

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



Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés
Laboratoire des Matériaux Polymères Avancés

Mémoire

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie Alimentaire

Présenté par

OUTEMZABET Abdenour

CHAOUADI Katia

Thème

Enrichissement de l'huile d'olive d'extraits de feuilles d'olivier sauvage

Soutenue le 09/07/2024

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mme N. ROUBA	MCA	Université de Bejaia	Président
Mme L. ARKOUB	MCA	Université de Bejaia	Examineur
Mme Z. BEY	MAA	Université de Bejaia	Encadrant

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

à Madame Z. BEY

Pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail

Pour nous avoir encadrer

Veillez accepter nos remerciements et trouver ici le témoignage de notre respect

à Madame L. ARKOUB

Pour avoir accepté de juger cette recherche

Pour votre intérêt à ce travail et votre disponibilité

Veillez accepter nos remerciements et notre profonde reconnaissance

à Madame N. ROUBA

Pour avoir accepté de juger cette recherche

Acceptez nos remerciements

A toutes les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin a réalisé ce travail.

A tous nos professeurs.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chères, je cite :

- ✓ *Mes chers parents, symboles de courage et de Volonté, qui ont consacré et sacrifié leurs vies pour nos bien être. que dieu les protègent.*
- ✓ *Mes chères sœurs « chahinez, Ilissane,».*
- ✓ *Mes tantes, cousins et cousines.*
- ✓ *Toutes mes familles grandes et petites.*
- ✓ *A ma meilleur ghania.*

*A notre promotrice Mme BEY pour son encadrement tout au long de ce travail.
A toute personne qui m'aime et que j'aime.*

*A MON camarade Abdenour
Comme je dédie également au terme de reconnaissance mes Camarade de
Spécialité génies alimentaire (2024).*

Katia

Dédicaces

à mes parents

Pour votre présence et votre soutien durant ces nombreuses années d'études

Pour votre dévouement

Que ce travail soit le témoignage de mon affection et de ma reconnaissance

à mon frère Bouzid et ma sœur

pour leurs soutiens

à ma grande mère

pour son soutien

à dada Nacer

pour son aide

à ma famille

à mes ami(e)s

à ma camarade katia

« A mes camarades de guerre

qui ont souffert la peine amère

dans l'espoir de le la paix

j'offre ce rameau d'olivier »

(M. Vanille, L'éloge de l'olivier, 1939)



Abdenour-Zindine

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Introduction..... 1

Première Partie : Recherche bibliographique

Chapitre I : Olivier sauvage

I.1. Historique et origine	3
I.2. Classification botanique de l'olivier	4
I.3. Olivier Sauvage ou Oléastre	5
I.4. Critères d'identifications Ide la forme sauvage et cultivé de l'olivier	6
1.5. L'olivier et les métabolites secondaires- Profil bioactif des feuilles	8
I.5.1. Propriétés antioxydante des polyphénols	8
I.5.2. Polyphénols dans les feuilles d'olivier	8
I.6. Autres constituants des feuilles	11
I.6.1. Éléments minéraux.....	11
I.6.2. Acides gras	11

Chapitre II : Huile d'olive

II.1. Généralités sur l'huile d'olive	13
II.2. La répartition géographique et la production de l'huile d'olive dans le monde et en Algérie	13
II.3. Classification de l'huile d'olive	14
II.3.1. L'huile d'olive vierge	14
II.3.1.1. Huile d'olive extra vierge	14
II.3.1.2. Huile d'olive vierge courante.....	14
II.3.1.3. Huile d'olive vierge lampante	14
II.3.2. Huile d'olive raffinée.....	14
II.4. Critères de qualité de l'huile d'olive	15
II.5. Procèdes d'extraction de l'huile d'olive.....	15
II.5.1. Broyage des olives.....	16
II.5.2. Malaxage	16
II.5.3. L'extraction (Séparation des phases).....	16
II.5.3.1. L'extraction par pression	16
II.5.3.2. Système d'extraction par centrifugation	17

II.6. La composition chimique de l'huile d'olive.....	18
II.6.1. La fraction saponifiable	18
II.6.1.1. Les acides gras	18
II.6.1.2. Les triglycérides	19
II.6.2. La fraction insaponifiable	20
II.6.2.1. Les pigments	20
II.6.2.2. Les Stérols.....	20
II.6.2.3. Les tocophérols	20
II.6.2.4. Les hydrocarbures	21
II.7. Conservation et stockage d'huile d'olive	21
II.8. Oxydation d'huile d'olive	22
II.8.1. Types d'oxydation	22
II.8.1.1. Auto- oxydation	22
II.8.1.2. Photo –oxydation	23
II.8.1.3. Oxydation enzymatique	23

Deuxième Partie : Expérimentation

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Matière végétale.....	24
III.2. Préparation et extraction	24
III.2.1. Préparation des feuilles	24
III.2.2. Méthode d'extraction.....	25
III.3. Rendement des extractions.....	25
III.4. Analyses sur la poudre des feuilles séchées.....	26
III.4.1. Humidité (AFNOR, 1986).....	26
III.4.2. pH (NF V 05-108, 1970).....	26
III.4.3. Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101,1974)	26
III.4.4. Teneur en cendres (NF V 05-113,1972).....	27
III.4.5. Détermination de la teneur en chlorophylle a et b.....	28
III.5. Analyses qualitatives.....	28
III.5.1. Dosage des flavonoïdes	28
III.5.2. Dosage des composés phénoliques.....	29
III.5.3. Caractérisation phytochimique	29
III.5.3.1. Flavonoïdes (Réaction à la cyanidine).....	29

III.6. Evaluation de l'activité antioxydante	30
III.6.1. Piégeage du radical DPPH (diphényl picryl-hydrazyl)	30
III.6.2. Pouvoir réducteur	31
III.6.3. Activité antioxydante totale (Molybdate).....	32
III.7. Enrichissement de l'huile d'olive	32
III.7.1. Analyses chimiques	33
III.7.1.1. Indice d'acide	33
III.7.1.2. Indice de peroxyde.....	33
III.7.1.3. Détermination du coefficient d'extinction spécifique	34
III.7.2. Densité.....	35

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Caractérisation de la poudre	36
IV.1.1. Teneur en eau	36
IV.1.2. Teneur en matière sèche.....	36
IV.1.3. Taux des cendres	36
IV.1.4. pH.....	36
IV.1.5. Acidité titrable.....	36
IV.1.6. Matière organique	37
IV.1.7. Teneur en pigment liposolubles	37
IV.2. Rendement des extractions	37
IV.3. Analyses qualitatives	39
IV.3.1. Caractérisation phytochimique.....	39
IV.3.2. Dosage des composés phénolique.....	39
IV.5. Activité antioxydante	41
IV.6. Enrichissement de l'huile d'olive	42
IV.6.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive enrichie	42
IV.6.3. Densité.....	42
IV.6.2. Analyses chimiques.....	43
IV.6.2.1. Acidité et indice de peroxyde	44
IV.6.2.2. Suivie de l'oxydation des huiles par le coefficient des extinctions spécifiques	45

Conclusion	48
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I : Critères morphologiques de classement des oliviers en olivier cultivé, sauvage ou féral.....	7
Tableau II : Différences morphologiques entre l'olivier cultivé et l'olivier sauvage (oléastre)	7
Tableau III : Données physico-chimiques de classification des huiles	15
Tableau IV : Composition de l'huile d'olive en acides gras	19
Tableau V : Les principaux triglycérides retrouvés dans l'huile d'olive.....	20
Tableau VI : Résultats des paramètres physicochimiques des feuilles d'olive sauvage.....	36
Tableau VII : Tests photochimiques d'extrait méthanol eau et acétone eau	39
Tableau VIII : Teneurs en composés phénoliques des extraits de feuilles d'oléastre.....	40
Tableau IX : résultats des activités antioxydantes	41
Tableau X : Normes chimiques de l'huile d'olive.....	47

Liste des figures

Figure 1 : Taxonomie d' <i>Olea europaea</i>	4
Figure 2 : Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen.....	5
Figure 3 : Structure chimique de l'oleuropéine et le verbascoside.....	9
Figure 4 : Structure chimique de diosmétine.....	9
Figure 5 : Structure chimique de Rutine.....	10
Figure 6 : Structure chimique de catéchine	10
Figure 7 : Structure chimique de Tryosol hydroxytyrosol et de l'acide caféique	10
Figure 8 : Structure chimique de l'acide linoléique et de l'acide oléique	11
Figure 9 : Structure chimique de l'oléine	12
Figure 10 : Répartition de la zone oléicole en Algérie	14
Figure 11 : Le malaxage des olives	16
Figure 12 : Diagramme de système d'extraction discontinue par pression.....	17
Figure 13 : Principaux processus d'extraction de l'huile d'olive	18
Figure 14 : Réaction de formation de triglycéride.....	19
Figure 15 : Structure générale d'un tocophérol	21
Figure 16 : Structure de squalène	21
Figure 17 : Schéma général de l'oxydation des lipides	23
Figure 18 : Localisation de la récolte des feuilles	24
Figure 19 : Arbre de l'olivier sauvage utilisée	24
Figure 20 : Protocol d'extraction des feuilles d'olivier sauvage	25
Figure 21 : Réduction du DPPH.....	31
Figure 22 : Rendement des extraits des feuilles d'olivier sauvage <i>Olea europea</i> var. <i>sylvestrisa</i>	38
Figure 23 : Suivie de la densité de l'huile d'olive enrichie	43
Figure 24 : Evolution des paramètres de stabilité de l'huile au cours de stockage	44
Figure 25 : Les coefficients d'extinction spécifique.....	45

Liste des abréviations

UV : Ultraviolet.

COI : Conseil oléicole international.

Min : Minimum.

Max : Maximum.

Mo : Matière organique.

PE : Prise d'essai.

EHA : Extrait hydro-acétonique

EHM : Extrait hydro-méthanolique

ES : Extrait sec.

AIC : Chlorure d'aluminium.

MoO₄²⁻ : Molybdate.

ROO* : Radical peroxy.

Mm : Millimètre.

pH : Potentiel hydrogène.

Cd : Cendres.

DPPH : 1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl.

AAT : Activité antioxydant total.

IC50 : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux libre.

OOO : Trioléine.

POO : Dioléopalmitine.

OOL : Dioléolinoleine.

SOO : Dioléostéarine.

Mg EAG : Milligramme équivalent acide gallique.

mgEAA : Milligramme équivalent acide ascorbique.

EHA : Extrait hydro-acétonique.

EHM : Extrait hydro-méthanolique.

FAO : Food and Agriculture organization.

JORA : Journal officiel de la république algérienne.

Introduction

L'olivier (*Olea europaea* L.) fait partie des arbres les plus répandus dans le bassin Méditerranéen, il est cultivé depuis la plus haute antiquité et comprend deux formes : cultivée (*var. Europaea*) et sauvages (*var. Sylvestris*) (**Chiappetta et Muzzalupo, 2012**). Les oléastres diffèrent des oliviers cultivés par la présence de jeunes pousses, de petits fruits, une teneur relativement faible en huile et une meilleure capacité à survivre dans les environnements difficiles (**Terral et Arnold-Simard, 1996**).

L'huile est une composante essentielle du régime alimentaire méditerranéen, elle est riche en acides gras insaturés et composés bioactifs tels que la vitamine E et les polyphénols (**Ghedira, 2008**). Sa production et sa transformation en huile ont un impact socio-économique très important en Algérie. Il est donc impératif pour l'Algérie, d'un point de vue économique, de garantir des conditions optimales pour obtenir des huiles de haute qualité (**Sekour, 2012**).

L'oxydation est la cause principale de détérioration des huiles. En effet, cette dégradation oxydative dépend de plusieurs facteurs tels que les acides gras libres, le degré d'insaturation de l'huile, la température ambiante, l'oxygène de l'atmosphère ainsi que l'exposition à la lumière du jour (**Kalogianni et al., 2009**). En effet, la conséquence de cette dégradation est la perte des qualités organoleptiques, nutritionnelles et hygiéniques (**Warner, 2009**). Cependant, la quantité des antioxydants naturels n'est pas toujours suffisante pour stabiliser les huiles, d'où la nécessité d'addition des antioxydants synthétiques. Du fait de leurs avantages (**Augustin et Berry, 1983**). Malheureusement, plusieurs rapports indiquent que ces antioxydants peuvent avoir des effets cancérigènes (**Reddy et al., 2005**), ce qui a conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (**Boudjouref M, 2011**).

En tenant compte du fait que les sous-produits de l'oléiculture (feuilles) constituent une charge écologique majeure, il a été conduit aux modalités possibles de leur valorisation, au-delà de leur utilisation comme alimentation animale, un avis scientifique approfondi sur la question était nécessaire.

La présente étude est menée pour l'objectif de caractériser les feuilles d'olivier sauvage de la région de Boulezazene à l'est de Béjaia, évaluer leurs activité antioxydante et de les valoriser par l'enrichissement dans une huile d'olive et poursuivre l'évolution de son oxydation en étudiant le coefficient d'extinction, l'indice d'acide et de peroxyde au cours de deux mois.

notre étude est composée de quatre chapitres :

- Le premier chapitre de Ce manuscrit consiste en une synthèse bibliographique sur L'olivier Sauvage et ses caractéristiques.
- Le second présente des généralités sur l'huile d'olive
- Le troisième illustre les techniques utilisées pour la détermination des caractéristiques des extraits des feuilles d'olivier sauvage et l'enrichissement de l'huile d'olive avec ces extraits.
- Le quatrième chapitre présente les résultats obtenus et leurs interprétations.

Chapitre I : Olivier sauvage

I.1. Historique et origine

L'origine du terme olivier viendrait de « Elaiwon », devenu « Elaia » chez les Grecs antiques puis « olea » chez les Romains. Le premier mot pour Olea est apparu sur des tablettes d'argile trouvées en Grèce datées du XIII^{ème} siècle (**Rhizopoulou, 2007**).

L'Olivier est considéré comme l'arbre typique du bassin méditerranéen (**Breton et al., 2009**). Les premières traces de cet arbre datent de 37 000 ans avant Jésus Christ, des feuilles fossilisées sont découvertes dans les îles de Santorin, en Grèce (**Amouretti et Comet, 2000**). Bien que les historiens et les archéologues ne soient pas unanimes sur le pays d'origine de l'olivier, l'histoire de la méditerranée a toujours été liée à la culture de celui-ci. Du fait des conditions climatiques adéquates, le sol méditerranéen est un terrain de prédilection pour la croissance de l'olivier. Sa culture a ainsi été transplantée dans des pays à climat semblable (**Bolmont et al., 1998, Breton et al., 2009**). A travers les différentes civilisations phénicienne, grecque et romane, l'implantation de l'olivier se généralise, et ce dernier devient un pilier de la diète méditerranéenne (**Kailis, 2017**). Les formes cultivées et sauvages de l'olivier sont considérées comme deux variétés de la sous espèce *Olea europaea* appartenant à la famille des Oleaceae (**Zohary, 1994 ; Médail et al., 2001**).

L'origine de l'olivier s'est perdue au cours des siècles, mais elle a toujours été inextricablement liée à l'expansion et à la vie des peuples autour de l'olivier. À l'expansion et à la vie des peuples du pourtour méditerranéen.

De Candolle dans son étude "Les racines des plantes cultivées", ainsi que d'autres auteurs historiques, considèrent comme le lieu d'origine le plus probable de l'olivier.

Les oliviers sauvages sont disséminés dans tout le bassin méditerranéen, au nord, sur la côte nord de l'Afrique, en Espagne, dans le sud de l'Italie, en Grèce et surtout en Turquie et dans les régions de Syrie et d'Asie mineure.

La présence de l'olivier en Afrique du Nord est documentée dès le XII^{ème} millénaire. (**Camps-Fabrer 1953**), mais selon Pline sa culture était inconnue en Afrique du Nord au VI^{ème} siècle avant JC. La même chose est confirmée par Diodore le Sicilien pour la fin du V^{ème} siècle avant JC, en ajoutant deux éléments supplémentaires, à savoir qu'à cette époque le pétrole était importé en Afrique du Nord depuis la ville grecque d'Akraganta et qu'à la fin du 4^{ème} siècle avant JC, l'Afrique du Nord était désormais remplie d'oliviers (**Blánquez 1996**).

En Algérie, l'oléastre véritable aurait existé depuis des millénaires avant notre ère, mais aucune indication ne permet d'en comprendre l'évolution (**Mendil et Sebai, 2006**). Son importance dans l'alimentation des anciens habitants de Djerba, en Tunisie, a qui, en pressant ses fruits,

obtenaient de l'huile, a été déjà citée (**Bouderibila, 2004**) d'autres noms sont utilisés selon les lieux : azeboj, azeboch, ahechad.

On peut trouver des oliviers sauvages disséminés dans de nombreux endroits principalement dans les zones non cultivées, sur les pentes rocheuses et dans les fissures des falaises calcaires. Le type sauvage, un complexe de formes non cultivées et chétif, classé conventionnellement comme *Olea europaea* var. *oleaster* ou *sylvestris*, est un composant de la végétation méditerranéenne (**Bronzini et al., 2002 ; Breton et al., 2006**).

I.2. Classification botanique de l'olivier

L'olivier appartient à la famille des oléacées : plante dicotylédone, tout comme le frêne et le jasmin, comprenant plus de 30 genres et 600 espèces, au sein du clade des Astérides (**Rabiei et Tahmasebi, 2012**).

L'*Olea europaea*, est la principale espèce produisant suffisamment de fruits pour être comestible (**Vossen, 2007**) et l'unique espèce dont le fruit produit de l'huile d'olive (**Rabiei et al., 2012**). Elle comporte six sous-espèces (**Chiappetta et Muzzalupo, 2012 ; Kailis, 2017**) dont la sous-espèce *europaea* qui est cultivée en méditerranée. Cette dernière comprend deux formes qui coexistent : la forme sauvage « oléastre », également appelée « *Sylvestris* » ou « variété *sylvestris* » et la forme cultivée, appelée sous-espèce « *europaea* » ou « variété *europaea* /*sativa* » (Figure 1) (**Chiappetta et Muzzalupo, 2012**).

- **Clade** : Asteridae
- **Famille** : Oleaceae
- **Genre** : *Olea*
- **Espèce** : *europaea*
- **Sous-espèce** : *cuspidata*
cerasiformis
guanchica
laperrinri
maroccana
europaea : **variété** : - *europaea* (*sativa*)
- *sylvestris*

Figure I.1 : Taxonomie d'*Olea europaea* (Chiappetta et Muzzalupo, 2012).

I.3. Olivier Sauvage ou Oléastre

Le nom d'oléastre est généralement attribué aux formes d'apparence spontanée, en buissons souvent épineux et à petits fruits (**Chevalier, 1948**). L'olivier sauvage se distingue par sa résistance aux environnements difficiles tels que la sécheresse, le froid, les sols etc. Il est caractérisé par sa longévité, il peut dépasser dans certain cas, les 1000 ans (**Chiappetta et Muzzalupo, 2012**).

L'oléastre est retrouvé sous deux formes non distinguables morphologiquement, « oléastre vrai » qui est la forme sauvage naturelle et « l'oléastre féral », forme cultivée retournée à l'état sauvage. La distinction morphologique des deux formes n'est pas stricte, plusieurs auteurs ont supposé que l'oléastre eût servi de départ à la multiplication des meilleurs arbres pour constituer les premiers cultivars (**Besnard et al., 2000**).

Dans les zones semi-arides comme dans le sud de l'Espagne et en Afrique du nord, les oléastres peuvent être rencontrés sur les rives des cours d'eau, ils poussent généralement sur des terrains relativement pauvres à reliefs accidentés, ils se reproduisent par voie sexuée à partir des semences (graines) dispersées par le vent et les oiseaux (**Durant et Terral, 2005**).

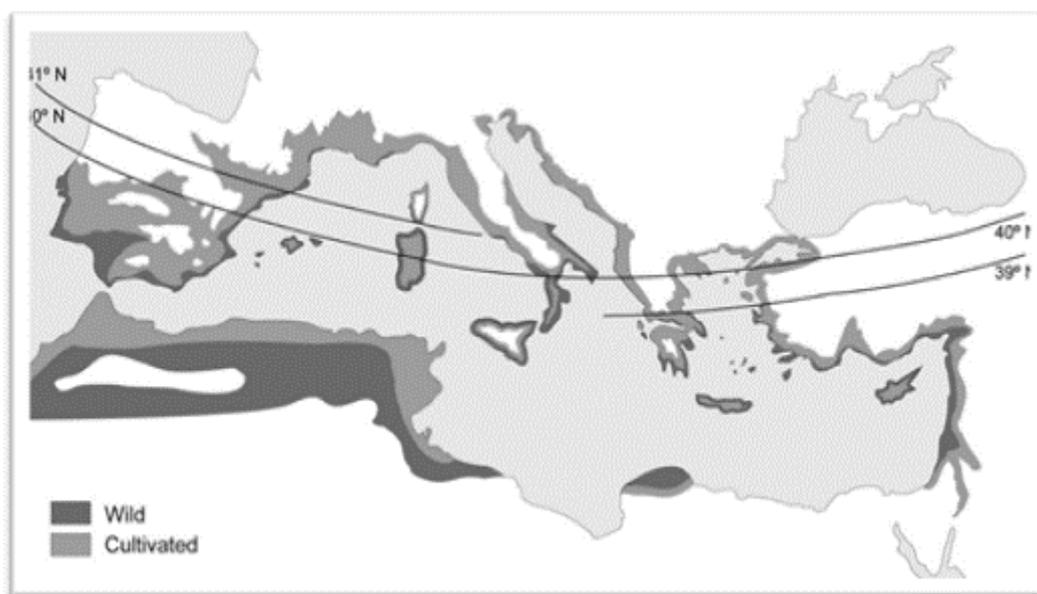


Figure I.2 : Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen.
(Carrion et al., 2010).

I.4. Critères d'identifications de la forme sauvage et cultivé de l'olivier

L'olivier sauvage se distingue morphologiquement de l'olivier cultivé, c'est un arbrisseau aux rameaux épineux, aux feuilles étroites et courtes, aux fleurs plus petites et à l'écorce plus fine et plus grise que celle de l'olivier cultivé (**Bolmont et al., 1998**). Toutefois, les relations génétiques entre les deux variétés restent floues, les arbres ne peuvent pas être attribués par la morphologie seule à l'une ou à l'autre forme (**Breton et al., 2006**).

Néanmoins, l'étude de la diversité moléculaire de cultivars et d'oléastres révèle que les cultivars s'apparentent aux oléastres (**De Caraffa et al., 2002 ; Breton et al., 2006**). En effet, il arrive fréquemment qu'un oléastre, dès qu'il reçoit des soins d'entretien : labour de la terre, fumures, taille de l'arbre, prenne un tout autre aspect. Ses fruits deviennent plus gros, son port se modifie, et il n'émet plus de buissons épineux au pied. Il peut alors être exploité et peut être classé dans le groupe des *Olea sativa* (**Chevalier, 1948**). Il semblerait donc naturel d'admettre que l'oléastre est la forme primitive de l'olivier et que ce dernier n'est que le résultat d'une transformation progressive due à l'influence de sa culture (**D'Aygalliers, 2013**).

L'olivier cultivé est un arbre de 5 à 15 mètres d'hauteur, à tronc tortueux et à écorce grisâtre, crevassée, muni de feuilles, blanches argentées à la face inférieure, vert grisâtre à la face supérieure, persistantes de 2 à 3 ans, coriaces, lancéolées, avec des petites fleurs blanches, à quatre pétales, réunies en grappes dressées, chaque grappe donne un fruit, l'olive, de forme ovoïde, et de couleur verte puis noire à maturité, a noyau dur fusiforme, sa taille finale dépend du cultivar, de la qualité du sol et de la disponibilité en eau (**Ghedira, 2008**). Sa longévité et sa productivité dépassant la centaine d'années et la production commence après 5 à 6 ans de plantation (**Fabri et al., 2009**).

Les botanistes ont regroupé l'olivier et l'oléastre dans la même sous espèce *europaea*, Néanmoins, des différences morphologiques, biologiques et génétiques séparent ces deux variétés (**Dabbou et al., 2011**). (Figure I.2)

L'étude menée par **Hannachi et al. (2008)**, montre qu'en se basant sur la morphologie, les oléifères des agroécosystèmes (oléastre féral) se regroupent dans une position intermédiaire entre les cultivars et les oléifères des écosystèmes naturels. Cependant, le même auteur affirme en 2013 que les critères pomologiques (taille de la drupe du noyau, forme du mésocarpe) ne sont pas efficaces pour distinguer entre oléastre et olivier cultivé. Ces paramètres sont plus efficaces uniquement pour différencier entre la forme sauvage vraie et l'olivier cultivé (Tableau I.1).

Tableau I.1 : Critères morphologiques de classement des oliviers en olivier cultivé, sauvage ou féral (Hannachi *et al.*, 2013)

Critère	Olivier cultivé	Oléastre vrai	Oléastre féral
Architecture de l'arbre	Arbre allant jusqu'à 15 mètres de haut avec un à plusieurs troncs.	Arbuste souvent dense, ramifié et épineux ou arbre jusqu'à 15 m de haut.	Arbuste ou arbre.
Taille du fruit (cm)	1,2 à 4	< 1,5	1,2 à 2
Mésocarpe	Epais et charnu	Charnu	Charnu
Ecosystème	Agro	Naturel	Agro-nature
Teneur en huile	> 10	< 15	> 10

Tableau I.2 : Différences morphologiques entre l'olivier cultivé et l'olivier sauvage (oléastre)

Critères	Olivier cultivé	Oléastre vrai	Oléastre féral
Arbre			
Feuilles			
Fruit			

a, b, g, h, i : Critères de l'olivier cultivé et sauvage (oléastre féral) (photos originales).
c, d, e, f : Critères de l'olivier cultivé et sauvage (oléastre vrai) (© atlas-sahara.org).

1.5. L'olivier et les métabolites secondaires- Profil bioactif des feuilles

L'olivier est l'arbre prédominant de la région méditerranéenne, une région avec de longues périodes d'ensoleillement et des taux élevés d'attaques d'insectes, de champignons et des micro-organismes pathogènes. Pour faire face à tous ces facteurs de stress, l'olivier synthétise de grands volumes de polyphénols, qui sont stockés principalement dans ses feuilles épaisses (**Difonzo et al., 2017 ; Boss et al. 2016**).

Les constituants phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires issus de trois voies métaboliques chez les plantes pentose phosphate, shikimique et phényl propanoate. Ils contribuent de manière décisive à la morphologie et à la physiologie des plantes (**Balasundram, Sundram, & Samman, 2006**).

I.5.1. Propriétés antioxydante des polyphénols

Les propriétés réductrices des groupes hydroxyles et les corrélations structurelles entre les différentes parties de sa structure chimique confèrent aux polyphénols une activité antioxydante (**Benavente-Garcia et al., 2000**), celle-ci dépend de la présence ou l'absence d'acide glycosidique, du site de glycosylation, du nombre et la localisation des sites de glycosylation, et aussi du nombre et de la localisation des hydroxyles libres et estérifiés (**Benavente-Garcia et al., 2000**).

I.5.2. Polyphénols dans les feuilles d'olivier

- **Facteurs biotiques et abiotiques**

Les constituants phénoliques peuvent être divisés en deux groupes : les phénols préformés qui sont synthétisés au cours du développement normal des tissus végétaux et induits synthétisés en réponse aux conditions naturelles, des tissus végétaux, développement de la plante ou lorsque la plante est exposée à des conditions stressantes (les métaux lourds, la température, la salinité élevée, les rayons UV, etc).

La composition des plantes en composés phénolique peut impliquer des facteurs intrinsèques, mais elle est souvent causée par des facteurs biotiques ou abiotiques qui mettent la plante "en alerte" (**Lattanzio et al. 2006 ; Treutter. 2006**).

Par facteurs abiotiques les éléments chimiques et physiques non vivants de l'environnement qui affectent les organismes vivants et la fonctionnalité de l'écosystème. Les organismes vivants et la fonctionnalité de l'écosystème, tels que le sol, l'eau et l'humidité, etc. En revanche, les facteurs biotiques sont des êtres vivants qui affectent d'autres organismes tels que les champignons, les bactéries et même les animaux et les humains (**Talhaoui et al., 2015**).

Les feuilles des oliviers sont considérées comme le principal site du Métabolisme végétal, tant au niveau des produits primaires que secondaires (**Heimler et al., 1992**). On peut donc s'attendre à ce qu'elles aient les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes les plus élevées par rapport aux autres parties de la plante. Et revêtent une importance particulière en raison des métabolites secondaires tels que les oléacines et l'oleuropéine (**Pereira et al. 2007**) Leurs effets bénéfiques connus sont attribués aux effets bénéfiques des Polyphénols.

Selon **Benavente-García et al. (2000)**, il existe 5 groupes dominants de composés phénoliques trouvés dans les feuilles d'olivier :

- Oleurosides (sécoiridoïdes : oleuropéine et verbascoside)

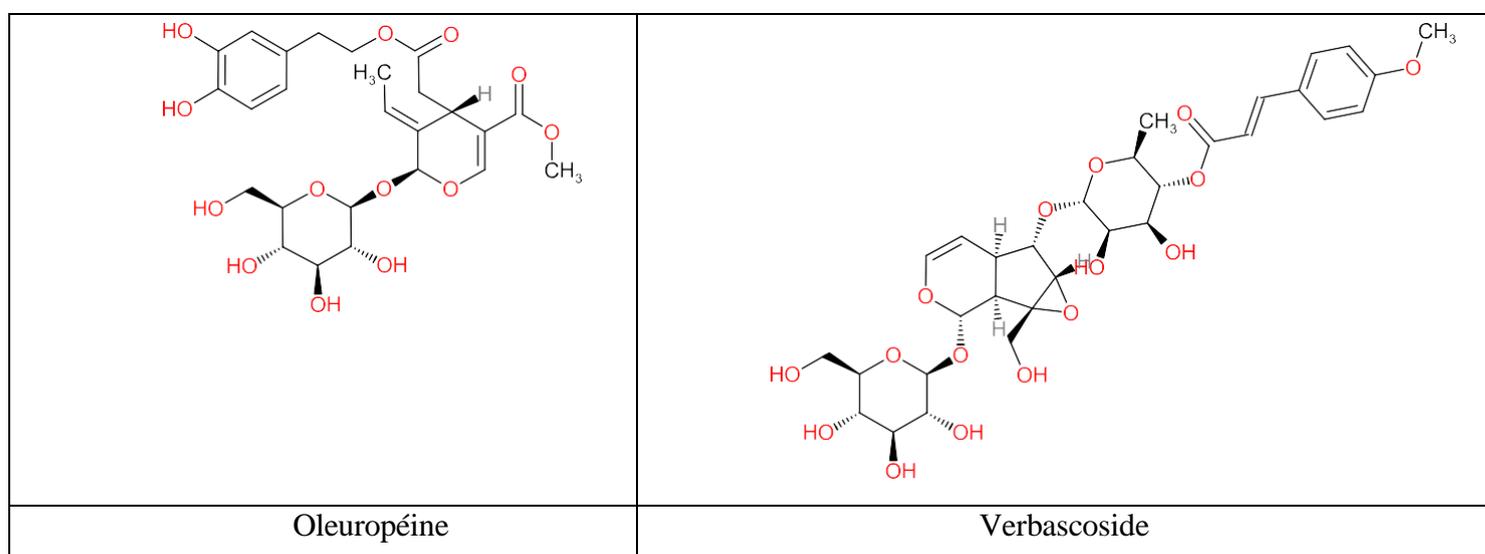


Figure I.3 : Structure chimique de l'oleuropéine et le verbascoside

- Flavones (lutéoline-7-glucoside, apigénine-7-glucoside, diosmétine-7-glucoside lutéoline et diosmétine)

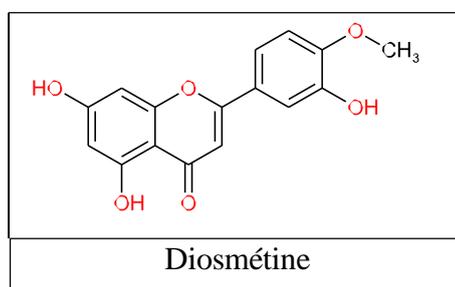


Figure I.4 : Structure chimique de diosmétine

- Flavanols (rutine)

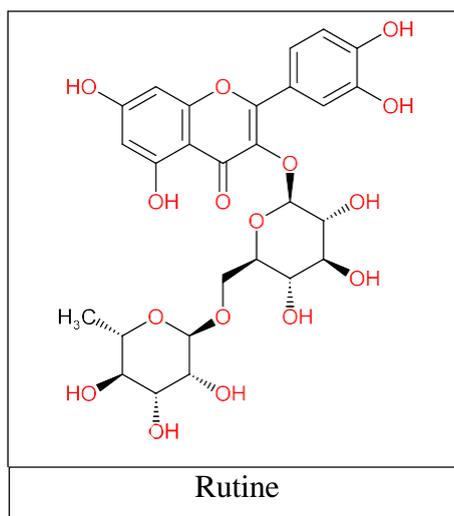


Figure I.5 : Structure chimique de Rutine

- Flavan -3-ols (catéchine)

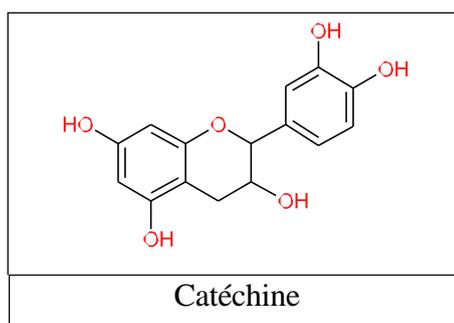


Figure I.6 : Structure chimique de catéchine

- Phénols simples (tyrosol hydroxytyrosol vanilline acide vanillique et acide caféique)

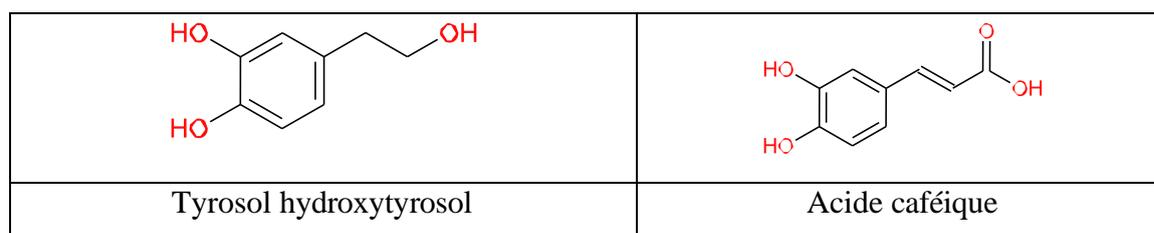


Figure I.7 : Structure chimique de Tryosol hydroxytyrosol et de l'acide caféique

Le groupe des flavonoïdes présente une grande diversité et une large distribution dans les feuilles (Abaza *et al.*, 2011 ; Heimler *et al.* 1992) et se compose de 2 anneaux aromatiques qui sont reliés par 3 atomes de carbone et qui se trouvent dans les feuilles aromatiques. Aromatiques reliées par 3 atomes de carbone et qui sont généralement impliqués dans un système hétérocyclique oxygéné hétérocyclique oxygéné (Škerget *et al.*, 2005).

I.6. Autres constituants des feuilles

Après avoir souligné l'importance des polyphénols, en particulier de l'oleuropéine il convient à présent de fournir de brèves informations sur l'existence d'autres éléments de valeur dans les feuilles d'olivier

I.6.1. Éléments minéraux

Les éléments trouvés en plus grand nombre sont Al, Ca, Fe, K, Mg, P et S. Cependant, même en concentrations élevées, leur quantité n'est pas suffisante pour les nutriments les plus importants. Cela justifie leur utilisation comme source de ces éléments (**Cavalheiro et al., 2015**).

I.6.2. Acides gras

Il est utile de souligner la différence de présence d'acides gras entre les feuilles d'olivier et l'huile d'olive. Généralement, le principal acide gras insaturé de l'huile d'olive est l'oléine, tandis que dans les feuilles, c'est l'acide oléique.

L'acide linoléique prédomine dans les feuilles d'olivier, le pourcentage d'acide linoléique dans l'huile d'olive est de 0,5 à 2,0 %, alors qu'il peut atteindre 41,3% dans les feuilles, ce qui est remarquable car l'acide alpha-linolénique par le biais de processus enzymatiques du métabolisme conduit finalement à la production d'acides gras oméga-3 polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC), ce qui fait des feuilles une source potentielle d'acides gras oméga-3 et d'AGPI n-3 (**Cavalheiro et al., 2015**).

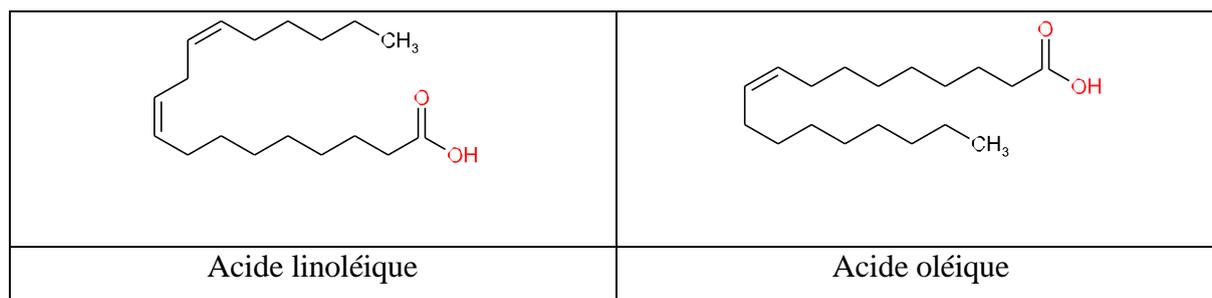


Figure I.8 : Structure chimique de l'acide linoléique et de l'acide oléique

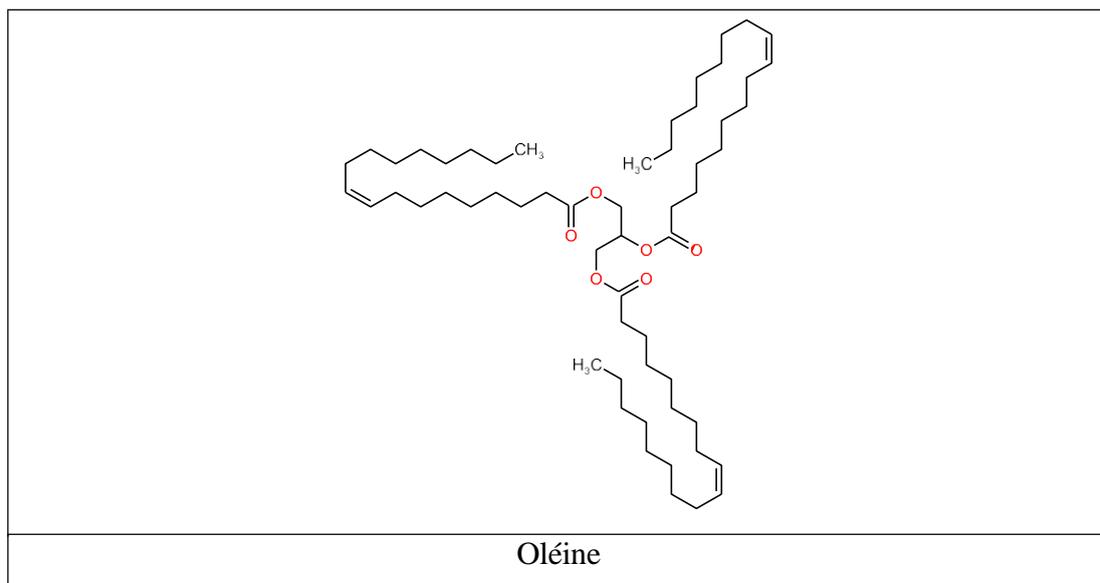


Figure I.9 : Structure chimique de l'oléine

Chapitre II : l'huile d'olive

II.1. Généralités sur l'huile d'olive

L'huile d'olive est issue d'un fruit sans recourir à des étapes d'affinage. En effet, selon les normes officielles, l'huile d'olive est obtenue uniquement par utilisation de procédés physiques, elle est considérée comme une huile végétale précieuse et est donc utilisée dans le monde entier. Mais sa production et sa consommation sont majoritairement concentrées dans les pays du bassin méditerranéen **C.O.I(2011)**.

II.2. La répartition géographique et la production de l'huile d'olive dans le monde et en Algérie

L'huile d'olive vierge, est la plus consommée grâce à la forte médiatisation de ses bienfaits sur la santé (**Ollivier, 2003**) et ses qualités nutritives qui déterminent sa haute valeur commerciale comparativement à la plupart des autres huiles végétales réputées plutôt pour leur rentabilité de production (**Gigon et Le Jeune, 2010**).

Elle représente maintenant la sixième production mondiale d'huile végétale L'huile d'olive contribue à 4% de la production totale d'huile végétale : sa production mondiale est d'environ 2.000.000 tonnes/an. Les pays méditerranéens fournissent plus de 95% de la production mondiale d'huile d'olive, dont 75% provient de l'Union européenne (principalement l'Espagne, l'Italie et la Grèce) (**Visioli et al., 2002**) et les 16 autres pays membres actuels du COI (Albanie, Algérie, Argentine, Croatie, Égypte, Iran, Irak, Palestine, Jordanie, Liban, Libye, Monténégro, Maroc, Syrie, Tunisie et Turquie) avec une moyenne de 22%, et le reste du monde, avec 3% (**Harwood et Aparicio, 2000**).

L'oléiveraie nationale algérienne représente environ 33% de la production arboricole. Le climat favorable et les traditions oléicoles ancestrales constituent des avantages compétitifs pour le développement de la filière oléicole et pour contribuer à l'autosuffisance en huiles végétales (**Sadouk et al. 2018**).

La filière oléicole algérienne est l'une des moins compétitives en Méditerranée, même si le pays est classé 7ème producteur mondial par le COI. Elle a bénéficié de peu d'initiatives de modernisation, l'irrigation, la mécanisation et la fertilisation y sont ainsi faiblement répandues. L'huile d'olive algérienne affiche quelques atouts qui peuvent se révéler porteurs s'ils sont valorisés dans le cadre d'une indication géographique : vergers qui s'étendent principalement (80%) dans les terroirs de montagne (grande et petite Kabylie, la région de Jijel et une partie de l'Est algérien) (Figure II.1) , produit différencié et de qualité, diversité variétale, bonne image au niveau national, huile issue d'une culture extensive et respectueuse

de l'environnement, et prix élevé du produit pouvant assurer un revenu confortable pour les familles rurales (Hajou et al., 2013).

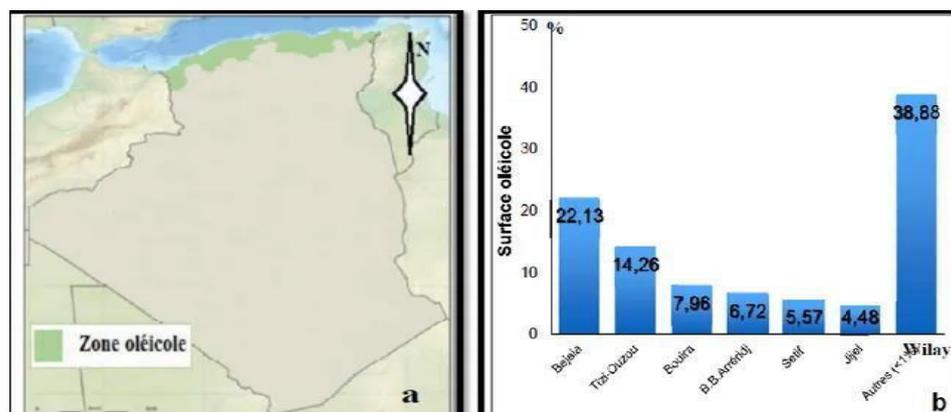


Figure II.1 : Répartition de la zone oléicole en Algérie (a : sur la carte géographique, b : en pourcentage (Oreggia et Marinelli, 2017)

II.3. Classification de l'huile d'olive

II.3.1. L'huile d'olive vierge

Huile d'olive de catégorie supérieure obtenue directement des olives et uniquement par des procédés mécaniques (Pouyet et Olivier, 2014), dans des conditions qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et qui n'a subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration, à l'exclusion des huiles obtenues par solvant, par adjuvant à action chimique ou biochimique, ou par des procédés de ré estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (C.O.I, 2013).

II.3.1.1. Huile d'olive extra vierge : C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en Acides oléique est au maximum de 0,80 gramme pour 100 grammes.

II.3.1.2. Huile d'olive vierge courante : C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes

II.3.1.3. Huile d'olive vierge lampante : C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre est exprimée en acide oléique est supérieure à 3,3 grammes pour 100 grammes. Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques (COI, 2019).

II.3.2. Huile d'olive raffinée : huile d'olive obtenue à partir des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modification de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 grammes pour 100 grammes (Codex Alimentarius, 1981).

II.4. Critères de qualité de l'huile d'olive

La qualité est la somme d'un certain nombre de caractéristiques ou attributs individuels qui sont importants pour mesurer le degré d'acceptation d'un produit par le consommateur. Conformément à la norme commerciale du COI, les attributs qui déterminent la qualité de l'huile sont l'acidité, les valeurs d'extinction spécifiques dans l'UV à 232 nm et 270 nm, l'indice de peroxyde et la notation organoleptique (COI, 2013).

Les normes ont établi des critères complémentaires de qualité des différentes huiles d'olive. Elles incluent des limites suggérées pour les substances volatiles, les impuretés insolubles, la densité, l'indice de peroxyde COI (2019) (tableau II.1).

Tableau II.1 : Données physico-chimiques de classification des huiles COI (2019).

Catégorie	Teneur en eau et en matière volatiles	Acidité (% acide oléique)	Indice peroxyde (meq O2/kg)	Extinction dans l'ultraviolet
Huile d'olive vierge extra	≤ 0.2	≤ 0.8	≤ 20	• ≤ 0,22 (à 270nm) • ≤ 2.50 nm (à 232nm)
Huile d'olive Vierge	≤ 0.2	≤ 2,0	≤ 20	• ≤ 0,25nm (à 270nm) • ≤ 2.60 nm (à 232nm)
Huile d'olive Courante	≤ 0.2	≤ 3,3	≤ 20	• ≤ 0,30 (à 270nm)
Huile d'olive lampante	≤ 0.3	≤ 0.3	Non limité	
Huile d'olive Raffiné	< 0.2	≤ 0.3	≤ 5.0	• ≤ 1.25 (à 270nm)

II.5. Procèdes d'extraction de l'huile d'olive

Le processus d'extraction de l'huile d'olive inclut quatre principales opérations correspondant aux : Opérations préliminaires suivante : Nettoyage, broyage, malaxage et séparation des phases (Chimie 1997). Ces étapes sont communes à tous les systèmes employés dans la transformation des olives. Elles ont pour objectif : D'augmenter la quantité d'huile extractible ; de faciliter sa libération lors de la séparation des phases solide et liquide et de préserver sa qualité (Apparicio et Harwood. ,2013).

II.5.1. Broyage des olives

Le broyage a pour but de dilacérer les cellules de la pulpe et de faire sortir les gouttelettes d'huile des vacuoles qui vont se séparer (**Di Giovacchino et al., 1994**).

II.5.2. Malaxage

Le malaxage de la pâte d'olive obtenue après le broyage est nécessaire afin d'obtenir un maximum de rendement car il permet d'homogénéiser et d'agiter la pâte et de briser l'émulsion huile /eau pour que les gouttelettes d'huile se fusionnent pour former des gouttes plus grosses (**Martinez et al, 1957**). Cette opération se fait pendant un temps limité (20-30 min) et à une température ne dépassant pas 22°C (Figure II.2) (**Aparicio et Harwood, 2013**).



Figure II.2 : Le malaxage des olives (**Derbah et Hamidi ; 2020**).

II.5.3. L'extraction (Séparation des phases)

La matière solide contenue dans la pâte issue du broyage et du malaxage est appelée « Grignon » (débris de noyaux, épiderme, paroi cellulaire ...etc.) ; alors que la partie fluide contenant l'huile et l'eau de végétation est nommée « margine ». Et la séparation de ces deux Matières solide et liquide fait appel à des systèmes de pression, de centrifugation et de percolation (**Carluccio et al, 2003**)

II.5.3.1. L'extraction par pression

C'est un procédé discontinu utilisant des presses hydrauliques ou bien métalliques, à vis (**Aoukli et Chetouhe ; 2019**) ; qui conduisent à la séparation des phases liquides (huile et margines) des grignons donc de la phase solide.

Cette extraction se fait par la répartition de la pâte d'olive en fines couches sur des disques filtrants appelés « soutins », qui sont empilés les uns sur les autres et guidés par une aiguille centrale (**Nadour, 2015**) en formant une colonne soumise à une pression progressive et lente jusqu'à 200 à 400 Kg F/cm² (**Labdaoui, 2017**). Sous cette action de pression, la pâte dégage le moût huileux contenant l'huile et les margines (**Aoukli et Chetouhe, 2019**). Cette matière

liquide s'écoulera dans un bac par contre les grignons resteront sur les scourtins(**Tchouar et Selka ; 2014**). Ensuite la phase huileuse sera séparée des margines par une décantation dans des cuves ou plus récemment à l'aide d'une centrifugeuse verticale(**Nadour, 2015**).

Cette décantation dite naturelle se fait grâce à la densité inférieure de l'huile par rapport à celle de l'eau qui va la laisser remonter à la surface ; comme aussi elle est réalisée à l'air libre dans des bacs en ciment, en argile ou en faïence et à la fin un sous-produit liquide sera généré qui est nommée « Les margines » (Figure 03) (**Tchouar et Selka, 2014**).

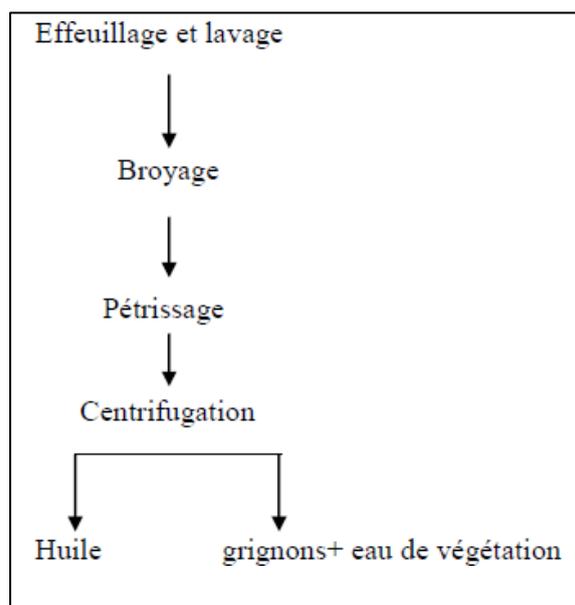


Figure II.3 : Diagramme de système d'extraction discontinue par pression. (Sekour, 2012).

II.5.3.2. Système d'extraction par centrifugation

Il s'agit d'un processus de transformation le plus commun et il correspond à un système d'extraction en continue avec deux centrifugations, une horizontale puis une autre verticale. Cette dernière peut être à deux phases où il n'y aura pas l'injection d'eau ou bien il y'aura ajout de très peu d'eau. Comme aussi, elle peut être à trois phases où l'addition d'eau est indispensable (**Labdaoui, 2017**). Le principe de la séparation dans ce système repose sur une augmentation des masses spécifiques des liquides non miscibles (l'huile et l'eau) de la matière solide (grignons) sous l'effet de la vitesse élevée générée par la centrifugeuse horizontale(**Nadour, 2015**); Ce qui signifie que l'extraction par centrifugation exploite les différences existantes entre les poids spécifiques des grignons et des phases liquides C.

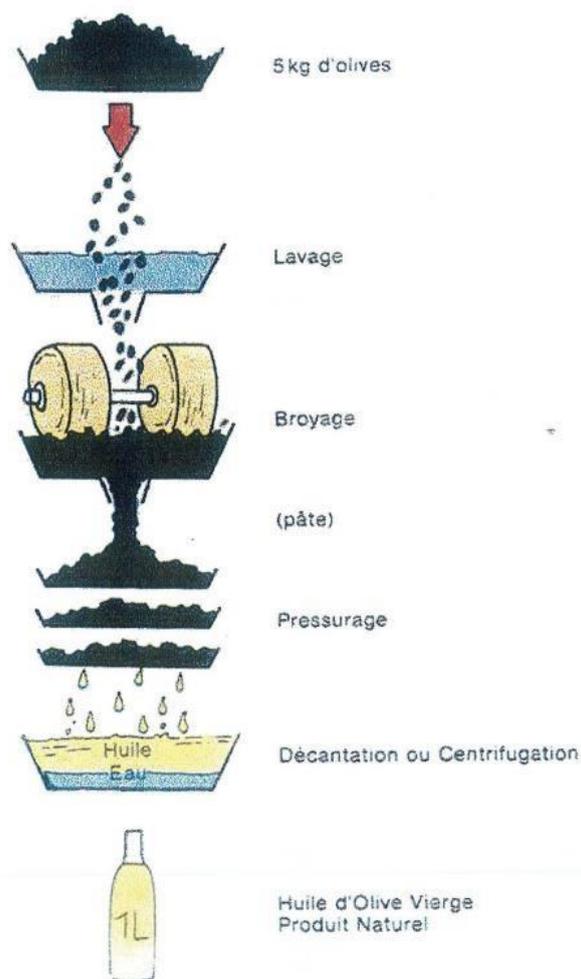


Figure II .4 : Principaux processus d'extraction de l'huile d'olive (Aggoun-Arhab, 2016)

II.6. La composition chimique de l'huile d'olive

La composition de l'huile d'olive change selon la variété, les conditions climatiques et l'origine géographique. Les composés peuvent être classés en deux grands groupes ;
 Les substances saponifiables (triglycérides, acides gras) et les substances insaponifiables.

II.6.1. La fraction saponifiable

II.6.1.1. Les acides gras

Les principaux acides gras présents sous forme de glycérides dans l'huile d'olive sont les acides gras suivants : oléique, linoléique, palmitoléique, palmitique, et stéarique. L'acide oléique est présent à des teneurs beaucoup plus élevées que les autres acides, celui-ci constitue jusqu'à 80% des acides gras et présente un intérêt primordial dans la médecine préventive (Jacotot, 1996).

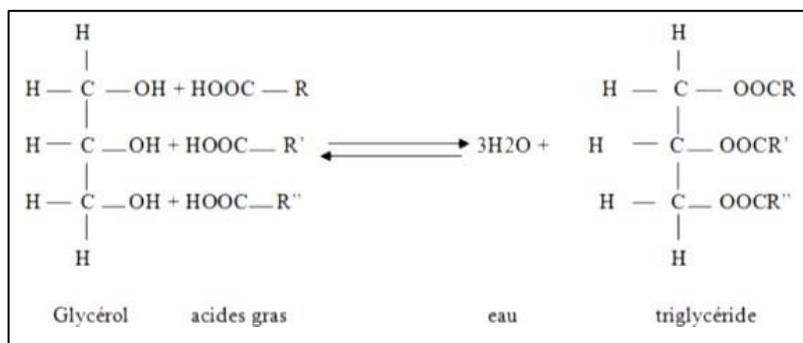
La composition en acides gras constitue l'un des critères de pureté des huiles d'olives dont les teneurs sont données par le COI.

Tableau II. 2 : Composition de l'huile d'olive en acides gras (COI, 2003).

Acide gras	Symboles	Limites de variabilité (%)
Acide myristique	C14 :0	≤0,05
Acide palmitique	C16 :0	7,5-20,0
Acide palmitoléique	C16 :1	0,3-3,5
Acide heptadécanoïque	C17 :0	≤0,3
Acide heptadécénoïque	C17 :1	≤0,3
Acide stéarique	C18 :0	0,5-5,0
Acide stéarique	C18 :1	55,0-83,0
Acide linoléique	C18 :2	3,5-21,0
Acide linoléique	C18 :3	≤1,0
Acide arachidique	C20 :0	≤0,6
Acide gadoléique	C20 :1	≤0,4
Acide béhénique	C22 :0	≤0,2
Acide béhénique	C24 :0	≤0,2

II.6.1.2. Les triglycérides

La plupart des acides gras de l'huile d'olive sont présents sous forme de triglycérides (figure II.5), le triglycéride majoritaire se présente sous forme de trioléine ;

**Figure II.5: Réaction de formation de triglycéride (Boskou, 2006).**

Les triglycérides les plus prédominants sont donnés dans (**le tableau III.3**) :

Tableau III.3 : Les principaux triglycérides retrouvés dans l'huile d'olive (Boskou, 2006).

Triglycéride	Teneur en %
trioléine (OOO)	40 à 59
Dioléopalmitine (POO)	12 à 20
dioléolinoleine (OOL)	12,5 à 20
dioléostéarine (SOO)	3 à 7

II.6.2. La fraction insaponifiable

II.6.2.1. Les pigments

La couleur de l'huile est une caractéristique de base de la qualité des huiles vierges. La couleur vert-jaune est attribuée à la présence de nombreux pigments ; les chlorophylles, les caroténoïdes et les anthocyanes (**Giuffrida et al.2007**). Les chlorophylles a et b sont les principaux pigments chlorophylliens identifiés dans l'huile d'olive, qui montrent une absorbance optimale à 670 nm (**Kiritsakis et Markakis, 1988**).

II.6.2.2. Les Stérols

Les stérols font partie des constituants mineurs des corps gras, ce sont des composés tétracycliques comportant 27 à 29 atomes de carbone. Ils sont présents sous forme libre (80%) et estérifiés. Ils représentent 30 à 60% de l'insaponifiable, Dans une huile d'olive vierge, les stérols les plus trouvés sont le β -Sitostérol, 5-Avenastérol et Campe stérol avec des pourcentages respectifs d'environ 80 à 85%, 7% et 2,90 à 4% (**Giuffrè et al, 2012**). La composition stérolique est spécifique pour chaque espèce végétale (**Temime et al. 2006**).

II.6.2.3. Les tocophérols

Les tocophérols sont reconnus pour leur double action bénéfique. En effet, ils ont tout d'abord l'atout d'être une vitamine liposoluble (vitamine E) et ils ont également une forte activité anti oxygène La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable, entre 100 et 300 mg/kg pour les huiles d'olives vierges, Dans les huiles raffinées, les tocophérols sont partiellement perdus donc les quantités d'environ 200 mg/kg (**Tripoli et al.2005**).

L' α -tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols, Cette forme possède la plus forte activité vitaminique et est la plus active (Figure II.6). Elle s'oppose au rancissement et à la polymérisation de l'huile, et protège contre les mécanismes athérogènes, mais on trouve également un peu de beta et gamma tocophérols, alors que le delta tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces.

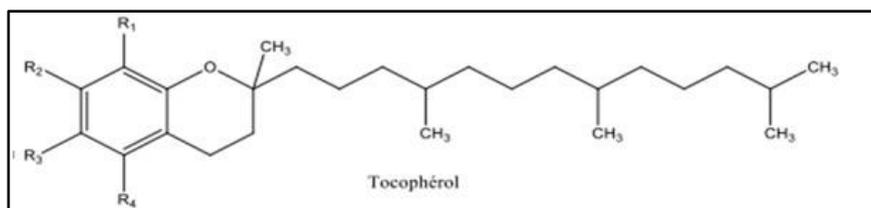


Figure II.6: Structure générale d'un tocophérol (Benrachou, 2013).

II.6.2.4. Les hydrocarbures

Les hydrocarbures sont les composés les moins polaires dans la fraction insaponifiable d'huiles végétales, y compris dans l'huile d'olive (l'huile d'olive vierge peut contenir jusqu'à 0,7% d'hydrocarbures) (Ben-ayed et al., 2013). Le squalène (C₃₀H₅₀) est le principal hydrocarbure polyénique de l'huile d'olive et de la fraction saponifiable Ben-ayed et al., 2013, présent à une teneur comprise entre 0,4% et 0,6% (Camin et al., 2010). Il représente plus de 90% des fractions d'hydrocarbures (Owen et al., 2000). Les qualène est un précurseur métabolique du cholestérol et autres stérols (Henry et al., 2003).

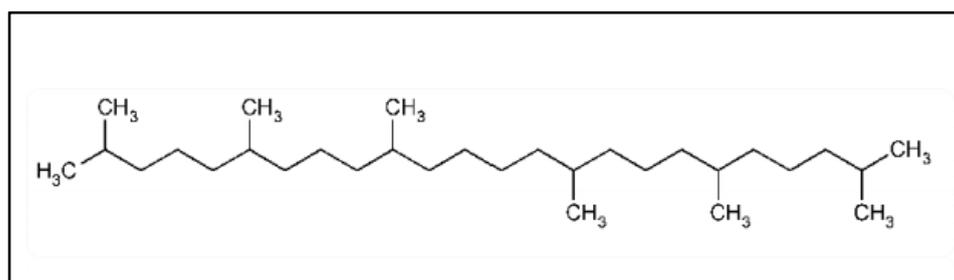


Figure II.7: Structure de squalène (Camin et al. 2010).

II.7. Conservation et stockage d'huile d'olive

L'huile d'olive conservée dans des récipients en plastique ou en verre perd sa qualité Organoleptique durant la période de stockage, alors que celle stockée dans des bouteilles en Zinc ou en fer blanc (inox) qui présente une bonne résistance mécanique, est mieux protégée contre l'oxydation. Par ailleurs, les récipients utilisés pour la conservation de l'huile d'olive doivent être en bon état, étanches et inertes à l'égard de l'huile. En ce qui concerne la tolérance

de remplissage des récipients, le volume occupé par le contenu ne devra en aucun cas être inférieur à 90% de la capacité du récipient, exception faite aux récipients en fer blanc (inox) d'une capacité égale ou inférieure à 1 litre et dans lesquels le volume occupé par le contenu ne devra en aucun cas être inférieur à 80% (**Elena Falqué (2007)**).

Les normes imposées par le COI sont très pointilleuses sur le conditionnement des huiles d'olive car sa fraîcheur est une qualité prioritaire. Bien qu'elle soit plus stable que la plupart des huiles de graines, l'huile d'olive doit être conservée dans de bonnes conditions : à l'abri de l'air et de la lumière pour éviter le rancissement causé par l'oxydation. Cependant, l'huile se conserve parfaitement entre 15 et 18°C, dans un endroit frais et sombre, ceci grâce aux antioxydants dont l'huile est dotée.

Lorsque la température descend au-dessous de 8°C, l'huile d'olive risque de se figer et présente un aspect trouble qui est toutefois réversible et non préjudiciable à sa qualité. Toutefois, il faut éviter les variations de températures qui nuisent à son goût. Une fois ouvertes, les bouteilles doivent être refermées immédiatement après chaque usage pour protéger l'huile de la perte d'arôme et de goût ainsi que des odeurs extérieures. La conservation maximale est de deux ans (**PNTA., 2006**).

II.8. Oxydation d'huile d'olive

L'oxydation des lipides est reconnue comme un problème important lors de la conservation ou lors des procédés de transformation des produits carnés (**Sabine J. et al., 2012**). Les dégradations oxydatives affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles des aliments et peuvent avoir des répercussions sur la santé du consommateur.

II.8.1. Types d'oxydation

D'après (**Rahmani N. 2007**), les altérations conduisant au rancissement oxydatif sont :

II.8.1.1. Auto- oxydation

Catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres. L'auto oxydation semble donc être un mécanisme principal dans l'oxydation des lipides. Elle produit principalement des hydro peroxydes et des composés volatils, généralement par un processus triphasé (initiation, propagation et terminaison) (**Marc F., 2004**).

a). Initiation

Cette étape est initiée par la chaleur, la lumière ou les ions métalliques et aboutit à la formation des espèces très réactives.

b). Propagation

Les espèces réactives formées s'attaquent aux molécules lipidiques d'où la formation des hydro peroxydes et la destruction de ces derniers donnent naissance à des composés responsables des goûts et odeur de rance par rupture des liaisons O-O.

c). Terminaison

Apparition de nouvelles espèces moléculaires non radicalaires (formation des polymères entre espèces réactives) (Rolland Y., 2004).

II.8.1.2. Photo-oxydation

Initiée par la lumière en présence de molécules photo-sensibles qui sont de deux types. Le type I, telle que la riboflavine agissant comme les radicaux libres initiateurs et molécules photosensibles. Le type II, telle que la chlorophylle et l'érythrosine qui réagissent dans leur état excité avec l'oxygène triplet ($3O_2$) pour donner de l'oxygène singulet (O_2) (Frankel ; 1998).

II.8.1.3. Oxydation enzymatique

Catalysée par la lipoxygénase et la cyclooxygénase, en présence d'oxygène, ces dernières peuvent oxyder les restes d'acides gras insaturés (Fuhrer F. *et al.*, 2005).

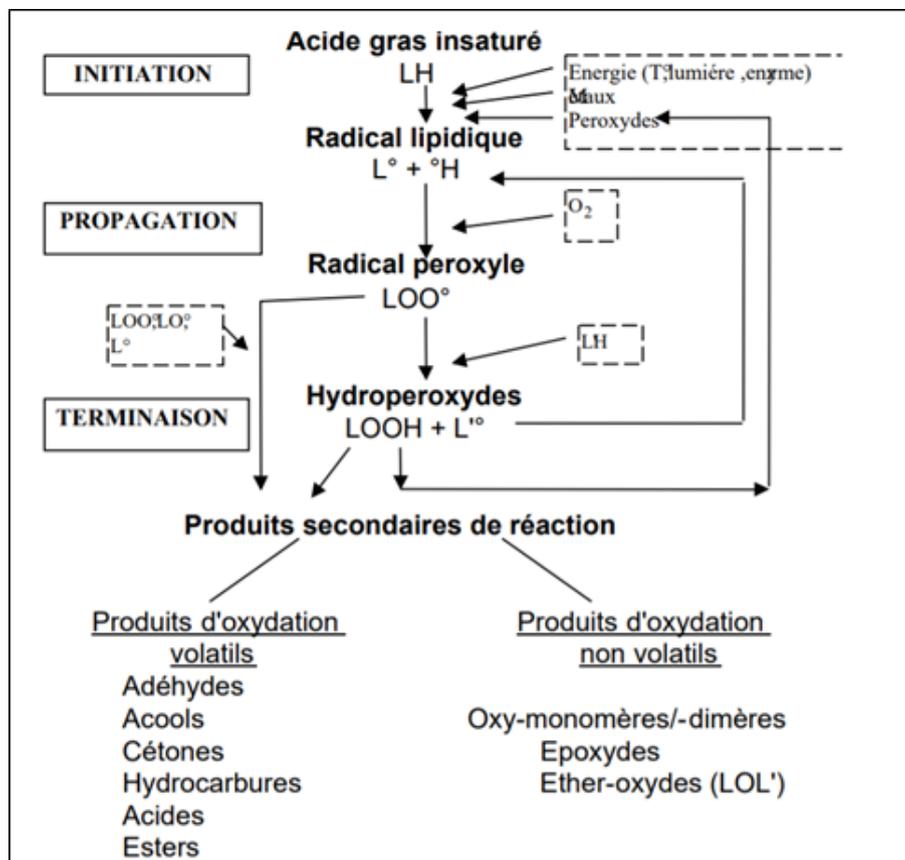


Figure II.8 : Schéma général de l'oxydation des lipides (Eymard S., 2003).

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Matière végétale

La matière végétale utilisée au cours de cette étude est les feuilles d'olivier sauvage séchées, récoltées le 02 mars 2024, d'un jardin familial à 100 mètres d'altitude du niveau de la mer, située au village de Boulezazene-Melbou à l'est de la wilaya de Bejaia en Algérie ($36^{\circ}37'12.4''N$ $5^{\circ}22'12.8''E$). et de l'huile d'olive vierge fraîche de la région de tizi-ouzou



Figure III.1 : Localisation de la récolte des feuilles



Figure III.2 : Arbre de l'olivier sauvage utilisé

III.2. Préparation et extraction

III.2.1. Préparation des feuilles

Après la récolte, les feuilles ont été lavées à l'eau de robinet puis à l'eau distillée pour éliminer toute impureté. Elles sont ensuite séchées à l'étuve à $45^{\circ}C$ pendant 3 jours, puis broyées et tamisées avec un tamis de 0,2mm de diamètre pour avoir une poudre très fine qui servira à l'extraction des composés phénoliques.

III.2.2. Méthode d'extraction

L'extraction des polyphénols a été réalisée suivant la méthode décrite par **Chan et al. 2009**. Deux extraits sont préparés de la manière suivante : Une masse de 5g de la poudre de feuilles d'oléastre est dissoute dans un volume de 50ml d'un mélange de solvant (acétone / eau) et (Méthanol/eau) (4/1. V/V) respectivement, agiter les deux mélanges pendant 5min puis incuber dans un bain marie à 50°C pendant 30 min sous agitation. Centrifuger la solution à une vitesse de 4000 tours/min afin de faciliter la filtration des deux extraits. Le surnageant est filtré puis séché à l'étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec.

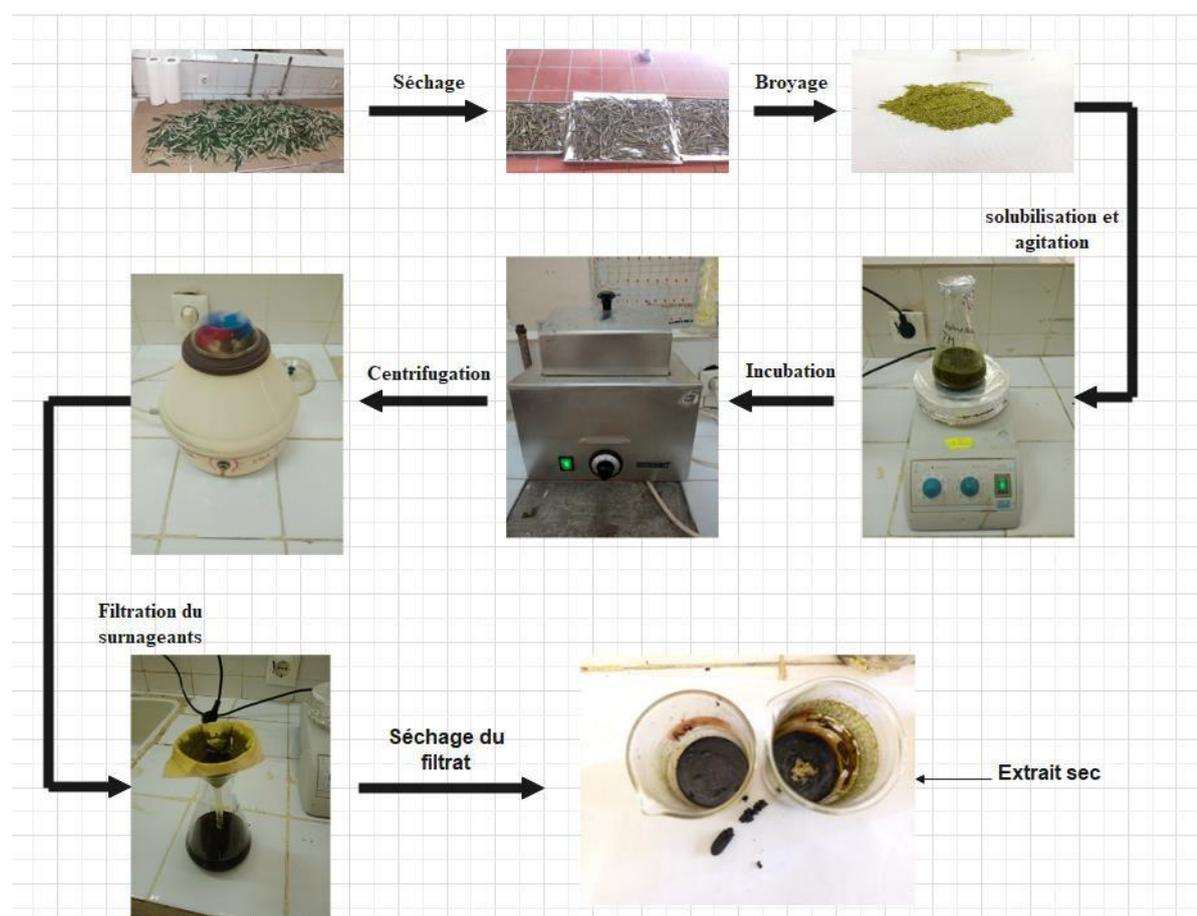


Figure III.3 : Protocole d'extraction des feuilles d'olivier sauvage (légèrement modifié) (CHAN et al. 2009).

III.3. Rendement des extractions

Les extraits sont placés dans l'étuve ventilée à 45°C jusqu'à l'évaporation du liquide et l'obtention d'une matière sous forme de gomme. Les extraits sont mesurés avant et après séchage, le rendement a été calculé selon la formule suivante :

$$ES (\%) = \frac{(M_1 - M_2) \times V_0}{10} \times 100$$

ES : l'extrait sec des échantillons en % ;

V0 : volume en (ml) de l'extrait avant séchage ;

M1 : masse en (mg) du bécher et de l'extrait sec après séchage ;

M2 : masse en (mg) du bécher et de l'extrait sec après séchage.

III.4. Analyses sur la poudre des feuilles séchées

III.4.1. Humidité (AFNOR, 1986)

- **Mode opératoire**

Dans des capsules en porcelaine, 3 g de matière végétal a été pesée, puis les capsules ont été placés dans l'étuve à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3h, puis refroidir dans le dessiccateur, ensuite pesées.

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{M1-M2}{M} \times 100$$

Soit :

H : humidité en (%) ;

M1 : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en (g) ;

M2 : Masse de l'ensemble après séchage en (g) ;

M : Prise d'essai

III.4.2. pH (NF V 05-108, 1970)

Il définit l'acidité de produit considéré, mesuré à l'aide d'un pH-mètre. C'est une mesure de la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse des feuilles d'olive sauvage broyées.

- **Mode opératoire**

Dix millilitres d'eau distillée chaude ont été ajoutées à 2g d'échantillon. Le mélange a ensuite été agité puis filtré et laissé refroidir. L'électrode a été plongée dans un volume important de ce filtrat et la valeur du pH a été lue directement sur le pH-mètre électronique. L'électrode a été rincée avec l'eau distillée avant et après chaque mesure.

III.4.3. Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101,1974)

- **Principe**

L'acidité titrable est la somme des acides minéraux et organiques libres. Elle est déterminée selon l'équation suivante :

$$A\% = 250 * V_I * 100 / (V_0 * 10) * 0,07 = 175 * V_I / (V_0 * m)$$

Soit

m : Masse en gramme du produit prélevé.

V_0 : Volume en millilitres de la prise d'essai

V_1 : Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N utilisé.

0,07 : Facteur de conservation de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique.

- **Mode opératoire**

Dix grammes de poudre ont été ajoutées à 50 ml d'eau distillée bouillante ; la solution a été ensuite déposée dans un bain marie pendant 30 min. Après refroidissement, un ajustement jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée a été réalisé. Le mélange a été filtré, puis 10ml du filtrat ont été récupérés. Quelques gouttes de phénophtaléine ont été ajoutées et un titrage avec du NaOH jusqu'à virage à une couleur rose persistante, a été réalisé.

III.4.4. Teneur en cendres (NF V 05-113,1972)

Les cendres sont les composés minéraux restant après incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique.

- **Principe**

L'échantillon a été calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres de poids constant.

- **Mode opératoire**

Dans des creusets, 4g d'échantillon ont été pesés puis les capsules ont été placées dans un four à moufle réglé à $550 \pm 15^\circ\text{C}$ pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur gris clair ou blanchâtre. Les capsules ont été retirées du four, refroidies dans le dessiccateur, puis pesées.

La matière organique est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{MO (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{P} \times 100$$

Soit :

MO : Matière organique (g) ;

m_1 : Masse de la capsule + prise d'essai (g) ;

m_2 : Masse de la capsule + cendres (g)

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

La teneur en cendres (Cd) est déterminée comme suit :

$$\text{Cd} = 100 - \text{MO}$$

III.4.5. Détermination de la teneur en chlorophylle a et b

- **Principe**

Les colorants ou pigments dont la plupart sont d'origine végétale forment une gamme très étendue (du jaune au bleu, en passant par le vert et même le noir) La chlorophylle est parmi les colorants les plus rencontrés et les plus utilisés dans les industries agroalimentaires à des doses réglementées, il est bénéfique pour la santé. Il est connu pour son activité antioxydante, antimutagène, voire anti-carcinogène (Zeghdoud et Chennai, 2018).

- **Mode opératoire**

Dans le but de quantifier leur teneur dans notre plante, nous avons opté pour la méthode décrite par Barros et ses collaborateurs (2011). 150 mg de poudre végétale sont agités vigoureusement après avoir ajouté 10 ml du mélange acétone-hexane (4/6. V/V) pendant une minute puis filtrer. L'absorbance du filtrat est mesurée par la suite à des longueurs d'ondes de (645 et 663 nm). La teneur des deux pigments est calculée suivant les équations indiquées ci-dessous et exprimée en µg/g de matière végétale sèche.

$$\text{Chlorophylle a (mg/100ml)} = 0.999 * A_{663} - 0.0989 * A_{645}$$

$$\text{Chlorophylle b (mg/100ml)} = 0.328 * A_{663} + 1.77 * A_{645}$$

III.5. Analyses qualitatives

III.5.1. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

La méthode du trichlorure d'Aluminium (ALC) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. La méthode de dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (Omar et Atrooz, 2013).

- **Mode opératoire**

Le protocole de dosage consiste à ajouter 1ml de chaque échantillon à 1ml de la solution d'AlCl₃ (2%). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 430nm avec un spectrophotomètre UV-Visible contrôle un blanc préparé de la même manière en remplace l'extrait par le solvant d'extraction. Les concentrations des flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la courbe d'étalonnage.

III.5.2. Dosage des composés phénoliques

- **Principe**

Le dosage des polyphénols dans les extraits étudiés (feuilles d'olivier sauvage séchées), est effectué selon la méthode de Follin Ciocalteu (**Mghezzi et al. 2016**). Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur verte. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène et de molybdène de couleur bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits.

- **Mode opératoire**

Dans des tubes à essais et à l'aide d'une micropipette, 200 μ l de chaque extrait (dilué 1/100) est ajouté à 1ml du réactif Follin-Ciocalteu (dilué 1/10), puis agité pendant 1min. Après 8 min d'incubation à température ambiante, 1ml de carbonate de sodium 7.5% (Na_2CO_3) sont additionnés au mélange. Puis les tubes sont maintenus à une température ambiante et à l'obscurité pendant une heure. L'absorbance est ensuite lue à $\lambda=765nm$ par un spectrophotomètre UV-Visible. La concentration en polyphénols est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les Concentrations sont exprimées en mg Equivalent d'acide gallique/1g de la matière sèche.

III.5.3. Caractérisation phytochimique

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques présentes dans les feuilles d'olivier sauvage séché par des réactions de coloration et de précipitation (**Khan et al. 2011**).

III.5.3.1. Flavonoïdes (Réaction à la cyanidine)

1ml de chaque extrait est ajouté à 100 μ l de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la couleur rouge ou orange.

a) Tanins

À 1 ml de l'extrait est ajouté 200 μ l de $FeCl_3$ 1%. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu- noir.

b) Quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

c) Saponosides

10ml de l'extrait est agité pour 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1cm indique la présence de saponosides.

d) Terpénoïdes (Test de Slakowski)

5ml de l'extrait est ajouté à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

e) Identification des glucosides :

À 2g de poudre de feuilles, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique, la formation d'une coloration rouge brique ensuite violette traduit la présence des glucosides.

f) Mucilages

Introduire 1ml d'extrait dans un bécher puis ajouter 5 ml d'alcool absolu et laisser agir pendant 10 min. La réaction positive se traduit par l'apparition d'un précipité floconneux.

g) Iridoïdes

À 2ml d'extrait on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique, et on chauffe le mélange une coloration bleu est obtenu.

h) Composés réducteurs

Introduire 1ml d'extrait dans un tube à essai, ajouter 2ml de liqueur de Fehling, incubé pendant 8 min dans un bain Marie à 100°C. L'apparition d'une coloration rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

III.6. Evaluation de l'activité antioxydante**III.6.1. Piégeage du radical DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) :**

L'évaluation de l'activité antioxydante d'extrait hydro-acétonique et hydro-méthanolique est réalisée par la méthode de DPPH qui est une méthode spectrophotométrique.

• Principe

Le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux

DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Molyneux, 2004).

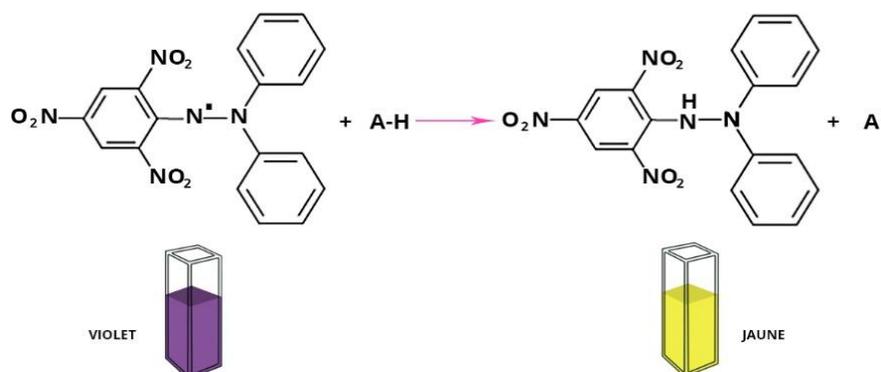


figure III.4 : Réduction du DPPH (Liang et Kitts, 2014)

- **Mode opératoire**

Un volume de 200µl d'extrait dilué (1/15) est ajouté à 1ml de solution de solution méthanolique de DPPH, le mélange a été agité L'absorbance est mesurée à 517 nm après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. Tous les essais ont été effectués en triple. La lecture des absorbances est faite à 517nm contre un blanc préparé à partir du mélange (méthanol + eau distillé).

Les résultats du test DPPH sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) selon l'équation ci-dessous :

$$I (\%) = \frac{(\text{Abs Contrôle} - \text{Abs extrait})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Soit :

I : Pourcentage d'inhibition du DPPH (%)

Abs : Absorbance

III.6.2. Pouvoir réducteur

- **Principe**

Le test du pouvoir réducteur consiste à évaluer l'aptitude de l'échantillon à donner un électron convertissant le fer de la forme Fe³⁺ à la forme Fe²⁺. Celle-ci peut être quantifiée par la mesure de la formation de la couleur bleue à 700 nm. Une absorbance élevée indique que l'échantillon possède un grand pouvoir réducteur et donc une activité antioxydante importante (Barros et al., 2007).

- **Mode opératoire**

1ml de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10min. 2,5ml de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre).

III.6.3. Activité antioxydante totale (Molybdate)

- **Principe**

L'activité antioxydante total d'extrait hydro-acétonique et hydro-méthanolique est évaluée par la méthode de phospho-molybdène, son principe est basé sur la réduction de molybdène présent sous forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} , en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant pour former un complexe vert de phosphate à pH acide (**Prieto et al. 1999**).

- **Mode opératoire**

Une prise de 1 ml d'un réactif (préparée par molybdate d'ammonium, phosphate de sodium et acide sulfurique) est additionnée à 100 μ l d'extrait convenablement dilué (1/10), Le tube est incubé à 95°C pendant 90 min. Après un repos à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant d'eau distillé à la place de l'extrait. La capacité antioxydante totale est exprimée en microgrammes équivalent d'acide ascorbique par Millilitres (μ g EAA/ml).

III.7. Enrichissement de l'huile d'olive

Les extraits secs hydro-acétonique et hydro-méthanolique ont été incorporés dans une huile d'olive extraite cette année, puis un suivi de son état de stabilité à été réalisé au cours de 60 jours en mesurant les paramètres de qualité suivant :

- ✓ Acidité,
- ✓ Indice de Peroxyde,
- ✓ Coefficients d'extinction Spécifique,
- ✓ La Densité.

Méthode d'enrichissement :

La méthode d'addition avec l'éthanol s'inspire des travaux de **De Medina *et al.* 2011**

Les solutions mères d'extraits sont préparées et introduite individuellement dans l'huile, afin d'obtenir une concentration effective de 80 ou 200 mg/kg. Cependant les solutions d'extrait sont préalablement agitées pendant 2 min, au vortex et conservées à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

III.7.1. Analyses chimiques**III.7.1.1. Acidité**

La mesure de l'acidité a été réalisée selon la méthode normalisée **C.C.E (2685/91)**. Après dissolution de 2 g d'huile dans 10 ml d'un mélange d'éthanol/chloroforme (V/V), les acides gras présents sont titrés à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium (0,1N) en présence d'un indicateur coloré de phénolphthaléine. Un essai témoin (sans matière grasse) a été réalisé dans les mêmes conditions.

L'acidité est exprimée en pourcentage de poids d'acide oléique, selon la formule suivante :

$$\text{Acidité}(\%) = \frac{V \times N \times M}{10 \times PE}$$

Soit :

V : Volume titré

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

N : Normalité de la solution de KOH ;

PE : Prise d'essai.

III.7.1.2. Indice de peroxyde :

- **Principe**

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de microgrammes de peroxyde actif contenu dans un gramme de produit, ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation de l'huile (**COI, 2009**). En milieu acide, les hyperoxydes réagissent avec l'ion iodure pour générer de l'iode qui est titré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon (**UICPA, 1979**).

- **Mode opératoire**

L'indice de peroxyde est déterminé selon la méthode normalisée par le règlement C.E.E (2568/91).

1g d'huile d'olive est dissoute dans 12.2ml du mélange d'acide acétique /chloroforme, puis 15ml d'une solution d'iodure de potassium saturée sont additionnés au mélange. Placer le

mélange dans l'obscurité pendant 5min puis rajouter 60ml d'eau distillé et 1 ml d'une solution d'empois d'amidon (une couleur violette apparait), ensuite le mélange obtenu a été titré par une solution de thiosulfate de sodium a 0.01 N, puis poursuivre le titrage jusqu'au changement de couleur (passage de la couleur violette à une couleur transparente).

Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions opératoires.

L'indice de peroxyde est donné par l'équation suivante :

$$\text{Indice de peroxyde (m. eqO}_2 \text{ /Kg)} = \frac{(V - V_0) \times 1000 \times T}{P \times E}$$

Avec :

T : titre ou normalité de la solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$) ;

*V*₀ : volume de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc (ml) ;

V : volume de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai (ml) ;

PE : Prise d'essai (g).

III.7.1.3. Détermination du coefficient d'extinction spécifique

- **Principe**

L'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse, sur son état de conservation et sur les modifications dues aux processus technologiques (CEE, 1991). En effet, l'extinction spécifique d'une huile est une image de son état d'oxydation, plus son extinction à 232 nm est élevée, plus elle est oxydée par la présence d'hydro-peroxyde. De même, plus l'extinction à 270 nm est forte, plus l'huile est riche en produits secondaires d'oxydation qui traduit ainsi sa faible aptitude à la conservation (Wolff, 1968).

- **Mode opératoire**

Les diènes et les triènes conjugués sont à doser dans l'huile d'olive selon la norme du Conseil Oléicole International (2011) :

0.1g de l'échantillon est dissout dans 10ml du cyclohexane. Après homogénéisation, on mesure les extinctions K_{232} et K_{270} .

L'absorbance se fait a232nm et 270nm avec a un spectrophotomètre UV et la lecture se fait dans une cuve en quartz. Les valeurs du coefficient d'extinctions spécifiques à 232nm et 270nm sont calculées selon la formule suivante :

$$K = A_k / C \times S$$

Où :

A_k : Absorbance à une longueur d'onde k ,

C : Concentration de la solution en g/100 ml,

S : Chemin optique (1 cm)

III.7.2. Densité

- **Principe**

La densité est le rapport de la masse d'un volume d'huile à 20°C, et la masse d'un même volume d'eau distillée à la même température. Le principe consiste à effectuer des pesées successives de volume égal d'huile et d'eau (**Wolff, 1968**).

- **Mode opératoire**

Un pycnomètre est nettoyé et mis à sécher dans une étuve pendant une heure. Le poids du pycnomètre vide est déterminé, de même que le poids du pycnomètre rempli d'eau distillée à 20°C. L'opération de séchage est reconduite pour ensuite peser le pycnomètre rempli d'huile à 20°C.

L'expression du résultat est donnée par le rapport suivant :

$$D_{20^{\circ}\text{C}} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Soit :

m_0 : masse du pycnomètre vide.

m_1 : masse du pycnomètre rempli d'eau distillée à 20°C.

m_2 : masse du pycnomètre rempli d'huile à 20°C.

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Caractérisation de la poudre

Les résultats de quelques paramètres physicochimiques et la composition chimique de la plante étudiée sont résumés dans le (Tableau VI).

Tableau VI : Résultats des paramètres physicochimiques des feuilles d'olive sauvage

pH	5,75 ± 0,015
Humidité (%)	2,43 ± 0,060
Matière sèche (%)	97,75 ± 0,06
Matière organique (%)	92,20 ± 0,057
Les cendres (%)	7,80 ± 0,057
Acidité titrable (g A. Citrique /100gMS)	1,664 ± 2,33
Chlorophylle A (mg/100ml)	1,48 ± 0,018
Chlorophylle B (mg/100ml)	1,65 ± 0,036

IV.1.1. Teneur en eau

Généralement, afin de garantir une meilleure conservation des poudres alimentaires, il est préconisé d'avoir une faible teneur en eau. Le résultat trouvé, pour la poudre de feuilles d'olivier est $2,43 \pm 0,060\%$, La valeur est inférieure à celle trouvée par **Boudhrioua et al., (2009)** ont données des teneurs comprises entre 5 et 5,6 g/100g pour toutes les variétés.

IV.1.2. Teneur en matière sèche

La poudre analysée révèle une teneur en matière sèche de $97,75 \pm 0,06\%$, notre résultat est proche à celui trouvé par **Nefzaoui A. (1991)** qui est situé autour 50 et 58 % pour les feuilles vertes et celle des feuilles sèches autour de 90%.

IV.1.3. Taux des cendres

La poudre analysée révèle un taux de cendres important de $7,80 \pm 0,057$. Donc, elles constituent des sources intéressantes en éléments minéraux. Notre résultat est proche à celle trouvée par **Boudhrioua et al., (2009)** qui ont évoqué des teneurs variantes entre 6 et 9g/100g pour toutes les variétés d'olivier.

IV.1.4. pH

La poudre analysée présente un pH de $5,75 \pm 0,015$, cette valeur est inférieure à celle trouvée par **Iguergaziz N (2012)** qui a trouvé des valeurs autour de 5.5 pour deux variétés d'olivier.

IV.1.5. Acidité titrable

Le résultat trouvé, pour la poudre de feuilles d'olivier est $1,664 \pm 2,33g$ l'acide Citrique /100g de la matière sèche. Cette teneur est légèrement inférieure aux valeurs trouvées par **Iguergaziz N (2012)**.

Une couleur brunâtre est apparue après titrage (Annex III. Figure 2), ce qui approuve la présence des acides minéraux et organiques libres dans la poudre.

IV.1.6. Matière organique :

La poudre analysée révèle un taux de matière organique important de $92,20 \pm 0,057\%$, Notre résultat est presque identique à la valeur trouvée sur le site de la **FAO.1983** sur l'Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen qui ont évoqués une valeur de 92%.

IV.1.7. Teneur en pigment liposolubles

Le tableau IV.1 montre que la teneur en pigments chlorophylliens des deux extraits des feuilles d'olivier étudiées. On peut voir que les résultats trouvés sont très faibles par rapport aux résultats trouvés dans une étude de **Mettai et Halilou, 2021** sur cinq variétés d'olivier, qui ont trouvés des valeurs entre (15,2792 et 79,01723mg/g MS) pour la chlorophylle a et entre (14,448 et 26,95756mg/g MS) pour la chlorophylle b. Ceci pourrait être la conséquence du séchage des feuilles.

Contrairement à la chlorophylle b qui a été identifiée dans 21 plantes. La teneur en chlorophylle b variait de 2,3 mg/g à 75,2 mg/g (**Loranty et al.,2010**).

La concentration en chlorophylle se situe entre 1,12 to 1,89 mg par 1 g de matière sèche (**Ošťádalová et al.,2015**).

En tant que colorant naturel, les chlorophylles sont largement utilisées que ce soit dans l'industrie cosmétique ou l'industrie alimentaire sous le sigle E140.

En effet, c'est l'un des plus puissants antioxydants qui existent. De plus, les chlorophylles assainissent la flore intestinale, réduisent les ballonnements, régulent la tension artérielle et font baisser le taux de cholestérol dans le sang. Une consommation d'aliments riches en chlorophylles peut contribuer à accroître la vitalité et combattre le stress (**Vaňková, 2019**).

IV.2. Rendement des extractions

L'extraction et la préparation de l'extrait aqueux des feuilles de l'olivier sauvage *Olea europea* var. *sylvestris* a été réalisée par la méthode de Macération

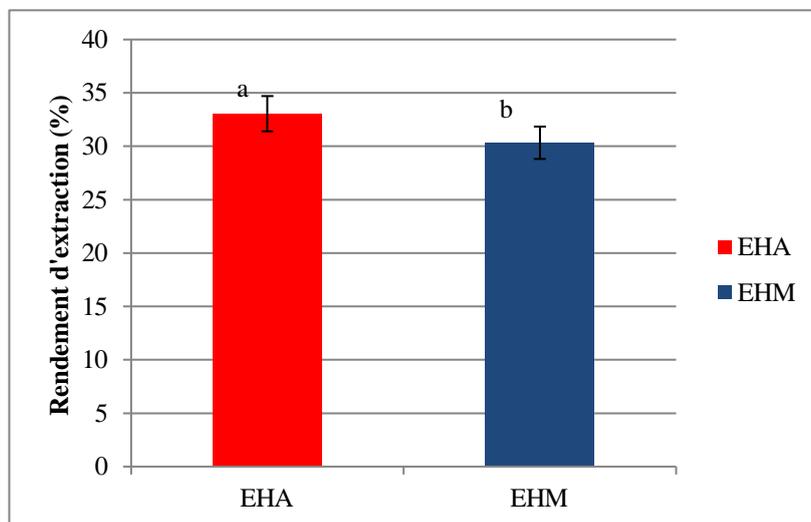


Figure 22 : Rendement des extraits des feuilles d'olivier sauvage *Olea europea* var. *sylvestris*

D'après les résultats obtenus et qui sont résumés dans l'histogramme ci-dessus (Figure 22), une variabilité des rendements entre les deux solvants d'extraction a été constatée, on remarque que la solution hydro-acétonique a permis d'obtenir le meilleur rendement à une valeur de 33,05% tandis que le solvant hydro-méthanolique a donné un rendement de 30,33%. La macération de la poudre des feuilles d'olivier sauvage dans l'acétone s'accompagne d'une augmentation du rendement d'extraction par rapport au méthanol. Ce qui indique que les molécules actives des feuilles d'*Olea europaea*. sont plus solubles dans ce solvant.

Cette différence est due de plusieurs paramètres : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Santos *et al.*, 2012).

IV.3. Analyses qualitatives

IV.3.1. Caractérisation phytochimique

Les tests photochimiques nous ont permis de détecter la présence ou l'absence de certains composés par des réactions de coloration et de précipitation :

Tableau VII : Tests photochimiques d'extrait méthanol eau et acétone eau.

Métabolites /Les extraits	Extrait méthanol/eau	extrait acétone/eau
Les tanins	+	+
Les quinones libres	+	+
Les saponosides	+	+
les terpénoïdes	+	-
les glucosides	+	+
les mucilages	-	-
les iridoïdes	-	-
Les composés réducteurs	+	+
Les flavonoïdes	+	+

(+) : Présence, (-) : Absence

D'après les résultats obtenus, on remarque la présence des flavonoïdes, les tanins, les quinones libres, les saponosides, les glucosides et les composés réducteurs pour les deux extraits (hydro-méthanolique et hydro-acétonique), on constate aussi la présence des terpénoïdes dans l'extrait méthanolique et son absence au niveau de l'extrait acétonique, et une absence totale des mucilages et les iridoïdes pour les deux extraits (Annex V).

Une étude phytochimique sur les feuilles d'Olea europaea réalisé par **Himour et al., (2016)** mis en évidence la présence de flavonoïdes, en quantités importantes, les quinones libres, les terpénoïdes, les saponosides et ces résultats sont en accord avec nos résultats.

IV.3.2. Dosage des composés phénolique

Après addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est obtenue avec une intensité qui varie en fonction de la concentration de l'acide gallique (utilisé comme étalon) pour les deux extraits utilisés (Annex IV. Figure 1).

La teneur en polyphénols est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EQ /g MS). Ce qui a permet de tracer la courbe d'étalonnage, la teneur des polyphénols totaux est déterminée par l'équation : $y=1,2351X+0,0278$. (Annex VI, Figure 2).

Tableau VIII : Teneurs en composés phénoliques des extraits de feuilles d'oléastre

	Extraits Méthanol/eau	Extrait Acétone /eau
Polyphénols (mg EAG/g MS)	252,136 ± 0,747 ^b	272,863 ± 0,747 ^a
Flavonoïdes (mg EQ/g MS)	5,52 ± 0,203 ^b	14,961 ± 0,066 ^a

Les lettres *a, b, c* indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différentes échantillons.

Une différence significative est notée entre tous les résultats obtenus pour les deux solvants d'extractions utilisés.

Nous avons enregistré que l'extrait préparé par le solvant hydro-acétonique présente des teneurs élevées en polyphénols ($272,863 \pm 0,747$ mgEAG/g MS), et en flavonoïdes ($14,961$ mg EQ/g MS) suivi par l'extrait préparé par le solvant hydro-méthanolique ($252,136 \pm 0,747$ mgEAG/g MS) et $5,52$ mg ER/g MS respectivement.

Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Madani et *al.*, (2017) qui sont de $124,90 \pm 0,049$ µg EAG/mg MS pour les polyphénols. Des valeurs comparables en termes de flavonoïdes ont été rapportées par le même auteur qui sont de $9,8 \pm 0,017$ mg EQ/g MS dans les feuilles d'olivier. Par ailleurs, **Morzouglal et Rabouh (2019)** ont obtenu des valeurs assez faibles de flavonoïdes de l'ordre de $0,107 \pm 0,003$ mg EQ/gMS).

Cette différence entre les résultats est probablement due à divers facteurs ; la méthode d'extraction choisie, les conditions d'extraction, l'origine géographique de la plante, la variété, les conditions climatiques (température, exposition au soleil, la sécheresse et la salinité...etc.), le régime d'irrigation, ainsi que le facteur génétique (**Ksouri et al., 2009 ; Altiok, 2010 ; Himour, 2018 ; Meddour et Soualem, 2021**).

L'analyse quantitative des flavonoïdes montre que les teneurs en flavonoïdes des deux extraits varient entre $5,52$ et $14,961$ mg EQ/g MS. La valeur maximale est obtenue avec l'extrait hydro-acétonique ($14,961$ mg EQ/g MS), tandis qu'une valeur de ($5,52$ mg EQ/g MS) pour l'extrait hydro-méthanolique.

A titre de comparaison de notre étude avec la littérature, le travail de **Morzouglal et Rabouh (2019)** a montré des valeurs assez faibles par rapport nos résultats avec une teneur de $0,107 \pm 0,003$ mg EQ/g d'extrait. Ainsi, **Bouabdallah (2014)** a rapporté des teneurs plus faibles en flavonoïdes dans les deux extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique, (99.49 mg EQ/100g), (79.23 mg EQ/100g) respectivement.

Également, **Abaza et al. (2011)** ont estimé des teneurs proches à notre résultat qui ont varié de 3.42 à 21.47mg/g MS. Il faut toutefois souligner qu'il ne s'agit ni de même solvant ni de mêmes protocoles d'activité, ni de matériel de départ (sec, frais), ni de même durée de conservation et de température d'étude, ce qui pourrait expliquer l'écart observé entre nos résultats et ceux de la bibliographie. Selon **Boudhrioua et al., (2009)** le séchage et la durée du stockage des feuilles d'oliviers favorise l'augmentation des composés bioactifs (polyphénols totaux, flavonoïdes).

IV.5. Activité antioxydante

Tableau IX : résultats des activités antioxydantes

	Extraits Méthanol/Eau	Extrait Acétone /Eau
AAT (CA50) (mgEqAA/g de MS)	4,51 ± 0,028 ^b	7,52 ± 0,08 ^a
DPPH (%)	54,40 ± 4,05 ^b	88,68 ± 0,44 ^a
Pouvoir réducteur IC50 (mgEqAA/g de MS)	0,755 ± 0,0056 ^a	0,986 ± 0,021 ^b

Les lettres *a*, *b*, *c* indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différentes échantillons

Les deux extraits sont doués d'activité antioxydante, toutefois l'extrait hydro-acétonique obtient les meilleurs résultats pour les trois tests utilisés ; piégeage du radical DPPH; réduction de fer ferrique en fer ferreux et pour l'activité antioxydante totale. L'analyse statistique l'a confirmé en montrant des différences significatives entre les deux extraits.

Ceci pourrait être expliqué par la richesse de l'extrait hydro-acétonique en polyphénols et en flavonoïdes. En effet, **Karou et al. (2005)** ont montré qu'il y'a une bonne corrélation entre le profil en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des extraits de plantes suggérant ainsi que les composés phénoliques sont bien responsables de l'activité antioxydante de ces extraits.

D'après les valeurs obtenues, l'extrait hydro-méthanolique présente une CI50 inférieure à ceux de l'extrait hydro-acétonique, et donc l'extrait hydro-acétonique possède la meilleure activité que l'extrait hydro-méthanolique. **Bensallah et al., (2012)**, ont étudié l'activité antioxydante des feuilles d'une variété de l'olivier. ils ont obtenu une CI50 de 9.90 µg/ml. Ce résultat est proche de celui qu'on a obtenu.

Les extraits des feuilles d'olivier sauvage montrent une capacité réductrice importante qui se traduit par des faibles valeurs CR0,5 de 0,755 ± 0,0056 pour EHA et de 0,986 ± 0,021 et

0,755 ± 0,0056 mg /ml pour l'EHM. De pareil résultat sont obtenu pour l'activité antioxydante totale ; qui est de l'ordre de (7,33 ± 0,34 mgEqAA/g de MS) pour l'extrait hydro-acétonique et de (4,51 ± 0,028 mgEqAA/g de MS) pour l'extrait hydro-méthanolique. Ces résultats pourront être expliqués par la richesse de l'extrait EHA en substances de nature chimique polaire ayant une propriété antioxydante puissante représentée par un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort (**Fethoun et Saheb, 2015**).

En effet, le travail de **Meddour et Soualem, (2021)** sur les extraits méthanoliques, acétoniques et éthanolique des feuilles d'olivier a abouti à une forte capacité réductrice avec des valeurs de CR0,5 égales 0,83mg/ml, 1,47mg/ml, 2,16mg/ml respectivement. Ces résultats sont supérieurs aux nôtres, ceci pourrait être attribué à la concentration des extraits, la présence des substances spécifiques aux propriétés antioxydantes puissantes ainsi qu'à la région de collecte des échantillons.

A partir du tableau IV.5, on peut déterminer que les feuilles d'olivier révèlent une activité antioxydant totale élevée pour l'extrait hydro-acétonique (7,33 ± 0,34 mgEqAA/g de MS) par rapport à l'extrait hydro-méthanolique (4,51 ± 0,028 mgEqAA/g de MS).

Nos résultats révélés que nos extraits possèdent une activité antioxydant totale très faible par rapport aux BHA (199,48±0,2 mg EAG/g).

IV.6. Enrichissement de l'huile d'olive

IV.6.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive enrichie

D'après notre appréciation de la qualité sensorielle des huiles enrichie avec les extraits des feuilles d'olivier sauvage, nous avons enregistré une couleur et une odeur intense d'olive avec un gout légèrement amer par rapport à l'huile témoin. Même constatations a été rapportée par **Taghvaei et Jafari. (2013)** sur des échantillons d'huiles d'olive enrichie avec des plantes.

IV.6.2. Densité

La densité est l'un des critères de pureté d'une huile. Elle varie en fonction de la composition chimique des huiles et de la température de stockage. Dans notre étude, nous avons déterminé ce paramètre à une température ambiante. Les résultats obtenus pour l'huile d'olive ainsi que pour l'huile enrichie du jour 0 à jour 60 sont présentés sur l'Annex VI. Figure 1.

Les densités de l'huile enrichie par les extraits acétonique et méthanolique varient entre (0,889 et 0,929), et (0,879 et 0,921) respectivement en fonction du temps, Les densités des huiles d'olive étudiés par **Bouarroudj et al. (2016)** sont dans l'intervalle de nos résultats, avec des valeurs oscillant de 0,910 à 0,911. Par ailleurs, l'arrêté du 03 Août 2011 relatif à la méthode de détermination de la densité relative à 20°C des corps gras d'origine animale et

végétale. (JORA n° 66-2012) a indiqué que la densité relative de l'huile d'olive (vierge et raffinée) est comprise entre 0,910 et 0,916.

La variation de la densité dans nos résultats est due à la variation de la température ambiante de l'huile et de l'eau lors de la prise de mesure.

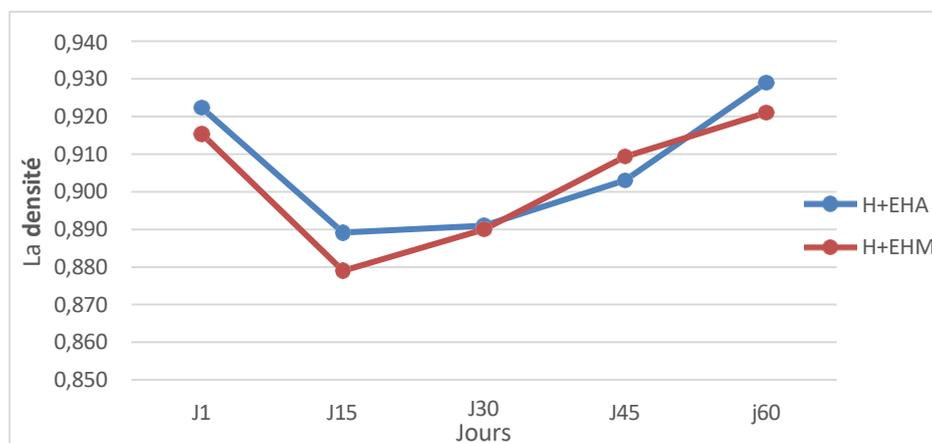


Figure IV.2 : Suivre de la densité de l'huile d'olive enrichie

IV.6.3. Analyses chimiques

IV.6.3.1. Acidité et indice de peroxyde

L'acidité libre est l'indice de peroxyde sont des paramètres qui renseignent sur l'état d'oxydation et l'altération de l'huile par hydrolyse des triglycérides et libération des acides gras dont le dosage permet d'avoir une idée sur l'état d'avancement de la dégradation d'huile (Gharby S. *et al.*, 2011). En effet, plus l'IP et l'acidité sont faible, meilleure est la stabilité oxydative de l'huile au cours du stockage.

Les valeurs d'acidité de toutes les huiles dépassent la norme de 3%, de même pour l'indice de peroxyde qui montre des résultats supérieurs à la norme de 20meq d'O₂/Kg), valeur minimale fixée recommandé par la norme internationale pour les l'huiles (Bouhadjra, 2011).

Sachant qu'une faible valeur d'acidité caractérise la pureté et la stabilité d'une huile à la température ambiante (Novidzro *et al.*, 2019).

Les résultats représentés dans la (figure 24), montrent une augmentation de la valeur de l'indice de peroxyde (IP) et de l'acidité dans les huiles étudiées, ensuite leur diminution au bout de 30 jours est notée, ceci pourrait être expliqué par une amélioration de la solubilité des extraits au cours des 30 jours de stockage. Les résultats sont représentés dans la figure suivante.

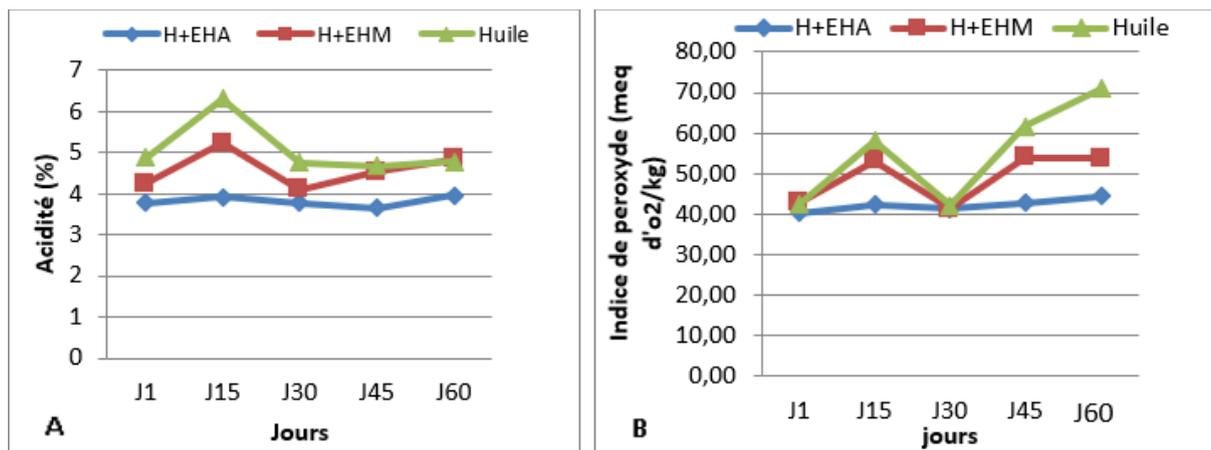


Figure 24 : Evolution des paramètres de stabilité de l'huile au cours de stockage

A : Acidité (%) **B :** Indice de peroxyde de l'huile d'olive enrichie (meq d'o₂/kg)

Par contre l'évolution de ces indices pour les huiles enrichies par les extraits de feuilles d'oléastre suit relativement un rythme moins accentué que celle du témoin. En effet, **Bouhadjra K. (2011)** et **Gharby S. et al., (2014)** ont trouvé que la stabilité des huiles est bien corrélée avec la teneur en composé phénoliques et à la présence d'un taux élevé d'antioxydants naturels. Cette même explication a été avancée par une autre étude de **Maurizio S. et al., (2002)** confirmant que les polyphénols augmentent la stabilité des huiles. Cependant, au 45^{ème} et 60^{ème} jours, nous avons observé une élévation des valeurs de l'acidité et de l'indice de peroxyde, ceci est peut-être dû à l'inactivation des composés phénolique ou à leur oxydation au cours de stockage. Une diminution de la chlorophylle qui est un antioxydant au cours du stockage est notée par **(Ošťádalová et al.,2015)**

L'oxydation des lipides un phénomène favorisée par la température sachant que nous avons gardé nos échantillons à température ambiante pour reproduire les conditions de stockage pratiquées par les consommateurs, ainsi que par le type d'emballage utilisé, en particulier le PET transparent qui permet à la lumière d'oxyder d'avantage l'huile. En effet, **Julie (2004)** a rapporté que les paramètres exogènes , comme la température et la lumière apportent l'énergie facilitant le passage à l'étape radicalaire, ainsi l'aération assure quant à elle le renouvellement du réactif (oxygène) et décale ainsi la réaction vers la formation des produits oxydés, de même que les facteur endogènes tel que le taux d'insaturation des acides gras , les traces de photo sensibilisateurs (pigment ,chlorophylle, vitamines, minéraux) , l'absence d'antioxydants naturels, sont corrélés à une augmentation du risque oxydatif et.

L'oxydation des huiles enrichies pourrait être la conséquence d'une faible concentration d'enrichissement qui est de 100mg/50ml d'huile.

Selon les études, certains extraits de plantes considérés comme antioxydants naturels ont montré des activités antioxydantes plus faibles que leurs homologues synthétiques, suggérant qu'ils devraient être appliqués à des aliments en plus grande quantité (Plaskova et al.,2023).

IV.6.3.2. Suivre de l'oxydation des huiles par le coefficient des extinctions spécifiques

L'extinction spécifique à 232 nm et à 270 nm d'une huile reflète son état d'oxydation, plus les valeurs de ces deux extinctions sont fortes, plus l'huile est peroxydée, et plus elle est riche en produits d'oxydation secondaires en particulier des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent la lumière vers 270 nm. (Benrachou. N, 2012). En effet, la présence des produits d'oxydation dans les huiles, traduit sa faible aptitude à la conservation. (Wolff, 1968).

Nous avons recherché l'effet de la poudre de feuilles d'olivier sauvage sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive.

Les résultats de l'analyse de coefficient de l'extinction spécifique UV sont représentés dans ci-dessous :

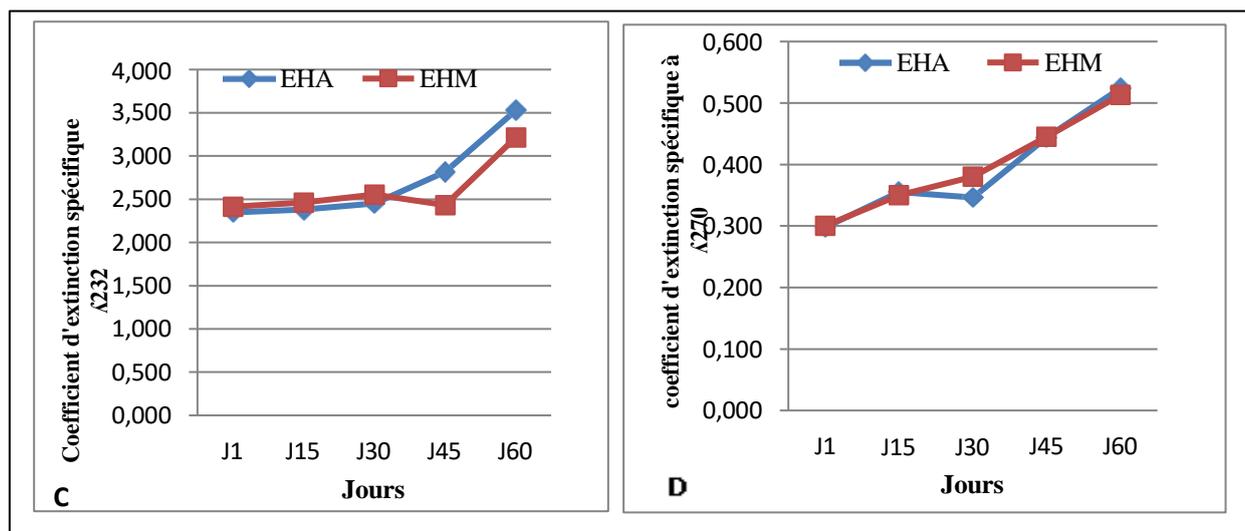


Figure : Les coefficients d'extinction spécifique

C : Coefficient d'extinction spécifique pour λ_{232} D : Coefficient d'extinction spécifique pour λ_{270}

La valeur enregistrée marque une augmentation accrue durant les 60 jours du stockage avec la valeur du coefficient d'extinction la plus importante au dernier jour de stockage soit 0,513 et 0,524 pour le K 270, 2,816 et 3,528 pour le K232. L'huile enrichie par les polyphénols signale une augmentation qui passe de 2,3 à 3,5 et de 2,4 à 3,2 pour l'extrait hydro-méthanolique et hydro-acétonique respectivement. Elles sont donc à la première étape de la propagation qui correspond à la formation des peroxydes mais pas des hydro-péroxydes.

Nous constatons qu'il y a une évolution lente et progressive des valeurs de l'indice d'extinction (K320) pour les deux huiles étudiées jusqu'au 30ème jours, puis elle augmente en raison de l'expiration des composés phénolique ayant servi à l'enrichissement et à leur inactivation. En effet, les antioxydants phénoliques s'oxydent à la place des acides gras, puis, contrairement à ces derniers, ont la propriété de se stabiliser sous une forme qui n'évolue pas vers le stade radicalaire (**Jude,2004**).

Après la formation des hydro peroxydes dans les premières étapes de l'oxydation qui sont des produits instables, ils se transforment rapidement en des produits secondaires d'oxydation en particulier dicétones et cétones insaturées qui absorbent la lumière au voisinage de 270nm (**Gharby S. et al., 2012**). L'absorption spécifique à K270 est donc un marqueur de la formation des produits secondaires d'oxydation (**Harhar H. et al., 2010**)

La présence nécessaire d'un agent photosensibilisateur (pigments type chlorophylle, certains colorants, certaines vitamines), active l'oxygène normal de l'air, passant de son état fondamental dit « triplet » à un état excité dit « singulet », état dans lequel l'oxygène à suffisamment d'énergie pour se fixer directement sur l'acide gras sans passer par l'étape radicalaire. Les mécanismes réactionnels sont donc différents (**Judde, 2004**).

Lors de la confrontation à une problématique d'oxydation, l'ambition la plus raisonnable consiste à retarder l'apparition des premières réactions d'oxydation (c'est-à-dire allonger la phase d'initiation) mais en aucun cas à supprimer la réaction d'oxydation, ce qui ne pourrait se concevoir qu'en absence totale d'oxygène (**Judde, 2004**).

Ricardo et al. (2012) se sont intéressés à évaluer la qualité d'une huile d'olive enrichie par des extraits aqueux de thé vert et blanc riche en antioxydants. Différents paramètres de qualité (acidité libre, indice de peroxyde, K232, K270), composition en acides gras, teneur en tocophérols et en phénols totaux, l'activité antioxydante et la stabilité oxydative ont été étudiées pendant différents temps d'exposition au chauffage par micro-ondes (0, 1, 3, 5 et 10 min). Jusqu'aux 3 premières minutes de chauffage, les extraits de thé protègent l'huile d'olive du processus oxydatif. Cependant, avec des périodes de chauffage plus élevées, les extraits étaient des pro-oxydants, principalement l'huile avec l'extrait de thé vert et la teneur en AGPI a diminué avec l'augmentation du temps d'exposition ainsi que l'activité antioxydante, la teneur en phénols totaux et en vitamine E totale et la stabilité oxydative, avec des pertes plus élevées dans les huiles d'olive.

L'étude d'**Ayadi et al. (2009)** est portée sur le suivi de l'évolution physico-chimique et la thermo stabilité des huiles d'olive aromatisées par des plantes aromatiques tunisiennes montrent que l'ajout de plantes aromatiques provoque une légère augmentation de l'acidité

libre et de la viscosité de l'huile aromatisée. Il a été montré que l'ajout de thym provoque une grande modification de la couleur de l'huile d'olive.

Tableau X : Normes chimiques de l'huile d'olive (JORA)

Catégories	Acidité (%)	Indice de peroxyde (mEqO ₂ /kg)	Absorbance dans l'UV		
			270nm	Δk	232nm
Huile d'olive vierge extra	≤ 0,8	≤20	≤0,22	≤0,01	≤2,50
Huile d'olive vierge	≤2,0	≤20	≤0,25	≤0,01	≤2,60
Huile d'olive vierge courante	≤3,3	≤20	≤0,30	≤0,01	
Huile d'olive lampante	≤3,3	Non limité	-	-	-

Conclusion

Conclusion

L'huile d'olive est la principale source de matière grasse dans les régimes alimentaires méditerranéens. Riche en acide gras polyinsaturé de type oméga 6, ce type de régime a souvent été associé à une meilleure résistance à certaines maladies, notamment les maladies cardiovasculaires et les maladies dégénératives. Les consommateurs préfèrent de plus en plus l'huile d'olive de haute qualité avec des propriétés nutritionnelle et sensorielles intéressantes, et meilleure stabilité durant la conservation et riche en composé bénéfique pour la santé notamment les composés phénoliques. Elle est riche en antioxydants, cependant de nombreuses études ont montré que la qualité d'une huile peut être grandement influencée par son procédé de fabrication. Dans ce contexte et pour répondre à cette demande nous avons enrichie l'huile d'olive avec des extraits de feuilles d'oliviers sauvage obtenu par deux solvants.

Notre étude a abouti aux résultats suivants :

- Une poudre d'humidité et de composition acceptable en cendre et en chlorophylle, qui est un antioxydant.
- Des rendements d'extraction des composés phénolique importants pour les deux solvant utilisés à savoir (Acétones/eau.20/80) et (Méthanol/eau.20/80) avec des taux de polyphénols et de flavonoïdes intéressants.
- L'analyse phytochimique révèle la présence des composés bioactifs suivant dans les extraits de feuilles d'olivier sauvage, comme les tanins, les flavonoïdes, les composés réducteurs, les tanins, les quinones libres et en saponosides et les pigments chlorophylliens. Par contre, les tests de recherche des mucilages et des iridoïdes ont été négatifs.
- Une activité antioxydante très intéressante des extraits étudiés.
- L'inefficacité des extraits à maintenir la stabilité oxydative de l'huile d'olive enrichie, puisque les résultats obtenus pour l'indice d'acide en fonction du temps sont conformes avec les normes du codex Alimentarius avec des valeurs de 2,8 à 5,2%. Par contre, l'indice de peroxyde à donner des valeurs plus importantes que la norme. L'évolution de coefficient d'extinction spécifique réalisées sur l'huile enrichie avec l'extrait acétonique et méthanolique a permis de mettre en évidence les points d'oxydation et de les comparer avec d'autres études déjà faites sur la stabilité de l'huile d'olive.

- d'oxydation et de les comparer avec d'autres études déjà faites sur la stabilité de l'huile d'olive.

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer la richesse des feuilles d'*Olea europaea* en substances phytochimique et qui pourraient représenter une nouvelle source potentielle de molécules bioactives, il serait intéressant de compléter ce travail par d'autres études :

- Réaliser un enrichissement d'huile d'olive avec des concentrations plus élevées et étudier l'effet du temps de stockage.
- Faire une étude sur les autres partie de l'olivier sauvage tel que les feuilles, fruits, noyaux également.
- Tester l'effet antioxydant de ces extraits phénoliques sous différentes conditions : exposition à la lumière, un long stockage, et d'autres températures même à froid ;
- Trouver une méthode d'extraction adéquate (à froid) sans solvant.

ANNEXES

ANNEXI

Tableau : Liste matériels et réactifs utilisés.

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none">▪ Broyeur▪ Balance analytique▪ Plaque chauffante agitatrice▪ Papier filtre▪ Etuve▪ Centrifugeuse▪ Dessiccateur▪ Spectrophotomètre▪ Verreries (Béchers, éprouvettes, entonnoir, pipettes graduées, fioles, erlenmeyer, burettes,)▪ pH-mètre▪ Bain marie▪ Four à moufle▪ Creuset▪ spatules▪ micropipette	<ul style="list-style-type: none">▪ Eau distillée▪ Ethanol▪ Méthanol▪ Acétone▪ Folin cicalteu▪ Carbonate de sodium 7,5%▪ Chloroforme▪ Molybdate▪ DPPH▪ Acide sulfurique▪ Hydroxyde de potassium (KOH)▪ KI▪ Thiosulfate de sodium▪ Amidon▪ Phénophtaléine

ANNEX II

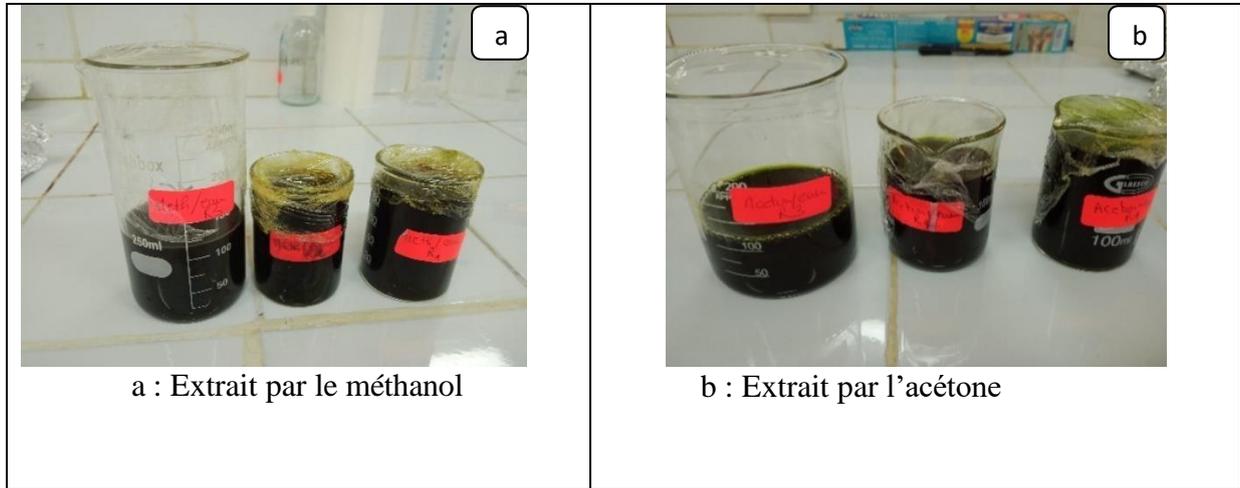


Figure 1 : extraits des feuilles d'oléastre par le méthanol et l'acétone



Figure 2 : L'ajout des extraits secs à l'huile d'olive

ANNEX III



Figure 1 : Détermination de l'humidité de la poudre des feuilles séchées

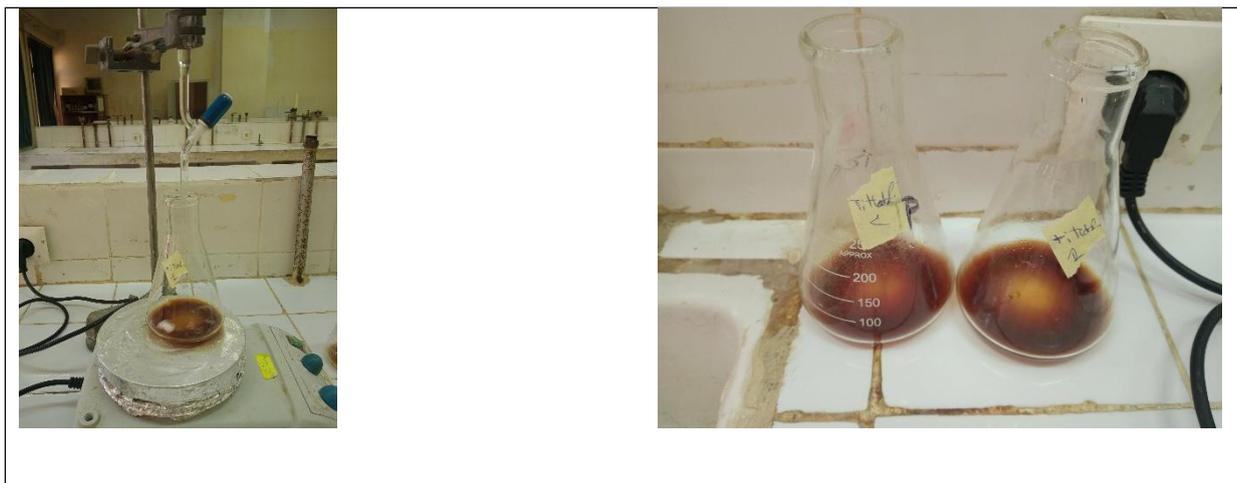


Figure 2 : Détermination de l'acidité titrable

ANNEX IV



Figure 1 : Aparition d'une couleur bleue pour les deux extraits dans le test du dosage des polyphénols



Figure 2 : aparition d'une couleur jaune dans le test du dosage des flavonoïdes

ANNEXV



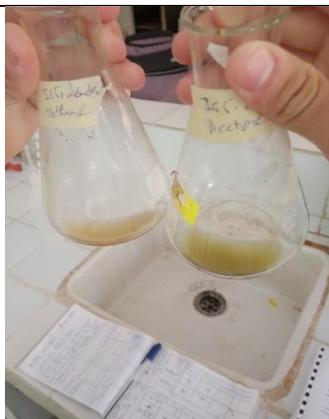
Tanins



Quinones libres



Mucilages



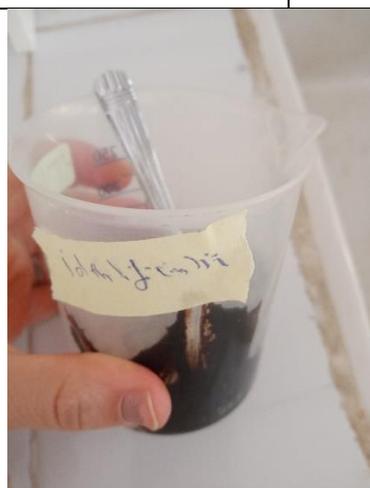
Iridoïdes



Terpénoïdes



Saponosides



Identification des glucosides pour la poudre



Flavonoïdes

Résultats des tests phytochimiques d'extraits : hydro-acétonique et hydro-méthanolique

ANNEX VI

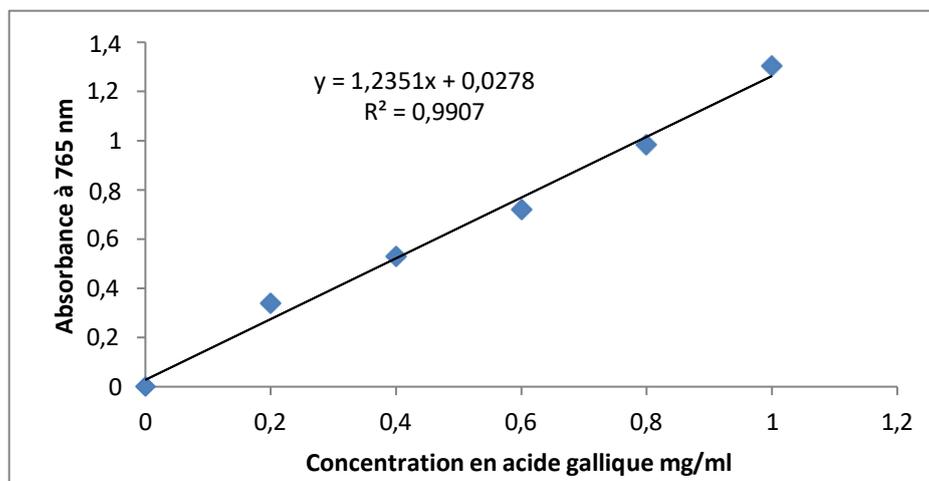


Figure 1 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

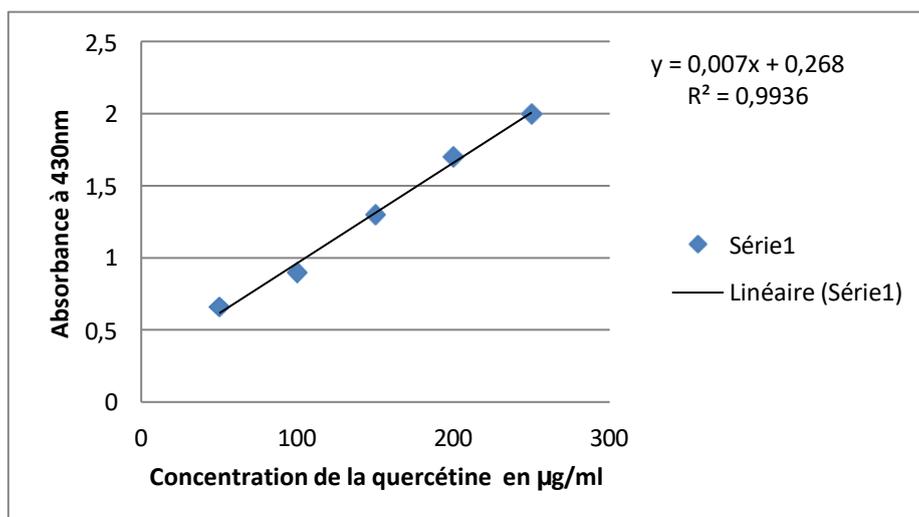


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

ANNEX V

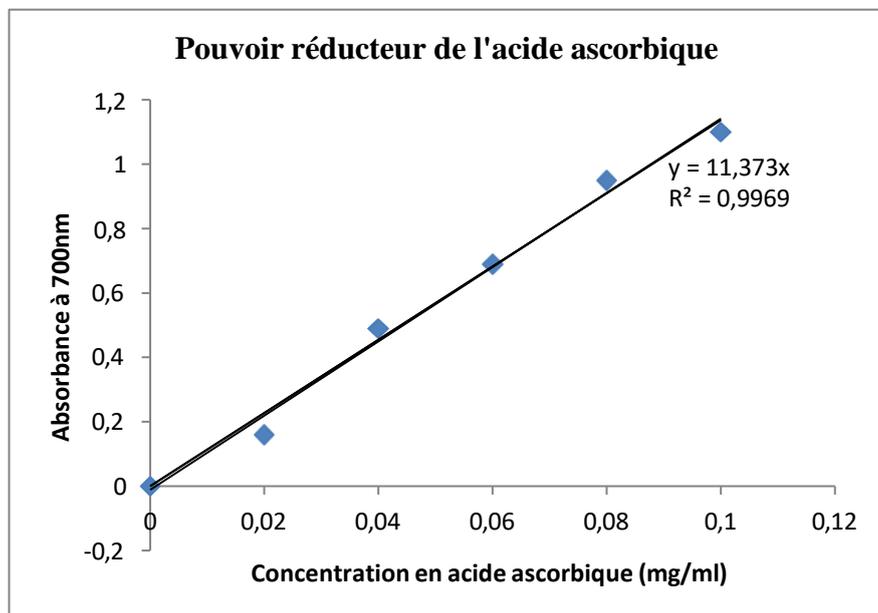


Figure 1 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

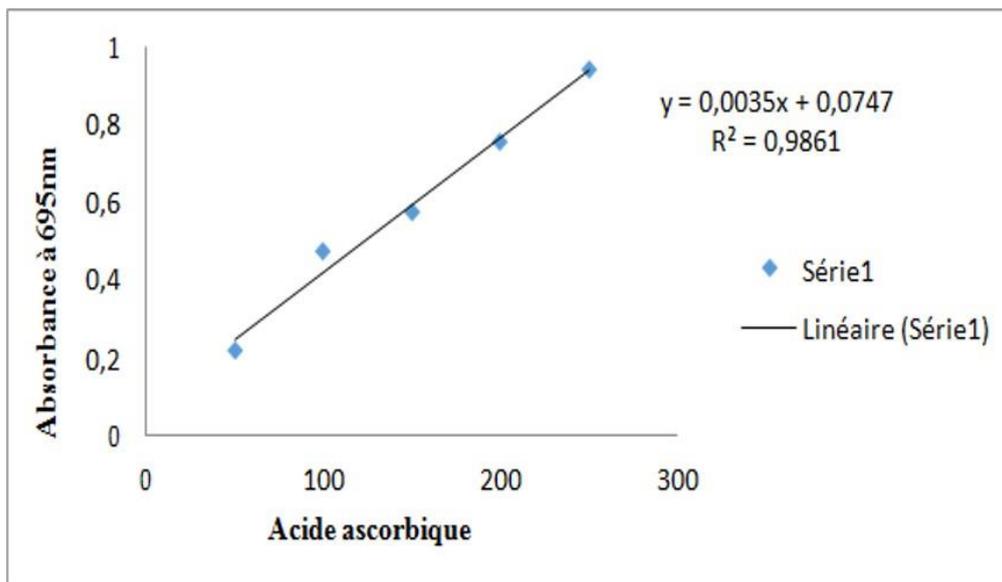


Figure 2 : Activité antioxydante totale de l'acide ascorbique

Références bibliographiques



Abaza, L., Ben Youssef, N., Manai H., Mahjoub Haddada F., Methenni k., zarrouk M. (2011). Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y Aceites*, Vol 62, No 1 96-104.

Abaza, L., Talorete, T. P. N., Yamada, P., Kurita, Y., Zarrouk, M., & Isoda, H. (2007). Induction of growth inhibition and differentiation of human leukemia HL-60 cells by a Tunisian gerboui olive leaf extract. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71(5), 1306–1312

AFNOR (1986). Association Française de normalisation. Recueil de normes françaises des fruits et produits dérivés-AFNOR, 3 Ed., Paris.

Aggoun-Arhab M ;(2016). Caractérisation de la composition en micro-constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri-Constantine. ; 209p.

Amouretti, C. et Comet, G. 2000. Le livre de l'olivier. Edisud. 191.

Ana Isabel Mendez, Elena Falqué; (2007). Effect of storage time and container type on the quality of extra virgin olive oil. *Food control* 18 521-529.

Aoukli M. N; Chetouhe S. (2019). Etude qualitative des huiles d'olives de la région de Djaafra. Mémoire de Master 2 : Qualité des produits et sécurité alimentaire. Univ B.B.A ; p11-22.

Augustin M.A. & Berry S.K. (1983). efficacy of the antioxidants BHA and BHT in palm olein during heating and frying. *Journal American of Oil Chemists Society*, 60(8), 1520-1523.

Aparicio R and Harwood J; (2013). Handbook of olive oil. Analysis and properties .2nd edition. Springer, New York, 774 p.

Ayadi, M. A., Grati-Kamoun, N., et Attia, H. (2009).Physico-chemical change and heatstability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10), 2613-2619.

B

Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006). Composés phénoliques dans les plantes et les sous-produits agro-industriels : activité antioxydante, occurrence et utilisations potentielles.

Barros, L., Ferreira, M.-J., Queirós, B., Ferreira, I.C.F.R., and Baptista, P. (2007). Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry* 103, 413–419.

Benrachou, N ;(2013). Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien (Doctoral Dissertation, Université d'Annaba).

Ben-Ayed, R Kamoun-Grati, N., Rebai, A ;(2013). An overview of the authentication of olive tree and oil. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(2), 218-227.

Besnard G. and Bervillé A. 2000. Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea Europaea* L. subsp. *europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris série III*, 323: 173-181.

Ben Saleh, M., Hafedh, A., Manef, A. (2012). Study of phenolic Composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia *Med chem.* 2012.2:5.

Benrachou .N, 2012 – 2013, Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien, These de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba.

Benavente-García., Jhosep Castillo., J. Lorente., A.Ortuno., J.A. Del-Rio. (2000). Activité antioxydante des composés phénoliques des feuilles d'*Olea europaea* L.

Blázquez M.J. (1996). Origine e diffusione della coltivazione. In: *Enciclopedia Mondiale dell'Olivo* (Italian language edition). COI. Barcelona. Pp 19-21.

Bolmont. R., Buessler. Lucien., Jaubert. J. (1998). L'Olivier. Dans : *BT 1095*, 02/1998, p. 1-41.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Boudribila M-M. 2004. Les anciens amazighs avant les phéniciens, mode de vie et organisation sociale. AWAL 29 : 21.

Bolmont. R., Buessler. Lucien., Jaubert. J. (1998). L'Olivier. Dans : BT 1095, 02/1998, p. 1-41.

Boss, A., Bishop, K. S., Marlow, G., Barnett, M. P. G. et Ferguson, L. R. (2016). Preuves à l'appui de l'effet anticancéreux de l'extrait de feuille d'olivier et orientations futures. Nutriments, 8(8).

Boskou D; (2006). Oliv oil Chemistry and Technology. Second ed. Champaign, SAD: AOCS Press.

Bouabdallah A. (2014). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Master en Biochimie appliquée. Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen.

Boudhrioua,N., Bahloul,N., Ben Slimen,I., Kechaou,N.2009.Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves .Industrial crops and products,vol. 2 9, pp.412–419.

BOUDJOUREF M 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbas, Setif. 2011.9_28

Breton C., Souyris I., Villemur P. and Bervillé A. 2009. Oil accumulation kinetic along ripening in four olive cultivars varying for fruit size. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 16. 1 : 58-64.

Breton C., Médail F., Pinatel C. and Bervillé A. (2006). De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le bassin méditerranéen. Cahiers Agriculteurs, 15 (4) : 329-336.

Breton C., Médail F., Pinatel C. and Bervillé A. (2006). De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le bassin méditerranéen. Cahiers Agricultures, 15 (4) : 329-336.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bronzini de C.V., Giannettini J., Gambotti C. and Maury J. 2002. Genetic relationships between cultivated and wild olive of Corsica and Sardinia using RAPD markers. *Euphytica* 123 : 263-271.



Camps-Fabrer. H., (1953). L'olivier et l'huile dans l'Afrique romaine. gouvernement general de l'algerie. Alger.

Carrion Y., Ntinou M., Badal E. 2010. *Olea europaea* L in the North Mediterranean Basin during the Pleniglacial and the Early–Middle Holocene. *Quaternary Science Reviews*, 29: 952–968.

Cavalheiro, C. V., Picoloto, R. S., Cichoski, A. J., Wagner, R., de Menezes, C. R., Zepka, L. Q., ... Barin, J. S. (2015). Olive leaves offer more than phenolic compound - Fatty acids and mineral composition of varieties from Southern Brazil. *Industrial Crops and Products*, 71, 122–127..

Carluccio et al Carluccio M Siculelia L Ancora M; (2003). Olive oil and redwine antioxidant polyphenols Inhibit endothelial activation: Antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23: 622-629.

Camin F, Bontempo L, Ziller L, Piangiolino C, Morchio, G ;(2010). Stable isotope ratios of carbon and hydrogen to distinguish olive oil from shark squalene-squalane. *Rapid communications in mass spectrometry*, 24(12), 1810-1816.

CEE 2568/91. Communauté Economique Européenne. Règlement CEE, (2002). Le secteur de l'huile d'olive dans l'Union Européenne. Commission Européenne. Direction générale de l'agriculture.

Chiappetta, A., and Muzzalupo, I. (2012). Botanical Description. In *Olive Germplasm - The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy*, I. Muzzalupo, ed. (InTech)

Chevalier A. 1948. L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. *Revue Internationale de Botanique Appliquée et d'Agriculture Tropicale*, 28: 1-25.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chimi H ;(1997). Sous-produits de la transformation et de traitement des margines. Cours international sur l'amélioration de la qualité de l'huile. 11 – 30p.

CHAN S.W., LEE C.Y., YAP C.F., WAN AIDA W.M. ET HO C.W(2009). Optimisation of extraction condition for phenolic compound from limau purut (citrus hystrix) peels., International Food Research Journal. Volume 16: 203-213.

Change, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analyses, 10(3), 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.

Codex Alimentarius ;(1981). Norme pour les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive. Méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive. COI/T, 20/Doc N°15/Rév, 2.

COI ; (2003). Conseil oléicole international COI/T.15/NC N°3/Rev.14 P3.7.

Conseil Oléicole International (2009). Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive.

Conseil oléicole international ; C.O.I (2011) : Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive. COI/T.15/NC n°3/Rév.7.

Conseil oléicole International ; COI (2013). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olives, p15.

Conseil oléicole international COI (2019). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive, P7 et 8.

D

Dabbou, S., Dabbou, S., Selvaggini, R. 2011. Comparison of the chemical composition and the organoleptic profile of virgin olive oil from two wild and two cultivated Tunisian *Olea europaea*. Chemistry and Biodiversity. 8, 189-202.

D'Aygalliers, P. (2013). L'Olivier et l'huile d'olive - Histoire naturelle de l'olivier.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

De Caraffa, (2002). Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleasters, olive and feral olive from Western and Eastern Mediterranean. TAG Theoretical and Applied Genetics 104, 1209–1216.

Demnati, D. (2008). Facteurs affectant la qualité d'une huile d'olive vierge. L'huile d'olive vierge : Qualité et Dégustation. Septembre 2008.

Derbah Sonia Hamidi Fatma ;(2020). Etude bibliographique sur l'huile d'olive et effet des conditions de stockage sur sa qualité.Univ Mouloud .M Tizi ousou, p10-15.

Difonzo, G., Russo, A., Trani, A., Paradiso, V. M., Ranieri, M., Pasqualone, A., ... Caponio, F. (2017). Extraits verts de feuilles de cultivar d'olivier Coratina : Caractérisation antioxydante et activité biologique. Journal des aliments fonctionnels, 31, 63-70.

Di giovacchino L, Solinas M, Mccoli M ;(1994). Effect of extractions ystem's on the quality of virgin olive oil.Journal of American Oil Chemist's Society. 1994 ; 71 (11) : 1189-1194.

Dif.M, Benchiha.H, ehdadi.Z, BenaliToumi. F, Benyahia .M, Bouterfas.K, (2015). Etude quantitatives des polyphénol dans les différents organes de l'espèce papaverrhoeas L, phytothérapie ,13 ,p. 314-319 .

F

Fethoun M, Saheb R (2015). Evaluation de l'activité antioxydant de différents extraits de Foeniculum vulgare. Master en pharmacologie moléculaire. Université A. MIRA – Béjaïa

Frankel E ;(1998). Methode to determine extent of oxidation. Lipid oxidation. 1998; 79-98.

Fuhrer F, Limacher A, Mikle H, Truttmann M, Friedli R, Pasquier M, Pfefferli H, Schneller R, Gremaud G;(2005). Graisses comestibles, huiles comestibles et graisses émulsionnées. In : Manuel suisse des denrées alimentaires ; 27 p.

G

Ghedira, K. (2008). L'olivier. Phytothérapie 6, 83–89

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ghedadba.N, Hambaba.L ,Ayachi.A, Aberkane.MC, Bousselesla.H ,Oueld Mokhtar.SM, (2015),Polyphénols totaux ,activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé, phytothérapie,13 ,P .118-129 .

Gigon, F., Le Jeune, R ;(2010). Huile d'olive, *Olea europaea L. Phytothérapie*, 8(2), 129-135.

Gómez-Rico, A.; Salvador, M.D.; Moriana, A.; Pérez, D.; Olmedilla, N.; Ribas, F.; Fregapane, G;(2007). Influence of different irrigation strategies in a traditiona

H

Hannachi H., Nasri N., El falleh W., Tlili N., Ferchichi A. and Msallem M. 2013. Fatty acids, sterols, polyphenols, and chlorophylls of olive oils obtained from Tunisian wild olive trees (*Olea europaea l. var. sylvestris*). *International Journal of Food Properties*, 16 : 1271-1283.

Hannachi H., Breton C., Msallem M., Ben El Hadj S., El Gazza M. et Bervillé A. 2008a. Différences entre les cultivars d'olives indigènes et introduits révélées par la morphologie des drupes, la composition en huile et les polymorphismes SSR : une étude de cas en Tunisie. *Scientia Horticulturae*, 116 : 280-290

Harwood, J., Aparicio, R. (Eds.). (2000). *Handbook of olive oil: Analysis and properties* (p. 620). Gaithersburg, MD : Aspen

HEIMLER D., PIERONI A., TATTINI M. ET CIMATO A. (1992). Dosage des flavonoïdes, flavonoïdes, glycosides et bi flavonoïdes dans les feuilles d'*Olea Europaea L.* *Chromatographia*, 33, 369-373.

Henry, S. (2003). L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

HENRY N. (2003), l'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique, thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, université Henri Poincaré - Nancy 1.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Himour, S. (2018). Comportements biologique, physiologique, biochimique et l'activité biologique de quatre variétés d'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'Est Algérien (Doctoral dissertation, thèse de magister, Université des Frères Mentouri, Constantine, P 18).

Himour S., Yahia A., Belattar H., Bellebcir L (2016). Etude phytochimique de feuilles d'*Olea europaea* L. var Chemlel d'Algérie, ISSN 2490-4392, Journal of Bioresources Valorization, 2016 Vol. 1 (1), pp(34-38).

I

Iguergaziz Nadia 2012 ; Essai d'élaboration d'un alicament sous forme de comprimés de dattes entières et/ou dé-sucrées additionnés d'extrait aqueux des feuilles d'olivier algérien. En vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER Filière Génie Alimentaire 2012. UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES.

J

Jacotot, Baldioli, M, Servili, G, Perretti, G, Montedoro, G F; (1996). Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. Journal Agricultural Food Chemistry 73, 1589–1593.

Judde, A. (2004). Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications ? *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 11(6), 414-418

K

Kailis, S.G. (2017). Olives. In Encyclopedia of Applied Plant Sciences, (Elsevier), pp. 236–245.

Karou, D., Dicko, M.H., Simpore, J., and Traore, A.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. African Journal of Biotechnology 4, 823–828.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kalogianni E.P., Karastogiannidou C. & Karapantsios T.D. (2009). Effect of the presence and absence of potatoes under repeated frying conditions on the composition of palm oil. *Journal American Oil Chemists Society*, 86, 561-571.

K. Bouhadjra (2011), étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité Oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

Khan, RizwanaAleem Qureshi, FaizanUllah, Syed aneel Gilani, Asia Nosheen, Sumairasahreen, Muhammad khan Laghari, Muhammad YousifLaghari, Shafiq-UrRehman, Ishtiaq Hussain and Waheed Murad, (2011) : Department of Plant Sciences, Quaid-i-Azam University, Islamabad, Pakistan. Pakistan Museum of Natural History, Islamabad, Pakistan.

Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Hamdi B. & Chaieb K., (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L and related polyphenolic constituents. *Food Chem Toxicol*; 47:2083–91.

Krichene D, Allalout, A, Macebo-Campos, V., Salvador, M.D., Zarrouk, M., Fregapane, G;(2010). Stability of virgin olive oil and behaviour of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. *Food Chemistry*, 121, 171–177.

KOURKOULI AIKATERINI, (2016). étude qualitative et quantitative des feuilles d'olivier *olea europaea* var. *europaea* et *agrielia olea europaea* var. *sylvestris*. *oleaceae* de différentes origines mesure des niveaux d'oleuropéine dans les variétés cultivées selon les mêmes pratiques. université nationale et capodistrienne d'Athènes. Grèce.

L

Labdaoui djamel;(2017). Impacts socio-économique et environnemental du modèle d'extraction des huiles d'olives à deux phases et possibilités de sa diffusion dans la région de Bouira (Algérie). Thèse de doctorat : Technologie agro-alimentaire. Université de Mostaganem, pp 22-31.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Lattanzio V., Lattanzio V.M., Cardinali A. (2006). Rôle des composés phénoliques dans les mécanismes de résistance des plantes contre les agents pathogènes fongiques et les insectes. *Phytochem.*

Laraba .M, serrat. A,Ouassa.G ,2016 ,Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale, mémoire de fin d'étude ,Université de Constanti.

Liang,N.,& Kitts ,D.D.(2014). A ntioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Journal of Molecules* ,19(11),19180-19208.

Loranty, M. M., Mackay, D. S., Ewers, B. E., Traver, E., & Kruger, E. L. (2010). Competition for light between individual trees lowers reference canopy stomatal conductance: Results from model. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 115(G4).



Maurizio S, GianFrancesco-Montedoro-Eur J. Lipid Sci. Technol.2002; 104: 602-613.

Meddour, E, Soualem, M. (2021). Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation des propriétés antioxydante d'Olea europaea L, Master en Biochimie . Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

Médail F., Quézel P., Besnard G. And Khadari B. 2001. Systematics, ecology and phylogeographic significance of *Olea europaea* L. ssp. *Maroccana* (Greuter & Burdet) P.Vargas et al., a relictual olive tree in south-west Morocco. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 137 : 249-266.

Mendil M. and Sebai A. 2006. Catalogue des variétés Algérienne de l'olivier : l'olivier en Algerie : 1840

MghezziHabellah. R,Karoume.S,Kechebar.M S A, Bounab.H, (2016), Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de l'*Acacia ehrenbergiana* de la région de Tindouf, *JORA* ,N°13 ,P.27-34 .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Morzouglal, D, Rabouh, K. (2019). Contribution à l'étude de l'activité anti-oxydante des extraits de feuilles d'olivier. Mastère Agronomie. Université Ziane Achour –Djelfa.

Molyneux .P, (2004),The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for estimating antioxydant activity,Songklanakarim J .Sci.Technol,26 ,P .211-219 .

Mettai I et Halilou K. 2021. Etude morphologique et phytochimique des cinq variétés d'olivier dans la région Djaafra-Bordj Bou Arreridj. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

N

Nadour Malika ; (2015). Extraction caractérisation des polysaccharides et des polyphénols issus des sous-produits oléicoles, valorisation des polysaccharides à visée alimentaire. Thèse de doctorat : Biochimie appliquée et Biotechnologie. Univ de Tizi –Ouzou, p 17-20.

Nefzaoui A. Valorisation des sous-produits de l'olivier. In : Tisseran d J. L. (ed.), Alibés X. (ed.). Fourrages et sous-produits méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, Options Méditerranéen : Série A. Séminaires Méditerranéen s ; n. 1 6.

NF V 05-108, (1970). Produits de l'agriculture. Produits dérivés des fruits et légumes.

NF V 05-101, (1974). Produits dérivés des fruits et légumes. Détermination de l'acidité Titrable.

NF V 05-113, (1972). Détermination de cendres totales. Vol 49,n°4,289-298.

Novidzro, K. M., Wokpor, K., Fagla, B. A., Koudouvo, K., Dotse, K., Osseyi, E., & Koumaglo, K. H. (2019). Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de *Griffonia simplicifolia*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 13(4), 2360-2373.

O

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ollivier, D. (2003). Recherche d'adultération dans les huiles végétales : application à la qualité des huiles vierges et notamment de l'huile d'olive. *Oléagineux , Corps gras, Lipides*, 10(4), 315-320.

Owen, R. W., Giacosa, A., Hull, W. E., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H; (2000). Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *The lancet oncology*, 1(2), 107-112.

Oyaizu,M.(1986) .studies on products of Browning Reactions :AntioxidativeActivities of Product of Browning ReactionPreparedfromGlucosamine.Japan Journal of Nutrition ,44,307-315.

Omar M., &Atrooz1. (2013). Les effets de la cuminum cyminum L .Semence Extraits des droits de l'hémolyse des érythrocytes. Département de la science biologique. Université Mut'ah, Jordanie.2 35P.

Ošťádalová, M., Tremlová, B., Pokorná, J., & Král, M. (2015). Chlorophyll as an indicator of green tea quality. *Acta Veterinaria Brno*, 83(10), 103-109

P

Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., ... Pereira, J. A. (2007). Composés phénoliques et activité antimicrobienne des feuilles d'olivier (*Olea europaea* L. cv. *cobrançosa*). *Molécules*, 12(5), 1153-1162. <https://doi.org/10.3390/12051153R>.

Pouyet ,B. et Olivier, V ;(2014).Réglementations sur l'étiquetage et la présentation des huiles d'olives ,508,P134 .

Prieto, P ., Pineda.M. Aguilar.M.,(1999) .Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor-molybdenum complex :specific application to the determination of vitamin E .*Analytical biochemistry*,269(2), 337341 .

Plaskova, A., & Mlcek, J. (2023). New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1118761.

R

Rabiei, Z., and Tahmasebi, S. (2012). Traceability of Origin and Authenticity of Olive Oil. In *Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*, D. Boskou, ed. (InTech), p.

Rahmani M ;(2007) . Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides. Les techniques de laboratoire 18-12.

Reddy V., Urooj A. & Kumar A. (2005). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits. *Food Chemistry*, 90, 317-321.

Rhizopoulou, S. (2007). *Olea europaea L. A Botanical Contribution to Culture.* Environ. Sci.6.

Rolland Y ;(2004). Antioxydants naturels végétaux. OCL. 11 N°6.

S

Sadok, T. H., Rebiha, K., Terki, D. (2018). Physicochemical and organoleptic characterization of virgin olive oils of some Algerian varieties. *AgroBiologia*, 8(1), 706-718.

Sabine J, Martine C, Jean-Luc V, Gilles N ; (2012). L'oxydation des produits carnés : Méthodes de mesure et moyens de maîtrise. Institut du porc ; 1P.

Santos R. D., Shetty K., Lourenco A., Miglioranza L. 2012. Phenolic compound and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extract. DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n2p655.

Sekour B., (2012). Phyto protection de l'huile d'olive vierge par ajout de plantes végétales Univ Boumerdes

Škerget M., Kotnik P., Hadolin M., Rižner Hraš A., Simonič M., Knez Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins and their antioxidant activities.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Standardization ISO 12966 (2017). Animal and Vegetable Fats and Oils: Gas Chromatography of Fatty Acid Methyl Esters: Part 2: Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids.

T

Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015). Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*, 77, 92–108. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.011>

Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015). Composés phénoliques dans les feuilles d'olivier : détermination analytique, influence biotique et abiotique et bienfaits pour la santé. *Food Research International*, 77, 92-108. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.011>

Tchouar Amel K ; Selka Sarra ; (2014). Contribution à l'étude physico-chimique et organoleptique de deux huiles d'olive d'extraction traditionnelle et industrielle de la wilaya de Tlemcen. Mémoire de master : Amélioration de la production végétale et biodiversité. Univ Tlemcen, p32-45

Temime, S. B., Wael, T., Bechir, B., Leila, A., Douja, D., Mokhtar, Z ;(2006). Changes in olive oil quality of Chétoui variety according to origin of plantation. *Journal of Food Lipids*, 13(1), 88-99..

Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité ; bulletin mensuel D'information et de liaison du PNTTA ; Juin 2006 ; N 141.

Terral, J.-F., and Arnold-Simard, G. (1996). Beginnings of Olive Cultivation in Eastern Spain in Relation to Holocene Bioclimatic Changes. *Quaternary Research* 46, 176–185.

Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., La Guardia, M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition research reviews*, 18(1), 98-112.

Treutter D. (2006). Importance des flavonoïdes dans la résistance des plantes : une revue. *Lettres sur la chimie environnementale*.

U

UIPCA. (1979). Union International de la chimie pure et appliqué. Méthode d'analyse de la matière grasse et dérivée. 6ème et 7ème Edition, Paris. Ed: ETIC.

V

Visioli, F., Poli, A., Gall, C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olive and olive oil. Medicinal research reviews, 22(1), 75. 65-

Vossen, P. (2007). Olive Oil: History, Production, and Characteristics of the World's Classic Oils. 42, 8.

W

Wolff J.P. (1968). Manuel d'analyse des corps gras. p. p.245.

Reddy V., Urooj A. & Kumar A. (2005). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits. Food Chemistry, 90, 317-321.

Z

ZEGHDOUD Hanane et CHENNAI Hind Yamine, (2018), Valorisation de deux plantes médicinales abondantes en Algérie et évaluation de leurs effets biologiques

Zohary D. 1994. The wild genetic resources of the cultivated olive. Acta Horticulturae, 356: 62-65.

REFERENCES WEB

<https://atlas-sahara.org/Oleaceae/Olea%20europaea/Olea%20europaea.html?cat=Oleaceae>

<https://www.fao.org/4/X6545F/X6545F03.htm>

<https://doi.org/10.1271/bbb.60716>

<https://doi.org/10.3390/nu8080513>

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.054>

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.01.039>

Résumé

L'olivier ou *Olea europaea* est l'arbre le plus atypique du bassin méditerranéen, il est subdivisé en deux variétés : l'olivier cultivé et l'olivier sauvage ou oléastre. Ce présent travail a eu pour but d'analyser les caractéristiques physicochimiques des feuilles d'*Olea europaea* var. *Sylvestris*, analyses phytochimiques, dosage des polyphénols et flavonoïdes et l'activité antioxydante d'extrait hydro-méthanolique et hydro-acétonique des feuilles d'olivier sauvage, ainsi de faire un suivi d'analyses physico-chimiques de l'huile d'olive tels que l'indice d'acide, peroxyde et le coefficient d'extinction spécifique et de la densité durant les 60 jours d'incorporation des extraits secs acétonique et méthanolique dans l'huile d'olive pour vérifier leur l'activité antioxydante et leur capacité à conserver les propriétés de l'huile d'olive.

Mots clés

Olea europaea var. *Sylvestris*, feuilles d'olivier sauvage, extrait hydro-méthanolique / hydro-acétonique, incorporation, huile d'olive, activité antioxydante, extrait secs acétonique et méthanolique, conservation.

Abstract

Olive or *Olea europaea* is the most atypical tree of the Mediterranean basin, and is subdivided into two varieties: the cultivated and the wild one or the oleaster, the objective of this work was to analyze the physicochemical characteristic of the *Olea europaea* var. *Sylvestris* leaves, phytochemical analyses, polyphenols and flavonoids amount and the antioxidant activity of oleaster's leaves hydro-methanolic and hydro-acetonic extracts, as well as to follow-up the olive oil physicochemical analyses as the acid and peroxide index, the specific extinction coefficient and the density during the 60 days of incorporating acetonic and methanolic dried extracts to verify their antioxidant activity and capacity in preserving olive's oil proprieties.

Keywords

Olea europaea var. *Sylvestris*, wild tree leaves, hydro-methanolic and hydro-acetonic extracts, incorporating, olive oil, antioxidant activity, dried acetonic and methanolic extracts, preserving.