جامعة بجاية
Tasdawit n'Bgayet
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

En Vue de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en

Contrôle de Qualité et Analyse

Thème

Optimisation de l'enrichissement de l'huile d'olive par les principes actifs du grignon d'olive

Présenté par:

M. ABID Massinissa

Membres de jury:

Promotrice: Melle ACHAT. S

Président: M. MADANI. K

Examinatrice: Mme SAMAIL. L

Examinateur: M. KATI. D.E

Promotion 2012/2013

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier Dieu le tout puissant qui m'a accordé santé, volonté et aide jusqu'à l'achèvement de mon travail.

Je remercie vivement ma promotrice, Melle ACHAT, pour sa patience, son encouragement, ses conseils et sa disponibilité tout au long de mon travail.

Je remercie également M. MADANI. K d'avoir accepté de réaliser ce travail au sein de son laboratoire et l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury ;

Mes remerciements vont aussi à Mme SMAIL. L et M. KATI. D.E pour l'honneur qu'ils m'ont fait de bien vouloir examiner ce travail.

Je remercie également tout le personnel du Laboratoire BBBS, notamment les ingénieurs Mme YALAOUI. D et M. DERAHI. Y ainsi que toute l'équipe de recherche.

Mes sincères reconnaissances vont aussi à l'encontre de tous les enseignants qui m'ont formé.

Dans le souci de n'oublier personne, je remercie vivement tous ceux qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de mes études. Qu'ils puissent trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents en témoignage de ma reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études, que Dieu leur donne longue vie et leur prête santé.

Mes frères et sœurs ainsi que toute ma famille.

Tous mes amis et tous ceux qui me sont très chers.

MASSINISSA

Liste des abréviations

BHA : Butylhydroxyanisol (Hydroxyanisol Butylé)

BHT : Butylhydroxytoluène (Hydroxyanisol Toluene)

BBBS : Biochimie, Biophysique, Biomathématique et Scientometrie

COI : Conseil Oléicole International

MS : Matière Sèche

PAL : L-Phénylalanine Amonia Lyase

E : Extrait

O : Oleuropéine

PT : Polyphénols Totaux

CAE : Cafeique Acid Equivalent **(**Equivalent d'Acide Caféique)

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

ϕ : Diamètre

FC : Folin-Ciocalteu

RMS : Response Method Surface **(**Méthode de Surface de Réponse)

CCD : Centered Composite Design **(**Composite Centré Réduite)

ANOVA : Analyse of Variance (Analyse de la Variance)

DPPH$^{\cdot}$: 1,1 Diphényl-2-Picryl Hydrazyl

H : Heure

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Différents procédés d'extraction de l'huile d'olive	5
02	Structure chimique des acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique	9
03	Structure chimique des différents acides phénoliques du grignon d'olive	9
04	Structure de base d'un flavonoïde	10
05	Structure des différents flavonoïdes du grignon d'olive	10
06	Structure chimique du tyrosol et de l'hydroxytyrosol	11
07	Exemple d'un tanin condensé et d'un tanin hydrolysable	11
08	Structure chimique du pinosol et de l'acétoxypinosol	12
09	Structure de base d'un acide élénolique	12
10	Schéma général représentatif du plan de travail	19
11	Etuve de séchage	20
12	Protocole d'extraction des polyphénols à partir de l'huile d'olive	21
13	Schéma représentatif du protocole de dosage	22
14	Schéma récapitulatif de l'étude préliminaire	23
15	Représentation du plan d'expériences sous forme d'un cube virtuel	26
16	Etapes du test de DPPH°	27
17	Effet du ratio sur le taux de PT	31
18	Effet du temps d'agitation sur le taux PT	32
19	Effet du diamètre de la poudre sur le taux de PT	32
20	Diagramme de Pareto pour la concentration en polyphénols totaux	35
21	Interprétation graphique des résultats par Statgraphics : Effet général des facteurs	36
22	Surface de réponse de l'effet des différents facteurs	36
23	Pouvoir anti-radicalaire des extraits des huiles	38
24	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH°	38
25	Evolution du DPPH° en fonction de la concentration en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des huiles	39

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Production/consommation de l'huile d'olive de quelques pays du monde (compagne 2011/2012)	**3**
II	Composition chimique indicative des différents types de grignons	**8**
III	Quelques travaux d'enrichissement de l'huile d'olive	**15**
IV	Tableau récapitulatif des expériences et les résultats du plan d'expériences	**33**
V	Analyse de la variance pour les polyphénols totaux	**34**
VI	Présentation des paramètres optimisés	**37**
VII	Résultats de l'analyse sensorielle	**40**

SOMMAIRE

Sommaire

Introduction…… 1

Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités

I.1. L'olivier et le secteur oléicole……..…… 3
I.1.1. L'olivier et le verger oléicole……..…… 3
I.1.2. Production oléicole……..…… 3

I.2. Huile d'olive……..……... 5
I.2.1. Définition……..…… 5
I.2.2. Types d'huiles d'olive……..…… 5
I.2.3. Technologie d'extraction……..…… 5
I.2.4. Composition chimique…… 7
I.2.4.1. Fraction saponifiable…….. 7
I.2.4.2. Fraction insaponifiable……... 7

Chapitre II : Grignons d'olive

II.1. Définition……...…… 8
II.2. Composition chimiques…… 8
II.3. Composition phénolique…… 9
II.3.1. Définition…… 9
II.3.2. Classification……..…… 9
II.3.2.1. Acides phénoliques……..…… 10
II.3.2.2. Flavonoïdes……..…… 11
II.3.2.3. Alcools phénoliques……..…… 12
II.3.2.4. Tanins…… 12
II.3.2.5. Lignanes……..…… 13
II.3.2.6. Sécoïridoïdes……..…… 13
II.3.3. Pouvoir antioxydant……..…… 14
II.4. Place industrielle et valorisation des grignons d'olive……..…… 15

Chapitre III : Enrichissement de l'huile d'olive

III.1. Introduction……..…..… 15
III.2. Extraction solide-liquide…….....… 16
III.3. Extraction liquide-liquide…….…… 16
III.4. Combinaison des deux méthodes…… 16

Etude expérimentale

Matériel et méthodes

1. Présentation du sujet……...…… 19
2. Matériel végétal……...…… 21
a- Huile d'olive…….…… 21
b- Grignons d'olive……...…… 21
2.1. Prétraitement……...…… 21
2.1.1. Séchage…… 21
3.1.2. Broyage et tamisage……..…… 22
3. Extraction des composés phénoliques des huiles…….…… 22
4. Dosage des composés phénoliques……..…… 23
5. Etude préliminaire……...…… 24
6. Plan d'expériences : théorie et application…….....… 25
6.1. Définition…… 25
6.2. Terminologie…….…… 25
6.3. Plans de Surface de Réponse…….……...……... 26
6.4. Plan d'expériences composite centré…….…… 26
6.5. Démarche…….…… 27
7. Mesure du pouvoir antioxydant……...…… 28
8. Evaluation sensorielle……..…… 29

Résultats et discussion

1. Echantillons biologiques……..…… 30
2. Humidité…….…….…….. 30
3. Extraction……..…… 30
4. Dosage…… 31
5. Etude préliminaire…….…..…… 31
5.1. Température…….… 31
5.2. Ratio……..…… 32
5.3. Temps d'agitation…….….…. 32
5.4. Diamètre de la poudre…….….... 33
6. Conditions optimales……. 34
7. Traitement des données par Statgraphics…….. 35
7.1. Analyse de la variance……..…. 35
7.2. Analyse de surface…….…… 36
8. Mesure du pouvoir antioxydant……...…… 38
9. Effet de la concentration……..…… 40
10. Evaluation sensorielle…….…… 41

Conclusion…….……...… 43

Références bibliographiques

Annexes

INTRODUCTION

Introduction

L'olivier est un arbre d'exception qui opère une véritable fascination. Symbole de paix et de pérennité grâce à une longévité hors du commun, il fait partie de la vie des civilisations méditerranéennes depuis très longtemps. Il a toujours répondu à de nombreux besoins essentiels du quotidien avec notamment l'huile produite à partir de son fruit qui est l'une des huiles les plus prisées en raison de son image et ses qualités nutritives.

Si l'huile d'olive est un produit intéressant d'un point de vue nutritionnel, c'est tout d'abord pour sa composition en acides gras. En effet, elle est largement insaturée et contient aussi une partie d'acides gras essentiels **[1]**. Mais elle est contrebalancée par le phénomène d'oxydation, qui altère souvent sa qualité, aussi bien lors de la conservation que lors de sa transformation **[2].** Outre cette composition particulière en acides gras, l'huile d'olive est surtout intéressante pour ses composés minoritaires, notamment les composés phénoliques ou polyphénols. L'intérêt nutritionnel de ces principes actifs, réside dans leur forte capacité antioxydante qui permet à la fois de surmonter les problèmes d'oxydation de l'huile, augmentant ainsi sa durée de vie **[3]**, mais surtout prévenir ou ralentir l'apparition de certaines maladies dégénératives tels que les cancers, ainsi que les maladies cardiovasculaires **[4, 5, 6]**.

En revanche, la quasi-totalité (98%) de ces composés est perdue lors du procédé d'extraction des huiles **[7]**, et l'usage des antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT) présente une sérieuse menace pour la santé (cancérigènes) **[8, 9]**, c'est pourquoi, une solution de rechange naturelle loin du synthétique exige le meilleur et reste une question d'actualité de la vie courante.

Nous proposons ici un travail d'enrichissement Green «vert», en utilisant l'huile d'olive comme un bio-solvant, enrichissement direct par macération, avec emploi de la technique des plans d'expériences pour une meilleure optimisation des conditions expérimentales.

C'est une étude réalisée à l'Université A/MIRA de Bejaia au laboratoire BBBS. Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit ce modeste travail, une revue de littérature est présentée sur le secteur oléicole, le grignon d'olive et les différentes supplémentations réalisées pour l'huile d'olive.

Le deuxième volet est voué à l'application des plans d'expériences pour l'enrichissement de l'huile d'olive vierge par son sous-produit, grignon, qui permet d'une part, une mise en œuvre facile à l'échelle industrielle et d'autre part une éventuelle utilisation du produit obtenu en tant que «*novel food*», riche en antioxydants naturels. En vue de cerner cet objectif, deux tests ont été réalisés : l'activité antiradicalaire (test de DPPH°) et une évaluation sensorielle des huiles étudiées (brute et enrichie).

A la lumière des résultats obtenus, proposer différentes investigations et perspectives de recherche

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

GENERALITES

I. Généralités

I.1. L'olivier et le secteur oléicole

L'olivier du latin «*Olea* » fait partie de la famille des oléacées **[10]**. C'est un arbre qui possède une réelle valeur ornementale et qui fournit un bois très dur et stable. Son fruit, l'olive, donne une huile recherchée **[11].** Depuis quelques années, après la découverte des bienfaits nutritionnels de son huile, régime méditerranéen et crétois, il est même revenu en force au point de devenir un arbre indispensable dans nos jardins et sur nos ronds-points.

I.1.1. L'olivier et le verger oléicole

Il y a aujourd'hui près d'un milliard d'oliviers (*Olea europaea L.*) cultivés à travers le monde et cela sur presque tous les continents. Plus de 90% des oliviers sont cultivés dans le bassin méditerranéen, notamment en Espagne, en Italie, en Tunisie et en Algérie. Il existe plus de cent variétés d'oliviers, cultivées en fonction de leur objectif final. Les olives peuvent avoir deux grandes utilisations : la première est l'utilisation en tant que fruit entier (olives de table), la seconde est pour la production de l'huile d'olive. La production mondiale d'olives de table est d'environ un million de tonnes soit 10 % de la récolte totale d'olives. La grande majorité de ce fruit est donc utilisée pour la production de l'huile d'olive **[12]**.

En Algérie, la place de l'olivier revêt une importance non négligeable dans l'économie agricole en général et dans la spéculation arboriculture en particulier. La superficie oléicole nationale est estimée entre 300000 et 350000 ha, répartie comme suit :

- **Région du centre :** Occupe approximativement environ 55% de la superficie oléicole nationale. Plus de 95% du verger oléicole régional est concentré dans les wilayas de Bejaia, Tizi-Ouzou, Bouira et Boumerdes ;
- **Région de l'est :** Représente 28% de la superficie oléicole nationale, dont 68% du verger se trouve à Guelma et Skikda ;
- **Région de l'ouest :** Elle représente 16% de la superficie nationale, dont 71% du verger se concentre à Mascara, Relizane, Tlemcen, Saida et Sidi-Bel-Abbès ;
- **Région du sud :** C'est une région nouvelle, apparue ces dernières années. Elle occupe une superficie de l'ordre de 950 ha environ **[11]**.

Bejaia détient le premier rang national en matière d'oléiculture. En effet, les superficies réservées à cette culture représentent 23,41% de la surface oléicole nationale et le nombre d'oliviers complantés, représente 18% du parc oléicole national **[11]**.

I.1.2. Production oléicole

La production de l'huile d'olive a toujours été concentrée dans les pays du pourtour méditerranéen, avec un taux de plus de 90% de la production mondiale **[13]**. Cette dernière est grandement influencée par celles de l'Espagne et de l'Italie qui représentent à eux seuls près des 2/3 de la production mondiale **(Tableau I)**. En effet, les estimations du Conseil Oléicole International (COI) pour la campagne 2011-2012 indiquent une production mondiale autour de 3,1 millions de tonnes avec 2,18 millions de tonnes proviennent de l'UE dont 1,35 millions de tonnes appartiennent à l'Espagne, soit un taux de 62% de la production européenne **[14]**.

Tableau I : Production/consommation de l'huile d'olive de quelques pays du monde (compagne 2011/2012) **[14]**.

Pays	Production		Consommation	
	Moyenne (10^3 T)	Pourcentage (%)	Moyenne (10^3 T)	Pourcentage (%)
Algérie	54,50	1,76 %	57,00	1,85 %
Maroc	120,00	3,87 %	85,00	2,76 %
Tunisie	180,00	5,81 %	40,00	1,30 %
UE	2180,5	70,38 %	1889,50	61,38 %
USA	-	-	277,00	9,00 %

L'union européenne et les Etats-Unis sont les zones de consommation les plus importantes avec respectivement 61% et 9% de la production totale.

Actuellement, en Algérie, cette filière se concentre dans plusieurs wilayas comme Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira, qui ont produit à elles seules en 2008, 179180 hectolitres sur une superficie de 102893 ha, soit 51% de la production nationale **[12]**. Durant la compagne 2011/2012, la production oléicole algérienne était de 54500 tonnes d'huile, soit 1,76% de la production mondiale **(Tableau I) [14]**.

I.2. Huile d'olive

I.2.1. Définition

L'huile d'olive est une composante unique du régime méditerranéen **[15]**. Elle 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. Elle est commercialisée selon plusieurs noms, constituée pour l'essentiel de triglycérides (99%) et d'un grand nombre d'autres composants, présents en faible quantité (1%) **[16].**

I.2.2. Types d'huiles d'olive

L'huile d'olive est un corps gras parfaitement réglementé, en outre, le Conseil International d'Huile d'Olive définit trois grands types d'huile d'olive, huiles d'olive vierges, huiles d'olive raffinées et l'huile d'olive. Une autre huile peut être mise en évidence, il s'agit de l'huile de grignons d'olive **[16].** Les différentes dénominations et définitions des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive sont représentées en **Annexe 1**.

I.2.3. Technologie d'extraction

Le traitement des olives en vue de l'extraction de l'huile, se fait par des moyens purement mécaniques (par pression ou centrifugation). Il existe en général trois systèmes d'extraction de l'huile d'olive **(Fig. 01)** :

a- Système discontinu d'extraction par presse : C'est un système tout simple, qui utilise des presses hydrauliques ou tout simplement métalliques à vis pour l'extraction de l'huile. Il permet d'obtenir une huile non piquante et riche en métabolites secondaires, notamment les polyphénols. Cependant, les opérations de broyage et de pressage effectuées en plein air, peuvent être à l'origine de l'oxydation de l'huile, et donc un éventuel rancissement de celle-ci **[17].**

b- Système continu avec centrifugation à deux phases : comme son nom l'indique, la séparation de l'huile implique une centrifugation, mais elle ne nécessite pas l'ajout d'eau pour la séparation des phases huileuse et solide contenant les grignons et les margines (un seul déchet généré). Le rendement en huile généré par ce système est légèrement plus élevé que les

autres, procédé écologique, car il ne procède pas à l'augmentation du volume d'effluent liquide (margines) **[17].**

c- Système continu avec centrifugation à trois phases : Ce qui le caractérise du deuxième, c'est qu'il génère deux sortes de déchets, liquides (margines) et solides (grignons), et utilise de l'eau pour la séparation de l'huile. Ce système a permis de réduire les couts de transformation et la durée de stockage des olives. Mais il génère une huile appauvrie en composés aromatiques et en polyphénols corrélé à l'apport élevé en eau chaude (40 à 60 % du poids de la pâte) **[17].**

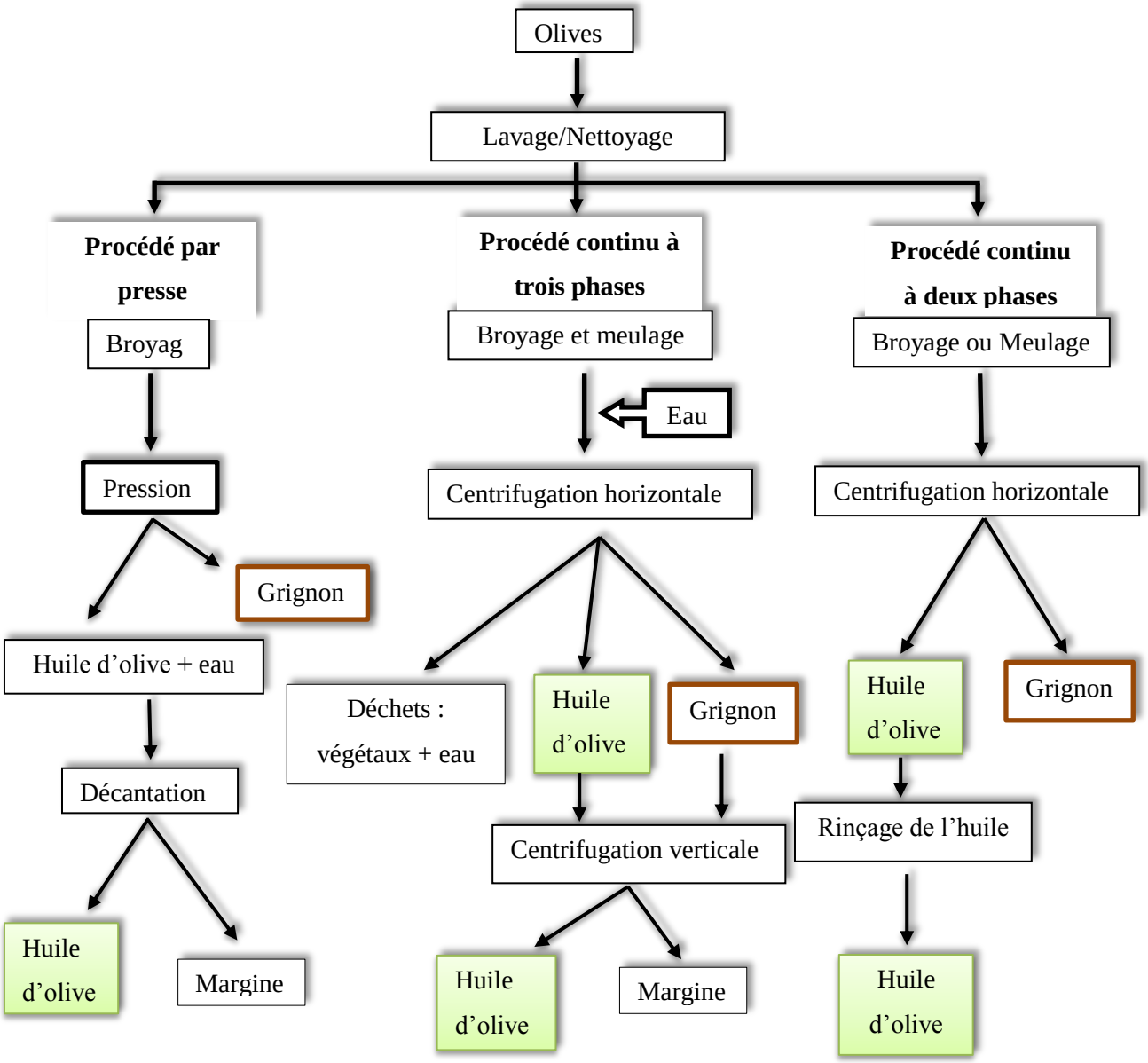


Figure 01 : Différents procédés d'extraction de l'huile d'olive

I.2.4. Composition chimique

Comme toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est constituée d'une fraction saponifiable, et d'une fraction insaponifiable (composants mineurs), différant d'un type d'huile à un autre **[16]**.

I.2.4.1. Fraction saponifiable

Elle représente la plus grande partie (99%) de la composition générale de l'huile d'olive. Elle est formée essentiellement de triglycérides et d'acides gras. Ces derniers sont responsables du gout aigre et l'odeur prononcée de l'huile, ils sont présents soit à l'état saturé (12,6 à 19,7%), ou monoinsaturé (64,4 à 81%) ou encore polyinsaturé (6-15,9%) **[18]**.

I.2.4.2. Fraction insaponifiable

Cette fraction est dénommée également composants mineurs (0.4 – 1%) **[16],** Ces composants en faible quantité sont majoritairement responsables de la qualité gustative de l'huile, notamment au niveau de l'amertume, de l'arrière-goût poivré et/ou pimenté, et de sa stabilité **[10]**, on distingue :

a- Tocophérols : Avec une teneur allant de 84 à 463 mg/kg d'huile, selon les variétés et les conditions climatiques **[19]**.

b- Stérols : Présents à raison de 1039 à 1567 mg/kg dans l'huile d'olive extra vierge **[20].**

c- Pigments : Les principaux pigments rencontrés dans l'huile d'olive sont : la chlorophylle (0.15 à 61.96 mg/kg) et les caroténoïdes (0.53 à 31.51 mg/kg) **[21]**.

c- Hydrocarbures : Le principal hydrocarbure de l'huile d'olive est le squalène, contenu dans l'huile d'olive extra vierge à raison d'environ 400-450mg/100g, tandis que l'huile d'olive raffinée, en contient 25% de moins **[22].**

d- Composés phénoliques : On trouve les phénols simples, présents à la concentration de 4,2mg/100g dans l'huile d'olive vierge extra et de 0,47mg/100g dans l'huile raffinée et des phénols complexes **[22].**

CHAPITRE II

GRIGNONS D'OLIVE

II. Grignons d'olive

II.1. Définition

Le grignon d'olive est un sous-produit du processus d'extraction de l'huile d'olive. C'est un résidu solide composé des peaux, des résidus de la pulpe et des fragments des noyaux **[12]**. Il existe trois types de grignons d'olive, grignon brut, épuisé et partiellement dénoyauté.

a- Grignon brut : C'est le résidu de la première extraction de l'huile par pression de l'olive entière, Il renferme la coque du noyau, réduite en morceaux, la peau et la pulpe broyée de l'olive. Ses teneurs relativement élevées en eau (24%) et en huile (9%) favorisent son altération rapide lorsqu'il est laissé à l'air libre **[24]**.

b- Grignon épuisé : C'est le résidu obtenu après déshuilage du grignon brut par un solvant, généralement l'hexane. Il est caractérisé essentiellement par une plus faible teneur en huile et une teneur en eau réduite du fait qu'ils ont été déshydratés au cours du processus de l'extraction **[24]**.

c- Grignon partiellement dénoyauté : Il résulte de la séparation partielle du noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation, il est dit "gras" si son huile n'est pas extraite par solvant et "dégraissé ou épuisé" si son huile est extraite par solvant. Il est constitué essentiellement par la pulpe et contient encore une petite proportion de coques qui ont échappé à la séparation par les procédés de tamisage ou de ventilation utilisés **[24]**.

II.2. Composition chimiques

La composition chimique du grignon d'olive est en fonction de son type, du type de traitement qu'il a subit (épuisement, dénoyautage), de la variété **[25]** et le stade de maturité des olives triturées. Toutefois le procédé d'extraction de l'huile est aussi déterminant, en effet, la teneur en composés phénoliques par exemple est de 1,14% si le procédé d'extraction est par pressage, 0,326% pour le système discontinu à trois phases et 2,43% s'il est à deux phases **[26].** Ainsi les grignons bruts sont pauvres en matière azotée mais riches en cellulose brute, et relativement riches en matière grasse comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau II : Composition chimique indicative des différents types de grignons **[27]**

		% de la Matière Sèche			
Type de grignon	Matière Sèche	Matières minérales	Matières Azotées Totales	Cellulose brute	Matières Grasses
Grignon brut	75–80	3–5	5–10	35–50	8–15
Grignon gras partiellement dénoyauté	80–95	6–7	9–12	20–30	15–30
Grignon épuisé	85–90	7–10	8–10	35–40	4–6
Grignon épuisé partiellement dénoyauté	85–90	6–8	9–14	15–35	4–6
Pulpe grasse	35–40	5–8	9–13	16–25	26–33

II.3. Composition phénolique

Les substances appartenant au groupe des composés phénoliques, très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure, ont suscité ces dernières années plus de travaux de recherche, vu leur dynamique biochimique incontestable **[28],** faisant parler leurs intérêts sur la santé humaine, et dans les domaines : agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Les polyphénols occupent donc une place certaine dans toutes les disciplines scientifiques, c'est pourquoi ils ont pris de l'ampleur, et sont devenus plus courants dans les sujets de recherche.

II.3.1. Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui sont largement distribués dans le règne végétal. Ces métabolites à poids moléculaire élevé, sont caractérisés par une structure de base, ayant comme point commun la présence d'au moins un cycle aromatique porteur d'une ou de plusieurs fonctions hydroxyles **[29, 30, 24]**.

II.3.2. Classification

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances chimiques, plus de 10000 sont actuellement connus **[12].** Ils peuvent aller de molécules simples, le cas des acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Daltons, comme les tanins. La grande diversité de ces substances actives rend donc leur classification

très compliquée. Cependant, Les polyphénols sont communément subdivisés en : Acides phénoliques, flavonoïdes, alcools phénoliques, lignanes et les tanins **[31].**

II.3.2.1. Acides phénoliques

Cette classe implique tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique **[32]**. On en trouve deux grands groupes : les acides hydroxybenzoiques et les acides hydroxycinnamiques qui se distinguent à travers leur formule chimique de base, C_6C_1 et C_6C_3 respectivement **(Fig. 02).**

(a) **(b)**

Figure 02 : Structure chimique des acides hydroxybenzoïque **(a)** et hydroxycinnamique **(b)**

- Les principaux acides phénoliques des grignons d'olive sont : l'acide vanillique (0,67mg/g d'extrait (E)), l'acide caféique (0,03mg/g d'E) et l'acide rosmarinique (0,73mg/g d'E) **[33] :**

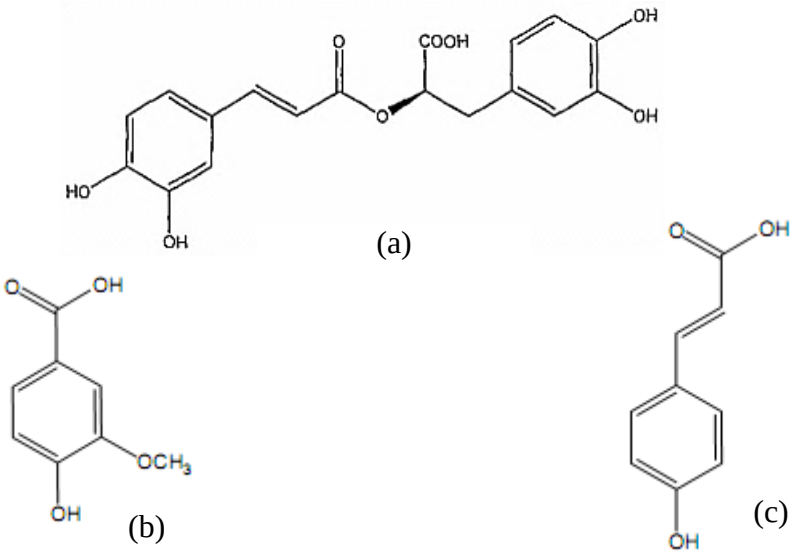


Figure 03 : Structures de différents acides phénoliques des grignons d'olive : Acide rosmarinique (a), Acide vanillique (b) et Acide caféique (c) **[34]**

II.3.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, du latin «*flavus*» (jaune), constituent une classe très importante de la famille des polyphénols et sont des molécules très répandues dans le règne végétal **[35]**, rencontrés dans les feuilles, le pollen et les fruits. Ils se répartissent en plusieurs catégories, dont les plus importantes sont les flavanols, les flavonols, les flavones, les flavanones, et les anthocyanidines **[36]**. Cependant, Ils possèdent tous un même squelette de base, à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C_6 (A et B), reliés par une chaîne en C_3 **(Fig. 04)**.

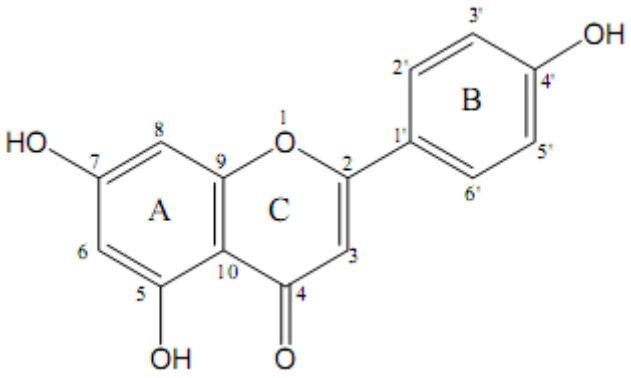


Figure 04 : Structure de base d'un flavonoïde **[34]**

- Les différents flavonoïdes des grignons d'olive sont : l'apigénine (0,04mg/g d'Extrait (E)), la lutéoline (0,49mg/g d'E), le naringénine (0,02mg/g d'E) et le taxifoline (0,02mg/g) **[33]** :

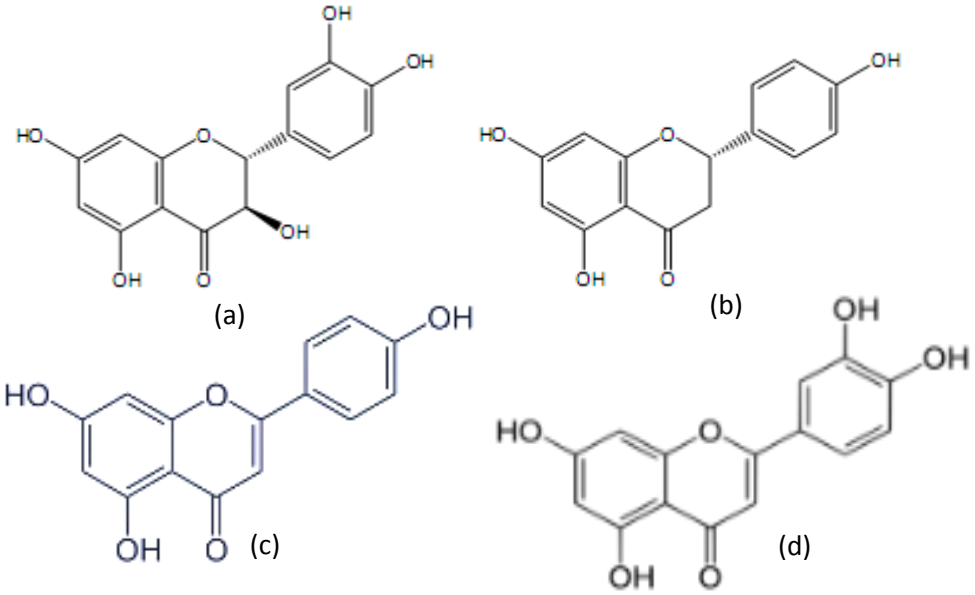


Figure 05 : Structure de différents flavonoïdes des grignons d'olive : Taxifoline (a), Naringénine (b), Apéginine (c) et Lutéoline (d) **[34]**

II.3.2.3. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et l'hydroxytyrosol (3,4- dihydroxyphenylethanol) **(Fig. 06),** sont les principaux alcools phénoliques des grignons d'olive, contenus à raison de 0,27 et 2,77 mg/g d'E respectivement **[33].**

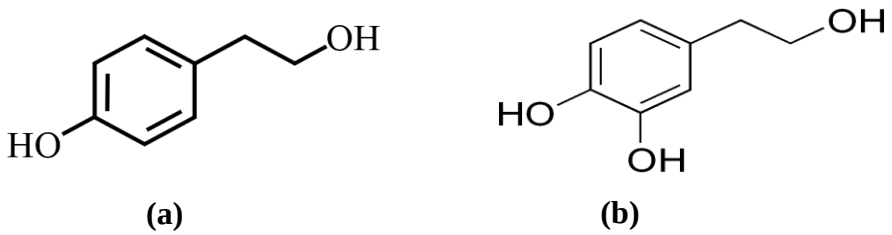


Figure 06: Structures chimiques du tyrosol (a) et de l'hydroxytyrosol (b)

II.3.2.4. Tanins

Les tanins, utilisés depuis l'antiquité par l'Homme pour le traitement des peaux d'animaux, sont des formes phénoliques condensés, de structures variée, qui sont capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter **[37]** d'où leur aspect astringent **[38].**

Les tanins sont classés en deux groupes, différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition, en tanins hydrolysables et en tannins condensés **(Fig.07)**.

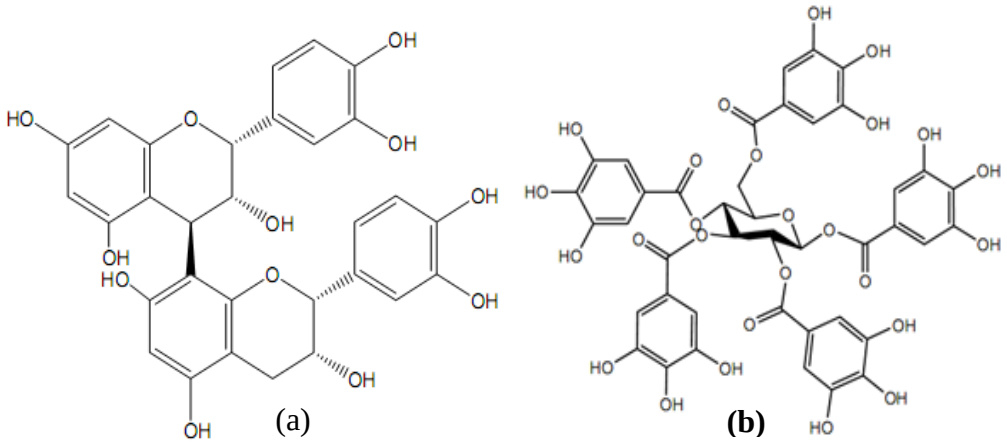


Figure 07 : Exemple de structure d'un tanin condensé **(a)** et d'un tanin hydrolysable **(b) [34]**

II.3.2.5. Lignanes

Les lignanes sont produits par la dimérisation oxydante de deux unités de phenylpropane, elles sont la plupart du temps présentes dans la nature sous la forme libre, alors que leurs dérivés de glycoside sont seulement une forme mineure **[31]**.

Il a été montré que le grignon d'olive contient le pinosol à raison 0,09mg/g d'E et l'acetoxypinorésinol à raison de 1,17mg/g d'E **[33].**

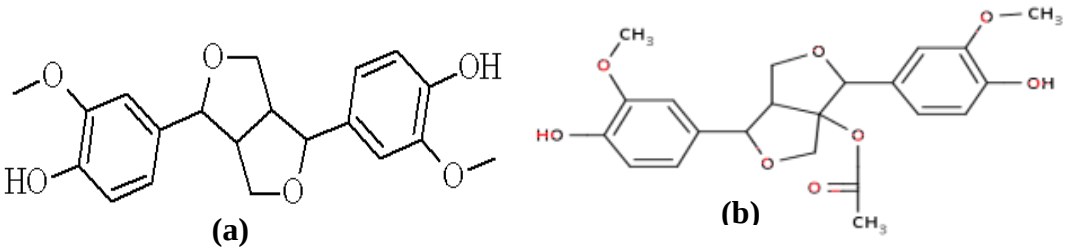


Figure 08 : Structure chimique du Pinosol (a) et de l'acetoxypinorésinol (b)

II.3.2.6. Sécoïridoïdes

Les membres de la famille des Oléacées sont caractérisés par la présence de secoiridoides. Ces composés possèdent dans leurs structures de l'acide élénolique ou l'un de ses dérivés. Ces derniers comprennent des oléosidés, qui ne sont pas nécessairement des composés phénoliques, mais peuvent inclure une fraction phénolique à la suite d'estérification **[39]**. Le grignon d'olive contient plusieurs dérivés de sécoïridoïdes qui sont : Acide Elénolique : 13,2 mg/g d'extrait, Acetate d' Ethyl 3,4 Dihydroxyphényl (0,64 mg/g d'E), Acetate d'Ethyl Dihydroxyphényl Elénolique Dialdehyde (47,4 mg/g d'E), Acetate d'Ethyl Hydroxyphényl Elénolique Dialdehyde (4,56mg/g d'E), Acetate d'Ethyl Hydroxyphényl Elénolique monoaldehyde (4,32mg/g d'E) et Acetate d'Ethyl 3,4 Dihydroxyphényl Elénolique monoaldehyde (5,36mg/g d'E) **[33].**

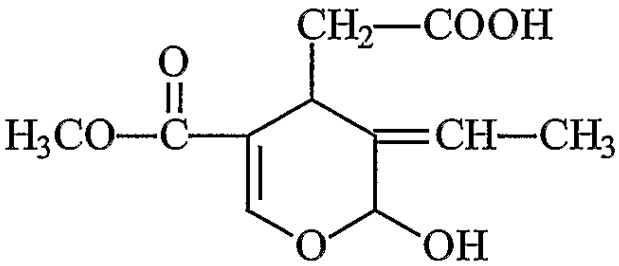


Figure 09 : Structure de base d'un acide élénolique

II.3.3. Pouvoir antioxydant

Afin de faire face à l'excès de radicaux libres qui produit le stress oxydatif, l'Homme a développé des mécanismes endogènes et exogènes afin de maintenir l'homéostasie redox. Parmi ceux-ci, les polyphénols ont été en grande partie étudiés pour leurs fortes capacités antioxydantes et autres propriétés par lesquelles les activités cellulaires sont réglées **[40].** En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres qui entrainent des réactions en chaine destructrices en se réduisant avec eux, annihilant ainsi leur action, d'où leur prévention contre les maladies dégénératives et cardiovasculaires **[6].**

II.4. Place industrielle et valorisation des grignons d'olive

L'huile d'olive est classée parmi les huiles végétales les plus résistantes à l'autoxydation. Cette stabilité oxydative est fortement liée à la teneur en composés phénoliques totaux. La résistance à l'oxydation des huiles vierges diminue assez rapidement quand les polyphénols sont éliminés **[41]**. Des chercheurs ont proposé d'extraire les composés phénoliques des déchets d'huileries d'olive pour les valoriser en tant qu'antioxydants naturels. Parmi les composés les plus utilisés on peut citer l'acide caféique, le tyrosol et l'acide hydroxybenzoïque. Ces derniers sont des précurseurs très utilisés dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique **[42].**

Autrefois, les grignons avaient un débouché important dans l'industrie agroalimentaire par l'extraction de l'huile résiduelle à l'aide de solvants. Celle-ci est notamment constituée de la fraction lipidique contenue dans les graines des olives, mais aussi des graisses finement émulsionnées ou liées par les énergies d'interface (tension superficielle), inaccessibles par la pression ou la centrifugation. Cependant, les coûts des transports, la production de grignons à haute teneur en eau issus de l'extraction par centrifugation, l'intérêt limité du marché pour l'huile de grignons, sont autant d'éléments qui ont réduit la rentabilité de ce sous-produit et conduit, dans de nombreuses huileries, à rechercher d'autres débouchés. De ce fait, et dans le but de surmonter les impacts environnementaux, d'autres utilisations (valorisations) sont envisagées, à savoir, un épandage comme amendement sur les terres agricoles (valorisation agricole) **[43, 44]**, emploi comme combustible pour le chauffage (valorisation énergétique) **[45, 46]** et enfin, emploi dans l'alimentation du bétail, en particulier les ovins **[29, 30]**. Les principales voies de valorisation des grignons sont résumées dans la figure en **Annexe 2.**

CHAPITRE III

ENRICHISSEMENT DE L'HUILE D'OLIVE

III. Enrichissement de l'huile d'olive

III.1. Introduction

Les composés phénoliques contenus dans les huiles d'olive ont un rôle prépondérant dans l'amélioration de la conservation de ces huiles, car ils limitent le développement de l'oxydation des lipides qu'elles contiennent, aussi bien lors de la conservation que lors d'un chauffage **[47]**, de plus, ces polyphénols ont une valeur nutritionnelle de pointe, faisant parler leurs effets bénéfiques pour la santé.

Cependant, la quasi-totalité (98%) de ces composés présents dans l'olive sont perdus lors du procédé d'extraction des huiles, et c'est ainsi que 45% de ces pertes restent liés dans les tourteaux et les 55% qui restent sont perdus en phase aqueuse du procédé d'extraction **[7].**

Les pertes en ces bio-phénols sont alors très importantes, et sont dues d'une part à leur faible affinité pour la fraction lipidique **[48]** et d'autre part au procédé de blanchiment appliqué aux olives avant le broyage et le pressurage. En outre, des enzymes endogènes, telle que la β-glucosidase, inactivées par le blanchiment, catalysent l'hydrolyse des composés phénoliques (oleuropéine) en leurs aglycones correspondants, moins solubles dans l'eau, durant la phase du broyage, et par conséquent, l'inactivation de ces enzymes fait augmenter la quantité des polyphénols glycosylés et estérifiés susceptibles d'être perdus dans les eaux ajoutées pendant le procédé d'extraction **[47].** Ainsi, la polyphénoloxydase est également susceptible d'oxyder les polyphénols en quinones, qui peuvent alors se lier de façon covalente aux parois cellulaires et rester dans les tourteaux d'extraction **[47].**

Dans l'optique de compenser ces pertes et dans la perspective d'améliorer la qualité de l'huile, un enrichissement de celle-ci s'avère donc une alternative très intéressante. De ce fait, de nombreuses études ont été réalisées sur l'enrichissement des huiles alimentaires à base de matrices végétales. En effet, les huiles : tournesol, olive, soja, palme, colza et arachide, ont été supplémentées par l'origan, la sauge, le romarin, épinards…etc **[49].**

Par ailleurs, il existe trois méthodes d'enrichissement par les substances actives de l'olivier **[40]**

- Extraction solide-liquide
- Extraction liquide-liquide
- Combinaison des deux types d'extraction

III.2. Extraction solide-liquide

Dans ce type d'enrichissement, une quantité de poudre de la matière végétale (solide), est partiellement dissoute dans l'huile. Le passage des principes actifs dans la phase huileuse est donc en fonction de la solubilité de chaque composé **[40].**

III.3. Extraction liquide-liquide

Elle consiste à la mise en contact d'une huile avec une solution alcoolique de phénols, c'est ainsi que ces molécules sont transférées à la phase huileuse en fonction de leur facteur de distribution et la phase alcoolique est éliminée par centrifugation **[40].**

III.4. Combinaison des deux méthodes

Dans cette méthode, ce n'est qu'après extraction des polyphénols à partir de la matrice qu'ils sont additionnés à l'huile et le tout est mélangé. La séparation des deux phases obtenues est réalisée sous vide par élimination d'alcool **[40].**

Cependant, de nouvelles méthodes ont été apparues, visant améliorer le rendement d'extraction ainsi que réduire le temps, on trouve : l'extraction assistée par ultrasons, qui est une technique pouvant offrir une productibilité élevée dans des périodes plus courtes, grâce aux ultrasons appliqués, qui accélèrent le processus d'extraction. Ainsi que l'extraction par microondes qui est basée sur la capacité d'une matrice à absorber l'énergie des microondes, ce qui incite le passage de l'analyte vers le milieu d'extraction **[50].**

L'ensemble des travaux d'enrichissement effectués pour l'huile d'olive sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau III : Différents types d'enrichissement de l'huile d'olive

Matrice	Analyte	Conditions d'enrichissement	Référence
Feuille d'olivier	Polyphénols totaux (Oleuropeine)	- Enrichissement direct par méthode conventionnelle => 342,5 ± 1,7mg d'oleuropéine/kg d'huile de polyphénols totaux (soit une augmentation de 60,5mg par rapport à l'huile témoin) et 50,7 ± 1,7mg d'O/kg d'huile d'oleuropéine. Avec un %DPPH de 65,0 ± 0,8%. - Enrichissement avec ultrasons (60w, 16°C, 45min) => 414,3 ± 3,2mg O/kg d'huile de PT (soit une augmentation de 132mg par rapport à l'huile témoin) et 111,0 ± 2,2mg O/kg d'huile d'oleuropéine. Avec un %DPPH de 86,2±0,2%.	**[50]**

Romarin, thym et origan	Antioxydants	- Enrichissement direct par contact à 5% avec suivi de la quantité transférée en fonction du temps à : 1) Température ambiante pendant 190 j => L'enrichissement n'a pas eu lieu 2) 25°C avec agitation à 400tr/min pendant 11jours => le meilleur résultat est obtenu après 51 h (5,30mg/L) pour l'origan, 274 h (0,53mg/L) pour le romarin et 274h (0,35mg/L) pour le thym. 3) 35-40°C avec agitation à 400tr/min pendant 11jours => le meilleur résultat est obtenu après 168 h (4,95mg/L) pour l'origan, 274 h (10,53mg/L) pour le romarin et 274h (0,86mg/L) pour le thym.	**[51]**
Feuille d'olivier	Polyphénols totaux	- Enrichissement après extraction par des extraits de 120mg de polyphénols totaux (PT)/kg d'huile et 240 mg de PT/kg d'huile => passage de 8,2mg Equivalent d'Acide Caféique (CAE)/100g d'huile à 14,7 ± 0,7mg CAE/100g d'huile et à 20,2 ± 0,9mg CAE/100g d'huile respectivement.	**[52]**
Feuille d'olivier	Polyphénols totaux	- Enrichissement après extraction (100µl d'extrait sec reconstitué dans le propylène glycol sont ajoutés à 10g d'huile avec agitation/2min) => une supplémentation de plus de 200mg/kg d'huile a été enregistrée, soit un passage de 94 à 299mg CAE/kg d'huile, avec un DPPH de 140µg Equivalent Trolox (ET)/g d'huile avant enrichissement et 260 µg ET/g d'huile après enrichissement.	**[49]**
	Oleuropein, Verbascoside Apigénine-7-	- Enrichissement avec la méthode des ultrasons (dans une chambre d'extraction, 1g de poudre dans 10ml d'huile à 25°C, 20 kHz, 225W) => Transfert de l'oleuropéine (14,5 ± 3,32µg/ml), Apigénine-7-glucoside (1,91 ± 0,21 µg/ml) et	

Feuilles d'olivier	glucoside, et Lutéoline-7-glucoside Lutéoléine, Apigénine	Lutéoline-7-glucoside (1,60 ± 0,20 µg/ml). -Enrichissement direct par méthode conventionnelle (mêmes conditions de la méthode par ultrasons) => pas de transfert. -Enrichissement direct par méthode conventionnelle (1g de poudre de feuilles séchées dans 10ml d'huile sous agitation à 25°C/24heures) => Transfert de l'oleuropéine (3,44 ± 0,90 µg/ml).	**[53]**
Feuilles de basilic	Huiles essentielles (Linalool et Eugénol)	- Aromatisation conventionnelle (150g de feuilles/1L d'huile sous agitation pendant 12 heures à température ambiante) => 1,66mg/L d'huile de Linanool et 0,31mg/L d'huile d'Eugénol. - Aromatisation avec la méthode des ultrasons (1W, 25KHz) : 1) 150g de poudre dans 1L d'huile d'olive/ 15 minutes => 3,68mg/L, 1,34mg/L d'huile de linanool et d'Eugénol respectivement. 2) 50g de poudre dans 1L d'huile d'olive/15minutes => 1,94mg/L d'huile de Linanool et 0,79mg/L d'huile d'eugénol.	**[54]**
Feuilles d'olivier variété CHEMLAL	Composés phénoliques (Stérols)	- Extraction des polyphénols puis enrichissement : après six mois de stockage => passage de 947 ± 0,02mg/kg d'huile à 1535 ± 0,06 mg/kg d'huile (les polyphénols totaux : 158 ± 0,1mg/kg d'huile et le test de Rancimat a révélé une résistance de l'huile à la friture pendant 34,4 heures avant enrichissement et 64,8 heures après enrichissement)	**[55]**

ETUDE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

1. Présentation du sujet

L'huile d'olive est un composant unique du régime méditerranéen et est susceptible d'être partiellement responsable des effets de santé de ce régime **[15].**

Bien que le fruit de l'olivier soit très riche en composés phénoliques et que le potentiel médicinal d'huile d'olive ait été en grande partie attribué aux effets multiples des antioxydants de ces bio-phénols dérivés de l'olive **[15]**, on n'en retrouve qu'une minime quantité dans l'huile d'olive, c'est pourquoi une supplémentation de celle-ci s'avère une alternative intéressante. La modeste quantité retrouvée dans l'huile d'olive est corrélée aux pertes subies par celle-ci au cours de son procédé d'extraction. Ces pertes qui parviennent certainement aux déchets, qu'ils soient solides (grignons) ou liquides (margines), peuvent être compensées.

Etant donné que les grignons d'olive sont générés en des quantités énormes par les industries oléicoles et qu'ils sont très riches en composés phénoliques, ils peuvent éventuellement constituer une matrice intéressante pour enrichir celle-ci, en utilisant une méthode simple qui est l'enrichissement direct par macération, permettant d'assurer le transfert de ces composés vers l'huile, la protégeant ainsi de l'oxydation et donc une éventuelle prolongation de sa durée de vie, mais aussi, une amélioration de sa qualité à la fois nutritionnelle et organoleptique. De ce fait augmenter ses atouts pour la santé humaine et surmonter les impacts environnementaux engendrés par ces déchets.

Mais quelles sont les conditions qu'il faut fournir pour assurer le transfert de ces polyphénols ? La réponse à cette question fera donc l'objet du développement du sujet de cette étude expérimentale.

Le présent travail se penche sur l'enrichissement direct de l'huile d'olive par les principes actifs des grignons d'olive, avec intégration de la méthode des plans d'expériences. En premier lieu, une extraction des composés phénoliques à partir de l'huile d'olive avant enrichissement est préalablement faite, pour pouvoir comparer les résultats après enrichissement. Puis une optimisation des paramètres d'enrichissement est effectuée pour choisir les niveaux du plan d'expériences à adopter, suivie du lancement de ce dernier. Ainsi, les enrichissements dictés par ce plan sont accomplis. L'extraction, le dosage, ainsi que la quantification des polyphénols sont réalisés et le pouvoir antioxydant est mesuré. Et pour terminer une évaluation sensorielle des huiles, brute et enrichie, est réalisée **(Fig. 10).**

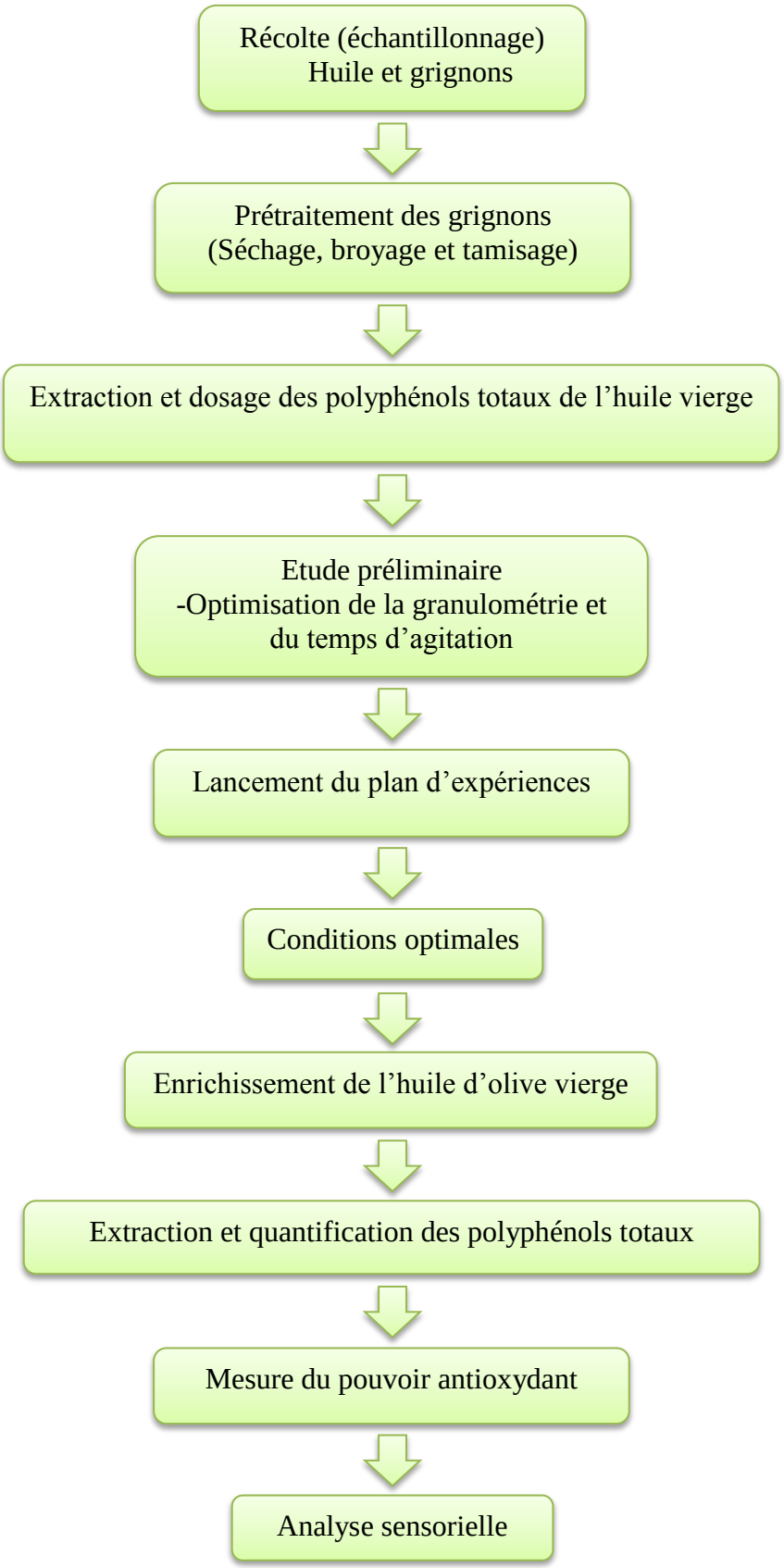


Figure 10 : Schéma général du plan de travail

2. Matériel végétal

Ce présent travail porte sur l'enrichissement de l'huile d'olive par les composés phénoliques des grignons d'olive. Pour se faire, un échantillonnage a été réalisé pour les deux matières premières en question comme suit :

a- Huile d'olive

L'huile d'olive, a été récoltée chez une huilerie moderne sise à Takerietz, wilaya de Bejaia. Elle a été obtenue par des moyens exclusivement mécaniques à partir du fruit de l'olivier (*Olea europea*), variété CHEMLAL, c'est donc une huile d'olive vierge.

b- Grignons d'olive

Quant aux grignons, ils proviennent de la même huilerie, et sont issus suite à l'extraction de l'huile récoltée pour l'étude, puis soumis à une série de prétraitements.

2.1. Prétraitement

2.1.1. Séchage

Le séchage du grignon a été réalisé dans une étuve (ECOCELL) à 40°C **(Fig. 11)** jusqu'à poids sec constant. Afin de déterminer sa teneur en eau, un test d'humidité a été entrepris et le pourcentage d'humidité est calculé selon la formule suivante **[56]**:

$$H\% = \frac{PF - PS}{PF} \times 100$$

Où :

H% : Taux d'humidité en pourcentage

P_F : Poids de l'échantillon frais

P_S : Poids de l'échantillon après séchage

Figure 11 : Etuve de séchage

2.1.2. Broyage et tamisage

Le grignon d'olive séché a été broyé à l'aide d'un broyeur (IKA A11 BASIC) et la poudre issue de ce broyage a été soumise à un tamisage. Ce dernier a été effectué à l'aide d'un tamiseur (RESTCH AS 200), muni d'un ensemble de tamis avec différentes granulométries. Il a permet en effet d'obtenir quatre poudres à diamètre différent, en l'occurrence ≥1mm, 500µm, 250µm et <250µm. Ces dernières ont été conservées à température ambiante et à l'abri de la lumière et d'humidité dans des flacons en verre pour des utilisations ultérieures.

3. Extraction des composés phénoliques des huiles

L'extraction des composés phénoliques est réalisée avant et après enrichissement. Le protocole adopté est celui décrit par **Tsimidou *et al* [57] (Fig. 12).**

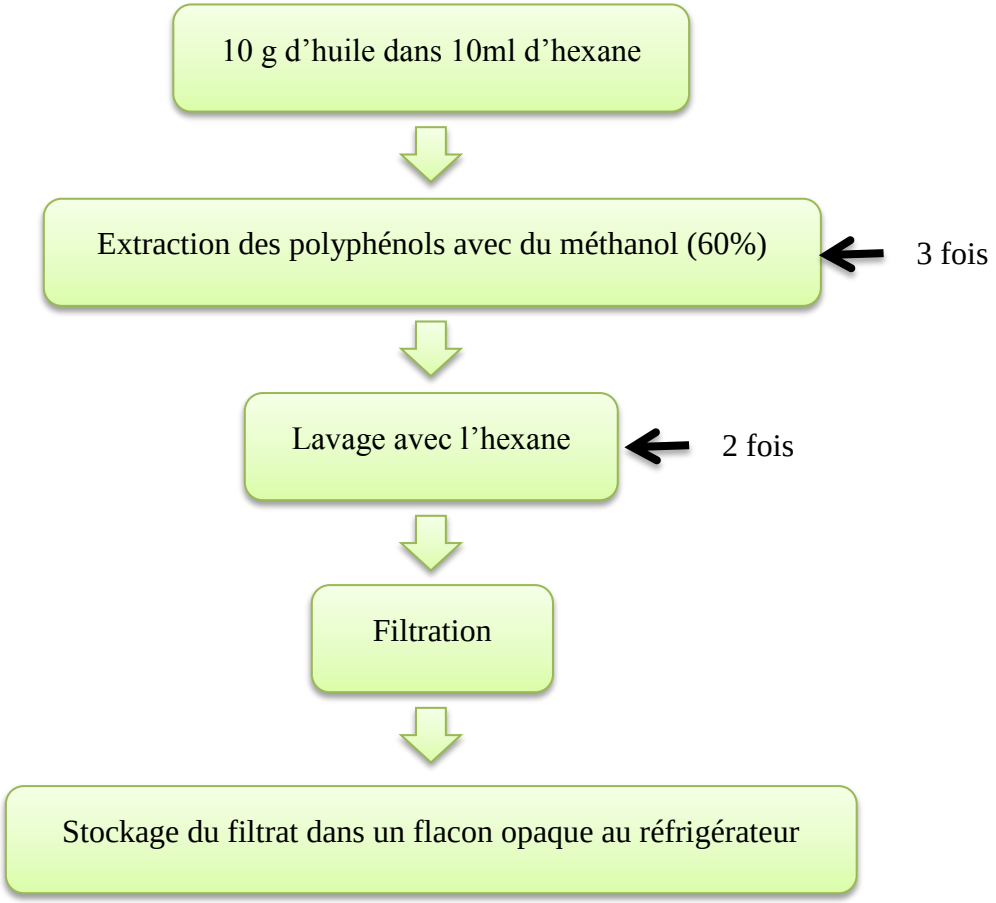


Figure 12 : Protocole d'extraction des polyphénols à partir des huiles **[57]**

4. Dosage des composés phénoliques

La teneur en polyphénols totaux (PT) des extraits des huiles, enrichie et non enrichie, a été déterminée en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu (FC) en se référant à la méthode décrite par **Negi *et al* [58] (Fig. 13).**

Une courbe standard a été réalisée avec l'acide gallique dans les mêmes conditions que le dosage des échantillons **(Annexe 3)**. Les polyphénols sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par kg d'huile (mg EAG/kg d'huile), trois répétitions sont réalisées pour chaque échantillon.

- **Principe**

Le réactif de FC est un acide de couleur jaune, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$), et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation avec les composés phénoliques en milieu alcalin en un mélange bleu d'oxydes de tungstène et de molybdène dont l'intensité optique est mesurée par spectrophotométrie UV-visible **[38].**

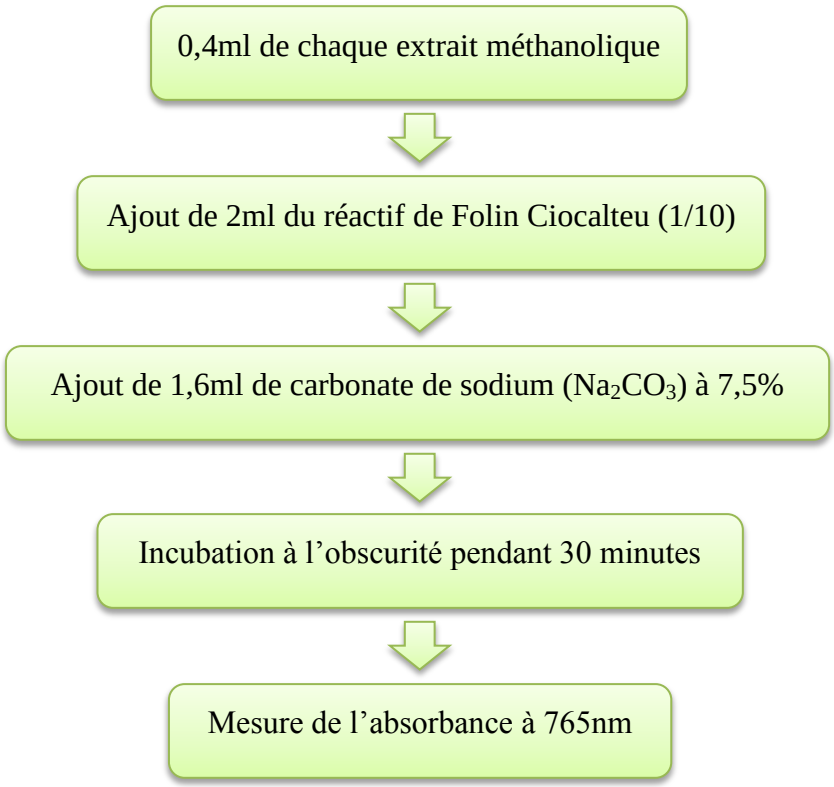


Figure 13 : Schéma représentatif du protocole de dosage **[58]**

5. Etude préliminaire

Afin de mieux mener l'enrichissement de l'huile d'olive, ainsi que de déterminer les bornes du plan d'expériences à adopter, un ensemble de paramètres (température d'enrichissement, diamètre de la poudre, temps d'agitation et le ratio solide-liquide) sont à étudier, c'est pourquoi, une étude préliminaire est sollicitée, résumée dans le figure ci-après.

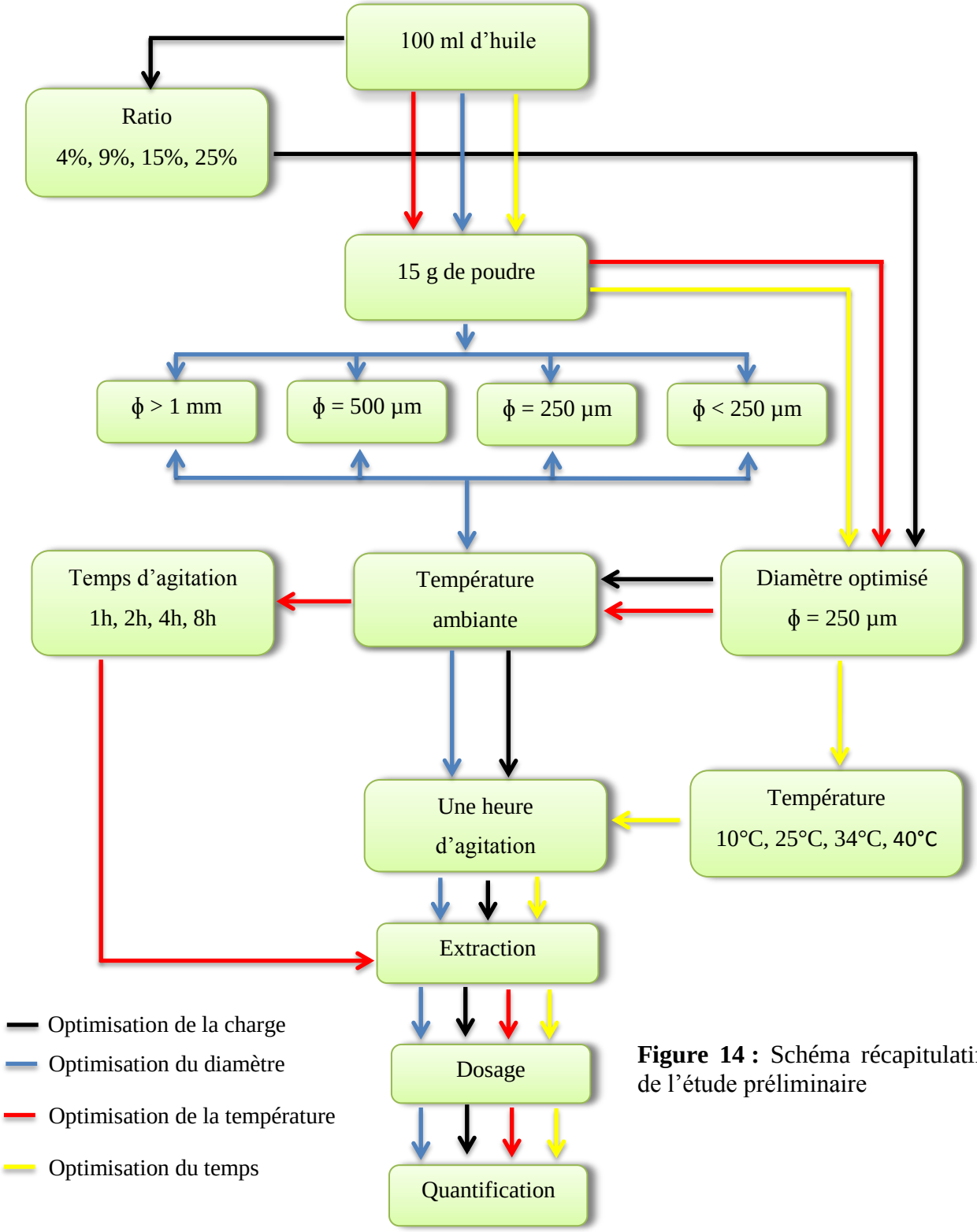


Figure 14 : Schéma récapitulatif de l'étude préliminaire

6. Plan d'expériences : théorie et application

La notion de plan d'expériences s'est développée à partir des années 20 du siècle précédent, au début en biologie, il fallait en fait réduire le coût des expérimentations et les expérimentations animales **[59]**. Les plans d'expériences servent en effet à optimiser l'organisation des essais qui permet d'obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Elle permet également d'obtenir la meilleure précision possible sur la modélisation des résultats. La méthode des plans d'expériences est basée sur des règles mathématiques strictes et elle exige une démarche rigoureuse de la part de l'expérimentateur **[60]**. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, y, et des variables, x_i. Il faut donc penser aux plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type : $y = f(x_1, x_2, x_{3,\ldots}x_i)$ **[61]**.

6.1. Définition

Un plan d'expériences est une suite d'essais organisée à l'avance de manière à déterminer en un minimum d'essais et avec un maximum de précision l'influence de multiples paramètres sur une ou plusieurs réponses **[62]**.

6.2. Terminologie

La théorie des plans d'expériences ou science de l'organisation des essais et de la modélisation des résultats expérimentaux, nécessite une terminologie adaptée, précise et une mise en œuvre rigoureuse.

Réponse : Grandeur physique étudiée ;

Facteur : C'est la variable qui peut modifier la réponse ;

Niveau d'un facteur : Valeur donnée à un facteur pour réaliser une expérience ;

Domaine d'étude : Domaine expérimental délimité par les niveaux des facteurs utilisés ;

Matrice d'expériences : C'est les niveaux pris par les variables codées dans les différentes expériences.

6.3. Plans de Surface de Réponse

La méthode de surface de réponse (RMS) est une technique d'analyse statistique puissante, bien adaptée à la modélisation des processus complexes où la réponse est influencée par plusieurs variables (facteurs) dont l'objectif est d'optimiser cette réponse. Box et Wilson, sont les premiers à avoir introduit la théorie de la RMS en 1951. Aujourd'hui, elle est la méthode la plus couramment utilisée pour l'optimisation d'un processus.

La RMS peut être utilisée pour modéliser et prédire l'effet de différents paramètres expérimentaux sur une réponse bien définie, ainsi que l'identification des interactions entre les paramètres expérimentaux que d'autres techniques peuvent négliger. Elle est en effet largement employée dans le domaine de l'ingénierie et de la fabrication où de nombreux paramètres sont impliqués dans un processus **[63].**

Le modèle mathématique utilisé dans cette méthode est un modèle de second degré :

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1}^{k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

Où :

Y : est la réponse (la grandeur d'intérêt) ;
x_i, x_j : sont les variables ;
β_o, β_i, β_{ii} et β_{ij} : sont les coefficients de polynôme,
ε : est l'erreur aléatoire.

6.4. Plan d'expériences composite centré

La performance de la présente étude a été obtenue suivant la méthode RMS en utilisant le logiciel STATGRAPHICS PLUS (Rockville, Etats-Unis, 2000). Ce dernier permet de développer un plan d'expériences de type composite centré (CCD). Dans ce type de plan, trois paramètres peuvent être testés et sont schématiquement représentés sur un graphique en trois dimensions **(Fig. 15)**. Chaque paramètre étant borné, l'ensemble du domaine d'analyse peut être représenté dans un cube virtuel, les angles de ce cube correspondent aux bornes des paramètres. Dans ce type de plan, 20 manipulations doivent être menées afin de tester les trois paramètres ainsi que la fiabilité du système :

- 6 au centre du cube
- 8 aux extrémités du cube
- 6 au centre des faces du cube.

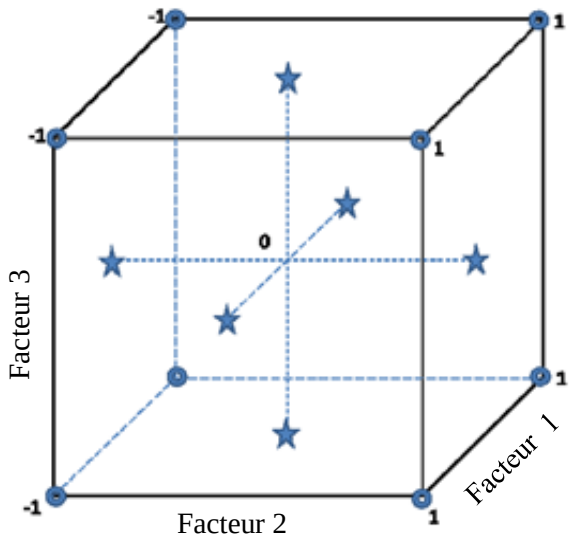


Figure 15 : Représentation du plan d'expérience sous forme d'un cube virtuel **[64]**

6.5. Démarche

Pour l'application du plan d'expériences, les étapes à suivre sont :

1. Formaliser le problème ;

2. Sélectionner les paramètres, fixer leurs modalités (niveau de variations des paramètres) et sélectionner leurs interactions (étude préliminaire) ;

3. Construire le plan sur la base des niveaux de variations des paramètres ;

4. Réaliser les essais dictés par le plan et acquisition de résultats ;

5. Analyser les résultats ;

6. Conclure après choix du réglage des paramètres qui peuvent être maitrisés et essai de confirmation (optimum).

7. Mesure du pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante des huiles, brute et enrichie, a été évaluée suivant la méthode de test de radical 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH°), le protocole adopté est celui décrit par **Goupy *et al* [65]** et **Achat *et al* [50].**

- **Principe**

Le DPPH° est un radical libre stable par vertu de la délocalisation de l'électron disponible, qui provoque une couleur violette profonde **[66, 67].** Il réagit avec des groupements thiols, les amines, les phénols, les acides, les composés hydro-aromatiques …etc. Cette propriété est largement recommandée et utilisée dans la pratique analytique **[68]**; quand la solution du DPPH° est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (1,1-diphenyl-2-2, 4,6-trinitrophenyl hydrazine) $DPPH_2$, avec la perte de la couleur violette et apparition d'une couleur jaune pâle résiduelle, due à la présence du groupement picryl. Le radical DPPH à un maximum d'absorbance aux environs de 517 à 520 nm, qui diminue quand le radical est réduit. La méthode DPPH° est décrite comme étant simple, rapide et commode indépendante de la polarité d'échantillon **[69]**, le protocole est résumé dans la figure suivante :

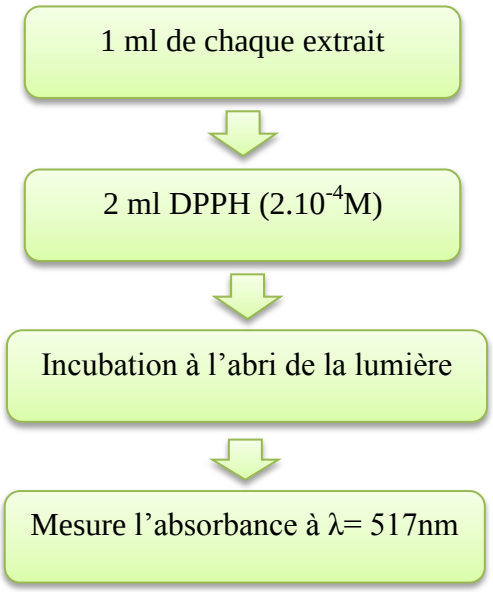


Figure 16 : Etapes du test de DPPH° **[55, 65]**

- Les résultats sont exprimés en pourcentage de neutralisation du radical DPPH° et les absorbances obtenues ont été converties aux taux de radical-balayage de DPPH° selon l'équation :

$$\% \text{ d'inhibition de DPPH} = \frac{\text{AC} - \text{AE}}{\text{AC}} \times 100$$

Où

AC : Absorbance du control ;

AE : Absorbance de l'échantillon.

- L'effet de la concentration des différents extraits méthanoliques sur la réduction du radical DPPH° a été aussi testé.

8. Evaluation sensorielle

L'évaluation sensorielle est la technique de choix pour étudier les propriétés organoleptiques des denrées alimentaires ou propriétés qui impressionnent les organes sensoriels. C'est elle en particulier qui valide les méthodes instrumentales qui donnent aux propriétés organoleptiques une image nécessairement indirecte. Elle repose sur la dégustation des produits et sur l'analyse des réponses sensorielles données par un groupe de sujets (jury).

L'évaluation des propriétés sensorielles des huiles d'olive vierge et enrichie a été réalisée selon la méthode de **Lalas *et al* [70]**. Le panel a été formé de douze dégustateurs, choisis à partir du personnel du laboratoire BBBS, qui sont amenés à se prononcer sur les traits sensoriels des huiles en question selon le profil sensoriel établi (carte sensorielle) **(Annexe 4)**. Pour se faire, deux échantillons codés 1 et 2 qui correspondent respectivement à l'huile d'olive vierge (huile de référence) et l'huile d'olive enrichie leur sont présentés et les sujets sont invités à attribuer une note sur une échelle nominale de cinq pour un ensemble de caractéristiques, à savoir, l'acceptabilité globale de chaque échantillon (tenant compte de tout mauvais et indésirable goût), l'amertume, la préférence totale, le degré de perception du sous-produit rajouté et le rancissement.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Echantillons biologiques

L'huile d'olive récoltée, a été issue de la variété CHEMLAL. Le choix de cette variété n'est pas aléatoire, bien qu'elle est très répandue en Kabylie, elle est aussi moins riche en composés phénoliques **[71]**, ce qui renforce davantage l'idée d'enrichissement de l'huile extraite à partir de son fruit.

2. Humidité

Le taux d'humidité du grignon d'olive est de 42,41%, ce qui signifie approximativement que presque la moitié du poids du matériel végétal frais est constitué d'eau.

L'humidité favorise bien les activités enzymatiques (polyphénols-oxydases et les glucosidases), qui entrainent rapidement des changements irréversibles sur les antioxydants après la récolte du matériel végétal, telle que l'oxydation, et par conséquent une polymérisation ou une décomposition **[64]**. De plus, l'humidité favorise aussi le développement de microorganismes et de moisissures qui entrainent des dégradations massives et rapides du matériel végétal au cours de la conservation **[72]**. Dans cette perspective, et dans le but de limiter ces réactions et préserver l'état des polyphénols de l'oxydation et d'éventuelles dégradations, un séchage à 40°C et à l'abri de la lumière a été entrepris. Cette température permet d'avoir un séchage des grignons, sans pour autant avoir de modifications néfastes avant la conservation.

3. Extraction

Afin d'extraire les polyphénols contenus dans les huiles brute et enrichie, une extraction liquide-liquide a été réalisée avec deux solvants, hexane et méthanol.

Le méthanol a montré des rendements meilleurs comme solvant d'extraction pour les polyphénols par rapport aux solvants cités dans la littérature (acétone, éthanol,...etc.). Ce solvant est moins polaire que l'eau et très efficace pour la libération des polyphénols **[72, 73]**. C'est pour cette raison que son utilisation dans cette étude est favorisée par rapport aux autres solvants organiques. En outre, lorsqu'il est ajouté pour l'extraction, deux phases sont formées **(Annexe 5)**, une phase supérieure, dite héxanique, renfermant tout ce qui est lipidique et une phase inferieure, dite méthanolique, renfermant les polyphénols.

4. Dosage

La méthode de quantification des polyphénols totaux par le réactif FC est une analyse rapide, économique et qui est très employée pour estimer le contenu phénolique des huiles vierge et enrichie.

Lors du rajout du réactif FC aux extraits méthanoliques des huiles, une couleur jaunâtre se forme **(Annexe 6)** et l'addition de carbonate de sodium, qui alcalinise le milieu, donne une couleur bleue **(Annexe 6)**, ce qui pourrait justifier la présence de polyphénols. L'intensité de cette couleur est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques contenus dans les extraits.

Le dosage colorimétrique de l'extrait méthanolique de l'huile d'olive vierge a révélé une teneur faible en polyphénols (56 ± 4,29 mg d'EAG/kg d'huile) **[48, 50],** ceci peut être expliqué par la variété, CHEMLAL, des olives triturées pour l'obtention de cette huile qui est une variété à faible teneur en polyphénols totaux **[71]**. De plus la durée de stockage des olives avant trituration est aussi déterminante, puisque celle-ci influence négativement sur la teneur en ces composés **[74]**. Ainsi, la concentration en PT est conditionnée par l'activité enzymatique de la L-phénylalanine Ammonia Lyase (PAL), qui joue un rôle important dans la désamination de la phénylalanine et sa conversion en acide trans-cinnamique impliqué dans la synthèse des composés phénoliques, une forte activité de cette enzyme est donc associée à l'accumulation des composés phénoliques dans le fruit et par conséquent dans l'huile. Cependant, l'activité de la PAL est fonction du degré de maturité des fruits et des conditions climatiques et de l'irrigation. Elle diminue au cours de la maturation et augmente dans des conditions arides **[75]**.

5. Etude préliminaire

Avant d'avoir recours à un plan d'expériences, différents paramètres sont à prendre en compte dans notre analyse :

5.1. Température

Travaillant avec l'huile d'olive, la température ne peut pas être descendue au-dessous de 10°C, sinon une partie de cette huile peut figer, ce qui altèrerait l'homogénéité du mélange **[64]**. Ainsi, les polyphénols étant des molécules sensibles à la température et étant

connus pour commencer à se dégrader à partir de 50°C **[23, 76]**, la borne supérieure est limitée à 40°C afin d'éviter cette dégradation et donc de ne pas influencer le résultat du plan.

5.2. Ratio

Il est choisi en fixant les autres paramètres et ne laisser varier que celui-ci, les résultats pour quatre charges différentes sont montrés par la figure suivante :

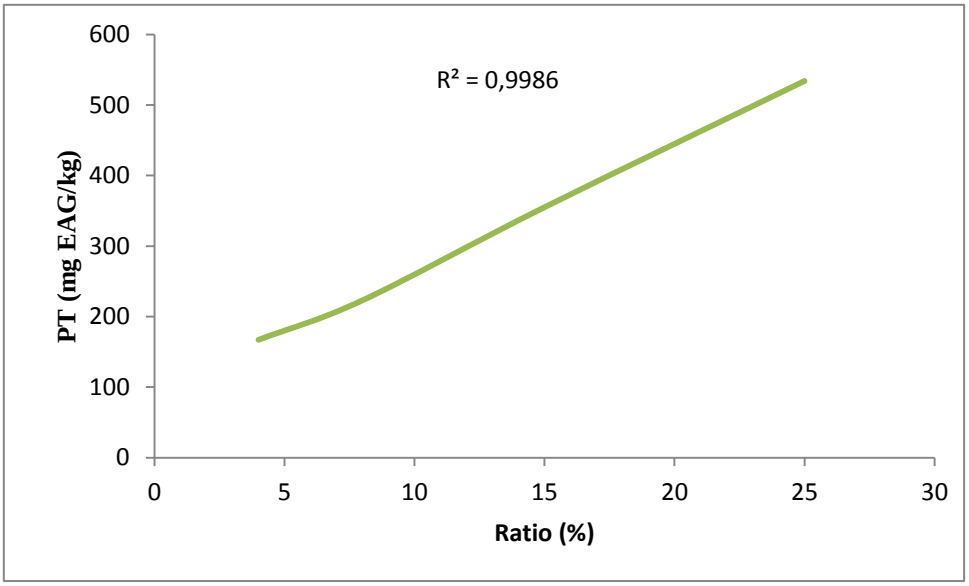


Figure 17 : Effet du ratio sur le taux de PT

A la lumière de la figure ci-dessus, il est nettement clair qu'il existe une parfaite proportionnalité entre le ratio et la concentration en PT et par conséquent, plus on augmente le ratio, meilleure est la concentration. Cependant, les bornes de celui-ci sont prises entre 4% et 25% pour éviter tout problème gênant l'homogénéisation de l'huile, ni de perte par saturation de la poudre.

5.3. Temps d'agitation

Afin de choisir le bon temps d'agitation, une série d'essais à différents temps d'agitation est réalisée, à savoir 1 heure, 2 heures, 4 heures et 8 heures d'agitation. Ceci a conduit à la conclusion suivante : plus on augmente le temps d'agitation, plus le transfert est meilleur mais à partir de 6 à 7 heures, on a tendance à avoir une constance, c'est pourquoi, les bornes du temps d'agitation sont prises entre 1 heure et 7 heures **(Fig. 18)**.

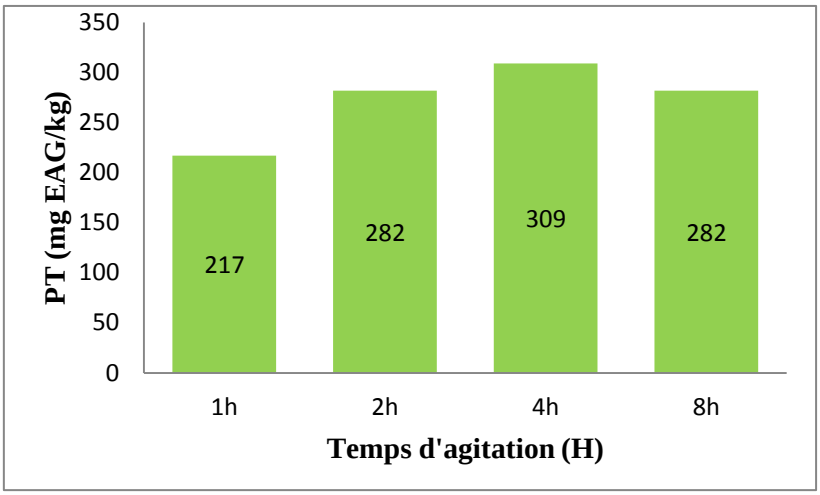


Figure 18 : Effet du temps d'agitation sur le taux de PT

5.4. Diamètre de la poudre

Le choix du diamètre de la poudre à utiliser est choisi en fixant tous les autres paramètres (facteurs) et ne varier que celui-ci. L'extraction et le dosage sont faits et le meilleur résultat est pris en considération, soit le diamètre 250µm **(Fig. 18)**. En effet, **Silva *et al.* [77]** ont démontré que le meilleur rendement en polyphénols est obtenu lors de l'utilisation de particules plus fines, ce qui est probablement dû à l'augmentation de la surface de contact avec le solvant.

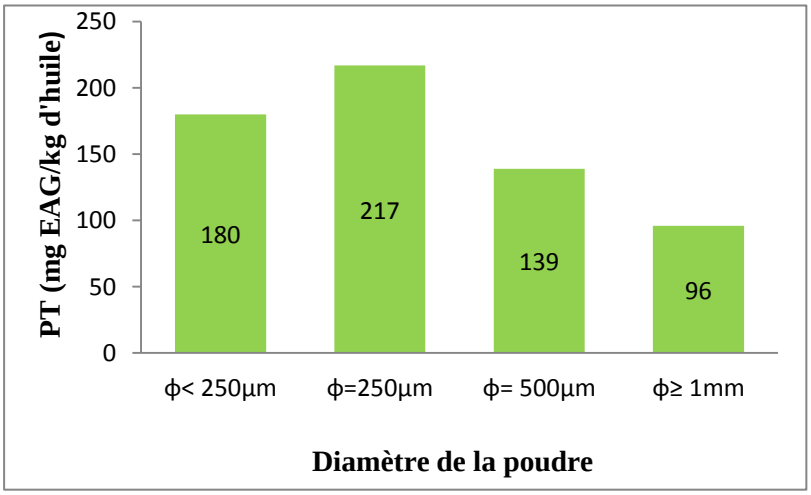


Figure 19 : Effet du diamètre de la poudre sur le taux de PT

Lors de l'étude préliminaire nous avons avant tout cherché à préserver les polyphénols de la dégradation, à la fois en n'utilisant pas de trop fortes températures ni des temps d'agitation trop longs. Ces conditions devraient exclure tout biais de dégradation

qui pourrait faire penser que les polyphénols n'ont tout simplement pas été transférés (pas d'enrichissement).

6. Conditions optimales

Les plans d'expériences sont très utilisés dans les études industrielles en recherche et développement. Ils permettent une meilleure compréhension des phénomènes impliqués dans la conception d'un nouveau produit et d'appréhender une variable réponse rapidement **[78].**

Suite aux résultats de l'étude préliminaire, et après avoir introduit les bornes des différents facteurs au logiciel, le plan proposé par ce dernier avec les résultats des polyphénols totaux des huiles enrichies sont résumés dans le tableau ci-après

Tableau IV : Tableau récapitulatif des expériences et les résultats du plan d'expériences

	Température	Temps	Ratio	PPT
Essais	°C	Heure	%	mg d'EAG/kg d'huile
1	25	4	15	318 ± 03
2	25	4	4	167 ± 18
3	10	4	15	334 ± 05
4	16	2	21	457 ± 08
5	16	7	21	518 ± 09
6	34	7	21	501 ± 08
7	25	0,47	15	248 ± 08
8	34	2	21	473 ± 13
9	25	4	15	355 ± 02
10	34	2	9	235 ± 08
11	25	4	15	390 ± 06
12	25	4	25	542 ± 07
13	16	2	9	246 ± 01
14	25	4	15	324 ± 16
15	25	8	15	373 ± 07
16	25	4	15	339 ± 11
17	25	4	15	317 ± 05
18	16	7	9	300 ± 10
19	40	4	15	377 ± 13
20	34	7	9	286 ± 07

L'ordre de ces manipulations est attribué de façon aléatoire par le logiciel Statgraphics et la variable analysée dans ce cas est la concentration finale en PT.

7. Traitement des données par Statgraphics

7.1. Analyse de la variance et validation du plan

Une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée sur les résultats obtenus **(Tableau IV).** Cette analyse permet de tester la pertinence des variables impliquées dans le model étudié et de représenter graphiquement l'importance de chaque facteur sur la réponse étudiée, en l'occurrence la concentration en PT **(Tableau V).**

Tableau V: Analyse de la variance pour les polyphénols totaux

Source	Somme des carrés	Df	Carrés moyens	Ratio F	Valeur-*p*
A:Température	136,988	1	136,988	0,17	0,6969
B:Temps	12761,6	1	12761,6	15,87	**0,0105**
C:Ratio	164000,	1	164000,	203,95	**0,0000**
AA	2014,18	1	2014,18	2,50	0,1743
AB	279,155	1	279,155	0,35	0,5813
AC	70,0336	1	70,0336	0,09	0,7798
BB	364,065	1	364,065	0,45	0,5309
BC	34,4888	1	34,4888	0,04	0,8441
CC	2792,5	1	2792,5	3,47	0,1214
Lack-of-fit	4516,76	5	903,352	1,12	**0,4508**
Pure error	4020,66	5	804,132		
Total (corr.)	194608,	19			

R^2 = **96%,** R^2 (ajusté à D.f) = **92.**

Comme illustré dans le tableau ci-dessus, deux facteurs (Temps et Ratio) ont leur valeur-*p* inférieure à 0,05, ce qui veut dire qu'ils sont sensiblement différents de zéro au niveau de confiance de 95%. Ceci est en parfaite harmonie avec les résultats du diagramme de Pareto, qui indique que le temps et le ratio influencent significativement l'enrichissement de l'huile.

R^2, étant une valeur indicatrice du degré d'explication de l'influence des facteurs sur la réponse, est égal à 96%, ce qui mène à dire que le model pourrait bien être appliqué pour prévoir l'influence des facteurs étudiés sur l'enrichissement de l'huile d'olive en polyphénols du grignon. De plus, La valeur Lack of-fit **(Tableau V)** a été conçue pour déterminer si le model choisi est valable pour décrire les données observées **[50]**, si bien que cette valeur soit supérieure à 0,05 qui est témoin de la validité de ce plan.

7.2. Analyse de surface

Une fois calculées, les concentrations en polyphénols totaux sont intégrées dans le logiciel Statgraphics qui va estimer l'importance de chacun des paramètres de l'étude. Le premier résultat est le diagramme de Pareto qui permet de déterminer quels sont les paramètres influençant de façon significative la concentration finale en PT **(Fig. 13).**

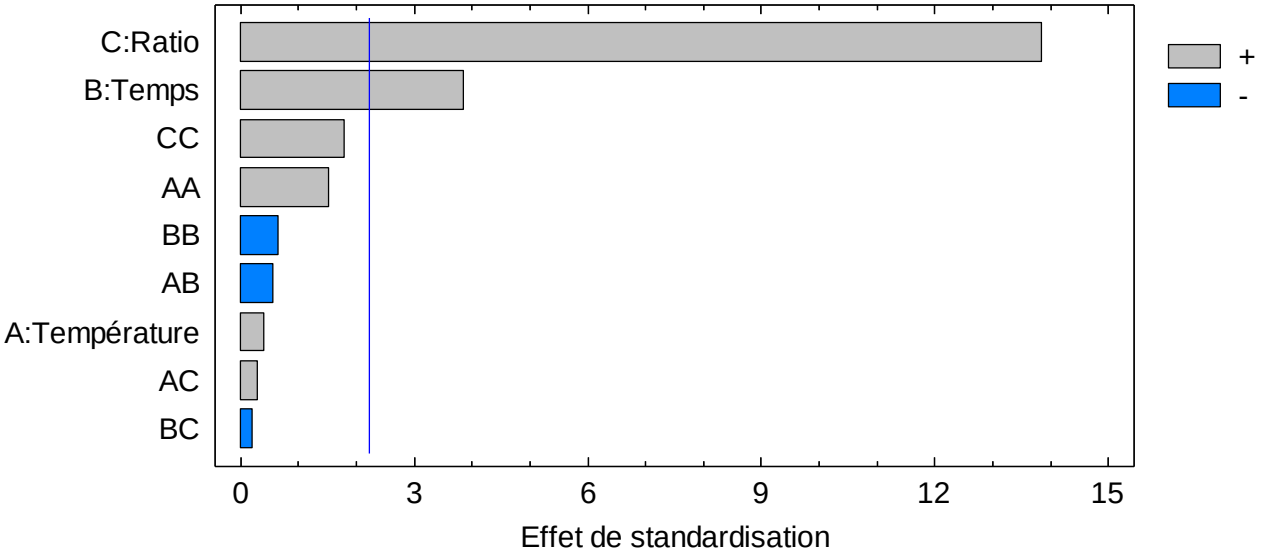


Figure 20 : Diagramme normalisé de Pareto pour la concentration en polyphénols totaux

Comme le montre la figure 20, le paramètre le plus influençant est le ratio, devant le temps. La température n'a pas d'influence significative sur l'enrichissement. Même si les résultats de l'étude préliminaire stipulent qu'il y avait une légère influence, mais celle-ci n'est pas significativement appréciable et donc ne semble pas avoir de grande influence sur l'enrichissement. Ainsi, l'interaction entre ratio, température et temps n'ont montré aucun effet significatif. Ce dernier suggère une absence totale d'interaction entre les variables dans le domaine expérimental étudié. Ces premiers résultats sont ensuite repris plus en détails **(Fig. 21).**

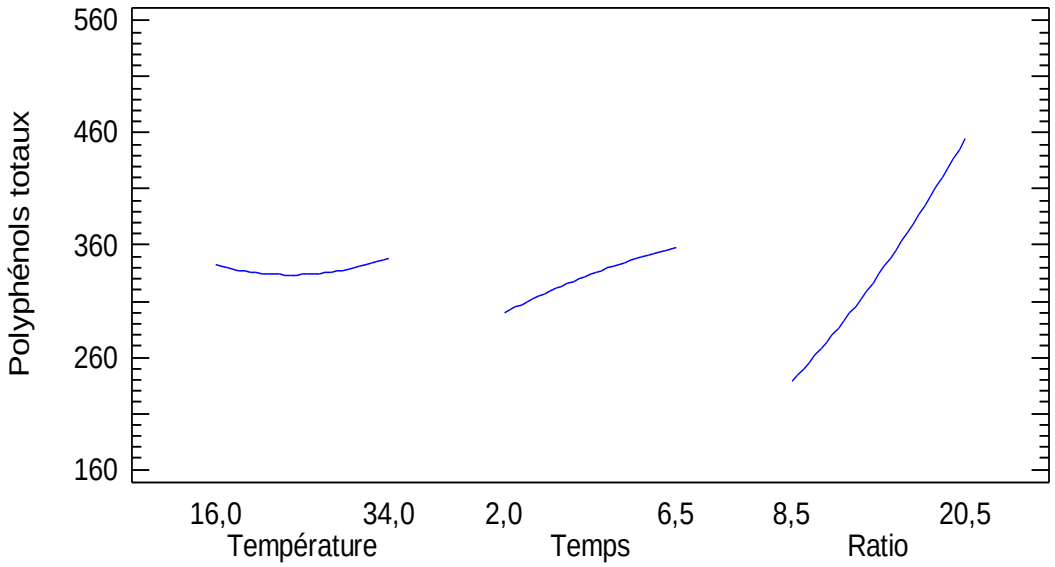


Figure 21 : Interprétation graphique des résultats par Stagraphics : Effet général des facteurs

Il est donc remarquable que le ratio influencent de façon quasi linéaire l'enrichissement, ainsi que le temps d'agitation, alors que la température atteint un maximum dans la partie basse de la gamme de températures testées.

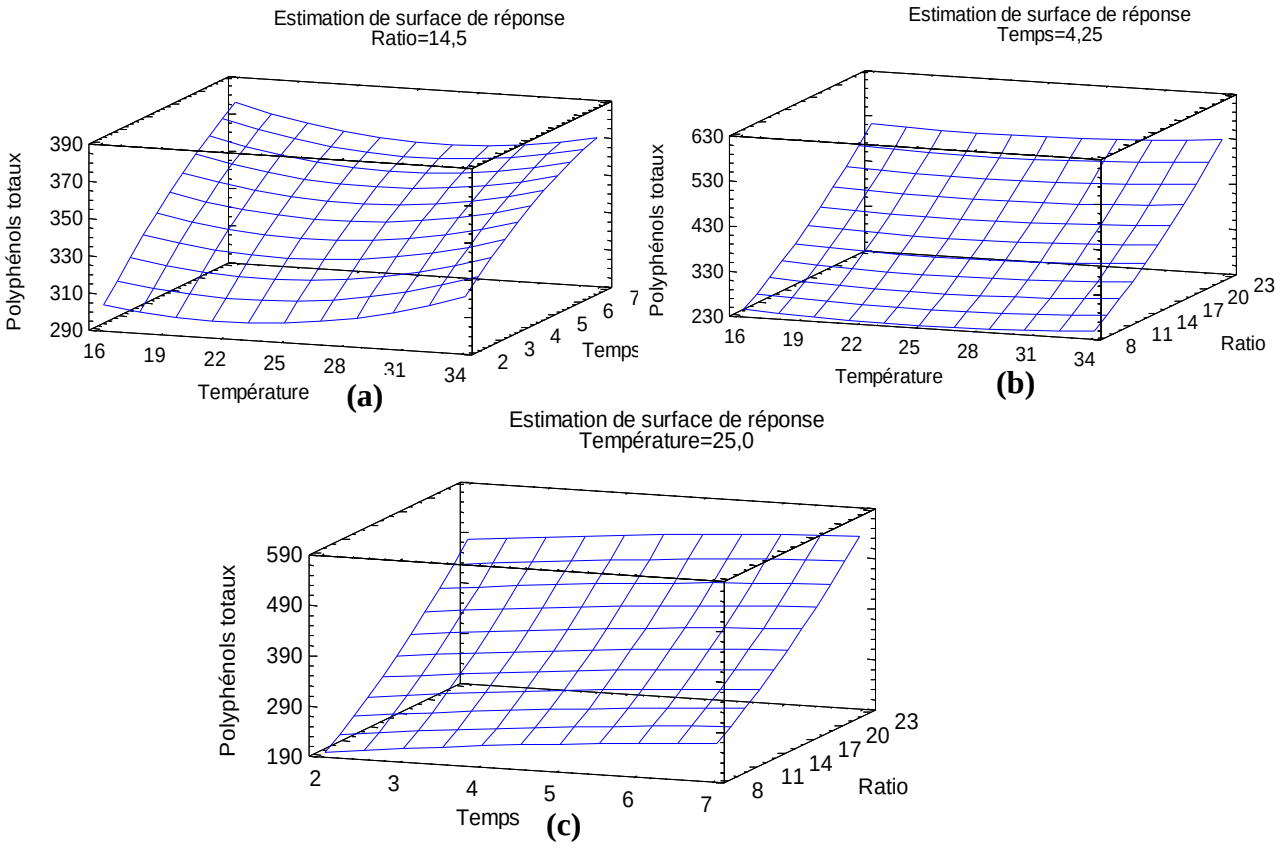


Figure 22 : Surfaces de réponse de l'effet des différents facteurs : (**a) :** influence du temps et de la température à 14,5%, (**b) :** influence de la température et du ratio après 4 heures et demi d'agitation, **(c) :** influence du temps et du ratio à 25°C

D'après les observations réalisées lors de l'étude des surfaces de réponse **(Fig. 22)**, l'efficacité de l'enrichissement de l'huile d'olive vierge en termes de concentration en PT s'accroit en augmentant le ratio et le temps d'agitation.

De ce fait, l'optimum du ratio et le temps se situe au maximum de ces deux critères, soit 25% et 8 heures d'agitation. Pour ce qui est de la température, l'optimum se situe à 10°C. Sous ces conditions, la valeur expérimentale des PT est égale à 697±5,35 mg d'EAG/kg d'huile, qui est raisonnablement proche de la valeur prédite (621mg d'EAG/kg d'huile), celle-ci a été calculée sur la base de l'équation polynomiale du second degré suivante :

Polyphénols totaux = 143,082 - 6,72516×Température + 29,7012×Temps + 6,75444×Ratio + 0,147856×Température^2 - 0,260414×Température×Temps + 0,0547917×Température×Ratio - 0,958966×Temps^2 - 0,137248×Temps×Ratio + 0,360313×Ratio^2.

- A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que la modélisation des surfaces de réponse peut être effectivement appliquée pour l'enrichissement de l'huile d'olive vierge par les composés phénoliques du grignon d'olive **(Tableau VI).**

Tableau VI : présentation des paramètres optimisés

Variable	Réponse	
	Polyphénols totaux	
Température (°C)	10	=> 697 ± 5,35mg d'EAG/kg d'huile
Temps (H)	08	
Ratio (%)	25	

8. Mesure du pouvoir antioxydant

Le piégeage du radical stable de DPPH$^{\circ}$ est une méthode employée couramment pour évaluer les activités antioxydantes. Cette méthode est caractérisée par sa brève durée par rapport à d'autres méthodes **[73].**

Plusieurs auteurs ont déterminé l'effet scavanger des huiles sur le radical DPPH° à 517nm **[52, 49]** et les résultats obtenus pour les huiles, brute et enrichie, exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH°, sont résumés dans la figure suivante.

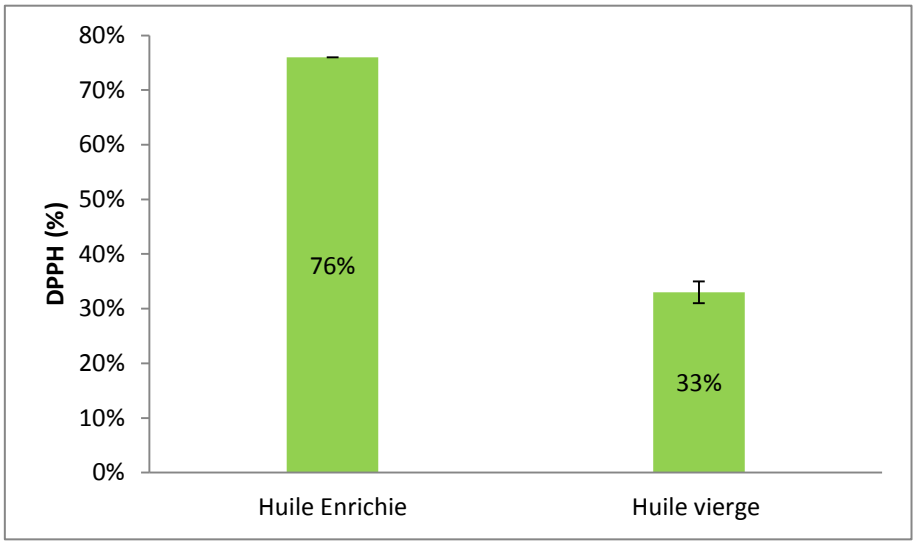


Figure 23 : Pouvoir anti-radicalaire des extraits méthanoliques des huiles analysées

A la lumière de la figure précédente, les résultats du pouvoir anti-radicalaire des extraits des huiles (brute et enrichie), indiquent que la capacité à piéger le radical DPPH° par l'huile d'olive enrichie est beaucoup plus importante (76±0,01%), deux fois plus élevée, que celle d'huile d'olive brute (33±0.02%).

Les capacités antioxydantes des extraits méthanoliques des huiles dépendent en grande partie de la composition chimique des extraits, essentiellement les composés phénoliques **[80].** En effet, plusieurs auteurs ont démontré que divers principes actifs tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques présents dans les huiles et les grignons, sont connus pour être responsables du potentiel antioxydant. Le contenu phénolique élevé est aussi un facteur important qui détermine les capacités antioxydantes des huiles **[80, 81, 82].** Les différents dosages effectués dans cette étude ont démontré la richesse de l'huile d'olive enrichie en ces composés **(de 56 ± 4,29 à 697 ± 5,35 mg d'EAG/kg d'huile)**, ce qui explique sa capacité antiradicalaire élevée par rapport à l'huile d'olive vierge **[81]**.

La caractéristique principale d'un polyphénol (antioxydant), est basée sur sa capacité à agir en tant que piégeur du radical en donnant un atome d'hydrogène suivant la réaction ci-dessous :

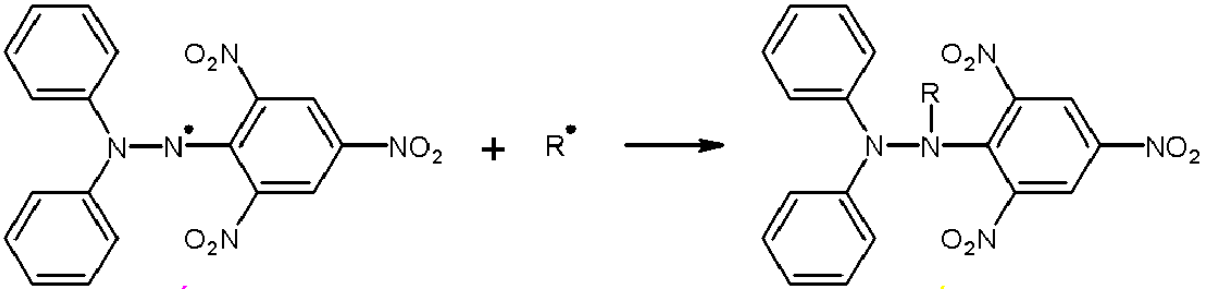
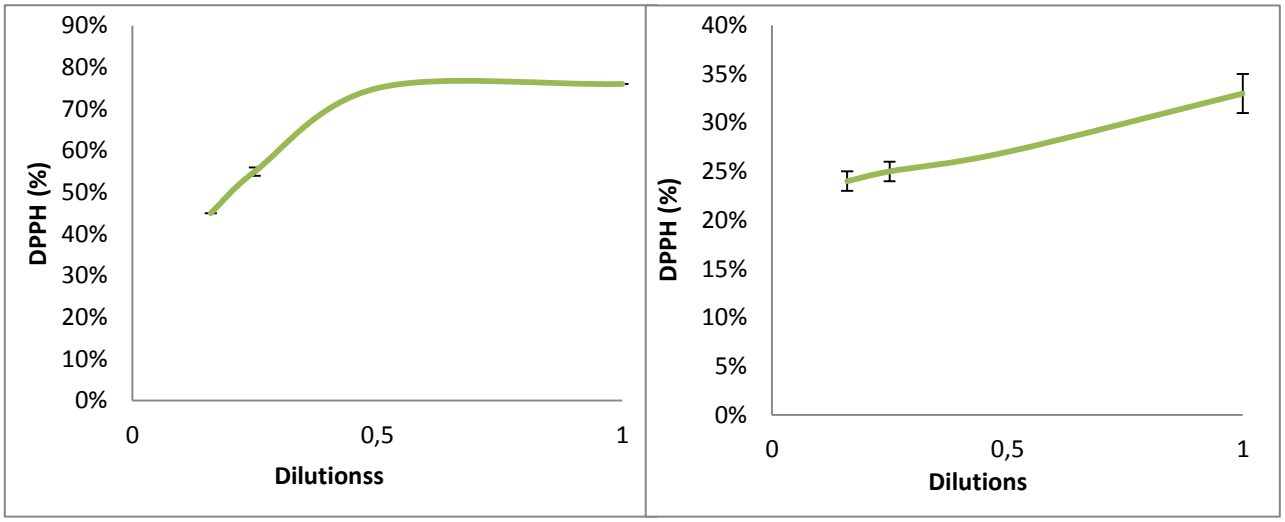


Figure 24 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH° **[79]**

9. Effet de la concentration

Pour se renseigner encore davantage sur l'évolution du pouvoir de réduction du radical DPPH°, une gamme de concentration des extraits des huiles étudiées a été testée **(Fig. 25)**.



(a) **(b)**

Figure 25 : Evolution du DPPH° en fonction de la concentration en polyphénols des huiles : brute (a) et enrichie (b)

Au reflet de la figure 25, l'évolution du DPPH° est étroitement liée à la concentration en polyphénols. Cette évolution montre une augmentation progressive, à faible et à forte concentrations dans le cas de l'huile d'olive vierge **(Fig. 25b)**, contrairement à l'huile d'olive enrichie qui présente une relation proportionnelle à faible concentration, mais au-delà de de la dilution 1/2, soit un taux de PT de 349mg d'EAG/kg d'huile, elle devient stable et marque une

phase stationnaire **(Fig. 25a)**. Ceci pourrait être expliqué par le fait que l'extrait de l'huile enrichie soit très riche en composés phénoliques, ayant tendance à saturer le $DPPH^{\circ}$ aux concentrations élevées. En effet, ce phénomène a été bien constaté dans le cas pratique, avec le virage de couleur en un temps vraiment très court, lors du contact de l'extrait et du $DPPH^{\circ}$. En revanche, l'huile brute, qui contient une teneur négligeable en ces composés, reçoit une quantité suffisamment importante du $DPPH^{\circ}$, si bien qu'elle nécessite un peu plus de temps pour avoir le virage de couleur, témoin de la réduction du radical $DPPH^{\circ}$ par les polyphénols.

En fin, nous pouvons dire que l'ensemble de ces résultats, concorde parfaitement avec ceux enregistrés sous les conditions optimales suggérées par le plan d'expérience, en d'autres termes le transfert des polyphénols du grignon vers l'huile d'olive pourrait être jugé comme avoir lieu et être responsable de cette importante activité antioxydante.

Du point de vue physiologique, la neutralisation des radicaux libres inhibe l'oxydation des lipides qui peut être nuisible aux composants et aux fonctions cellulaires, ainsi la consommation des antioxydants naturels, comme ceux présents dans l'huile d'olive, peut contribuer à la protection contre les maladies dégénératives induites par le stress oxydatif **[83]**.

10. Evaluation sensorielle

Les préférences des consommateurs sont devenues un enjeu primordial pour les industriels en général et les oléiculteurs en particulier, qui pour la plupart ont pour objectifs de ne faire aucun compromis sur les qualités sensorielles de leurs produits, de même façons qu'ils n'en font pas sur les qualités sanitaires.

Afin de receler les propriétés organoleptiques de l'huile enrichie par les grignons, un profil sensoriel a été établi et réalisé, rassemblant les différences existantes entre celle-ci et l'huile d'olive brute. Ceci a conduit aux résultats récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau XI : Résultats de l'analyse sensorielle

	Huile brute	Huile enrichie
Amer	**1**	**2**
Rance	**1**	**1**
Autres	**2**	**3**
Acceptabilité totale	**4**	**4**
Préférence totale	**4**	**4**

Le recueil des résultats, montre que les caractéristiques sensorielles des huiles, brute et enrichie, ont indiqué que l'acceptabilité globale était pratiquement bonne et avec absence de rancissement pour les deux échantillons. Bien que le sous-produit rajouté soit perceptible à une grandeur de 3 sur une échelle de 5 dans l'huile supplémentée, elle reste en effet acceptable et préférée au même titre que l'huile de référence. Cependant, elle présente une légère augmentation de l'amertume qui est associée à la présence d'antioxydants (polyphénols) dont la concentration a augmenté suite à l'enrichissement réalisé **[13]**. Par ailleurs, l'évaluation de cette huile par un panel de dégustateurs qualifiés est nécessaire dans la perspective du développement de ce produit.

CONCLUSION

Conclusion

L'huile d'olive est un jus unique, qui occupe une place certaine parmi les autres huiles. Elle est la plus appréciée grâce à sa valeur nutritionnelle de pointe et surtout ses effets bénéfiques pour la santé. Il est maintenant clair que les acides gras constitutifs de l'huile d'olive à eux seuls, ne sont pas suffisants pour expliquer ces effets, mais il existe une fraction de composés mineurs, avec des fonctions physiologiques et pharmacologiques appropriées. Parmi ces composés, on trouve les polyphénols, qui sont dotés d'un pouvoir antioxydant contribuant à la stabilité oxydative de l'huile mais aussi à des effets bénéfiques pour la santé. Si bien qu'un renforcement de ceux-ci constitue un réel intérêt pour la santé humaine.

Malgré les pertes subies par l'huile d'olive au cours de son procédé d'extraction, nous trouvons ici une alternative simple, toute naturelle, qui consiste en l'enrichissement de l'huile d'olive par les composés phénoliques des grignons d'olive. L'efficacité de cette étude, est appuyée sur l'intégration d'une technique statistique qui est la RMS, qui permet d'obtenir un maximum d'informations, avec un minimum d'expériences.

Le transfert des polyphénols de la matrice à l'huile est influencé par la charge et le temps d'agitation et prend son optimum sous les conditions suivantes :

- Température de 10°C
- Ratio solide-liquide de 25%
- Et un temps d'agitation de 8 heures

Sous ces conditions, les polyphénols sont estimés à 697 ± 5,35 mg d'EAG/kg d'huile, une valeur approximativement proche de celle proposée par le plan (622mg d'EAG/kg d'huile), qui est douze fois plus importante que celle de l'huile témoin (56 ± 4,29 mg d'EAG/kg d'huile). Ce résultat a été confirmé par la capacité antiradicalaire de l'huile enrichie ayant enregistré un potentiel antioxydant important, vis-à-vis du radical stable $DPPH^{\circ}$.

En résumé, ce modeste travail, constitue à la fois une valorisation pour un déchet qui est le grignon, mais aussi une amélioration de la qualité de l'huile d'olive en lui apportant plus de principes actifs, en l'occurrence les composés phénoliques ayant des propriétés antioxydantes.

La présente étude est certainement incomplète, mais reste une porte ouverte pour d'autres travaux ayant les mêmes ambitions, pour cela, il serait intéressant de :

- Déterminer les caractéristiques physicochimiques de l'huile enrichie (indice d'acide, iode, saponification, peroxyde, couleur,…etc.) ;
- Evaluer l'effet du chauffage sur l'huile enrichie (test de friture) ;
- Faire une analyse qualitative des extraits des huiles testées, afin de caractériser les substances transférées ;
- Etudier l'altération des huiles (dosage des produits d'oxydation) ;
- Comparaison de la macération conventionnelle aux nouvelles technologies.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1]- Vincent-Baudry S., Defoort C., Gerber M., Bernard MC., Verger P., Helal O. (2005). The Medi-rivage study : Reduction of cardiovascular disease risk factors after a 3-mo intervention with a Mediterranean-type diet or a low-fat diet. *American Journal Clinical Nutrition,* 82: 964-71.

[2]- Gertz C., Klostermann S., Kochhar S. P. (2000). Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology,* 102(11): 543–551.

[3]- Lopez-Miranda J. *et al*. (2010). Olive oil and health: Summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaen and Cordoba (Spain) 2008. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases,* 20: 284-294.

[4]- O'Connell J.E et Fox P.F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milkand dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11: 103–120.

[5]- Kellie L.T., Peter J. H. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 636–644.

[6]- Covas M.I., Nyyssonen K., Poulsen H.E., Kaikkonen J., Zunft H.J., Kiesewetter H., et al. (2006). The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 145: 333-41.

[7]- Mulinacci N., Romani A., Galardi C., Pinelli P., Giaccherini C., Vincieri F. F. (2001). Polyphenolic content in olive oil waste waters and related olive samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(8), 3509-14.

[8]- Prasad K., Yang B., Yang S., Chen Y., Zhao M., Ashraf M., Jiang W. (2009). Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (Litchi sinensis Sonn.) seeds. *Food Chemistry*, 116: 1–7.

[9]- Sasaki Y., Kawaguchi S., Kamaya A., Ohshita M., Kabasawa K., Iwamaa K., Taniguchi K., & Tsuda S. (2002). The comet assay with 8 mouse organs: Results with 39 currently used food additives. *Mutation Research*, 519 : 103–119.

[10]- Dupont F. et Guignard J-L. (2007). Botanique systématique moléculaire. *Ed(14) Elsevier Masson,* 165-167 pp.

[11]- Lalouche A.G. (2004). La situation du verger oléicole dans la wilaya de Bejaia. Mémoire de fin de cycle, DES. *Université de Bejaia, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie des Organismes et des Populations,* 52p.

[12]- Djadoun S. (2010). Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive assistée par micro-ondes. Thèse de Magister. *Université Mouloud Maameri de Tizi-Ouzou, faculté des Sciences, Département de Chimie.* 65p.

[13]- Conseil Oléicole International. (2005). Méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge extra en appellation d'origine. COI/T.20/Doc. nº 22.

[14]- Conseil Oléicole International. (2012). Production mondiale d'huile d'olive. Tableau 1.

[15]- Da-Peng Yang., De-Xin Kong., Hong-Yu Zhang. (2007). Multiple pharmacological effects of olive oil phenols. *Food Chemistry* 104 : 1269–1271.

[16]- Conseil Oléicole International (COI). (2011). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. COI/T.15/NC n°3/Rév. 6.

[17]- Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. (Juin 2006). Transfert de technologie en agriculture. Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. DL: 61/33, ISSN: 1114-0852.

[18]- Maggio R.M., Kaufman T.S., Del Carlo M., Cerretani L., Bendini A., Cichelli A., Compagnone D. (2009). Monitoring of fatty acid composition in virgin olive oil by Fourier transforme dinfrared spectroscopy coupled with partial least squares. *Food Chemistry,* 114: 1549–1554.

[19]- Beltran G., Jiménez A., del Rio C., Sanchez S., Martinez L., Uceda M., Aguilera Maria P. (2010). Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. *Journal of Food Composition and Analysis,* 23: 633–639.

[20]- Manai-Djebali H., Krichène D., Ouni Y., Gallardo L., Sànchez., Osorio E., Daoud D., Guido., Zarrouk M. (2012). Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia. *Journal of Food Composition and Analysis,* 27: 109–119.

[21]- Moyano M.J., Antonio J. Meléndez-Martínez., Alba J., Francisco J. Heredia. (2008). A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (I): CIEXYZ non-uniform colour space. *Food Research International*, 41: 505–512.

[22]- Owen R. W., Mier W., Giacosa A., Hull W. E., Spiegelhalder B., Bartsch H. (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38 : 647-659.

[23]- Kyi T.M., Ramli W., Daud W., Mohammad A.B., Samsudin M.W., Kadhum A.A.H., Talib M.Z.M. (2005). The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. *International Journal of Food Science and Technology*, Vol(40), 3: 323–331p.

[24]- Sansoucy R. (1984). Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin méditerranéen. *Archives de documents de la FAO*. M-23 ISBN 92-5-201488-8.

[25]- Nefzaoui A. (1984). Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier. In : Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie. *Étude FAO production et santé animales 43*, Rome.

[26]- Trigui A. (2008). PNUD-Tunisie/ANME. Etude en vue de l'élaboration d'un plan d'action pour l'utilisation énergétique des sous-produits de l'oliveraie tunisienne, projet 00058135, (33).

[27]- Archives de documents de la FAO. Département de l'Agriculture.

[28]- Zaidi F., Hassissene N., Allouache H., Kichou M., Ourdani S., Rezki K., Bellal M. M., Grongnet J.F., Youyou A. (2009). Les composés phénoliques, facteur limitant du grignon d'olive chez les ruminants. *Revue Méd. Vét*, 160(2) : 67-73.

[29]- Molina E., Aguilera J.F. (1991). Utilisation des sous-produits de l'olivier dans l'alimentation des ovins. *Options Méditerranéennes - Série Séminaires*, 16 : 163-166.

[30]- Gharbi F.R., Benarif T. (2011). Opportunité économique de l'introduction de grignons d'olive dans l'alimentation des animaux en Tunisie. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. 15(2) : 259-270.

[31]- D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 43(4) : 348-361.

[32]- Robbins R.J. (2003). Phenolics acids in food : An overview of analytical methodologiy. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 51: 2866-2887.

[33]- Rubio L., Motilva M.J., Macia A., Ramo T., Romero M.P. (2012). Development of a Phenol-Enriched Olive Oil with Both Its Own Phenolic Compounds and Complementary Phenols from Thyme. *Journal Agriculture. Food Chemistry*. 60: 3105−3112.

[34]- Vermerris W. et Nicholson R. (2006). Phenolic compound biochemistry. P.O. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands.

[35]- Paris M. et Hurabeille M. (1981). Abrégé de matière médicale, pharmacognosie. *Ed Masson.* Paris. 210–215 pp.

[36]- Pietta P. et Simonettil P. (1999). Dietary Flavonoids and Interaction with Physiologic Antioxidants. *ITBA-CNR Milan, Italy tdiSTAM University of Milan Milan, Italy*.

[37]- Macheix J.J., Fleuriet X.X., Billot J.A. (1990). Fruit phenolics. *CRC press Ine, Boca Raton Florida*, 378 pp.

[38]- Ribbreau-gayon G. (1968). etude des mecanismes de synthese et de transformation de l'acide malique, de l'acide tartrique et de l'acide citrique chez *vitis vinifera* L. *Phytochemistry*, Vol.7, 1471-1482 pp.

[39]- Silva S., Gomes L., Leitao F., Bronse M., Caelho A.V et Boas V. (2010). Secoiridoids in olive seed : Characterization of nüzhenide and 11-methyl oleosides by liquid chromatography with diode array and mass spectrometry. *Grasas y Aceites*, 61 (2) : 157-164.

[40]- Xiuzhen H., Tao S. et Hongxiang L. (2007). Dietary polyphénols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 950-988.

[41]- Montedero G., Anichini F., Fantazzo P. (1980). Composés phénoliques de l'huile d'olive, leur influence sur la technologie d'extraction, sur la résistance à l'oxydation et sur les caractéristiques organoleptiques de l'huile. *Bulletin liaison Groupe Polyphénols*, 9: 39-55.

[42]- Knupp G., Rücker G., Ramos A., Cormenzana S., Garrido Hoyos., Neugebauer M., Ossenkop T. (1996). Problems of identifying phenolic compounds during the microbial degradation of olive mill waste water, *International Biodeterioration and Biodegradation***,** 38: 277-282.

[43]- Michailides M., Christou G., Akratos C.S., Tekerlekopoulou A.G., Vayenas D.V. (2011). Composting of olive leaves and pomace from a three-phase olive mill plant. *International Biodeterioration and Biodegradation,* 65: 560-564.

[44]- Malik S.Y. Haddadin., Haddadin J., Arabiyat O.I., Hattar B. (2009). Biological conversion of olive pomace into compost by using Trichoderma harzianum and Phanerochaete chrysosporium. *Bioresource Technology,* 100 : 4773–4782.

[45]- Miranda T., Arranz J.I., Montero I., Román S., Rojas C.V., Nogales S. (2012). Characterization and combustion of olive pomace and forest residue pellets. *Fuel Processing Technology*, 103 : 91–96.

[46]- Chouchene A. (2012). Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique. Thèse doctorale, *Ecole Nationale d'Ingénieurs de Monastir et de l'université de Haute-Alsace.*

[47]- Servili M., Selvaggini R., Espostoa S., Taticchi A., Montedoroa G.F., 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 A*, 1054: 113–127.

[48]- Rodis P. S., Karathanos V. T. et Mantzavinou A. (2002). Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(3): 596-601.

[49]- Salta F.N., Mylona A., Chiou A., Boskou G. et Andrikopoulos N.K. (2007). Oxidative Stability of Edible Vegetable Oils Enriched in Polyphenols with Olive Leaf Extract. *Food Science and Technology International*, 13: 413.

[50]- Achat S., Tomao V., Madani K., Chibane M., Elmaataoui M., Dangles Olivier., Chemat F. (2012). Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19: 777–786.

[51]- Nevado J.J.B., Robledo V.R., Callado C.S.C. (2012). Monitoring the enrichment of virgin olive oil with natural antioxidants by using a new capillary electrophoresis method. *Food Chemistry*, 133: 497–504.

[52]- Chiou A., Kalogeropoulos N., Salta F.N., Efstathiou P., Andrikopoulos N.K. (2009). Pan-frying of French fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract: Oxidative stability and fate of microconstituents. *LWT - Food Science and Technology,* 42: 1090–1097.

[53]- Japón-Luján R. et Luque de Castro M. (2008). Solid-liquid transfer of biophenols from olive leaves for the enrichment of edible oils by a dynamic ultrasound-assisted approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 56(16): 7231-5.

[54]- Veillet S., Tomao V., Chemat F. (2010). Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatization of olive oil with basil. *Food Chemistry*, 123: 905–911.

[55]- Bouaziz M., Fki I., Jemai H., Ayadi M. et Sayadi S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry,* 108: 253–262.

[56]- Doymaz I., Gorel O., et Akgun N.A. (2004). Drying characterestics of the solid by product of olive oil extraction. *Biosystem Engineering*, 88: 213-219.

[57]- Tsimidou M., Papadopolus G., Boskou D. (1992). Phenolic compounds and stability of virgin olive oil part 1. *Food Chemistry* 45: 141–144.

[58]- Negi, PS., Jayaprakasha, GK., Jena, BS. (2003). Antioxidnt and multimultagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry.* 80: 393-397.

[59]- Plan d'expériences : Mise au point d'une méthode en Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP, HPLC) en vue d'un dosage avec étalon interne. M. Rivière ENCPB / RNChimie.

[60]- Goupy J. (1999). Plan d'expériences pour surfaces de réponses. *Ed Dunod*. Paris. 408p.

[61]- Goupy J. (2006). Les plans d'expériences. *Revue Modulad, 34 :74-116.*

[62]- Chauveau J.C. et Jean-Paul. Chassaing introduction à la méthode des plans d'expériences par la méthode Taguchi. C.N.E.D Génie Electrotechnique. Compléments au cours d'asservissement.

[63]- Elsayed K., et Lacor C. (2010). Application of response surface methodology for modeling and optimization of the cyclone separator for minimum pressure drop. *V European Conference on Computational Fluid Dynamics*.

[64]- Veillet S. (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Thèse de doctorat, *Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.*132p.

[65]- Goupy P., Dufour C., Loonis M., Dangles O. (2003). Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 615–622.

[66]- Molyneux P. (2004.) the use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrasyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin. *Original Article*, 26(2): 211-219.

[67]- Hakiman M. et Maziah M. (2009). Non enzymatic antioxidant activities in aqueous extract of different Ficus deltoidea accessins. *Journal of Medicinal Plants Research,* 3(3):120-131.

[68]- Yodanov H. et Christova A.G. (1997). Quantitative spectrophotometric and EPR-deter mination of 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrasyl (DPPH). *Fresenius Journal Analytical Chemistry*, 358: 610-613.

[69]- Marxen K., Vanselow K.H., Lippermeir K.S., Hintze R., Ruser A et Hansen U-P. (2007). Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal speciesby linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Full research Paper*, 07: 2080-2095.

[70]- Lalas S., Aggelousis G., Gortzi O., Dourtoglou V., et Tsaknis J. (2007). Protection of traditional Greek foods using a plant extract. *Italian Journal of Food Science,* 19 (03): 279–286.

[71]- Tsimidou M. (1998). Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Journal of Food Sciences,* 10 (2): 99-112.

[72]- Johns O. (1999). Xinthin oxidase inhibitory northeastern north American plant remedies used for gout. *Journal of Ethno-Pharmacology*. 64 : 149-160.

[73]- Sacan O., Khan M. R et Khan R. A. (2010). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa apaca* fruits. *Food Chemistry*: 1-7.

[74]- Colodoveo M. L., 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.

[75]- Tovar M. J., Paz Romero M., Girona J. et Motilva M. J. (2002). L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developping olive (*Olea europea. L. cv Arbequina*) fruit grown under different irrigation rigimes. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 82: 892-898.

[76]- Larrauri J.A., Rupérez P., Saura-Calixto F. (1997). Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45* (4), 1390–1393 pp.

[77]- Meziti A. (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Etude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister en Biochimie Appliquée, *Université El-Hadj Lakhdar de Batna*, 71p.

[78]- Wang. J et Wan. W. (2009). Application of desirability function based on neural network for optimizing biohydrogen production process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34 (03): 1253-1259.

[79]- Silva E. M., Rogez H. et Larondelle Y. (2007). Optimization of extraction of phenolic frominga edulis leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55 : 381-387.

[80]- Li. H. B., Wonga C. C., cheng K. W et Chen. F. (2008). Antioxydant proprieties in vitro and total phenolic ontenents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technolog**y***, 41: 385-390.

[81]- CaiY., Luo Q., Sun M. et Corke H. (2004). Antioxydant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74 : 2157-2184.

[82]- Ksouri. R., Megdiche. W., Debez. A., Fellah. H., Grignon. C et Abdelly. C. (2007). Salinity effects on polyphenol continent and antioxidant activities in leaves of the halophyte Cakile maritime. *Plant physiology and biochemistry*, 45 : 244-249.

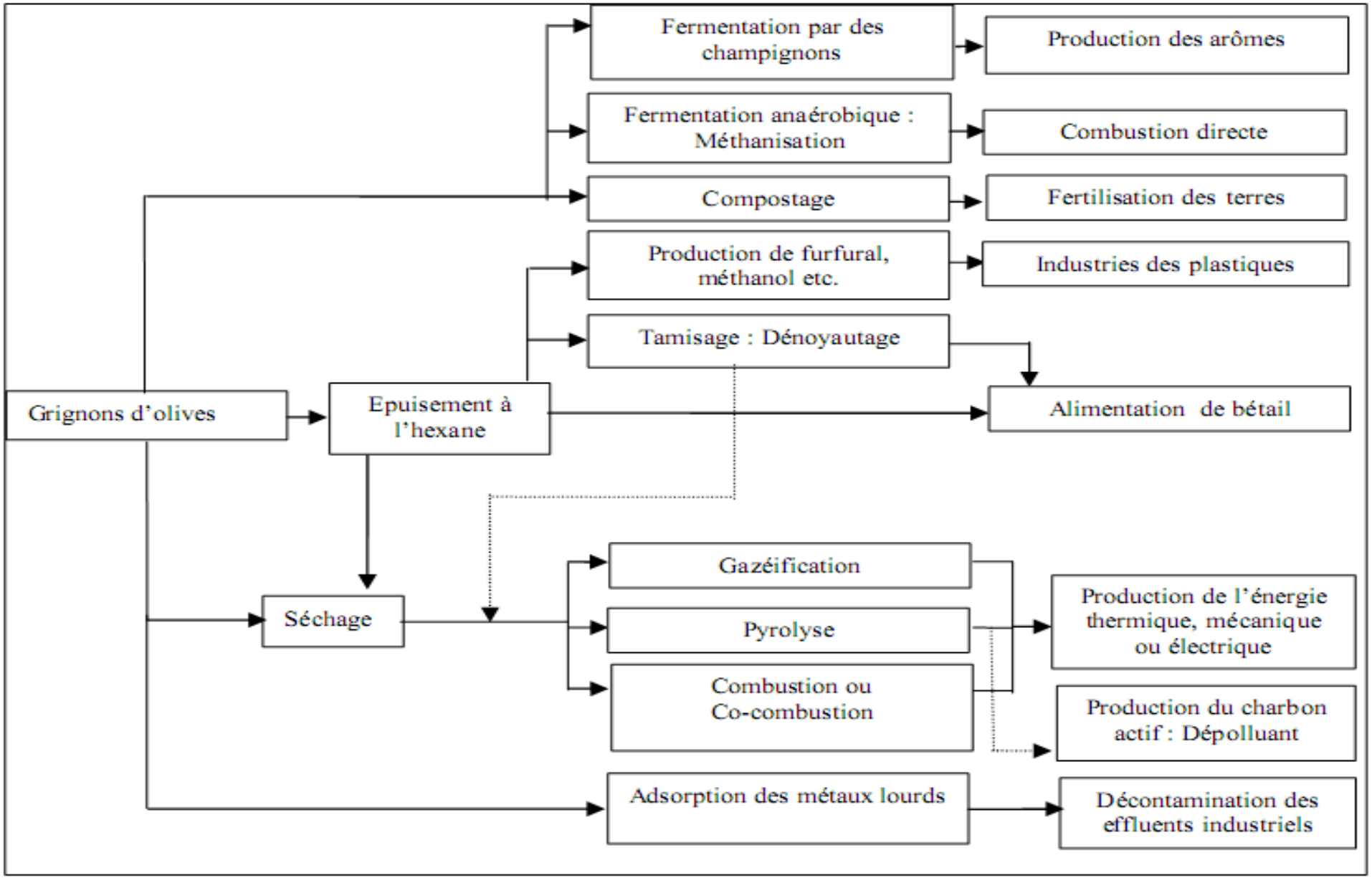
[83]- Lim D.H., Choi D., Choi O. Y., Cho K. A., Kim R., Choi H. S. et Cho H. (2011). Effect of *Astragalus sinicus L.* seed extract on antioxydant activity. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 17: 510-516.

ANNEXES

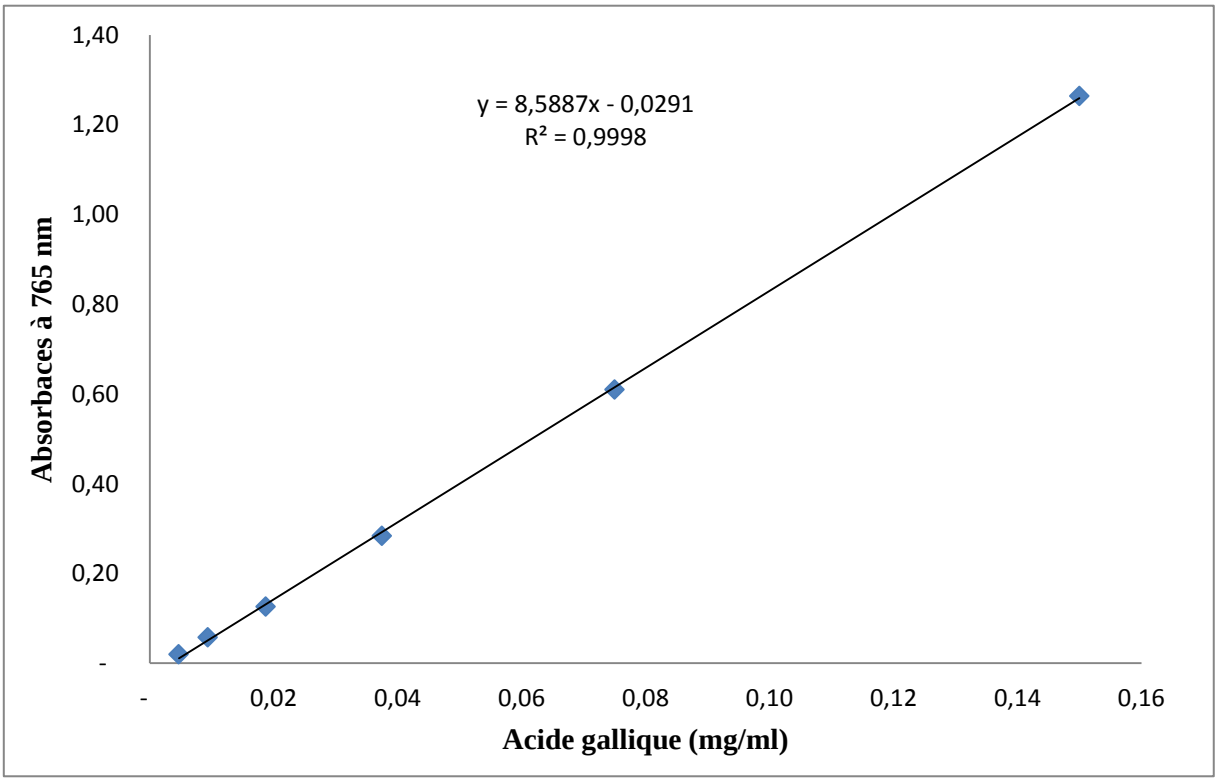
Annexe 1 : Caractéristiques et limites prévues par la norme commerciale internationale applicable aux huiles d'olive et grignons d'olive **[16]**

	Huile d'olive vierge extra	**Huile d'olive vierge**	**Huile d'olive vierge courante**	**Huile d'olive vierge lampante**	**Huile d'olive raffinée**	**Huile d'olive**	**Huile de grignons d'olive brute**	**Huile de grignons d'olive raffinée**	**Huile de grignons d'olive**
Caractéristiques organoleptiques **- Odeur** **- Gout** **- couleur**	Irréprochable Irréprochable Claire (jaune à vert)	Irréprochable Irréprochable Claire (jaune à vert)	Bonne Bon Claire (jaune à vert)	Défectueuse Défectueux	Acceptable Acceptable Claire (jaune à vert)	Bonne Bon Claire (jaune à vert)		Acceptable Claire (jaune à vert)	Bonne Claire (jaune à vert)
Acidité libre en % exprimée en acide oléique	≤ 0,80	≤ 0,20	≤ 3,30	> 3,30	≤ 0,30	≤ 1,00	Non limitée	≤ 0,30	≤ 1,00
Indice de peroxyde en meq d'O_2 de peroxyde par kg d'huile	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité	≤ 5	≤ 15	Non limité	≤ 5	≤ 15
Absorbance dans l'ultraviolet **- à 270nm** **- à 232nm**	≤ 0,22 ≤ 2,50	≤ 0,25 ≤ 2,60	≤ 3,00		≤ 1,10 ≤ 0,16	≤ 0,90 ≤ 0,15		≤ 2,00 ≤ 0,20	≤ 1,70 ≤ 0,18
Teneur en eau et en matière volatile %	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,15	≤ 0,10	≤ 0,10
Traces métalliques mg/kg **- Fer** **- Cuivre**	≤ 3,00 ≤ 0,10	≤ 3,00 ≤ 0,10	≤ 3,00 ≤ 0,10	≤ 3,00 ≤ 0,10	≤ 3,00 ≤ 0,10	≤ 3,00 ≤ 0,10	≤ 3,00 ≤ 0,10	≤ 3,00 ≤ 0,10	≤ 3,00 ≤ 0,10

Annexe 2 : Différentes voies de valorisation des grignons d'olive **[40]**



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Annexe 4 : Profil sensoriel (carte sensorielle)

Feuille de profil : Analyse sensorielle de l'huile d'olive

Echantillon 1

Attributs	Intensité de perception				
	1	2	3	4	5
Amer					
Autres					
Acceptabilité totale					
Rance					
Préférence totale					

Echantillon 2

Attributs	Intensité de perception				
	1	2	3	4	5
Amer					
Autres					
Acceptabilité totale					
Rance					
Préférence totale					

Notes explicatives :

Rance : propre aux huiles ayant subi un processus d'oxydation

Autres : qui proviennent des sous-produits d'olive mélangés à l'huile d'olive

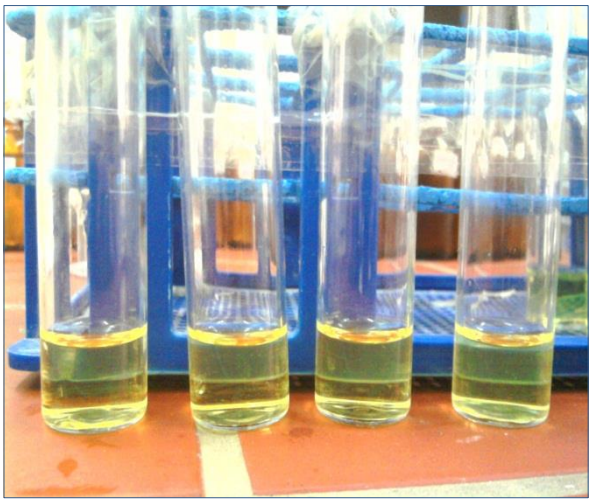
Sous-produits : Feuilles d'olivier, Margines, Grignons d'olive

Annexe 5 : Extraction

Les phases : méthanolique et hexanique

Dispositif de filtration

Annexe 6 : Dosage



Ajout du réactif de Folin Ciocalteu

Ajout de Carbonate de Sodium

Résumé

La possibilité d'améliorer la valeur nutritionnelle de l'huile d'olive en l'enrichissant par les composés phénoliques des grignons d'olive a été étudiée. L'efficacité de cette étude est appuyée sur l'utilisation de la méthode de surface de réponse (RMS). L'analyse de la variance a confirmé que la contribution d'un modèle quadratique était significative pour la réponse. Les conditions optimales basées sur des réponses de combinaison étaient : une température de 10°C, un ratio de 25% et un temps d'agitation de 8 heures. Sous ces conditions, les polyphénols totaux ont été passé de 56 ± 4,29mg d'EAG/kg d'huile à 697 ± 5,35mg d'EAG/kg d'huile qui est raisonnablement proche de la valeur prédite (621mg d'équivalent gallique d'acide/kg d'huile). En outre, le test de DPPH réalisé, a confirmé son enrichissement en antioxydants. L'évaluation sensorielle de cette huile a montré une légère augmentation de l'amertume mais reste acceptable et préférable au même titre que l'huile d'olive vierge.

Mots clés : Enrichissement, Huile d'olive, Grignon, Composés phénoliques.

Abstract

The possibility to improve the nutritional value of olive oil by enriching it in phenolic compounds from olive pomace was studied. The Response Surface Methodology (RMS) has being used to investigate the performance of this study. The analysis of the variance showed that the contribution of a quadratic model was significant for the response. The optimal conditions based on combination responses were: temperature of 10°C, ratio of 25% and maceration time of 8 hours. With these conditions, the total polyphenols was passed from 56 ± 4,29mg of Gallic Acid Equivalent/kg of oil to 697 ± 5,35mg of Gallic acid Equivalent/kg of oil which reasonably close to the predicted value (621mg of Gallic Acid Equivalent/ kg of oil). Furthermore, the radical-scavenging activity of the processed oil (DPPH test) confirmed its enrichment in antioxidants. The sensory evaluation of this oil showed a slight increase in the bitterness, but remains acceptable and preferable as well as the virgin olive oil.

Keywords: Enrichment, Olive oil, Olive pomace, Phenolic compounds.