

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

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



Réf:.....

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

**MASTER**

***Thème***

**Activité antioxydante d'une huile  
d'olive aromatisée au thym**

Présenté par :

**Ameur samra & Ider Assia née Ksoulene**

Soutenu le : 19/06/2017

Devant le jury composé de :

Mme TAMENDJARI S.

Melle BRAHMI F.

Mme LEHOUCHE.

MAA

MCA

MCB

Presidente

Examinatrice

Encadreur

**Année universitaire : 2016 / 2017**

*Je dédie ce travail*

*A la mémoire de mon père, j'espère que je suis à la hauteur de ses  
espérances.*

*A ma chère et adorable mère*

*A mon mari : Abdelghani*

*Et mon fils Aris que j'aime profondément*

*Que Dieu les protège.*

*A ma belle-mère qui m'a vraiment aidé que Dieu la guérisse.*

*A mon beau-père.*

*A mes très chers frères : Abdelhalim, nadjim et younes.*

*A ma sœur : Sadika.*

*A ma grand-mère.*

*A mon beau-frère Elhocine, sa femme et ces enfants : Sara, Meriam,  
Ahmed.*

*A ma belle-sœur Rahma et sa famille.*

*A ma belle-sœur Zika, son mari, son fils Zakaria.*

*A mes beaux-frères : boudjamaa et farouk.*

*A toutes la famille KSOULEN et IDER.*

*A tous les habitants de ma région natal Beni-khellad.*

*Et en fin, a tous mes amies qui me connaissent de près ou de loin et  
surtout ma plus chère amie et sœur Wissem.*

*Assia.*

*Je dédie ce mémoire*

*Aux êtres les plus chers : Mes parents,*

*A mon père,*

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller  
Toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son  
Enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et  
Pour ses précieux conseils.*

*J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle  
Soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

*A ma mère,*

*Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa  
Disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans  
Les moments les plus difficiles de ma vie.*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers  
Parents que je le dois, que Dieu vous garde.*

*A mes chers frères : Mabrouk, Salem, Omar, et Bilal pour vous  
Exprimer toute mon affection et ma tendresse.*

*A mes chères sœurs : Nadia, Samira pour leur soutien durant mon  
parcours universitaire plus particulièrement ce mémoire.*

*A mes chères belles-sœurs : Nawal et Habiba pour leurs  
générosités de cœur et leur aide si précieuse qui a rendu possible la  
Soutenance de ce mémoire.*

*A tous mes amis qui me connaissent de près ou de loin.*

*A ma grande famille, mes amis et collègues et tous ceux qui m'ont aidé de  
près ou de loin.*

*Samra.*

## Remerciements

*Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nos avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice M<sup>me</sup> LEHOUCHE R, enseignante à l'université de Bejaia car nous avons l'honneur de réaliser ce mémoire sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux,*

*Nous remercions également :*

*M<sup>me</sup> TAMENDJATI S, pour avoir accepté de qu'elle nous a présidé notre jury et M<sup>lle</sup> BRAHMI F, pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier aussi l'ingénieur du laboratoire physico-chimique des aliments de la faculté des sciences de la nature et de la vie.*

*Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Un grand merci à tous.*

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>I</b>	Composition en acides gras de l'huile d'olive par chromatographie en phase gazeuse.	4
<b>II</b>	Différentes catégories d'huiles d'olives établies par le conseil Oléicole International.	6
<b>III</b>	Classification botanique de thym.	8
<b>IV</b>	Composition de l'huile essentielle de quelques espèces de thym en Algérie.	8
<b>V</b>	Composition en acides phénoliques du thym.	9
<b>VI</b>	Principales classes de composés phénoliques.	13
<b>VII</b>	Méthodologie de stockage des échantillons.	19
<b>VIII</b>	Dénomination des différents échantillons.	20

Liste des tableaux en annexe

N° du tableau	Titre	N° de l'annexe
<b>I</b>	Tableau récapitulatif des résultats obtenus pour les analyses effectués.	<b>II</b>

Liste des figures

N°	Titre	page
01	Structure chimique des tocophérols.	12
02	Structure des principaux composés phénoliques de l'huile d'olive.	14
03	Structure chimique du $\beta$ -carotène des huiles d'olive vierge.	14
05	Photographie de la partie aérienne de <i>Thymus sp.</i>	18
06	Teneurs en polyphénols totaux des huiles d'olives vierges témoins et des huiles aromatisées au thym	24
07	Teneurs en flavonoïdes des huiles d'olives vierges témoins et des huiles aromatisées au thym	27
08	Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des huiles d'olives vierges témoins et des huiles aromatisées au thym.	28
09	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° des extraits méthanoliques des différents échantillons d'huiles d'olives témoins et d'huiles aromatisées au thym.	30
10	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° des différents échantillons d'huiles d'olives témoins et des huiles aromatisées au thym.	31

Liste des figures en annexes

N° de figure	Titre	N° du d'annexe
01	Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux.	I
02	Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.	I
03	Courbe d'étalonnage pour le pouvoir réducteur.	I

## Liste des abréviations

**ANOVA** : Analysis of Variance.

**C.O.I** : Conseil Oléicole International.

**DPPH** : 2,2-Diphényl-1 picrylhydrazyl.

**E.A.C** : Equivalent d'Acide Caféique.

**E.A.G** : Equivalent d'Acide Gallique.

**E.Q** : Equivalent Quercétine.

**HAT** : Huile Aromatisée au Thym.

**HT**: Huile Témoin.

---

## Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction**.....1

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre I : L'huile d'olive

I.1. Définition.....3

I.2. Composition de l'huile d'olive.....3

I.2.1. La fraction saponifiable.....3

I. 2.2. La fraction insaponifiable.....4

I.3. Catégories d'huile d'olive .....6

#### Chapitre II : Le thym (*Thymus sp.*)

II.1. Définition.....7

II.2. Classification botanique.....7

II.3. Principes actifs du thym.....8

II.4. Propriétés du thym.....9

II.5. Utilisation thérapeutique.....10

#### Chapitre III : Les antioxydants et l'activité antioxydante de l'huile d'olive

III.1. Généralités.....11

III.1.1. Définition .....11

III.1.2. Classification d'antioxydants.....11

III.1.2.1. Antioxydants synthétiques.....11

III.1.2.2. Antioxydants d'origine végétale.....12

III.1.3. Mécanisme d'action des antioxydants.....15

III.2. Les facteurs qui influencent sur la teneur en antioxydants.....15

III.3. Stabilité oxydative de l'huile d'olive.....16



---

## Partie expérimentale

### Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	18
I.1.1. L'huile d'olive.....	18
I.1.2. La plante aromatique utilisée.....	18
I.2. Préparation du mélange huile/plante aromatique.....	19
I.3. Extraction et dosage des composés phénoliques.....	20
I.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	21
I.4. Etude de l'activité antioxydant de l'huile d'olive.....	21
I.4.1. Pouvoir réducteur.....	21
I.4.2. Mesure de l'activité antiradicalaire.....	22
I.4.2.1. Activité scavenger de l'extrait méthanoliques sur le radical DPPH.....	22
I.4.2.2. Activité scavenger de l'huile sur le radical DPPH.....	22
I.5. Etude statistique.....	23

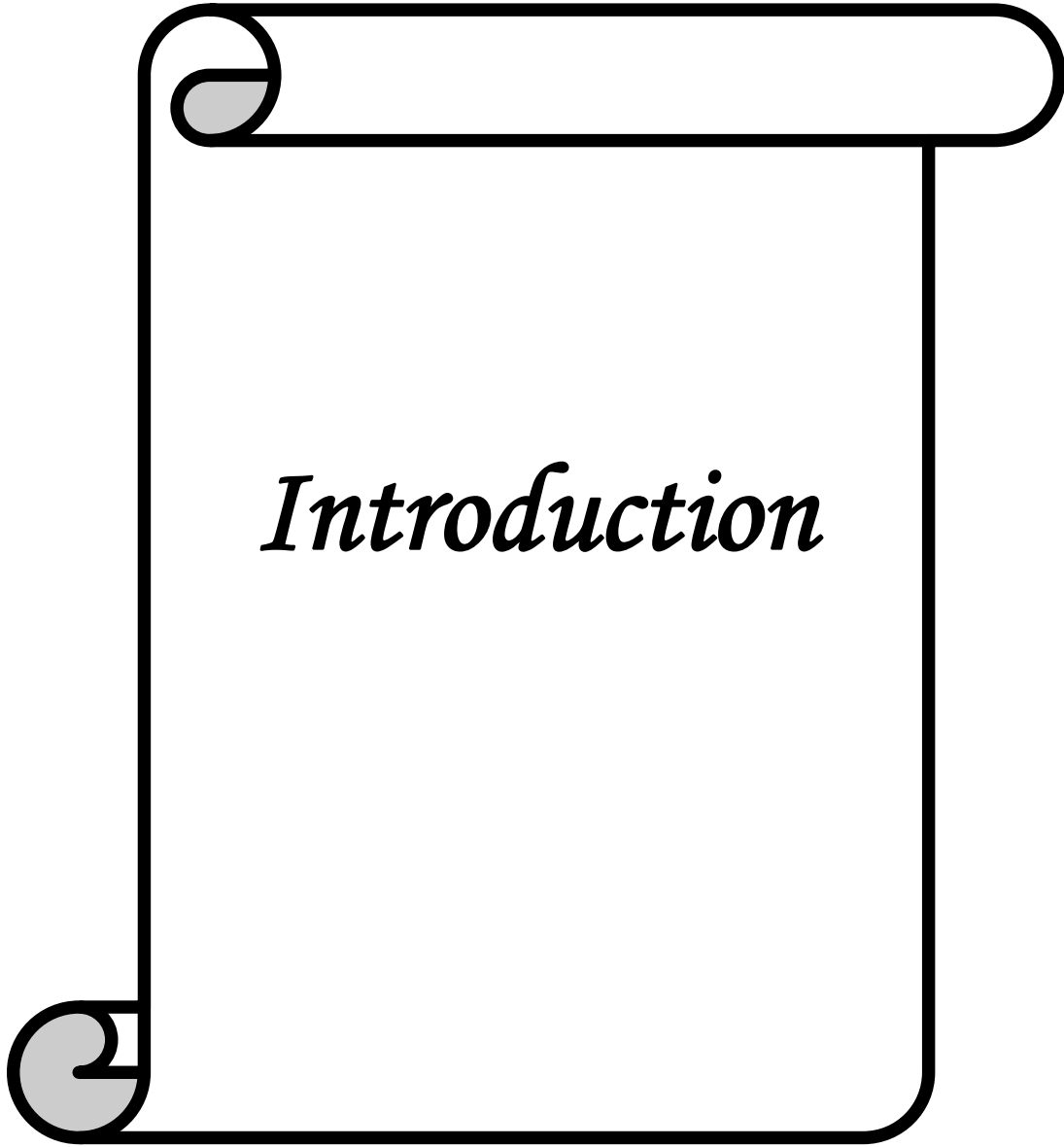
### Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Dosage des polyphénols totaux.....	24
II.2. Dosages des flavonoïdes.....	26
II.2. Détermination de l'activité antioxydante.....	28
II.2.1. Le pouvoir réducteur.....	28
II.2.2. Activité antiradicalaire.....	29
II.2.2.1. Activité scavenger des extraits méthanoliques sur le radical DPPH°.....	29
II.2.2.2. Activité scavenger de l'huile sur le radical DPPH°.....	31
<b>Conclusion.....</b>	<b>33</b>

Références bibliographiques

Annexes

Résumé



*Introduction*

### *Introduction*

L'une des nourritures sur laquelle le Coran attire l'attention est l'olive. Des recherches récentes ont indiqué que l'olive est non seulement un aliment délicieux mais il représente aussi une importante source de bienfaits pour la santé. En dehors de l'olive en tant que fruit, l'huile qui en est issue est une importante source de nutrition. C'est en ces termes que le Coran souligne l'importance de l'huile extraite de l'olivier.

L'huile d'olive représente une source typique de lipides du régime méditerranéen. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (**Boskou, 1996a**). Dans les quelques années, il y a eu une augmentation significative de la consommation globale de l'huile d'olive, même dans les pays où elle n'est pas produite, comme le Canada et le Japon (**Mili, 2006**). Cela est dû en grande partie à ses effets nutritionnels et bénéfiques sur la santé qui ont été liés à l'équilibre optimal entre les acides gras saturés (AGS), mono insaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI), ainsi qu'à la présence de composants mineurs tels que les caroténoïdes, les polyphénols et les tocophérols (**Lazzez et al., 2008**).

L'effet bénéfique de l'huile d'olive sur la santé humaine est attribué, entre autres, à sa teneur en composés phénoliques. Ces derniers ne cessent de prendre une importance croissante dans le cadre de santé. Leur pouvoir antioxydant naturel suscite plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires. Ils sont également utilisés comme additifs dans les différentes industries : pharmaceutique et cosmétique (**Aouidi et al., 1990**).

Plusieurs études ont démontré la capacité antioxydante des polyphénols de l'huile d'olive (**Servili et al., 2009**). En plus de l'inhibition de la peroxydation des lipides, les composés phénoliques piègent les radicaux libres et par conséquent protègent le corps humain (**Cicerale et al., 2009**).

Le contenu phénolique des huiles d'olive varie en fonction du climat, du type de récolte, du degré de maturité des olives, des techniques de production et des méthodes de conservation (**C.O.I., 2017**).

L'objectif de notre étude consiste à évaluer l'activité antioxydante d'une huile d'olive vierge commerciale (Zzit IFRI) additionnée d'une plante aromatique (le thym).

Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette recherche, une synthèse bibliographique est présentée sur l'huile d'olive, le thym et en dernier les antioxydants et l'activité antioxydante de l'huile d'olive.

La partie expérimentale de ce travail est consacrée à la détermination de la teneur en composés phénoliques, ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile et des extraits méthanoliques des différents échantillons.



*Synthèse  
bibliographique*



*Chapitre I*

*L'huile*

*d'olive*

## Chapitre I : L'huile d'olive

### I.1. Définition

On désigne par l'huile d'olive vierge toute huile extraite du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques et dans des conditions, notamment thermiques, n'entraînant pas d'altération de l'huile, à l'exception des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. L'huile d'olive vierge ne doit avoir subi aucun autre traitement que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (C.O.I., 2003).

### I.2. Composition de l'huile d'olive

L'huile d'olive contient des éléments majeurs et mineurs. L'huile d'olive possède une composition nutritionnelle équilibrée en fraction saponifiable (acides gras et triglycérides qui représentent 98% du poids total), et en fraction insaponifiable qui sont des composés mineurs représentant 2% du poids total de l'huile (les composés volatils, stérols, tocophérols, pigments...) (Benlemlih et Ghanam, 2012).

La composition chimique de l'huile d'olive dépend largement de la variété du fruit, des conditions agronomiques, du degré de maturité, des procédés d'extraction et des conditions de stockage (Dugo *et al.*, 2004).

#### I.2.1. La fraction saponifiable

Elle est constituée généralement de 98 à 99% de triglycérides, de 1 à 2% d'acides gras libres ainsi que de composés mineurs de nature glycéridique tels que les cires, les mono et di glycérides et les phospholipides (Ryan *et al.*, 1998 ; Ollivier *et al.*, 2000). Elle se compose essentiellement de :

##### a. Les glycérides

Ce sont des esters d'acides gras et glycérol. Les glycérides constituent le principal composant d'huile d'olive, environ 98% (Ollivier *et al.*, 2004). Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont : la trioléine «OOO» (40 à 60%), la dioléopalmitine «POO» (10 à 20%), la dioléolinoléine «OOL» (10 à 20 %), la palmitooléolinoléine «POL» (5 à 7%) et la dioléostéarine «SOO» (3 à 7%) (Ryan *et al.*, 1998; Boskou *et al.*, 2006).

## b. Les acides gras

Selon **Benlemlih et Ghanam (2012)**, les acides gras présents dans l'huile d'olive sont : l'acide palmitique, palmitoléique, stéarique, oléique, linoléique, linoléique et myristique. Les heptadécanoïque et ecosanoïque se trouvent en quantités infimes. Le tableau I récapitule la composition de l'huile d'olive en acide gras (**C.O.I., 2001**).

**Tableau I** : Composition en acides gras des l'huile d'olive par chromatographie en phase gazeuse (**C.O.I., 2001**).

Acide gras	Symbole	Pourcentage (%)
Acide oléique	C18 :1	55 – 83
Acide linoléique	C18 :2	3,5 – 21
Acide palmitique	C16 :0	7,5 – 20
Acide stéarique	C18 :0	0,5 – 5
Acide palmitoléique	C16 :1	0,30 - 3,5
Acide linoléique	C18 :3	≤ 1
Acide arachidique	C20 :0	≤ 0,6
Acidegadoléique (eicosénoïque)	C20 :1	≤0,4
Acide myristique	C14 :0	≤0,05
Acide heptadécanoïque	C17 :0	≤0,3
Acide heptadécénoïque	C17 :1	≤0,3
Acide béhénique	C22 :0	≤0,2
Acide lignocérique	C24 :0	≤0,2

## I. 2.2. La fraction insaponifiable

L'insaponifiable correspond à l'ensemble des constituants d'un corps gras qui, après saponification, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants apolaires. Elle est constituée d'hydrocarbures, de stérols, d'alcools terpéniques, de tocophérols, de composés phénoliques et de pigments (chlorophylle, caroténoïdes) (**Jacotot, 1993**).



## a. Les stérols

Les stérols végétaux appelés phytostérols occupent la plus grande partie de la matière insaponifiable des huiles, constituants non glycériques, ils représentent en poids environ 50% de l'insaponifiable. La composition stérolique est spécifique pour chaque espèce végétale. Plusieurs études ont identifié trois principaux stérols dans les huiles d'olive : le  $\beta$ -sitostérol, le campestérol et le stigmastérol (Stiti, 2002 ; Bentemime *et al.*, 2008).

## b. Les composés aromatiques

Responsables de l'arôme délicat de l'huile d'olive, ils sont constitués d'un mélange de composés volatils : aldéhydes, alcools, esters, hydrocarbures, cétones (Boskou *et al.*, 2006a ; Kalua *et al.*, 2007).

La teneur en composés volatils varie d'un cultivar à un autre et dépend étroitement de l'activité des enzymes de la voie de la lipoxycgénase (Dhifi *et al.*, 2005 ; Runcio *et al.*, 2008). D'autres facteurs peuvent influencer leurs teneurs, à savoir : le degré de maturité des olives, le stockage des olives, le temps et la température du malaxage, les conditions climatiques et l'état sanitaire des olives (Morales *et al.*, 2005 ; Baccouri *et al.*, 2008).

## c. Les composés phénoliques

L'une des caractéristiques les plus importantes de l'huile d'olive est sa richesse en composés phénoliques, en particulier l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine possédant des propriétés antioxydante. Les quantités présentes dans les huiles d'olive dépendent du degré de maturité des olives (Rovellini et Cortesi, 2003), la saison et les conditions climatiques (Salvador *et al.*, 2003), l'état sanitaire des olives (Tamendjari *et al.*, 2004), la variété et le système d'extraction de l'huile (Gimeno *et al.*, 2002).

L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité et lui confèrent des propriétés antioxydantes et modulent sa saveur. Les composés phénoliques contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et l'amertume des huiles (Haddam *et al.*, 2014).

## d. Les pigments

### ❖ Les chlorophylles

Les chlorophylles sont présentes dans l'huile d'olive fraîche avec un taux de 1 à 20 mg/Kg, dont 40 à 80% sont des phéophytines (Ranalli, 1992). Les chlorophylles a et b se

dégradent facilement en phéophytines (de couleur marron). Ce sont les chlorophylles et les phéophytines qui sont essentiellement responsables de la couleur caractéristique de l'huile d'olive (Rahmani, 1989 ; Gandul-Rojas et Mínguez-Mosquera, 1996).

### ❖ Les caroténoïdes

Le pigment caroténoïde le plus retrouvé dans l'huile d'olive est le  $\beta$ -carotène (Provitamine A). Son taux varie de 0,3 à 3,7 mg/Kg d'huile. 2 mg de  $\beta$ -carotène se transforment en 1mg de vitamine A. La provitamine A se transforme en vitamine A au cours de l'absorption intestinale (Kataja-Tuomola, 2008). Le  $\beta$ -carotène présente une action vitaminique et antioxydante. Certains auteurs ont noté que les facteurs biologiques et technologiques ; le système d'extraction, le mode et la durée de conservation et particulièrement la maturation du fruit influent sur la composition en pigments caroténoïdes de l'huile d'olive (Nieves Criado *et al.*, 2008).

### I.3. Catégories de l'huile d'olive vierge

L'huile d'olive vierge comprend diverses appellations : vierge extra, vierge fine, vierge courante, vierge lampante. Ces diverses catégories qui correspondent à une certaine qualité sont définies en fonction de l'acidité de l'huile, de son indice de peroxyde ainsi que d'autres critères chimiques et qualités organoleptiques (Perrin, 1992).

Le Conseil Oléicole International (C.O.I., 2015) a classé l'huile d'olive en quatre catégories selon un ensemble de paramètres reportés dans le tableau II.

**Tableau II:** Les différentes catégories de l'huiles d'olives établies par le Conseil Oléicole International (C.O.I., 2015).

Huile		Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive vierge	Huile d'olive vierge courante	Huile d'olive vierge lampante
Paramètre					
Acidité libre (% d'acide oléique)		$\leq 0,8$	$\leq 2,0$	$\leq 3,3$	$> 3,3$
Indice de peroxyde (méq d'O <sub>2</sub> /Kg)		$\leq 20$	$\leq 20$	$\leq 20$	Non limité
Extinction spécifique (UV)	K <sub>232</sub>	$\leq 2,5$	$\leq 2,5$	/	/
	K <sub>270</sub>	$\leq 2,2$	$\leq 0,25$	$\leq 0,30$	/
Critère organoleptique médiane (Me)	Défaut	Me=0	0<Me<2,5	3,5< Me < 6,0	Me > 6,0
	Fruité	Me>0	Me>0	/	/





*Chapitre II*

*Le thym*

*(Thymus sp.)*

## Chapitre II : Le thym (*Thymus sp.*)

Depuis l'antiquité, l'Homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite, il s'est développé pour les utiliser comme remèdes afin de soigner les différentes maladies. Les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes qui essaient de synthétiser de nouvelles molécules. D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement des plantes (**Damintoti, 2005**).

L'histoire des plantes médicinales a commencé dans les pays orientaux, particulièrement en Egypte, Perse et Inde. Dans les civilisations chinoises et indiennes, on a retrouvé des traces d'utilisations médicinales très anciennes (**Fouché et al., 2000 ; Dweek, 2002**).

L'Algérie est connue pour sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le genre *Thymus* de la famille des *Lamiacées*, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (**Haddad et al., 2004**).

Le thym est une plante originaire de l'ouest des régions méditerranéennes (**Özcan et Chalchat, 2004**) et aussi autochtone du sud d'Europe (**Takeuchi et al., 2004**).

### II.1. Définition

Le nom *Thymus* dérive du mot grec « Thymos » qui signifie parfumer, à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente, 2001**) et possède une saveur amère et chaude (**Demerji, 2012**).

Les différentes appellations de thym :

Nom arabe :Zaïtra (**Quezel et Santa, 1963**).

Nom berbère :Tizaàtarte (**Quezel et Santa, 1963**).

### II.2. Classification botanique

Le genre « *Thymus* » est l'un des huit genres les plus importants qui comporte 300 espèces, ce genre appartenant à la famille des *Labiées* et le nombre d'espèces change selon le point de vue taxonomique (**Morale, 1997**).

Selon **Gaussen et al. (1982)**, la classification botanique du thym est résumée dans le tableau suivant.

**Tableau III** : Classification botanique de thym (**Gaussen et al., 1982**).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>S / règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>S/Classe</b>	Asterdae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Thymus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Thymus sp.</i>

## II. 3. Principes actifs du thym

### ❖ Huiles essentielles

Les huiles essentielles du thym sont composés par les molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure (**Loziene et al., 2007**).

Les composés chimiques de plus grande efficacité et à plus large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools ( $\alpha$ -terpineol, terpinen-4-ol, linalol, ...), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les terpènes (**Cosentino et al., 1999 ; Dorman et Deans, 2000**). La composition de l'huile essentielle de quelques espèces de thym en Algérie est illustrée dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Composition de l'huile essentielle de quelques espèces de thym en Algérie.

<b>Auteurs</b>	<b>Espèces</b>	<b>Compositions majoritaires</b>
<b>Kabouche et al. (2004)</b>	<i>Thymus numidicus</i>	Thymol (68,2%), Carvacrol (16,9%), Linolool (11,5%).
<b>Haddad et al. (2004)</b>	<i>Thymus numidicus</i>	Thymol (60,80%), Carvacrol 5,10%, p-Cyamère (10,30%), $\gamma$ -Terpénène (7,60%), Linolool (8,00%).
	<i>Thymus vulgaris</i>	Thymol (25,40%), Carvacrol (11,30%), p-Cyamère (26,20%), Thynol-guinome (10,42%).

- **Les acides phénoliques :**

La composition en acides phénoliques de thym est représentée dans le tableau IV.

**Tableau IV :** Composition en acides phénoliques du thym.

Les acides phénols	Auteurs
Acide chlorogénique	Angela (2008).
Acide caftarique	Angela (2008) ; Mariana (2007).
Acide caféique	Cowan (1999).
Acide p-coumarique	Angela (2008) ; Mariana (2007).
Acide ferulique	Angela (2008) ; Mariana (2007).
Acide gentisique	Angela (2008).
Acide rosmarinique	Takeuchi <i>et al.</i> (2004).

- **Les flavonoïdes :** hespéridine, eriotrécine, narirutine (**Takeuchi *et al.*, 2004**) et la lutéoline (**Angela, 2008**).

## II.6. Propriétés du thym :

- ❖ Propriétés antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires et antibactériennes dont une étude a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (**Jiminez-Arellanes *et al.*, 2006**) ;
- ❖ Propriétés anthelminthiques (**Al-Bayati, 2008**) ;
- ❖ Propriétés antioxydantes (**Takeuchi *et al.*, 2004** ; **Golmakani et Rezaei, 2008**), en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thunnus thymnus* durant leur stockage (**Selmi et Sadok, 2008**) ;
- ❖ Le thymol est un antiseptique puissant, il est 25 fois plus actif que le phénol, sur lequel il possède l'avantage de moins irriter les muqueuses, c'est un désodorisant efficace. L'essence de thym est stomachique et carminative (**Schauenberg et Paris, 2013**) ;
- ❖ Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides (**Bazylko et Strzelecka, 2007**).

❖ Parmi les additifs naturels, le thym est utilisé comme aromate en cuisine et en infusion pour ses propriétés médicinales (**Mazoyer, 2002**).

❖ Il est considéré aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (**Hans, 2007**).





*Chapitre III*

*Les antioxydants  
et l'activité  
antioxydante de  
l'huile d'olive*

## **Chapitre III : Les antioxydants et l'activité antioxydante de l'huile olive**

### **III.1. Généralités**

#### **III.1.1. Définition**

L'antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle se présente en concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Sies, 1993).

L'oxydation est un mécanisme qui se produit non seulement au cours de l'élaboration des huiles mais également à l'intérieur de l'organisme humain par des réactions qui provoquent la formation des radicaux libres (agent peroxydant) (C.O.I., 2011).

#### **III.1.2. Classification des antioxydants**

##### **III.1.2.1. Antioxydants synthétiques**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le gallate propylée (PG) et le tétra-butylhydroquinone (TBHQ) sont utilisés largement parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (Lisu *et al.*, 2003).

##### **III.1.2.3. Antioxydants d'origine végétale**

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols (Bouhadjra, 2011).

##### **a. Tocophérols**

Les tocophérols sont des composés importants de l'huile d'olive en raison de leur contribution dans la définition finale de la qualité de ce produit (Boskou, 1996b). Ils se présentent sous quatre formes isométriques :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  et  $\gamma$ . Les tocophérols protègent contre l'oxydation naturelle des acides gras, en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI) (Sebei *et al.*, 2007). Dans l'huile d'olive, la vitamine E connu sous le nom de l' $\alpha$ -tocophérols représente environ 90% du contenu total des tocophérols. Celle-ci se trouve sous la forme libre (Boskou *et al.*, 2006). La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olives est très variable puisqu'elle a été reportée dans une gamme allant de quelques mg à 450 mg/Kg d'huile (Boskou *et al.*, 2006).

La structure des tocophérols se compose d'un cycle chromanol mono-, di, au tri- méthyle auquel se trouve rattachée une chaîne carbonée latérale (chaîne phytyle) saturée de 16 carbones. Les tocophérols diffèrent entre eux seulement par le nombre et l'arrangement des groupements méthyles autour du cycle benzène du noyau chromanol (Cuvelier *et al.*, 2003).

Les différentes structures chimiques des tocophérols sont représentées dans la figure ci-dessous.

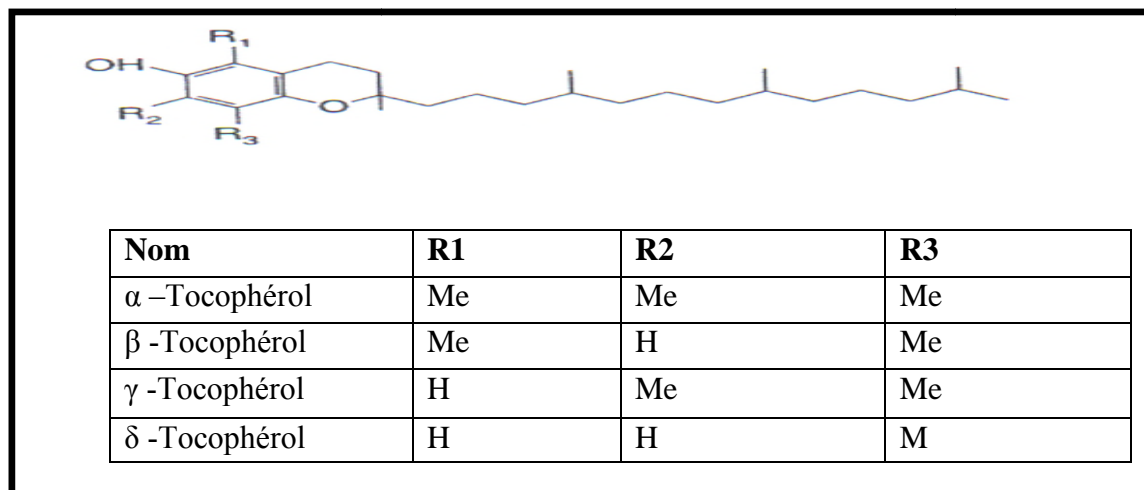


Figure 1 : Structure chimique des tocophérols (Lee *et al.*, 2004).

## b. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des produits naturels présents dans le régime méditerranéen qui inclut l'olive de table et l'huile d'olive. Ce sont des métabolites secondaires jouant un rôle essentiel dans la résistance aux maladies (Selva *et al.*, 2006).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (Macheix *et al.*, 2005).

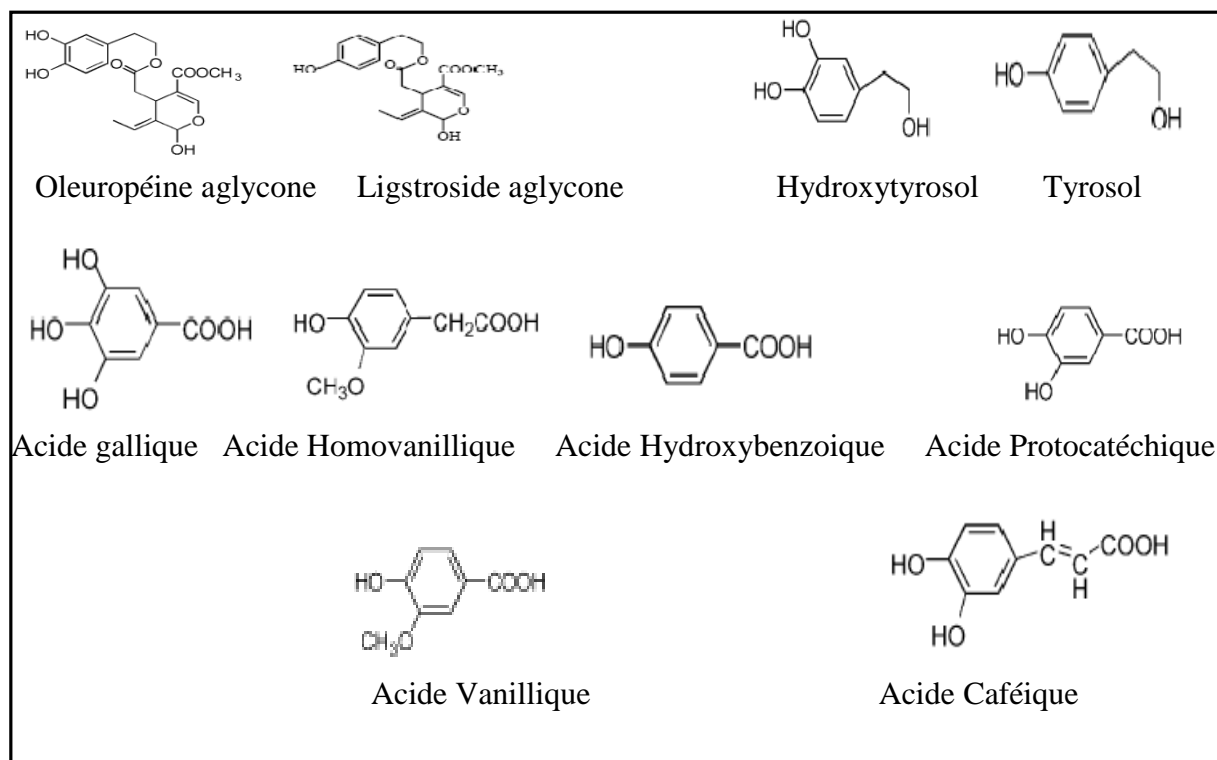
L'huile d'olive vierge est quasiment la seule huile contenant des quantités notables de substances phénoliques naturelles. Ces composés sont responsables du goût si particulier, à la fois amer et fruité et contribuent pour une grande partie à la stabilité de l'huile, en augmentant sa résistance à l'autoxydation (Boskou, 1996b). Ces composés contribuent à la bonne stabilité d'une huile de deux manières : d'une part, ces composés, antioxydants naturels, vont s'oxyder préférentiellement aux acides gras insaturés ; d'autre part, on attribue aux phénols la capacité de piéger les radicaux OH<sup>•</sup> (Gutiérrez *et al.*, 2001).

Le tableau suivant présente les principales classes des composés phénoliques.

**Tableau VI:** Principales classes des composés phénoliques (**Harborne et al., 1980**).

Squelette carboné	Classe	Exemple
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxybenzoïques	P- hydroxybenzoïque
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides Caféique, féruquescopolétine,esculétine
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglon
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbénes	Resvératol
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes, Flavonols Anthocyanes, Flavanols, Flavanones, Isoflavonoïdes	Kaempférol, Quercétine, Pélargonidine, Cyanidine Catéchine, Épicatéchine Naringénine, Déidzéime
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Pénorésinol
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignanes	
(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins	

Les formules de quelques phénols présents dans l'huile d'olive sont présentées dans la figure 02 :



**Figure 02 :** Structure des principaux composés phénoliques de l'huile d'olive (**Servili et al., 2004**).

### c. Caroténoïdes :

Les principaux caroténoïdes de l'huile d'olive sont la lutéine, le  $\beta$  carotènes xanthophylles suivantes: néoxanthine, violaxanthine, lutéoxanthine, anthéroxanthine, mutatoxanthine et beta-cryptoxanthine (Ryan *et al.*, 1998; Mateos et García-Mesa, 2006).

Ils sont bien connus comme désactivant de l'oxygène et sont donc des inhibiteurs très efficaces de la photoxydation induite par les pigments chlorophylliens (Perrin, 1992).

La formule des  $\beta$  carotènes est présentée dans la figure suivante :

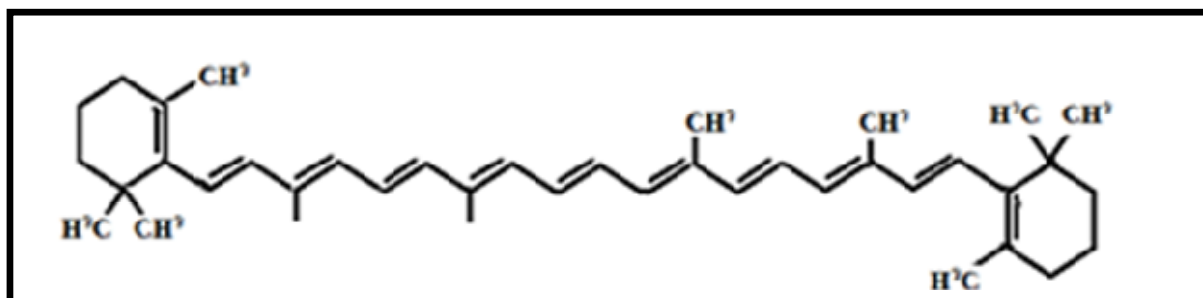


Figure 03: Structure chimique du  $\beta$  carotènes des huiles d'olive vierge (Perrin, 1992).

### III.I.3. Mécanisme d'action des antioxydants

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatique cas de dérivés du phénol. En plus, leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaquer par l'oxygène moléculaire.

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres, en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Berset et Cerverlier, 1996).

### III.2. Les facteurs qui influencent sur la teneur en antioxydants :

Le niveau des antioxydants dépend de plusieurs facteurs tels que les variétés d'olive utilisée, la maturation des olives et la méthode d'extraction de l'huile (**Gimeno et al., 2001**).

L'huile d'olive vierge, obtenue à partir de la première pression à froid, contient une chaîne d'antioxydants et de constituants flaveurs (**Gimeno et al., 2001**). Le système d'extraction utilisé a un effet important sur la concentration en composés phénoliques dans l'huile d'olive vierge (**Ranalli et al., 1999 ; Cerretani et al., 2005**). Leur teneur en composés phénoliques diminue fortement au cours de la maturation des olives (**Gimeno et al., 2002 ; Cicerale et al., 2009**). Durant la maturation des olives, les composés libres de l'oleuropéine augmentent dans les olives mûrs, l'hydroxytyrosol présente une quantité d'environ 1,0 à 3,0g /100 g de poids sec (**De Leonardis et al., 2005**).

Selon **Maestro et al. (1993)**, les atmosphères ayant un haut niveau de CO<sub>2</sub> et un bas niveau d'O<sub>2</sub> inhibent le brunissement du tissu végétal et diminuent l'activité de la polyphénoloxydase. Cette activité est la principale cause de destruction des polyphénols dans les olives. Le stockage des olives à 5°C semble retarder la diminution aigue de la teneur en composés phénoliques par rapport à une température de stockage d'environ 12°C (**Maestro et al., 1993**).

D'autres facteurs peuvent influencer la qualité et la teneur des antioxydants de l'huile d'olive vierge. Les facteurs agronomiques et climatiques exercent une grande influence sur la maturation de fruit et donc sur la composition chimique et la teneur en antioxydants de l'huile d'olive vierge. Le cultivar et le lieu de plantation jouent un rôle important dans la teneur en antioxydants de l'huile d'olive (**Ryan et al., 1998**).

### III.3. Stabilité oxydative de l'huile d'olive

La stabilité oxydative est un paramètre déterminant la qualité des huiles et leur aptitude à la conservation. Elle permet une estimation de la susceptibilité à la dégénérescence oxydative, qui est la cause majeure du rancissement (**Aparicio et al., 1999; Velasco et Dobargane, 2002**) qui a lieu en présence d'une atmosphère riche en oxygène, générant des radicaux libres instables qui sont réactifs et capables de modifier les caractéristiques sensorielles et nutritionnelles de l'huile d'olive (**Mateos et al., 2006**).

La stabilité oxydative d'une huile ou de toute matière grasse est liée d'une part à son taux en acides gras monoinsaturés et polyinsaturés (**Arranz et al., 2008; Krichene et al., 2010**) et d'autre part, à sa composition en antioxydants naturels.

L'huile d'olive est caractérisée par un profil en acides gras dominé par l'acide oléique (55 à 83 %) qui participe à sa stabilité oxydative vu qu'il est beaucoup moins susceptible à l'oxydation comparé à des huiles contenant des taux élevés en acides gras polyinsaturés (**Beltran *et al.*, 2004; Gallina-Toschi *et al.*, 2005**).

L'huile d'olive est une source importante d'antioxydants naturels, à savoir les tocophérols, les composés phénoliques, les caroténoïdes et autres. Ces antioxydants qui agissent par différents mécanismes contribuent différemment à la stabilité de l'huile (**Bendini *et al.*, 2007**).



*Partie  
expérimentale*





*Chapitre I*  
*Matériel et*  
*méthodes*

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### I.1. Matériel végétal

#### I.1.1. L'huile d'olive

Notre étude porte sur l'huile d'olive extra vierge commerciale dénommée Zzit IFRI (figure 04), qui est produite par la société Ifri située à Ighzer Amokrane, Ahrik, commune Ouzellaguen, Bejaïa, pendant la campagne oléicole 2016/2017. L'huile a été extraite par première pression à froid.

#### I.1.2. La plante aromatique utilisée

Nous avons utilisé une plante aromatique qui se dénomme le thym (*Thymus sp.*). Cette plante a été récoltée en mois d'avril au niveau d'une région montagneuse du village de Samaoun, commune de Chemini, Sidi Aich, Bejaia.

La partie aérienne de *Thymus sp.*, utilisée dans notre travail est présentée dans la figure 05.



**Figure 05** : Photographie de la partie aérienne de *Thymus sp.*

Après la récolte, la plante est nettoyée, puis lavée à l'eau plusieurs fois, ensuite, laissée égoutter à l'air libre pendant une nuit. A la fin de cette étape, nous avons étalé la plante sur un papier d'aluminium pour réaliser un séchage à l'étuve à 40°C pendant 30 minutes.

## I.2. Préparation du mélange huile/plante aromatique

Après homogénéisation de chaque compartiment de notre échantillon, nous avons réalisé un mélange huile/plante à 10%. Les huiles témoins et les mélanges huile/plante sont conditionnés dans des flacons en verre fumé, remplis à plein et bien scellés et stockés à deux températures différentes : température ambiante et 30 °C.

Avant d'effectuer les différentes analyses, nous avons procédé à une filtration des échantillons d'huile d'olive sur un papier filtre pour éliminer les différents débris de la plante.

La méthodologie de stockage que nous avons suivi au cours de notre pratique est résumée dans le tableau suivant :

**Tableau VII:** Méthodologie de stockage des échantillons

<b>Echantillon</b>	<b>Période de stockage</b>	<b>Température de stockage</b>
Huile d'olive témoin	0jours/5jours/ 10 jours/20jours	T°ambiante/ 30°C
Mélange : (Huile d'olive/thym)	5jours/10jours/20jours.	T°ambiante/30°C

La dénomination des différents échantillons est donnée dans le tableau suivant :

**Tableau VIII** : Dénomination des différents échantillons

Echantillon	Signification
HT0J	Huile témoin sans stockage
HT5J/TAM	Huile témoin stockée à température ambiante pendant 5 jours
HAT5/TAM	Huile aromatisée au thym stockée à température ambiante pendant 5 jours
HT5J/30°C	Huile témoin stockée à température 30°C pendant 5 jours
HAT5J/30°C	Huile aromatisée au thym stockée à température 30°C pendant 5 jours
HT10J/TAM	Huile témoin stockée à température ambiante pendant 10 jours
HAT10J/TAM	Huile aromatisée au thym stockée à température ambiante pendant 10 jours
HT10J/30°C	Huile témoin stockée à température 30°C pendant 10 jours
HAT10J/30°C	Huile aromatisée au thym stockée à température 30°C pendant 10 jours
HT20J/TAM	Huile témoin stockée à température ambiante pendant 20 jours
HAT20J/TAM	Huile aromatisée au thym stockée à température ambiante pendant 20 jours
HT20J/30°C	Huile témoin stockée à température 30°C pendant 20 jours
HAT20J/30°C	Huile aromatisée au thym stockée à température 30°C pendant 20 jours

### I.3. Extraction et dosage des composés phénoliques

Les polyphénols totaux sont dosés par le suivi de leur capacité à réduire les acides phosphotungstiques ( $H_3PM_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdiques ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ), contenus dans le réactif de Folin-Ciocalteu, en oxydes de tungstène et molybdène. Ces derniers présentent une coloration bleutée qui est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les échantillons (Singleton *et al.*, 1999).

#### a. Extraction

L'extraction des composés phénoliques en phase solide consiste à introduire un échantillon d'un gramme d'huile dissout dans un 10 ml d'hexane à travers une colonne d'octadécyl C18 qui retient les composés phénoliques. Une élution est réalisée avec du méthanol ( $2 \times 4$  ml) (Favati *et al.*, 1994).

## b. Dosage

La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée selon la méthode décrite par **Favati *et al.* (1994)**. Un volume de 2ml d'extrait phénolique est mélangé avec 5ml d'eau distillée et 0,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange est agité pendant 3 minutes puis additionné de 4 ml de carbonate de sodium (10%). Ensuite, ajuster à 20 ml avec de l'eau distillée. Après 90 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 765 nm.

La concentration en composés phénoliques totaux des extraits de l'huile est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (annexe I) obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard.

### I.3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner, avec le groupement CO, un complexe de couleur jaunâtre en présence d'aluminium.

Le dosage des flavonoïdes est réalisé suivant la méthode de **Braz, (2012)**. Un volume de 2 ml de l'extrait est mélangé à 1ml de la solution de trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  à 2%. Après incubation à l'obscurité pendant 15 min et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm.

La quantité de flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine dans un kg d'huiles, en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (annexe I).

## I.4. Etude de l'activité antioxydante de l'huile d'olive

### I.4.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants (réducteurs) dans les extraits à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Blazovics *et al.*, 2003**).

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode **d'Amro *et al.* (2002)**: Un volume de 2,5 ml d'extrait est mélangé avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C/20 min, un volume de 2,5 ml d'acide

trichloracétique (10%) est additionné au mélange. Après 10 min d'incubation, 0,5ml de chlorure ferrique (0,1%) sont ajoutés et l'absorbance est mesurée à 700 nm.

Le pouvoir réducteur est exprimé en mg équivalent d'acide caféique dans un kg d'huiles, en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide Caféique (annexe I).

## 1.4.2. Mesure de l'activité antiradicalaire

Le DPPH est un radical libre et stable, caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515 nm (**Brand-Williams *et al.*, 1995**). La substance antioxydante agit en transférant un électron ou un atome d'hydrogène, ce qui conduit à la réduction du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration vers le jaune pâle. Ce passage, de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance. Le résultat est exprimé en pourcentage de réduction de DPPH (**Molyneux, 2004; Villano *et al.*, 2007**).

### I.4.2.1. Activité scavenger de l'extrait méthanoliques sur le radical DPPH

Un volume de 1,5 ml d'extrait est mélangé avec un même volume de solution méthanolique de DPPH ( $10^{-4}$ M). La décoloration par rapport au témoin, contenant le DPPH et le solvant, est mesurée au spectrophotomètre à 515nm après 60 min d'incubation à l'obscurité (**Lesage-Messsen *et al.*, 2001**).

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la formule ci-après:

$$\text{Le (\% d'inhibition du DPPH)} = (A_c - A_e / A_c) \cdot 100$$

- $A_c$ : Absorbance du contrôle
- $A_e$  : Absorbance de l'échantillon

### I.4.2.2. Activité scavenger de l'huile sur le radical DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des échantillons d'huile d'olive est estimée selon la méthode décrite par **Ramadan et Morsel (2006)**. Un volume de 3,9 ml de la solution de DPPH qui a été préparée dans le toluène ( $10^{-4}$ ) est additionné d'un volume de solution d'huile diluée dans le toluène à une concentration de 0,6 g/ml. Le mélange est agité pendant 10 secondes au vortex, après 60 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 515 nm.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la même formule citée précédemment.

### **I.5. Etude statistique**

Chaque test est réalisé en trois essais et le résultat représente la moyenne des trois mesures. Le traitement des résultats obtenus a été se fait à l'aide d'une étude statistique en utilisant le logiciel STATISTICA (5,5). En appliquant une analyse de la variance (ANOVA), suivie du test LSD. Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité ( $p < 0,05$ ).



*Chapitre II*  
*Résultats et*  
*discussion*

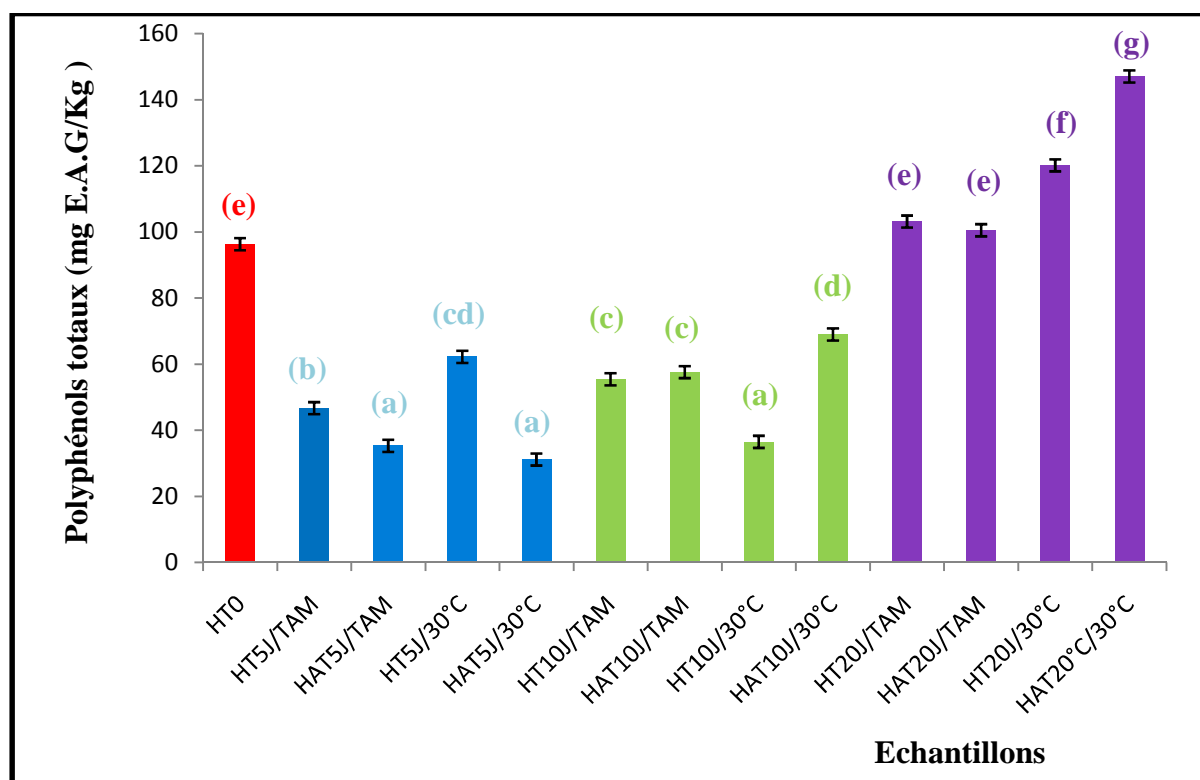


## Chapitre II : Résultats et discussion

### II.1. Dosage des polyphénols totaux

Les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation et la valeur nutritionnelle des huiles (Brenes, 2002). Ce sont les composés principaux responsables de la stabilité des huiles d'olives pendant le stockage et le chauffage (Dimitros, 2006).

Les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits méthanoliques exprimées en milligrammes d'équivalent d'acide gallique/Kg sont représentées dans la figure 07.



**Figure 07** : Teneurs en polyphénols totaux des huiles d'olives vierges témoins et des huiles aromatisées au thym.

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne montrent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ),

\*Les barres verticales représentent les écarts types.

D'après les résultats obtenus, on remarque des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre l'échantillon HAT20J/30°C et le reste des échantillons étudiés, mais aucune différence significative n'est observée entre les échantillons HAT5J/TAM, HAT5J/30°C et HT10J/30°C ; entre HT5J/30°C, HT10J/TAM et HAT10J/TAM ; entre HT5J/30°C et HAT10J/30°C ; et entre HT0, HT20J/TAM et HTA20J/TAM.

La valeur la plus élevée en polyphénols totaux a été observée pour l'échantillon HAT20J/30°C avec une teneur de 147,07 mg E.A.G/Kg et la valeur la plus faible a été observée pour l'échantillon HAT5J/30°C avec une teneur de 31,2 mg E.A.G/Kg.

Les échantillons d'huile aromatisés au thym (HAT) qui sont stockés à différentes température (température ambiante et 30°C) à une période de 5 jours ont enregistré une diminution de la teneur en polyphénols totaux par rapport à leurs échantillons témoins correspondants.

L'huile témoin et l'huile aromatisée stockées à température ambiante pendant 10 jours (HT10J/TAM et HAT10J/TAM) présentent presque les mêmes teneurs en composés phénoliques totaux. Par contre, à 30°C, nous avons remarqué une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de la teneur en polyphénols totaux entre l'huile témoin et l'huile aromatisée (HT10J/30°C et HAT10J/30°C, respectivement).

Les échantillons d'huile stockés pendant 20 jours ont enregistré les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux. Une augmentation significative a été relevée pour l'échantillon d'huile aromatisée au thym stocké pendant 20 jours à 30°C (HAT20J/30°C) par rapport à son huile témoin (HT20J/30°C). Il faut signaler que ces deux échantillons présentent aussi une augmentation significative de la teneur en polyphénols totaux par rapport à l'échantillon d'huile commerciale témoin (HT0).

Les huiles aromatisées au thym stockées à température ambiante (HAT/TAM) ont enregistré une augmentation progressive de la teneur en composés phénoliques au cours du temps (HAT5J/TAM : 35,32 mg E.A.G/Kg ; HAT10J/TAM : 57,62 mg E.A.G/Kg ; HAT20J/TAM : 100,53 mg E.A.G/Kg). Une évolution progressive au cours de temps a été aussi notée à 30°C pour les huiles aromatisées (HAT5J/30°C : 31,20 mg E.A.G/Kg ; HAT10J/30°C : 69,01 mg E.A.G/Kg ; HAT20J/30°C : 147,07 mg E.A.G/Kg). Ces résultats montrent l'influence de la période de stockage sur la teneur en polyphénols des huiles d'olives aromatisées au thym.

Nous avons noté aussi une augmentation significative des teneurs en polyphénols totaux entre les huiles aromatisées au thym stockées à température ambiante et celles stockées à 30°C pour les périodes de stockage de 10 et 20 jours. Cela illustre l'influence de la température de stockage sur les teneurs en polyphénols des échantillons aromatisés au thym.

La teneur en polyphénols totaux de notre échantillon témoin «Zzit Ifri» (HT0 : 96,30 mg E.A.G/Kg) est inférieure par rapport à l'intervalle donné par le **C.O.I. (2009)** qui est de 153 à 694 mg/Kg pour une huile d'olive extra vierge et par rapport à la teneur signalée par **Amzal (2015)** qui a noté une teneur de 139,10 mg E.A.G/Kg pour l'huile d'olive vierge commerciale « Ifri ». **Ninfali et al. (2001)** ont enregistré des teneurs qui varient de 99 à 210 mg E.A.G/Kg pour les huiles d'olives commerciales italiennes.

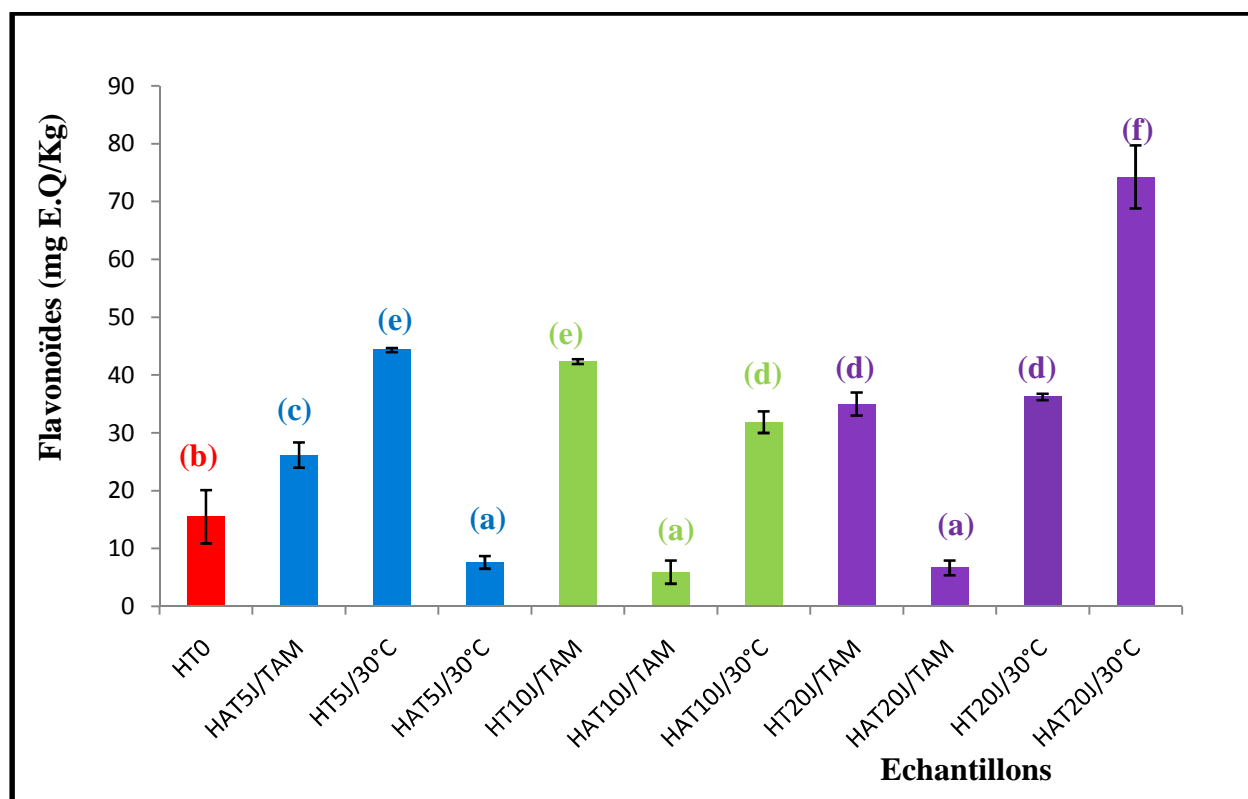
Au cours de stockage à différentes températures, les huiles témoins (HT) ont enregistré des teneurs en composés phénoliques inférieures à celle de l'huile témoin (HT0), à l'exception de deux échantillons (HT20J/TAM : 103,200 mg/Kg et HT20J/30°C : 120,169 mg/Kg). Ces diminutions peuvent être dues à la dégradation des polyphénols suite à leur activité antioxydante d'une part, et d'autre part, à l'activité de la polyphénols-oxydase qui est responsable de l'oxydation des polyphénols (**Zanoni et al., 2005**).

Pour l'augmentation des teneurs en polyphénols, elle est peut être expliquée par l'hydrolyse de certaines substances phénoliques complexes, tels que l'oleuropéine qui libère l'hydroxytyrosol et la verbascoside qui libère l'acide caféique et l'hydroxytyrosol (**Perrin, 1992**).

L'augmentation des teneurs en polyphénols de certaines huiles aromatisées peut être due à leur enrichissement par l'ajout de thym qui est une plante riche en polyphénols. En effet, **Casio et al. (2006)** ont signalé, lors d'une étude effectuée sur plusieurs plantes de la famille des *Lamiacées*, que les espèces du thym comprennent des teneurs qui varient de 12,1 à 14,1mg E.A.G/g d'extrait phénolique.

## II.2.Dosages des flavonoïdes

D'après plusieurs auteurs, les flavonoïdes sont présents en petites quantités dans l'huile d'olive vierge (**Servili et al., 2004 ; Oliveras-Lopez et al., 2007**). Les teneurs en flavonoïdes des différents échantillons de l'huile analysés sont indiquées dans la figure 08.



**Figure 08** : Teneurs en flavonoïdes des huiles d'olives vierges témoins et des huiles aromatisées au thym

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne montrent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ),

\*Les barres verticales représentent les écarts types.

L'analyse statistique a révélé la présence de différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les échantillons HT0, HAT5J/TAM, HAT20J/30°C et les autres échantillons mais aucune différence significative n'est observée entre les échantillons HT5J/30°C, HT10J/TAM ; entre les échantillons HAT5J/30°C, HAT10J/TAM, HAT20J/TAM ; et entre les échantillons HAT10J/30°C, HT20J/30°C.

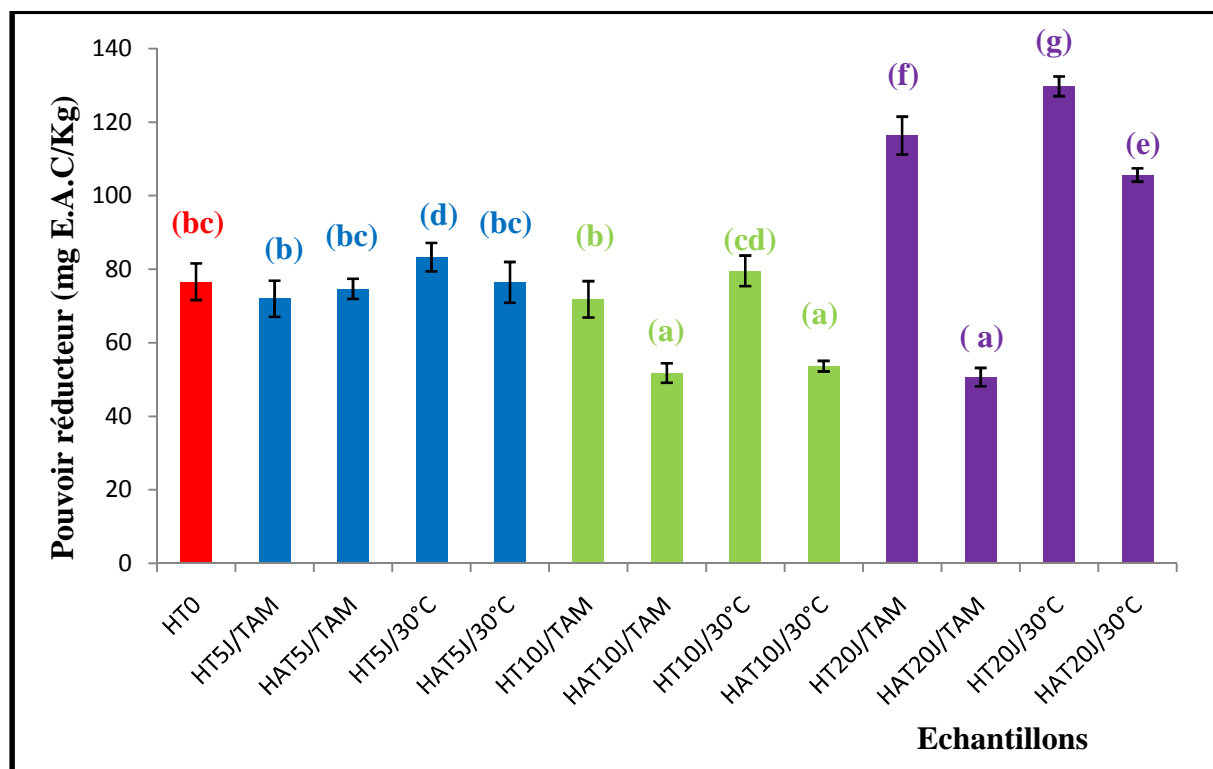
D'après les résultats obtenus, les échantillons HAT5J/30°C, HAT10J/TAM et HAT20J/TAM présentent des teneurs faibles en flavonoïdes qui sont respectivement 7,63 mg E.Q/Kg (12,27% des polyphénols totaux), 5,93 mg E.Q/Kg (10% des polyphénols totaux) et 6,66 mg E.Q/Kg (6,63% des polyphénols totaux). Alors que la teneur la plus élevée est enregistrée pour l'échantillon HAT20J/30°C avec une valeur de 74,90 mg E.Q/Kg (51% des polyphénols totaux), cela pourrait être dû à l'enrichissement de l'huile d'olive par les flavonoïdes du thym.

## II.2. Détermination de l'activité antioxydante

### II.2.1. Le pouvoir réducteur

Les propriétés antioxydantes de plusieurs composés phénoliques sont relativement liées à leur pouvoir réducteur (Paixão *et al.*, 2007).

Le pouvoir réducteur des échantillons d'huiles analysés est indiqué dans la figure 09.



**Figure 09** : Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des huiles d'olives vierges témoins et des huiles aromatisées au thym.

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne montrent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ),

\*Les barres verticales représentent les écarts types.

L'analyse statistique des résultats du pouvoir réducteur montre la présence de différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les échantillons HT20J/TAM, HT20J/30°C, HAT20J/30°C et les autres échantillons. Les meilleures activités réductrices sont exercées par les extraits d'huiles issus des échantillons : HT20J/30°C, suivi par HT20J/TAM et en dernier HAT20J/30°C avec des valeurs respectives de 129,75 mg E.A.C/Kg, 116,35 mg E.A.C/Kg et 106,67 mg E.A.C/Kg. Les échantillons HAT10J/TAM, HAT10J/30°C et HAT20J/TAM exercent les plus faibles pouvoirs réducteurs, avec des valeurs très proches. Le reste des

échantillons montrent des valeurs comprises dans l'intervalle de 71,83 mg E.A.C/Kg à 83,30 mg E.A.C/Kg (HT10J/TAM et HT5J/30°C respectivement).

L'observation préliminaire de ces résultats montre que l'addition du thym à l'huile d'olive engendre une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du pouvoir réducteur entre les huiles témoins et les huiles aromatisées correspondantes à différente température, à l'exception de l'échantillon d'huile témoin et aromatisé de 5 jours de stockage à température ambiante.

Les antioxydants ayant une propriété réductrice, tels que les polyphénols présents dans les extraits d'huiles d'olive, réagissent comme donneurs d'électrons. La nature et la concentration en antioxydants contrôlent l'intensité du pouvoir réducteur (**Gulçin *et al.*, 2007**).

Plusieurs auteurs (**Gulçin *et al.*, 2004 ; Benkeblia, 2005 ; Sousa *et al.*, 2006**) ont montré que le pouvoir réducteur d'un extrait est essentiellement dû aux composés phénoliques. En effet, nous avons enregistré un coefficient de corrélation significatif ( $r = 0,54$ ) entre les polyphénols totaux et le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques.

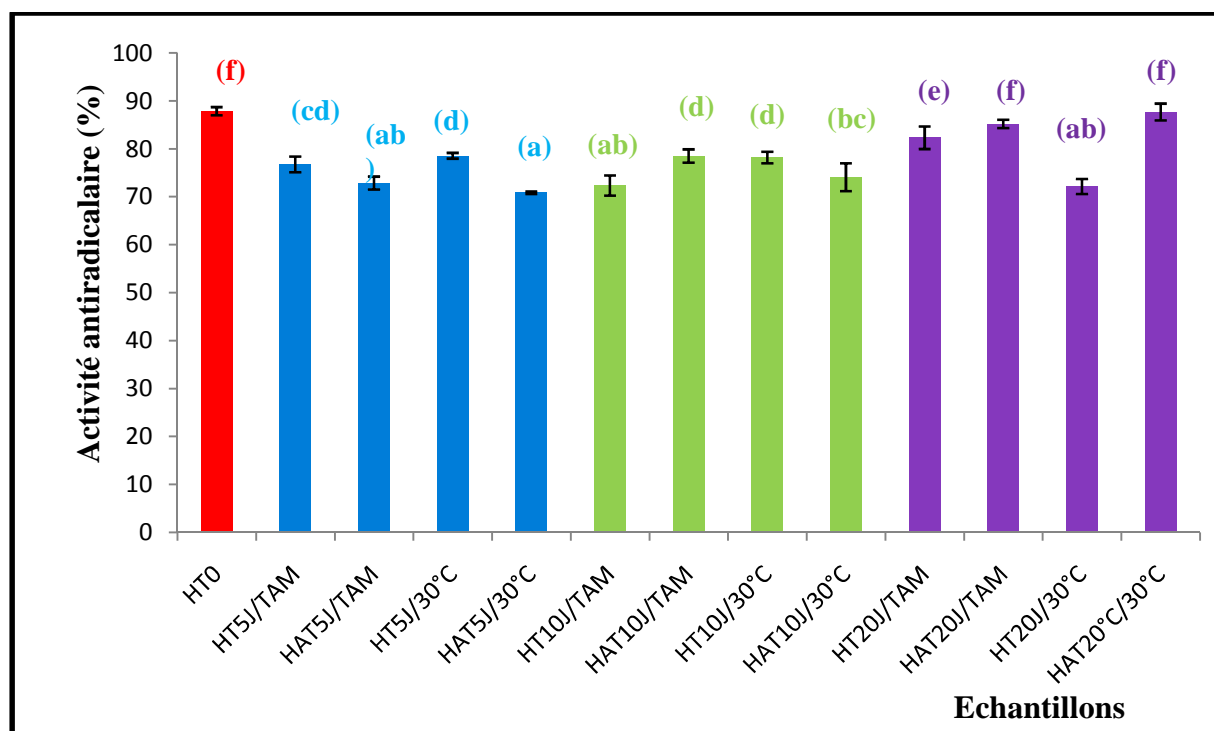
## **II.2.2. Activité antiradicalaire**

Le radical DPPH° est généralement l'un des composés le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire et la simplicité de l'analyse (**Bozin *et al.*, 2008**). Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée (**Bortolomeazzi *et al.*, 2007**).

### **II.2.2.1. Activité scavenger des extraits méthanoliques sur le radical DPPH°**

Les résultats de l'activité scavenger sur le radical DPPH° des extraits méthanoliques des huiles exprimés en pourcentage (%) sont représentés sur la figure 10.

L'analyse statistique montre la présence de différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les extraits des huiles témoins et ceux des huiles aromatisées correspondantes.



**Figure 10** : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° des extraits méthanoliques des différentes échantillons d'huiles d'olives témoins et d'huiles aromatisées au thym.

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne montrent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ),

\*Les barres verticales représentent les écarts types.

D'après l'analyse statistique, nous remarquons que les échantillons HT0, HAT20J/TAM et HAT20J/30°C exercent les meilleures activités antiradicalaires avec des valeurs respectives de 87,83 %, 85,24% et 87,72 %. Par contre, le plus faible pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été noté pour l'échantillon HAT 5J/ 30°C (70,868 %) alors que le plus grand pourcentage est obtenu pour l'échantillon HT0 (87,89%).

On note aussi que les échantillons HT5J/TAM, HAT5J/TAM, HAT5J/30°C et HT10J/30°C présentent des pourcentages d'inhibition du radical DPPH élevés (76,78%, 72,91%, 70,86%, et 78,22%, respectivement) malgré que ces dernières soient pauvres en polyphénols totaux.

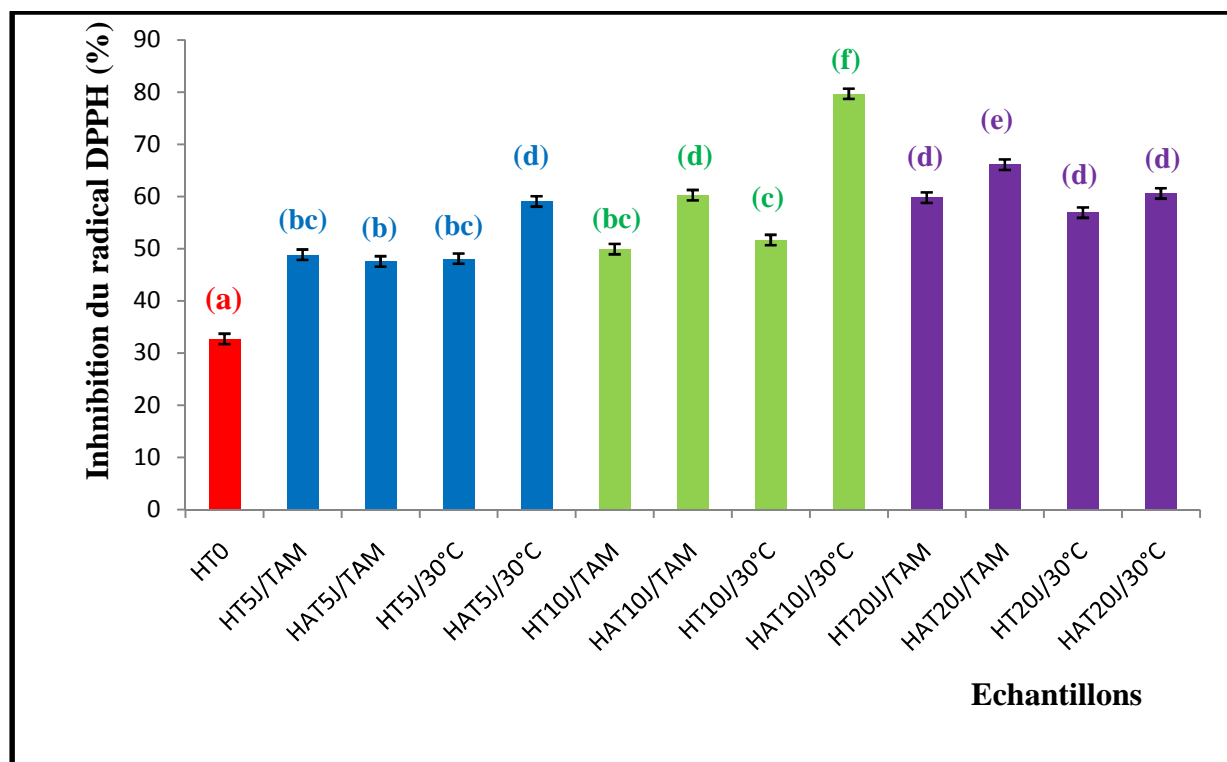
Plusieurs auteurs ont rapporté que l'activité antiradicalaire est liée à la teneur en composés phénoliques totaux (Zanoni *et al.*, 2005 ; Choi *et al.*, 2006; Pourmorad *et al.*, 2006; Bouaziz *et al.*, 2008). Le pouvoir puissant à piéger le radical DPPH par les extraits méthanoliques des huiles des différents échantillons analysés peut être expliqué par le contenu

phénolique, en effet, un coefficient de corrélation significatif ( $r=0,61$ ) a été enregistré entre les composés phénoliques totaux et l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques de nos échantillons.

L'activité antioxydante est corrélée positivement avec la structure des polyphénols, généralement, les polyphénols avec un nombre élevé du groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée (Heim *et al.*, 2002).

### II.2.2.2. Activité scavenger de l'huile sur le radical DPPH°.

L'estimation des pourcentages d'inhibition du radical DPPH° des échantillons d'huile est illustrée dans la figure 11.



**Figure 10** : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° des différents échantillons d'huiles d'olives témoins et des huiles aromatisées au thym.

\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne montrent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ),

\*Les barres verticales représentent les écarts types.

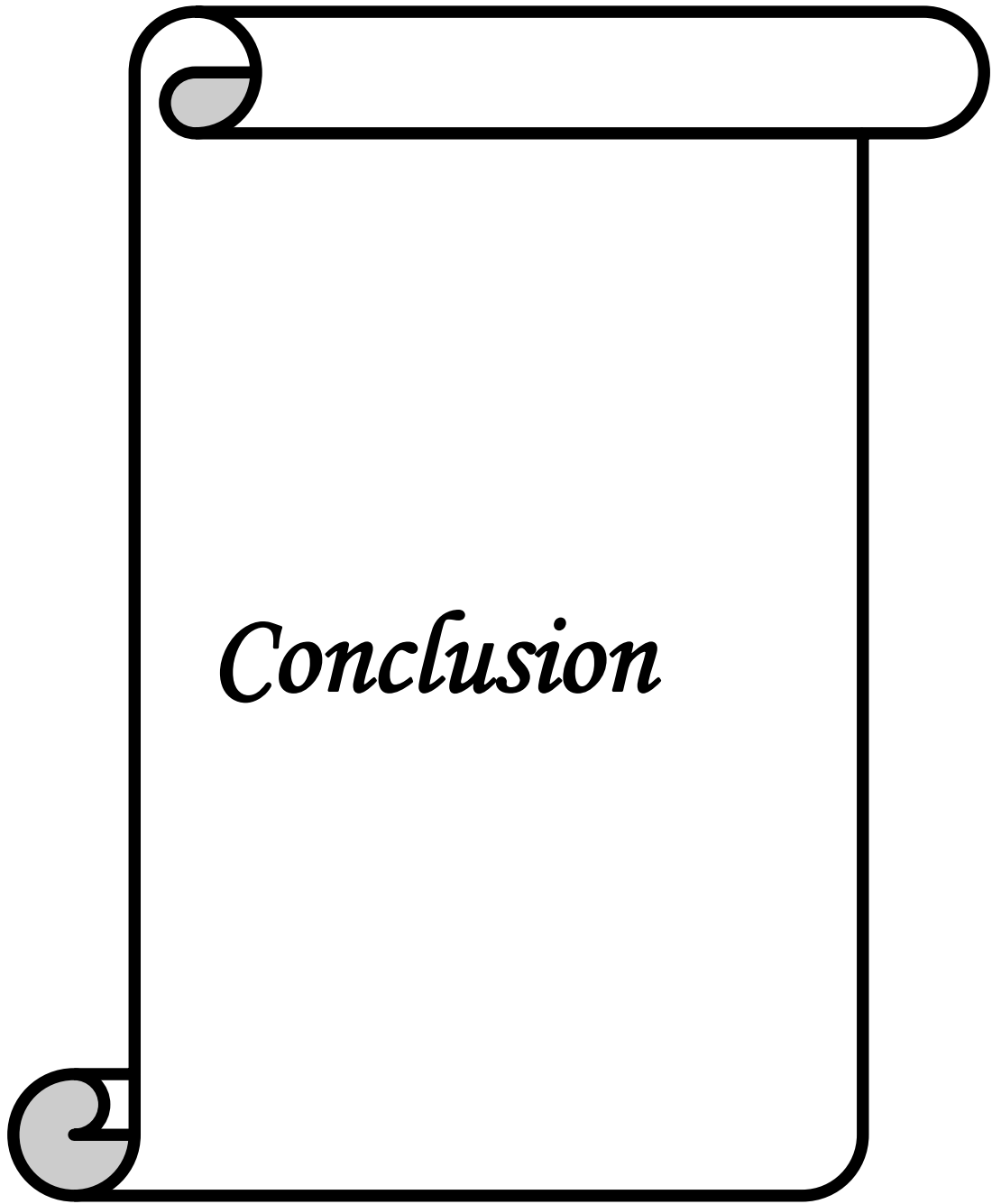
Tous les échantillons d'huile d'olive analysés possèdent une capacité de piéger le radical DPPH et les pourcentages d'inhibition oscillent entre 32,72% (HT0) et 79,71% (HAT10J/30°C).



L'analyse statistique révèle des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre l'échantillon témoin (HT0), l'échantillon d'huile aromatisée au thym stocké pendant 10 jours à 30°C (HAT10J/30°C) et les autres échantillons.

On note des augmentations significatives ( $p < 0,05$ ) des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en passant des huiles témoins à leurs huiles aromatisées correspondantes à l'exception des échantillons témoins HT5J/TAM et HT20J/30°C.

Nos résultats indiquent que l'échantillon d'huile témoin (HT0) présente l'activité antiradicalaire la plus faible (32,727%), malgré qu'il a enregistré une teneur moyenne en polyphénols totaux (96,30 mg E.A.G/Kg). L'échantillon HAT10J/30°C présente un fort pourcentage d'inhibition (79,71%) et il correspond à une meilleure efficacité de cette huile dans la neutralisation du radical DPPH°. A noter que cet échantillon contient 69,018 mg E.A.G/Kg de polyphénols totaux et 31,878 mg E.Q/Kg de flavonoïdes. Un coefficient de corrélation non significatif a été observé ( $r = 0,16$ ) entre les polyphénols totaux et l'activité antiradicalaire de l'huile sur le DPPH.



*Conclusion*

## Conclusion

A travers cette étude, nous avons réalisé des dosages de composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) d'une huile d'olive vierge commerciale (Zzit IFRI) additionnée d'une plante aromatique (*Thymus sp.*) et nous avons aussi déterminé leur activité antioxydante (pouvoir réducteur, DPPH de l'extrait méthanolique et DPPH de l'huile) au cours de stockage (5, 10 et 20 jours) et à deux températures différentes (ambiante et 30°C).

Les teneurs en polyphénols totaux de l'huile d'olive diminuent progressivement au cours du stockage, elles sont inférieures à l'huile commerciale témoins (TH0 : 96,301 mg E.A.G/Kg), à l'exception de la période de stockage de 20 jours à 30°C où on a remarqué une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) surtout pour l'échantillon aromatisé au thym (HAT20J/30°C), avec une valeur maximale de 147,07 mg E.A.G/Kg. Ce même échantillon présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes (74,30 mg E.Q/Kg).

Les échantillons analysés présentent des valeurs de pouvoir réducteur qui varient entre 50,69 et 129,75 mg E.A.C/Kg. La valeur la plus élevée est enregistrée par l'échantillon témoin de 20 jours de stockage à 30°C. Parmi les différentes huiles aromatisées, c'est l'extrait de l'échantillon stocké pendant 20 jours à 30°C qui a noté une activité réductrice la plus élevée (HAT20J/30°C : 106,67 mg E.A.C/Kg).

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des huiles d'olives montre que les meilleurs pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont notés pour l'huile commerciale témoin (HT0) et l'huile aromatisée au thym après 20 jours de stockages à 30°C (HAT20J/30°C), avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 87,893 et 87,728 %.

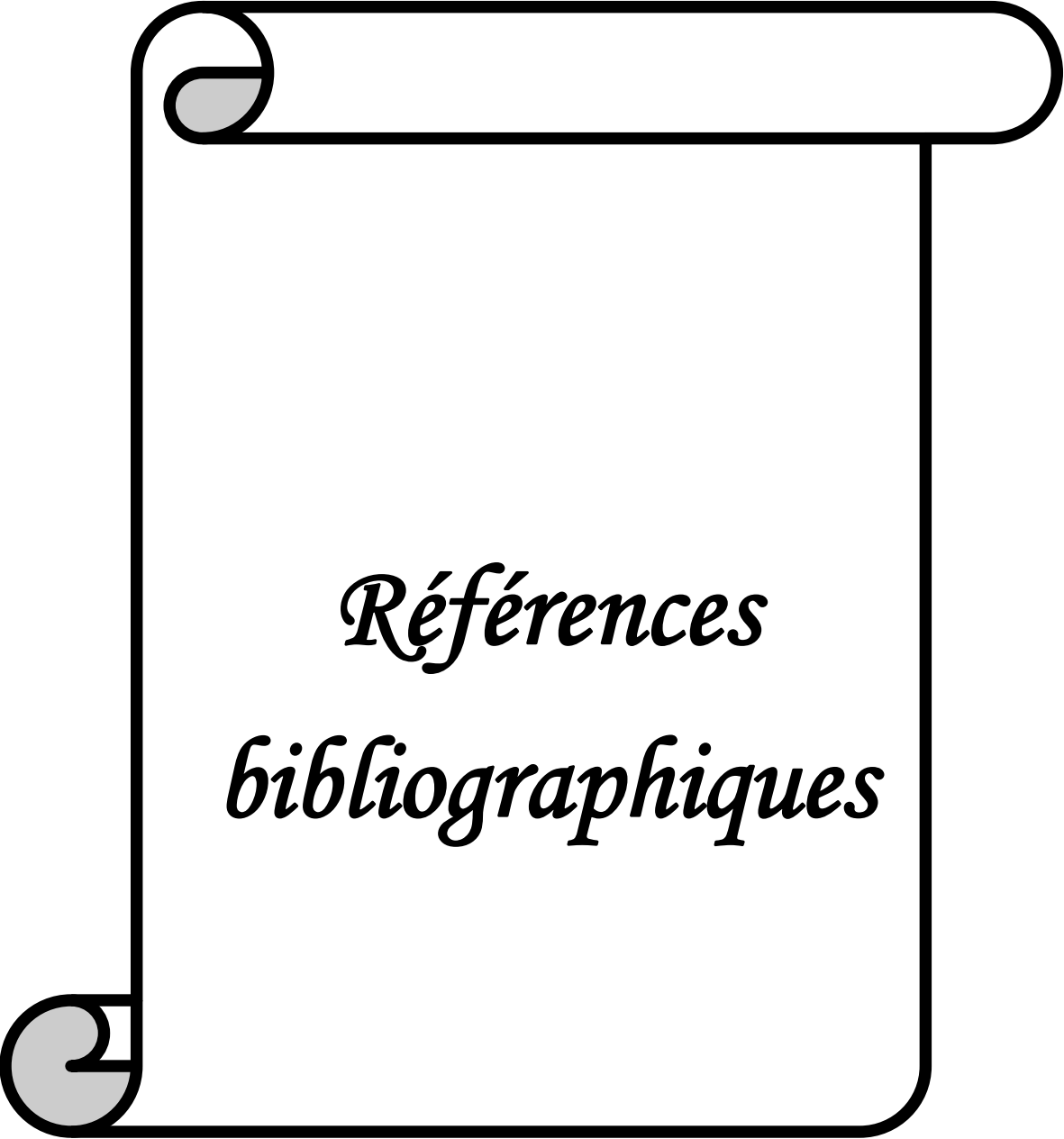
L'activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH° varie d'un échantillon à un autre. Toutes les huiles étudiées présentent capacité à piéger le radical DPPH°. L'huile aromatisée au thym après 10 jours de stockages à 30°C (HAT10J/30°C) exerce la meilleure activité antiradicalaire avec une valeur de 79,71 %.

Des corrélations significatives ont été établies entre les polyphénols totaux et l'activité antioxydante déterminée par le pouvoir réducteur et l'activité scavenging de l'extrait sur le radical DPPH° (0,54 et 0,61 respectivement).

Au terme de cette étude, nous avons constaté que l'huile d'olive vierge commerciale (Zzit IFRI) aromatisée au thym après 20 jours de stockage constitue source d'antioxydants naturels et présente une bonne activité antioxydante.

Pour une meilleure évaluation de l'activité antioxydante de nos échantillon d'huile huiles d'olives, de nombreuses perspectives restent à explorer à savoir :

- Etude de la composition des huiles en antioxydants par HPLC ;
- Etude de la composition du thym en antioxydants par HPLC ;
- Etude de l'influence de la lumière sur l'oxydation des composés phénoliques ;
- Etudes des caractéristiques organoleptiques des huiles d'olives aromatisées ;
- Effectuer le test de la stabilité oxydative.



*Références  
bibliographiques*



- **Al-Bayati F A. 2008.** Journal of ethnopharmacology, Synergistic antibacterial activity between thymus vulgaris and pimppinella anisum essential oils and methanol extracts. 166(3): 403-406.
- **Amro B., Aburjai T. et Al-khalil S. 2002.** Antioxidative and radical scavenging of olive cake extract. Fitoterapia, 73: 456-461.
- **Amzal Hakima. 2015.** Activité antioxydante de mélanges d'huile d'olive et d'huile de table, thèse pour l'obtention du diplôme de master, Université Abderrahmane Mira Bejaia.
- **Angela M., Laur V., Daniela H., Dragulescu C., Iuliana A. et Olah N.K. 2008.** Polyphenolic analyses from *Thymus* species. Production romany academy. 2007 (3): 117-121.
- **Antholovich M., Prenzler P.D., Patslides E., Mc Donal S. et Robards K. 2002.** Methods for testing antioxidant activity. The analyst. 127: 183-198.
- **Aparicio R., Roda L., Albi M.A. et Gutiérrez F. 1999.** Effect of various compounds on Virgin olive oil stability measured by rancimat. Journal of agricultural and fois chemistry. 47: 4150-4155.
- **Arranz S., Cert R., Pérez-Jiménez J., cert A. et Saura-Calixto F. 2008.** Comparaison between free radical scavengingcapacity oxydative stability of nutoils. Food chemistry. 110 :985-990.



- **Baccouri O., Bendini A., Cerretani L., Guerfel M., Baccouri B., Lercker G., Zerrouk M. et Ben Miled D. 2008.** Comparative study on volatile compoundsfromtunisian and sicilianmonovarietalvirgin olive oils. Food chemistry, 111 : 322-328.

- **Bauaziz M., Fki I ;, Jemai H. Ayadi M. et Sayadi. 2008.** Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxydants from *Chemlali olive leaves*.
- **Bazylko. A et Strzelecko H. 2007.** *Filotheropio*, 78: 391-395.
- **Beltron G., Del Rio C., Sanchez S. et Martinez L. 2004.** Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from. *Picual Journal of agricultural and food chemistry*, 3434-3440.
- **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. A overview of the last decade. *Molecules*, 1-1679-179.
- **Benlemlih M. et Ghanam J. 2012.** La composition chimique des fruits d'olive polyphénols d'huile d'olive trésors santé. Belgique. ISBN : 978-2-87211 : 117-123.
- **Bentemime S., Manai H. et Methnik. 2008.** Sterolic composition of chetoui virgin olive oil : influence of geographical origin. *Food chemistry*, 10:366-374.
- **Berset C. et Cervelier M.E. 1996.** Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidant power. *Sciences des aliments*, 16: 219-245.
- **Blazovics A., Lugasi A., Szentmihályi K. et Kéry A. 2003.** Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum tectorum* *in vitro* and *in vivo*. *Acta biologica Szegediensis*, 47(14): 99-102.
- **Bortolomeazzi R., Sebastianutto N., Toniolo R. et Pizzariello A. 2007.** Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem.* 100: 1481-1489.

- **Bouhadjra K. 2011.** Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- **Boskou D. 2006b.** Characteristics of the olive tree and olive fruit: in *olive oil, chemistry and technology* 17:505-512.
- **Boskou D. 2006a.** Sources of natural phenolic antioxydants. *trends in food science and technology*, 17:505-512.
- **Boskou D., Tsimidou M. et Blekas D. 2006.** Polar phenolic compounds, in *olive oil, chemistry and technology*, Ed AOCS Press, Champaign, IL, 73-92.
- **Boskou. D. 1996b.** *Olive Oil; Chemistry and Technology*. American Oil Chemist's Society. Press: Champaign, IL, USA, 52-83.
- **Boskou D. 1996a.** Olive oil: chemistry and technology. *Champaign Illinois american oil chemists society*, 69: 552-556.
- **Bozin B. Mimica-Dukic N., Simia N., Anackov G., 2006.** Charactezation of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem*, 54: 1822-1828.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M. E et Berset C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, 28: 25-30.
- **Branz A. 2012.** Antioxidant activity and phenolic composition of brizilin hoeny and their extracts *J. Chem Sco*, 15-22.
- **Brenes M., Garcia A., Rios J.J., Garcia P. et Garrido A. 2002.** Use of l'acetoxypinoresinol to authenticatepicual olive oils. *International journal of food science and technology*, 37 :615-625.





- **Cerretani L., Bendini A., Binguzzi B., Lercher G. et Toschi T.G. 2005.** Freezing storage can affect the Oxidative stability of notb filtered extra-virgin olive oils, *J. Commod. Science*, 44: 3-16.
- **Cicerale S., Conlan X. A., Sinclair A. J. et Keast R. S. J. 2009.** Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49: 218-236.
- **Choi Y. M., Noh D.O., Cho S Y.Le secteur, Suh H., Kim K.M. et Kim J.M. 2006.** Antioxydant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *Food Science and Technology*, 39(7): 756-761.
- **Chou S.T., Chao W.W. et Chung Y.C. 2003.** Antioxidative activity and safety of 50 ethnolic red bean extract ( *phaseolus radiates L. Var. Aurea*). *Journal of food science*, 68(1) : 21-25.
- **C.O.I.2001.** Norme commerciale Applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. Conseil Oléique International.
- **COI. 2003.** Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.
- **C.O.I. 2009.** Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. Conseil Oléicole International.
- **C.O.I. 2011.** L'huile d'olive et ses propriétés antioxydants. Conseil Oléicole International.
- **C.O.I. 2015.** Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive.

- **COI. 2017.** L'huile d'olive et ses propriétés antioxydantes. Conseil Oléicole International.
- **Cosio M. S., Buratti S., Mannino S. et Benedetti S. 2006.** Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family. *Food chemistry*. 97 (4): 725-731.
- **Cosentino S., Ttuberoso C.I.G., Pisanot B., Salla M., Mascia.V., AArzedi E. et Palmas F. 1999.** Invitro antimicrobial activiy and chemical composition of sardinion thymus essential oils.lett appl Microbiol. 29 (2) : 130 -135.
- **Cowan M.M. 1991.** Clinical microbiology review. 12; 564-570.
- **Cuvelier C., Dotreppe O. et Istasse L. 2003.** Chimie, source alimentaires et dosage de la vitamine E. For. Cont. Art. Synt., 147 : 315-324.



- **Damerji S. 2012.** La faune malacologique sur différentes plantes médicinales dans la région de Tlemcen (Algérie nord-occidentale) *Afrique Science*. 08(1) :79 – 87.
- **Damintoti K., Mamoudou H. D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., et Alfred S.T. 2005.** Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université de Burkina Faso.
- **De leonardis A., Macciola V., Lembo G., Aretini A. et Nag A., 2005.** Studies on oxidative stabilisation of lard by naturel antioxidants recovered from olive oil mill wastewater. *Food Chem*, 100: 998-1004.
- **Dhifi W., Serraiocco A., Oumar I., Hamroini I. et Marzouk B. 2005.** Virgin olive oil aroma: characterization of sometunisian cultivars. *Food chemistry*, 93(4): 697-701.

- **Dimitros. B. 2006.** Sources of natural phenolic antioxydants. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 505-512.
- **Dorman H. J. et Deans S. G. 2000.** Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *Journal of applied Microbiology*. 88: 308- 316.-131.
- **Dugo G. LoturcoV., Pollicino D., Movrojeni. Et Pipitone F. 2004.** Caractérisation d’huiles d’olive vierges siciliennes. Variation quantitative des huiles des fruits des cultivars “techniques et de l’époque de récolte des olives” *Olivae*, 101: 44-52.
- **Dweck A. C. 2002.** Herbal medicine for the skin. Their chemistry and effects on skin and mucous membranes. *Personal car magazine*. 3(2) : 19-21.



- **Favati F., Caporale G. et Bertuccioli M. 1994.** Rapid determination of phenol content in extra virgin olive oil. *Grasas Aceites*, 45: 68-70.
- **Fouché J. C., Maruquet A. et Hambachers A. 2000.** Les plantes Médicinales, de la plante au médicament. *Observatoire du Monde au médicament. Observatoire du Mondes des plantes Sart-titman. Université de liége sart-Tilman. B77.*
- **Frankel E.N.1980.** lipidoxidation. *Progress in lipidResearch*, 19:1-22.



- **Gallina-Toschi T., Cerretana L., Bendini A., Bonoli-Carbognin M. et Lercker G. 2005.** Oxidativestability and phenolic content of virgin olive oil : an analyticalapproach by traditional high resolution technique.

- **Gandul- Rojas B. et Minguéz-Mosquera M.I. 1996.** Chlorophyllase activity in olive fruits and its relationship with the loss of chlorophyll pigments in the fruits and oils. *Journal of Science and FOOD Agriculture*, 72: 291-294.
  - **Gausсен H., Ddeuroy J.F. et Ozenda P. 1982.** Précis de botanique II. In «les végétaux supérieurs». Ed: Masson. 215-408.
  - **Gimeno E., Castellote A. I., Lmuela- Raventos R. M., De la Torre C.M. & Lopez-sabater M. C. 2001.** The effects of harvest rand extraction methods on the antioxidant contenant (phenolics,  $\alpha$ - tocophérol,  $\beta$ - carotène) in virgin olive oil. *Food Chem.*, 78: 207-211.
  - **Gimeno E., Fito M., Lamuela-Raventos R M., Castellote A.I., Covas M., Farre M., de la Torre-Boronat M. C. et Lopez-Sabater M. C. 2002.** Phenolic compounds profile of Cornicarba virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:6812-6817.
  - **Golmakani M. T. et Rezaei K. 2008.** Comparaison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry*, 109: 925-930.
  - **Gülçin I., Elias R., Gepdiremen A., Boyer L. et KöksalE.2007.** A comparative study on the antioxydant activity of fringetree (*Chiomanthusvirginicus* L) extracts. *African journal of biotechnology*, 6 (4) : 410-418.
  - **Gutiérrez F, Arnaud T. et Garrido A, 2001.** Contribution of polyphenols to the oxidative stability of virgin olive oil. *Journal of Science of Food and Agricultural*. 81, 1-8.
- ℋ*
- **Haddad Y, Kaloustian J, Giordan R, Regli P, Chefrou A, Abou L, Mikial C. et Portugal H. 2004.** Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de thymus vulgaris L. et de thymus numiducus Poiret d'algerie. 6<sup>eme</sup> symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales, Grasse, France.

- **Haddada F. M., Manai H., Oueslati I., Daoud D., Sanchez J., Osorio E. et Zarrouk M. 2007.** fattyacid, triacylglycerol ; and phytosterol composition in six tunisian olive varieties. *Journal of agricultural and foodchemistry*, 55 :10941-10946.
- **Haddam M., Hammadi chimi H. et Amine A. 2014.** Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. *OCL*, 21(5) :507.
- **Hans W.K. 2007.** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.
- **Harborne J. B. 1980.** Secondary plant products. *Encyclopedia of plant physiology*, Vol 8, Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, P 329-402. In: Les composés phénoliques des Végétaux.

*J*

- **Jacotot R. 1993.** L'huile d'olive de la gastronomie à la santé Paris, 280.
- **Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna-Harrera J., Molina-Salinas G. et Said-Fernández S. 2006.** *Pharmacologyonline*.3: 569-574.

*K*

- **Kabouche A., Kaouche Z. et Bruneau C. 2005.** Analysis of the essential oil of *thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. *Flavor Fragrance Journal*. 20: 235-236.
- **Kalua C.M., Allen M.S., Bedgood D.R., Bichop A.G., Prenzler P.D. et Robards K. 2007.** Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food chemistry*, 100 (1):273-286.
- **Kataja-Tuomola M. et Sundell J.R. 2008.** Effect of alpha-Tocopherol and beta-carotene supplementation on the incidence of type 2 diabetes. *Diabetologia*. Jan, 51 (1) : 47-53.
- **Krichene D., Allalout A., Mancebo-campos V., Salvador M. D., Zarrouk M. et Fregapane G. 2010.** Stability of virgin olive oil and behaviour of

its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. Food chemistry, 121 :171-177.



- **Lazzez A., Perri E., Caravita M.A., Khelif M. et Cossentini M. 2008.** Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the chemlal variety. J. Agric. Food chem, 56(3) :982-988.
- **Lee J., Koo N. et Min D B. 2004.** Reactive oxygen species, aging and antioxidative Nutraceuticals. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 3: 21-33.
- **Lesage-Messen L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J C., Lorquin J., Delattre M., Simon J L., Asther M., et Labat Labat M. 2001.** Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. Food Chemistry, 75: 501-507.
- **Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L. et Wul M.J. 2003.** Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). Journal of food and Drug Analysis. 11(1) : 60-66.
- **Loziene K., Venskutonis P. R., Sipailiené A et Labokas J. 2007.** Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different thymus pulegioides L. chemotypes. Food chem. 103; 546-559.



- **Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne. 4-5.
- **Maestro R., Garacia J. M. et Castellano J.M. 1993.** Changes in polyphenol content of olives stored in modified atmospheres. HortScience, 28- 71.

- **Mariana P., et Laurian V. 2007.** Study of polyphenols from the species *Thymus pulegioides L* (Lamiaceae). *Farmacia- Bucuresti*, 55 (3): 297- 302.
- **Mateos R. et García-Mesa J.A. 2006.** Rapid and quantitative extraction method for the determination of chlorophylls and carotenoids in olive oil by high-performance liquid chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385: 1247-1254.
- **Mateos R., Uceda M., Auguilera M.P. et Escuderos M.G. 2006.** Relationship of rancimat method values at varying temperatures for Virgin olives oils. *European food research and technology* ,223:246-252.
- **Mazoyer et Marcel. 2002.** Larousse Agricole.Thiery Oliveau : dossiers.Institution et organisme. et .Donn.es .conomique. 777. ISBN : 2-03-591062-5.
- **Milis. 2006.** Olive oil marketing in non-traditional markets: prospects and strategies. *New medit*, 5(1) : 27-37.
- **Minioti K.S. et Geogiou C.A. 2008.** High throughput flow injection bioluminometric method for olive oil antioxidant capacity. *Food Chem.* 109: 445-461.
- **Miquel-Becker E., Niessen L.R. et Skibsted L.H. 2004.** Antioxydant evaluation protocols: Food quality or health effects. *Eur Food Res Technol.* 219: 561- 571.
- **Molyneux P. 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 26(2): 211-219.
- **Morales R. 1997.** Synopsis of the genus *Thymus L* in the Mediterranean area Lagascalia. *19 (1-2): 249-62.*
- **Morales M.T., Luna G. et Aparicio R. 2005.** Comparative defects. *Food Chemistry*, 91 (2): 293-301.



- **Nieves Criado M., Paz Romero M., Casanovas M. et Motilva M. J. 2008.** Pigment profile and Color of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons *Food Chemistry*, 110: 873–880.
- **Ninfali P., Aluigi G., Bacchiocca M. et Magniani M. 2001.** Antioxydant capacity of extra-virgin olive oil. *Journal of American oil chemistry*, 77 :371-376.



- **Oliveras-lópez M. J., Innocenti M., Giaccherini C., Feri F., Riomani A. et Mulinacci N. 2007.** Study of the phenolic composition of Spanish and Italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids. *Food Chem.* 73: 726- 732.
- **Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guèrère 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.
- **Ollivier D., Souillol S., Guèrère M., Pinatel C. et Arlaud J. 2000.** Données récentes sur la composition en acides gras et triglycérides d'huile d'olive vierge françaises. *Le nouvel olivier*, 13 :13-18.
- **Özcan M. et Chalchat J C. 2004.** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L growing wild in, Turkey. *Bulgarian journal of plant physiology*, 30 (3-4): 68-73.



*P*


- **Paixão N., Perestrelo R., Maques J. et Câmara j. S. 2007.** Relationship between antioxydant capacity and total phenolyc content of red rosé and white wines. Food Chemistry, 105 : 204-214.
- **Pariente L. 2001.** Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologique. 2<sup>ème</sup> Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris. P 643.
- **Perrin J. L. 1992.** Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. Rev. corps gras, 1/2, 25-32.
- **Pourmorad F., Hosseinimechr S. J. et Shahabimajd N. 2006.** Antioxidant activity, phenol and flavonoid capacity and phenolics in food and dietary supplements. Journal of agricultural and food Chemistry, 48: 3396-3402.

*Q*

- **Quezel P. et Santa S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tom I, C.N.R. Paris.

*R*

- **Rahmani M. 1989.** Mise ou point sur le role des pigments chlorophylliens dans la photo oxydation de l'huile d'olive vierge. Olivae, 26 : 30-32.

- **Ramdan M. F. et Moersel J.T. 2006.** Screening of the antiradical action of vegetable oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 838-842.
  - **Ranalli A. M., Ferrante G. et De Mattia. 1999.** Analytical Evaluation of virgin olive Oil of First and Second Extraction. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 47: 417-424.
  - **Ryan D., Robardas K. et Lavee S. 1998.** Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72: 26-41.
  - **Runcio A., Sorgona L., Mincione A., Santacotérina S. et Poiana M. 2008.** Volatile compounds of virgin olive oil obtained from Italian cultivars grown in Calabria. Effect of processing methods, cultivar, stone removal, and anthracnose attack. *Food Chemistry*, 106 : 735-740.
  - **Rovelli P. et Cortesi N. 2003.** Détermination des composants phénoliques de différents cultivars au cours de la maturation des olives par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. *Olivae*, 95 : 32-38.
- 
- **Salvador M.D., Aranda F., Gomez-Alonso S. et Fregapane G. 2003.** Influence of extraction system, production year area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. *Food Chemistry*, 80: 359-366.
  - **Samaniago-Sánchez C., Troncoso González A M., Gaira-Parrilla M C., Quesada Granados J., López Garian de la Serrana H. et López Martínez M C. 2007.** Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica Acta*, 593: 103-107.
  - **Schauenberg . et Paris F. 2013.** Les plantes médicinales. Edition : Delachaux et Niestlé, Paris, 295.
  - **Sebei K., Boukhchina S. et Kallel H. 2007.** Evolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des grains de colza de printemps (*Brassica napus L.*). *Comptes Rendus Biologies*, 330 : 55-61.

- **Selmi S. et Sadok S. 2008.** The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris Linnaeus* ) on flesh quality of tuna (*Thunnus Linnaeus*) during chilled storage. *Pan-American Journal of aquatic sciences.*, 3 (1) : 36-45.
- **Silva D. M., Riet-Correa F., Medeiros R. M. T. et Oliveira O. F. 2006.** Toxic plants for livestock in the western and eastern Serido, state of Rio Grande do Norte, in the Brazilian semiarid. *Pesq. Vet. Bras*, 26 (4) : 223-236.
- **Servili M., Selvaggini R., Espoeto S., Taticchi A., Mantodoro G.F. et Morrozi 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*. 154, P: 113-127.
- **Servili M., Espostol S., Fabiani R., Urbanil S., Taticchil A., Mariuccil F., Selvagginil R. et Montedorol G.F. 2009.** Phenolic compounds in olive oil: antioxydand, health and organolepticactivitiesaccording to theirchemical structure. *Inflammopharmacology*, 17: 1-9.
- **Sies H. 1993.** Strategies of antoxydant defense. *Eurrope. Journal. Biochemmistre*, 215: 213-219.
- **Singleton V. L., Orthofer R. et Lamuela-Raventos R M. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. *Methods in Enzymology*, Vol. 299: 152-178.
- **Stiti N., MsallemM., Triki S. et Cherif A. 2002.** Etude de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive de différentes variétés tunisienne. *La rivistaitaliana dell sostanze grasse*, 79 (10) :357-363.

T

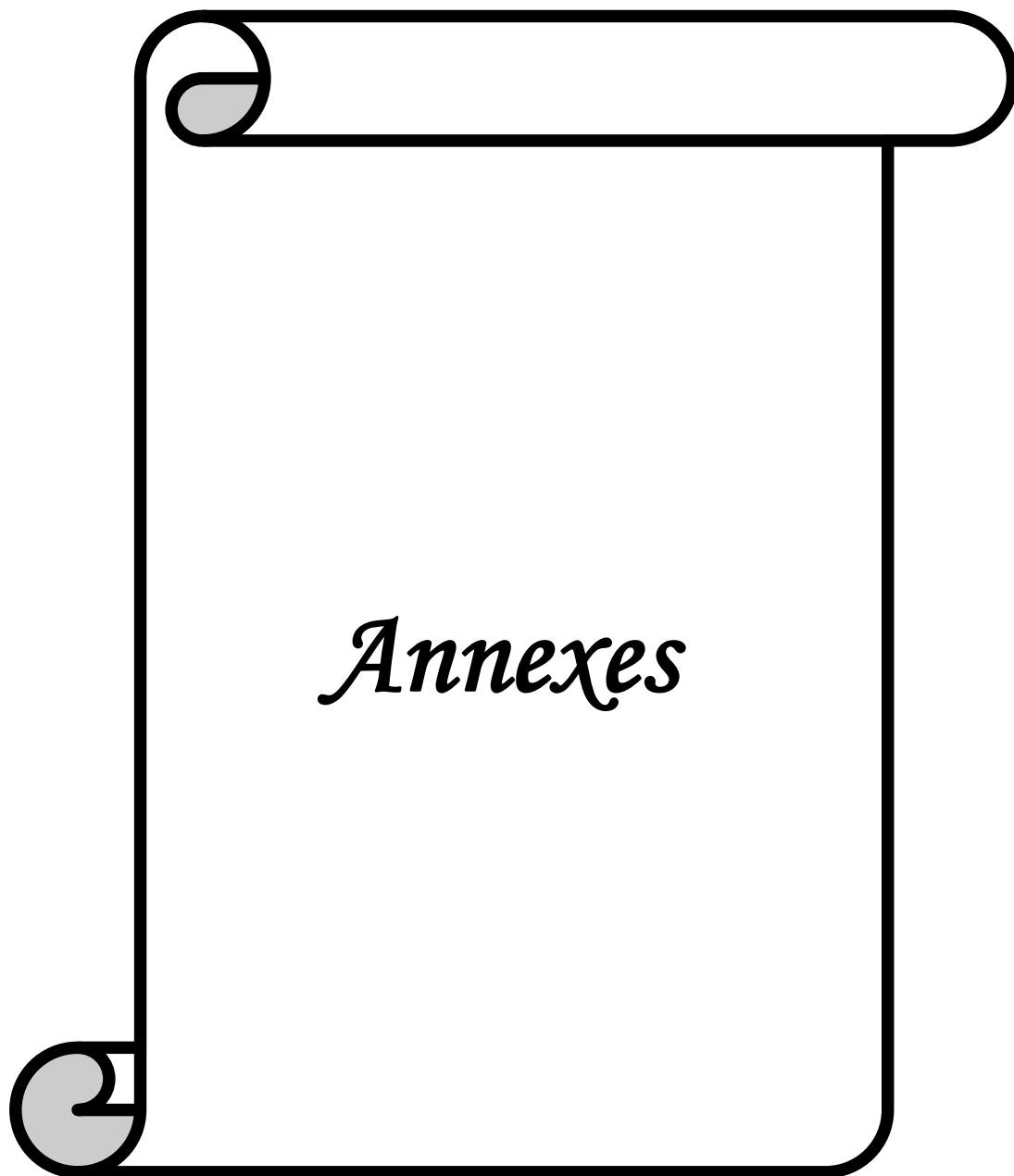
- **Takeuchi H., Luz G. et Fuzita T. 2004.** Bioscience, biotechnology and biochemistry, 6 (5): 1113-11134.
- **Tamendjari A., Bellal M.M. Laribi R. et Angerosa F. 2004.** Impact de l'attaque de *Bactrocea oleae* et du stockage des olives de la variété Chemlal sur la qualité de l'huile. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, 81 : 23-27.

V

- **Velasco J. Ans Dobarganes C. 2002.** Oxydative stability of Virgin olive oil. European, journal of lipides ans science technology, 104: 661-676.
- **Villano D., Fernandez-Pachon M S., Moya M L., Troncoso A M. et Garcia-Parrilla M.C. 2007.** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71: 230-235.

Z

- **Zanoni B., Bertuccioli M., Rovellini P. et Marotta F. 2005.** A preliminary topredictive modelling of extra virging olive oil stbility. Journal of the Science of food and Agriculture, 85: 1492-1498.



*Annexes*

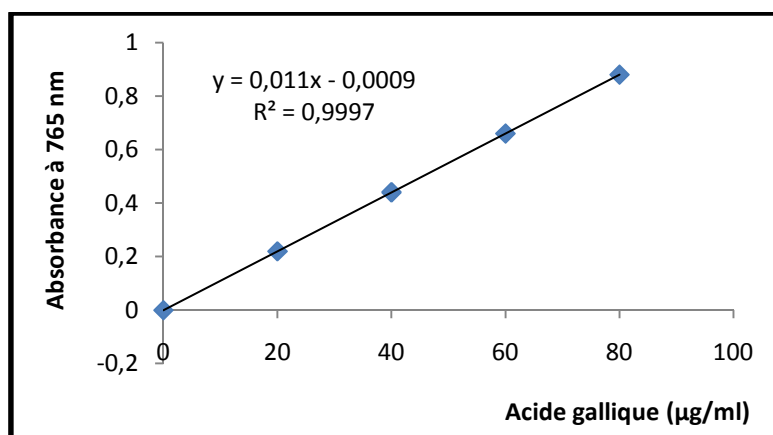


Figure 01 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux.

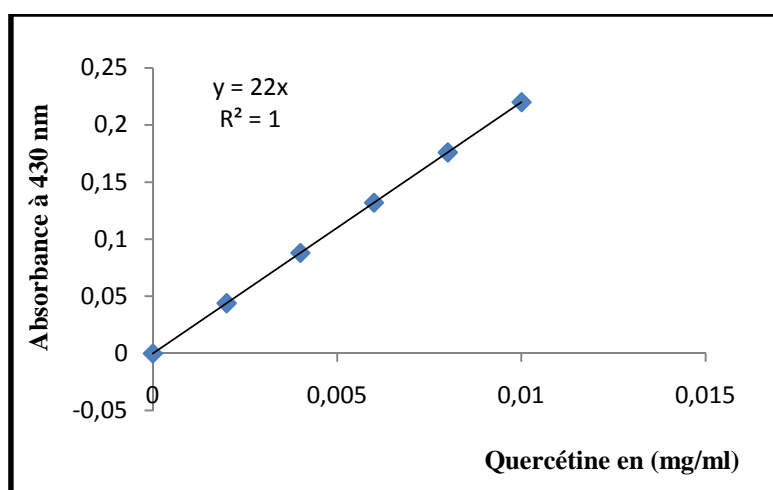


Figure 02 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

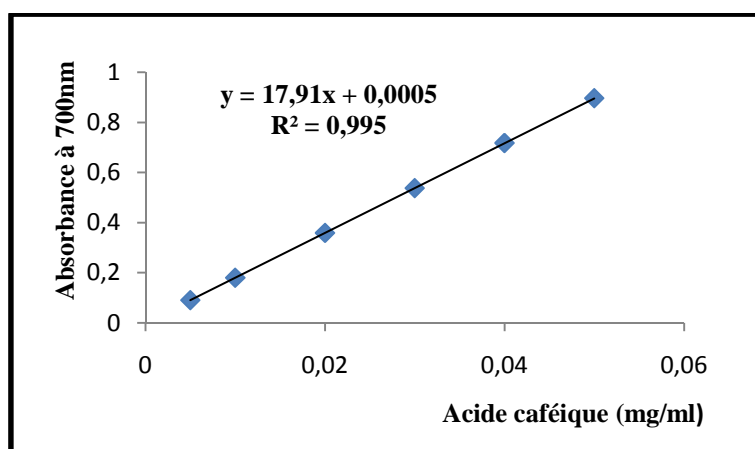


Figure 03 : Courbe d'étalonnage pour le pouvoir réducteur.

**Tableau I :** Tableau récapitulatif des résultats obtenus pour les analyses effectués.

Echantillon	Polyphénols totaux (mg E.A.G/Kg)	Flavonoïdes (mg E.A.Q/Kg)	Pouvoir réducteur (mg E.A.C/Kg)	DPPH d'Extrait (%)	DPPH de l'huile (%)
<b>HT0</b>	96,301 $\pm$ 4,450 (e)	15,515 $\pm$ 4,604 (b)	76,601 $\pm$ 4,973 (bc)	87,893 $\pm$ 0,862 (f)	32,728 $\pm$ 1,480 (a)
<b>HT5J/TAM</b>	46,715 $\pm$ 4,444 (b)	/	71,986 $\pm$ 4,940 (b)	76,782 $\pm$ 1,633 (cd)	48,859 $\pm$ 2,496 (bc)
<b>HAT5J/TAM</b>	35,321 $\pm$ 5,108 (a)	26,181 $\pm$ 2,181 (c)	74,665 $\pm$ 2,729 (bc)	72,913 $\pm$ 1,340 (ab)	47,569 $\pm$ 2,663 (b)
<b>HT5J/30°C</b>	62,230 $\pm$ 2,753 (cd)	44,364 $\pm$ 0,364 (e)	83,300 $\pm$ 3,893 (d)	78,607 $\pm$ 0,598 (d)	48,115 $\pm$ 1,794 (bc)
<b>HAT5J/30°C</b>	31,200 $\pm$ 2,622 (a)	7,636 $\pm$ 1,090 (a)	76,665 $\pm$ 5,549 (bc)	70,868 $\pm$ 0,253 (a)	59,077 $\pm$ 1,968 (d)
<b>HT10J/TAM</b>	55,442 $\pm$ 7,357 (c)	42,363 $\pm$ 0,420 (e)	71,836 $\pm$ 4,920 (b)	72,390 $\pm$ 2,117 (ab)	49,950 $\pm$ 3,381 (bc)
<b>HAT10J/TAM</b>	57,624 $\pm$ 4,950 (c)	5,939 $\pm$ 2,002 (a)	51,797 $\pm$ 2,652 (a)	78,552 $\pm$ 1,390 (d)	60,268 $\pm$ 2,755 (d)
<b>HT10J/30°C</b>	36,533 $\pm$ 1,830 (a)	/	79,578 $\pm$ 4,150 (cd)	78,220 $\pm$ 1,204 (d)	51,686 $\pm$ 0,455 (c)
<b>HAT10J/30°C</b>	69,018 $\pm$ 5,680 (d)	31,879 $\pm$ 1,866 (d)	53,673 $\pm$ 1,436 (a)	74,129 $\pm$ 2,891 (bc)	79,712 $\pm$ 2,424 (f)
<b>HT20J/TAM</b>	103,200 $\pm$ 2,181 (e)	35,030 $\pm$ 2,000 (d)	116,353 $\pm$ 5,151 (f)	82,366 $\pm$ 2,359 (e)	59,812 $\pm$ 1,804 (d)
<b>HAT20J/TAM</b>	100,533 $\pm$ 7,844 (e)	6,667 $\pm$ 1,277 (a)	50,695 $\pm$ 2,487 (a)	85,240 $\pm$ 0,877 (f)	66,121 $\pm$ 3,783 (e)
<b>HT20J/30°C</b>	120,169 $\pm$ 1,110 (f)	36,242 $\pm$ 0,555 (d)	129,753 $\pm$ 2,680 (g)	72,195 $\pm$ 1,576 (ab)	56,944 $\pm$ 0,819 (d)
<b>HAT20J/30°C</b>	147,078 $\pm$ 1,830 (g)	74,303 $\pm$ 5,470 (f)	106,676 $\pm$ 1,805 (e)	87,728 $\pm$ 1,747 (f)	60,615 $\pm$ 0,374 (d)

\*Les valeurs portant les mêmes lettres dans une même colonne ne montrent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ).

## Résumé

Cette étude a été réalisée dans l'objectif d'évaluer l'activité antioxydante d'une huile d'olive vierge commerciale (Zzit IFRI) additionnée de plante aromatique « le thym ». Nous avons procédé à un stockage d'échantillons à différentes températures (température ambiante, 30°C) et périodes de stockage (5, 10 et 20 jours).

Au cours de cette étude, nous avons déterminé les teneurs en polyphénols totaux et les flavonoïdes des différents échantillons d'huiles témoins et aromatisées, ainsi que l'évaluation de leur activité antioxydante, déterminée par le pouvoir réducteur et l'activité scavenger de l'huile et des extraits méthanoliques sur le radical DPPH.

Après l'addition du thym et après 20 jours de stockage, les résultats obtenus relèvent que l'aromatization de l'huile d'olive engendre une augmentation importante de la teneur en polyphénols totaux. Et une amélioration de l'activité antioxydante.

Au terme de cette étude, nous constatons que le temps et la température sont des facteurs qui influent significativement sur la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante.

**Mots clés :** Huile d'olive, Thym, Antioxydants, Activité antioxydante.

## Abstract

The study was carried out in the objective to evaluate the antioxidant activity of a commercial virgin olive oil (Zzit IFRI) added with aromatic plant «the thyme». We carried out a storage of samples at various temperatures (room temperature, 30°C) and periods of storage (5, 10 and 20 days).

During this study, we determined the contents total polyphenols and the flavonoids of the various pilot and aromatized oil samples, as well as the evaluation of their antioxidant activity, determined by the reduction and scavenger the methanolic activity of oil and the extracts on radical DPPH.

After the addition of thyme, and 20 days of storage, the results obtained raise that the aromatization of the olive oil generates a big raise of the content total polyphenols and the flavonoids, and an improvement of antioxidant activity.

At the end of this study, we note that time and the temperature are factors influence significantly the content polyphenols and the antioxidant activity.

**Key words:** Olive oil, Thyme, antioxidant, antioxidant Activity.