

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'éducation Supérieure et de la recherche scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire de fin d'étude

En vue d'obtention du diplôme de master en Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Thème

**Analyse quantitative et évaluation de quelques activités
antioxydantes des extraits bruts des fruits de l'olivier de
Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*)
(Batt. et Trab)**

Présenté par OUATTARA Kassoum

Devant le jury :

Président : Mr HOUALI K.

Professeur UMMTO

Promotrice : Mme LAHCENE S.

Maitre de conférences UMMTO

Examinatrice : Mme AICHE-IRATNI G.

Maitre de conférences UMMTO

Année Universitaire

2020-2021

Remerciements :

AL Hamdoullilah,

Je remercie tout d'abord le Tout Puissant Allah qui, par sa grâce m'a permis d'arriver au bout de mes efforts en m'accordant la santé, le courage , et en me faisant entourer par des personnes merveilleuses dont je tiens à les remercier.

Je tiens à exprimer ma profonde et sincère gratitude à ma promotrice Mme LAHCENE S. pour son encadrement sans faille, sa rigueur au travail, ses multiples conseils, sa patience et sa disponibilité malgré ses multiples occupations. Je suis reconnaissant de la chance que j'ai eu de l'avoir comme promotrice.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde et sincère gratitude au Professeur HOUALI K. non seulement de considération qu'il a manifesté pour ce travail à me faisant l'honneur de présider le jury d'examen mais aussi d'avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires de telle sorte que j'arrive à bien mener ce travail dans les meilleurs des conditions.

Mes sincère remerciement vont également à Mme AICHE-IRATNI G. de m'avoir honoré en acceptant de prendre son précieux temps pour l'examiner ce travail.

Mes vifs remerciements vont également à l'ensemble des enseignants de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour leurs enseignements de qualité et particulièrement ceux qui m'ont apporté leurs aides durant la réalisation de ce projet comme : Mme RABHI K., Mme AMMARKHODJA N., Mme OUSMER L., Mr TITOUCHE Y. Je suis reconnaissant de leurs gentillesse et de leurs orientations.

Je tiens à remercier :

Mes parents, ma famille pour leurs aides et leurs encouragements durant tout mon parcours,

Mes amis(e)s, mes camarades et connaissances en particuliers Ben Belkacem S, Kenza, Soulef , Kahina et Amar , tous mes camarades de la section biologie, j'ai été honoré par leur accueil chaleureux parmi eux durant toutes ces années.

Tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'accomplissement de ce projet.

Dédicaces :

Je dédie cet événement marquant de ma vie à la mémoire de mon Cher Père qui, n'a jamais cessé de me soutenir même étant dans des situations difficiles, une personne qui a mis ma réussite au-dessus de toute chose, quoi que je puisse formuler ici ne pourra exprimer assez mon immense affection et ma profonde reconnaissance à sa propre personne.

Que Dieu, le très miséricordieux puisse l'accueillir dans son immense paradis amen .

Je dédie aussi ce modeste travail à ma précieuse Mère, je prie Dieu de pouvoir lui redonner le sourire dans ce bas monde.

Résumé :

L'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *Laperrinei*) est une sous-espèce endémique et du Sud Algérien doté d'une forte résistance aux sécheresses.

L'objectif de ce travail est de faire une analyse quantitative des composés phénoliques pour l'extrait brut de fruit d'olivier de Laperrine et d'évaluer ses propriétés antioxydantes.

Les résultats du dosage des extraits bruts indiquent une importante richesse de cette sous-espèce en polyphénols totaux ($38,79 \pm 1,27$ mg EAG/g RS), de $10,01 \pm 0,64$ mg EQ/g RS pour les Flavonoïdes totaux et de $51,79 \pm 0,20$ mg EAT/g RS pour les tanins totaux .

Evaluation des propriétés antioxydantes de ce composé phénolique est effectué par deux test CAT et FRAP.

Les résultats de ces tests montrent que les composés phénoliques dosés présentent une capacité antioxydante totale de $154,05 \pm 6,22$ mg EAA/g de RS et un pouvoir réducteur de $224,67 \pm 6,22$ EAA/g RS soit une $IC_{50} = 387,5\mu\text{g/ml}$.

Ce travail a permis de mettre en évidence l'intérêt des propriétés antioxydantes des polyphénols d'une part et la grande richesse de fruit d'olivier de Laperrine en polyphénols d'autre part.

Mots clés : olivier de Laperrine, extrait aqueux de fruits, polyphénols, analyse quantitative, propriétés antioxydantes.

Summary:

The Olive tree of Laperrine (*Olea europaea* subsp. *Laperrinei*) is an endemic and southern Algerian subspecies with a strong resistance to droughts.

The objective of this work is to make a quantitative analysis of phenolic compounds for the raw extract of Olive Fruit of Laperrine and to evaluate its antioxidant properties.

The results of the determination of crude extracts indicate a significant richness of this subspecies in total polyphenols (38.79 ± 1.27 mg EAG/g RS), 10.01 ± 0.64 mg EQ/g RS for total Flavonoids and 51.79 ± 0.20 mg EAT/g RS for total tannins.

Evaluation of the antioxidant properties of this phenolic compound is carried out by two tests CAT and FRAP.

The results of these tests show that the phenolic compounds dosed have a total antioxidant capacity of 154.05 ± 6.22 mg EAA/g of RS and a reducing power of 224.67 ± 6.22 EAA/ g RS or an $IC_{50} = 387.5\mu\text{g/ml}$.

This work has made it possible to highlight the interest of the antioxidant properties of polyphenols on the one hand and the great richness of Laperrine olive fruit in polyphenols on the other hand.

Keywords: : Lapperine olive tree, aqueous fruit extract, polyphenols, quantitative analysis, antioxidant properties.

ملخص:

شجرة الزيتون من Lapperine (أوليا يوروبايا سوب. لابريني) هي نوع فرعي متوطن وجنوبي جزائري مع مقاومة قوية للجفاف.

والهدف من هذا العمل هو إجراء تحليل كمي للمركبات الفينولية لاستخراج الخام من فاكهة الزيتون من Lapperine وتقييم خصائصه المضادة للأكسدة.

وتشير نتائج تحديد المستخلصات الخام إلى غنى كبير لهذه الأنواع الفرعية في إجمالي البوليفينول (1.27 ± 38.79 ملغ EAG/g RS) • 10.01 ± 0.64 ملغ مكافئ/غ RS لإجمالي الفلافونويدات و 0.20 ± 51.79 ملغ EAT /g RS إجمالي العفص.

يتم تقييم الخصائص المضادة للأكسدة لهذا المركب الفينولية من قبل اثنين من اختبارات CAT وFRAP.

نتائج هذه الاختبارات تبين أن المركبات الفينولية الكمية لديها القدرة المضادة للأكسدة مجموع 6.22 ± 154.05 ملغ EAA / غرام من RS وقوة تخفيض 6.22 ± 224.67 EAA / ز RS أو $387.5 \mu\text{g} = \text{IC}_{50}$ /مل.

وقد جعل هذا العمل من الممكن تسليط الضوء على اهتمام الخصائص المضادة للأكسدة من البوليفينول من ناحية والثراء الكبير من فاكهة الزيتون Lapperine في البوليفينول من ناحية أخرى.

الكلمات الرئيسية: شجرة الزيتون Lapperine، مستخلص الفاكهة المائية، البوليفينول، التحليل الكمي، خصائص مضادة للأكسدة.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse Bibliographiques.....	4
1 Générales sur l'Olivier de Laperrine :	4
1.1 Systématique et répartition :	5
1.2 Caractères botaniques :	6
1.2.1 Appareil Végétatif :.....	6
1.2.2 Appareil reproducteur :.....	7
2 Généralité sur les métabolites secondaires des plantes :	8
2.1 Les composés phénoliques :.....	8
2.1.1 Les acides phénoliques :	9
2.1.2 Les Flavonoïdes :	9
2.1.3 Les tannins :	10
2.2 Activités biologiques des composés phénoliques :.....	11
2.2.1 Généralités sur les radicaux libres :	12
2.2.1.1 La production des formes réactives de l'oxygènes :.....	13
2.2.1.2 Le stress oxydant:	14
2.2.1.3 Les systèmes antioxydants :	15
2.2.1.3.1 Antioxydants enzymatiques :.....	15
2.2.1.3.2 Antioxydants non enzymatiques :.....	16
2.2.2 Activités Thérapeutiques des composés phénoliques :.....	17
Chapitre II : Les matériels et les méthodes :	20
2.3 Matériel :.....	20
2.3.1 Matériel végétal :	20

2.4	Méthodes :.....	20
2.4.1	Procédure d'extraction :.....	20
2.4.2	Analyse quantitative :	21
2.4.2.1	Détermination de la teneur en phénols totaux :.....	21
2.4.2.2	Détermination de la teneur en Flavonoïdes totaux :.....	21
2.4.2.3	Détermination de la teneur en Tanins totaux :.....	21
2.4.3	Activités antioxydantes :.....	22
2.4.3.1	Capacité antioxydante totale ou test du phosphomolybdate :.....	22
2.4.3.2	Détermination du pouvoir réducteur :	22
Chapitre III : Résultats et discussions		24
3	Analyse quantitative et évaluation de quelques activité antioxydante	24
3.1	Analyse quantitative :	24
3.1.1	Rendement des extraits bruts :	24
3.2	Dosages des extraits bruts de fruit d'olivier	25
3.2.1	La teneur en Polyphénols totaux :.....	25
3.2.2	La teneur en Flavonoïdes totaux :.....	27
3.2.3	La teneur en Tannins totaux :.....	29
4	Évaluation de L'Activité antioxydante de l'extrait de fruit :.....	30
4.1	La capacité antioxydante totale CAT :.....	30
4.2	Pouvoir réducteur sur le ferrocyanure de potassium (FRAP) :.....	32
5	Conclusion :.....	37
6	Les références bibliographiques :.....	39

Liste des figures

Figure 1: Distribution naturelle du complexe d' <i>Olea europaea</i> dans le monde (Rubio de casas et <i>al.</i> 2006)	4
Figure 2: Olivier de Laperrine (Baali-Cherif, 2007).....	5
Figure 3 : Répartition d' <i>Olea europaea</i> .subps. <i>Laperrinei</i> dans la région saharienne-sahélienne (les zones grises) (Anthelme et <i>al.</i> 2008).....	6
Figure 4: A : Inflorescence individuel de type grappe et B : inflorescence portée par un jeune rameau d'olivier de Laperrine (Baali-cherif,2007).	7
Figure 5: Représentation de fruit d'olivier de Laperrine : A : fruit non mur (Baali-Cherif,2007) et B: fruit mur.	8
Figure 6: Structure chimique des acides phénoliques naturels dont les R représentent les différents composés pouvant être liés (Stalikas,2007).	9
Figure 7: Structure chimique de base des flavonoïdes (Stalikas,2007).	10
Figure 8: Structure chimique des différents groupes des Flavonoïdes (Stalikas,2007).	10
Figure 9: Structure de base des tanins (Bennick,2002).....	11
Figure 10 : Les conséquences cellulaires (positive et négative) des espèces réactives d'oxygènes, une question d'équilibre (Carriere et <i>al.</i> 2016), Modifié	15
Figure 11: Génération d'effets d'oxygène réactifs et mécanique de défense (antioxydant) contre les dommages induits par l'oxygène actif (Matés et <i>al.</i> 1999).	17
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	25
Figure 13: Courbe d'étalonnage de la quercétine	27
Figure 14: Courbe d'étalonnage à l'acide Tannique.	29
Figure 15: Évolution de l'absorbance avec la concentration d'extrait de fruit.	31
Figure 16: Evolution de l'absorbance en fonction de la concentration d'extrait de fruit et de l'acide ascorbique.....	32

Liste des tableaux :

Tableau 1: Les formes des espèces réactives de l'oxygène (Halliwell,1996)	12
Tableau 2: Rendement d'extraction.(moyenne \pm écartype).	24
Tableau 3: Teneurs en flavonoïde dans le fruit durant la maturité (Brahmi et <i>al.</i> 2013).....	28
Tableau 4: les valeurs des pouvoir réducteurs obtenues par le test de FRAP avec les fruits d'olive de quelques cultivars d' <i>Olea europaea</i> L.(Hajimahmoodi et <i>al.</i> 2008).	33

Liste des Abréviations

ERO	Espèces réactives de l'oxygène
ER	Espèces radicalaire
ENR :	Espèces non radicalaire
Fts :	Fruits
PPT :	Polyphénols totaux
FT :	Flavonoïdes totaux
TT :	Tanins totaux
EAG	Equivalent acide gallique
EQ :	Equivalent de quercétine
EAT :	Equivalent acide tanique
RS :	Résidu sec
CAT	Capacité antioxydante totale
FRAP	Pouvoir réducteur

Introduction Générale

1 **Introduction**

2 Depuis fort longtemps des nombreuses recherches ont prouvé les multiples bienfaits
3 sur la santé liés à la consommation des aliments naturels tels que les fruits, les céréales et des
4 légumes à travers leur composition en des multiples micronutriments non synthétisé des fois
5 par l'homme comme certains vitamine essentiels, des molécules à pouvoir antioxydant dont
6 leurs bienfaits au bon fonctionnement de l'organisme ainsi que leur caractère protecteur de
7 l'organisme face à des multiples maladies est approuvé par des multiples scientifiques dans le
8 domaine de la santé.

9 Parmi l'ensemble de ces aliments naturels ceux renfermant une plus grande activité
10 antioxydante correspond des aliments riches à des composés appelés les polyphénols et de façon
11 bénéfiques ils sont majoritaires dans notre alimentation car ils sont synthétisés par la grande
12 partie des végétaux.

13 Durant ces dernières années, ces molécules qui sont considérées comme des métabolites
14 secondaires des plantes ont attiré l'attention des multiples chercheurs en raison de leurs
15 bienfaits sur la santé et leurs utilisations possible dans des domaines variés.

16 Dans la vie quotidienne on fait face à des multiples stress de nature différent surtout à
17 cette période de pandémie liées au coronavirus a été aussi un facteur induisant de fort stress et
18 ces stress sont d'une part à l'origine de la production accrue de certains dérivés métaboliques
19 sous le nom des espèces réactives de l'oxygène ainsi d'autres facteurs environnementaux
20 favorisent la production de ces molécules comme les fumées des usines, des pesticides, des
21 mauvaises habitudes et des rayonnements solaires intense etc...

22 Lorsque la production de ces molécules atteint un niveau dépassé on le caractérise par
23 un état de stress oxydatif, chez l'individu cet état de stress est à l'origine ou contribue à la
24 pathogénèse de plusieurs maladies comme le cancer, le diabète sucré , des maladies
25 neurodégénératives et cardiovasculaire etc...

1 Pour pallier ce phénomène l'utilisation des antioxydants est primordial les composés
2 phénoliques seraient des molécules à effet satisfaisant sur ces espèces réactives non seulement
3 de limités la propagation de la gravité mais aussi de réduire le risque de manifester des
4 disfonctionnements cellulaires liés au stress oxydant.

5 Pour apporter notre contribution nous avons entrepris une étude quantitative et d'évaluer
6 les propriétés antioxydantes que puissent avoir le fruit d'un arbre du sud algérien : Olivier de
7 Laperrine, c'est une sous-espèce emblématique du Sahara.

8 Nous avons choisi cette sous-espèce en fonction de la caractéristique de son milieu
9 naturel et de sa résistance et enfin d'attirer l'attention sur cette espèce qui est en voie de
10 régression.

11 Durant ce travail nous allons effectuer les opérations suivantes :

- 12 • Préparation des extraits aqueux des fruits d'Olea europaea subsp. Laperrinei
- 13 • Dosages des: Polyphénols totaux ; tannins totaux et flavonoïdes totaux.
- 14 • Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de fruits d'Olea europaea
15 Subsp.Laperrine par le test de FRAP et CAT

16 Ce travail est structuré en 3 chapitres :

- 17 🚩 Le chapitre I est une synthèse bibliographique qui donne des généralités sur l'Olivier de
18 Laperrine et une synthèse sur les métabolites secondaires et leurs activités biologiques.
- 19 🚩 Le chapitre II est une partie expérimentale qui consiste à présenter les matériels et
20 méthodes utilisés dans la réalisation de ce travail et par la fin, les résultats et leurs
21 discussions sont présentés dans le chapitre III,
- 22 🚩 Clôturer par une conclusion générale.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

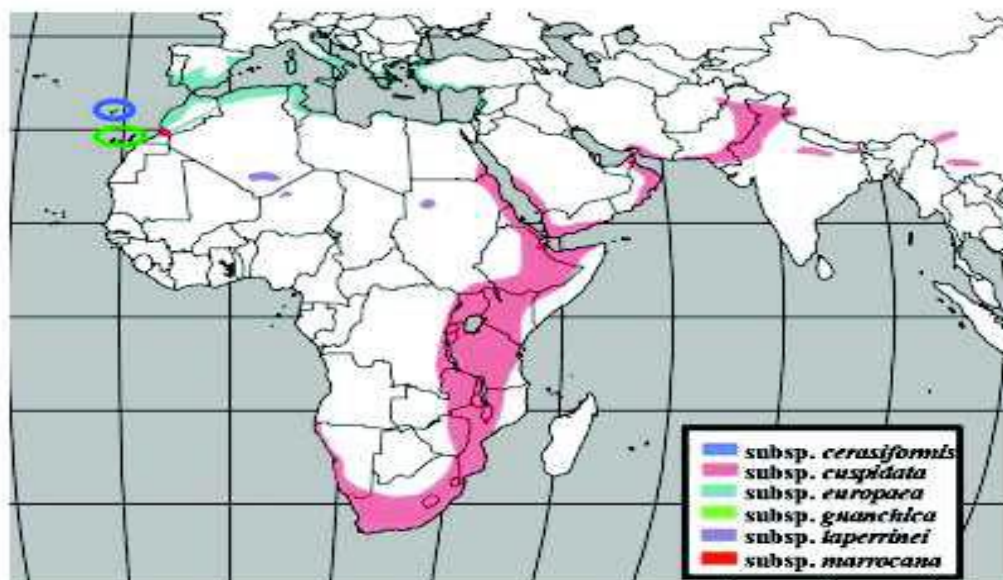
1 Chapitre I : Synthèse Bibliographiques

2 1 Générales sur l'Olivier de Laperrine :

3 L'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*) est une sous-espèce de la famille
4 des *Oleaceae*, considéré comme un taxon endémique des montagnes du Sahara Central (Baali-
5 Cherif et al. 2007).

6 Selon Green (2002) l'olivier de Laperrine appartient au complexe de l'olivier dans lequel
7 nous comptons six sous-espèces (Fig. 1) présent depuis l'Afrique du sud jusqu'en chine, en
8 Méditerranéen, en Macaronésie et enfin dans les montagnes Sahariennes (Besnard,2009).

9 L'olivier de Laperrine représente l'une de ces six sous-espèces du complexe *Olea europaea*
10 localisé principalement dans la région montagneuse du Sahara centrale.



23 **Figure 1:** Distribution naturelle du complexe d'*Olea europaea* dans le monde (Rubio de
24 casas et al.2006)

1.1 Systématique et répartition :

2

3 Olivier de Laperrine est classé selon Cronquist,(1981) de la manière suivante :

4 **Règne :** Plantae

5 **Sous Règne :** Trachéobionta

6 **Division :** Magnoliophyta

7 **Classe :** Magnoliopsida

8 **Sous Classe :** Asteridae

9 **Ordre :** Scruptilariales

10 **Famille :** *Oleaceae*

11 **Genre :** *Olea*

12 **Espèce :** *europaea*

13 **Sous espèce :** *Olea europaea* subsp. *Laperrinei* (Batt et Trab)(Fig.2).

14 L'olivier de Laperrine, se trouve au Sahara Central à des altitudes allant de 1400 à 2800m sur
15 des roches volcaniques ou éruptiques, des régions présentant une sècheresse extrême ou les
16 précipitations annuelles moyennes varient de 50 à 100mm (Baali-Cherif et *al.* 2007).

17 La distribution de l'olivier de Laperrine est limitée aux zones montagneuses saharo-sahéliennes
18 selon Anthelme et *al.* (2008) comme suite(fig.3) :

19 🚩 En Algérie, dans le massif du Hoggar, notamment dans les montagnes de l'Atakor, du
20 Tassili n'Immidir, du Tefedest et du Tassili n'Ajjer.

21 🚩 Au Niger, il a été identifié dans la chaîne des Aîr au sud du Sahara et localisé
22 précisément dans trois massifs : Greboun, Tamgak et Bagzane.

23 Au Soudan, l'olive de Laperrine est présente dans l'ouest du Darfour (Jebel Mara et Jebel
24 Gurgeil).



Figure 2: Olivier de Laperrine (Baali-Cherif, 2007).

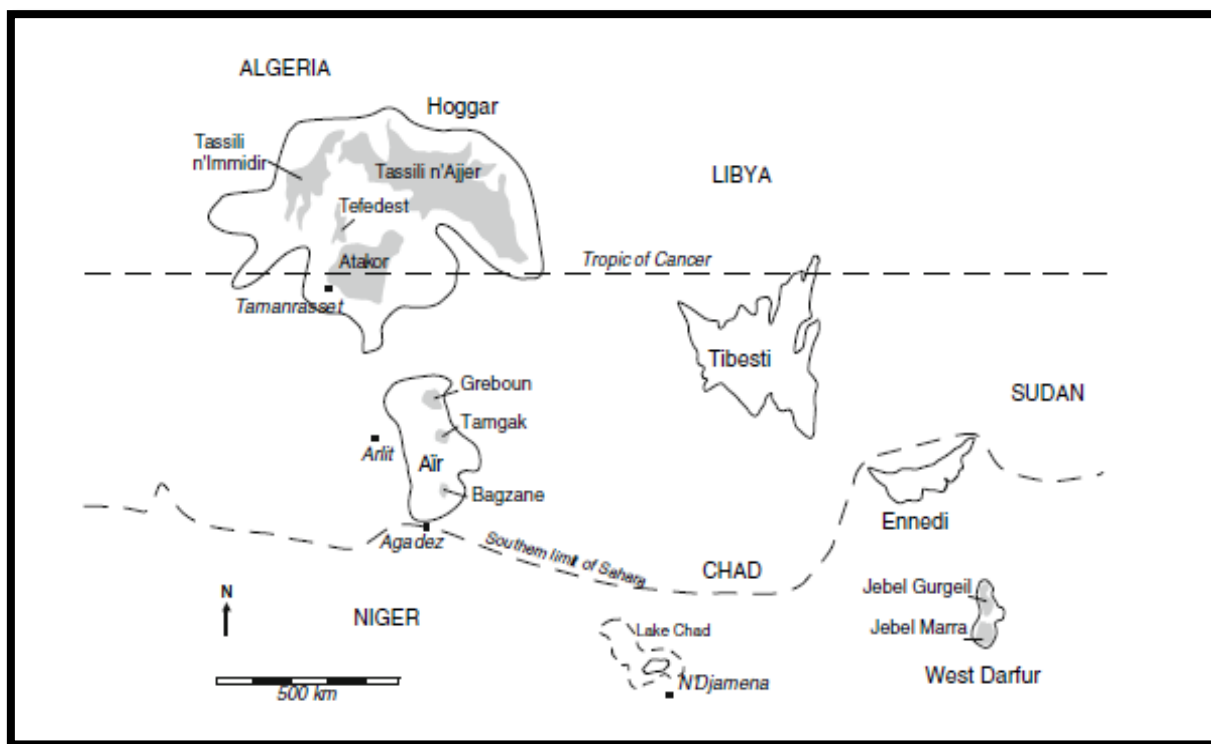


Figure 3 : Répartition d'*Olea europaea*.subps.*Laperrinei* dans la région saharienne-sahélienne (les zones grises) (Anthelme et *al.*2008).

1.2 Caractères botaniques :

La caractérisation des espèces du genre d'*Olea* est basée sur l'utilisation des caractères botaniques à l'échelle de l'arbre, de l'organe (Forme, taille des feuilles, fruits, fleurs, graine) ou à l'échelle des cellules (histologie, anatomie etc...) (Baali-Cherif et *al.* 2007). Ceci permet de caractériser et de classer les espèces.

1.2.1 Appareil Végétatif :

L'olivier de Lapperine développe des formes de croissance intermédiaires entre arbres (aspect érigé) s'il est à l'abris des dégradations et d'arbuste (aspect rabougri) lorsqu'il est brouté par les animaux (Baali-Cherif et *al.*, 2007 ; Besnard et *al.*, 2012).

Les observations portées sur une population de l'olivier de Lapperine par Baali-Cherif et *al.* (2007) estime une taille d'une hauteur maximale de 7m.

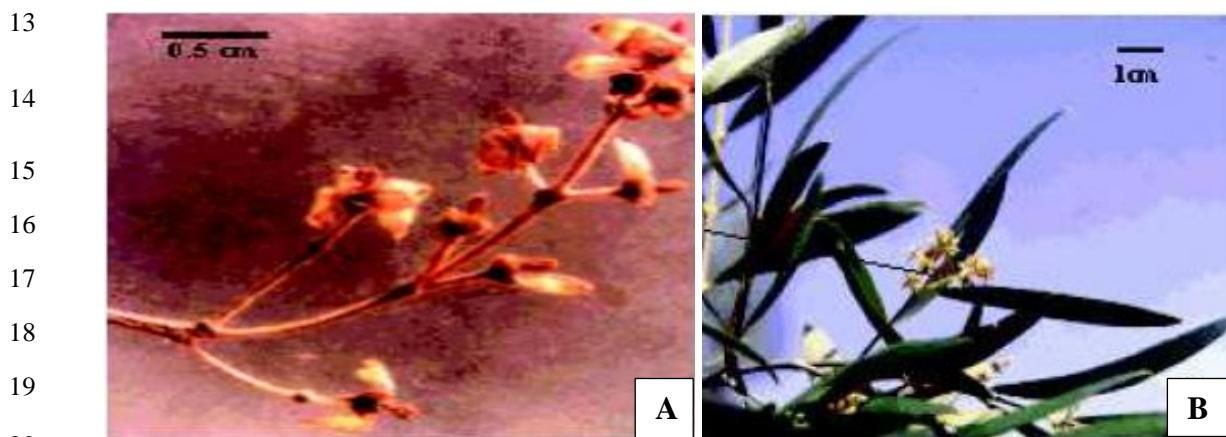
L'olivier de Lapperine présente des feuilles linéaires lancéolées avec un mucron (le bout pointu des feuilles) développé, argentées sur la face abaxiale et verte sur la face adaxiale (Batt et Trab,1911).

1 Le système racinaire de l'olivier s'adapte à la profondeur du sol suivant sa texture et son
2 développement est en rapport avec les caractéristiques physico-chimique du sol, l'olivier de
3 Laperrine dans les conditions désertiques ont développé des traits particulier, un système
4 racinaire bien adapté puissant de l'eau à une grande profondeur, sa surface foliaire est réduite
5 ceci permet de limiter les pertes d'eau (Baali-Cherif et Besnard,2005).

6 **1.2.2 Appareil reproducteur :**

7 L'olivier de Laperrine présente une rareté des évènements de floraisons dans le climat
8 du Sahara Central par rapport aux espèces d'une autre localité climatique différents comme
9 celui d'olive méditerranéen (Besnard et *al.* 2012).

10 L'inflorescence chez l'olivier de Laperrine est caractérisée par une grappe, qui sont
11 portés par les rameaux(Fig. 4B), dont le nombre de grappe par rameau varie de 6 à 10 et le
12 nombre de fleur est de 6 à 8 de couleur blanche (Fig.4A) (Baali-cherif,2007)



21 **Figure 4:** A : Inflorescence individuel de type grappe et B : inflorescence portée par un
22 jeune rameau d'olivier de Laperrine (Baali-cherif,2007).

23 Les fruits d'olivier de Laperrine sont plus petits environ 5mm de diamètre, de forme
24 ovoïde globuleuse et de couleur verte (Fig.5A) et passe à la couleur marron foncée (noirâtre)
25 lorsqu'il est mur (Fig.5B) . Il présente un endocarpe sclérifié et un mésocarpe charnu (Besnard
26 et *al.*,2012 ; Baali-Cherif,2007).

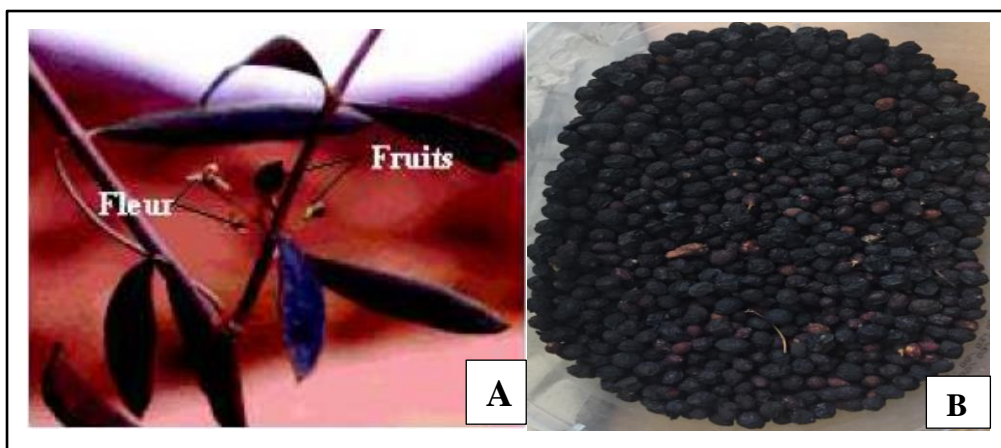


Figure 5: Représentation de fruit d'olivier de Laperrine : A : fruit non mur (Baali-Cherif,2007) et B: fruit mur.

2 Généralité sur les métabolites secondaires des plantes :

Les plantes produisent deux types de métabolites : primaire et secondaire, ces derniers jouent un rôle important dans l'interaction entre la plante et son environnement, agissant comme des moyens de défense contre les herbivores et les agents pathogènes (Quideau et al. 2008 ; Ramakrishna et Ravishnar,2011 ; Filippis,20016).

Ils sont repartis dans toutes les parties de la plante (racines, tiges, feuilles, fleurs, graines) et leur concentration varie en fonction de l'espèce.

Ces métabolites secondaires en plus de permettre aux plantes de s'adapter aux différentes conditions de leurs milieu environnementale, ils ont des utilisations significatives à des fins thérapeutique, et cosmétiques chez l'homme (Mansour,2009; Ramakrishna et Ravishnar,2011).

Les plantes sont une source des métabolites secondaires, elles en produisent un nombre important, qui sont d'une manière générale classés en plusieurs groupes en fonctions de leurs caractéristiques structurales (Quideau, et al.,2008; Samec et al.,2021).

Nous pouvons les classer en trois grands groupes : les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpènes et les stéroïdes.

2.1 Les composés phénoliques :

Les polyphénols comprennent plus de 8000 molécules (Samec et al. 2021). Ils sont caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est lié directement à un ou plusieurs groupes hydroxyles libre (OH) (Hopkins,2003; Bergeron,2012).

1 Ils se retrouvent sous forme libre ou conjugués avec un ou plusieurs résidus de sucre (Samec
2 et *al.*,2021).

3 **2.1.1 Les acides phénoliques :**

4 Un groupe carboxylique attaché ou lié à un cycle benzénique est une caractéristique
5 principale de tous les acides phénoliques. Nous retrouvons ces composés sous formes conjugués
6 par des liaisons éther, acétal ou ester à des composants structurels d'une cellule végétale,
7 rarement trouvés sous forme libre (stalikas,2007; Samec et *al.*,2021).

8 En se basant sur leurs structures et leur précurseur de synthèse nous distinguons deux classes
9 (fig.6)

10 ➤ Les dérivés de l'acide benzoïque (Acides hydroxy benzoïque(C6-C1)

11 ➤ Les dérivés de l'acide cinnamique (Acide hydroxycinnamique C6-C3)

12 Ces molécules sont considérées comme des puissants antioxydants en raison de leur capacité
13 de piéger les espèces réactives de l'oxygène (stalikas,2007 ; Bruneton,2009).

14

15

16

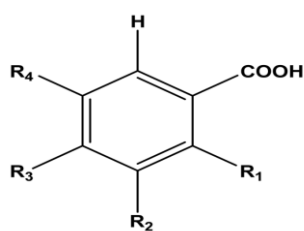
17

18

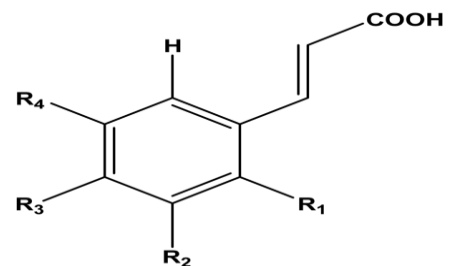
19

20

21



Acide Hydroxybenzoïques



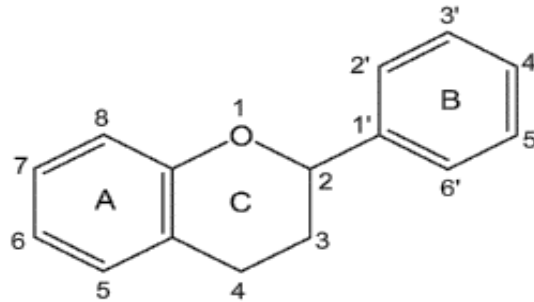
Acide hydroxycinnamique

22 **Figure 6:** Structure chimique des acides phénoliques naturels dont les R représentent les
23 différents composés pouvant être liés (Stalikas,2007).

24 **2.1.2 Les Flavonoïdes :**

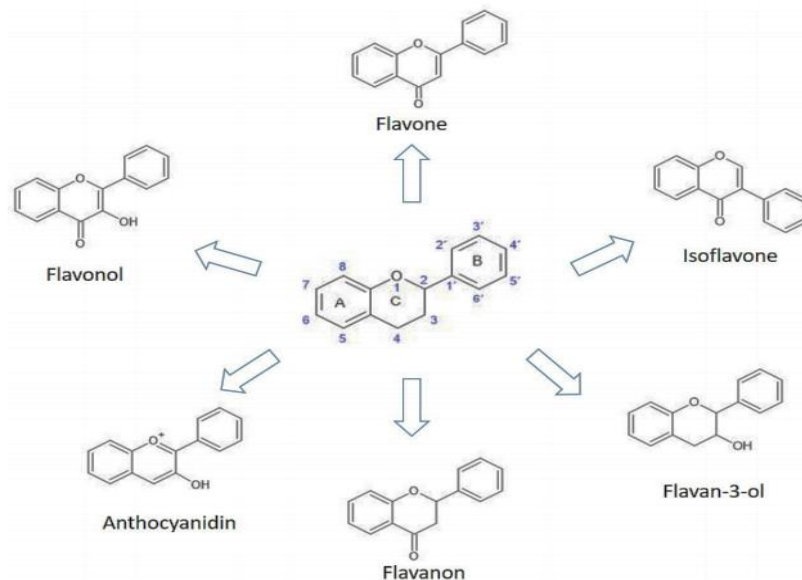
25 Dans la plante divers composés polyphénoliques se regroupent sous le nom flavonoïde,
26 partageant tous une même origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent tous un
27 même squelette (structure) de base, le noyau Flavan de 15 atomes de carbones, constitués de
28 deux unités aromatiques dont deux cycle en C6 qui sont reliés par une chaîne en C3 (fig.7)
29 d'où la représentation simple (C6-C3-C6) (Bennick,2002 ; Stalikas,2007).

1 Les flavonoïdes ont des fonctions importantes chez les plantes, protègent les plantes
 2 contre les insectes herbivores et des agents pathogènes, attirent les pollinisateurs (Hopkins,2003
 3 ; Bergeron,2012). Ils sont présents dans les fruits, les graines, les tiges et les écorces
 4 (Filippis,2016).



12 **Figure 7:** Structure chimique de base des flavonoïdes (Stalikas,2007).

13 Ils peuvent être divisés sur la base de leur structural en six (06) groupes : les flavones,
 14 les flavonols, les flavan-3-ols, les flavanones, les isoflavonols, les anthocyanines (Fig.8)
 15 (Samec et al .2021).



28 **Figure 8:** Structure chimique des différents groupes des Flavonoïdes (Stalikas,2007).

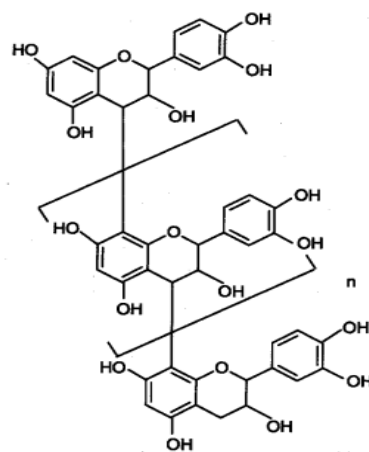
29 **2.1.3 Les tannins :**

30 Les tanins constituent un groupe complexe de polymères naturels (Fig. 9), ils peuvent
 31 être divisés en fonction de leur structure en deux groupes (Bennick,2002) :

1 ✚ Les tannins hydrolysables : ils sont hydrolysables car leur structure de base est un
2 glucide, habituellement le glucose qui peut interagir avec d'autres molécules grâce à la
3 fonction hydroxyle portée par le glucose. Nous retrouvons comme composé les acides
4 galliques et les acides ellagiques (Hopkins,2003).

5 ✚ Les tannins condensés : contrairement aux tannins précédents, ils ne sont pas
6 hydrolysables, ils résultent de la condensation à partir de flavanols et de flavan-3-4-
7 diols (Bennick,2002 ; Bergeron,2012) qui se lient par des liaisons carbone-carbone, une
8 liaison forte. L'oxydation des tannins condensés par des acides forts donnent les
9 anthocyanidines (Bennick,2002).

10 Leurs utilisations remontent dans l'histoire, employés pour tanner les peaux d'animaux,
11 d'autres part ils possèdent une propriété de faire précipiter les protéines (Hopkins,2003).
12 Les tannins jouent des rôles de défense chez les plantes, leur présence dans les feuilles
13 dissuade les animaux de les brouter (Bennick,2002 ; Hopkins,2003).



24 **Figure 9:** Structure de base des tanins (Bennick,2002).

25 **2.2 Activités biologiques des composés phénoliques :**

26 Durant ces dernières années, il y a eu un intérêt accru pour les composés
27 polyphénoliques d'origine végétale en raison de leurs différentes activités biologiques dans
28 plusieurs domaines, leurs interaction possible avec de nombreuses enzymes chez l'homme et
29 leurs contribution dans la prévention et traitement liés au stress oxydants tel que le cancers, le
30 diabète, l'athérosclérose, l'hypertension artérielle, les maladies neurodégénératives et arthrite
31 grâce à leurs propriétés antioxydants (Macheix et *al.*,1996 ; Alain et *al.*,20 11).

2.2.1 Généralités sur les radicaux libres :

Nous appelons un radical libre, toutes espèces chimiques capables d'avoir une existence libre en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur la couche orbitale). Ces radicaux libres sont instables et très réactifs, du fait que les électrons non appariés ont tendance à former des paires avec d'autres électrons. (Hallivell,1991 ; Goudable et Favier, 1997).

Les plantes sont dépourvues d'une mobilité comme les animaux, elles sont fixes et constamment soumises à des variations environnementales pouvant être favorables ou défavorables pour leur évolution tel que le manque ou excès d'eau, les fortes ou faibles luminosités, la salinité des sols et les températures extrêmes, d'autres subissent des agressions des insectes et des agents pathogènes), l'ensemble de ces phénomènes exercent une pression sur les plantes (Calatayud et *al.* 2013).

Cette pression se traduit par un stress environnemental conduisant à une perturbation de métabolisme cellulaire dont la synthèse et accumulation de certains composés entre autres les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Parent et *al.*,2008 ; Calatayud et *al.*,2013), ces ERO renferment les espèces radicalaires (ER) et non radicalaire (ENR) (Tab. 1).

Tableau 1: Les formes des espèces réactives de l'oxygène (Halliwell,1996)

Les espèces réactives de l'oxygène	
Radicalaires	Non-radicalaires
Anion Superoxyde $O_2^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogène H_2O_2
Hydroxyle OH^{\cdot}	Oxygène singulet 1O_2
Peroxyle RO_2^{\cdot}	Ozone, O_3
Hydroperoxyle HO_2^{\cdot}	Acide hypochlorique $HOCl$

En effet, Un radical libre en cherchant à se stabiliser, il va donc capter un électron d'un autre composé (un radical oxydant) ou il va donner son électron non apparié à une autre molécule (un radical réducteur) pour se ré-apparier (Halliwell,1991 ;Goudable et Favier, 1997).

1 Le radical libre en arrachant un électron à une molécule biologique (Protéines, lipides),
2 ces derniers deviennent instables, initiant une véritable chaîne de peroxydation. Cette réaction
3 en chaîne initiée par les radicaux libres, peuvent être rompue par l'intervention d'un antioxydant
4 « briseurs de chaîne » (Hennebelle,2004 ; Leverve,2009).

5 Ce phénomène peut induire des conséquences néfastes comme altération de la structure
6 des lipides membranaire, des protéines et voir même des ADN au sein des organismes
7 (Hennebelle,2004), pouvant être à l'origine de certaines pathologies.

8 **2.2.1.1 La production des formes réactives de l'oxygènes :**

9 La production des espèces réactives de l'oxygène en faible pourcentage est un
10 phénomène normal observé au cours du métabolisme en condition d'aérobie chez tout
11 organisme, par le transport d'électrons (Calatayud et *al.* 2013).

12 Cette production est détectée dans plusieurs organes cellulaires tels que dans la
13 mitochondrie, dans le chloroplaste ainsi que dans le peroxysome (Carriere,2006 ; Haleng,2007
14 ; Scarpeci et *al.*,2008).

15 A l'exception de certains organismes anaérobies, l'oxygène est indispensable à la
16 production d'énergie. Cette production d'énergie s'effectue au niveau de la membrane interne
17 des mitochondries (Turrens,2003 ;Migdal et Serres,2011).

18 Lors de cette production d'énergie par un ensemble de complexe (I, II, III, IV) de la
19 chaîne de transport, nous assistons à des fuites d'électrons au niveau de complexe précisément
20 I et III, pouvant interagir directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent
21 naissance à des différentes formes des espèces réactives de l'oxygène (Carriere,2006 ;
22 Haleng,2007)

23 D'autres part, les plantes dans certaines conditions stressantes provoquées soient par des
24 facteurs biotiques ou abiotiques induisent une inhibition de la photosynthèse au niveau des
25 chloroplastes suite à laquelle on assiste à une fixation limitée du CO₂ et de ce fait les électrons
26 qui ne participe plus à la fixation de cette dernière vont entraîner la production et accumulation
27 de ERO (Hsu et Kao,2003, Parent et *al.*,2008 ; Scarpeci et *al.*,2008).

28 Les ERO peuvent être générés par des facteurs exogènes parmi ces paramètres nous
29 pouvons réénumérer des rayonnements intenses (Ultraviolet, rayon x , et gamma), des résidus de
30 la fumée des cigarettes, des métaux toxiques (Cuivre, Vanadium, chrome) ainsi que des
31 composants des pesticides (Favier,2003).

1 **2.2.1.2 Le stress oxydant:**

2 les espèces réactives de l'oxygène peuvent avoir des rôles physiologiques importants
3 et indispensables à la vie (Fig.10) lorsqu'ils sont produits à une dose raisonnable, dans ce cas
4 ils joueront des rôles de messenger secondaire ou de défense (Favier,2003).

5 La phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages s'accompagne d'une
6 production des espèces réactives de l'oxygène (favier,2003), impliqué aussi dans le processus
7 de la fécondation (Haleng et *al.* 2007) perçant la membrane de l'ovule.

8 Chez les plantes, ils sont considérés comme un messenger intra et extracellulaire
9 permettant à ces dernières de détecter des différents changements environnementaux et de
10 développer des systèmes de défense adaptés (Haleng et *al.*,2007, Favier,2003, Migdal et
11 Serres,2011).

12 Dans l'organisme la concentration des radicaux libres est maintenue en équilibre par un
13 système antioxydant, cet équilibre peut être rompue suite à un excès de production des radicaux
14 libres par certaines conditions du milieu (rayonnement ultraviolet intense, pollution), mauvaise
15 habitude (alcool ou tabac) ou par un déficit en antioxydant, dans ce cas on parle de « stress
16 oxydant » (Favier,2003 ; Migdal et Serres,2011).

17 Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre la production d'espèce
18 radicalaire (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités antioxydantes cellulaires (Migdal
19 et Serres,2011) et l'excès des radicaux libres non neutralisés par les moyens de défenses est
20 fortement dommageables pour les macromolécules essentiels (fig.10) (Favier,2006), entraînant
21 des anomalies d'expressions des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort
22 cellulaire, troubles immunitaires, mutagénèse (Goudable et favier,2003; Hennebelle et *al.*,2003;
23 Joanny-Menvielle,2005 ; Favier,2006).

24 Les ERO provoquent le diabète sucré, les maladies neurodégénératives et
25 cardiovasculaire, les cancers, athéroscléroses etc...(Migdal et Serres,2011).

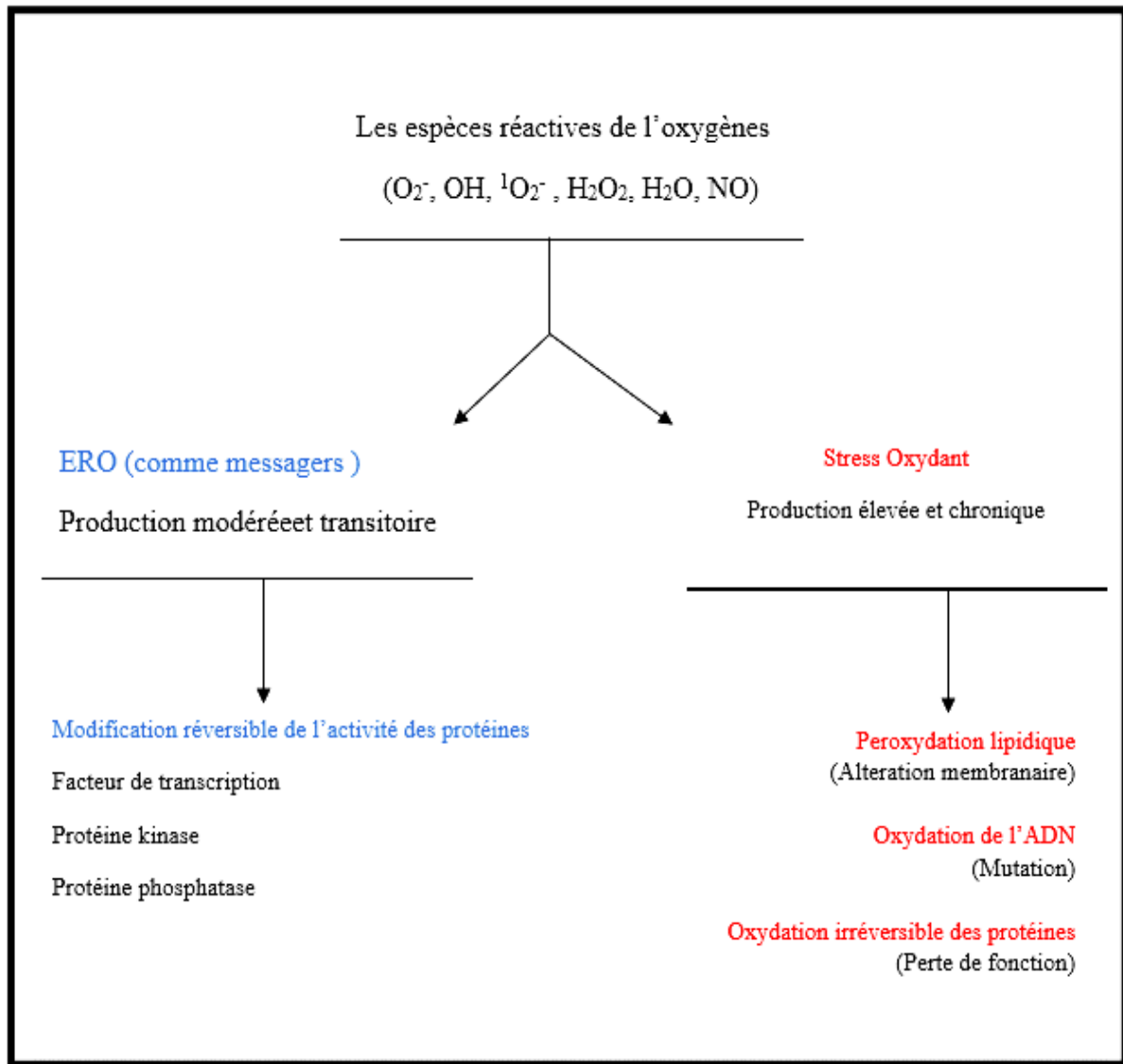


Figure 10 : Les conséquences cellulaires (positive et négative) des espèces réactives d'oxygènes, une question d'équilibre (Carriere et *al.* 2016), Modifié

2.2.1.3 Les systèmes antioxydants :

Un antioxydant par définition est considéré comme toute molécules ayant le pouvoir de stabiliser ou de désactiver les radicaux libres (Rahman,2007).

Les organismes utilisent un nombre important de stratégies antioxydantes pour contrôler le niveau des ERO.

2.2.1.3.1 Antioxydants enzymatiques :

L'une des moyens de défense est de nature enzymatique dans lesquelles nous retrouvons les superoxyde dismutases (SOD),qui éliminent l'anion superoxyde dès sa formation par une réaction de Dismutation pour donner de peroxyde d'hydrogène (Fig.11).

1 Chez l'homme nous retrouvons deux isoformes de cette enzyme , cytosolique (cuivre-zinc
2 SOD) et mitochondriale (manganèse SOD) (Griveau et Lannou,1995).

3 Son action est renforcée par deux autres enzymes il s'agit de la catalase à cofacteur fer, présente
4 dans les peroxyosomes et de glutathion peroxydase à cofacteur sélénium, présent dans le cytosol
5 et mitochondrie qui s'effectuent des actions complémentaires dans la réduction de peroxyde
6 d'hydrogène formé à un dérivé moins réactif en eau et en l'oxygène (Fig.11) (Favier,2006).

7 **2.2.1.3.2 Antioxydants non enzymatiques :**

8 De plus, les plantes synthétisent un autre groupe de composé antioxydant non
9 enzymatique dont la majorité ne sont pas synthétisé par l'homme, appelé les piègeurs des
10 radicaux. Ces composés ont la capacité de s'interposer aux différentes actions des radicaux
11 libres et de les neutraliser (Griveau et Lannou,1995).

12 Il s'agit entre autres :

13 Des vitamines C, le plus abondant et le plus hydrosoluble, ils interposent aux actions d'un
14 nombre important des radicaux libres comme l'oxygène singulet (1O_2), l'anion superoxyde (O_2^-
15) et des radicaux hydroxyle (Griveau et Lannou,1995 ; Rahman,2007) ; des glutathions réduits
16 présentant une propriété remarquable d'activité antioxydante dû à la présence d'un résidu
17 cystéine dans sa structure et impliqué dans la régénération des vitamines E et C (Griveau et
18 Lannou,1995 ; Matés et Jiménez,1999 ; Rahman,2007, Haleng et *al.*,2007) ; des vitamines E
19 qui ont une grande activité antioxydante conféré par l'isoforme alpha tocophérol, ils limitent la
20 propagation de la peroxydation lipidique et neutralisent les radicaux libres (Griveau et
21 Lannou,1995; Puthur,2016), ainsi que des composés polyphénoliques qui sont reconnus comme
22 étant des puissants antioxydants, ils piègent les radicaux libres, inhibent de nombreuses
23 enzymes impliqués dans la production des ERO et interviennent dans la modulation de plusieurs
24 voies métaboliques (Ryan et Robards,1998 ; Naczki et Shahidi,2003 ; Bekkara et *al.*,2012).

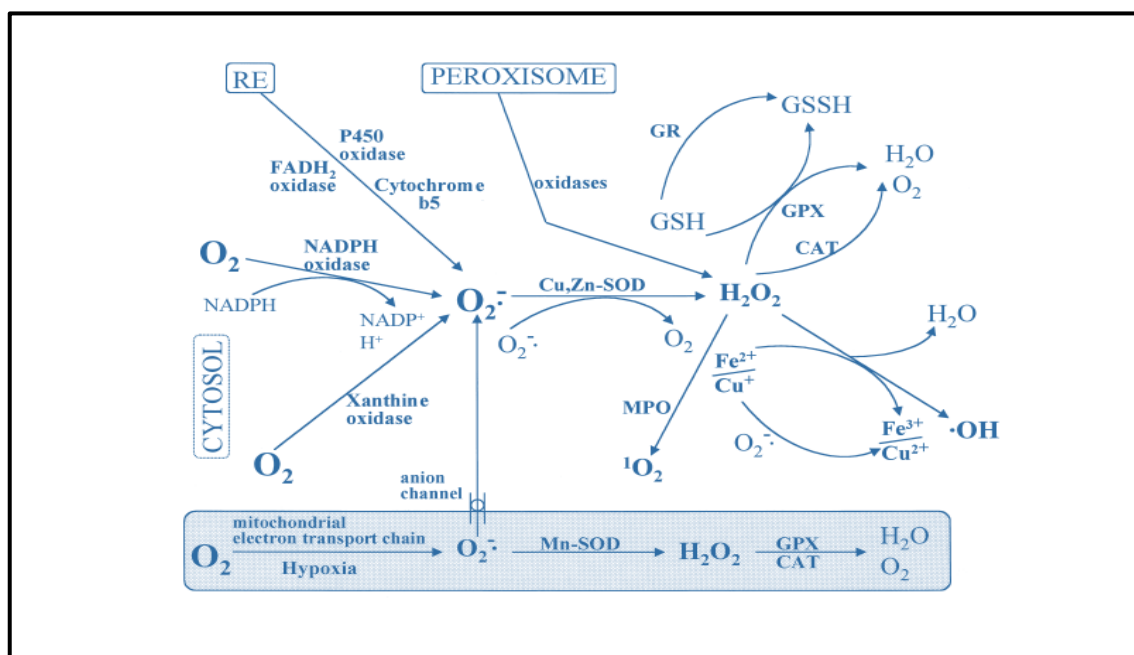


Figure 11: Génération d'effets d'oxygène réactifs et mécanique de défense (antioxydant) contre les dommages induits par l'oxygène actif (Matés et *al.* 1999).

2.2.2 Activités Thérapeutiques des composés phénoliques :

Les composés phénoliques connaissent une large utilisation en phytothérapies, et sont largement exploités aussi dans le domaine agroalimentaire (Hennebelles,2004). Ce sont des candidats parfaits pour la prévention ou la réduction de risque des cancers, maladies neurodégénératives et cardiovasculaires (Ryan et Robards,1998 ; Hennebelle, 2004).

Divers produits pharmaceutiques de nos jours sont produits à partir des composés d'origine végétales ou constituent le plus grand pourcentage dans ces produits,

D'une part il a été démontré que la consommation d'huile d'olive naturellement riche en composés phénoliques permet d'atténuer les effets thrombotiques, de conférer à l'organisme une protection contre les effets néfastes des radicaux libres, de réduire le risque de certains types de cancers (Ghedira,2008), et des maladies cardiovasculaires dans les régions méditerranéenne (Sousa et *al.* 2007).

Les différents organes de l'olivier renferment un nombre considérable des composés phénoliques les voies métaboliques impliquant leurs synthèses sont complexes, de ce fait ils peuvent varier nettement d'un tissu à un autre, d'une condition de croissance à un autre et en réponse à des stimuli environnementaux (Ryan et Robards,1998).

1 D'autres part les feuilles d'olivier riche en composés phénoliques sont utilisées comme
2 diurétiques et préconisées dans le traitement de l'hypertension artérielle modérée, l'extrait de
3 feuilles est utilisé comme adjuvant dans les formes légères de diabète (Ghedira,2008).

4 Les extraits phénoliques des oliviers ont des fonctions variées et remarquables à savoir
5 : activité antioxydante, la capacité de nettoyer les espèces réactives de l'oxygènes, la capacité
6 d'inhiber la nitrosation, de chélater les ions métalliques et la capacité de moduler certaines
7 activités enzymatiques cellulaires (Ryan et Robards,1998).

8 Leurs rôles de protection des plantes contre les pathogènes fait que les extraits de
9 l'olivier sont directement reconnus pour leur activité antimicrobienne et leurs propriétés
10 molluscicides (Ryan et Robards,1998 ; Ghedira,2008),), ils peuvent également protéger la
11 peau contre les rayons ultraviolet en diminuant les dommages causés par les rayons solaires
12 (Gene et Spiller,2007).

13 Les composés phénoliques présentent des effets de protection contre l'oxydation des
14 lipoprotéines de faible densité (LDL), dont leur oxydation est liée à la formation des
15 athérosclérose, activité antitumoral des composés Oleuropéines et Hydrotyrosole, phénoliques
16 originaire d'olivier est prouvé par des multiples études in vitro (Ryan et *al.* 2002).

17 En outre, L'oleuropéine, compte parmi les composés les plus abondants des composés
18 phénoliques, ce dernier possède des propriétés hypoglycémiques, anti-inflammatoire, antivirale
19 (Virus de l'immunodéficience humaine), prévient la maladie d'Alzheimer et intervient dans la
20 protection de l'organisme contre certains agents pathogène responsable de certaine maladie
21 intestinale ou respiratoire (Mouzaoui et *al.* 2014).

22 Les produits végétaux sont particulièrement riches en métabolites secondaires et
23 exercent des rôles biologiques divers.

Chapitre II

Matériels et Méthodes

1 **Chapitre II : Les matériels et les méthodes :**

2 **2.3 Matériel :**

3 **2.3.1 Matériel végétal :**

4 Les fruits de l'olivier de Laperrine utilisées au cours de notre expérimentation,
5 proviennent de la station de Tamanrasset. Notre matériel végétal est fourni par le Dr Lahcene
6 (2021).

7 Les fruits séchés sont broyés et conservés à l'obscurité et à température ambiante. La poudre
8 obtenue servira pour les différentes extractions.

9 **2.4 Méthodes :**

10 Les extractions et les divers protocoles visant à évaluer le potentiel antioxydant des
11 extraits de l'olivier de Laperrine ont été réalisés au niveau du laboratoire de recherche en
12 biochimie analytique et biotechnologie (LABAB) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-
13 Ouzou.

14 **2.4.1 Procédure d'extraction :**

15 Nous avons procédé à la dissolution de 20 grammes de poudre fruits (Fts) dans 200 ml
16 d'eau distillée. Après une macération pendant 24h à l'obscurité sous agitation (100rpm) à
17 température ambiante, la phase aqueuse du macérât est filtrée sur papier Wattman n°1 (Aiche-
18 Iratni et *al.*, 2015 ; Moualek et *al.*,2016).

19 Le filtrat résultat de l'extraction est lyophilisé. Les poudres végétales ainsi obtenus sont
20 conservés à l'obscurité à 4°C dans des flacons, hermétiquement fermés en vue de leurs
21 utilisations ultérieures.

22 La pesée des résidus sec obtenus après lyophilisation nous permet de déterminer le rendement
23 R de l'extraction obtenu pour chaque type extrait selon la formule suivante.

$$24 \quad R \% = (PS/PFts) \times 100$$

25 Avec:

26 R=Pourcentage du rendement;

27 PS=Poids sec des résidus secs;

28 PFts=Poids de la poudre de Fruits.

1 **2.4.2 Analyse quantitative :**

2 L'analyse quantitative est menée par une série de dosages spectrophotométriques UV-
3 visible.

4 **2.4.2.1 Détermination de la teneur en phénols totaux :**

5 Les phénols totaux sont estimés par la méthode au Folin-ciocalteu décrite par Singleton
6 et Rossi(1965). Les phénols présents dans les différents extraits subissent une réaction
7 d'oxydation en présence d'agent actif de Folin-ciocalteu (RFC) aboutissant à une coloration bleue
8 proportionnelle à la quantité de polyphénols contenus dans les extraits de fruits d'olivier.

9 La teneur en polyphénols totaux est déterminée par extrapolation sur la courbe étalon,
10 établie à partir d'une série de dilutions (10-100µg/ml) d'acide gallique servant de référence.

11 Dans chaque tube à essai sont ajoutés 0,25ml de l'échantillon à doser, 1,25ml du réactif RFC
12 (1/10) et 1ml de carbonate de sodium (75g/l). Les différentes solutions sont incubées à 40°C
13 pendant 30 minutes par la suite mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre Meline MD 2000.
14 La teneur en totaux est exprimée milligramme équivalent acide gallique par grammes de résidu
15 sec (mgEAG / g RS).

16 **2.4.2.2 Détermination de la teneur en Flavonoïdes totaux :**

17 La méthode utilisée est celle décrite par Chang et *al.* (2002). Elle est basée sur
18 l'utilisation du chlorure d'aluminium donnant une coloration jaunâtre par chélation des
19 flavonoïdes. Ainsi, à 0,5 ml de la solution de chaque extrait, sont ajoutés 1,5 ml de méthanol,
20 0,1 ml de chlorure d'aluminium, 0,1 ml d'acétate de potassium et 2,8 ml d'eau distillée.

21 Le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance est mesurée
22 à 415 nm. La courbe étalon est réalisée avec la quercétine (100 µg/ml), et l'équation de régression
23 linéaire, permet de calculer la teneur totale en flavonoïdes exprimée en milligramme équivalent
24 quercétine par gramme de résidu sec (mg EQ/g RS).

25 **2.4.2.3 Détermination de la teneur en Tanins totaux :**

26 Le dosage des tanins est réalisé selon le protocole mis au point par Hagerman et Butler
27 (1978). La teneur totale en tanins exprimée en milligramme équivalent acide tannique par
28 gramme de résidu sec (mg EAT/g RS), est déterminée par l'utilisation de l'équation de
29 régression linéaire obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

2.4.3 Activités antioxydantes :

Ce sont des méthodes spectrophotométriques le plus souvent utilisées pour l'évaluation des activités antioxydantes des extraits de fruits. Tous les tests sont répétés trois fois.

2.4.3.1 Capacité antioxydante totale ou test du phosphomolybdate :

Le test du phosphomolybdate permet d'évaluer la capacité antioxydante totale des extraits végétaux. Il est basé sur la réduction des ions molybdate Mo (VI) en molybdène Mo (V).

La capacité antioxydante totale est estimée par le dosage du phosphomolybdène selon le protocole mis au point par Prieto et *al.* (1999). Le test consiste à mélanger 0,1 ml de l'extrait végétal à différentes concentrations (100 à 1000 µg/ml) avec 1 ml du réactif de molybdate composé de 0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM NaH₂PO₄ et 4 mM molybdate d'ammonium.

Après une incubation de 90 minutes à 95°C et refroidissement du mélange à température ambiante, l'absorbance est lue à 695 nm. La courbe étalon est établi avec l'acide ascorbique (20 à 200µg/ml), la droite de régression permet de calculer la teneur totale de la TAC. Cette dernière est exprimée en milligramme équivalent acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g d'extrait).

2.4.3.2 Détermination du pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur des extraits est évalué selon la méthode d'Oyaizu (1986). Différentes concentrations d'extrait de fruits d'olivier de Laperrine (50 à 500µg/ml) sont préparées dans de l'eau distillée et mélangées avec 2,5 ml de tampon phosphate (200 mM, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium (K₃Fe (CN)₆) (1% m/v). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés.

Le mélange est ensuite centrifugé à 750 g pendant 10 minutes.

Nous prenons 5 ml du surnageant que nous mélangeons à 5 ml d'eau distillée et 1 ml de FeCl₃ (0,1%). Enfin, l'absorbance est mesurée à 700 nm.

L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur. L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif dans les mêmes conditions expérimentales.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSIONS

Chapitre III : Résultats et discussions

3 Analyse quantitative et évaluation de quelques activité antioxydante

3.1 Analyse quantitative :

3.1.1 Rendement des extraits bruts :

Le rendement d'extraction caractérise la masse de l'extrait obtenu après évaporation du solvant (Lyophilisation). Il dépend de la nature du solvant utilisé dont la polarité, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Do et *al.* 2013).

L'extrait aqueux obtenu à partir de fruits (Fts) d'olivier de Laperrine après lyophilisation a d'une couleur marron foncée avec un rendement de $10,09 \pm 7,24$ % (Tab. 2)

Tableau 2: Redément d'extraction.(moyenne \pm ecartype).

Matériel végétal	Extraction	Couleur	Rendement
Fruit (Fts) d'olive	Aqueuse	Marron fonce	$10,09 \pm 7,24$ %

Le rendement d'extraction que nous avons obtenu correspond à la valeur de $10,09 \pm 7,24$ %, cette valeur est supérieure à celle obtenue par Sousa et *al.* (2008) à partir d'une extraction aqueuse à température ambiante et d'ébullition d'olive de table de variété « alcaparras » un rendement de $5,82 \pm 0,04$ % et de $7,20 \pm 0,25$ % mais largement inférieur à ceux obtenus en utilisant de méthanol à température ambiante et bouillante dont les valeurs se varient entre $19,38 \pm 0,81$ % et $32,22 \pm 12,95$. Cette différence pourrait être due à l'effet de la température.

Selon Mahmoudi et *al.* (2012), l'augmentation de la température peut favoriser d'une part la diffusion et la solubilité des extraits d'autres part sont nuisible pour certains composés fragiles.

Notre résultat est inférieur à ceux obtenus par Mahmoudi et *al.* (2012) sur les différentes parties : fleur (17,51%) ; Tiges (19,24%) ; réceptacle (20,13%) et Bractées (13,24%) d'artichaut « *Cynara scolymus* L. » en utilisant quatre type de solvant : eau, éthanol, acétone et méthanol.

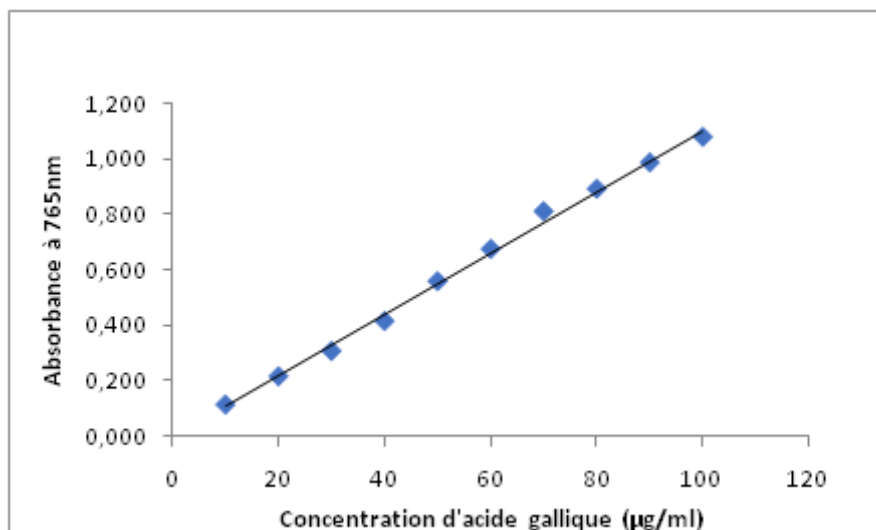
1 La solubilité de l'extrait dans le solvant est un paramètre majeur dans l'extraction des composés
2 phénoliques et le rendement d'extraction peut être différent en fonction du mode opératoire et
3 de l'organe étudié (Mahmoudi et *al.*,2012; Alam et *al.*,2012).

4 **3.2 Dosages des extraits bruts de fruit d'olivier**

5 La détermination de la teneur des polyphénols : polyphénols totaux (PPT), flavonoïdes totaux
6 (FT) et tannins totaux (TT) est réalisé par les méthodes spectrophotométriques :Folin-ciocalteu,
7 trichlorure d'Aluminium, et méthode basée sur la formation de complexe Protéine-Tannin.

8 **3.2.1 La teneur en Polyphénols totaux :**

9 Le résultat obtenu pour le dosage des polyphénols totaux (PPT), en utilisant l'équation de la
10 courbe d'étalonnage ($y= 0,011x - 0.0028$ et $R^2 = 0,99$) (Fig. 12) de standards d'acides gallique
11 est de $38,79 \pm 1,27$ mg EAG/g RS.



23 **Figure 12 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

24 En raison de manque de travaux sur le fruit d'olivier de Laperrine, pour évaluer notre
25 extrait en matière de teneur en polyphénols nous avons été dans la contrainte d'effectuer une
26 analyse comparative avec des données publiées sur la quantification des polyphénols à partir
27 de fruits des autres espèces d'Olea europaea ou d'autres fruits d'espèce différente.

28 La teneur obtenue en polyphénols totaux est de $38,79 \pm 0,27$ mg EAG/g de résidu sec,
29 cette teneur est importante par rapport à celles rapportées par la littérature à partir de fruits de
30 certaines espèces, de plusieurs variétés différentes et de localité différente.

1 Notre valeur est supérieure à celles obtenues en polyphénols totaux d'une variété «
2 alcaparras » en quatre localités différentes de la région Tra 'os-Montes (Nord Est du Portugal
3) par Sousa et *al.* (2008) dont les valeurs sont de 29,88 mg EAG/g d'extrait sec de (Car.
4 Ansaes), de 16,6 mg EAG/g d'extrait sec de (Braganca), de 16 mg EAG/g d'extrait sec de
5 (Mac Cavaleiros) et de 11,90 mgEAG/g d'extrait sec de (Mirandela).

6 Ainsi Ebrahimzadeh et *al.* (2009) ont travaillé sur le fruit de Sureau Hièble « *Sambucus*
7 *ebulus elburensis* » d'origine du Nord Iran, ils ont obtenu à partir d'une extraction aqueuse et
8 méthanolique des teneurs en polyphénols de $41,59 \pm 0,25$ mg EAG/g de poudre sec (extrait
9 aqueux) qui est légèrement supérieure à notre résultat mais ils ont obtenu une valeur de $27,37$
10 $\pm 0,18$ mg EAG/g de poudre sec (extrait méthanolique) qui est largement inférieur à notre
11 résultat.

12 Cette différence en teneurs phénoliques pourrait être dû aux effets de type de solvant
13 utilisé pour l'extraction des composés phénoliques. L'eau permet d'extraire une quantité
14 importante des polyphénols plus que méthanol et cette quantité varie en fonction d'organe et
15 espèce étudiée (Ebrahimzadeh et *al.*,2009 ; Mahmoudi et *al.*,2012).

16 Notre teneur en polyphénols obtenue à partir d'extraction aqueuse de Fts d'olivier de
17 Laperrine excède à celles obtenues par Brahim et *al.* (2016) à partir de fruits de deux variété (
18 sauvage et domestique) de caroube Marocaine (*Ceratonia siliqua* L.) donc la valeur maximale
19 en polyphénols totaux est de $22,75 \pm 0,07$ mg EAG/g de poudre sèche pour les variétés «
20 sauvage » et de $18,06 \pm 0,04$ mg EAG/g de poudre sèche pour la variété « domestique ».

21 Plusieurs études se sont intéressées à la quantification des polyphénols dans les extraits
22 de fruit d'olive de différentes variétés et à des régions différentes .

23 Ainsi la teneur en polyphénols (PPT) dans les extraits d'acétone d'olive d'une variété
24 Chinoise « *Canarium album* L. » obtenue est de 1291mg équivalent AG/ 100g de poids frais
25 (He et Xie,2007).

26 Par ailleurs celle obtenue dans les extraits méthanolique d'olive de quelques cultivars
27 Iranienne est de 1997mgEAG/ 100 g de plante sèche pour le cultivar « Mishen » et de 888
28 mgEAG/100gde plante sèche celui de « Conservalina » (Hajimahmoodi et *al.*2008). La teneur
29 varie d'une espèce à l'autre et d'une région à l'autre.

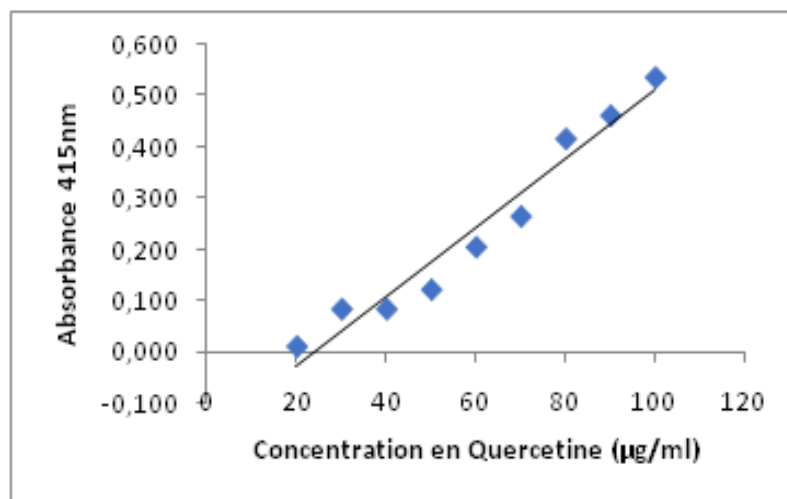
1 Une étude similaire a été réalisé par Brahmi et *al.* (2013) à partir d'une extraction
2 méthanolique de fruit d'Olea europaea L. de deux variété Tunisienne « Chamlali et Neb jmel »
3 les valeurs obtenues en polyphénols varient de 497,48 mg équivalent d'Hydrotyrosole/100g de
4 poids sec de variété « Chamlali » et de 802,62 mg équivalent hydrotyrosole/100g de poids sec
5 de variété « Neb jmel ».

6 D'autre part Ben Othman et *al.* (2009), ont déterminé la teneur en PPT à trois stades
7 différentes de la maturation des fruits d'olive Tunisienne de variété « Chetoui » dont les valeurs
8 sont de 2258 ± 130 mg EAG/100g de poids frais (fruit non mature), de 2233 ± 158 mg EAG/100g
9 de poids frais (Fruit en post-maturité) et de 176 ± 40 mg EAG/100g de poids frais (Fruit mur).

10 Ils ont constaté une importante variation en teneurs phénoliques qui diminue au fur et à
11 mesure de la maturation du fruit. La teneur phénolique dans un extrait de fruit peut être
12 influencée par le stade de maturité de fruit.

13 3.2.2 La teneur en Flavonoïdes totaux :

14 La valeur obtenue pour le dosage des Flavonoïdes totaux en utilisant l'équation de la courbe
15 d'échantillonnage ($y = 0,0067x - 0,1623$ et $R^2 = 0,95$) (Fig. 13) de standards la quercétine est de
16 $10,01 \pm 0,64$ mg EQ/g RS.



26 **Figure 13:** Courbe d'étalonnage de la quercétine

27 La teneur en flavonoïde obtenue dans notre extrait est importante en comparant avec ceux
28 rapportés par la littérature.

1 Les valeurs obtenues en flavonoïdes par Ebrahimzadeh et *al.* (2009) à partir d'une
2 extraction aqueuse et méthanolique d'extrait de fruit de Sureau Hièble « *Sambucus ebulus*
3 *elburensis* » est de $23,80 \pm 0,17$ mgEQ/g de poids sec (extrait aqueux) et $14,70 \pm 0,09$ mgEQ/
4 g de poids sec qui sont supérieures à notre valeur ($10,01 \pm 0,64$ mg EQ/g RS) .

5 Cette différence de teneur en flavonoïdes semble liée à l'espèce étudiée, la teneur en
6 composés flavonoïdes totaux diffèrent d'une espèce à une l'autre (Brahmi et *al.*,2013 ; Brahim
7 et *al.*,2016).

8 Par contre notre valeur est largement supérieure à celles obtenues par Brahim et *al.*
9 (2016) à partir de fruits de deux variété (sauvage et domestique) de caroube Marocaine
10 (*Ceratonia siliqua* L.) donc la valeur maximale en flavonoïdes totaux est de 1.02 mgEQ/g de
11 poudre sèche pour les variétés « sauvage » et de 0,73mgEQ/g de poudre sèche pour les variétés
12 « domestique »

13 D'autre part une étude similaire a été effectuée par Brahmi et *al.* (2014) à partir d'une
14 extraction méthanolique d'extrait de fruit d'*Olea europaea* de deux variété Tunisienne dont les
15 valeurs en flavonoïdes sont de 222,89 mg E Catéchine/ 100g de poids sec pour variété «
16 Chetoui » et de 174,32 mg E Catéchine/100g de poids sec pour variété « Chamchali » et conclu
17 que la teneur en flavonoïdes totaux varie d'une variété à une autre.

18 Selon Brahmi et *al.*(2013), la teneur en flavonoïdes totaux dans les olives varie en
19 fonction de la maturité, ils ont enregistré des variations importantes de la teneur en flavonoïde
20 au niveau de deux variétés d'*Olea europaea* durant leur maturation, qui augmente au début de
21 la maturité et chute à la maturité dont les valeurs sont représentées dans le (Tab.3).

22 **Tableau 3:** Teneurs en flavonoïde dans le fruit durant la maturité (Brahmi et *al.* 2013)

Les variétés	Les teneurs en Flavonoïdes totaux dans le fruit d'olive	
	Octobre (fruit non mur)	Janvier (fruit mur)
Chamlali	263,62 mgEC/100 g de PS	160,1 mgEC/100 g de PS
Neb jmel	454,70mgEC/100g de PS	95,84mgEC/100g de PS

23

3.2.3 La teneur en Tannins totaux :

Le résultat obtenu pour le dosage des Tannins totaux (TT), en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage ($Y = 0,0005x - 0,0467$ et $R^2 = 0,99$) (Fig. 14) de standards d'acide tannique est de : $51,79 \pm 0,20$ mg EAT/g RS.

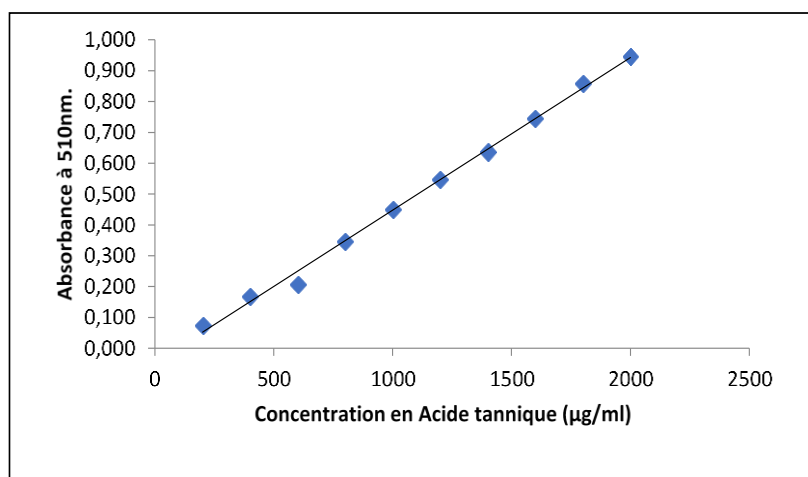


Figure 14: Courbe d'étalonnage à l'acide Tannique.

Quant aux tannins totaux $51,79 \pm 0,20$ mg EAT/g RS, les résultats apportés par la littérature montrent que la teneur en tanins totaux est très importante dans les Fts de l'olivier de Laperrine en comparant la valeur obtenue à celles rapportées par Brahim et *al.*(2016) à partir de fruits de deux variété (sauvage et domestique) de caroube Marocaine (*Ceratonia siliqua* L.) donc la valeur maximale en tanins est de $1,02 \pm$ mg équivalent de pro-anthocyanidine/ g de poudre sèche pour les variétés « sauvage » et de $0,68$ mg équivalent de pro-anthocyanidine / g de poudre sèche.

D'autre part Brahmi et *al.* (2013) ont déterminé la teneur en tanins totaux à partir d'extrait méthanolique de fruit de deux variétés d'olive, ils ont obtenu pour les tannins totaux une valeur de $78,08$ mg EC/100g de poids sec pour la variété « Chamlali » et $83,73$ mg EC/100g de poids sec pour «Neb jmel », ils ont montré une variation inter-variétale en teneur du tanins totaux.

Dans notre étude nous avons obtenu une valeur importante en tanins totaux par rapport aux flavonoïdes totaux et aux polyphénols totaux, ce résultat pouvant être en rapport avec le solvant utilisé car l'eau permet d'extraire une forte quantité des tanins par rapport à d'autres solvant comme méthanol et éthanol (Mahmoudi et *al.* 2012) et d'autres part une faible teneur en flavonoïde par rapport au polyphénols totaux ceci pourrait être expliqué par la présence en grande pourcentage des polyphénols non flavonoïdes tels que Hydrotyrosole qui est considéré

1 comme le composé le plus abondant dans les fruits d'olive, de l'oleuropéine et de tyrosol
2 (Vinha et *al.*,2005 ; Sousa et *al.*,2008) ainsi que la nature du solvant, selon Mahmoudi et *al.*
3 (2012) l'éthanol et acétone sont les meilleurs extracteurs des flavonoïdes que l'eau.

4 A lumière de l'ensemble de ces analyses et de ces études comparatives concernant la
5 teneur en polyphénols de notre extrait et ceux publiées dans la littérature, notre extrait se montre
6 très riche en polyphénols.

7 Cette richesse en polyphénols de notre extrait de Fts d'olivier de Lapperine pourrait être
8 expliqué par plusieurs paramètre.

9 Premièrement sa localisation, cette sous-espèce se trouve dans un milieu aride et dont
10 la température est très élevée, selon Lutz,(1928) la forte luminosité favorise la formation des
11 tanins ce qui corrobore à sa forte teneur en tanins totaux.

12 secundo c'est une sous-espèce qui se trouve sous l'influence de plusieurs agressions
13 dans son milieu naturel ceci pourrait induire la synthèse des métabolites secondaire entre autres
14 les composés phénoliques (Tattini et *al.* 2006).

15 Comme souligné par Mancheix et *al.* (1996) les polyphénols sont caractérisés par une
16 répartition qualitative et quantitative très inégales selon l'espèce considérés mais aussi les
17 organes, les tissus et les stades physiologiques.

18 **4 Évaluation de L'Activité antioxydante de l'extrait de fruit :**

19 La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'extrait de fruit d'olivier de Laperrine a été
20 réalisé par le test de la capacité antioxydante totale (CAT) ,et le test de la réduction de fer
21 (FRAP).

22 **4.1 La capacité antioxydante totale CAT :**

23 Nous notons sur la (fig. 15) une augmente de l'absorbance (Densité optique) de notre extrait en
24 fonction de l'augmentation de la contraction.

25 Cette augmentation d'absorbance qui serait probablement dû à la réduction des ions molybdate
26 Mo (VI) en molybdène Mo (V) qui traduit la capacité antioxydante de notre extrait.

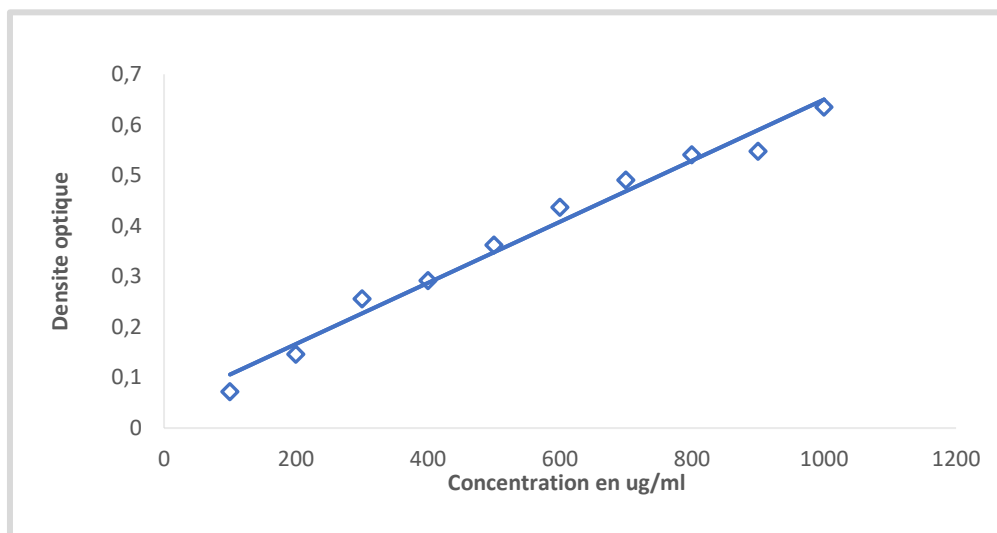


Figure 15: Évolution de l'absorbance avec la concentration d'extrait de fruit.

A partir de l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = 0,0065x - 0,0278$ et $R^2 = 0,99$) de référence acide ascorbique, nous avons obtenu une valeur de $154,05 \pm 6,22$ mg équivalent Acide Ascorbique/g de résidu sec (mg EAA/g de RS) correspondant à la capacité antioxydante totale de l'extrait de fruits d'olivier de Laperrine. Cette capacité antioxydante globale de notre extrait testé est importante et serait probablement en rapport à la teneur en polyphénols dans l'extrait (Vinha et al.,2005 ; Touaibia et Chaouch,2014)

Cette remarque confirme le résultat de plusieurs auteurs qui ont relié l'activité antioxydante d'un extrait végétal à sa teneur en polyphénols et à la nature chimique de ces composés (Ryan et Robards,1998 ;Vinha et al.,2005; Ferreira et al.,2006 Bouskou et al.,2006; Do et al.,2013; Touaibia et Chaouch,2014).

Dans les travaux de Vinha et al. (2005), ils ont déterminé la nature des composés phénoliques d'extrait de fruit de 18 cultivars d'olive Portugaise, provenant des différentes régions de Portugal, ils ont identifié la présence de l'hydrotyrosole, lutéoléine, la rutine, de l'Oleuropéine, la quercétine, 7-O-glucoside, 3-O-rutinoside et Cyanidine, l'acide caféique dont les composés majoritaires étaient hydrotyrosole et Oleuropéine et lient l'activité antioxydante à la teneur et à la nature des composés phénolique présent dans les olives.

D'autres part Touaibia et Chaouch (2014), ont déterminé la capacité antioxydante de trois extraits : aqueux, méthanolique et éthanolique des feuilles de *Myrtus nivelli* (Myrtaceae) et évaluent l'extrait éthanolique comme possédant la plus grande activité antioxydante par rapport aux deux autres et relie cette forte activité antioxydante des extraits éthanoliques à sa teneur en polyphénols car ces derniers sont capables de réduire les radicaux libres

1 par transfert d'hydrogène et sont des bons chélateurs de certains ions métalliques.

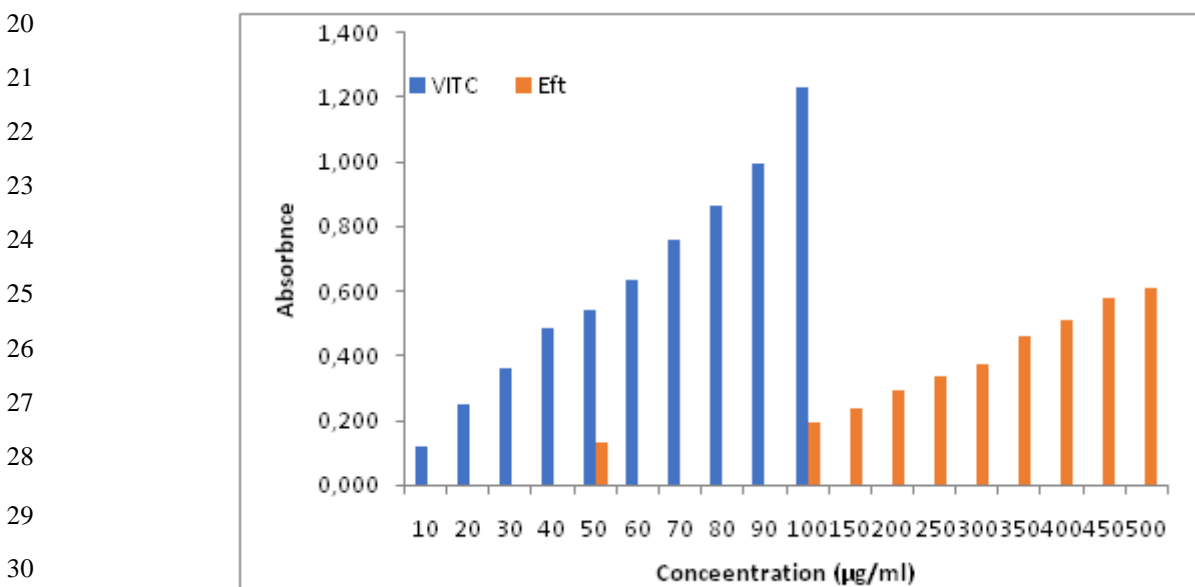
2 D'après Ryan et Robards (1998), la supériorité de l'huile d'olive en matière des
3 propriétés antioxydantes par rapport à certaine huile provient de sa richesse en certains
4 composés à savoir les tocophérols et les composés phénoliques, cette propriété antioxydante
5 diminue dans l'huile d'olive raffiné dû à la diminution de sa teneur en composés phénolique
6 par des traitements industriels.

7 La capacité antioxydante totale obtenue dans notre évaluation pourrait être expliqué par
8 la richesse de l'extrait de Fts d'Olivier de Laperrine en polyphénols, ce qui corrobore avec les
9 données publiées par Touaibia et Chaouch,(2015), qui ont déduit que l'activité antioxydante
10 des extraits dépend nécessairement du taux de polyphénols synthésisés et accumulés durant le
11 cycle végétatif de la plante.

12 4.2 Pouvoir réducteur sur le ferrocyanure de potassium (FRAP) :

13 Une évolution de densité optique (D.O) de notre extrait de Fts d'olivier de Laperrine en
14 fonction de la concentration. La vitamine C qui est utilisé dans notre analyse comme un contrôle
15 positif a montré une absorbance plus élevée par rapport à notre extrait (**Fig. 16**).

16 Augmentation du (D.O) est surement en rapport aux pouvoir réducteur de notre extrait
17 sur l'ion Fe^{3+} , ceci montre que notre extrait possède un pouvoir réducteur, selon Touaibia et
18 Chaouch,(2014) la présence des réducteurs (anti-oxydant) dans les extraits des plantes provoque
19 la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme Fe^{2+} .



31 **Figure 16:** Evolution de l'absorbance en fonction de la concentration d'extrait de fruit et de
32 l'acide ascorbique.

1 A partir de l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = 0,0113 + 0,0007x$ et $R^2 = 0,98$) de standards
 2 l'acide ascorbique, nous avons obtenu un pouvoir réducteur de notre extrait d'une valeur de
 3 $224,67 \pm 6,22$ mg EVitC/g de résidu sec (mg équivalent de vitamine C par gramme de résidu
 4 sec).

5 L'extrait de Fts d'olivier de Laperrine possède un pouvoir réducteur très important en
 6 comparant avec les données publiées qui pourrait probablement lier à sa teneur en polyphénols
 7 ainsi que la nature chimique des composés phénoliques présents.

8 Dans les travaux de Hajimahmoodi *et al.* (2008), qui ont effectué des analyses sur 6
 9 cultivars d'Olive Iranienne, et ils ont déterminé pouvoir réducteur des 6 cultivars, ils ont obtenu
 10 des valeurs qui diffèrent d'un cultivar à un autre dont les données sont représentées dans le
 11 (Tab.4). Ils ont relié le pouvoir réducteur des extraits à la teneur en polyphénols.

12 **Tableau 4:** les valeurs des pouvoir réducteurs obtenues par le test de FRAP avec les fruits
 13 d'olive de quelques cultivars d'Olea europaea L.(Hajimahmoodi *et al.* 2008).

Les cultivars	Pouvoir réducteur (FRAP)	Références bibliographiques
Conservalina	$3,161 \pm 0,164$ g E Vit E/100g de PS	Hajimahmoodi <i>et al.</i> (2008)
Blaidy	$6,668 \pm 0,534$ g E Vit E/100g de PS	
Amphisis	$7,293 \pm 0,284$ g E Vit E/100g de PS	
Shengeh	$7,725 \pm 0,574$ g E Vit E/100g de PS	
Cronaiky	$5,545 \pm 0,312$ g E Vit E/100g de PS	
Mishen	$8,331 \pm 0,434$ g E Vit E/100g de PS	

14

15 Nous avons déterminé IC50 de notre extrait qui correspond à la concentration de l'extrait
 16 permettant d'avoir une inhibition de 50% des molécules instables. Plus cette IC50 est faible
 17 plus le pouvoir réducteur est important.

1 Nous obtenons une IC50 de notre extrait d'une valeur de 387,5µg/ml ce qui est
2 largement inférieure à la valeur obtenue pour la molécule de référence (la vitamine C), nous
3 enregistrons une IC50 de 44,19µg/ml.

4 Cette différence pourrait être expliquée du fait que nous avons testé un extrait brut qui en
5 dehors des molécules possédant des activités réductrices il peut contenir d'autres molécules
6 pouvant s'interposer (une molécule antagoniste) son action concernant la réduction d'ion Fe³⁺,
7 donc il englobe plusieurs molécules de nature chimique différente contrairement à la vitamine
8 C qui est produit pur donc son action est spécifique et claire.

9 Plusieurs travaux sont effectués à la détermination de pouvoir réducteurs des extraits de fruit
10 d'olive de différente variété et relient ce pouvoir réducteur à la teneur en polyphénols.

11 Sousa *et al.* (2008) ont déterminé le pouvoir réducteur à partir d'extrait de fruit d'olive
12 de variété « alcaparras » dans quatre localités de Nord Est du Portugal, ils enregistrent dans la
13 localité de Bragança une valeur d'IC50 qui varie de 1,40 à 0,49 mg/ml, de Mirandela une valeur
14 d'IC50 qui varie de 1,64 à 0,59 mg/ml, de Macedo de Cavaleiro une valeur d'IC50 0,51 mg/
15 ml, et dans la localité Carvazela de Ansiaes une valeur d'IC50 de 1,51 mg/ml dans cette
16 dernière localité ils ont obtenu sur un extrait une valeur d'IC50 0,36 mg/ml qui correspond au
17 pouvoir réducteur le plus important.

18 Dans leurs Travaux ils ont relié l'activité antioxydante de leurs extraits à la teneur et au
19 nature chimique des polyphénols, du fait que cette composition phénolique varie au niveau des
20 fruits durant le cycle de développement en particulier les polyphénols: l'oleuropéine diminue
21 et le tyrosol et l'hydroxytyrosol augmentent ce qui peut avoir une influence sur leur activité
22 antioxydante (Sousa *et al.* 2008), et ils ont conclu que l'activité antioxydante d'un extrait varie
23 d'une espèce à une autre et proportionnellement lié à la teneur en polyphénols.

24 D'autres part Zachwieja *et al.* (2003) ont effectué une étude comparative du contenu des
25 principaux composés antioxydants et de leurs activités antioxydante de deux fruits :
26 Pamplémousse Blanc et son nouvel Hybride (Citrus paradisi var Jaffa Sweetie).

27 Dans leurs études, ils ont obtenu des teneurs en polyphénols totaux et des activités
28 antioxydantes totale (AAT) différentes dont l'hybride présentait une teneur en polyphénols
29 totaux de 171,9 ± 9,1 µmole EAG/g de PS (micromole d'équivalent acide gallique / gramme
30 de poids sec) et une AAT de 105,4 ± 7,1 µmole ET /g de PS (micromole d'Equivalent de Trolox
31 par gramme de poids sec) plus important que ceux obtenues dans le Pamplémousse blanc en

1 polyphénols totaux $134,0 \pm 8,9 \mu\text{m EAG/g}$ de PS ainsi qu'en AAT $100 \pm 9,8 \mu\text{mole ET /g}$
2 de PS.

3 Ainsi l'activité antioxydante contre les radicaux peroxytes obtenu par l'extrait d'hybride
4 du pamplemousse est plus élevée que celle du pamplemousse blanc, de ce fait, ils relient la forte
5 activité antioxydante obtenue dans le fruit hybride à sa richesse en polyphénols ainsi que la
6 nature chimique de ces composés entre autre les composés d'acide hydroxycinnamique (acide
7 férulique, acide caféique, acide anisique et p-coumarique) dont le composé majoritaire était
8 acide férulique.

9 Aux regards de ces données publiées notre extrait de Fts peut être reconnu comme possédant
10 un pouvoir réducteur important qui caractérise un potentiel effet anti-oxydant d'un extrait
11 (Touaibia et Chaouch,2014).

12 Notre extrait de Fts présente un pouvoir réducteur remarquable, de ce fait il pourrait
13 contenir des composés ayant la capacité de céder des protons ou d'électrons pour réduire une
14 molécule instable dans une solution, ce qui résume le potentiel activité antioxydante d'un
15 extrait.

16 Cette activité antioxydante est en rapport avec sa richesse en composés phénolique ce
17 qui est en accords avec le résultat de plusieurs études publiés (Covas et *al.*,2001 ; Vinha et
18 *al.*,2005; Bouaziz et *al.*,2005 ; Bouskou et *al.*,2006 ; Brahmi et *al.*,2013) qui ont montré que
19 l'activité antioxydante d'un extrait est proportionnelle à la teneur quantitative et qualitative en
20 polyphénols.

21 Plusieurs études montrent que cette activité antioxydante peut être influencer au niveau
22 des fruit en fonction du cycle de maturation et le type de solvant utilisé pour l'extraction des
23 polyphénols, c'est primordial de choisir un solvant qui peuvent extraire les polyphénols en
24 préservant leurs activités biologiques (Mahmoudi et *al.*,2012 ; Alam et *al.*,2012 ; Brahmi et
25 *al.*,2013).

Conclusion Générale et Perspective

1 **5 Conclusion :**

2 A l'issu de ce travail, dans lequel nous sommes intéressés à effectuer une analyse
3 quantitative d'extrait de fruits (Fts) d'olivier de Laperrine et de porter une évaluation sur les
4 propriétés antioxydantes de l'extrait par deux test FRAP et CAT.

5 Il s'est avéré que l'extrait de Fts d'olivier de Laperrine est riche en polyphénols des teneurs
6 importantes en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins totaux, dont ces molécules
7 sont susceptibles d'avoir une activité antioxydantes importantes.

8 L'évaluation des propriétés antioxydantes par les deux tests montrent un pouvoir réducteur
9 satisfaisant, de ce fait, notre extrait pourrait contenir des composés ayant la capacité de céder
10 des protons ou d'électrons pour réduire une molécule instable dans une solution, ce qui
11 caractérise le potentiel activité antioxydante d'un extrait.

12 Cette propriété antioxydante que possède notre extrait est en rapport avec sa richesse en
13 polyphénols ce qui est en accord avec les données de plusieurs auteurs.

14 A travers l'ensemble de ces résultats, il en ressort que l'extrait de Fts d'olivier de Laperrine
15 peut être considérée comme une source importante des molécules aux propriétés réductrices
16 dont antioxydantes, de ce fait ces composés phénoliques de l'extrait de Fts d'olivier de
17 Laperrine peuvent être extraits et être utilisés dans un but thérapeutique contre les maladies liés
18 au stress oxydant ou utilisé en tant qu'anti-oxydant dans le domaine agro-alimentaire comme
19 alternative aux molécules synthétiques qui ont toujours des effets secondaires.

20 Il serait utile d'effectuer une analyse chromatographique sur un extrait de fruit d'olivier de
21 Laperrine et d'identifier la nature chimique des molécules phénoliques qu'il contient et de
22 mettre un point sur les molécules responsables de cette activité antioxydante que possède notre
23 extrait brut, d'envisager d'autre méthode d'extraction des composés phénoliques de Fts
24 d'olivier de Laperrine avec de solvant différent pour déceler les différences en teneur et en
25 activité biologique.

26 Il serait important de prendre en considération la protection de cette sous espèce de la famille
27 des Oleaceae par des programmes de protection vis- à vis de son caractère résistant et de sa
28 richesse en composé phénolique.

Références Bibliographiques

6 Les références bibliographiques :

Aiche-Iratni G., Moualek I., Mestar-Guechaoui N., Mezaache-Aichour S., Zerroug M.M., Houali K. (2015). In vitro evaluation of biological activities of Pistacia lentiscus aqueous extract. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 7(11): 133-139

Alain Hugues O. N'Guessan, Camille E. Dago Déliko, Janat A. Mamyrbékova-Békro, Yves-Alain Békro (2011) : Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire, Revue de génie industriel 2011, 6, pp55-56

Alam Md. Nur, Nusrat J., Md. Rafiq uzzaman (2012): Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, University, Savar, Dhaka-1342, Bangladesh, Saudi Pharmaceutical journal: pp9

Anthelme Fabien A Afane Abdoukader A. Guillaume Besnard (2008): Distribution, shape and clonal growth of the rare endemic tree *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Oleaceae) in the Saharan mountains of Niger (2008) 198: pp: 74-75

Baali-Cherif D, G. Besnard (2005): High genetic diversity and clonal growth in relict populations of *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Oleaceae) from Hoggar, Algeria. Annals of Botany, 96 : pp : 823-824

Baali-cherif D. (2007) : Etude des populations d'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*) du Sahara central Algérien (Hoggar et Tassili) ; Aspects biologiques et caractérisation moléculaire. Thèse de doctorat. USTHB. Alger .

Baali-cherif D., Bouguedoura N., Besnard G. et Bouhired L. (2007). Etude des populations de l'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei* Batt. & Trab.) du Sahara central Algérien (Hoggar et Tassili): aspects biologiques et caractérisation moléculaire. Annales de l'Institut National Agronomique-El-Harrach; Vol.28 N° 1 et 2 ; pp : 40-51

Barouk Robert (2006) : Stress oxydant et vieillissement, Médecine-science; N°3, Vol 22 : pp268-269

Battandier J.A. et Trabut L. (1911). Contribution à la flore du pays des Touareg. Bull. Soc. Bot. Fr, pp: 623-629

Battandier Mm. J.-B & L. Trabut (1911) : Contribution à la Flore du pays des Touaregs (Suite), Bulletin de la Société Botanique de France, 58:6, 669-677, DOI: 10.1080/00378941.1911.10832371.

- 1 **Beaudeau J.-L., J. Peynet, D. Bonnefont-Rousselot, P. Therond, J. Delattre, A. Legrand (**
2 **2006)** :Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote Implication dans la
3 transcription et la régulation des gènes , Ann Pharm Fr 2006, 64: pp376-377
- 4 **Bekkara Atik, I.A. El-Haci , F., A. Didi, M. Gherib, M.A. Didi (2012)** : Teneurs en polyphénols et
5 pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien, Phytothérapie ;pp2
- 6 **Ben Othman Nada, Dominique Roblain, Nadia Chammen, Philippe Thonart, Moktar Hamdi**
7 **(2009)**: Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives, Food.
8 Chemistry 105: pp666-667
- 9 **Bennick Anders (2002)**: Interaction of plant polyphenols salivary proteins, Crit Rev Oral Biol Med
10 13(2): pp184-185
- 11 **Bergeron Chantal. (2012)**: Overview of the Chemistry of Primary and Secondary Plant Metabolites,
12 Tom's of Maine, Kennebunk, Maine, USA, Chapitre 2, Biorefinery.Co-products 18: pp24-30
- 13 **Besnard G. (2009)** : Génétique et évolution des plantes en milieu méditerranéen et tropical Université
14 des Science et de technologiques de Lille 1.46 : pp : 2-18
- 15 **Besnard G., Anthelm F. and Baali – cherif D. (2012).** The Laperrine's olive tree (Oleaceae): a wild
16 genetic resource of the cultivated olive and a model – species for studying the biogeography of the
17 Saharan mountains. Acta Botanica Gallica, 159: 3, pp: 320-324.
- 18 **Bouaziz M, RENEE J. Grayer, Monique S. J. Simmonds, M Damakand S. Sayadi (2005)**:
19 Identification and Antioxidant Potential of Flavonoids and Low Molecular Weight Phenols in Olive
20 Cultivar Chamlali Growing in Tunisia, J. Agric. Food Chem, vol 53, N° 2: pp240
- 21 **Bouaziz Mohamed, M. Chamkha, and S. Sayadi (2004)**: **Comparative** Study on Phenolic Content
22 and Antioxidant Activity during Maturation of the Olive Cultivar Chamlali from Tunisia, La
23 boratoire des Bio procedes, Centre de Biotechnologies de Sfax, BP "K", 3038 Sfax, Tunisia,
24 J.Agric. Food. Cham Vol 52, N° 17: pp5477-5480
- 25 **Bouskou G, Fotini N. Salta, S. Chrysostomou, A. Mylona, A. Chiou, Nikolaos K. Andrikopoulos**
26 **(2006)**: **Antioxidant** capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market
27 Laboratory of Food Chemistry-Bio-Chemistry-Physical Chemistry, 94: pp561-563
- 28 **Brahim El Bouzdoudi1, Zineb Nejjar El Ansari1, Ionel Mangalagiu, Dorina Mantu, Alain Badoc,**
29 **Ahmed Lamarti (2016)**: Determination of Polyphenols Content in Carob Pulp from Wild and
30 Domesticated Moroccan Trees, Faculty of Sciences, Abdel Malek Essaadi University, Tetouan,
31 Morocco, America Journal of Plant Science, 7: pp1944-1946

- 1 **Brahmi F., Beligh M., Madiha D., Mohamed H. (2014):** Variation in antioxidant activity and phenolic
2 content in different organs of two Tunisian cultivars of *Olea europaea* L., *Acta Physiol Plant*
3 36:169–178
- 4 **Brahmi Faten, Beligh M., Madiha D., Mohamed H., (2013):** Variations in phenolic compounds and
5 antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different
6 seasons, UR “Human Nutrition and Metabolic Disorder”, Faculty of Medicine, Monastir 5019,
7 Tunisia, *Industrial Crops and Products* 49: pp261-264
- 8 **Bruneton Jean(2009) :** pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4^{éd.}), p263-943,
9 [Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales \(4e éd.\) - BRUNETON Jean - Google Livres](#)
- 10 **Calatayud Paul-André, Jean-Pierre Garrec et Michel Nicole (2013) :** Adaptation des plantes aux
11 stress environnementaux , chapitre 14, p239,[Adaptation des plantes aux stress environnementaux-](#)
12 [fdi:010060094- Horizon \(ird.fr\)](#)
- 13 **Camille Migdal, Mireille Serres (2011) :** Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant, Université
14 Lyon 1, EA 41-69, Laboratoire de recherche dermatologique, *Médecine-Science* 27 : pp405-411
- 15 **Carrière Audrey, Anne Galinier, Yvette Fernandez, Maria-Carmen Carmona, Luc Pénicaud,**
16 **Louis Casteilla (2006)** Les espèces actives de l’oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie,
17 *Médecine-Science* 22 : pp49-50
- 18 **Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in
19 propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3):
20 178-182.
- 21 **Claire Parent, Nicolas Capelli, James Dat (2008) :**Formes réactives de l’oxygène, stress et mort
22 cellulaire chez les plantes C. R. *Biologies* 331 : pp256–258
- 23 **Do Quy D, Artik Elisa A., Phuong Lan Tran-N, Lien Huong H, F. E. Soetaredjo, S. Ismadji, Yi-**
24 **Hsu Ju (2013):** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and
25 antioxidant activity of *Linnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis* 1 -7
- 26 **Ebrahimzadeh Mohammad Alia, Eh sanifar Somayyeha Eslami Bahmanb (2008):** *Sambucus*
27 *ebulus elburensis* fruits: A good source for antioxidants, *Phcog Mag Vol 4 / No 19:* pp215-216
- 28 **Edziri H, Mastouri M, Aouni M, et al (2012):** Polyphenols content, antioxidant and antiviral activities
29 of leaf extracts of *Marrubium deserti* growing in Tunisia. *South Afr J Botany* 80:pp104
- 30 **Favier Alain (2003) :**Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des
31 mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique 8 l’actualité chimique - novembre-décembre,
32 *Actu. Chimique:* pp109-112

- 1 **Filippis De L. F. (2016):** Plant secondary metabolites: From molecular biology to health products
2 School of the Environment, Chapitre 15: pp263-272
- 3 **Gene et Monica Spiller (2007) :** Tout savoir sur les fibres , Laguna Beach, CA, 92-651. pp26-28
- 4 **Ghedira K. (2008) :** L'olivier , Pharmacognosie, Professeur, enseignant au Dumenat de Phytothérapie,
5 Tunisie Phytothérapie 6: pp85–86
- 6 **Goudable Joelle, Alain Favier .(1997) :** Radicaux libres oxygènes et antioxydants. Nutr Clin Mdtabol
7 1997; 11:115-20 Nutr Clin Mdtabol 11: pp116-117
- 8 **Green P. S. (2002):** A revision of *Olea L.* (Oleaceae), KEW BULLETIN 57: pp: 93-94
- 9 **Griveau J. F. et D. L Lannou (1995)** Radicaux libres et spermatozoïdes humains : physiologie et
10 physiopathologie, France Andrologie, 5, n : 3 : pp372-373
- 11 **Hagerman A.E., Butler L.G. (1978).** Protein precipitation method for the quantitative determination
12 of tannins. Journal of Agricultural and Food chemistry, 26(4): 809-812.
- 13 **Hajimahmoodi, Sadeghi B Jannat, M. R, Oveisi, S. Madani, M. Kiavi, M.R Akramic and A.M.**
14 **Ranjbar (2008):** Antioxydant Activity Reducing Power and total phenolic content of the Iranian
15 olive cultivar, department of Drug and Food control faculty of Pharmacy, journal of science 8(4):
16 pp781-782
- 17 **Haleng J., J. Pincemail, J.O. Defraigne, C. Charlier, J.P. Chapelle (2007):** Le stress oxidant, Rev
18 Med Liege 2007; 62: 10: pp628-630
- 19 **Halliwell B. and Helen W. (1996):** Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in
20 inflammatory disease and progression to cancer, Biochem. J. 313, 17–29 (Printed in Great Britain).
- 21 **Halliwell B. D.Sc., Sacramento, California (1991):** Reactive Oxygen Species in Living Systems:
22 Source, Biochemistry, and Role in Human Disease, 3C-14S September 30, 1991 the American
23 Journal of Medicine Volume 91 (suppl 3C): pp14-16
- 24 **Harborne Jeffrey B. (1779):** Plant Secondary Metabolism, Blackwell Science, Chapitre 5: pp132-136
- 25 **He Zhiyong, W. Xia Key (2007):** Analysis of phenolic compounds in Chinese olive (*Canarium album*
26 L.) fruit by RPHPLC–DAD–ESI–MS, Chin, Food Chemistry 105: pp1310–1311
- 27 **Hennebelle T, S. Sahpaz, F. Bailleu (2004) :** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel
28 dans la lutte contre le stress oxydatif, Phytothérapie. Numéro 1: pp4-5
- 29 **Hopkins W.G. (2003).** Physiologie végétale. Chapitre 14 : métabolisme et molécules : p267-281

- 1 **Hsu Yi Ting and Ching Huei Kao (2003):** Changes in protein and amino acid contents in two cultivars
2 of riceseed lings with different apparent tolerance to cadmium, *Plant Growth Regulation* 40: 147–
3 155
- 4 **Joanny Menvielle-Bourg (2005) :** La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais
5 disponible par voie orale, *Phytothérapie* N 3: pp118-121
- 6 **Leverve Xavier (2009) :** Stress oxydant et antioxydants ? *Cahiers de nutrition et de diététique*
7 44 :pp220—221
- 8 **Lutz L. (1928)** Sur le rôle biologique du tanin dans la cellule végétale, *Bulletin de la Société Botanique*
9 de France, 75:1 : pp8-13,
- 10 **Macheix-Jacques(1996) :** Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives a la fin du
11 XXème siècle ?*Acta bot. Gallica*, 1996, 143, 473-479.
- 12 **Mahmoudi Souhilaa , K.Mustaphaa et M.Nacérab (2012)** Etude de l'extraction des composés
13 phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus*
14 L.),*Rev.Nat.Trch.B.Scién-Agro et Biol. N°09* : pp37-39
- 15 **Mansour A ., 2009** – Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce *centaurea africana*.
16 Mémoire de magister, Univ. Constantine, p7
- 17 **Matés José M, Cristiana P-Gomez, and Ignacio N. DE Castro (1999) :**Antioxydant Enzymes and
18 Human Diseases, *Clinical Bio Chemistry*, Vol. 32, No. 8, pp595–597
- 19 **Matés José M. and Francisca Sánchez-Jiménez (1999):** Antioxidant enzymes and their implications
20 in paratha physiologies processes, *Frontiers in Bioscience* 4, pp341-342
- 21 **Morello J-R. N, Maria-P Romero, and Maria-J. Motilva (2004):** Effect of the Maturation Process of
22 the Olive Fruit on the Phenolic Fraction of Drupes and Oils from Arbequina, Farga, and Morrut
23 Cultivars, *J. Agric. Food Chem.* 52, pp6004–6008.
- 24 **Moualek I., Iratni Aiche G., Mestar Guechaoui N., Lahcene S., Houali K. (2016).** Antioxidant and
25 anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical*
26 *Biomedicine*, 6(11): 937–944.
- 27 **Mouzaoui k. Yazzagl., Moulti Mati F. (2014) :** Composés phénoliques des grignons d'olive provenant
28 d'huileries traditionnelle et moderne : essai de purification de l'oleuropéine et de l'hydrotyrosol.
29 *Sciences & Technologie C – N°40 Décembre*, pp.9-15
- 30 **Naczk M and Shahidi F. (2003)** Phenolics in food and nutraceuticals. *Boca Raton, FL: CRC*
31 *Press.Chapitre10Methods of Analysis and Quantification of Phenolic Compounds*, p483-485.

- 1 **Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reaction. Antioxidative Activities of Products of
2 Browning Reaction Prepared from Glucosamine. The Japanese journal of nutrition and dietetics,
3 44(6): 307-315.
- 4 **Prieto P., Pineda M., Aguilar M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity
5 through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the
6 determination of vitamin E. Analytical biochemistry, 269(2): 337-341.
- 7 **Puthur Jos T (2016):** Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants, Department of
8 Botany, South Indian Journal Science 2(1): pp15-16
- 9 **Quideau Stéphane, V Lattanzio, Paul A. Kroon and Dieter Treutte (2008):** Plant Phenolics –
10 Secondary Metabolites with Diverse Functions, Recent Advances in Polyphenol Research, Volume
11 1, Chapitre 1: pp1-11
- 12 **Rahman Khalid (2007):** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors, School of Biomolecular
13 Sciences, Interventions in Aging: 2(2), pp223-224.
- 14 **Rahman Taibur, Ismail Hosen, M. M. Towhidul Islam, H. Uddin Shekhar (2012):** Oxidative stress
15 and human health, University of Dhaka, Dhaka, Advances in Bioscience and Biotechnology, 3:
16 pp999
- 17 **Ramakrishna Akula and Gokare A. Ravishankar (2011):** Influence of abiotic stress signals on
18 secondary metabolites in plants Plant Cell; Central Food Technological Research Institute, Plant
19 signaling et Behavior 6: 11, pp1720-1721
- 20 **Rubio de Casas R., Besnard G., Schoenswetter P., Balaguer L. and Vargas P. (2006).** Extensive
21 gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *olea europaea* L. Theor. Appl. Genet.
22 113, pp: 575-583.
- 23 **Ryan Danielle and Kevin Robards Charles (1998):** Phenolic compounds in olives, Charles Sturt
24 University Riverina, Analyst, Vol 123: pp31-35
- 25 **Ryan Danielle, Michael Antonovich, Paul Prenzler, Kevin Robards and Shimon Lavee (2002):**
26 Biotransformation of phenolic compounds in *olea europaea* L. Scientia Horticulturae 92, pp 147-
27 148
- 28 **Samec Dunja, Erna Karalija, Ivana Šola, V. Bok and Branka S. Sondi (2021):** Review the Role of
29 Polyphenols in Abiotic Stress Response: The Influence of Molecular Structure 1, Plants, 10, 118:
30 pp1-15

- 1 **Scarpeci Telma E, Maria I. Zanor, Nestor Carrillo, Bernd M-R. Estela, M. Valle (2008):**
2 Generation of superoxide anion in chloroplasts of *Arabidopsis thaliana* during active
3 photosynthesis: a focus on rapidly induced genes, *Plant Mol Biol*, 66: pp361–362
- 4 **Singleton V. L., Rossi J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic
5 phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144
- 6 **Sousa A, Isabel C. F. R. Ferreira, R. Calhelha, Paula B. Andrade, P. Valentao, R. Seabra, L.**
7 **Estevinho, A. Bentoa and Jose A. Pereira. (2006):** Phenolics and antimicrobial activity of
8 traditional stoned table olives ‘alcaparras’ *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **14**, 8533–8535
- 9 **Sousa A., I.C.F.R. Ferreira, Lillian B., Albino B., Jose A. Pereira CIMO/Escola Superior A.,**
10 **(2008):** Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional
11 stoned table olives “alcaparras” Instituto Politecnico de Braganca, Campus de Sta Apolonia,
12 Apartado 1172, 5301-855 Braganca, Portuga, *LWT* 41, pp742–744,
- 13 **Stalikas Constantine D. (2007):** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and
14 flavonoids, *J. Sep. Sci.* 30, pp3269 – 3270
- 15 **Tattini M, D. Remorini, P. Pinelli, G. Agati, Erica Saracini, Maria L. Traversi and R. Massai**
16 **(2006):** Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone
17 salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean ever green shrubs, *Myrtus communis*
18 and *Pistacia lentiscus*, *New Phytologist*, 170: pp788–790.
- 19 **Touaibia M. et F. Z. Chaouch (2014) :** Evaluation de l’activité antioxydante des extraits aqueux,
20 méthanolique et éthanolique de l’espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt et Trab.
21 (*Myrtaceae*). *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 6 No.
22 3 July, pp. 407-413
- 23 **Touaibia M. et F. Z. Chaouch (2015) :** Propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de
24 *Myrtus nivellei* Batt et Trab. obtenus in situ et in vitro. *Phytothérapie* DOI 10.1007/s10298-015-
25 1011-6
- 26 **Turrens Julio F. (2003):** Mitochondrial formation of reactive oxygen species, Department of
27 Biomedical Sciences, *J. Physiol* 552,2: pp337-339
- 28 **Vinha Na F, Federico Ferrers, Branca M. Silva, Patricia Valentao, Ana Goncalves, Jose A.**
29 **Pereira, M. Beatriz Oliveira, Rosa M. Seabra, Paula B. Andrade 2005:** Phenolic profiles of
30 Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin, *Food*
31 *Chemistry* 89: pp565–567

32

1 **Zachwieja Z, S. Gorinsteina, E. Katricha, E. Pawelzic, R. Haruenkitd, S. Trakhtenberge, Olga**
2 **M-Bellosof (2004):** Comparison of the contents of the main antioxidant compounds and the
3 antioxidant activity of white grapefruit and his new hybrid, Le bensm-Wiss. u.-Technol. 37, pp341-
4 342