction of phenolic compounds with high antioxidant activity from olive pomace. *LWT - Food Science and Technology* 89: 284–290. DOI: [10.1016/j.lwt.2017.10.065](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.065) .
- 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) 541591. DOI: [10.1155/2015/541591](https://doi.org/10.1155/2015/541591)
- Himour S., Yahia A., Belattar H., Bellebcir L. **2016**. Etude phytochimique de feuilles d'*Olea europaea* L. var *Chemlel* d'Algérie. *Journal of Bioresources Valorization* 1(1):34-38. ISSN [2490-4392](https://www.issn-international.org/product/2490-4392)
- Julkunen-Titto R. **1985**. Phenolics constituents in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 33, 213–217. DOI: [10.1021/jf00062a013](https://doi.org/10.1021/jf00062a013)

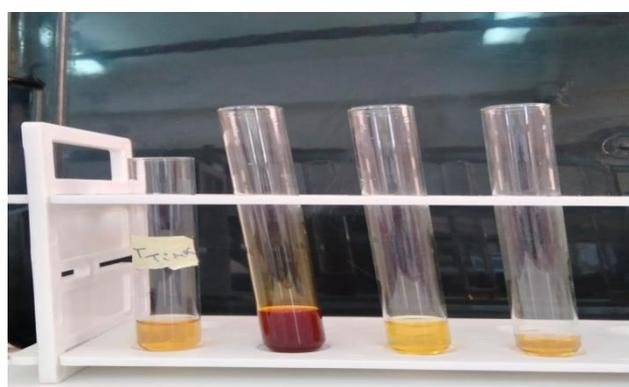
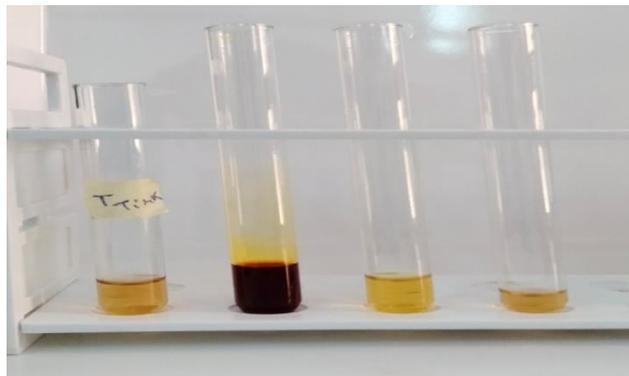
- Khoddami A., Wilkes M.A., Roberts T.H., **2013**. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules* 18(2):2328–2375. DOI: [10.3390/molecules18022328](https://doi.org/10.3390/molecules18022328)
- Lakache Z., Tigrine C., Aliboudhar H., Kameli A. **2019**. Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea*. *Phytothérapie* 19, 83–92. DOI: [10.3166/phyto-2019-0195](https://doi.org/10.3166/phyto-2019-0195)
- Loulakakis K.A., Morot-Gaudry J.F., Velanis C.N., Skopelitis D.V., Moschou P.N., Hirel B., Roubelakis-Angelakis K.A. **2009**. Recent advancements on nitrogen metabolism in grapevine. In book: *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*. Roubelakis-Angelakis (ed). Springer Publ. Dodrecht, 161-205pp. eISBN 978-90-481-2305-6
- Marc F., Davin A., Deglene-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. **2004**. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Med Sci (Paris)* 20(4), 458-463. DOI: [10.1051/medsci/2004204458](https://doi.org/10.1051/medsci/2004204458)
- McMahon L.R., McAllister T.A., Berg B.P., Majak W., Acharya S.N., Popp J.D., Coulman B.E., Wang Y., Cheng K.-J. **2000**. A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science* 80(3), 469–485. DOI: [10.4141/P99-050](https://doi.org/10.4141/P99-050)
- Medina E., de Castro A., Romero C., Brenes M. **2006**. Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem* 54 (14):4954-4961. DOI: [10.1021/jf0602267](https://doi.org/10.1021/jf0602267)
- Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A. **1993**. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)*. 84(4), 407-412. DOI: [10.1042/cs0840407](https://doi.org/10.1042/cs0840407)
- Mir-Cerdà A., Granados M., Saurina J., Sentellas S. **2024**. Olive tree leaves as a great source of phenolic compounds: Comprehensive profiling of NaDES extracts. *Food Chemistry* 456 (2024) 140042. DOI: [10.1016/j.foodchem.2024.140042](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140042)
- Morel-Salmi C., Dartiguelongue C., Youhana T., Oger J.-M., Séraphin D., Duval O., Richomme P., Bruneton J., **1999**. New coumarins from *Mesua racemosa*: Isolation and synthesis. *heterocycles* 51(9), 2183-2191. DOI: [10.3987/COM-99-8601](https://doi.org/10.3987/COM-99-8601)
- Moutier N., Pinatel C., Martre A., Roger J.P. **2004**. Identification et caractérisation des variétés d'olivier cultivées en France Tome 1. Editeur: Naturalia. 248 pp. EAN: [9782909717432](https://www.ean.com/9782909717432)

- Munekata P.E.S., Domínguez R., Budaraju S., Roselló-Soto E., Barba F.J., Mallikarjunan K., Roohinejad S., 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. DOI: [10.3390/foods9030288](https://doi.org/10.3390/foods9030288).
- Muschiatti L.V., Sülsen V.P., Martino V.S. **2013**. Bioprospection of potential trypanocidal drugs: A scientific literature survey over the period 2000-2010. In: *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol 39, Elsevier B.V., pp. 297–336. DOI: [10.1016/B978-0-444-62615-8.00009-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62615-8.00009-6)
- Muzzalupo I., Micali S. **2015**. In: *Agricultural and food biotechnology of Olea europaea and stone fruits*. Muzzalupo I., Micali S., Editors. Sharjah, United Arab Emirates: Bentham Science Publishers. 393pp. DOI: [10.2174/97816080599351150101](https://doi.org/10.2174/97816080599351150101)
- Okuda T., Ito H. **2011**. Tannins of constant structure in medicinal and food plants-hydrolisable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules* 16(3), 2191–2217. DOI: [10.3390/molecules16032191](https://doi.org/10.3390/molecules16032191)
- Özcan M.M., Matthäus B. **2017**. A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Eur Food Res Tech* 243:89-99. DOI: [10.1007/s00217-016-2726-9](https://doi.org/10.1007/s00217-016-2726-9)
- Polèse J.M. **2009**. *Olivier. Jardiner, construire, bricoler. Pas à pas*. Editeur : Edisud. Collection : Pas A Pas. 96 pp. ISBN : 2744908150.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. **1999**. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26(9-10), 1231–1237. DOI: [10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Ribéreau-Gayon P. **1968**. *Les Composés phénoliques des végétaux*. Edition Dunod, Paris. 254pp.
- Sagorin G., Cazeils E., Basset J.-F., Reiter M. **2021**. From pine to perfume. *Chimia* 75(9), 780. DOI: [10.2533/chimia.2021.780](https://doi.org/10.2533/chimia.2021.780)
- Şahin S., Elhoussein 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, e13604. DOI: [10.1111/jfpp.13604](https://doi.org/10.1111/jfpp.13604)
- 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. DOI: [10.1002/jsfa.8619](https://doi.org/10.1002/jsfa.8619)

- 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. DOI: [10.3390/foods10050966](https://doi.org/10.3390/foods10050966)
- Sarni-Manchado P., Cheynier V. **2006**. Les polyphénols en agroalimentaire. Collection Sciences et Techniques agro-alimentaires. Editions Tec & Doc. 398pp. ISBN [9782743008055](https://doi.org/10.1007/9782743008055)
- Scheffler A., Rauwald H.W., Kampa B., Mann U., Mohr F.W., Dhein S. **2008**. *Olea europaea* leaf extract exerts L-type Ca<sup>2+</sup> channel antagonistic effects. *Journal of Ethnopharmacology* 120(2):233–240. DOI: [10.1016/j.jep.2008.08.018](https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.018)
- Singleton V.L., Rossi J.A. **1965**. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 144–158. DOI: [10.5344/ajev.1965.16.3.144](https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144)
- Sun B., Ricardo-da-Silva J.M., Spranger I. **1998**. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46(10), 4267–4274. DOI: [10.1021/jf980366j](https://doi.org/10.1021/jf980366j)
- Surana A.R., Kumbhare M.R., Wagh R.D. **2016**. Estimation of total phenolic and total flavonoid content and assessment of *in vitro* antioxidant activity of extracts of *Hamelia Patens* Jacq. Stems. *Research Journal of Phytochemistry*. 10, 67–74. DOI: [10.3923/rjphyto.2016.67.74](https://doi.org/10.3923/rjphyto.2016.67.74).
- Top S.M., Preston C.M., Dukes J.S., Tharayi N. **2017**. Climate influences the content and chemical composition of foliar tannins in green and senesced tissues of *Quercus rubra*. *Frontiers in Plant Science*. 8, 423. DOI: [10.3389/fpls.2017.00423](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00423)
- Tunca B., Tezcan G., Cecener G., Egeli U., Ak S., Malyer H., Tumen G., Bilir A. **2012**. *Olea europaea* leaf extract alters microRNA expression in human glioblastoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 138(11):1831–1844. DOI: [10.1007/s00432-012-1261-8](https://doi.org/10.1007/s00432-012-1261-8)
- Zeghib W., Boudjouan F., Bachir-bey M. **2022**. Optimization of phenolic compounds recovery and antioxidant activity evaluation from *Opuntia ficus indica* using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 16, 1354–1366. DOI: [10.1007/s11694-021-01241-w](https://doi.org/10.1007/s11694-021-01241-w).
- Zhang C., Xin X., Zhang J., Zhu S., Niu, E., Zhou Z., Liu D. **2022**. Comparative evaluation of the phytochemical profiles and antioxidant potentials of olive leaves from 32 cultivars grown in China. *Molecules*, 27(4), 1292. DOI: [10.3390/molecules27041292](https://doi.org/10.3390/molecules27041292)

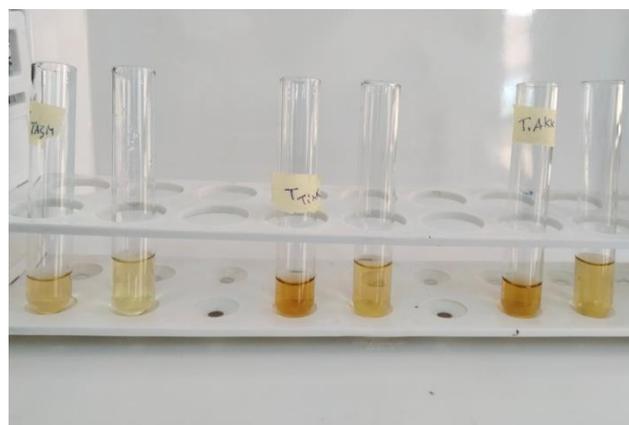
# ***ANNEXES***

**Annexe N° 01 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des alcaloïdes (tests de Dragendorff et de Mayer).



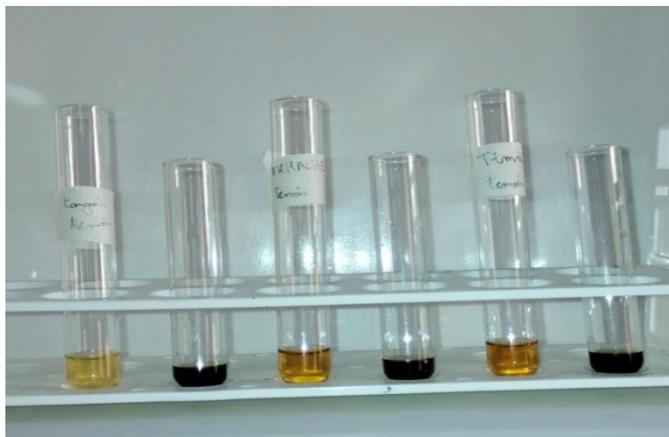
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 02 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des flavonoïdes (test au NaOH).



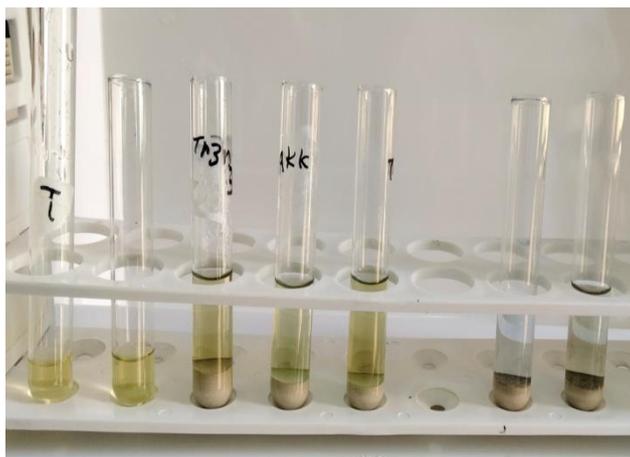
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 03 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des tanins (test au chlorure ferrique).



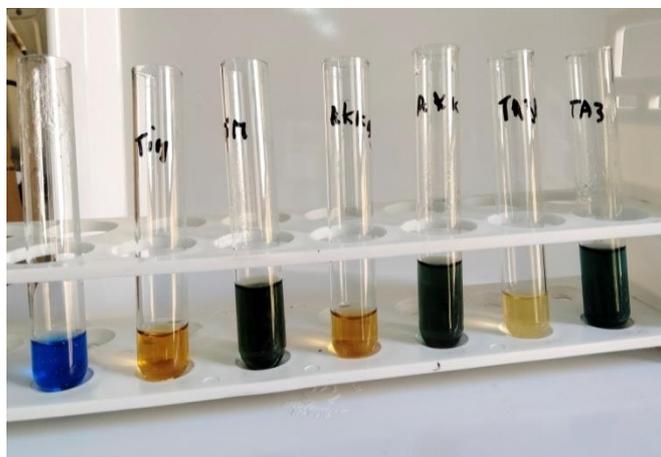
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 04 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des protéines (test de Biuret).



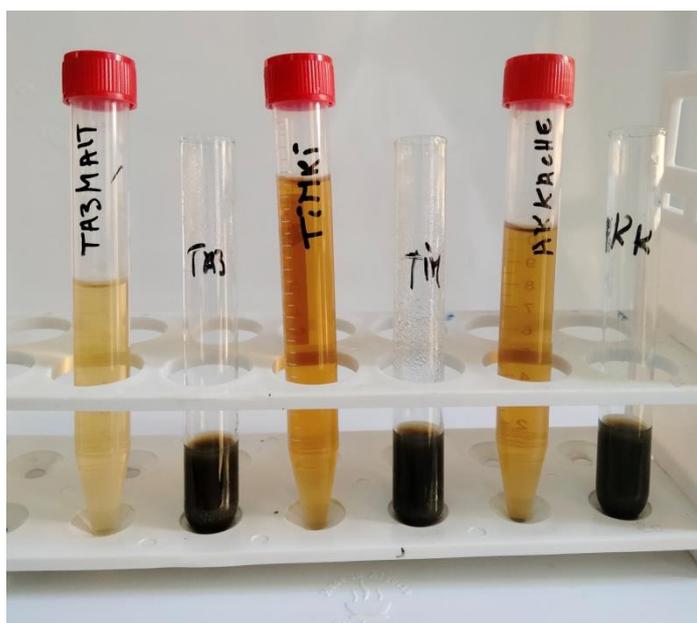
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 05 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des carbohydrates (tests de Benedict et de Fehling).



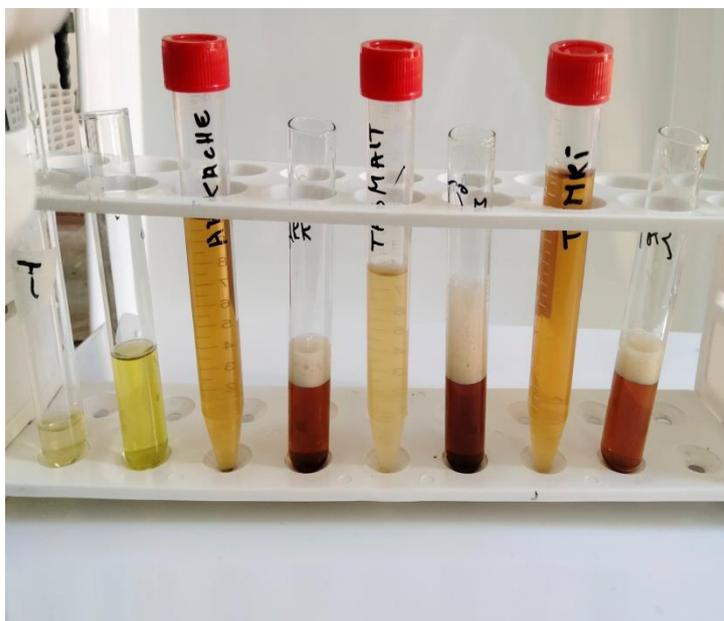
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 06 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des glycosides (test de Killiani).



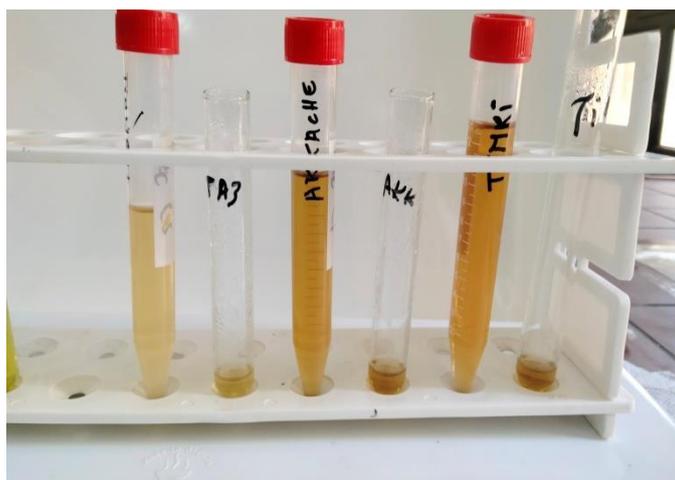
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 07 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des saponines (test au  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).



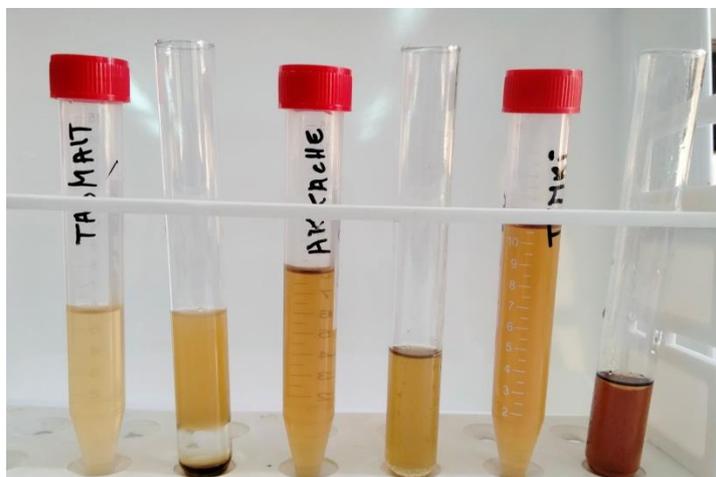
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 08 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des triterpénoïdes (test Horizon).



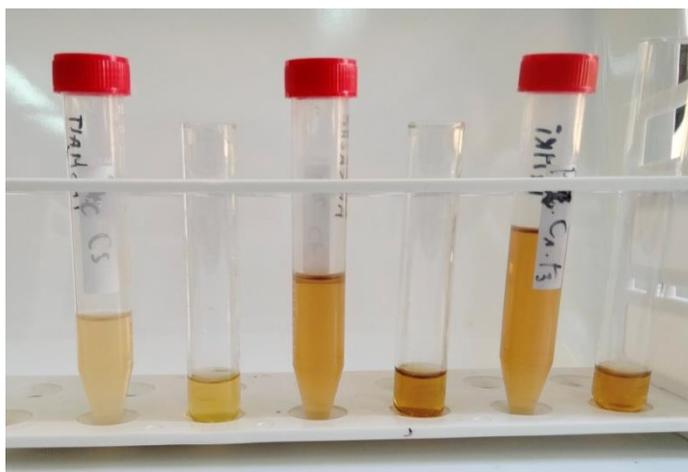
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 09 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence des stéroïdes (test de Salkowski).



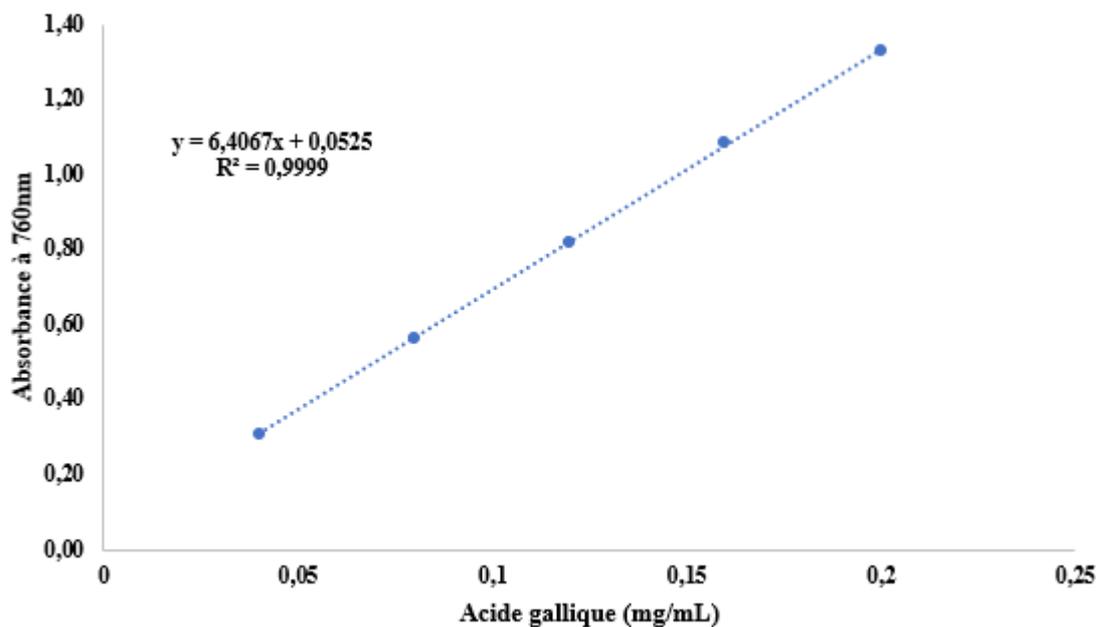
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 10 :** Test effectué sur les extraits de feuilles de l'olivier pour mettre en évidence la présence de l'amidon (test à l'iode).



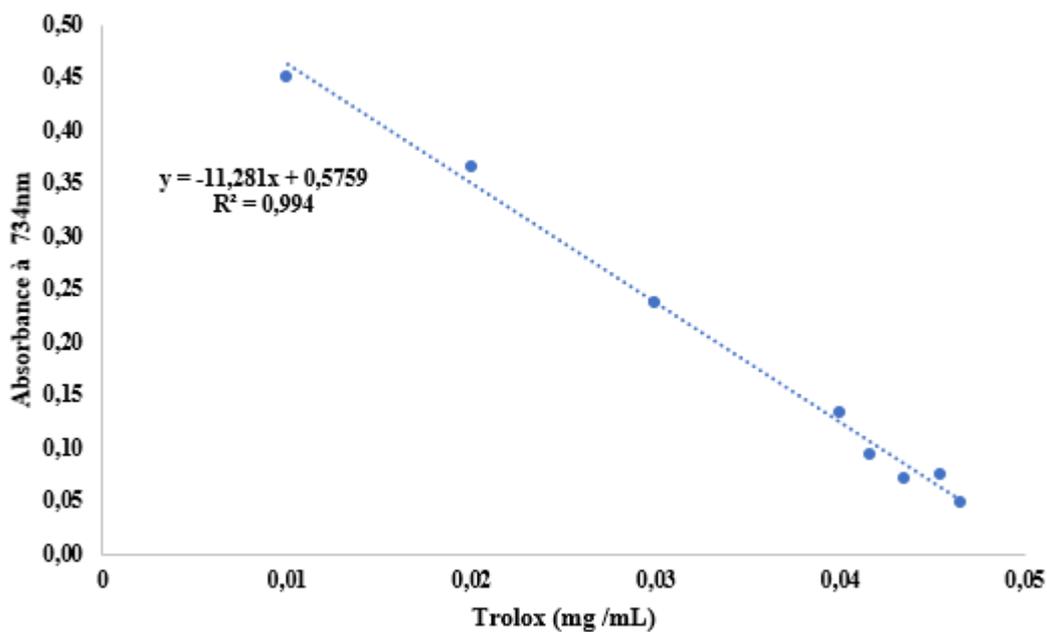
\*\*\*\*\*

**Annexe N° 11 :** Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en acide gallique ( $\lambda = 760 \text{ nm}$ ) qui servira au dosage des composés phénoliques totaux.

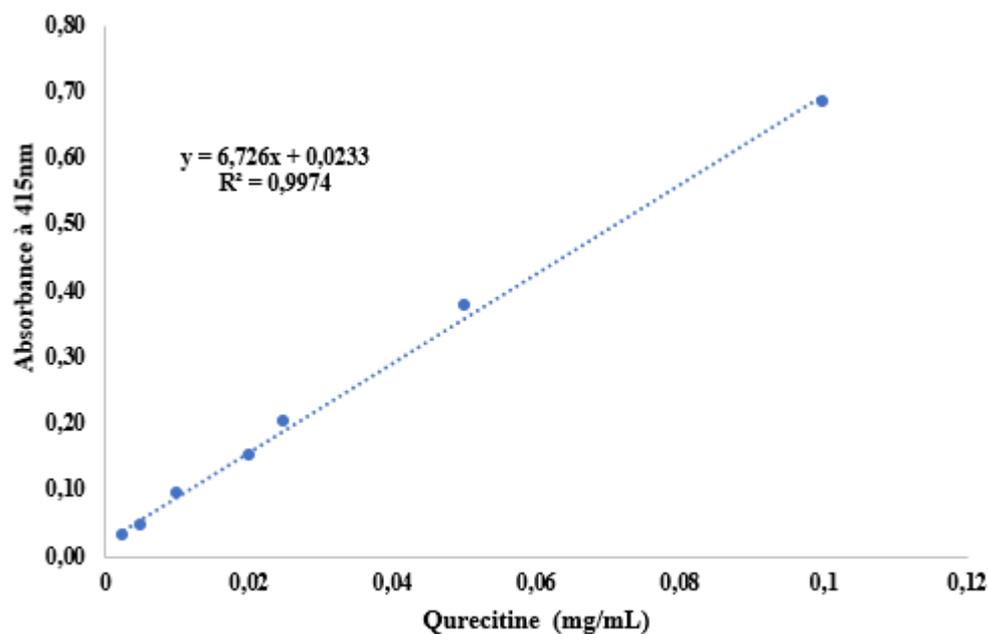


\*\*\*\*\*

**Annexe N° 12 :** Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en Trolox ( $\lambda = 734 \text{ nm}$ ) qui servira à quantifier la capacité antioxydante équivalent Trolox.

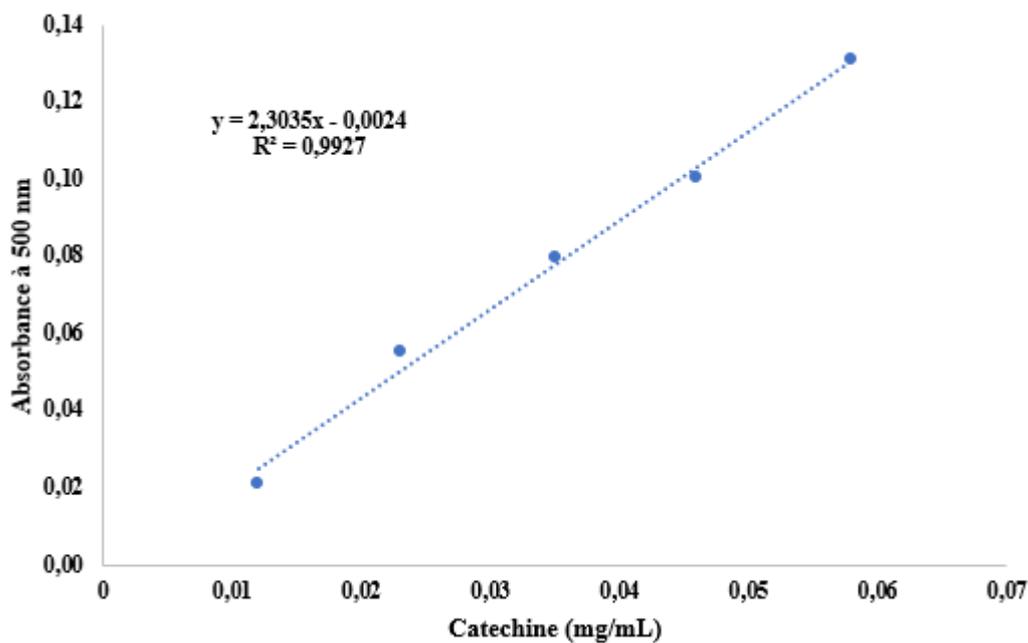


**Annexe N° 13 :** Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en quercétine ( $\lambda = 415 \text{ nm}$ ) qui servira au dosage des flavonoïdes totaux.

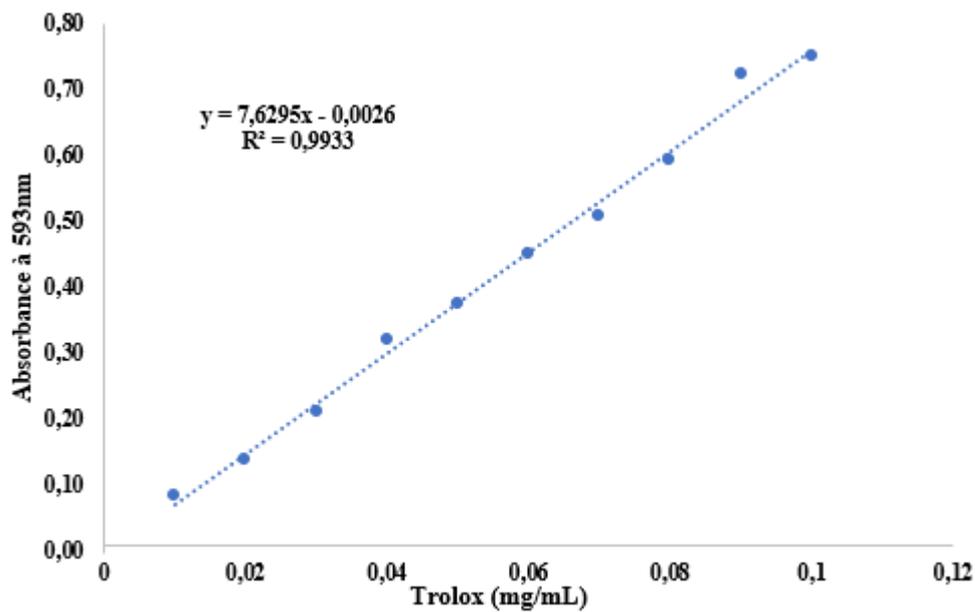


\*\*\*\*\*

**Annexe N° 14 :** Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en catéchine ( $\lambda = 500 \text{ nm}$ ) qui servira au dosage des tanins condensés.



**Annexe N° 15 :** Courbe étalon réalisée à l'aide de différentes concentrations en Trolox ( $\lambda = 593 \text{ nm}$ ) qui servira à quantifier le pouvoir réducteur antioxydant ferrique (test FRAP).



\*\*\*\*\*

## Résumé

Par décoction opérée sur les poudres de feuilles desséchées de l'olivier, des extraits ont été obtenus. Ils se caractérisent par une teneur élevée en composés phénoliques totaux et une activité antioxydante équivalente Trolox importante. Ceci est rendu possible grâce à la combinaison alliant entre le ratio de 1 g/100 mL d'H<sub>2</sub>O, une température de 76°C et un temps d'extraction de 24 minutes.

Cette combinaison optimisée avec l'échantillon provenant de la région de *Tazmalt* est étendue à 2 autres provenances montagneuses de la région de Bejaia. L'une est située au nord-ouest (*Timri*) et l'autre au nord-est (*Akkache*). Le screening phytochimique effectué révèle un contenu en flavonoïdes et en alcaloïdes plus abondants dans l'extrait de *Tazmalt* que dans les extraits des deux autres provenances. C'est l'inverse pour les triterpénoïdes, indétectables dans l'extrait provenant de *Tazmalt*.

Ces réponses liées aux conditions édapho-climatiques prévalant entre régions a été confirmée par les différents dosages effectués sur les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et les tanins. Au-delà des aspects liés aux réponses de l'espèce dans son milieu par rapport aux contraintes de l'environnement, ce sont surtout les contenus appréciables en métabolites secondaires emmagasinés par l'olivier. Ceci est d'autant vrai que la capacité antioxydante est élevée, par ordre d'importance d'abord dans l'extrait provenant de *Timri* puis dans l'extrait provenant de *Tazmalt* puis dans l'extrait provenant d'*Akkache*.

**Mots-clés :** *Olea europaea* L. ; polyphénols ; flavonoïdes ; tanins ; screening phytochimique ; pouvoir antioxydant.

## Abstract

Extracts were obtained by decoction of dried olive leaf powders. They are characterized by a high content of total phenolic compounds and significant Trolox-equivalent antioxidant activity. This was made possible by the combination of a ratio of 1 g/100 mL H<sub>2</sub>O, a temperature of 76°C and an extraction time of 24 minutes.

This optimized combination with the sample from the *Tazmalt* region was extended to 2 other mountainous provenances from the Bejaia region. One is located to the north-west (*Timri*) and the other to the north-east (*Akkache*). Phytochemical screening revealed a higher flavonoid and alkaloid content in the *Tazmalt* extract than in extracts from the other two origins. The opposite is true for triterpenoids, which are undetectable in the *Tazmalt* extract.

These responses, linked to the edapho-climatic conditions prevailing between regions, were confirmed by the various assays carried out on total polyphenols, total flavonoids and tannins. In addition to the aspects linked to the response of the species in its environment to environmental constraints, it is above all the appreciable content of secondary metabolites stored by the olive leaves. This is all the more true as the antioxidant capacity is high, in order of importance firstly in the extract from *Timri*, then in the extract from *Tazmalt* and finally in the extract from *Akkache*.

**Keywords:** *Olea europaea* L., polyphenols, flavonoids, tannins, phytochemical screening, antioxidant power.