

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences Alimentaires
Option : Industries des Corps gras



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude comparative de l'activité
antioxydante de deux variétés
d'huile d'olive**

Présenté par :

Medjedoub Imene

Soutenu le : **16 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

Mme.MAMOU F
Mme. MADDI O
Melle.ISSAADI O

MCB
MAA
MAA

Presidente
Encadreur
Examinatrice

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, je tiens à remercier tout d'abord le Bon Dieu le tout Puissant, qui m'a donné la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

*J'exprime mes vifs remerciements à ma promotrice **Mm Maddi.O** de m'avoir donné l'honneur de m'encadrer ainsi que pour ses conseils précieux. J'aimerais remercier aussi **Mm Zemouri.S** pour son orientation et son effort qui ont permis d'achever ce travail.*

*Mes sincères remerciements vont également à **Mm Taffinine.Z** et à l'ensemble des membres de jury, **Mm Mamou.F** en tant que présidente de jury, **Melle Issaadi.O** en tant que examinatrice, pour avoir mobilisé de leur temps pour examiner et juger ce travail.*

Tout mon amour et ma gratitude sont adressés, à ma famille, ainsi à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

♥ *A mes chers parents* ♥

♥ *A mes frères* ♥

♥ *A mes sœurs* ♥

♥ *A ma famille* ♥

♥ *A mes professeurs* ♥

♥ *A mes amies* ♥

♥ *A vous* ♥...

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

I. l'olive et technologie d'élaboration de l'huile d'olive.....2

I.1. L'olive2

I.1.1. Définition et Description de l'olive2

I.1.2. Composition chimique2

I.2. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive2

I.2.1. Effeuilage et lavage2

I.2.2. Broyage et malaxage3

I.2.3. Extraction de l'huile3

II. L'huile d'olive.....4

II.1. Définition de l'huile d'olive4

II.2. Composition de l'huile d'olive5

II.2.1. Fraction saponifiable5

II.2.2. Fraction insaponifiable5

II.3. Intérêt nutritionnel et thérapeutique de l'huile d'olive9

III. L'oxydation et les antioxydants de l'huile d'olive vierge.....10

III.1. Définition de l'oxydation et les antioxydants des huiles.....10

III.2. Les principaux antioxydants de l'huile d'olive10

III.2.1. Les composés phénoliques10

III.2.2. Les tocophérols10

III.2.3. Le squalène11

III.2.4. Les caroténoïdes11

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal12

I.1.Récolte des olives12

I.2. Extraction de l'huile12

II. Analyses physicochimiques effectuées sur l'huile d'olive13

II.1. Absorbance dans l'ultraviolet.....13

II.2. Humidité13

II.3. Acidité14

II.4. Indice de peroxyde15

III. Dosage des composés phénoliques15

III.1. Préparation des extraits15

III.2. Composés phénoliques totaux15

III.3. les Flavonoïdes16

III.4. les flavonols16

III.5. les ortho-diphénols16

III.6. Les tannins condensés16

IV. Analyse des pigments17

IV.1. Dosage des chlorophylles17

IV.2. Dosage des caroténoïdes17

V. Mesure de l'activité antioxydante18

V.1. Activité anti-radicalaire18

V.2. Pouvoir réducteur18

V.3. Test au phosphomolybdate18

V.4. Inhibition de peroxyde d'hydrogène	19
VI. Analyse statistique	19
Résultats et discussion	
I. Analyses physicochimiques	20
I.1. Absorbance dans l'ultraviolet	20
I.2. Humidité	21
I.3. Acidité	22
I.4. Indice de peroxyde	23
II. Dosages des composés phénoliques	25
II.1. Les composés phénoliques totaux	25
II.2. les Flavonoïdes	26
II.3. les Flavonols	27
II.4. les <i>ortho</i> -diphénols	27
II.5. Les tannins condensés (proanthocyanidines).....	28
III. Analyse des pigments	29
III.1. Dosage des chlorophylles	29
III.2. Dosage des caroténoïdes	31
IV. Mesure de l'activité antioxydante	32
IV.1. Activité anti radicalaire	32
IV.2. Pouvoir réducteur	34
IV.3. Test au phosphomolybdate	35
IV.4. Inhibition de peroxyde d'hydrogène	35
Conclusion	37
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ANOVA : Analyse de la variance (Analysis Of Variance).

COI : Conseil oléicole International.

CEE : Communauté Economiques Européenne.

DPPH : Radical 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl.

EAA : Equivalent en Acide Ascorbique.

EAC : Equivalent en Acide Caféique.

EAG : Equivalent en Acide Gallique.

EC : Equivalent de Catéchine.

EQ : Equivalent de Quercétine.

IP : Indice de peroxyde.

ISO : International Standard Organization.

ITAFV : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la vigne.

K₂₃₂ : Coefficient d'extinction spécifique à 232nm.

K₂₇₀ : Coefficient d'extinction spécifique à 270nm.

LDL : Low Density Lipoprotein.

meq : milliéquivalent.

PH : potentiel d'hydrogène.

ppm: Partie par million.

UV : Ultra-Violet.

rpm : Rotation par minute.

Liste des figures

Figure 1 : Structures de quelques phytostérols majeurs de l'huile d'olive	6
Figure 2 : Structure des tocophérols	7
Figure 3 : Structure de la chlorophylle	8
Figure 4 : Structure chimique de β -carotène	9
Figure 5 : Absorbance à 232nm d'huiles des variétés d'olive	20
Figure 6 : Absorbance à 270nm d'huiles des variétés d'olive.....	21
Figure 7 : Teneur en eau d'huiles des variétés d'olive	22
Figure 8 : Acidité d'huiles des variétés d'olive	23
Figure 9 : Indice de peroxydes d'huiles des variétés d'olive	24
Figure 10 : Teneurs en polyphénols totaux des échantillons d'huile d'olive.....	25
Figure 11 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons d'huile d'olive.....	26
Figure 12 : Teneurs en flavonols des échantillons d'huile d'olive.....	27
Figure 13 : Teneurs en <i>ortho</i> -diphénols des échantillons d'huile d'olive.....	28
Figure 14 : Teneurs en tannins condensés des huiles d'olive.....	29
Figure 15 : Teneurs en chlorophylles des huiles d'olive.....	30
Figure 16 : Teneurs en caroténoïdes des huiles d'olive	31
Figure 17 : Activité antiradicalaire des huiles d'olive (mg EAA/kg)	32
Figure 18 : Activité antiradicalaire des extraits d'huile d'olive (%)	33
Figure 19 : Pouvoir réducteur des extraits d'huile d'olive.....	34
Figure 20 : Pouvoir réducteur des phosphomolybdates des extraits d'huile d'olive.....	35
Figure 21 : Inhibition du peroxyde d'hydrogène des extraits d'huile d'olive.....	36

Liste des tableaux

Tableau I : Structures des composés phénoliques identifiés dans l'huile d'olive.....	7
Tableau II : Caractéristiques morphologiques des échantillons d'olive étudiés.....	12

Introduction

L'huile d'olive est l'une des principales composantes du régime dit « méditerranéen », connu pour son action bénéfique sur la santé (Jacotot, 1996). Elle est caractérisée par sa composition particulière en acides gras, en composés mineurs appartenant à la fraction insaponifiable des huiles végétales. Ses caractéristiques physicochimiques et antioxydantes sont définies par la norme commerciale du Conseil Oléicole International (COI, 2009) & Règlement (CEE,2568 /1991).

Plusieurs paramètres influencent la composition de l'huile comme, la variété et le degré de maturité des fruits (Ajana *et al.*, 1999), les méthode d'extraction (Di Giovacchino,1999), de conservation de l'huile (Gutierrez *et al.*, 2002) ainsi que les conditions climatiques et agronomiques (El Antari *et al.*, 2000).

La place de l'huile d'olive revêt une importance non négligeable car elle intervient dans la lutte contre le stress oxydant impliqué dans l'étiologie de diverses pathologies: l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires, certains types de cancers, les pathologies cérébrales et les dégénérescences liées au vieillissement accéléré (Jacotot, 1996; Covas, 2007).

L'objectif de la présente étude est de définir dans quelle mesure la variété est susceptible de conditionner la teneur en composés phénoliques (polyphénols totaux, *ortho*-diphénols, flavonoïdes, flavonols et tannins condensés) ainsi que l'activité antioxydante (activité antiradicalaire DPPH•, pouvoir réducteur du fer ferrique et des phospho-molybdates et inhibition du peroxyde d'hydrogène) des extraits d'huile d'olive des deux variétés analysées (*Chemlel* et *Azeradj*); une étude comparative entre ces variétés a été effectuée.

L'étude est subdivisée en trois parties :

- . La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique.
- . La deuxième partie porte sur l'expérimentation qui consiste à l'analyse physico-chimique, ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante de ces huiles.
- . La troisième partie consiste au traitement des résultats et leurs discussions.

I. Olive et technologie d'élaboration de l'huile d'olive

I.1. L'olive

I.1.1. Définition et description de l'olive

L'olive est le fruit de l'olivier, arbre fruitier caractéristique des régions méditerranéennes. La couleur de l'olive dépend du moment de sa cueillette, d'abord verte avant maturation, puis rose ou tournante à maturation et enfin vire au noire après maturation (Zarrouk *et al.*, 1996).

L'olive est constituée de trois parties: l'épicarpe composé de l'épiderme et de la cuticule, le mésocarpe (la pulpe) qui constitue la majeure partie du fruit et contient des vacuoles chargées d'huile, et l'endocarpe (noyau) (Kritsakis et Markakis 1987; Fedeli, 1997).

Lorsque les olives sont mures, l'amande représente 2 à 3% du poids total, le noyau 13% et la pulpe représente 80 à 90% (Ryan et Robards, 1998).

I.1.2. Composition chimique

L'olive renferme une quantité considérable en eau, des protéines, des polysaccharides, des minéraux et une très grande variété de composés mineurs à faibles teneurs qui confèrent à l'huile ses qualités gustatives et sa stabilité (Roehly, 2000; Conde *et al.*, 2008).

Récoltée au stade de maturité optimale, une olive renferme en plus de l'eau (50%) diverses substances: huile (22%), sucre (19%), cellulose (5,8%), protéines (1,6%), et sels minéraux (1,5%) (Zarrouk *et al.*, 1996; Boskou, 2006). Cette composition est influencée par le cultivar, les conditions agronomiques et le degré de maturité du fruit (Zamora *et al.*, 2001; Gomez-Rico *et al.*, 2008).

I.2. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive

La qualité de l'huile d'olive vierge est tributaire de nombreux facteurs, allant du stade de la culture de l'olivier, aux étapes successives de récolte, de stockage et de transformation des olives (Di Giovacchino, 1999). Les principales étapes d'extraction sont décrites comme suit :

I.2.1. Effeillage et lavage

La présence des feuilles lors de la trituration des olives entraîne une amertume et une couleur verdâtre de l'huile, qui est due à la présence des pigments chlorophylliens (Chimi,

2001). L'opération d'effeuillage est réalisée par l'application d'un courant d'air aux fruits au fur et à mesure de leur passage (Uceda *et al.*, 2006).

L'élimination des impuretés (poussière, terre, pierres et autres matières solides) est réalisée par un lavage dans un bassin d'eau à circulation forcée pour le lavage des olives (Michelakis, 1992). Ces corps étrangers peuvent altérer la qualité de l'huile d'olive comme ils peuvent nuire les organes mécaniques de l'équipement d'extraction (Di Giovacchino *et al.*, 2002).

I.2.2. Broyage et malaxage

L'opération du broyage s'effectue soit par des broyeurs à meules dans les huileries à système de pression, soit par des broyeurs métalliques (à marteaux, à cylindres, à dent, ou à disque) (Uzzan, 1994). Cette opération provoque d'une part la rupture des cellules de la pulpe afin de provoquer la sortie de l'huile des vacuoles, et d'autre part le concassage du noyau (Di Giovacchino, 1991).

La pâte obtenue subit une opération de malaxage qui rend la pâte plus homogène (Di Giovacchino, 1991). Le malaxeur est muni d'un système permettant le réchauffement contrôlé et adéquat de la pâte pendant un temps donné de brassage continu et lent (COI, 2006).

I.2.3. Extraction de l'huile

Les systèmes d'extraction de l'huile d'olive sont très variables, ils sont essentiellement de trois types (Di Giovacchino, 1991; Alba Mendoza, 1999).

- Unité de trituration en presses : C'est un système traditionnel discontinu qui consiste à presser la pâte à l'aide de presse hydraulique. (Di Giovacchino, 1991; Ranalli *et al.*, 2003) (annexe I, figure 1).
- Unité de trituration en chaînes continues à trois phases : Séparation huile/masse à l'aide d'une centrifugeuse horizontale appelée « décanteur », les résultats de l'opération sont l'huile, margine et le grignon ou résidu solide (Ranalli *et al.*, 2003) (annexe I, figure 2).
- Unité de trituration en chaînes continues à deux phases : le décanteur sépare l'huile et mélange le grignon et l'eau de végétation en unique phase de consistance pâteuse appelée grignon humide à deux phases (Ranalli *et al.*, 2003) (annexe I, figure 3).

II. L'huile d'olive

II.1. Définition de l'huile d'olive

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (COI, 2003).

Les huiles d'olive sont classées par le conseil oléicole international en fonction des évaluations chimiques et organoleptiques, mais aussi en fonction des méthodes d'extraction employées (Ryan *et al.*, 1998) (annexe II, tableau I).

a) L'huile d'olive vierge

C'est une huile obtenue du fruit de l'olivier uniquement par des procédés physiques et dans des conditions, notamment, thermiques n'entraînant pas l'altération de l'huile. Elle ne doit subir aucun autre traitement que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (Benyahia *et* Zein, 2003). Différents types ont été distingués :

❖ L'huile d'olive vierge extra

C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 gramme pour cent grammes d'huile.

❖ L'huile d'olive vierge

C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes d'huile.

❖ L'huile d'olive vierge courante (ordinaire)

C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum 3,3 grammes pour 100 gramme d'huile.

❖ L'huile d'olive vierge lampante

C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieur à 3,3 grammes pour 100 grammes. Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques d'huile.

b) L'huile d'olive raffinée

C'est une huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierge par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modification de la structure glycérique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique ne doit pas excéder 0,3 grammes pour 100 grammes d'huile (COI, 2000).

c) L'huile d'olive

C'est une huile constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes d'huile (COI, 2000).

II.2. Composition de l'huile d'olive

L'huile d'olive comprend une fraction saponifiable constituée d'acides gras et de leurs dérivés, et une fraction insaponifiable qui est représentée par les stérols, les alcools aliphatiques, les pigments, les hydrocarbures, les composés aromatiques, les tocophérols et les composés phénoliques (Berra, 1998). La composition chimique de l'huile d'olive dépend largement de la variété, des conditions agronomiques, du degré de maturité, des procédés d'extraction et des conditions de stockage (Dugo *et al.*, 2004).

II.2.1. Fraction saponifiable

La fraction saponifiable présente 90 à 99% de la composition de l'huile d'olive (Ruiz *et al.*, 1999). Elle est formée principalement de triglycérides et d'acides gras libres (Ryan *et al.*, 1998).

a) Les triglycérides

Les triglycérides constituent la principale composante de l'huile d'olive (98%). Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont: la trioléine « OOO », la dioléopalmitine « POO », la dioléolinoléine « OOL », la palmitoololéine « POL » et la dioléostéarine « SOO » (Ryan *et al.*, 1998) (annexe II, tableau II).

b) Les acides gras

L'huile d'olive est caractérisée par la prédominance d'un acide monoinsaturé, l'acide oléique qui représente 55 à 83% des acides gras totaux (Jacotot, 1997) (annexe II, tableau III). La variation de la composition en acide gras des huiles d'olive ne semble pas être seulement affectée par les facteurs pédoclimatiques (D'imperio *et al.*, 2007) mais aussi par plusieurs autres facteurs dont l'époque de la récolte et la variété (Inglese, 1994; Boskou *et al.*, 2006).

II.2.2. Fraction insaponifiable

L'huile d'olive renferme divers composés insaponifiables qui constituent un taux de 2% de l'huile, ils jouent un rôle important dans sa stabilité, sa flaveur et son goût unique (Visioli et Galli, 2002). La fraction insaponifiable est souvent accompagnée de terme

« composant mineur » : hydrocarbures, squalène, bêta-carotène, tocophérol, phénol, esters, aldéhydes, cétones, alcools aliphatiques, alcools terpéniques et stérols (Berra, 1998).

a) Les stérols

Les stérols végétaux appelés phytostérols occupent la plus grande partie de la matière insaponifiable des huiles d'olive constituants non glycérique, ils représentent en poids environ 50% de l'insaponifiable. La composition stérolique est spécifique de chaque espèce végétale. Plusieurs études ont identifié trois principaux stérols dans les huiles d'olive: le β -sitostérol, le campestérol et le stigmastérol (Bentemime *et al.*, 2008; Stiti *et al.*, 2002) (figure 1). La quantité totale en stérols dans l'huile d'olive varie de 1000 à 3000 mg/kg (Ryan *et al.*, 1998).

Selon Viola (1997), l'huile d'olive est la seule huile qui contient un taux élevé de β -sitostérol, substance qui s'oppose à l'absorbance intestinale du cholestérol.

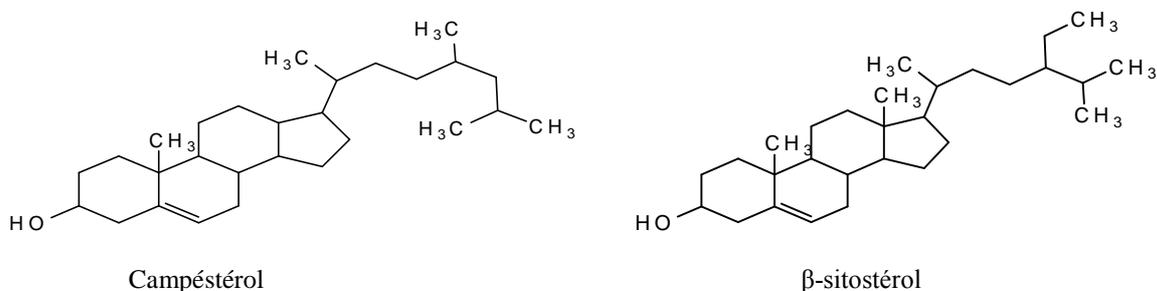


Figure 1 : Structures de quelques phytostérols majeurs de l'huile d'olive (Ramírez-Tortosa *et al.*, 2006).

b) Les tocophérols

On distingue quatre formes de tocophérols (α , β , γ et δ) qui diffèrent par le nombre et la position des groupements méthyles sur le noyau aromatique (Azzi et Stocker, 2000). L' α -tocophérol représente 90% des tocophérols et sa concentration naturelle varie entre quelques ppm jusqu'à 300 ppm. Ces derniers agissent comme des inhibiteurs des radicaux libres en leur donnant des protons pour les rendre plus stables (Blekas *et al.*, 1994).

Les tocophérols sont reconnus pour leur double action bénéfique. En effet ils ont l'atout d'être une vitamine liposoluble (vitamine E). Aparicio et Luna (2002) et Tura *et al.* (2007) indiquent que la teneur en tocophérols est étroitement liée à la variété.

La figure 2 illustre la structure des tocophérols présents dans l'huile d'olive.

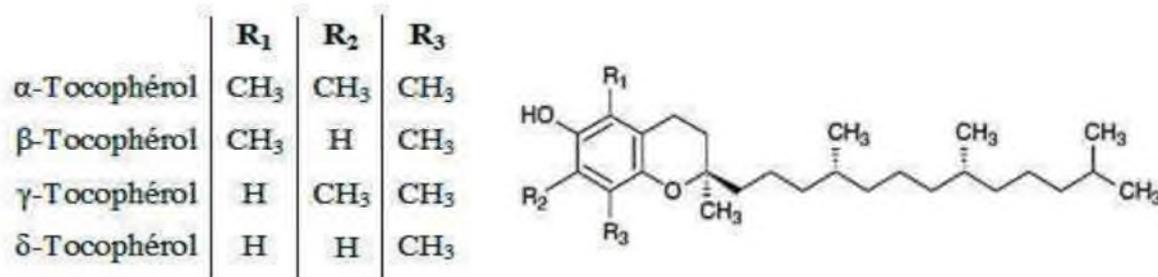


Figure 2: Structure des tocophérols (Kamal-Eldin et Appelquist, 1996).

b) Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols regroupent un ensemble de molécules qui présentent dans leurs structures au moins un cycle aromatique à 6 carbones lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles, Ils sont constitués d'un mélange : d'acide phénolique, alcool phénolique, dérivés secoiridoïdes, lignanes, flavonoïdes et hydroxy-isochromanes (Ribéreau-Gayon, 1968; Boskou, 2009) (tableau I). Cette fraction phénolique dépend de la variété, des conditions liées à l'environnement et des systèmes d'extraction de l'huile (Ryan *et al.*, 1998). Les teneurs pour une huile d'olive oscillent généralement entre 75 et 700 mg/kg (Morello *et al.*, 2006 ; Issaoui *et al.*, 2007).

Tableau I: Structures des composés phénoliques identifiés dans l'huile d'olive (Segura-Carretero *et al.*, 2010).

Composés	Structures générales	Composés	Structures générales
Acides benzoïques Acide vanillique Acide syringique Acide gallique Acidehydroxybenzoïque		Secoiridoïdes Oleupéine aglycone Ligstroside aglycone Oleuropéine Forme dialdéhydique de l'acide élénolique	
Acides cinnamiques Acide <i>p</i> -Coumarique Acide <i>o</i> - coumarique Acide caféique		Flavonoïdes Apigénine Lutéoline	
Alcools phénoliques Hydroxytyrosol Tyrosol		Lignanes (+) -1 Acétoxypinoresinol (+)-Pinoresinol	

c) Les pigments

Les pigments sont transférés du fruit d'olive à l'huile durant son d'extraction. La couleur de l'huile d'olive allant du vert au jaune est essentiellement due aux chlorophylles et caroténoïdes présents dans le fruit (Psomiadou et Tsimidou, 2001). Ces composés sont importants pour la conservation de la qualité des huiles comestibles, vu qu'ils sont impliqués dans les mécanismes de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation (Oueslati *et al.*, 2009). Roca et Minguez Mosquera (2001) et Giuffrida *et al.* (2006) ont révélé des variations pour les teneurs en caroténoïdes et en chlorophylles selon le cultivar.

❖ Les chlorophylles

Les chlorophylles appartiennent à la famille des tétrapyroles, les teneurs de ces composés dans l'huile d'olive s'étendent entre 1 et 20 ppm (Boskou, 1996). Ce sont des pigments essentiellement responsables de la couleur caractéristique de l'huile d'olive.

Constitués de la chlorophylle a et b qui se transforment durant l'extraction en phéophytines a et b, ils ont une activité pro-oxydante en présence de la lumière, en assurant la formation de l'oxygène singulet et promouvoir la première phase du processus d'auto-oxydation, cette espèce d'oxygène excité est plus réactive envers les lipides insaturés que l'oxygène à l'état fondamental dissout dans l'huile (Perrin, 1992; Velasco et Dobarganes, 2002).

Leur action pro-oxydante dans la lumière, est en fonction directe de leurs concentration et leurs structures: phéophytines b > phéophytines a > chlorophylles b > chlorophylles a (Rahmani et Saad, 1989).

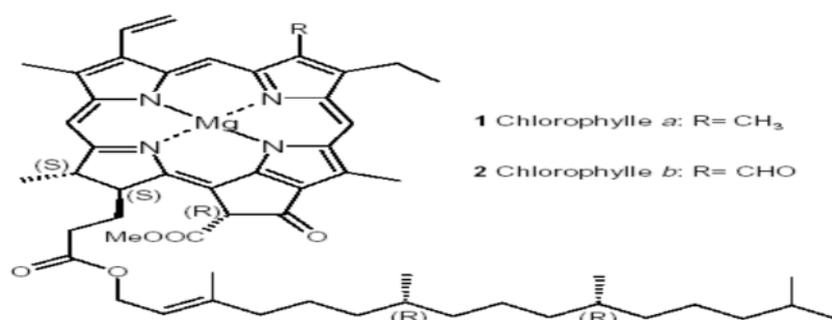


Figure 3: Structure de la chlorophylle (Folly, 2000).

❖ Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des tétraterpènes, ils constituent une famille de pigments liposolubles, dont la couleur varie du jaune au rouge orangé (absorption de la lumière entre 400 et 550 nm) (Ryan *et al.*, 1998; Graille, 2003). L'huile d'olive présente des teneurs variables en caroténoïdes (0,5 à 1mg/100g), avec une prédominance de la lutéine et du β -carotène (Uzzan,1992) (figure 4). Le rapport entre ces deux principaux caroténoïdes de l'huile d'olive est étroitement dépendant de la variété (Nieves-Criado *et al.*, 2004).

Les caroténoïdes exercent une activité antioxydante en désactivant l'oxygène singulet généré par les pigments chlorophylliens (Morello *et al.*, 2004). Leur importance en tant que composants nutritionnels est également reconnue; certains caroténoïdes sont des précurseurs de la vitamine A (Psomiadou et Tsimidou, 2002).

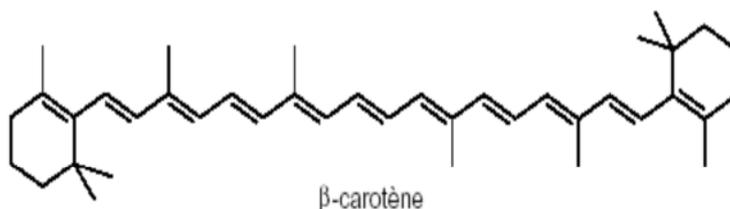


Figure 4 : Structure chimique de β -carotène (Perrin, 1992).

e) Autres composés

L'huile d'olive comprend de nombreux composés mineurs, qui sont principalement: les hydrocarbures, les aldéhydes, les cétones, les alcools, les alcanes, les esters et les dérivés furaniques (Uzzan, 1992). Le squalène est l'hydrocarbure le plus important de l'huile d'olive dont la teneur varie entre 136 et 708 mg/100 g (Owen *et al.*, 2000).

II.3. Intérêt nutritionnel et thérapeutique de l'huile d'olive

L'huile d'olive est riche en substances antioxydantes qui sont impliquées dans la protection de certaines maladies : maladies cardiovasculaires, certaines cancers et maladies neuro-génératives (Alzheimer, Parkinson) (Servili *et al.*, 2004). D'autre part, les composés phénoliques de l'huile d'olive ont un effet positif sur les lipoprotéines, les plaquettes, les marqueurs d'inflammation, le fonctionnement cellulaire et l'activité antimicrobienne (Cicerale *et al.*, 2009).

La consommation régulière de cette huile est importante pour lutter contre certains troubles de l'appareil digestif et hépatobiliaire, l'ostéoporose et contribue au renforcement du système immunitaire (Ghedira, 2008).

III. L'oxydation et les antioxydants de l'huile d'olive

III.1. Définition de l'oxydation et les antioxydants des huiles

La disponibilité de l'oxygène, les températures élevées de stockage et l'action de la lumière peuvent créer des conditions favorables pour la décomposition des triglycérides de l'huile d'olive (Meijboom, 1964). L'oxydation des lipides ne provoque pas seulement des pertes qualitatives (flaveur et odeur), mais réduit aussi la valeur nutritionnelle (perte en acides gras essentiels) (Fki *et al.*, 2005).

L'oxydation des lipides est grandement influencée par les antioxydants. Ces derniers sont définies comme « toute substance qui en faibles concentration par apport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1999). Ce sont des substances capables de neutraliser les formes actives de l'oxygène, de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation (Fki *et al.*, 2005).

III.2. Les principaux antioxydants de l'huile d'olive

L'huile d'olive est une source d'antioxydants naturels comme les tocophérols, caroténoïdes, stérols et les composés phénoliques (Ryan et Robards, 1998; Matos *et al.*, 2007; Miniotti et Georgiou, 2008).

III.2.1. Les composés phénoliques

Les propriétés antioxydantes et la valeur de l'huile d'olive qui en résulte peuvent être attribuées en grande partie aux composés phénoliques. Ils font partie de la fraction polaire de l'huile (Ryan *et al.*, 1998).

Ces composés contribuent à la stabilité de l'huile d'olive vierge par piégeage des radicaux peroxy et alkoxy et par chélation des métaux de transition qui sont présents en traces (Leger, 2003; Bendini *et al.*, 2007).

III.2.2. Les tocophérols

L' α -tocophérol est traditionnellement considéré comme antioxydant majeur de l'huile d'olive (Blekas *et al.*, 1994). Elle favorise la stabilité de l'huile d'olive vierge, par inhibition de l'auto et la photo-oxydation en désactivant l'oxygène singulet (Ryan *et al.*, 1998; Ben Tekaya et Hassouna, 2007).

Rahmani (1989) a montré que l' α - tocophérol présentait un effet synergiste avec le β - carotène : la présence de l' α - tocophérol protégerait le β - carotène contre l'oxydation, qui pourrait dans ce cas désactiver l'oxygène singulet.

III.2.3. Le squalène

Ce composé joue un rôle important dans l'inhibition de l'oxygène singulet, donc il a une activité antioxydante durant la photo-oxydation de l'huile d'olive exposée à la lumière (Psomiadou et Tsimidou, 2002).

III.2.4. Les caroténoïdes

Les principaux caroténoïdes présents dans l'huile d'olive sont la lutéine, le β - carotène. Les caroténoïdes et en particulier le β -carotène sont des antioxydants efficaces, cela est dû à leur habilité à altérer l'espèce oxygénée radicalaire (Morello *et al.*, 2004). Ils sont bien connus comme désactivants de l'oxygène singulet, ils sont donc des inhibiteurs très efficaces de la photo-oxydation induite par les pigments chlorophylliens (Perrin, 1992).

I. Matériel végétal

La présente étude porte sur des échantillons d'huile d'olive issus des deux variétés d'olive; *Chemlal* et *Azeradj* provenant de la région Sidi Aich de la wilaya de Bejaia. Les caractéristiques morphologiques des échantillons d'olive étudiés sont indiquées dans le tableau II.

Tableau II : Caractéristiques morphologiques des échantillons d'olive étudiés.

Variété	Caractéristiques	Émarge de l'olive
<i>Chemlal</i>	Petits fruits de forme allongée, pointus au sommet et arrondies à la base, asymétriques, de poids moyen variant de 2 a 4g.	
<i>Azeradj</i>	Fruit avec poids élevé de forme allongée, légèrement asymétrique, sommet pointu, base arrondie, couleur noire à maturité.	

I.1. Récolte des olives

La récolte est réalisée en date du 24/12/2015 à la main qui est une méthode traditionnelle utilisée pour minimiser les risques de détérioration du fruit. Les olives sont ensuite nettoyées de toutes impuretés et triées afin de récupérer seulement les olives saines.

I.2. Extraction de l'huile

L'extraction de l'huile est réalisée au niveau de l'institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) de Bejaïa au moyen d'un oléo-doseur selon les étapes de trituration suivantes :

- a) **Broyage** : réalisé par un broyeur à marteau.
- b) **Malaxage** : cette opération est effectuée dans des récipients métalliques pendant 30 minutes.

c) **Centrifugation** : réalisée à l'aide d'une centrifugeuse verticale ayant une vitesse de 5000 rpm/min. Après une minute, la pâte malaxée se sépare en deux phases solides (grignon) et liquide (l'huile et les eaux de végétation).

Après décantation, les huiles ont été récupérées dans des flacons ombrés étiquetés et conservées au réfrigérateur (4°C) jusqu'au moment de l'analyse.

II. Analyses physicochimiques effectuées sur l'huile d'olive

II.1. Absorbance dans l'ultraviolet

Les extinctions spécifiques mesurées par spectrophotométrie aux longueurs d'ondes 230 nm et 270 nm nous renseignent sur la possibilité de détérioration d'huile par le phénomène d'oxydation. Ce dernier engendre des systèmes diéniques et triéniques dont les maximums d'absorption sont aux alentours de 230 nm et 270 nm respectivement (Yadav *et al.*, 2004).

L'absorbance, exprimée comme extinction spécifique, est déterminée selon la méthode décrite par le COI. (1996). Une masse de 0,25g d'huile filtrée est diluée dans 25ml du cyclohexane. L'absorbance est mesurée aux deux longueurs d'ondes 232 nm et 270 nm. Les extinctions spécifiques à ces longueurs d'ondes sont exprimées comme suit :

$$E = A_{\lambda} / C \times L$$

Où : E : Extinction spécifique à la longueur d'onde λ .

A_{λ} : la densité optique à la longueur d'onde λ .

C : la concentration de la solution en g/100ml.

L : Longueur de la cuve en centimètre.

II.2. Humidité (ISO 662, 1996)

Cette méthode consiste en une dessiccation du produit après chauffage à une température de $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dans une étuve isotherme et à pression atmosphérique jusqu'à obtention d'une masse constante. Les échantillons séchés sont refroidis dans un dessiccateur puis pesés. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$H (\%) = (P1 - P2) \times 100 / (P1 - P)$$

Où : H (%) : l'humidité est exprimée en pourcentage de masse.

P : le poids de la capsule vide (g).

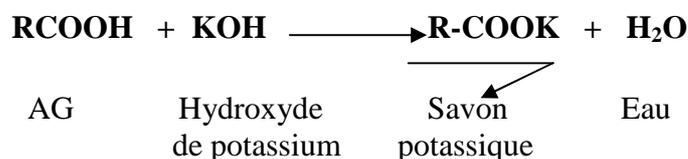
P1 : le poids de la capsule et la prise d'essai avant séchage (g).

P2 : le poids de la capsule et la prise d'essai après le séchage (g).

II.3. Acidité

L'acidité de l'huile d'olive représente la quantité d'acides gras libres, exprimée en gramme d'acide oléique par 100 g d'huile d'olive. Elle est considérée comme un moyen simple et efficace pour l'évaluation qualitative et la classification des huiles d'olive (Ryan *et al.*, 1998).

Le principe de cette méthode est basé sur la neutralisation d'une quantité connue de matière grasse avec une solution d'hydroxyde de potassium préparée dans l'éthanol à une normalité bien déterminée, pour générer du savon selon la réaction suivante (AFNOR, 1984).



Une masse de 0.5g d'huile est additionnée de 5 ml du mélange éthanol/éther du pétrole (50/50). La neutralisation des acides gras libres est effectuée avec une solution d'hydroxyde de potassium (0,1N) en utilisant la phénolphthaléine (1%) comme indicateur coloré (apparition d'une couleur rose). L'acidité (A) est calculée selon la formule suivante :

$$A (\%) = V \times N \times m / 10 \times M$$

A : Acidité exprimée en pourcentage.

V : Volume (ml) de la solution KOH utilisée pour le titrage.

N : Normalité de la solution KOH (0,1N).

m : Masse (g) de la prise d'essai.

M : Masse molaire de l'acide oléique (282g/mol).

II.4. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est déterminé selon la méthode normalisée par le règlement C.E.E (2568/91). Une masse de 2 g d'huile est mise en solution dans 10 ml de chloroforme, 15 ml d'acide acétique glacial, puis un volume de 1 ml d'une solution saturée d'iodure de potassium est ajouté. Après réaction pendant 5 min à l'obscurité, 75ml d'eau distillée sont ajoutés et l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,01 N) en présence d'empois d'amidon comme indicateur. Un essai témoin est réalisé dans les mêmes conditions. L'indice de peroxyde (IP) est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'huile selon la formule :

$$\text{IP} = \text{V} \times \text{T} \times 1000 / \text{m}$$

V: Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai (ml)

T: facteur de normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée (0,01N)

m: poids de la prise d'essai (grammes).

III. Dosage des composés phénoliques

III.1. Préparation des extraits

La méthode adoptée est basée sur l'extraction liquide-liquide décrite par Pirisi *et al.* (2000). Une masse de 4 g d'huile est solubilisée dans un mélange constitué de 4 ml de n-hexane et 4 ml du méthanol 60%. Après agitation pendant 2 min, le mélange est centrifugé (3000 rpm/5 min). Les deux solvants se séparent et la phase méthanolique est récupérée; l'opération est répétée deux fois et les extraits méthanoliques ainsi obtenus sont combinés.

III.2. Composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée selon la méthode décrite par Kahkonen *et al.* (1999). Un volume de 0,2ml d'extrait est mélangé avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange est agité pendant 3 minutes puis additionné de 0,8 ml de carbonate de sodium (7,5%). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 750 nm. La concentration en composés phénoliques totaux est estimée en mg équivalent d'acide gallique par kg d'huile d'olive en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe III, figure 1).

III.3. Les flavonoïdes

Un volume de 0,1 ml d'extrait est mélangé avec 0,4 ml d'eau distillée et 0,03 ml de nitrite de sodium (5%). Ce mélange est additionné de 0,02 ml de chlorure d'aluminium (10%). Après incubation pendant 5 min, un volume 0,2 ml d'hydroxyde de sodium (1M) et de 0,25 ml d'eau distillée sont additionnés. L'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 510 nm et la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine par kg d'huile d'olive en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe III, figure 2) (Kim *et al.*, 2003).

III.4. Les flavonols

La méthode rapportée par Kumaran et Karunakaran (2007) est adoptée pour estimer la teneur en flavonols: un volume de 0,5 ml du chlorure d'aluminium (2%) et 0,75 ml d'acétate de sodium sont ajoutés à 0,5 ml d'extrait. Après incubation pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 440 nm. La concentration en flavonols est exprimée en mg équivalent de quercétine par kg d'huile d'olive par référence à une courbe d'étalonnage (annexe III, figure 3).

III.5. Les ortho-diphénols

La teneur en ortho-diphénols est estimée selon la méthode de Tovar *et al.* (2002): Un volume de 2 ml d'extrait est additionné de 0,5 ml de molybdate de sodium (5%). Après agitation puis incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée à 350nm et la concentration des ortho-diphénols est exprimée en mg équivalent d'acide caféique par kg d'huile d'olive par référence à une courbe d'étalonnage (annexe III, figure 4).

III.6. Les tannins condensés

La teneur en proanthocyanidines est déterminée selon la méthode de Skerget *et al.* (2005); 2,5 ml de la solution [FeSO₄ + HCl-butanol (2:3)] sont additionnés à 0,25ml d'extrait. Le mélange est incubé à 95°C pendant 50min. L'absorbance est mesurée à 530nm. Les résultats sont calculés selon la formule suivante

$$c = \frac{A_{530} \times P_m \times F_d}{\epsilon L}$$

A530= l'absorbance de l'extrait à 530nm

PM=287,24g/mol (masse molaire de la cyanidine-3-glucoside).

ε =34700 l.mol⁻¹.cm⁻¹ (le coefficient d'extinction molaire de la cyanidine-3-glucoside).

Fd= facteur de dilution.

L=trajet optique.

C : les concentrations sont exprimées en mg équivalent de cyanidine-3-glucoside par kg d'huile.

IV. Analyse des pigments

IV.1. Dosage des chlorophylles

Le protocole adopté au dosage de ces composés est celui décrit par Minguez Mosquera *et al.* (1991). Un échantillon de 7,5 g d'huile est ajusté à 25 ml avec du cyclohexane. Le maximum d'absorption à 670 nm renseigne sur la fraction chlorophyllienne. La valeur du coefficient d'extinction spécifique appliquée est $E_0 = 613$ pour la phéophytine comme composant majeur des chlorophylles.

$$\text{Chlorophylles (mg d'équivalent phéophytine/Kg)} = \frac{A_{670} \times 10^6}{613 \times 100 \times T}$$

A: Absorbance à une longueur d'onde 670nm.

T : Trajet optique (1cm).

IV.2. Dosage des caroténoïdes

Les carotènes présents dans la phase hexanique sont dosés par spectrophotométrie à 450 nm qui correspond au maximum d'absorption de la β - carotène (Dymie *et al.*, 1981). La mesure des absorbances est effectuée sur l'huile en solution à raison d'un gramme d'huile dans 10ml d'hexane.

La concentration en caroténoïdes totaux est exprimée en mg équivalent de β -carotène par kilogramme de l'huile, elle est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage établie en utilisant le β -carotène (annexe III, figure 5).

V. Mesure de l'activité antioxydante

V.1. Activité anti-radicalaire

La méthode au DPPH (1,1-di-phenyl-2-picrylhydrazyl radical) est utilisée pour déterminer la capacité des extraits à céder des protons et/ou des électrons. La réduction des radicaux DPPH• implique une baisse de l'absorbance. Sous la forme radicalaire, le DPPH• absorbe à 515 nm (Williams *et al.*, 1995).



Un volume de 0,1 ml d'extrait est additionné de 1 ml de la solution DPPH•. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au témoin, contenant le DPPH• et le solvant d'extraction est mesurée à 517 nm (Turkmen *et al.*, 2006).

L'activité antiradicalaire est exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique/kg d'huile en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe III, figure 6). Elle est aussi exprimée en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin selon la formule suivante.

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = (\text{At}-\text{Ae}/\text{At})\times 100$$

At: Absorbance du témoin.

Ae: Absorbance de l'extrait.

V.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de Gülçin *et al.* (2002): Un volume de 250 µl d'extrait est mélangé avec 250 µl de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 250 µl de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 20 min, un volume de 250 µl d'acide trichloroacétique (10%) est additionné au mélange. Après 5min d'incubation, 0,2 ml de chlorure ferrique (0,1%) sont ajoutés et l'absorbance est mesurée à 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique/kg d'huile d'olive par référence à une courbe d'étalonnage(annexe III,figure 7).

V.3. Test au phosphomolybdate

L'estimation de la capacité réductrice des extraits d'huile d'olive analysés est réalisée en utilisant le test au phosphomolybdate (Ramalakshmi *et al.*, 2008). Un volume d'un ml du réactif de phosphomolybdate (0,6M d'acide sulfurique, 28Mm de phosphate de sodium

et 4mM de molybdate d'ammonium) est additionné de 100µl d'extrait. Après 90 min d'incubation à 90°C, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Les résultats sont calculés en se référant à la courbe d'étalonnage (annexe III, figure 8) réalisée avec l'acide ascorbique et le pouvoir réducteur est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique par kg d'huile d'olive.

V.4. Inhibition de peroxyde d'hydrogène

L'inhibition du peroxyde d'hydrogène est mesurée par la méthode de Ruch *et al.* (1989). 1ml de peroxyde d'hydrogène [40mM préparé dans un tampon phosphate (0,1mM ; pH =7,4)] est mit en contact avec 150µl d'extrait et additionné de 1350 µl de tampon phosphate (0,1mM, pH=7,4). Après 10 min de réaction à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 230 nm.

$$\text{Inhibition (\%)} = [(At - Ae)/At] \times 100$$

Où At : Absorbance du témoin;

Ae: Absorbance de l'extrait.

VI. Analyse statistique

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse statistique au moyen du programme de l'analyse de la variance ANOVA avec test LSD (STATISTICA 5.5) et le degré de signification des données est pris à la probabilité $p < 0,05$.

I. Analyses physicochimiques

I.1. Absorbance dans l'ultraviolet

Les extinctions à 232nm et 270nm nous renseignent sur l'état d'oxydation de l'huile. Plus la valeur d'extinction à 232nm est forte plus l'huile est peroxydée et plus celle à 270nm est forte, plus elle est riche en produits secondaires d'oxydation (Boucekif, 1991). En effet, les hydroperoxydes; les composés qui apparaissent les premiers stades de l'oxydation ; ils absorbent à 232 nm, alors que les produits d'oxydation secondaires tels que les cétones insaturées-dicétones absorbent au voisinage de 270 nm (Gutierrez et Izquierdo, 1994; Alais *et al.*, 2003).

Les absorbances à 232 nm et à 270 nm des huiles d'olive analysées (figure 5 et 6) répondent aux limites fixées par le COI (2003) pour une huile d'olive vierge extra : $K_{232} \leq 2,5$ et $K_{270} \leq 0,25$. Ces résultats peuvent être expliqués par le rôle des composés mineurs de l'huile d'olive vierge en retardant les réactions d'oxydation. Certains auteurs ont estimé leur contribution à la stabilité de l'huile d'olive, environ 30% pour les composés phénoliques, 27% pour les acides gras et 6% pour les caroténoïdes (Bacconi, 2006).

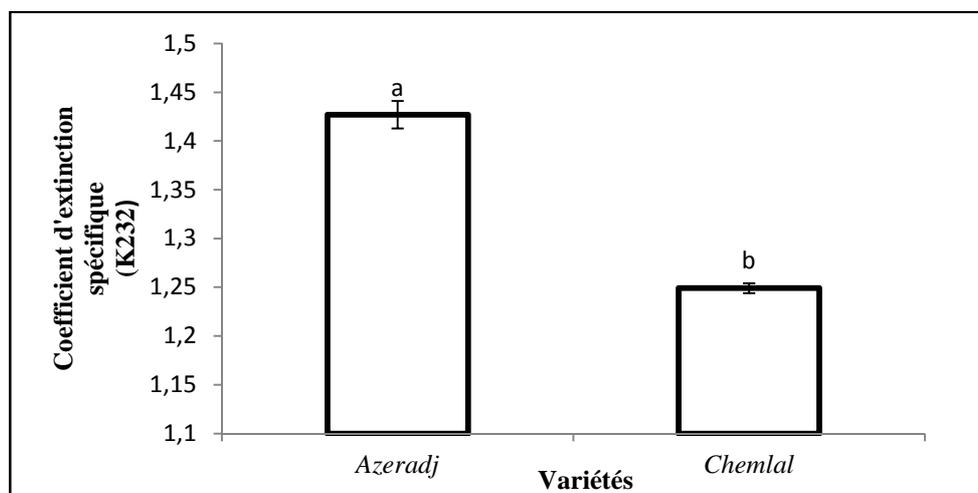


Figure 5: Absorbance à 232nm d'huiles des variétés d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

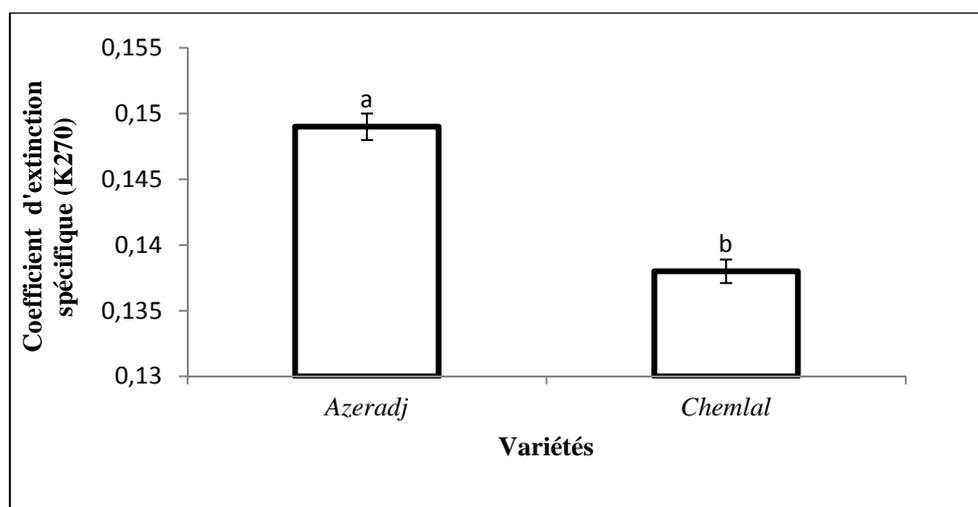


Figure 6: Absorbance à 270nm d'huiles des variétés d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

La variété *Chemlal* présente les coefficients 1,249 (K232) et 0,139 (K270), alors que les valeurs de la variété *Azeradj* sont de 1,427 (K232) et 0,149 (K270). La comparaison des moyennes a révélé la présence des différences significatives ($p < 0,05$) entre les coefficients K232 et K270 des deux variétés étudiées.

Les huiles des deux variétés *Chemlal* et *Azeradj* présentent des absorbances dans l'UV qui se rapprochent avec celles obtenues par Gargouri *et al.* (2013) pour la variété *Chemlali* provenant de la Tunisie. Ces auteurs ont enregistré des valeurs qui oscillent entre 1,69 et 2,49 et entre 0,13 et 0,25 pour K232 et K270 respectivement.

Les deux coefficients d'extinction sont significativement influencés par le système d'extraction, l'état sanitaire des olives ainsi que leur stockage (Mordret *et al.*, 1997; Dhifi *et al.*, 2002).

I.2. Humidité

La présence de l'eau dans l'huile est susceptible d'avoir une incidence sur sa qualité, elle constitue un support pour le développement microbien et autres activités enzymatiques (hydrolyse et oxydation) (Karleskind, 1992). L'humidité de l'huile provient des procédés d'extraction ainsi que les tissus végétaux. L'analyse statistique a révélé des différences significatives du taux d'humidité des huiles des deux variétés analysées (figure 7); l'huile de la variété *Azeradj* renferme une teneur en eau (0,163%) plus élevée que celle de la variété *Chemlal* (0,113%). Les valeurs enregistrées sont conformes à la norme fixée par le COI (2003) caractérisant l'huile d'olive extra vierge ($\leq 0,2\%$).

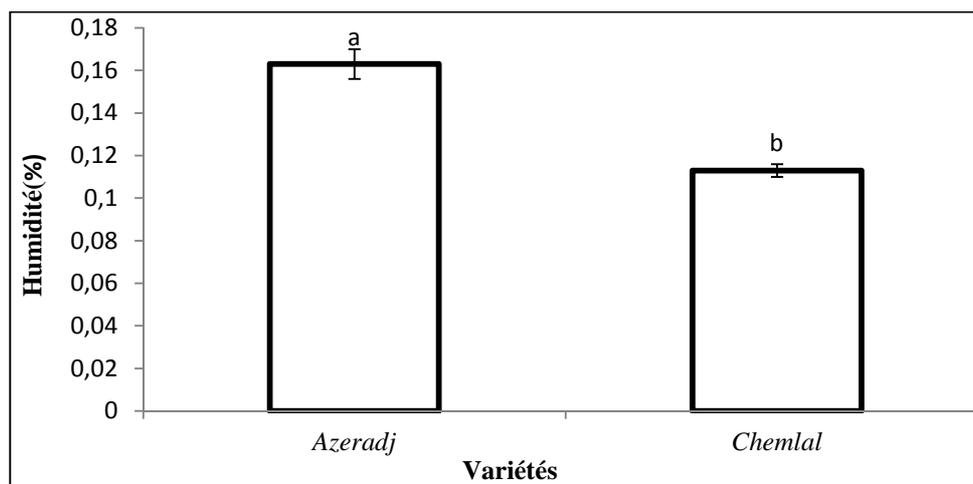


Figure 7: Teneur en eau d’huiles des variétés d’olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

Plusieurs auteurs ont rapporté que les valeurs relatives à l’humidité sont tributaires des conditions environnementales, dont la pluviosité, l’évaporation, l’irrigation et le contenu en huile (Inglese *et al.*, 1996; Grattan *et al.*, 2006; Toplu *et al.*, 2009).

I.3. Acidité

L’acidité libre des huiles renseigne principalement sur l’altération des triglycérides à la suite d’une hydrolyse chimique ou enzymatique lorsqu’elle se déroule dans des conditions propices ; Celle-ci est favorisée par l’humidité, la chaleur, la longue période de conservation, la récolte à la main et l’attaque par les ravageurs (Çavusoglu et Oktar, 1994; Benabdeljelil, 2003). Selon Garcia *et al.*(1996), l’augmentation d’acidité est due à l’activité des lipases endogènes naturellement présentes dans les fruits ou à celles synthétisées par les microorganismes qui se développent dans le fruit suivant les conditions de stockage (température et humidité qui favorisent l’activité microbienne).

Les moyennes d’acidités des échantillons étudiés sont exprimées en pourcentage d’acide oléique (figure 8).

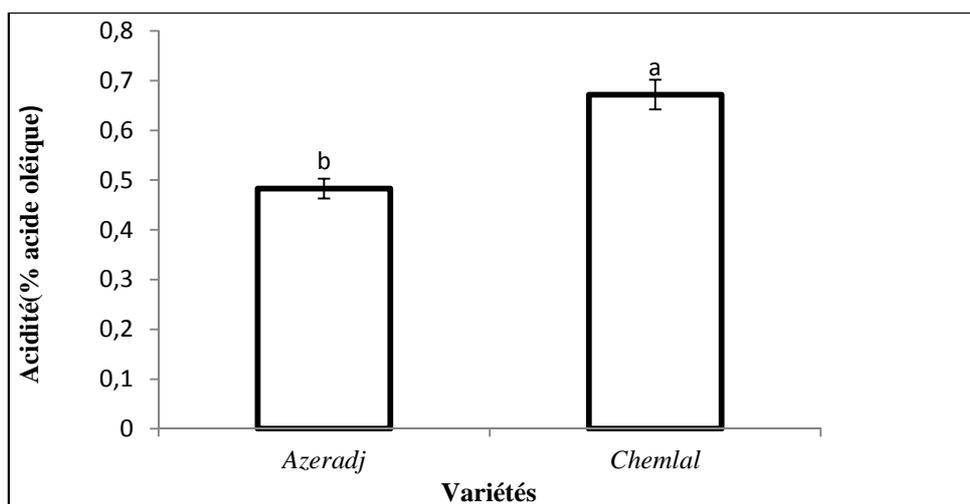


Figure 8: Acidité d’huiles des variétés d’olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

L’analyse statistique a révélé la présence de différences significatives ($p \leq 0,05$) entre les échantillons examinés. Les huiles des deux variétés analysées présentent des valeurs de 0,483% (Azeradj) et 0,672% (Chemlal); celles-ci sont conformes aux normes fixées par COI (2003) pour l’huile vierge extra ($\leq 0,8\%$).

Les valeurs d’acidité obtenues pour les deux variétés sont à l’origine de bonnes conditions de stockage ainsi que l’état sanitaire des olives, donc l’état de fraîcheur des huiles. La différence d’acidité entre les deux est due à l’effet variétal. Comparant aux autres huiles, les huiles des deux variétés étudiées présentent des acidités proches à celles de quelque variété tunisienne (entre 0,2 et 0,6) analysées par Gratikammoun *et al.* (1999) et turques (entre 0,5 et 1,71 %) analysées par Tanilgan *et al.*(2007).

I.4. Indice de peroxyde

L’indice de peroxyde exprimé en milliéquivalent d’oxygène actif par kg d’huile, constitue l’un des moyens les plus directs pour mesurer l’auto- oxydation lipidique (Ryan *et al.*, 1998). L’oxydation des huiles est un phénomène naturel qui aboutit dans une première étape à la formation de peroxydes ou produits d’oxydation primaires, ensuite ces composés subissent d’autres réactions pour donner des aldéhydes, des cétones et des acides qui sont responsables du défaut de rance de l’huile (Satue *et al.*, 1995).

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les huiles des variétés analysées (figure 9), l'huile de la variété *Azeradj* présente un indice de peroxyde plus faible (3,667 meq d'O₂/kg) que celui de la variété *Chemlal* (4,68 meq d'O₂/kg). Les valeurs de l'indice de peroxyde répondent aux normes (< 20 meq d'O₂/kg) établies par le COI (2003) caractérisant les huiles d'olive vierge extra.

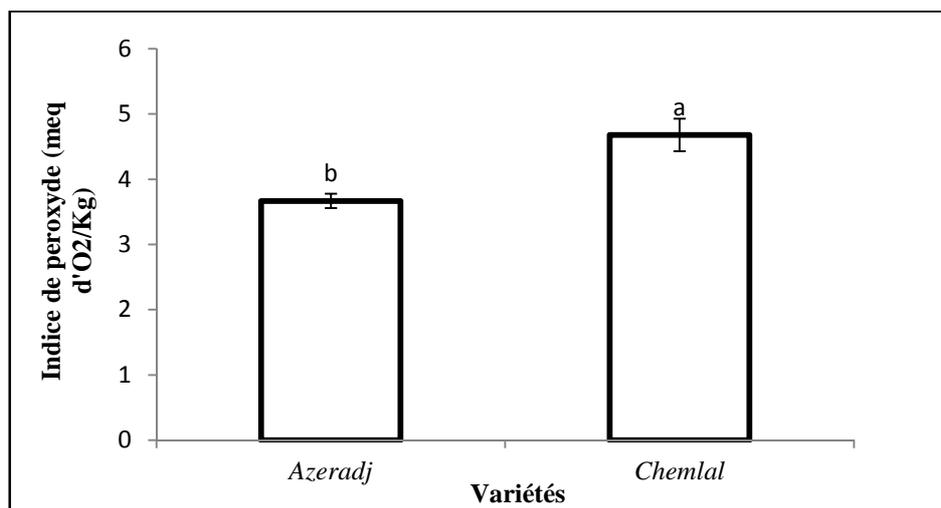


Figure 9: Indice de peroxydes d'huiles des variétés d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

Les huiles analysées présentent des indices de peroxyde plus faibles que ceux obtenus par Issaoui *et al.* (2007) qui ont mené une étude sur des huiles de variétés tunisiennes, celles-ci dépassent parfois la limite fixée par les réglementations internationales (entre 4,7 et 22 meq O₂ /Kg), mais sont similaires à ceux des huiles analysées par Baccouri *et al.* (2007) dont les valeurs oscillent entre 2,4 à 7,66 meq O₂ /Kg.

Ces résultats peuvent révéler l'importance des composés mineurs de l'huile d'olive vierge sur la stabilité oxydative (Moussay *et al.*, 1995), tel que les composés phénoliques qui sont des antioxydants puissants par leur effet « Scavenger » ou de piégeage des radicaux libres ainsi que leur réaction avec l'oxygène singulet (Visioli et Galli, 2002).

Les principaux facteurs influençant les valeurs d'indice de peroxyde sont d'une part l'état sanitaire des olives, leurs conditions de transformation (transport, la récolte et le stockage), ainsi que le système d'extraction et d'autre part par l'humidité et les minéraux (Benabdeljelil, 2003).

II. Dosages des composés phénoliques

II.1. Les composés phénoliques totaux

L'olive contient une quantité appréciable de composés phénoliques qui passent dans l'huile lors de son extraction (De Stefano *et al.*, 1999). Les composés phénoliques sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent les huiles contre l'oxydation, ils leur confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant (Perrin, 1992; Ollivier *et al.*, 2004). Ces composés ont un grand intérêt dans l'inhibition de la peroxydation des LDL, l'oxydation des protéines et de l'ADN (Visioli *et al.*, 2002)

Les résultats du dosage des polyphénols totaux exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique/kg d'huile sont représentés dans la figure 10, ils montrent que les teneurs sont différentes significativement ($p < 0,05$); l'huile de la variété *Chemlal* présente une teneur en polyphénols totaux plus élevée (184,63 mg EAG/Kg) que celle de la variété *Azeradj* (129,49 mg EAG/Kg). Les différences notées peuvent être liées au facteur variétal (Ryan et Robards, 1998).

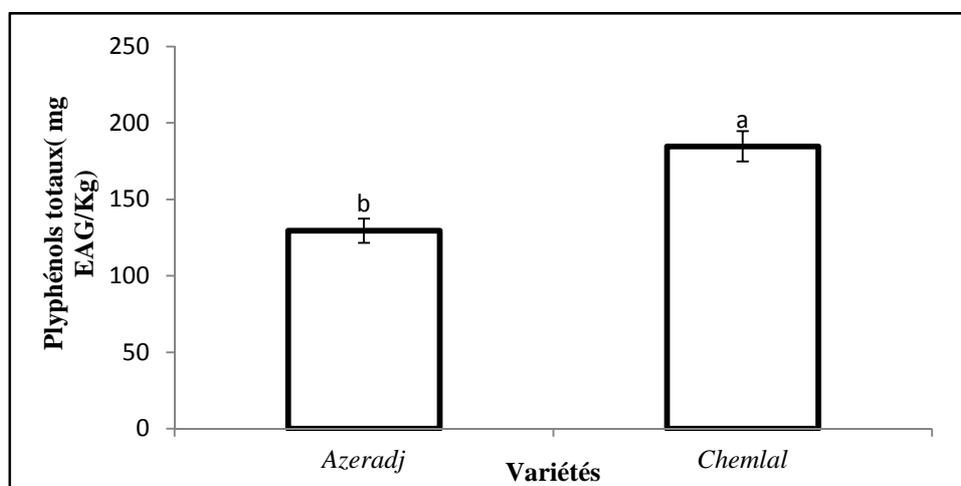


Figure 10 : Teneurs en polyphénols totaux des échantillons d'huile d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

Les teneurs en polyphénols totaux dans les huiles étudiées sont supérieures à celles obtenues par Gulfraz *et al.* (2009) qui ont mené une étude sur des variétés pakistanaises (23,6 à 92,4 mg EAG/Kg), par contre, elles sont similaires à celle de certaines variétés

algériennes (Douzane *et al.*, 2010) ainsi que celle de la variété la plus abondante au Maroc « Picholine » analysées par Boukachabine *et al.* (2011).

La teneur en polyphénols varie en fonction de plusieurs facteurs tels que le degré de maturation des olives, climat, procédé d'extraction ainsi que le cultivar (Alarcón de la Lastra *et al.*, 2001). Les études menées par Aganchich *et al.*(2008), ont montré que les teneurs en polyphénols augmentent dans des conditions de stress hydrique, et qu'une corrélation négative est notée entre le contenu en polyphénols totaux et le taux d'irrigation et des pluies abondantes (Paz Romero *et al.*, 2003).

Les travaux de Baiano *et al.* (2009), et Aguilera *et al.* (2005) concernant l'effet de la région sur la teneur en composés phénoliques dans l'huile d'olive, ont révélé que des teneurs faibles en polyphénols totaux sont enregistrées dans les huiles en provenance de basse altitudes.

plusieurs d'autres investigations ont mis en évidence d'autres paramètres influençant la teneur en polyphénols dans l'huile d'olive, à savoir l'état sanitaire des olives et le stockage de l'huile d'olive (Brenes *et al.*, 2001; Goamez *et al.*, 2002).

II.2. les flavonoïdes

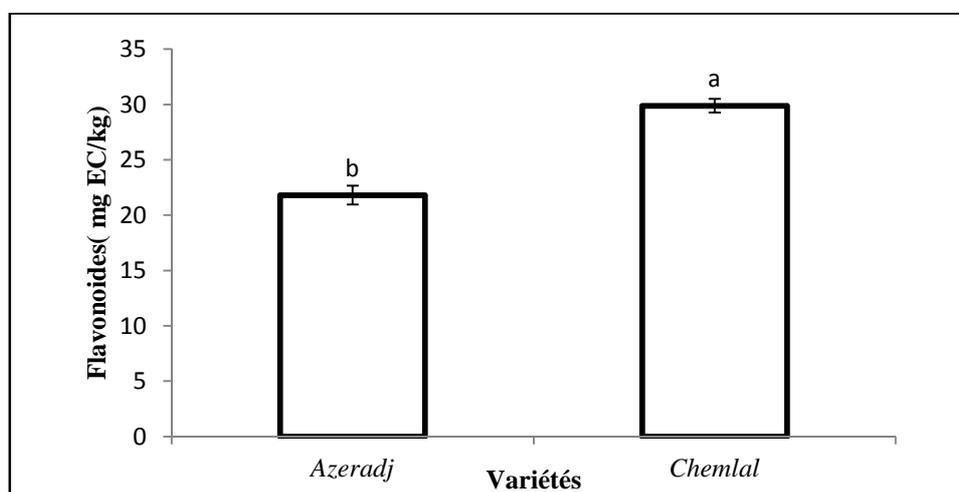


Figure 11 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons d'huile d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

Des différences significatives ($p < 0,05$) de la teneur en flavonoïdes sont constatées (figure 11); la variété *Chemlal* renferme une concentration plus élevée (29,88 mg/Kg) que

celle de l'huile de la variété *Azeradj* (21,802 mg/Kg). Les flavonoïdes constituent généralement une fraction modérée des phénols de l'huile d'olive (Murkovic *et al.*, 2004; Ocakoglu *et al.*, 2009).

En comparant les résultats de la présente étude à ceux obtenus pour trois variétés italiennes et huit variétés espagnoles (0,61-2,6 mg/kg) (Oliveras-Lopez *et al.*, 2007) , et à ceux obtenus pour cinq variétés algériennes trouvées par Brahimi et Boutagrabet (2008), on constate que les deux variétés présentent des teneurs plus élevées en flavonoïdes.

II.3. les flavonols

Les teneurs en flavonols exprimées en milligrammes équivalent de quercétine/Kg d'huile d'olive sont représentés dans la figure 12. L'analyse statistique montre qu'il existe des différences significatives ($p < 0,05$) de la teneur en flavonols entre les deux variétés analysées. La valeur la plus élevée est enregistrée dans l'huile de la variété *Chemlal* (4,98mg/Kg) contrairement à celle de l'huile de la variété *Azeradj* qui renferme une teneur de 2,61mg équivalent de quercétine /kg d'huile.

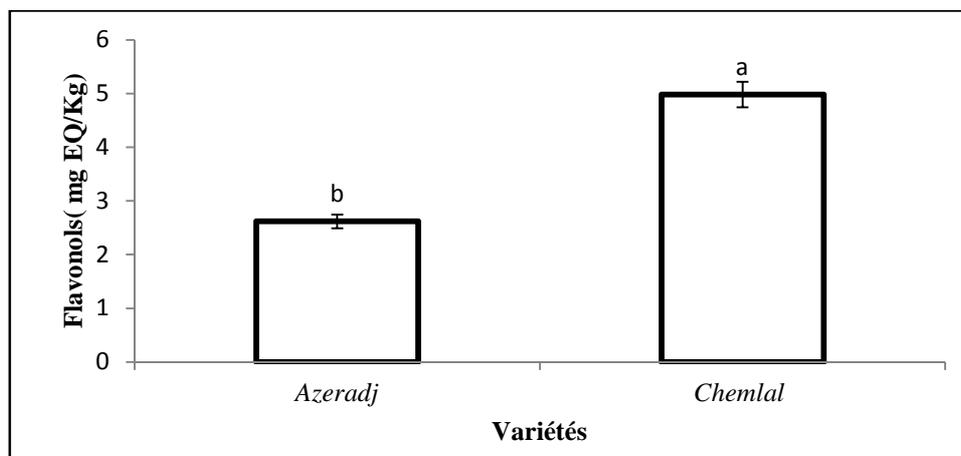


Figure 12: Teneurs en flavonols des échantillons d'huile d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

II.4. Les ortho-diphénols

Les ortho-diphénols sont des antioxydants de l'huile d'olive et lui confère des propriétés sensorielles très appréciées (Blekas et Boskou 1998; Lavelli, 2002).

Les concentrations de ces composés présentent des différences significatives ($p < 0,05$); celles-ci sont comprises entre 19,02mg EAC/Kg (*Azeradj*) et 24,58mg EAC/Kg (*Chemlal*) (figure 13). Les teneurs en *ortho*-diphénols marquent pratiquement la même allure comparée aux teneurs en polyphénols totaux.

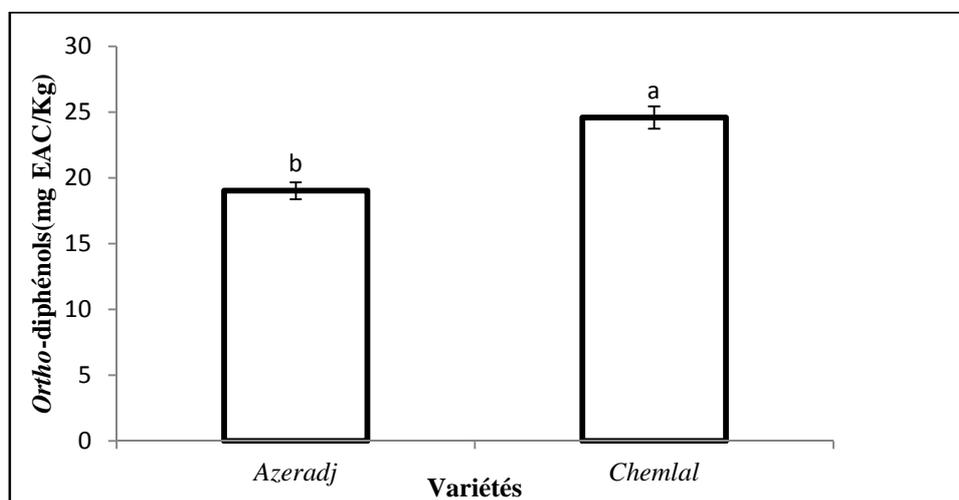


Figure 13 : Teneurs en *ortho*-diphénols des échantillons d'huile d'olive .

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

Les huiles analysées renferment des teneurs inférieures à celles rapportées par Blekas et Boskou (1998) et Zerrouk *et al.* (2008) qui ont mené une étude sur des variétés d'huiles d'olives grecques et tunisiennes. Cependant, les valeurs obtenues dans la présente étude sont supérieures à celles des variétés espagnoles (*Picual*, *Hojiblanca* et *Arbequina*) analysées par Gutierrez *et al.* (2002) pour lesquelles des teneurs allant de 3,99 à 18,92 EAC mg/kg d'huile.

II.5. Les tannins condensés (proanthocyanidines)

Les résultats de la quantification des proanthocyanidines sont présentés dans la figure ci-dessous. L'analyse statistique montre qu'il existe des différences significatives ($p < 0,05$) de la teneur en tannins condensés entre les deux variétés analysées. La valeur la plus élevée est enregistrée dans l'huile de la variété *Chemlal* (0,46mg/Kg), contrairement à celle de l'huile de la variété *Azeradj* (0,38mg/Kg).

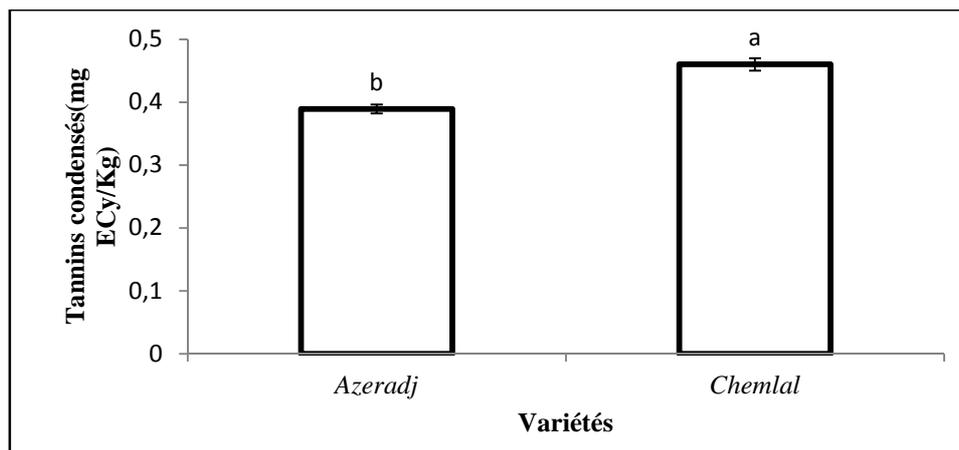


Figure 14 : Teneurs en tannins condensés des huiles d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

III. Analyse des pigments

La présence de pigments naturels est parmi les substances majeures affectant la qualité d'une huile, vu que leur teneur est en rapport avec la couleur, qui est un attribut de base que le consommateur prenne en considération (Ryan *et al.*, 1998; Roca et Minguez-Mosquera, 2001).

III.1. Dosage des chlorophylles

La coloration verdâtre de l'huile d'olive vierge est attribuée aux pigments chlorophylliens constitués essentiellement des chlorophylles (a) et (b) et leurs produits immédiats de dégradation, les phéophytines (a) et (b). Cette couleur est très appréciée par le consommateur. La teneur de ces pigments dans l'huile d'olive vierge dépend d'un certain nombre de facteurs tels que la variété, le degré de maturité des olives, le système utilisé pour l'extraction de l'huile ainsi que la durée et les conditions de stockage des olives (Rahmani, 1989; Perrin, 1992).

Les teneurs en Chlorophylles des huiles étudiées sont représentées dans la figure 15. Les valeurs sont de 11,85mg/kg pour la variété *Azeradj* et 16,63mg/kg pour la variété *Chemlal*. Des différences significatives ($p < 0,05$) sont révélées entre les deux huiles analysées.

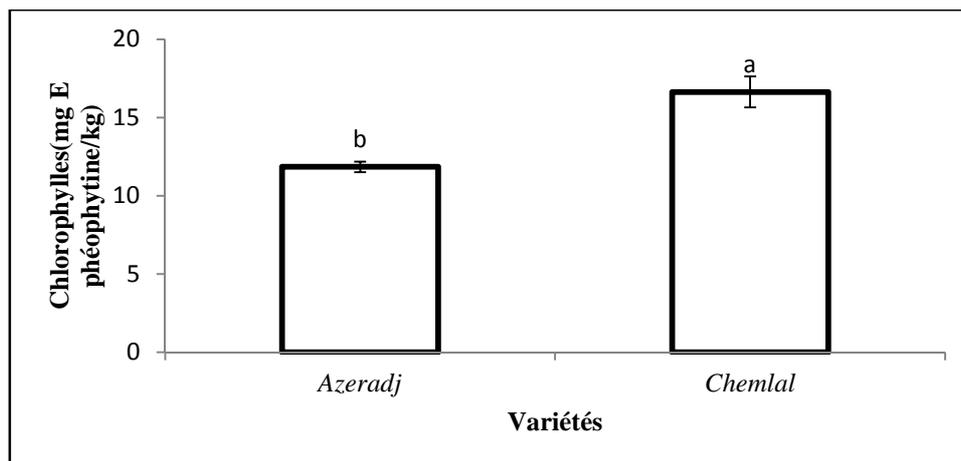


Figure 15 : Teneurs en chlorophylles des huiles d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

Les teneurs en chlorophylles des deux variétés sont similaires à celle rapportées par Ranalli (1992) ; Gandul-Rojas et Minguez-Mosquera (1996); ils ont noté qu'une huile d'olive vierge renferme des teneurs en chlorophylles qui varient de 0 à 20 mg/kg dont 40 à 80% sont des phéophytines. Les concentrations obtenues sont largement supérieures à celles obtenues par Haddada *et al.* (2007) qui ont mené une étude sur des variétés d'olive tunisiennes.

D'autre part, la teneur en chlorophylles de la variété *Chemlal* est inférieure à celle obtenue par Bengana *et al.* (2013) pour la même variété; ils ont enregistré une teneur qui atteint 21,9 mg/kg au stade de maturité très précoce. En effet, les teneurs en chlorophylles des fruits diminuent au fur et à mesure de leur maturation suite à la réduction de l'activité photosynthétique qui diminue progressivement (Criado *et al.*, 2007; Baccouri *et al.*, 2008).

L'effet de la région et de la saison influencent la composition des huiles d'olive en chlorophylles (Giuffrida *et al.*, 2006; Gargouri *et al.*, 2013) ce qui peut expliquer les différences enregistrées entre les variétés.

Selon Morello *et al.* (2006), dans une étude portant sur la variété d'huile d'olive espagnole « *Arabiquina* »; la teneur en chlorophylles diffère significativement selon les conditions climatiques.

La présente étude révèle que la teneur en chlorophylles est dépendante de l'effet variétal. L'étude effectuée par Dirman et Dibeklioglu (2009) portant sur la caractérisation de plusieurs variétés d'huiles d'olives turques confirme cette constatation.

III.2. Dosage des caroténoïdes

L'huile d'olive est protégée contre le dommage oxydatif par plusieurs substances telles que les caroténoïdes qui ont un effet antioxydant et provitaminique (provitamine A) (Roca et Minguéz-Mosquera, 2001). Le β -carotène, ainsi que d'autres caroténoïdes présents dans l'huile d'olive vierge sont connus comme désactivant de l'oxygène singulet et sont donc des inhibiteurs très efficaces de la photo-oxydation, induite par les pigments chlorophylliens. L'addition du carotène à des concentrations supérieures à 1mg /kg d'huile, réduit l'effet photosensibilisateur de la phéophytine (a) (Rahmani , 1989).

En analysant les résultats (figure 16) ,on remarque des différences significatives ($p<0,05$) entre les deux variétés étudiées. La valeur minimale a été enregistrée dans la variété *Chemlal* (4,3 mg/kg) contrairement à la variété *Azeradj* (4,66 mg/kg).

Par comparaison à la fourchette établie par Rahmani (1989) qui est de [0,33-4,20 mg/kg], on déduit que la teneur en caroténoïdes des huiles analysées est légèrement plus élevée. D'après les résultats obtenus par Boufoudi et Yakoubi (2006) sur des variétés locales (*Bouchouk Sidi-Aïch*, *Bouchouk Guegour*, *Aguenao*, *Nebdjemel*, *Zaltini*, *Bouichert*, *Chemlal*, *Roujette* de Mitidja et *Abbani*) qui présentent des teneurs qui varient entrent 0,17 à 1,183mg/kg, on constate que les deux variétés étudiées présentent des teneurs plus élevées.

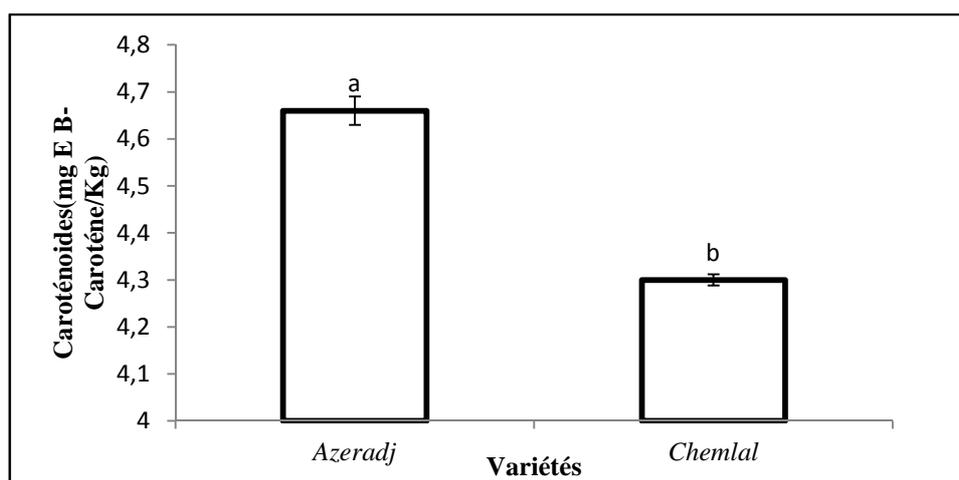


Figure 16 : Teneurs en caroténoïdes des huiles d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p<0,05$).

Les résultats de la présente étude sont différents de ceux obtenus par Salvador *et al.* (1998), qui ont mené une étude sur les huiles de la variété espagnole « *Cornicabra* ». Ceci peut être expliqué par l'effet variétal ou leur destruction suite à leur activité antioxydante ou leur dégradation d'autre part. Leur sensibilité serait due à leur structure polyinsaturée conjuguée. D'autre part, la concentration en ces constituants dépend d'autres facteurs tels que le climat, la maturation et le procédé d'extraction (Kristakis, 1998).

IV. Mesure de l'activité antioxydante

IV.1. Activité anti radicalaire

La neutralisation du radical DPPH• est utilisée afin d'évaluer la capacité antioxydante des composés naturels. Les molécules anti-oxydantes peuvent neutraliser les radicaux libres DPPH• et les convertir en d'autres composés plus stables, ce qui induit une diminution de l'absorbance à 517 nm (Williams *et al.*, 1995; Espin *et al.*, 2000).

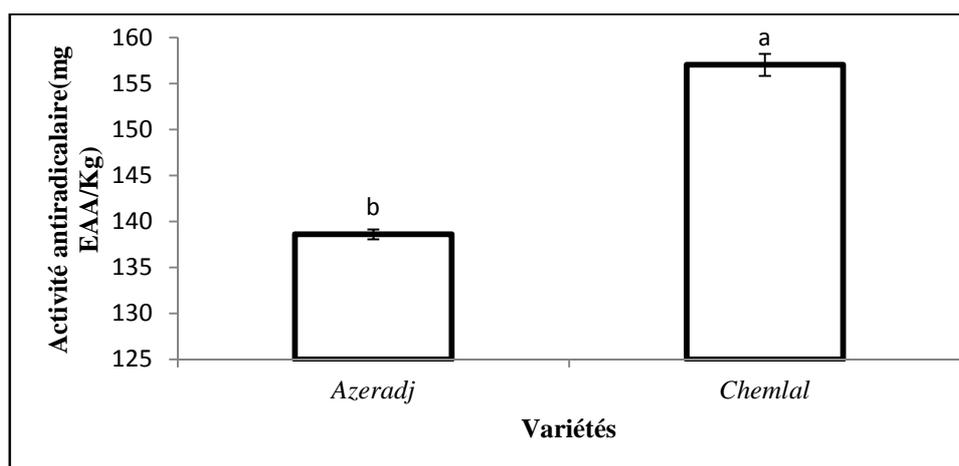


Figure 17 : Activité antiradicalaire des huiles d'olive (mg EAA/kg).

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

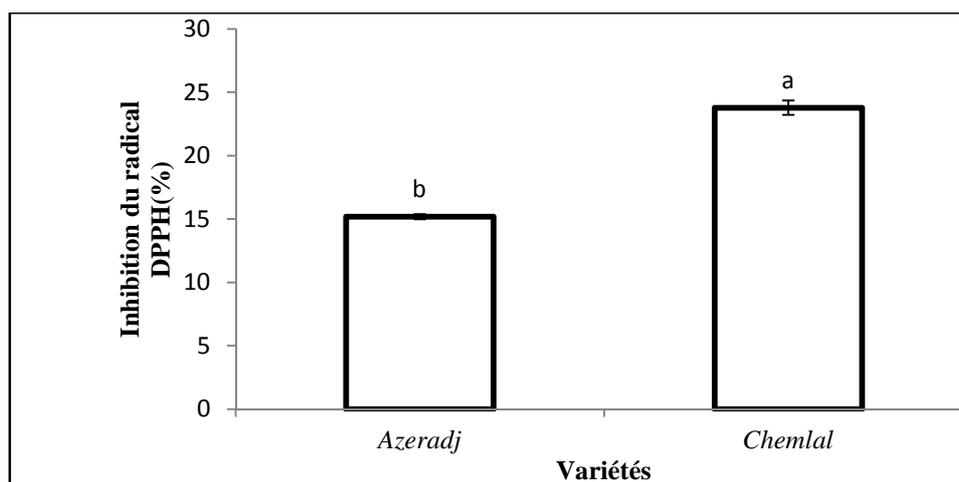


Figure 18 : Activité antiradicalaire des extraits d'huile d'olive (%).

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

Les résultats de l'activité antiradicalaire des échantillons analysés exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (figure 18) et en mg E.A./Kg (figure 17) montrent qu'ils ont des aptitudes distinctes à piéger le radical DPPH• et ils sont différents d'une manière significative ($p < 0,05$).

L'extrait d'huile de la variété qui renferme la teneur en composés phénolique la plus élevée présente l'activité antiradicalaire la plus importante. L'extrait d'huile de la variété *Chemlal* exerce la meilleure activité de 157,04 mg E.A./Kg d'huile et inhibe 23,78% du radical DPPH•, alors que la capacité antiradicalaire de l'huile de la variété *Azeradj* est de 138,6 mg E.A./Kg d'huile avec une inhibition de 15,19%. Cette faible activité peut être due à ses faibles teneurs en polyphénols totaux et en *ortho*-diphénols (129,49 mg/kg et 19,02 mg/kg respectivement). Ces résultats concordent avec ceux de Gutfinger (1981) et Ben Youssef *et al.* (2010) qui ont noté que les concentrations en *ortho*-diphénols sont proportionnelles à la capacité antioxydante de l'huile d'olive. De plus Condelli *et al.* (2013) ont révélé que les différences observées sont essentiellement dues aux profils phénoliques. Une position *ortho* et *para* des substituants augmente la stabilité de ces composés grâce à leur capacité à former une liaison hydrogène intramoléculaire entre leur groupement hydroxyle libre et leur radical phénoxyyl lors d'une action antioxydante (Rice-Evans *et al.*, 1996; Re *et al.*, 1999; Carrasco-Pancorbo *et al.*, 2005).

Selon Baiano *et al.*(2013), l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de l'huile d'olive évaluée par la méthode au DPPH• est significativement influencée par la variété des olives.

IV.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance, et présente souvent un profil comparable à celui des teneurs en substances antioxydantes dont la nature et la concentration modulent le pouvoir réducteur. Les propriétés antioxydantes de plusieurs composés phénoliques sont relativement liées à leur pouvoir réducteur (Paixao *et al.*, 2007).

Les antioxydants ayant une propriété réductrice tels que les polyphénols présents dans les extraits méthanoliques d'huiles d'olives, réagissent comme donneurs d'électrons entraînant la réduction du complexe ferrique (couleur jaune) en fer ferreux (couleur bleu verdâtre), dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Gülçin *et al.*, 2007) Les résultats du pouvoir réducteur des extraits exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique/ kg d'huile d'olive sont représentés dans la figure 19.

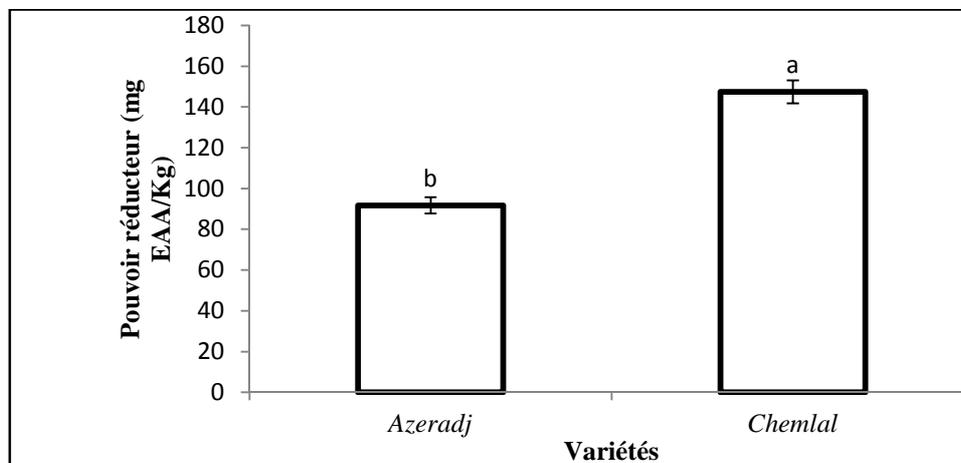


Figure 19 : Pouvoir réducteur des extraits d'huile d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

L'analyse statistique a montré des différences significatives ($p < 0,05$) entre les extraits d'huiles des deux variétés analysées. L'extrait d'huile de la variété *Chemlal* exerce la meilleure capacité à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (147,4 mg

EAA/kg), alors que l'extrait d'huile de la variété *Azeradj* a un pouvoir réducteur de 91,7mg EAA/kg. Ces différences peuvent être attribuées aux variations quantitatives et qualitatives en composés phénoliques sous l'effet de la variété. L'extrait d'huile riche en composés phénoliques et en *ortho*-diphénols (*Chemlal*) présente la meilleure activité réductrice.

IV.3. Test au phosphomolybdate

L'analyse statistique a révélé des différences significatives entre les variétés analysées (figure 20) ; le pouvoir réducteur du molybdate le plus élevé est enregistré dans l'extrait d'huile de la variété *Chemlal* (50,08 mg EAA/kg d'huile), contrairement à celui de l'extrait d'huile de la variété *Azeradj* (27,26 mg EAA/kg d'huile). Les différences notées peuvent être dues à la composition en antioxydants de chaque huile des variétés d'huile d'olive. L'extrait d'huile le plus riche en composés phénoliques et en *ortho*-diphénols (*Chemlal*) exerce le meilleur pouvoir réducteur du molybdate.

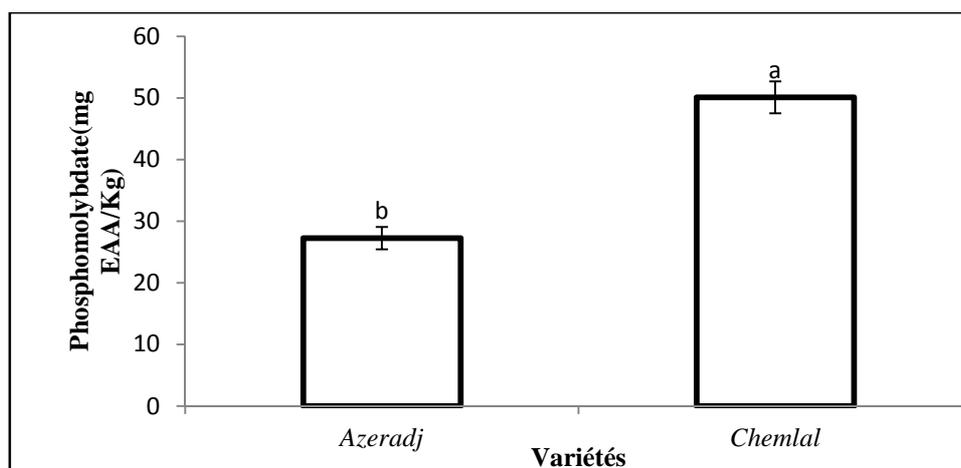


Figure 20: Pouvoir réducteur des phosphomolybdates des extraits d'huile d'olive.

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

IV.4. Inhibition de peroxyde d'hydrogène

Les radicaux hydroxyles sont les plus nuisibles pouvant attaquer toutes les molécules biologiques dont l'ADN, les protéines et les lipides (Ahsan *et al.* 2003). Les composés phénoliques agissent comme donneurs d'électrons, ils entraînent la décomposition du peroxyde d'hydrogène en H₂O (Mc donald *et al.*, 2001 ; Tripoli *et al.*, 2005). Les résultats

de l'activité d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des échantillons étudiés sont consignés dans la figure ci dessous.

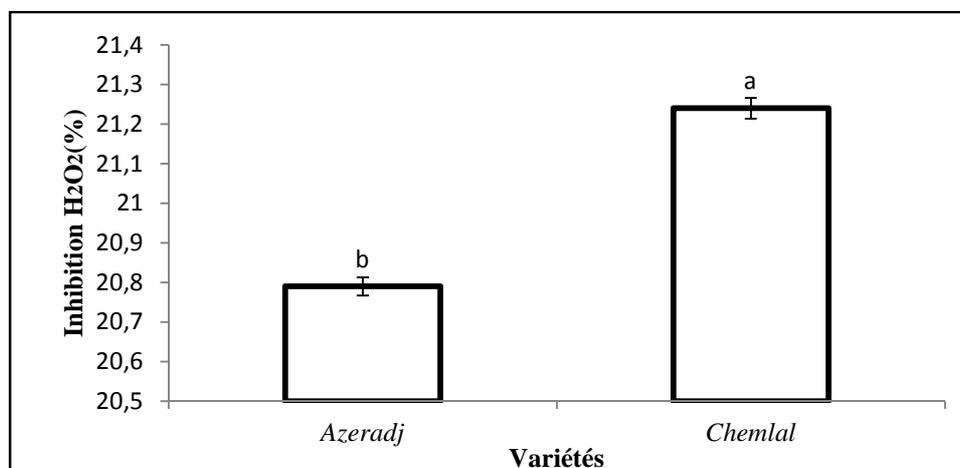


Figure 21: Inhibition du peroxyde d'hydrogène des extraits d'huile d'olive .

Les barres verticales représentent les écarts types. Les deux lettres (a-b) indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

La capacité des huiles diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les deux échantillons, on constate que l'extrait de la variété *Chemlal* exerce l'inhibition la plus élevée (21,24%), contrairement à celui de la variété *Azeradj* (20,79%). La faible activité d'inhibition de peroxyde d'hydrogène enregistrée par l'extrait de la variété *Azeradj* peut être due en plus de leur faible teneur en composés phénoliques à leur oxydation (Laincer *et al.*, 2014).

Conclusion

L'étude réalisée a pour but d'évaluer la caractérisation physico-chimique et le pouvoir antioxydant des extraits d'huile d'olive de deux variétés algériennes; *Chemlal* et *Azeradj* provenant de la région Sidi Aich de la wilaya de Bejaia.

Les résultats obtenus présentent des valeurs d'humidité, d'acidité, d'indice de peroxyde et des coefficients d'extinction spécifique dans l'UV (K232, K270) qui répondent aux limites établies par le COI, (2003) pour une huile d'olive extra vierge, ce qui nous permet de les classer dans la catégorie « extra vierge ».

L'étude comparative entre les deux variétés a révélé que les teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, flavonols, *ortho*-diphénols et tannins condensés, sont significativement différentes, cela peut être due à l'effet variétal. Cette étude a révélé que les teneurs les plus élevées ont été obtenues dans l'huile de la variété *Chemlal*.

Le dosage des pigments montre que la variété *Azeradj* est la plus riche en caroténoïdes (4,66 mg/kg), alors que l'huile de la variété *Chemlal* est la plus riche en chlorophylles (16,63mg/kg).

Les tests de l'estimation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des deux variétés, indiquent que les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans les extraits de la variété *Chemlal* avec :

- La meilleure activité antiradicalaire (157,04 mg E.A.A/Kg).
- La meilleure capacité à réduire le fer ferrique en fer ferreux (147,4 mg EAA/kg).
- Le meilleur pouvoir réducteur du phosphomolybdate (50,08 mg EAA/kg).
- La plus forte capacité à réduire le peroxyde d'hydrogène.

Ces résultats confirment l'intérêt de la consommation de l'huile d'olive, vu leur teneurs considérables en divers composés phénolique piégeant les radicaux libres qui sont à l'origine de nombreux effets nocifs pour l'organisme.

Afin de compléter ce travail, il serait intéressant de :

- Déterminer la composition de l'huile d'olive en acides gras;
- Caractériser les différents antioxydants présents dans ces huiles.
- Étaler le travail sur d'autres variétés algériennes.

A

AFNOR (Association Française de Normalisation).1984. Corps gras-graines oléagineuses-produits dérivés, 4eme édition, Paris, P 459.

Aganchich B., El Antari A., Wahbi S., Tahy H., Wakrim R. et Serraj R. 2008. Fruit and oil quality of mature olive trees under partial rootzone drying in field conditions. *Grasas y Aceites*, 59 (3): 225-233.

Aguilera M.P., Beltran G., Ortega D., Fernandez A., Jimenez A. et Uceda M. 2005. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. *Food Chemistry*, 89: 387-391.

Ahsan H., Ali A. et Ali R. 2003. Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and Experimental Immunology*, 131: 398-404.

Ajana H.,El Antari A. et Hafidi A.1999. Evolution of biometric parameters and chemical composition of olives from the Moroccan Picholine variety during fruit ripness. *Grasas y Aceites*, 50 (1) :1-6.

Alais C., Linden G. et Miclo L. 2003. Lipides. In: Biochimie alimentaire. Ed Dunod. pp 51-71.

Alarcón de la Lastra C., Barranco MD., Motilva V. et Herrerías JM. 2001. Mediterranean diet and health: biological important of olive oil. *Current Pharmaceutical Design*,7 (10): 933-950.

Alba Mendoza J.A. 1999. Séparation des phases solide et liquide (analyse des différentes méthodes). Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oléotechnique, Florence, 10, 11 et 12 mars 1999. Conseil Oléicole International, 1-20.

Amiot M.J., Fleuriet A . et Macheix J. 1986. Accumulation of oleuropeine derivation during olive maturation. *Phytochemistry*, 28: 67-69.

Angérosa F., D'Alessandro N., Konstantinou P. et Di Giacinto L.1995. GC-MS evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43: 1802-1807.

Aparicio R. et Luna G. 2002. Characterisation of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipids Science and Technology*, 104:1-12.

Azzi A. et Stocker A. 2000. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Progress in Lipid Research*. 39(3): 231-255.

B

Bacconi B. 2006. Application of solid –phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars, P. 4.

Baccouri B., Zarrouk W., Krichene D., Nouairi I., Ben Youssef N., Daoud D. et Zarrouk M. 2007 . Influence of fruit ripening and crop yield on chemical properties of virgin olive oils from seven selected oleasters (*Olea europea* L.). *Journal of Agronomy*, 6 (3) : 388-396.

Baccouri B., Zarrouk W., Baccouri O., Guerfel M., Nouairi I., Krichene D., Daoud D. et Zarrouk M. 2008. Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea* L. subsp. Oleaster). *Grasas y Aceites*, 59 (4): 346-351.

Baiano A., Gambacorta G., Terracone C., Previtali M.A., Lamacchia C. et La Notte E. 2009. Changes in phenolic content and antioxidant activity of Italian extra-virgin olive oils during storage. *Journal of Food Science*, 74(2): 177-183.

Baiano. A., Terracone C., Viggiani I. et Alessandro M. 2013. Effects of Cultivars and Location on Quality, Phenolic Content, *American oil chemists Society*, 90:103-111.

Baldioli M. 1996. Antioxydant activity of tocophérols and phénoliques compounds of virgin olive oil. *JAOCS*, Vol 73, N°11, pp.1589-1593.

Bandino G., et Dettori S. 2001. Manuale di olivicoltura . Italy. Ed. *Regione Autonoma della Sardegna – Consorzio Interprovinciale per la Frutticoltura Cagliari-Oristano-Nuoro*, Cagliari 378 p.

Beauchamp G.K., Keast R.S.J., Morel D., Lin J., Pika J., Han Q., Lee C.H., Smith A.B. et Wreslin P.A.S. 2005. Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature*, 437: 45-46.

Benabdeljelil. K. 2003. L'utilisation de matière grasse dans l'alimentation avicole: caractéristique nutritionnelle et recommandation pratique.

Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Gómez-Caravaca A.M., Segura-Carretero, A. et Fernández-Gutiérrez A. 2007. Phenolic molecules in virgin olive oils: A survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. *An overview of the last decade. Molecules*, 12 : 1679–1719.

Bengana M., Bakhouché A., Sanchez- Lozano J., Amir Y. et Youyou A. 2013. Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International* , 54 : 1868–1875.

Ben Tekaya I. et Hassouna M. 2007. Effet des chlorophylles de la beta carotène de l'alphatocophérol du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive Tunisienne. *OCL*, 14(1): 60-67.

Bentemime S., Manai H. et Methnni K. 2008. Sterolic composition of Chetoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chemistry* , 10 : 366-374.

- Benyahia N. et Zein K.** 2003. Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. *Contribution Spéciale de Sustainable Business Associates (Suisse)*, p. 1-8.
- Ben Youssef N., Zarrouk W., Carrasco-Pancorbo A., Ouni Y., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A., Daoud D. et Zarrouk M.** 2010. Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chétoui virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 199-204.
- Berra B.** 1998. Les composants mineurs de l'huile d'olive: aspects biochimiques et nutritionnels. *Olivae*, 73: 29-30.
- Bianco A., Coccioli F., Guiso M. et Marra C.** 2001. The occurrence in olive oil of a new class of phenolic compounds : hydroxy-isochromans. *Food Chemistry*, 77 : 405-411.
- Blekas G., Tsimidou M. et Boskou D.** 1994. Contribution of α -tocopherol to olive oil stability. *Food Chem.*, 52, PP: 289-294.
- Blekas G. et Boskou D.** 1998. Antioxidative activity of 354-dihydroxyphenylacetic acid and α -tocopherol on the triglyceride matrix of olive oil. Effect of acidity. *Grasas y Aceites*, 49(1):34-37.
- Bokou D.** 1996. Olive oil: chemistry and technology. Champaign Illinois. *American oil chemists' Society*, 69:552-555
- Boskou D.** 2006. Characteristics of the Olive Tree and Olive Fruit: in Olive Oil, Chemistry and Technology, *The American Oil Chemists' Society*, pp 13-20.
- Boskou D., Blekas G. et Tsimidou M.** 2006. Olive oil composition, (1st edition.), Olive oil, chemistry and technology, (2nd edition). Champaign Illinois: *American oil Chemists society*. USA. pp 41-72.
- Boskou D.** 2009. Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil in "Olive oil: minor constituents and Health. Ed. CRC press. pp 11-44.
- Bouaziz M., Grayer R.J., Simmonds M.S.J., Damak M. et Sayadi S.** 2005. Identification and antioxidant potential of flavonoids and low molecular weight phenols in olive cultivar Chemlali growing in Tunisia. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53: 236-241.
- Bouchekif M.** 1991. Evolution quantitative et qualitative de l'huile d'olive au cours de la maturation et du stockage. Thèse d'ingénieur d'états en technologie des I.I.A. et nutrition humaine : Institut National Agronomique ; ALHARRACH (ALGER). P.34.
- Boufoudi N. et Yakoubi k.** 2006. Caractérisation physico-chimique de quelques variétés locales de l'huile d'olive vierge. Mémoire d'ingénieur en contrôle de qualité et d'analyse : Université Abderrahmane Mira de Bejaia, I.T.A.F.V de TAKRIETZ. p. 36.
- Boukachabine N., Ajana H., et Abderraouf El Antari A.** 2011. A study of fatty acids and triglycerides oil composition and quality parameters of five autochthon olive varieties in Morocco. *Lebanese Science Journal*, 12 (2) : 45-68.

Brahimi S. et Boutagrabet K. 2008. Activité antioxydante des extraits phénoliques de quelques variétés de l'huile d'olive algérienne. Mémoire d'ingénieur en contrôle de qualité et analyse alimentaire. Université Abderrahmane Mira de Béjaia.

Brenes M., Garcia A., Garcia P., Rios J.J. et Garrido A. 1999. Phenolic compounds in spanish olive oils. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47(9): 3535-3539.

Brenes M., Hidalgo F.J., Garcia A., Rios J.J., Garcia P., Zamora R. et Garrido A. 2000. Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. *Journal of American Oil Chemists Society*, 77(7): 715-720.

Brenes M., Garcia A., Garcia P. et Garrido A. 2001. Acid hydrolysis of secoroid aglycons during storage of virgin olive oil. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 49(11): 5609-5614.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3^{ème} éd.). Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1120 p.

C

Carrasco-Pancorbo A., Cruces-Blanco C., Carretero A.S. et Gutierrez F. 2004. Sensitive determination of phenolic acids in extra virgin olive by capillary zone electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6687-6693.

Carrasco-Pancorbo A., Segura-Carretero A. et Fernandez-Gutierrez A. 2005. Co-electroosmotic, capillary electrophoresis determination of phenolic acids in commercial olive oil. *Journal of Separation Science*, 28 :925-934.

Çavusoglu A. et Otkar A. 1994. Les effets des facteurs agronomiques et des conditions de stockage avant la mouture sur la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 52: 18-24.

C.E.E. (2568/91). Communauté Économique Européenne. Règlement (CEE) N°2568/91 de la commission du juillet (1991). Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes : 27-30.

Chimi H. 2001. Qualité des huiles d'olive au Maroc. Transfert de technologie en agriculture. *Bulletin Mensuel d'information et de liaison du Programme National de transfert de Technologie en Agriculture*, 79:1-4.

Cicerale S., Conlon X. A., Sinclair A.J. et Keast R.S. 2009. Chemistry and health of olive oil phenolics. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 49 (3) :218-836.

C.O.I. 1996. Conseil Oléicole International. Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet. *Conseil Oléicole international/ T20/Doc19 6 juin 1996, Madrid. Espagne.*

C.O.I. 2000. Conseil Oléicole International. Amélioration de la qualité de l'huile d'olive, P.77.

C.O.I. 2003. Conseil Oléicole International. Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive.

- C.O.I** 2006. Guide de gestion de la qualité de l'industrie de l'huile d'olive : les moilins.
- C.O.I** 2009. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive.
- Conde C., Delrot S. et Geros H.** 2008. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1545-1562
- Condelli N., Caruso M. C., Galgano F., Russo D., Milella L. et Favati F.** 2013. Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. *Food Chemistry*, 177 : 233–239.
- Covas M.I.** 2007. Olive oil and the cardiovascular système . *Nutritional Pharmacology*, 55 (3): 175-186.
- Criado M.N., Motilva M.J., Goni M. and Romero M.P.** 2007. Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars. *Food Chemistry*, 100: 748-755.

D

- De Stefano G., Piacquadio P., Servili M., Di Giovacchino L. et Sciancalepore V.** 1999. Effect Of extraction systems on the phenolic composition of virgin olive oils. *Fett/Lipid*, 101(9): 328-332.
- Dhifi W., Malaoui B., Zitoun B. et Merzouk B.** 2002. Influence du système d'extraction sur la qualité organoleptique de l'huile d'olive de Tunisie. *La rivista italiana delle sostanze grasse*, vol LXXIX, p.245-249. N°72, p. 23-38.
- Di Giovacchino L.** 1991. l'extraction de l'huile d'olive des olives par le système de la pression, de la centrifugation et de la percolation : Incidence des techniques d'extraction sur le rendement en huile. *Revue : Olivae* N36-Avril 1991. PP:14-36.
- Di Giovacchino L.** 1999. La technologie d'élaboration de l'huile d'olive vierge: Opérations préliminaires en huilerie et préparation de la pâte d'olives. Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en Oléiculture et oleotechnique. Florence, 10, 11 et 12 mars 1999. Conseil Oléicole International, 1-39.
- Di Giovacchino L., Simona S. et Di Vincenzo D.** 2002. Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *Istituto Sperimentale per La Elaiotecnica, Città S. Angelo (PE), Italy. European Journal Lipid Science and Technologie*, 104 : 587-601.
- D'Imperio M., Dugo G., Alfa, M., Mannina L. et Segre A. L.** 2007. Statistical analysis on Sicilian olive oils. *Food Chemistry*, 102(3):956–965.
- Dirman A et Dibeklioglu H.** 2009. Characterization of Turkish Virgin Olive Oils Produced from Early Harvest Olives. . *Journal of American Oil Chemist's Society* 86:663–674.

Douzane M., Nouani A., Brahimi A. et Bellal M.M. 2010. Influence de la Variété, de la Campagne Oléicole et de la Région Sur la Composition en Acide Gras de Quelques Huiles D'olives Vierges Algérienne. *European Journal of Scientific Research*, 46 (3) : 339-351.

Dugo G., Lo Turco V., Pollicino D., Mavrogeni E. et Piptone F. 2004. Caractérisation d'huile d'olive vierge sicilienne. Variation qualitative des huiles des fruits des cultivars « Biancolilla, Nocellara del Belice, Cerasuola, Tonda Iblea et Crastu » en fonction des techniques et de l'époque de récolte des olives. *Olivae*, 101: 44-52.

Dymie B., Multon M.L. et Simon D. 1981. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. *Ed : Lavoisier*, N°4, P.249.

E

El Antari A., Hilal A., Boulouha A. et El Moudni A. 2000. Etude de l'influence de la variété, de l'environnement et des techniques culturales sur les caractéristiques des fruits et la composition chimiques de l'huile d'olive vierge extra au Maroc. *Olivae*, 80: 29-36.

Espin J. C., Soler-Rivas C. et Harry J. 2000. Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1 picrylhydrazyl Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 648-656.

Esti M., Contini M., Moneta E. et Sinesio F. 2009. Phenolics compounds and temporal perception of bitterness and pungency in extra – virgin olive oils : Changes occurring throughout storage. *Food Chemistry*, 113: 1095-1100.

F

Fedeli E. 1997. Technologie de production et de conservation de l'huile. In : Encyclopédie mondiale de l'olivier. Ed. Plaza et Janes, pp.253-273.

Fki L., Allouche N. et Sayadi S. 2005. The use polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chem.* 93: P. 197-204.

Folly P. 2000. Catabolisme de la chlorophylle b structures, mécanismes et synthèse, 200p. Doctorat en sciences naturelles : Fribourg (Suisse) : Faculté des sciences de l'université de Fribourg.

G

Gandul-Rojas B. et Minguéz-Mosquera M.I. 1996. Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72: 31-39.

- Garcia J M., Seller S. et Perez-Camino C.** 1996. Influence of fruits ripening on olive oil quality. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44: 3516-3520.
- Gargouri B., Ammar S., Zribi A., Ben Mansour A. et Bouaziz M.** 2013. Effect of growing region on quality characteristics and phenolic compounds of chemlali extra-virgin olive oils. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35:2801–2812.S
- Ghedira K.** 2008. L'olivier. *Phytothérapie*, 6 (2): 83-89.
- Giuffrida D., Salvo F., Salvo A., Pera L.L. et Dugo G.** 2006. Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties. *Food Chemistry*, 833-837.
- Goamez S., Salvador M.D. et Fregapane G.** 2002. Phenolic Compounds Profile of Cornicabra Virgin Olive Oil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50, 6812-6817.
- Gomez-Rico A., Fregapane G. et Salvador M.D.** 2008. Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*, 41: 433-440.
- Graille J.** 2003. L'huile d'olive : sa place dans l'alimentation humaine in lipides et corps gras alimentaire. Ed. : Col.Sci. Et Tech. Agro-alim. Lavoisier., PP : 80- 105.
- Gratikammoun N., Knhlif M., Ayadi M., Rekik H., Rekik B. et HAMDI. M.T.** 1999. Evolution des caractéristiques chimiques de l'huile olive au cours de la maturation des olives. *Revue ezzaitouna*, 5 :1-2.
- Grattan S.R., Berenguer M.J., Conell J.H., Polito V.S. et Vossen P.M.** 2006. Olive oil production as influenced by different quantities of applied water. *Agricultural Water Management*, 85: 133-140.
- Gülçin L., Oktay M., Kufrevioğlu D. et Aslan A.** 2002. Determination of antioxidants activity of lichens *Cetraria islandica* (L) Ach. *Jour Ethnopharma*. 79:325-329.
- Gülçin L., Elias R., Gepdiremen A., Boyer L. et Koksal E.** 2007. A comparative Study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus L.*) extracts. *Journal of biotechnology*. 6 (4): P.401-418.
- Gulfraz M., Kasuar R., Arshad G., Mehmood S., Minhas N., Asad M.J Ahmad A. et Siddique F.** 2009. Isolation and characterization of edible oil from wild olive . *African Journal of Biotechnology* , 8 (16): 3734-3738.
- Gutfinger T.**1981. Phenols in olive oils. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 58: 966-998.
- Gutierrez, F et Izquierdo, R.**1994. Les critères de qualité applicable aux l'huile d'olive : Méthodes d'analyse physico-chimique et organoleptique. *Cours international*, P.123-156
- Gutierrez F, Villafranca M.J. et Castellano, M.J.** 2002. Changes in the Main Components and Quality Indices of Virgin Olive Oil During Oxidation. *Journal of the American Oil Chemists Society* ,79 (7) : 669-676.

H

Haddada F. M., Manai H., Ouslati I., Daoud D., Sanchez J., Osorio E. et Zarrouk M. 2007. Fatty Acid, Triacylglycerol, and Phytosterol Composition in Six Tunisian Olive Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 10941-10946.

Halliwell B. 1999. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun*, 9: 1-32.

I

Inglese P. 1994. L'influence de la variété sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivae*, 54: 42- 44.

Inglese P., Barone E. et Gullo G. 1996. The effect of complementary irrigation on fruit growth, ripening pattern and oil characteristics of olive (*Olea europea L.*) cv. Carolea. *Journal of Horticultural Science*, 71: 257-263.

I.S.O : International Standard Organisation 662. 1996. Détermination de l'humidité des corps gras.

Issaoui M., Dabbou S., Ehbili A., Rjiba I., Gazzah N., Trigui A. et Hammami M. 2007. Biochemical characterisation of some Tunisian virgin olive oils obtained from different cultivars growing in Sfax National Collection. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5 (1): 17-21.

J

Jacotot B. 1996. Huile d'olive et prévention. *Clinical Nutrition & Metabolic*, 10: 7-9.

Jacotot B. 1997. Intérêt nutritionnel de la consommation de l'huile d'olive. *Oléagineux, corps gras et lipides*, 4 : 373-377.

Judde A. 2004. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications, 11: 414-4183.

K

Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J-P., Pihlaja K., Kujala T.S. et Heinonen M. 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Jour Agric. Food Chem*, 47: 3954-3962.

Kamal-Eldin A. et Appelquist L.A. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31: 671-701.

Karleskind A. 1992. Manuel des corps gras. Ed.Tec et Doc., Lavoisier, Paris. pp 1204-1425.

Kim D-O., Chun O.K., Kim Y.J. Moon H-Y . et Lee C.Y. 2003. Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidants Capacity in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6509-6515.

Kristakis A. et Markakis P.1987.Olive oil.Food Research, 31: 7-18.

Kritsakis A. K. 1998. Flavor components of olive oil. Journal of American Oil Chemist's Society, 75(6): 673-681.

Kumaran A and Karunakaran R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of Phyllanthus species from India. *Lebens-Wiss Technol*, 40:344-352.

L

Laincer, F., Laribi R., Tamendjaria, A., Arrarb L., Rovellinic P. et Venturinic S. 2014. Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas Y Aceites* , 65(1):7-9.

Lavelli, V.2002. Comparison of the antioxidant activities of extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,50 : 7704–7708.

Leger C.L. 1999. Co-produits de l'huilerie d'olive : les composés phénoliques et leurs propriétés biologiques.Oléagineux Corps Gras Lipides, 6(1):60-63.

Leger C.L. 2003.L'huile d'olive : sa place dans l'alimentation humaine. In : Lipides et corps gras alimentaires. Lavoisier, Ed. Technique et documents, pp.81-101.

Luaces P., Perez A.G., García J.M. et Sanz C.2005. Effects of heat-treatments of olive fruit on pigment composition of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 90: 169-174.

M

Matos L.C., Pereira J.A., Andrade P.B., Seabra R.M., Beatriz M. et Oliveira P.P.2007. Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils. *Food Chem*,102 :976-983.

McDonald S., Prenzler P. D., Antolovich M. et Robards K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73 :73–84.

Meijboom P.W. 1964. Relationship between molecular structure and flavor Perceptibility of Aliphatic Aldehydes, *J. AM. Oil Chem. Soc*, 41 : P.326-328.

Michelakis N. 1992. L'amélioration de la qualité de l'huile d'olive en grec. Passé, présent et avenir. *Olivae*, 42: 22-28.

Minguez-Mosquera M.I., Rejano L., Gandul B., Higinio A. et Carido J. 1991. Color pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 68: 332-336.

Minioti K.S. et Georgiou C.A. 2008. High throughput flow injection bioluminometric method for olive oil antioxidant capacity. *Food Chem*, 109 :455-461.

Montedoro G., Servilli M., Baldioli M. et Miniati E. 1992. Simple and hydrolysable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1571-1576.

Montedoro G., Baldioli M., Selvaggini R., Begliomini A.L. et Taticchi A. 2002. Relationship between phenolic compounds of olive fruit and olive oil: importance of the endogenous enzymes. *Acta Hort*, 586: 551-556.

Mordret F., COUSTILLE J-L. et LACOSTE F. 1997. Contrôle de qualité/ Analyses Méthodes physicochimiques d'analyse des huiles d'olive. *OCL*, 1997, N°5, p. 364-371.

Morello J., Motilva M., Tovar M. et Romero M. 2004. Changes in commercial virgin olive oil (cv. Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85: 357-364.

Morello J.R., Romero M. P. et Motiva M.J. 2006. Influence of Seasonal Conditions on the Composition and Quality Parameters of Monovarietal Virgin Olive Oils. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 83 : 683-690.

Moussay I., Metzidakis I. et Gerardopoulos D.G. 1995. The affect of Field storage of koroneiki and mastoids olives on oil quality characteristics . *La Rivista Italiana Delle Sostanze Crasse*, vol LXXII.GIOGNO.

Murkovic M., Lechner S., Pietzka A., Bratacos M. et Katzogiannos E. 2004. Analysis of minor components in olive oil. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 61: 155-160.

N

Nieves-Criado M., Ramón Morelló J., José Motilva M. et Paz Romero M. 2004. Effect of Growing Area on Pigment and Phenolic Fractions of Virgin Olive Oils of the Arbequina Variety in Spain. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 81:633-640 .

O

Ocakoglu D., Tokatli F., Banu O. et Figen K. 2009. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Journal Food Chemistry*, 113 :401-410.

Oliveras-Lopez M.J., Innocenti M., Giaccherini C., Leri F., Romani A. et Mulinacci N. 2007. Study of the phenolic composition of spanish and italian monocultivar extra virgin

olive oils : Distribution of lignans, secoridoidic, simple phenols and flavonoids. *Food Chem*, 73 : 726-732.

Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guérère M. et Artaud J. 2004. Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des Falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologique*, 965:169-196.

Oteiza P.I., Erlejman A.G., Verstraeten S.V., Keen C.L. et Fraga C.G. 2005. Flavonoid-membrane interactions: A protective role of flavonoids at the membrane surface? *Developmental Immunology*, 12 : 19-25.

Oueslati I., Anniva C., Daoud D., Tsimidou M.Z. et Zarrouk M. 2009. Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. *Food Chemistry*, 112: 733–741.

Owen R.W., Mier W., Giacosa A., Hull W. E., Spiegelhalder B. et Bartsch H. 2000. Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *The Lancet Oncology*, 1:107-112.

P

Paixao N., Persetrelo R., Maeques J.C. et Camara J.S. 2007. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red rosé and white wines. *Food Chemistry*, 105: 204-214.

Paz Romero M., Tovar M.J., Ramo T. et Motilva J. 2003. Effect of crop season on the composition of virgin olive oil with protected designation of origin « les Garrigues » . *Journal of American Oil Chemist's Society*, 8(5) :423-430.

Perrin J.L. 1992. Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et Recherche*, 4: 25-31.

Pirisi F. M., Cabras P., Falqui Cao C., Migliorini M. et Muggelli M. 2000. *Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. 2. Reappraisal of the Extraction, HPLC Separation, and Quantification Procedures.* – *J. Agr. Food Chem*, 48: 1191-1196.

Psomiadou E. et Tsimidou M. 2001. Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 640-647.

Psomiadou E. et Tsimidou M. 2002. Stability of Virgin Olive Oil. 1. Autoxidation Studies. *Journal of Agriculture and Chemistry*, 50 (4):716-72.

R

Rahmani M. et Saad. 1989. Photooxydation des huiles d'olive : influence de la composition chimique. *RFCG*, N°25 9/10, p.355 - 360.

Rahmani M. 1989. Mise au point sur le rôle des pigments chlorophylliens dans la photo-oxydation de l'huile d'olive vierge. *Olivæ* , N°26, p30-31.

- Ramalakshmi K., Rabrath I., Jerganmohan. et Rao et Rao L.** 2008. Antioxidant potentiel of low ,grade coffé beans. *Food Research International* ,41 :99.
- Ramírez-Tortosa M.C., Granados S. et Quiles J.L.**2006.Chemical Composition, Types and Characteristics of Olive Oil and Health. CABI Publishing,PP 45-62.
- Ranalli A.** 1992. Caroténoids in Virgin Olive Oil.Effect of Technology, Ital. J.Food Sci.1:53-57.
- Ranalli A., Pollastri L., Contento S., Iannucci E. et Lucera L.** 2003. Effect of olive paste kneading process time on the overall quality of virgin olive oil. *European Journal of Lipids and Science Technology*, 105 : 57-67.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M . et Rice-Evans C.** 1999.Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Ribéreau-Gayon P.** 1968. Les composés phénoliques des végétaux.Ed. Dunod,Paris: 173-201.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J.et Paganga G.**1996. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20 :933-956.
- Roca M. et Minguéz-Mosquera M.I.** 2001. Changes in Chloroplast Pigments of Olive Varieties during Fruit Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 832-939.
- Roehly Y.** 2000. La fabrication de l'huile d'olive. Une étude bibliographique . Ed :*Ecole supérieure d'Agronomie Tropicale de Montpellier*.P.23.
- Rolland Y.**2004.Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 11(6):419-424.
- Romani A., Pinelli P., Mulinacci N., Vincieri F., Gravano E. et Tattini M.** 2000. HPLC analysis of flavonoids and secoridoids in leaves of *Ligustrum vulgare* L.(Oleaceae).*Journal of agricultural and food chemistry*, 48: 4091-4096.
- Ruch R.J., Cheng S.J. et Klaunig, J.E.**1989. Prevention of cytotoxicity and inhibitionof intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogen*, 10: 1003–1008.
- Ruiz L.F., Rodriguez A.G.O., Fernandez M.H., Marquez A.J., Pozo P.L.D., Bernardino J.M., Ayuso T.R. et Ojeda M.U.**1999. *Consejería de Agricultura y pesca*. 2eme Ed. Informaciones técnicas comunidad europea. pp. 17-44.
- Ryan D et Robards K.**1998. Phenolic cmpounds in olive.In : *Analyst*, 123: 31-34.
- Ryan D., Robards K . et LAVEE S.** 1998. Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*,72 : 23-38.

S

- Salvador M.D., Aranda F. et Fregapane G.** 1998. Chemical composition of commercial Cornicabra virgin olive oil from 1995/96 and 1996/97 crops. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 75: 1305-1311.
- Satue M.T., Huang S.W. et Frankel E.N.** 1995. Effect of naturel antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached, and deodorized olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*.
- Segura-Carretero A., Menéndez J. et Fernández-Gutiérrez A.** 2010. Polyphenols in Olive Oil: The Importance of Phenolic Compounds in the Chemical Composition of Olive Oil In "Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention". Editions Elsevier. Preedy V. R. and Ross Watson R. pp. 169-170.
- Servili M. et Montedero G.** 2002. Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technologie*, 104:602-613.
- Servili M., Selvaggini R., Esposto S., Taticchi A., Montedero G. et Morozzi G.** 2004. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: Agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography*, 1054: 113-127.
- Shahidi F.** 1997. Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications. *The American Oil Chemists Society*, 414 p.
- Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A., Simonica M. et Knez Z.** 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavonones and flavonols in some plants materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89: 191-198.
- Stiti N., Msallem M., Triki S. et Cherif A.** 2002. Etude de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive de différentes variétés Tunisienne. *La Rivista Italiana dell Sostanze Grasse*, 79(10): 357-363.

T

- Talantikite M.** 1988. Etude comparative des principales variétés d'huiles d'olive d'Algérie .Influence du raffinage sur leur qualités organoleptiques et nutritionnelles, thèse : Alger : Institut National d' Agronomie .p 99.
- Tanilgan K., Ozcan M.M. et Unver A.** 2007. Physical and chemical characterstics of five Turkish olive (*Olea uerpea L.*) varieties and their oils. *G rasas y Aceites*, 58 (2) : 142 -147.
- Toplu C., Onder D., Onder S. et Yildiz E.** 2009. Determination of fruit and oil characteristics of olive (*Olea europaea L.cv.Gemlik*) in different irrigation and fertilization regimes. *African Journal of Agricultural Research*, 4 (7): 649-658.
- Tovar M.J., Paz Romero M., Girona J. et Motilva M.J.** 2002. L-phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive(*Olea*

europaea_Lcv Arbequina) fruit grown under different irrigation regimes. *Journal of Science of food and Agriculture*, 82 :892-898.

Tripoli E., Marco Giammanco M., Tabacchi G., Di Majo D., Giammanco S. et La Guardia M. 2005. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews*, 18:98–112.

Tura D., Gigliotti C., Pedo S., Failla O., Bassi O., Bassi D. et Serraiocco A. 2007. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europaea L.*) and correlation with oxidative stability. *Science Horticulture*, 112: 108-119.

Turkmen N., Sari F. et Velioglu Y.S. 2006. Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99: 835-841.

U

Uceda M., Jiménez A. et Beltran G. 2006. Olive oil extraction and quality. *Grasas y Aceites*, 57 (1) :25-31.

Uzzan A. 1992. Olive et l'huile d'olive. In : Manuel des corps gras. Karliskind A. Ed. Tec et Doc. 1:8-229.

Uzzan A. 1994. Huile d'olive. In : Manuel des corps gras. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp.763-766.

V

Vazquez Roncero A. 1978. Les polyphénols de l'huile d'olive et leur influence sur les caractéristiques de l'huile d'olive. *Revue Française des Corps Gras*, 78(4) : 21-26.

Velasco J. et Dobarganes C. 2002. Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipids and Science Technology*, 104 :661-676.

Viola. 1997. L'huile d'olive. In: L'huile et la santé. Espagne : Ed. Conseil Oléicole International 64p.

Visioli F. et Galli C. 1998. Olive Oil Phenols and their Potential Effects on Human Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4292-4296.

Visioli F. et Galli C. 2002. Biological properties of olive oil phytochemicals. *Chem Rev Food Sci Nutr*, 42. (3): 209-221.

Visioli F., Poli A. et Galli C. 2002. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, 22 (1): 65-75.

W

Williams W.B., Cuvelier M.E. et Berset C.1995. Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm-Wiss U-Technol*, 28: 25-30.

Y

Yadav M.K., Chaudasama C.D.et Jasra R.V.2004. Isomerisation of α -pinene using modified montmorillonite clays,*J.Mol. Catal. A Chem.*,216 : 51-59.

Z

Zamora R., Alais M.et Hidalgo F.J. 2001. Influence of cultivar and fruit ripening on olive (*Olea europaea*) fruit protein content, composition,and antioxidant activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49: 4267-4270.

Zarrouk M., Marzouk B., Ben Miled Daoud D. et Chérif A. 1996. Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition. *Olivae*, 61: 41-45.

Zerrouk W., Hadada F. M., Baccouri B., Oueslati I., Taamalli W., Fernandez X., Cuvelier L. L., Daoud D. et Mokhtar Z. 2008. Characterization of virgin olive oil from Southern Tunisia. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110 : 81–88

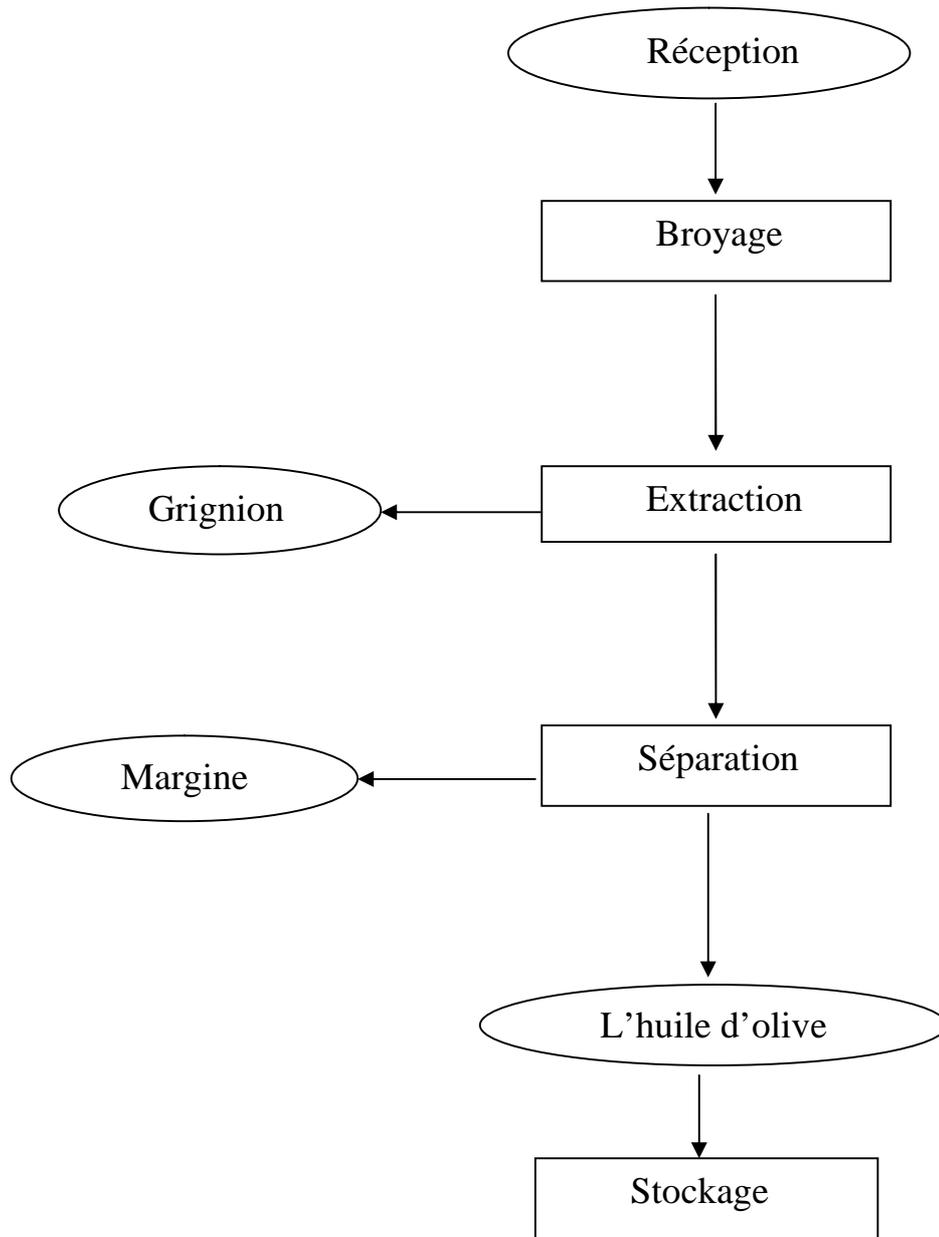


Figure 1 : Procédé traditionnel de trituration des olives (Ranalli *et al.*,2003).

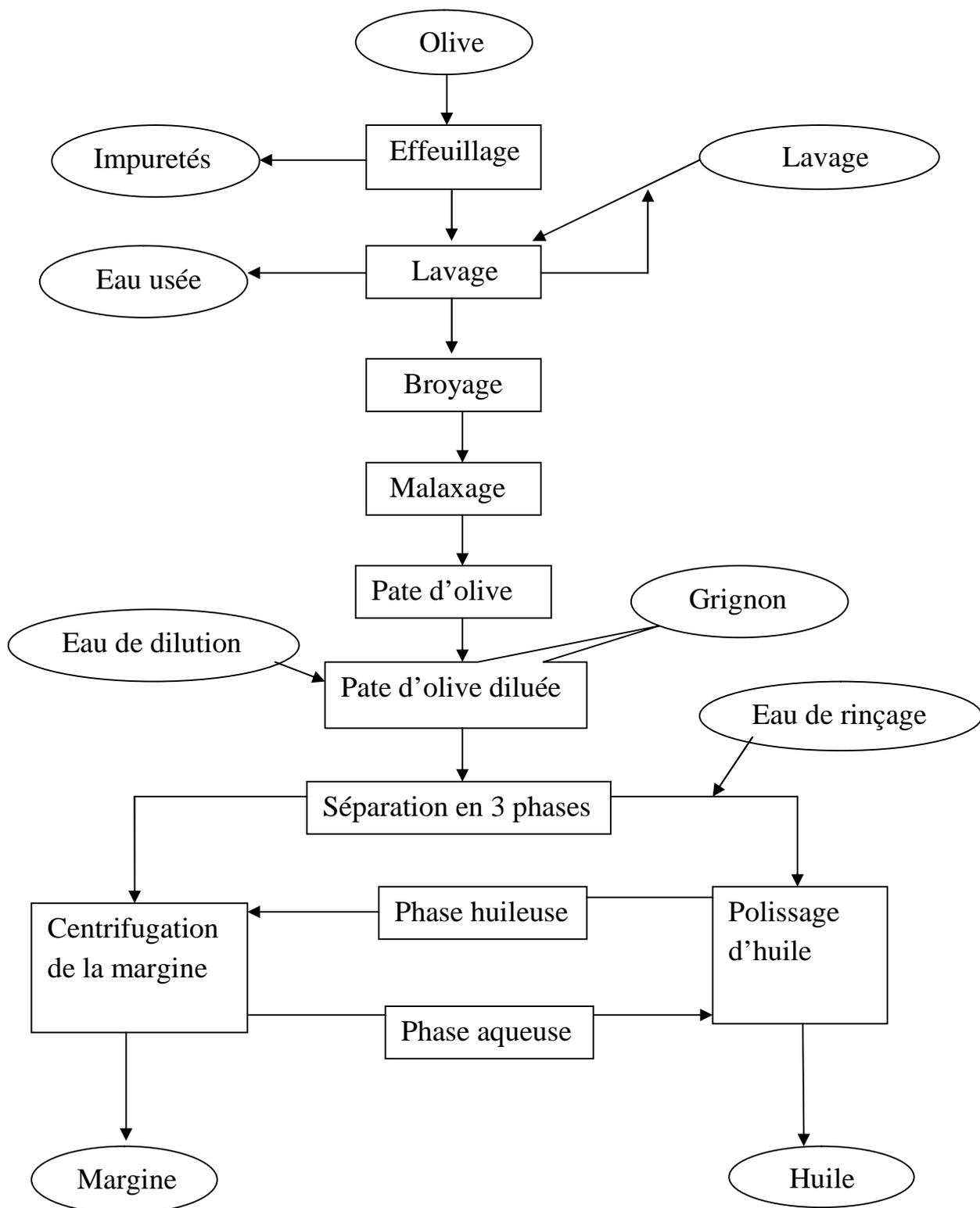


Figure 2 : Procédé d'extraction d'huile d'olive à trois phases (Ranalli *et al.*, 2003).

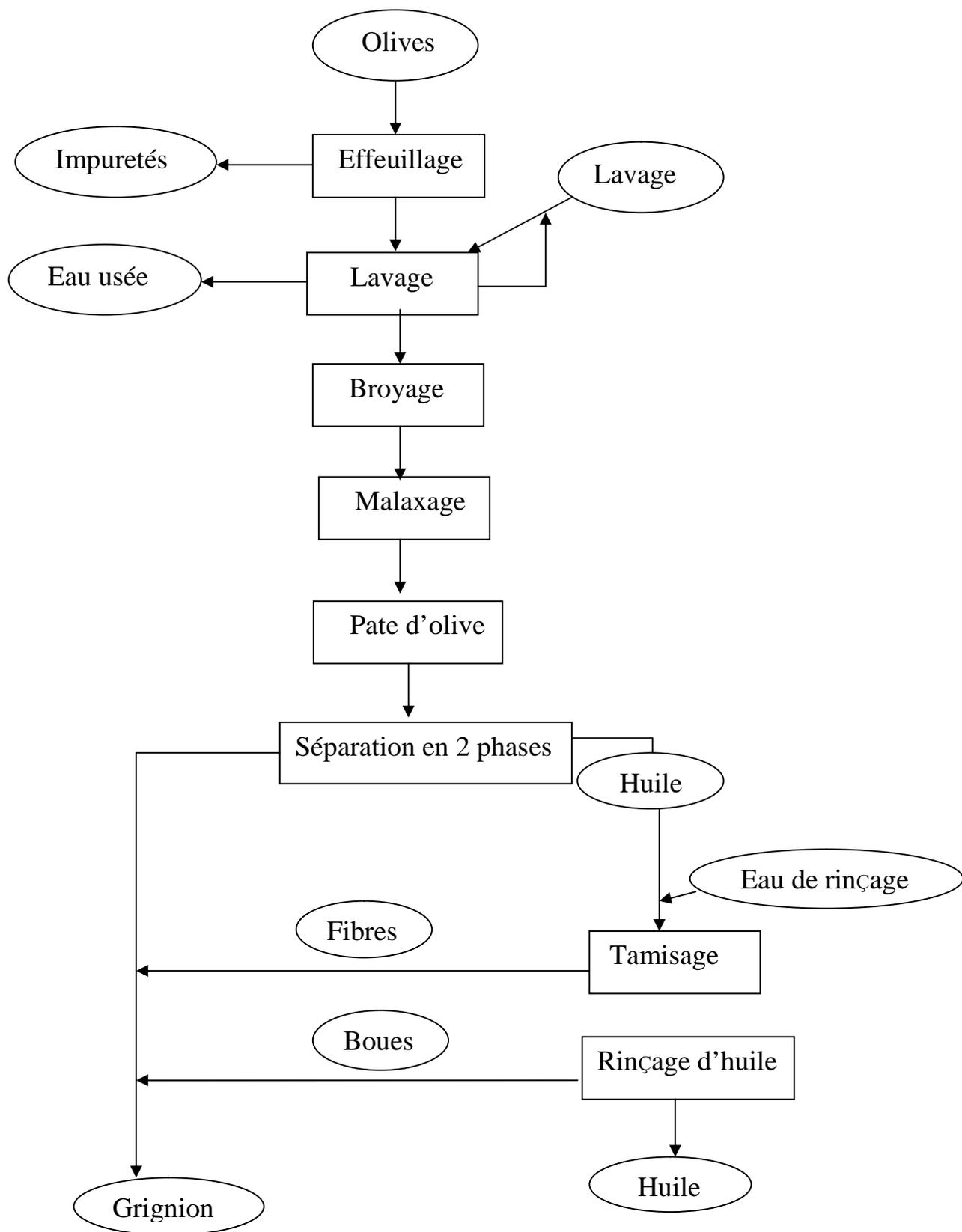


Figure 3 : Procédé d'extraction d'huile d'olive à deux phases (Ranalli *et al.*, 2003)

Tableau I: Différentes catégories d'huiles d'olive (COI, 2003).

Huile	Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive vierge	Huile d'olive vierge courante	Huile d'olive vierge lampante
Paramètres				
Caractéristiques organoleptiques médiane - fruité -défaut	>0 Me =0	>0 0<Me<2.5	=0 2.5<Me<6.0	Me>6.0
Acidité libre (% d'acide oléique)	≤0.8	≤2	≤3.3	>3.3
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	≤20	≤20	≤20	Non limité
Extinction spécifique (UV)				
270nm	≤0.22	≤0.25	≤0.30	-
232nm	≤2.50	≤2.60	-	-
Teneur en eau et en matières volatiles % m/m	≤0.2	≤0.2	≤0.2	≤0.3

Tableau II : Composition en triglycérides de l'huile d'olive (Ryan *et al.*, 1998).

Nature	% Des glycérides
OOO	40-60
POO	10-20
OOL	10-20
POL	5-7
SOO	3-5

O: Acide Oléique, L: Acide Linoléique, P: Acide Palmitique, S:Acide stéarique.

Tableau III: Les principaux acides gras présents dans l'huile d'olive (Roehlly, 2000).

Acide gras	Longueur de la chaîne et nombre d'insaturation	Teneur en %
Acide oléique	C ₁₈ :1	55-83
Acide linoléique	C ₁₈ :2	3,5-21
Acide palmitique	C ₁₆ :0	7,5-20
Acide stéarique	C ₁₈ :0	0,5-5
Acide palmitoleique	C ₁₆ :1	0,3-3,5
Acide linoléique	C ₁₈ :3	≤0,9
Acide arachidique	C ₂₀ :0	≤0,6
Acide gadoleique	C ₂₀ :1	≤0,4
Acide heptadécanoïque	C ₁₇ :0	≤0,3
Acide heptadécénoïque	C ₁₇ :1	≤0,3
Acide behénique	C ₂₂ :0	≤0,2
Acide lignocérique	C ₂₄ :0	≤0,2
Acide myristique	C ₁₄ :0	≤0,05

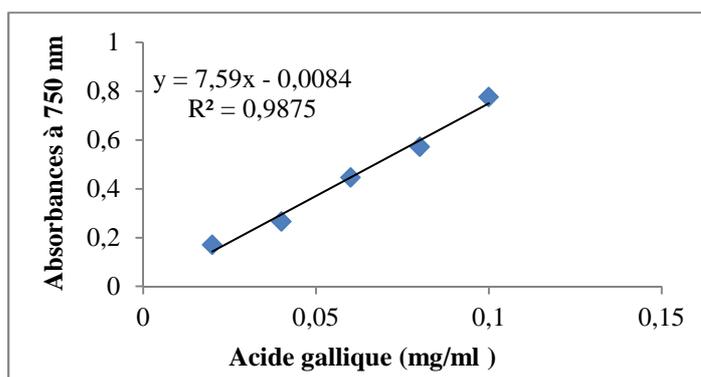


Figure 1: Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux.

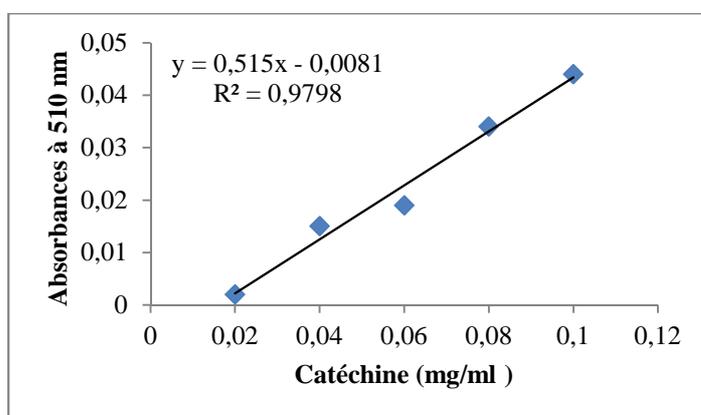


Figure 2: Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes.

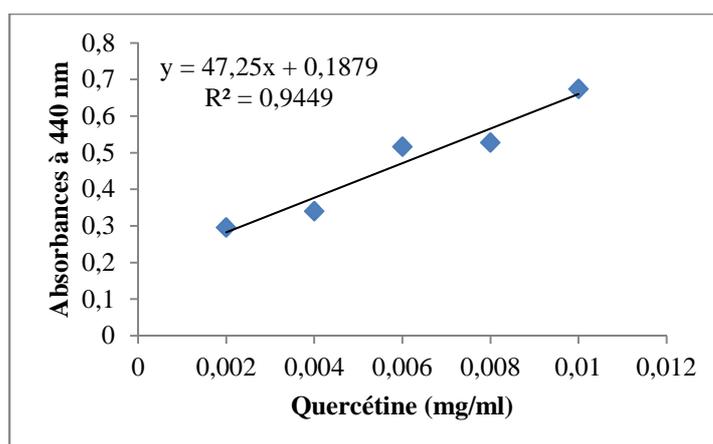


Figure 3: Courbe d'étalonnage des Flavonols.

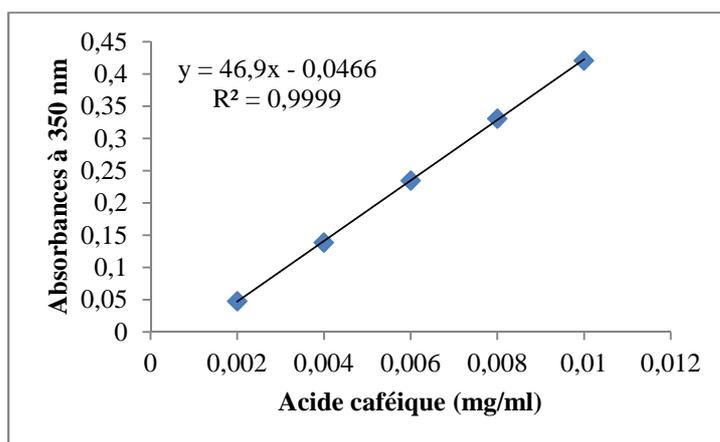


Figure 4: Courbe d'étalonnage des *ortho*-diphénols.

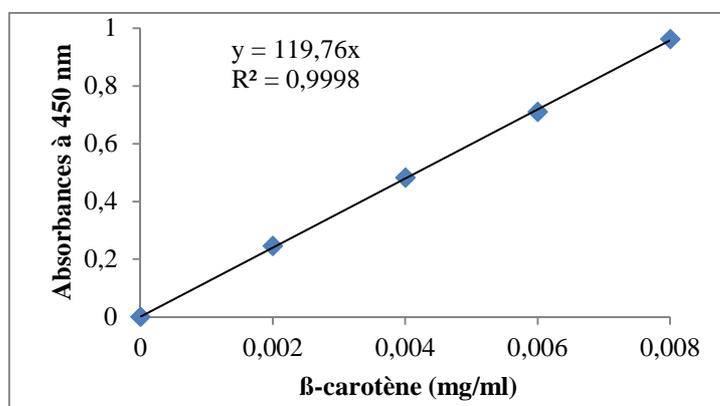


Figure 5: Courbe d'étalonnage des caroténoïdes.

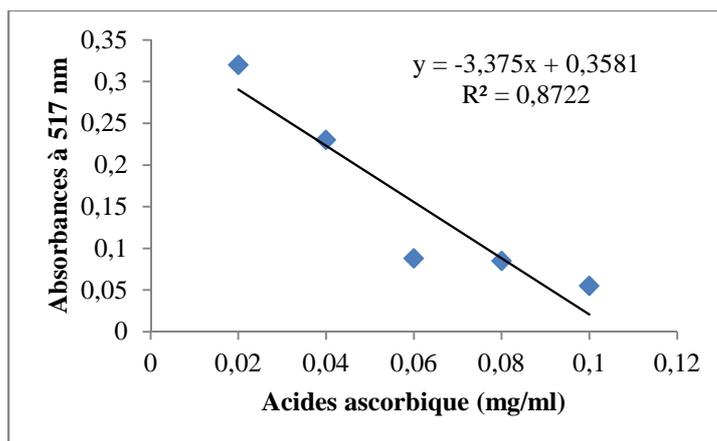


Figure 6: Courbe d'étalonnage de l'activité antiradicalaire.

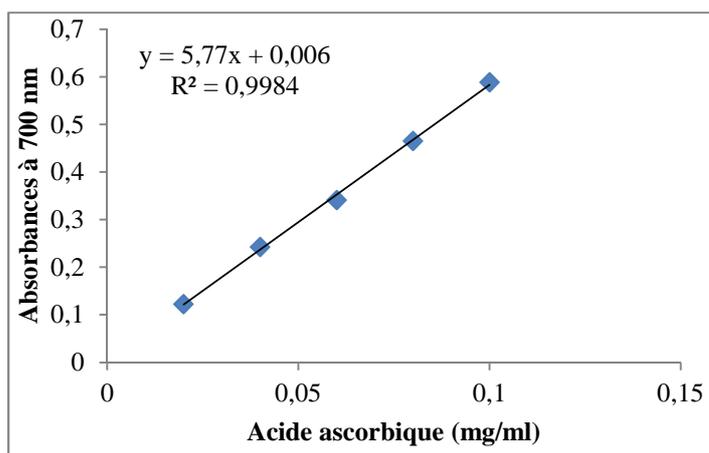


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur

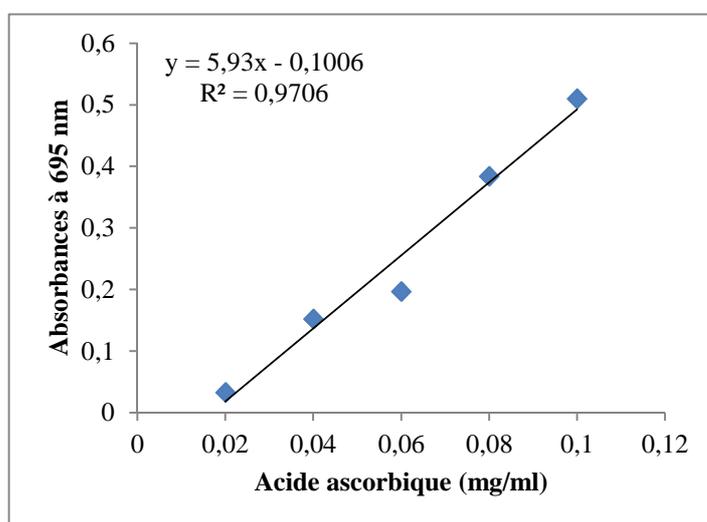


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de phosphomolybdate.

Tableau I : Tableau récapitulatif des résultats des deux variétés d'huile d'olive.

	Azeradj	Chemlal
K232	1,427	1,249
K270	0,149	0,139
H (%)	0,163	0,113
Acidité (% acide oléique)	0,483	0,672
IP (meq d'O ₂ /kg)	3,667	4,68
Polyphénols totaux (mg EAG/Kg)	129,49	184,63
Flavonoïdes (mg EC/kg)	21,802	29,88
Flavonols (mg EQ/Kg)	2,61	4,98
<i>Ortho</i> -diphénols (mg EAC/Kg)	19,02	24,58
Tannins condensés (mg ECy/kg)	0,38	0,46
Chlorophylles (mg E phèophytine/Kg)	11,85	16,63
Caroténoïdes (mg E β-carotène/kg)	4,66	4,3
Activité antiradicalaires DPPH• (mg EAA/kg)	138,6	157,04
Inhibition du radical DPPH• (%)	15,19	23,78
Pouvoir réducteur (mg EAA/kg)	91,7	147,4
Phosphomolybdate (mg EAA/kg)	27,26	50,08
Inhibition H ₂ O ₂ (%)	20,79	21,24

Introduction

Synthèse bibliographique

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Résultats et discussion

Conclusion

*Références
bibliographiques*

Annexes