

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de Béjaia
Faculté des sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du Diplôme de master
En environnement et sécurité alimentaire

Thème

Caractéristiques physico chimique et dosage
Des polyphenols des huiles De deux régions
de Bejaia

Réalisé par :

✍ M^{elle} BOUAIFEL Massissilia
✍ M^{elle} MOKHTARI Rahma

Membres du jury :

* Président : M^r HAMLAT M.
* Promoteur : M^r HAMOUM M.
* Examineurs :
M^{elle} BENMOUHOUH H.
M^r OUCHEMOUKH S.

Année Universitaire
2012/2013

Remerciements

Nous remercions le bon Dieu de nous avoir donné le courage d'aller au bout de nos objectifs.

Au terme de la réalisation de ce mémoire, nous tenons à présenter nos remerciements les plus sincères à notre promoteur M^r Hammoum pour avoir dirigé ce modeste travail, ainsi que pour sa patience avec nous, son aide, ses conseils précieux et sa disponibilité entière toute au long de la période de l'expérimentation.

Nos remerciements vont également à M^{eur} Hamlat de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous exprimons aussi nos reconnaissances à M^r Ouchmoukhe et M^{elle} Benmouhoubé pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nous n'oublions pas de remercier tout le personnel de Laboratoire « Biophysique » pour leurs aides précieuses. En particulier M^r Bouchenoi et M^{me} Masaoudane

Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

Nous témoignons notre reconnaissance à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

- ✚ A la mémoire de mon cher père que j'ai beaucoup souhaité sa présence pendant ma soutenance. que Dieu le l'accueil dans Son vaste paradis.*
- ✚ A ma très chère maman que j'aime de tout mon cœur. qui ma soutenu avec son amour et sa tendresse.*
- ✚ A mes frères et sœurs.*
- ✚ A mes neveux et nièces.*
- ✚ Ames cousin et cousines.*
- ✚ A tous mes amies à qui je dis merci d'être mes amies.*
- ✚ A tous les enseignants qui ont contribué et qui m'ont aidé à accomplir mon cursus universitaire.*

Rahma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

** A la mémoire de ma grand mère que j'aime beaucoup, que Dieu le tout puissant l'accueille dans son vaste paradis et lui accorde sa miséricorde.*

** Ma mère, mon père et ma deuxième grand mère, les plus chers êtres dans mon existante pour leurs aides morales et financiers.*

** MON cher futur mari.*

** Ma chère sœur KENZA.*

** Mes chers frères MASSINE, MAZIGH, SYPHAX*

** Mes oncles et tantes sans exception.*

** A toi RAHMA.*

MASSISSILIA

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Introduction1

I: Synthèse bibliographique

I.1.L` Olivier et l`oléiculture3

I.1.1. L`olivier..... 3

I.1.1.1. Historique..... 3

I.1.1.2. Classification botanique..... 4

I.1.1.3. Répartition d`oléiculture..... 4

I.1.2. L` olive 5

I.1.2.1. Structure et caractérisation 5

I.1.2.2. Composition chimique de l`olive6

I.1.2.3. L`extraction d`huile d`olive7

I.2. La composition de l`huile d`olive8

I.2.1. L`huile d`olive8

I.2.2. Composition de l`huile d`olive8

I.2.2.1. Fraction saponifiable8

I.2.2.1.1. Acides gras8

I.2.2.1.2. Les glycérides.....10

I.2.2.2. Fraction insaponifiable11

I.2.2.2.1. Les stérols11

I.2.2.2.2. Les tocophérols12

I.2.2.2.3. Les composés aromatiques..... 12

I.2.2.2.4. Les pigments.....12

I.2.2.2.5. Les composés phénoliques.....13

I.2.2.2.6. Autres composés13

I.2.3. Classification de l`huile d`olive14

I.3. Les antioxydants dans l`huile d`olive15

I.3.1. Les radicaux libres15

I.3.1.1. Origine des radicaux libre.....	15
I.3.1.1.1. Sources exogènes	15
I.3.1.1.2. Sources endogènes	15
I.3.1.2. Cibles des radicaux libres	16
I.3.2. Les antioxydants	16
I.3.2.1. Les composés phénoliques.....	17
I.3.2.2. Caroténoïdes.....	19
I.3.2.3. Tocophérols.....	20
I.3.3. Les effets de l'huile d'olive sur la santé	21

II : matériel et méthode

II.2. Analyses physicochimiques	23
II.2.1. Mesure de l'acidité.....	23
II.2.2. L'indice de peroxyde.....	24
II.2.3. Indice de réfraction.....	25
II.2.4. Absorbance dans l'ultraviolet	26
II.3. Dosage des composés phénoliques	26
II.3.1. Extraction et dosage des poly phénols totaux.....	26
II.4. Etude de l'activité antioxydante.....	27
II.4.1. Activité anti radicalaire de l'huile contre le radical DPPH.....	27
II.4.2. Activité anti radicalaire contre le radical ABTS ⁺	28

III. Résultats et discussion

III.1. Indices de qualité des huiles.....	30
III.1.1. Acidité.....	30
III.1.2. Indice de réfraction	31
III.1.3. indice de peroxyde	32
III.1.4. Absorbance dans l'ultraviolet	33
III.2. Les composés phénoliques.....	35
III.2.1. Les polyphénols totaux.....	35
III.3. Activité antioxydante.....	36
III.3.1. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radicale DPPH	36
III.3.2. Activité antiradicalaire contre le radical ABTS ⁺	37

Conclusion.....	39
Références bibliographique.....	40
Annexes	

Liste des abréviations

ABTS⁺	2,2' –azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfate).
ADN	Acide désoxyribonucléique.
AG	Acides gras.
AGMI	Acides gras monoinsaturé.
AGPI	Acides gras polyinsaturé.
COI	Conseil Oléicole International.
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
HDL	High Density Lipoprotein.
IUPAC	International Union of pure and Applied Chemistry.
LDL	Intermediate density lipoprotein.
NADH	Nicotine amide Adénine Dinucléotide Phosphate.
O₂^{•-}	Radical superoxyde.
RL	Radicaux Libres.
ROS	Reactive oxygen species.
TG	Triglycérides.
UV	Ultra Violet.

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Distribution de l'olivier dans le monde.	3
2	Pays principalement producteur d'huile d'olive 2011/2012.	5
3	Différentes coupes schématiques de l'olive.	6
4	Schémas du processus d'extraction de l'huile d'olive.	7
5	Formules chimiques de l'acide palmitique et l'acide stéarique.	9
6	La formule chimique de l'acide oléique.	9
7	La formule chimique de l'acide linoléique.	10
8	La formule chimique de β -sitostérol le principale stérol de l'huile d'olive.	11
9	Formule chimiques des acides phénoliques présents dans l'huile d'olive.	17
10	Structure de base des flavonoïdes.	18
11	Formule chimiques des flavonoïdes présents dans l'huile d'olive.	18
12	Formule chimique des tannins hydrolysables.	19
13	Formule chimiques des caroténoïdes présents dans l'huile d'olive.	20
14	Formule chimique de l' α -tocophérol.	20
15	Réfractomètre d'ABBE.	25
16	Spéctrophotomètre.	28
17	Valeurs de l'acidité des deux huiles étudiées.	31

18	Teneur en indice de peroxydes des deux huiles étudiées.	33
19	Absorbance à 232 nm des deux huiles étudiées.	34
20	Absorbance à 270 nm des deux huiles étudiées.	34
21	Teneurs en polyphénols totaux des deux huiles étudiées.	35
22	Activités antiradicalaire des deux huiles sur le radical DPPH.	36
23	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des deux huiles étudiées.	37
24	Pourcentages d'inhibition du radical ABTS ⁺ des deux huiles étudiés.	38
25	Activité antiradicalaire des deux huiles étudiées sur le radical ABTS ⁺ .	38

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Classification de l'olivier.	4
2	Principaux composés chimiques de l'olive mûre en pourcentage.	6
3	Principaux triglycérides d'huile d'olive.	10
4	Composition de l'huile d'olive en stérols.	12
5	Les catégories de l'huile d'olive et ces critères de qualités.	14
6	Teneur en acidité des l'huiles d'olive étudiées.	30
7	Indice de réfraction des huiles d'olives étudiées.	31
8	Teneur en indice de peroxyde des deux huiles d'olive étudiées.	32
9	Absorbance dans l'ultraviolet des deus huiles étudiées.	33

Introduction

Introduction

La culture de l'olivier s'étend sur tout le pourtour méditerranéen. Elle est très intéressante en égard de ces particularités biologiques, écologiques, mais essentiellement le rôle socio-économique indéniable (*Marrakchi, 1988*).

L'huile d'olive est le produit méditerranéen par excellence, on la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation Grec jusqu'à nos jours (*Sébastien, 2010*).

L'huile d'olive séduit de plus en plus les consommateurs à travers le monde, ces derniers sont fascinés devant cet "or liquide" qui revêt d'une importance majeure dans la mise en œuvre d'un régime alimentaire naturel et équilibré.

C'est un élément clé du régime méditerranéen. Préconisée par de nombreux diététiciens, elle a acquis une place essentielle dans la recherche sur ses propriétés médicinales et cosmétiques. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (*Boskou, 1996*).

Toutes les études démontrent que les régimes alimentaires à base d'huile d'olive sont bénéfiques pour la santé humaine en diminuant le risque de plusieurs maladies. Elle représente une source typique de lipide de régime méditerranéen, dont la consommation a été associée à une incidence limitée des maladies cardiovasculaires, des désordres neurologiques, cancers du sein et du colon, ainsi qu'aux propriétés antioxydantes (*Gimeno et al, 2002*). Ces bienfaits ont été liés l'un ou l'autre à sa composition en acides gras bien-équilibrée, où l'acide oléique est le composant principal et où à la présence des biomolécules mineures, telles que les vitamines et les antioxydants naturels. La forte demande en huile d'olive vierge de bonne qualité est due non seulement à ses vertus de santé mais également à ses propriétés organoleptiques (*Luaces et al, 2005*). Beaucoup d'études ont été faites sur l'huile d'olive et des variations ont été observées en fonction de la géographie et d'autres facteurs.

C'est dans cette optique que notre travail sera dirigé. Il consistera en une caractérisation de deux huiles de la région de Bejaia, l'une dans une région montagneuse et l'autre dans la région du sahel. Cette caractérisation et le dosage des antioxydants peuvent nous renseigner sur les bienfaits nutritionnels et thérapeutiques de l'huile d'olive dans notre région.

La première partie de ce travail consiste en une synthèse bibliographique sur l'olivier, le fruit, la composition et la classification de l'huile, les antioxydants et les méthodes d'évaluation de la capacité antioxydante.

La deuxième partie, expérimentale, est consacrée à la détermination des indices de qualité de l'huile, le dosage des polyphénols totaux et l'évaluation de l'activité antiradicalaire contre le DPPH et l'ABTS⁺.

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique

I.1.L` Olivier et l'oléiculture

I.1.1. L'olivier

L'olivier, arbre typiquement méditerranéen, se caractérise par un feuillage persistant, aux branches noueuses, à l'écorce claire et au port buissonnant ; il peut atteindre 20 m de haut (*Teuscher et al, 2005*), mais il est généralement taillé sur une hauteur de 5 à 6 m pour faciliter la récolte (*Baudet, 1996*). C'est un arbre à tronc droit souvent fissuré, les feuilles opposées, simples, le fruit est une drupe charnue qui peut atteindre jusqu'à 3.5 cm de long (*Teuscher et al, 2005*).

L'arbre n'atteindra sa pleine maturité et son âge adulte qu'à 35ans (*Fouin et Sarfati, 2002*).

I.1.1.1. Historique

La culture de l'olivier est très ancienne. Son histoire se confond avec celle du bassin méditerranéen. L'origine de l'olivier se situe en Asie mineure, depuis six milles ans avant J.C. il est apparu en premier temps en Palestine, la Syrie et le Liban (*COI, 2006*).

La culture de l'olivier a poursuivi son expansion en dehors de la Méditerranée avec la découverte de l'Amérique en 1492. En 1560, l'olivier s'est trouvé en Mexique, puis en Pérou, Californie, Chili et enfin en Argentine (*COI, 2006*).

Au cours de périodes plus récentes, l'olivier est très connu en Afrique du sud, Australie, Japon et la Chine. L'olivier reste cependant une culture méditerranéenne par excellence figure 1 (*COI, 2006*).

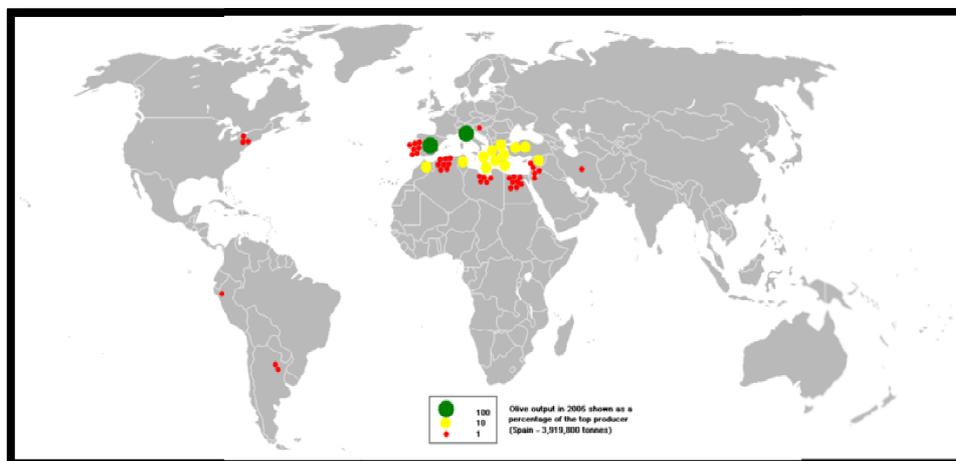


Figure 1: Distribution de l'olivier dans le monde (*Anonyme 1*).

I.1.1.2. Classification botanique

La classification botanique de l'olivier est illustrée dans le tableau 1.

Tableau 1: Classification de l'olivier (*Cronquist, 1981*).

Règne	Plantae	
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>	
Sous embranchement	<i>Magnoliophytina</i>	
Classe	<i>Magnoliopsida</i>	
Sous classe	<i>Asteridae</i>	
Ordre	<i>Scrophulariales</i>	
Famille	<i>Oleaceae</i>	
Genre	<i>Olea L.</i>	
Espèces	<i>Olea europaea L</i>	
Sous-espèces	<i>Sativa</i>	<i>sylvestris</i>

I.1.1.3. Répartition d'oléiculture

L'oléiculture mondiale se caractérise par un développement très important et elle fait vivre une production de plus de 2 millions d'habitants dans le bassin méditerranéen (*Saraoui , 2006*).

La part de la production de l'huile d'olive mondiale est insignifiante par rapport aux huiles d'origines végétales, on remarque que la production de l'huile d'olive ne présente qu'un faible pourcentage de la production des huiles végétales au niveau mondial, tandis que le bassin méditerranéen, produit une quantité importante d'huile d'olive qui revêt un intérêt stratégique pour l'ensemble de ces pays, comme le montre la figure 2(*Saraoui N, 2006*).

❖ Dans le monde

Actuellement, plus de 95% des oliviers mondiaux grandissent dans le bassin Méditerranée. Environ 81% de la production oléicole totale provient de la communauté européenne (Espagne, Italie Grèce, Portugal et France), le Proche-Orient contribue avec environ 7% et Afrique du Nord fournit environ 11%. Le 1% restant provient du continent Américain, principalement d'Argentine, du Mexique, du Pérou et des Etats-Unis (*Firestone D ,2005*).

❖ En Algérie

L'olivier constitue à l'échelle nationale une des principales essences fruitières. Le verger oléicole occupe 164. 103ha et produit près de 54 500 tonnes d'huile (*Anonyme 2*).

❖ A Bejaia

Selon les chiffres de la chambre d'agriculture de la wilaya de Béjaia, la superficie occupé par l'olivier est 21 099 ha et produit près de 21800 tonnes pour la campagne 2011/2012.

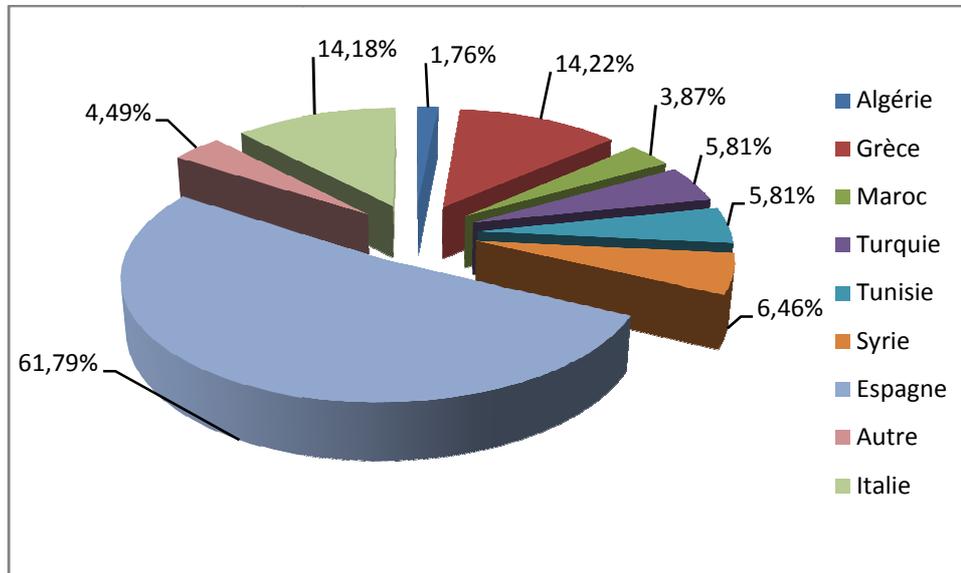


Figure 2 : Pays principalement producteur d'huile d'olive 2011/2012 (*Anonyme 2*).

I.1.2. L'olive

I.1.2.1. Structure et caractérisation

Le fruit est une drupe à épicarpe d'abord vert puis noirâtre à maturité complète, de forme ovoïde, sphérique ou allongée et de dimensions très variables selon la variété. En général, l'oléastre présente un petit fruit peut charnu de (0,5 à 1,2 cm) par rapport à l'olivier cultivé (1,2 à 4cm) (*Hannachi et al., 2008*).

Elle est constituée de l'épicarpe, représente 2 à 3% du poids du fruit, du mésocarpe (pulpe) et de l'endocarpe (figure 3). Ces deux derniers compartiments couvrent respectivement 84 à 90% et 2 à 3% du poids du fruit (*Rohelly, 2000*).

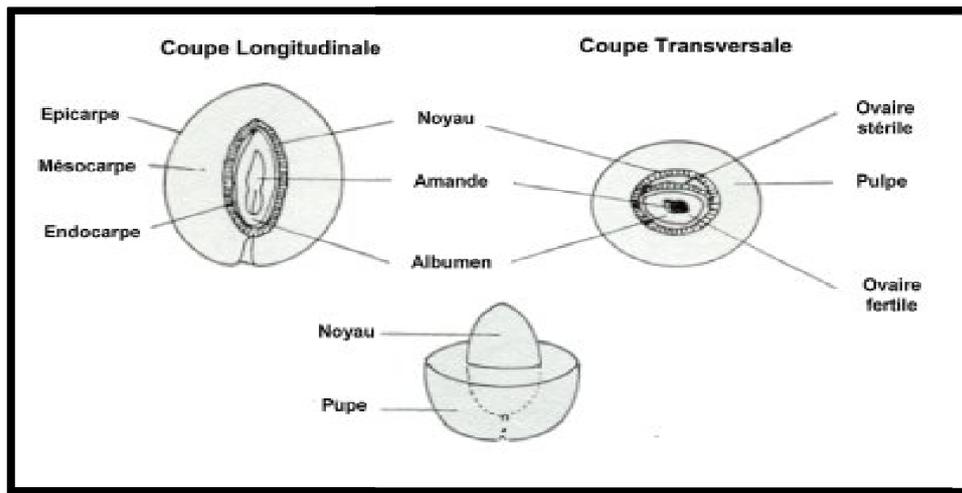


Figure 3: Différentes coupes schématiques de l'olive (*anonyme 3*).

I.1.2.2. Composition chimique de l'olive

Les principaux constituants de l'olive sont: l'eau, les protéines, les oses simples (glucose, saccharose), les acides organiques (malique, oxalique, citrique), les polysaccharides (cellulose, hémicellulose, pentosanes) ainsi que les matières grasses et les substances colorantes comme le montre le tableau 2.

La pulpe de l'olive contient beaucoup de substances inorganiques, principalement le potassium, le calcium, le magnésium, le chlore et le phosphore. Cette pulpe est également riche en vitamines (vitamine E, vitamine C, vitamine B1, carotène) (*Bouchenna et Mettouchi, 2005*).

Tableau 2: Principaux composés chimiques de l'olive mûre en pourcentage.

Constituants					
Partie Anatomique	Eau %	Lipides %	Protéines%	Glucides %	Cendres %
Pulpe	24,20	56,40	6,80	9,90	2,66
Coque noyau	4,20	5,25	15,60	70,30	4,16

I.1.2.3. L'extraction d'huile d'olive

Plus la maturation avance, plus le fruit s'enrichit en huile. De novembre jusqu'en février, c'est le temps de récolter les olives à huile (*Anonyme 4*).

L'huile d'olive est contenue dans de minuscules vacuoles situées dans les cellules des olives. Ces poches sont appelées vacuoles et pour pouvoir récupérer cette huile, il faut briser la paroi de ces cellule et donc celle des cellules des olives (*anonyme 5*).

Les principales opérations de l'extraction sont mentionnées dans le schéma ci-dessous (*Ouaouich et Chimi, 2007*) :

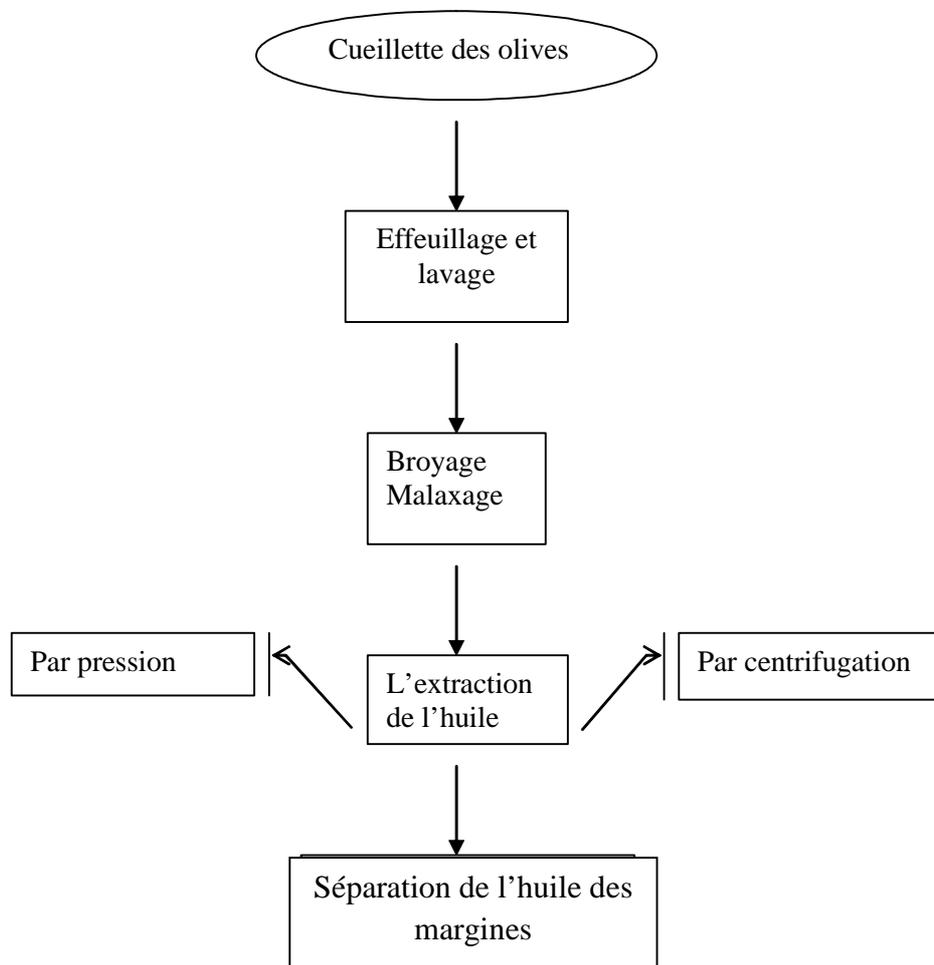


Figure 4: Schémas du processus d'extraction de l'huile d'olive (*anonyme 5*).

I.2. La composition de l'huile d'olive

I.2.1. L'huile d'olive

Le conseil oléicole international (*COI, 2003*) définit l'huile d'olive comme étant l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea Sativa*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

I.2.2. Composition de l'huile d'olive

L'huile d'olive est constituée d'une fraction lipidique prédominante comprenant une part triglycéridique et les acides gras libres dite la fraction saponifiable (*Berra, 1998*), et d'une fraction insaponifiable que l'on retrouve en moindre proportion mais qui offre à l'huile ses propriétés sensorielles et biologique distinctes (*Pinelli et al, 2003; Murkovic et al, 2004*).

I.2.2.1. Fraction saponifiable

Cette fraction représente 99% de l'huile d'olive. Elle est composée essentiellement de triglycérides et d'acide gras (AG). La composition en acides gras et triglycérides de l'huile d'olive dépend du climat, de la variété, de latitude et de degré de maturation des olives (*Joaqin, Carmen, 2002*).

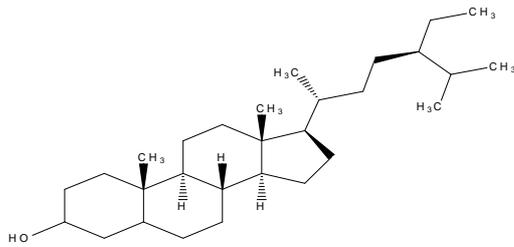
I.2.2.1.1. Acides gras

La composition en acides gras constitue un paramètre primordial pour l'évaluation qualitative d'une huile d'olive (*Zarrouk et al, 1996 ; Ait Yacine et al, 2002*).

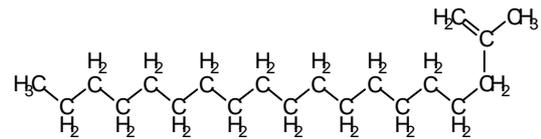
Les acides gras sont des composés lipidiques, ils ont un goût aigre et une odeur prononcée. Ils peuvent se présenter à l'état saturé, monoinsaturés ou polyinsaturé (*Joaqin , Carmen, 2002*).

A. Acides gras saturés

Sont des acides gras dans les quels toutes les liaisons entre les pièces du squelette sont fortes (*Ndèye, 2001*) comme l'acide stéarique et l'acide palmitique qui représentent 10 à 16% des acides gras totaux figure 5 (*Roehlly, 2000*).



Acide stéarique



Acide palmitique

Figure 5 : Formule chimiques de l'acide palmitique et l'acide stéarique.

(*J.H.Weil, 2001*).

B. Acides gras insaturés

Les acides gras insaturés peuvent contenir entre 1 et 6 doubles liaisons et sont dits, selon le cas, mono insaturés ou polyinsaturés (*Narce et Pieere, 2003*).

➤ Acides gras monoinsaturés

L'huile d'olive est aussi caractérisée par la prédominance d'un acide gras mono insaturé, l'acide oléique qui représente 55 à 83% des acides gras totaux figure 6 (*Jacotot, 1997*).

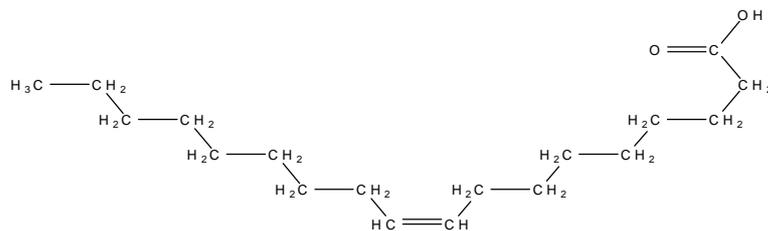
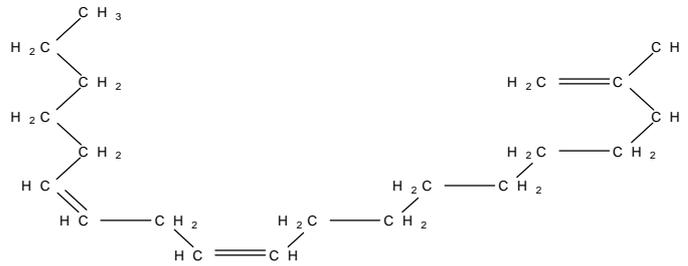


Figure 6 : La formule chimique de l'acide oléique (*J.H.Weil, 2001*).

➤ Acides gras polyinsaturés

Ils constituent 7 à 13 % de la teneur en lipides de l'huile d'olive. On distingue deux familles selon la place de la première double liaison sur la chaîne carbonée (*Joaqin Velasco, Carmen Dobarganes, 2002*).

L'acide linoléique qui est un AGPI composé de 18 atomes de carbone et qui compte deux double liaisons, dont la première en position 6 d'où le nom de cette famille « ω 6» :



Acide linoléique

Figure 7: La formule chimique de l'acide linoléique (*J.H. Weil, 2001*).

L'acide α -linoléique qui est un AGPI composé de 18 atomes de carbone et qui comprend trois doubles liaisons dont la première en position 3 d'où le nom de cette famille « ω 3» :

I.2.2.1.2. Les glycérides

Les triglycérides constituent le principale composant de l'huile d'olive, ils résultent de l'estérification du glycérol par les acides gras, et présentent plus de 95% des lipides totaux (*Zarrouk et al., 1996*), donc la majorité (environ 25 à 58,76%) se présente sous forme de trioléine (*Abaza et al, 2002., Ollivier et al., 2003*). Les principaux triglycérides sont cités dans le tableau suivant :

Tableau 3: Principaux triglycérides d'huile d'olive (*Ryan et al ; 1998*).

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

O:Acide oléique
L:Acide linoléique
P:Acide palmitique
S:Acide stéarique

I.2.2.2. Fraction insaponifiable

Cette fraction présente 1 à 2% de la composition totale de l'huile, et compte plus de 230 composés présente essentiellement dans l'huile d'olive extra vierge (*Servili et al, 2004 ; Huang et al, 2008*).

Ces composé dérivent uniquement de fruits ayant subi un processus d'extraction physique, alors que la plupart des autres huiles végétales subissent des raffinages et des traitements chimiques qui causent leur déplétion en composants nutritifs (*Dilis et Trichopoulou, 2008*).

I.2.2.2.1. Les stérols

Les stérols sont des composé tétra cycliques, ils correspondent à 20% de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive et sont présent sous forme libre et estérifiée aux acides gras (*Philips et al, 2002 ; Matos et al, 2007*).

Les stérols sont des composés important pour la stabilité de l'huile puisqu'ils agissent comme inhibiteur des réaction de polymérisation à température élevée et fournissent un important paramètre pour la détection d'adultération des huiles (*Valasco et Dobargan, 2002 ; Garcia et al, 2007*).

Les teneurs en stérols de l'huile d'olive varient de 1000 à 3000 mg /kg (*Ryane et al, 1998; Matos et al, 2007*).

Le β -sitostérol est le principal stérol de l'huile d'olive et représente plus de 75% des stérols totaux dont les propriétés thérapeutiques sont bien discutées (figure 8).

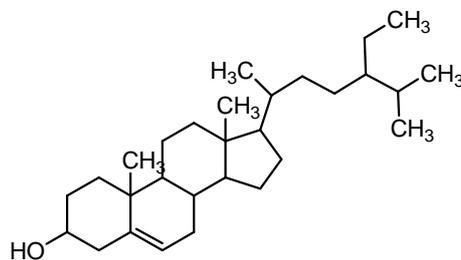


Figure 8: Formule chimique de β -sitostérol le principale stérol de l'huile d'olive.

Les principaux stérols dans l'huile d'olive sont présentés dans le tableau suivant

Tableau 4: Composition de l'huile d'olive en stérols (*Uzzan, 1992*).

Stérols	% des stérols totaux
β-Sitostérol	75-90
Δ-5 avenastérol	3-14
Campestérol	2-4
Stigma-stérol	1-2
Cholestérol	<0.3

I.2.2.2.2. Les tocophérols

Les tocophérols sont présents dans l'huile d'olive sous forme libre ou estérifiée. Ce sont des composés importants de l'huile d'olive. Ils sont reconnus pour leur double action bénéfique. En effet ; ils ont tout d'abord l'atout d'être une vitamine (vitamine E) et ils ont également une forte activité anti oxygène (**Burton, 1986**). Les teneurs en tocophérols, généralement rapportées pour une huile d'olive d'une bonne qualité, varient de 100 à 300 mg /Kg (*Perrin, 1992 ;Allalout et al, 2009*).

I.2.2.2.3. Les composés aromatiques

Si l'huile d'olive est intéressante d'un point de vue nutritionnel, elle est surtout appréciée pour son goût et ses arômes particuliers. Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 300 Da) possédant une volatilité à température ambiante. L'odeur de l'huile est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez (*Angerosa, 2002*).

I.2.2.2.4. Les pigments

La couleur de l'huile d'olive est le résultat d'une solubilisation de deux types de pigments lipophiles, les chlorophylles et les caroténoïdes présents dans le fruit source (*Gandul et al, 2000*).

Les teneurs en pigments sont fonction de la variété, du degré de maturité des fruits, des conditions environnementales, des conditions d'extraction et notamment du stockage (*Cichelli et Pertesama, 2004; Giuffrida et al, 2007*).

I.2.2.2.5. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à la l'amertume de l'huile d'olive (*Brenes et al, 2000 ; Mateos et al, 2004*) ainsi qu'à sa bonne stabilité oxydative (*Gomez et al, 2002*).

Les teneurs usuelles pour une huile d'olive oscillent généralement entre 75 à 700 mg /Kg (*Morello et al, 2005 ; Issaoui et al, 2007*).

I.2.2.2.6. Autres composés

Deux hydrocarbures sont présents en quantités importantes dans l'huile d'olive, le squalène et le β -carotène.

➤ **Le squalène**

Le squalène est le principale hydrocarbure de l'huile d'olive ; c'est le métabolite précédant la formation du noyau des stérols. Sa présence est considérée comme partiellement responsable des effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé et de son action chimio-préventive contre certains cancers (*Rao et, 1998 ; Smith et al, 1998*).

➤ **Les caroténoïdes**

Outre le squalène, l'huile d'olive contient aussi d'autres hydrocarbures, comme le β - Carotène (une provitamine A), mais en moindres quantités (*Kiritsakis et al, 1987*).

I.2.3. Classification de l'huile d'olive

Les huiles d'olives peuvent être classées selon diverses catégories établies selon les caractéristiques des huiles. Le Conseil Oléicole International a ainsi répertorié quatre catégories d'huile d'olive qui sont illustre dans le tableau si dessus (COI, 2003).

Tableau 5: Les catégories de l`huile d`olive et ces critères de qualités (codex, 1981).

Paramètres	Huile d'olive vierge	Huile d'olive raffinée	Huile de grignons d'olive raffinée	Mélanges
Caractéristiques organoleptique Couleur, odeur et saveur	Huile claire, de couleur jaune à vert, d'odeur et de saveur spécifiques	Huile claire limpide, sans sédiment, de couleur jaune clair, sans odeur ou saveur spécifique.	Huile claire limpide sans sédiments, de couleur jaune brun, sans odeur ou saveur spécifique.	La couleur, l'odeur et la saveur seront intermédiaires entre celles des types des huiles mélangés
Acidité libre acidité maximale,% m/m, exprimée en acide oléique. -indice d'acide maximum, mg de KOH/g d'huile.	3,3	0,3	0,3	1,5
	6,6	0,6	0,6	0,3
Indice de peroxyde (en milliéquivalents d'oxygène peroxydique/KG d'huile).	≤20	≤10	≤10	≤20
Extinction spécifique dans l'ultraviolet (E1%1 cm). -E1% 1 cm Maximum à 232nm -E1% 1cm maximum à 270 nm - E1% 1cm variation maximale au voisinage de 270 nm	3,50	Non limité	6,00	5,5
	0,30	1,10	2,00	1,7
	1	0,16	0,20	0,18

I.3. Les antioxydants dans l'huile d'olive

La protection contre les effets délétères induit par les radicaux oxygénés s'effectue à l'aide de trois types d'agent différent : les protéines non enzymatique, les enzymes tel que les superoxydes-dismutase et enfin les antioxydants d'origine nutritionnel tels que les caroténoïdes, les tocophérols (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les polyphénols qui sont des antioxydants essentiels pour l'homme.

I.3.1. Les radicaux libres

Les RL sont des espèces chimiques indépendantes (*Kehrer, 1993*), atome, molécules ou leurs fragments (*Durackova, 2008*) possédant un ou plusieurs électrons célibataires (*Kehrer, 1993 ; Delattre, 2005; Durackova, 2008*). En toxicologie, les RL sont ceux qui existent dans un état libre et capables d'interagir avec différents composés de tissus (*Kehrer, 1993*).

I.3.1.1. Origine des radicaux libres

Les RL sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. Sans vouloir faire du finalisme, nous pouvons considérer que certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux (*Halliwell, 2006*).

I.3.1.1.1. Sources exogènes

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (*Priyadarsini, 2005*).

I.3.1.1.2. Sources endogènes

Les ROS sont produits en continu dans la cellule durant toute la vie de chaque cellule dans l'organisme. La chaîne respiratoire mitochondriale constitue une source majeure des ROS dans les systèmes biologiques (*Chen et al., 2003*).

Dans les conditions physiologiques normales, 1 à 2% de l'oxygène réduit dans la mitochondrie est converti en $O_2^{\bullet-}$ par la NADH déshydrogénase et l'ubisemiquinone de la chaîne respiratoire (*Bai et Cederbaum, 2001*).

Cette quantité de $O_2^{\bullet-}$ produite peut être amplifiée en trois cas. Une fois la respiration devient plus intense (effort physique), lorsque la fraction d'oxygène inspiré augmente et lors des désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires ou nutritionnels. Les enzymes responsables de la production de ROS, sont présentes de façon ubiquitaire dans les mitochondries des mammifères (*Bai et Cederbaum, 2001*).

I.3.1.2. Cibles des radicaux libres

En plus des fonctions biologiques, la réactivité particulière des ROS ajoute des propriétés toxiques et diversifiées. En effet, toutes les macromolécules cellulaires sont des cibles potentielles des ROS (*Barouki, 2006 ; Valko et al, 2007*).

A. Les lipides : les acides gras polyinsaturés (comme l'acide linoléique ou l'acide arachidonique) sont les cibles privilégiées des ROS (*Etsuo et al, 2005 ; Pincemail, 2006*) qui conduisent à la formation des radicaux et des peroxydes lipidiques (*Tratner, 2003; Delattre, 2005*).

B. Les lipoprotéines : Les lipoprotéines de faible densité sont susceptibles d'être oxydés par les ROS qui provoquent un changement dans leur structure conduisant à la formation des aldéhydes (*Nicolosis, 1999 ; Pincemail, 1999*).

C. Les protéines : Les protéines sont aussi des cibles pour les ROS en particulier certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la tyrosine (*Tratner, 2003*).

D. Les acides nucléiques : Les bases nucléiques sont susceptibles d'être directement oxydées par les ROS, conduisant à la formation de 8-oxo-guanine, à l'origine de mutations géniques (*Barouki, 2006*) pouvant conduire au développement du cancer (*Beckman, 1997*).

I.3.2. Les antioxydants

Sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées.

Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre, et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources anti-oxydantes (*Kristina et Marika, 2003 ; Boyd et al, 2003*).

I.3.2.1. Les composés phénoliques

Si les acides gras représentent la très grande majorité de la composition de l'huile d'olive en termes de masse, les composés mineurs tels que les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation des huiles et pour leur intérêt nutritionnel (*Brenes, 2002 ; Visioli, 1998*).

Les polyphénols, métabolites secondaires des végétaux (*Nazck et al, 2006*), caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles ou engagés avec les glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (*Bourgou et al, 2007 ; Boizot et Charpentier, 2006*).

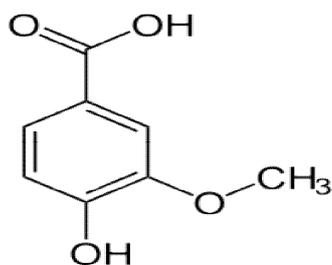
Classification des composés phénoliques selon leur structure chimique, des plus simples aux plus complexes (*Delaveau, 1988*) :

- Les acides phénoliques ;
- Les flavonoïdes ;
- Les tannins ;
- Anthocyanes.

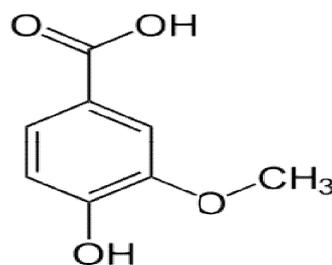
➤ Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des phénols monomères de structure hydroxybenzoïque (C6-C1) et hydroxycinnamique (C6-C3) présents à des proportions inférieures à 1mg /kg dans l'huile d'olive (*Carrasco et al, 2004 ; Bendini et al, 2007*).

Les acides phénoliques majoritaires trouvés dans l'huile d'olive sont : l'acide caféique, l'acide vanillique, illustré dans la figure 9 (*Yang, 2007 ; Pinelli, 2003 ; Tuck, 2002 ; Ryan, 1998*).



Acide vanillique



Acide caféique

Figure 9: Formule chimiques des acides phénoliques présents dans l'huile d'olive.

➤ Les flavonoïdes

Ils constituent le plus large groupe des phénols dans la plante. Les flavonoïdes identifiés jusqu'à maintenant sont de 4000 composés; ces pigments sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles aussi sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (*Hadi, 2004*).

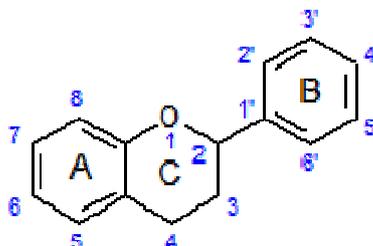
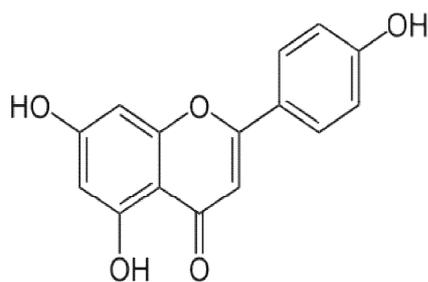


Figure 10 : Structure de base des flavonoïdes.

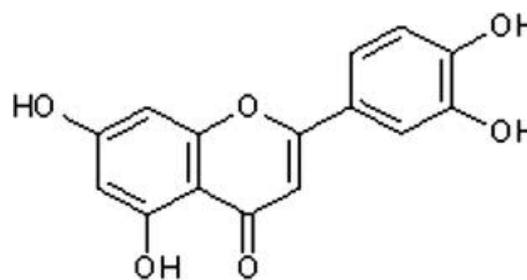
Les flavonoïdes sont classés selon leur structure moléculaire (*Benbrook, 2005*) en :

- Flavonols (quercétine, kaempférol, myricétine.....).
- Flavones (lutéoline, apigénine.....).
- Flavanones (herpérétine, naringénine.....).
- Flavanols (catéchine, gallocatéchine.....).
- Anthocyanines (cyanidine, delphinidine...).

Les flavonoïdes majoritaires trouvés dans l'huile sont : l'apigénine et de la lutéoline figure 10 (*Ocakoglu, 2009 ; Murkovic, 2004*).



Apigénine



Lutéoline

Figure 11: Formule chimiques des flavonoïdes présents dans l'huile d'olive.

➤ Les tannins hydrolysables

Sont des esters du glucose et d'acide gallique figure 11 (*Guignard, 2000*). Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique).

Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide l'acide éllagique (*Guignard, 2000*).

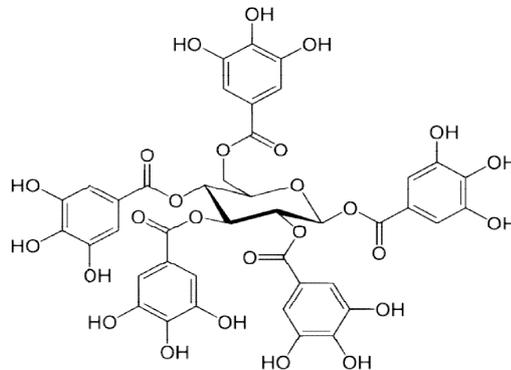


Figure 12: Formule chimique des tannins hydrolysables.

➤ Les tanins condensés

Les tanins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavones 3-ols, ils sont plus résistant à l'hydrolyse par rapport aux tannins hydrolysables et seuls les attaques chimiques fortes capables de les dégrader (*Brunton, 1999*). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (*Guignard, 2000*).

➤ Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments naturels des feuilles, des pétales et des fruits, situés dans les vacuoles des cellules, solubles dans l'eau, Ces composés existent sous forme d'hétérosides formés par la condensation d'une molécule non glucidique (appelé aglycone) et d'oses et souvent, de groupes acyles. L'aglycone qui les caractérise est un anthocyanidol de la classe des flavonoïdes (*Anonyme 6*)

La principale caractéristique des anthocyanes est leur diversité de couleur allant du bleu, au rouge, mauve, rose et orange (*Tanaka et al, 2008*).

I.3.2.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des composés lipophiles appartenant à la famille des tétraterpènes. Ils sont responsables des colorations rouge, orange et jaune des fruits et légumes (*Rao et Rao, 2007*). Ces composés grâce à leurs longues chaînes polyinsaturées, sont d'excellents piègeurs d'espèces oxygénées réactives (RO, 1O_2 ...) (*Young et lowe, 2001*).

I.3.3. Les effets de l'huile d'olive sur la santé

Grâce à sa teneur en acides gras monoinsaturés et à son taux élevé d'antioxydants, de stéroles, et vitamines, l'huile d'olive a un impact positif sur diverses maladies (*COI, 2000*).

❖ L'huile d'olive et le cancer

Les recherches récentes indiquent que les polyphénols contenus dans l'huile d'olive et les acides gras monoinsaturés (*COI, 2001*), ainsi que le sélénium qui se présente sous forme de traces, (*Ciacomo et al, 2004*) favorisent la destruction des substances qui facilitent la multiplication des cellules cancéreuses du sein.

Les stéroles (β sitastérole) sembleraient également avoir des effets bénéfiques sur le cancer du colon, du sein et de l'estomac (*Canalafuentes, 2003*).

❖ L'huile d'olive et les maladies cardio-vasculaires

L'huile d'olive contient une quantité particulièrement élevée des acides gras monoinsaturés (acide oléique) qui représente 80% de son contenu en lipide, une alimentation riche en acides gras monoinsaturés est liée à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires ; cet acide gras possède le potentiel d'abaisser les taux de cholestérol total et de cholestérol LDL « mauvais cholestérol » dans le sang lorsqu'il remplace les acides gras saturés dans l'alimentation. De plus il pourrait également augmenter les taux de cholestérol HDL « bon cholestérol » lorsqu'il remplace une partie des glucides de l'alimentation. Aussi, les acides gras monoinsaturés protègeraient contre l'oxydation de cholestérol LDL permettant ainsi de prévenir de l'athérosclérose (*Covas, 2007*).

❖ L'huile d'olive et le diabète

Certaines études montrent que l'huile d'olive intervient dans le contrôle des deux types de diabète (type I et type II). La consommation d'huile d'olive permet en effet d'améliorer les niveaux de glucose, l'homéostasie et la sensibilité à l'insuline (*COI, 2000*).

❖ L'huile d'olive et le vieillissement

L'huile d'olive permet de prévenir l'apparition de lésions cutanées et de diminuer les symptômes de vieillissement de la peau, ainsi la dégradation de l'ADN cellulaire (*COI, 2000*).

L'huile d'olive combat les radicaux libres et empêche la dégradation de l'acide hialuronique, substance présente dans tous les organismes vivants et qui donne à la peau son aspect de bonne santé (COI, 2000).

De même le squalène présent dans l'huile d'olive en étant absorbé, protégerait le cholestérol de la couche cornée contre l'oxydation (COI, 2000).

❖ **L'huile d'olive et l'ostéoporose**

Il a été prouvé que la meilleure minéralisation osseuse était obtenue en absorbant des AGMI complétés par une quantité minimale des AGPI, ce qui est le cas de l'huile d'olive; qui a un rôle phyto-oestrogènes dans la prévention de la perte de densité des os en bloquant la globuline qui transporte les hormones sexuelles, ce qui augmente la disponibilité des oestrogènes libres favorisant la minéralisation osseuse (COI, 1997).

CHAPITRE II

Matériels et méthodes

II. Matériel et Méthodes

Dans ce chapitre, notre étude s'intéressera aux différentes méthodes d'analyses physico chimique tel les indices de réfraction et de peroxyde, l'acidité les spectres UV mais aussi au dosage des polyphénols.

II.1.Echantillonnage

Les échantillons sont récoltés de manière aléatoire durant la campagne 2012/2013 et proviennent de deux régions différentes de la wilaya de Bejaia: Akfadou et Tichy.

II.2.Analyses physico chimiques

II.2.1.Mesure de l'acidité

La mesure de l'acidité est réalisée selon la méthode normalisée C.C.E (2685/915). Après dissolutions de 5 g d'huile dans 20 ml d'un mélange d'oxyde diethyl éthanol à 95%(V/V), les acides gras présents sont titrés à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium (0,095N) en présence de phénolphtaléine. Un essai témoin (sans matière grasse) est réalisé dans les mêmes conditions.

Le principe de la détermination de l'acidité d'une huile consiste en un dosage acido-basique correspondant à la neutralisation dont le schéma réactionnel est le suivant :



L'acidité de l'huile d'olive est calculée selon la formule suivante :

$$A(\%) = (V - V_0) \times N \times P / 10 \times m$$

V : nombre de ml de la solution KOH nécessaire ;

V₀ : nombre de ml de la solution KOH à blanc ;

m: prise d'essai en grammes ;

N : normalité de la solution KOH ;

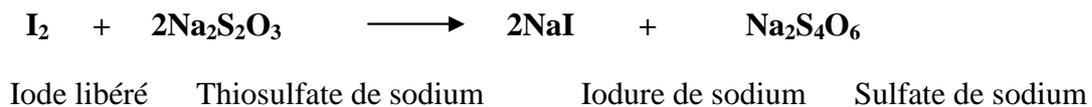
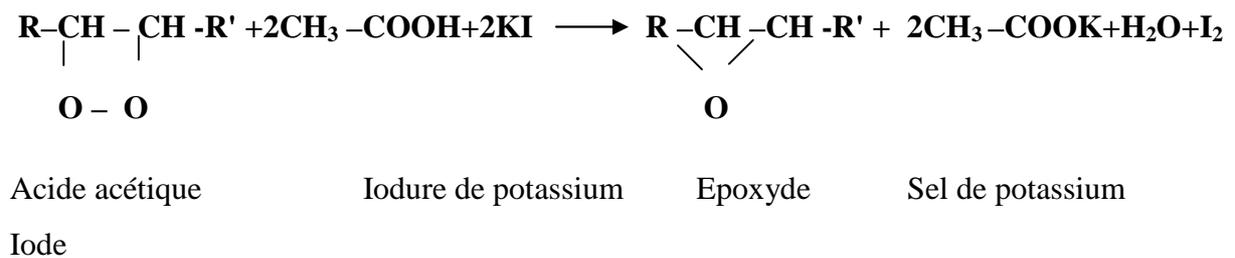
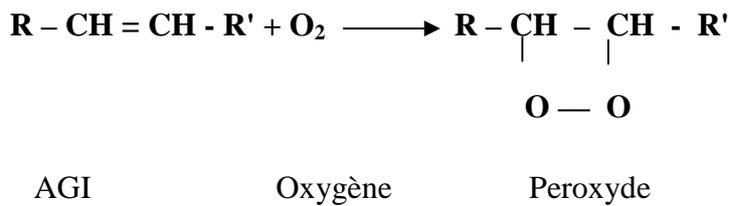
P : poids moléculaire adopté pour l'expression de l'acidité avec PM acide oléique=282.

II.2.2.L'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde représente la qualité des substances de l'échantillon (exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme) qui oxydent l'iodure de potassium avec libération d'iode.

L'indice de peroxyde est déterminé selon la méthode normalisé par le règlement C.E.E (2568 /91).2 g d'huile sont mis en solution dans 10 ml de chloroforme, 15 ml d'acide acétique glaciale et 1 ml d'une solution saturée d'iodure de potassium sont ajoutés. Après réaction pendant 5 min à l'obscurité, 75 ml d'eau distillée sont ajoutés et l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium 0,01 N en présence d'empois d'amidon comme indicateur. Un essai témoin est réalisé dans les mêmes conditions.

En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés s'oxydent en donnant les peroxydes selon les réactions suivantes :



L'indice de peroxyde (IP) est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme selon la formule :

$$IP = V \times T \times 1000/m$$

V : nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium normalisée utilisé pour l'essai corrigé en fonction des résultats de l'essai à blanc ;

T : facteur de normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisé ;

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

II.2.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une substance est le rapport de la vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide et sa vitesse dans la substance. Il permet de mesurer la pureté d'un échantillon.

La mesure est effectuée à l'aide d'un réfractomètre, d'ABBE gradué entre $n_D=1.3000$ et 1.7000 à une température de 20°C . Cet instrument sert à mesurer la déviation de la lumière lorsqu'elle passe dans un liquide. La norme suivie est celle de l'IUPAC n°2-102 (1992).



Figure15: Réfractomètre d'ABBE.

II.2.4. Absorbance dans l'ultraviolet

L'absorbance à 232 nm d'un corps gras renseigne sur la présence de système diéniques et triéniques conjugués. Le taux de ces substances, exprimé comme extinction spécifique, est déterminé selon la méthode décrite par le (COI, 1996). Un échantillon de 0,25g d'huile filtrée est ajusté à 25ml avec du cyclohexane. L'absorbance est mesurée aux deux longueurs d'ondes 232 nm et 270 nm. Les extinctions spécifiques à 232 nm et 270nm sont exprimée comme suit :

$$\epsilon = A_{(\lambda)} / C * \ell$$

ϵ : Coefficient d'extinction ;

A: Absorbance à la longueur d'onde correspondante ;

C: Concentration de la solution à analyser en g /100ml ;

ℓ : Trajet optique en cm.

II.3. Dosage des composés phénoliques

II.3.1. Extraction et dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont dosés par le suivi de leur capacité à réduire les acides phosphotungstique et phosphomolybdique, contenus dans le réactif de Folin, en oxydes detungstène et molybdène. Ces derniers présentent une coloration bleutée mesurée à 760 nm.

200 μ l (0,2ml) d'huile sont mélangés avec 400 μ l (0,4ml) d'un mélange d'eau/méthanol (25/75). Le mélange est placé au vortex pendant 1min pour extraction des polyphénols dans le milieu méthanolique), puis 200 μ l (0,2ml) de dichlorométhane sont ajoutés pour permettre à la partie huileuse de passer dans la phase inférieure et faciliter ainsi le recueil de 200 μ l de surnagent méthanolique. 800 μ l de réactif de Folin dilué 10 fois dans l'eau sont ajoutés et le mélange est laissé 2min à T° ambiante avant d'ajouter 1ml de carbonate de sodium (75g/L).

Le mélange est chauffé 15min à 50°C puis analysé à 760nm.

L'étalonnage externe utilise l'acide gallique entre 0 et 250mg/L du mélange méthanol-eau (0 ; 50 ; 100 ; 250) qui est directement mélangé au Folin.

La droite d'étalonnage externe est utilisée en n'oubliant pas que dans l'essai, les polyphénols de l'huile sont dilués deux fois au cours de l'extraction (*Singleton et al, 1999*).

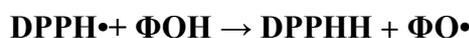
II.4. Etude de l'activité antioxydante

II.4.1. Activité anti radicalaire de l'huile contre le radical DPPH

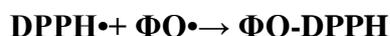
L'évaluation de l'activité antiradicalaire des huiles est déterminée selon le protocole décrit par (*Ramdan et Moersel, 2006*). Cette méthode tire profit de la décoloration de la solution contenant le radical DPPH lors de sa réduction par les antioxydants.

Un volume de 3,9ml de la solution DPPH (2,2-diphényl-1-pecrylhydrazyle) préparée dans du toluène (10^{-4} M) est additionné d'un volume (1ml) de solution d'huile diluée dans du toluène à différents concentrations (0,0078 – 0,35 g /ml). Le mélange est agité pendant 10 secondes au vortex et l'absorbance est lue après 60min d'incubation à 515 nm.

Dans le cas des composés phénoliques (Φ -OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPHH :



Plusieurs voies réactionnelles sont alors possibles qui forment des structures plus au moins stables :



Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé par la formule suivante :

$$\text{(\% d'inhibition du DPPH)} = (\text{Ac} - \text{Ae} / \text{Ac}) \cdot 100$$

Ac : Absorbance du contrôle ;

Ae : Absorbance de l'échantillon.



Figure16: Spéctrophotomètre.

II.4.2. Activité antiradicalaire contre le radical ABTS⁺

Dans cette méthode, l'ABTS (2,2' -azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfate) est mis en solution aqueuse avec du potassium persulfate pour générer le radical. Ce dernier est stable, coloré et présente une absorbance maximale de $0,7 \pm 0,02$ à 734nm. Une fois que le radical ABTS⁺ est formé l'antioxydant pur ou l'échantillon est ajouté et la diminution de l'intensité de la couleur bleu verte du radical cationique traduit son interaction avec un électron ou un hydrogène provenant de l'échantillon antioxydant (*Arts et al., 2004*).

Le pouvoir anti-radicalaire contre le radical ABTS⁺ est déterminé selon la méthode de *RE et al. (1999)*. Une solution d'ABTS à 7 mM et 2,45 mM de potassium persulfate est préparée dans une fiole jaugée et ajustée jusqu'à 25ml avec de l'eau distillé. Cette solution est incubée pendant 12-16h minimum à température ambiante. Ce temps permet la formation du radical ABTS⁺. La solution d'ABTS obtenue est diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance finale de $0,7 \pm 0,02$ à 734nm.

Un volume de 100 µl d'extrait méthanolique est additionné de 2ml de la solution d'ABTS⁺. La coloration par rapport au témoin, contenant l'ABTS⁺ et le solvant (éthanol), est mesurée au spéctrophotomètre à 734 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité. La quantité d'antioxydant ayant un pouvoir anti-radicalaire est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique.

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ est calculé par la formule suivante :

$$\text{\% d'inhibition de l'ABTS}^+ = (A_e - A_c / A_e) \cdot 100$$

A_c : Absorbance du contrôle ;

A_e : Absorbance de l'échantillon.

CHAPITRE III

Résultats et interprétations

III. Résultats et discussion

Dans cette partie, on discutera des résultats obtenus après l'expérimentation mais aussi comparer les valeurs obtenues entre les deux huiles étudiées.

III.1. Indices de qualité des huiles

Les indices de qualité qu'on a pu expérimenter sont :

III.1.1. Acidité

L'acidité libre permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique, des chaînes d'acides gras des triglycérides. C'est un critère de qualité le plus important, permet de classer l'huile d'olive en différentes catégories en fonction de leur teneur en acides gras libres.

Les résultats, d'analyse d'acidité des huiles d'olives, sont présentés dans le tableau 6 et illustrées par la figure 17.

Tableau 6: Teneur en acidité des l'huiles d'olive étudiées.

Huiles	Akfadou	Tichy	COI et Codex standard 33-1981
Acidité(%)	1,60	3,21	≤3,3

La première observation qui découle de ce tableau de valeurs est que les deux huiles sont conformes aux standards qui doivent être inférieurs à 3,3. Néanmoins une différence significative apparaît entre les deux huiles. L'huile de Tichy se rapprochant beaucoup de la limite tolérée. Cette valeur élevée mais restant toujours dans les normes est peut-être due :

- A la récolte tardive des olives.
- Aux procédés de la récolte, utilisation des gaulages et le ramassage des olives sur un sol non nettoyé.
- Aux mélanges des olives fraîches avec les olives tombées sur le sol.
- La durée et les conditions de stockage.
- A des anomalies pendant le processus de la biosynthèse.
- Aux conditions et technique d'extraction de l'huile dans les huileries.
- Par conséquent, l'augmentation de l'acidité peut être expliquée par l'hydrolyse des triglycérides sous l'action des enzymes produites dans le fruit (lipase) au cours de

la maturation, ces même enzymes peuvent être synthétisé par des bactéries, des levures et des moisissures qui se développe dans les galeries des drupes endommagées. Cette hydrolyse est accélérée par tout contact avec l'oxygène de l'air.

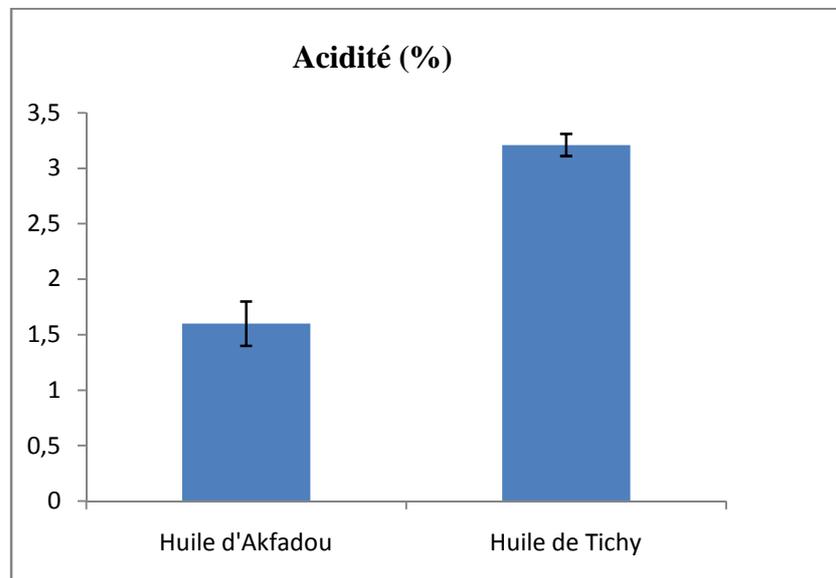


Figure17: Valeurs de l'acidité des deux huiles étudiées.

III.1.2. Indice de réfraction

Les résultats de l'indice de réfraction des huiles d'olive sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7: Indice de réfraction des huiles d'olives étudiées.

Huiles	Akfadou	Tichy	Codex-Standard 33-1981
Indice de réfraction	1,4691	1,4693	1,4670- 1,4705

Les mesures de l'indice de réfraction des huiles de deux régions d'Akfadou et Tichy montrent une légère variabilité allant de 1,4691 à 1,4693 et dans l'ensemble conforme aux normes fixées par COI et Codex standard 33-1981.

L'indice de réfraction étant dépendant de la composition chimique de l'huile et de la température, il croît avec le degré d'insaturation (*Mordret, 1992*).

III.1.3. Indice de peroxyde

Cet indice détermine le nombre de peroxyde et d'hydro-peroxyde présents dans l'huile formé au cours de stockage. Il constitue l'un des moyens les plus directs pour mesurer l'auto-oxydation lipidique (*Bouscou D, 1996*).

Les résultats de l'indice de peroxyde des huiles d'olive sont présentés dans le tableau ci-dessous et illustrés par la figure 18.

Tableau 8 : Teneur en indice de peroxyde des deux huiles d'olive étudiées.

Régions	Akfadou	Tichy	COI
Indice de peroxyde (meq O ₂ /Kg)	15,5	17	≤20 meq d'O ₂ /Kg

La teneur en hydroperoxyde, premier produit d'oxydation des huiles étudiés varie entre 15,5 meq O₂/ kg pour l'huile d'Akfadou et 17 meq O₂ /kg pour l'huile de Tichy.

Ces indices enregistrés sont dans les normes du COI, (2003) pour une huile extra vierge

L'indice de peroxyde de l'huile de Tichy est un peu élevé par rapport à l'huile d'olive d'Akfadou. Ceci est peut être du :

- A son indice de maturité élevé, *Baccouri et (2007b)*.
- le degré d'insaturation de l'huile,
- la présence de traces métalliques et d'eau.
- l'oxygène de l'atmosphère (*Ben Tekaya et Hassouna, 2005*).

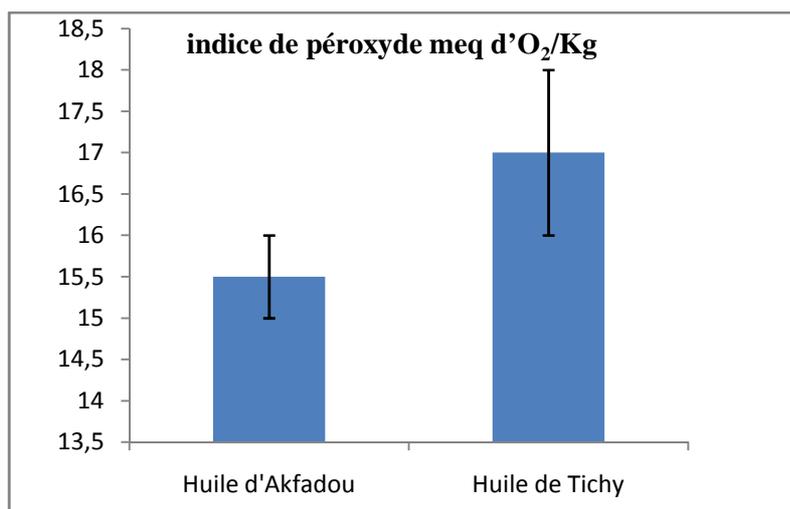


Figure 18: Teneur en indice de peroxydes des deux huiles étudiées.

III.1.4. Absorbance dans l'ultraviolet

Les absorbances dans l'UV à 232 nm et 270 nm sont significatives de l'auto oxydation et du degré de stabilité de l'huile au cours du stockage (SIFI *et al.*, 2001).

Les huiles analysées, enregistrent des absorbances à 232 nm (figure19) et à 270 nm (figure20) qui s'inscrivent tout parfaitement dans les limites fixées par le (COI, 2003) pour une huile d'olive extra vierge.

Tableau 9: Absorbance dans l'ultraviolet des deux huiles étudiées.

Huiles	Akfadou		Tichy		COI(2003)
	232	270	232	270	
Longueur d'onde (nm)					$K_{232} \leq 2,5$
Absorbance	1,42	0,10	2,04	0,14	$K_{270} \leq 0,20$

Les absorbances dans l'ultraviolet à 232 nm oscillent entre 1,42 et 2,04. A 270 nm, elles sont comprises entre 0,10 et 0,14.

La valeur minimale du coefficient K_{232} (produits primaires d'oxydation) est exhibée par l'huile provenant d'Akfadou.

La valeur élevée du K_{232} de l'huile de Tichy peut être expliquée par leur indice de peroxyde peu élevé.

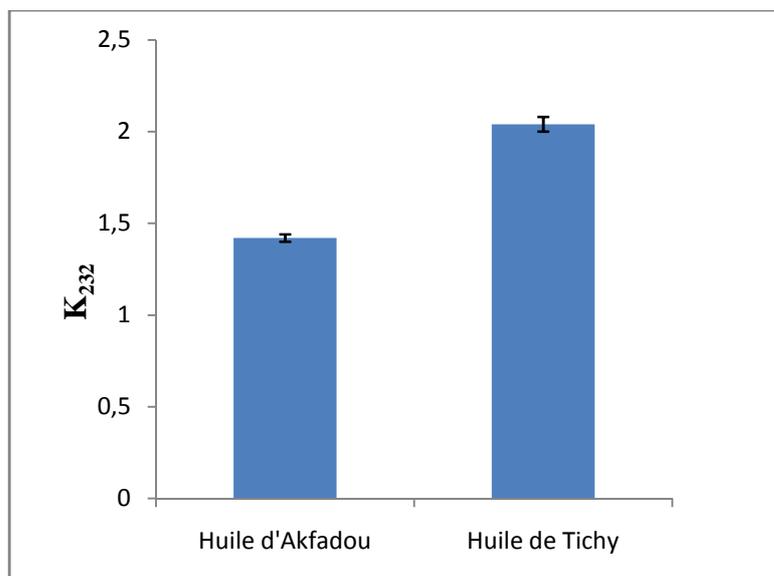


Figure 19: Absorbance à 232 nm des deux huiles étudiées.

On constate que la valeur du coefficient K_{270} est plus élevée pour l'huile de Tichy ce qui témoigne d'un taux élevé en produits secondaires d'oxydation.

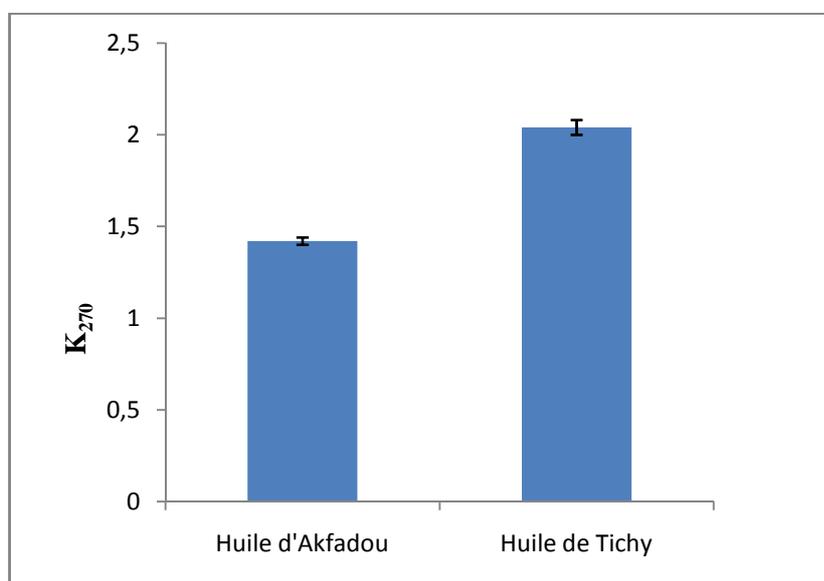


Figure 20: Absorbance à 270 nm des deux huiles étudiées.

Compte tenu des résultats des indices de qualité (acidité, indice de peroxyde et coefficients d'extinction spécifique dans l'UV « K_{232} , K_{270} » qui sont inférieurs aux limites établies par le (COI, 2003), nos huiles d'olives peuvent être classées en : Huile d'olive vierge pour l'huile d'Akfadou, et vierge courante pour l'huile de Tichy.

III.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques expérimentés sont :

III.2.1. Les polyphénols totaux

Les résultats du dosage colorimétrique des polyphénols totaux exprimé en milligrammes équivalent d'acide gallique sont présentés dans la figure 21.

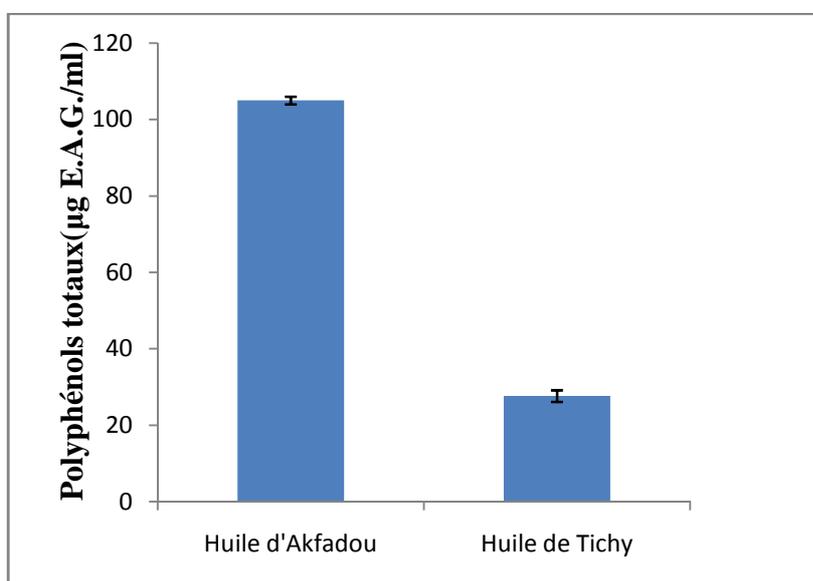


Figure 21: Teneurs en polyphénols totaux des deux huiles étudiées.

D'après les résultats enregistrés, on constate que l'huile d'olive d'Akfadou présente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux ($105\mu\text{g E.A.G./ml}$), alors que l'huile de Tichy montre le taux le plus faible ($27,66\mu\text{g E.A.G./ml}$). Par ailleurs l'huile d'Akfadou est 4 fois plus élevée de celle de Tichy.

Le taux le plus faible en polyphénols totaux de l'huile de Tichy pourrait être expliqué par la diminution de l'activité de l'enzyme L-phénylalanine Ammonia Lyase (PAL) responsable de la synthèse des composés phénoliques, comme il peut être dû à la différence de degré de maturité des olives avant trituration. Les travaux de *Baccouri et al, (2007b)* et *Rotondi et al. 2004)* montrent que les composés phénoliques diminuent à la fin de la

maturation. Mais, ils dépendent également du profil variétal et de la zone géographique, ainsi, la variation en teneurs en polyphénols semble être liée à la zone géographique oléicole. Généralement les huiles des oliveraies situées en altitude se montrent plus riches en phénols que celles des oliveraies des plaines (*Tanouti et al., 2011*)

Baccouri et al. (2007a) concluent que les facteurs génétiques influencent la qualité de l'huile d'olive principalement la composition phénolique.

III.3. Activité antioxydante

III.3.1. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire des l'huiles exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (figure 22) et en $\mu\text{g E.A.G./ml}$ (figure 23).

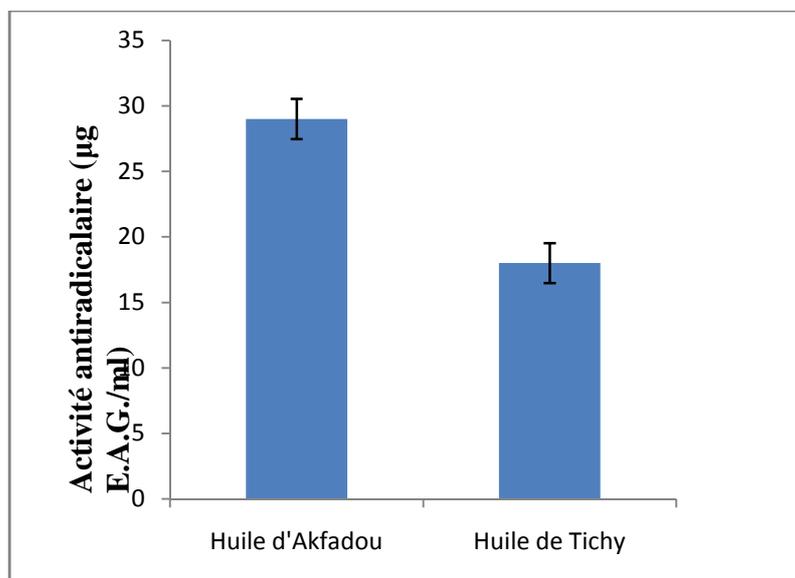


Figure 22: Activités antiradicalaire des deux huiles sur le radical DPPH.

Les résultats obtenus confirment la performance de l'huile d'Akfadou qui exerce la meilleure activité antiradicalaire ($29 \mu\text{g.E.A.G./ml}$). Cela peut être expliqué par sa richesse en polyphénols totaux ($105 \mu\text{g E.A.G/ml}$).

La faible activité anti-DPPH de l'huile de Tichy ($36 \mu\text{g E.A.G/ml}$), reflète sa teneur faible en polyphénols totaux.

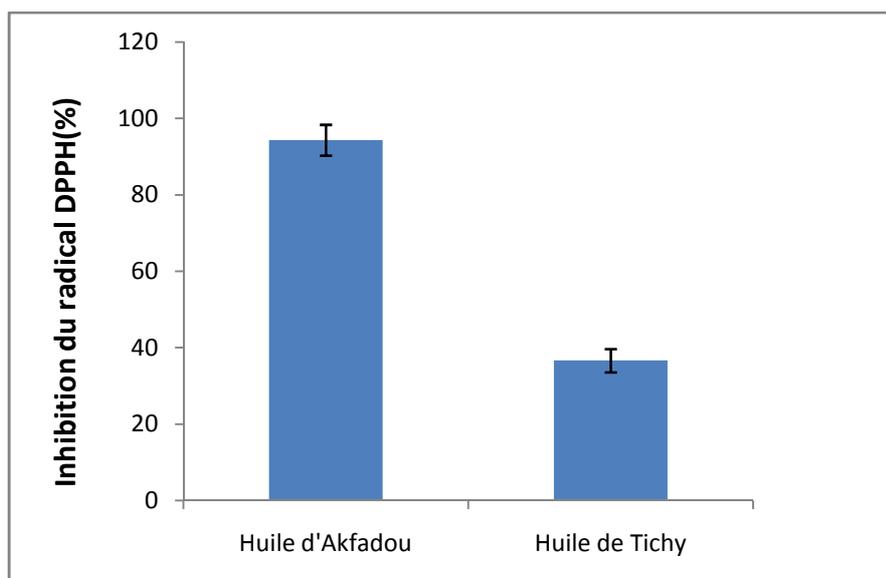


Figure 23: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des deux huiles étudiées.

La différence dans l'activité antiradicalaire pourrait être interprétée par la différence de la composition et du contenu en antioxydants, par la diversité structurale des composés phénoliques présents dans l'huile ainsi que par la différence dans la cinétique du potentiel antioxydant (*Ramdan et Morsel, 2006 ; Tuberoso et al., 2007*). En outre, un effet synergique entre les antioxydants, fait que l'activité antioxydante est dépendante non seulement de la concentration, mais aussi de la structure et l'interaction entre antioxydants (*Pellegrini et Battino, 2006*).

III.3.2. Activité antiradicalaire contre le radical ABTS⁺

D'après nos résultats, exprimés en pourcentage d'inhibition (figure 24) et en μg E.A.G./ml (figure 25) du radical ABTS⁺, il en ressort que les deux huiles exhibent des capacités distinctes à neutraliser le radical ABTS⁺.

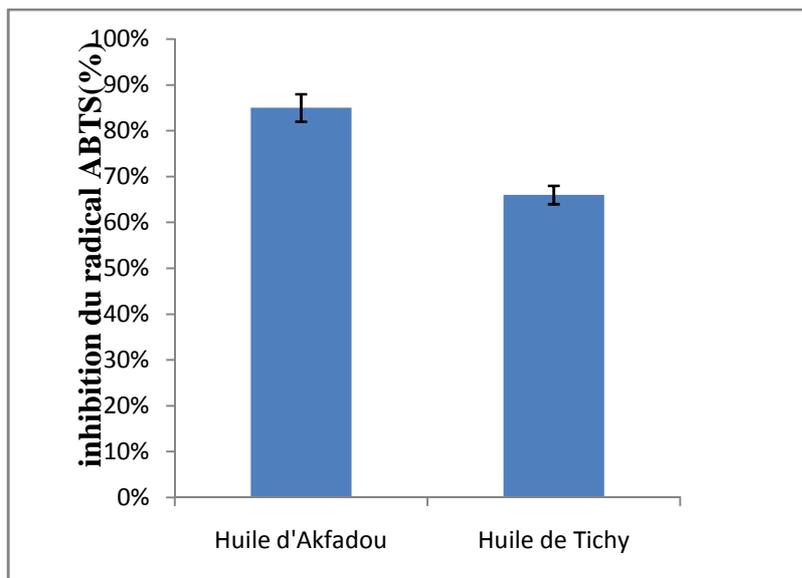


Figure 24: Pourcentages d'inhibition du radical ABTS⁺ des deux huiles étudiés.

De manière similaire au pouvoir antiradicalaire utilisant le DPPH, les résultats montrent que la meilleure activité antiradicalaire contre l'ABTS⁺ est constatée pour l'huile d'Akfadou (23 µg E.A.G./ml qui inhibe 85 % du radical ABTS⁺. Cela est lié à la richesse de cette huile en polyphénols totaux.

La faible activité antiradicalaire est obtenue pour l'huile de Tichy (18 µg E.A.G./ml) qui inhibe que 66% du radical ABTS⁺ reflétant son taux faible en polyphénols.

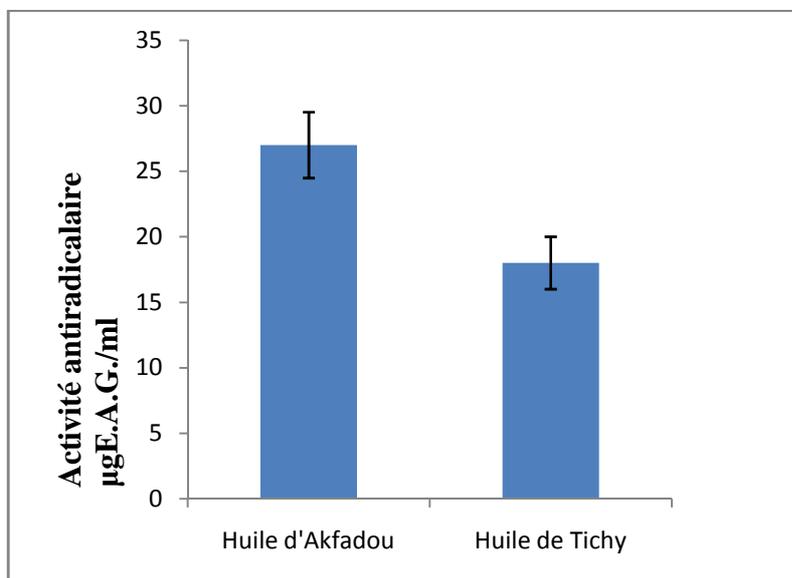


Figure 25: Activité antiradicalaire des deux huiles étudiées sur le radical ABTS⁺.

Conclusion

Conclusion

Au terme de ce travail, plusieurs observations sont apparues, d'abord du point de vue physico-chimique, les indices de qualités étudiés (acidité, indice de peroxyde, l'indice de réfraction, et les absorbances spécifiques à 232 et 270 nm) sont conformes aux normes établies par le COI (2003). D'autre part, il existe une différence dans les valeurs entre l'huile d'Akfadou et celle de Tichy dont on aurait pu faire une bonne remarque concernant l'influence de conditions microclimatiques si le nombre d'échantillons était plus élevé.

Pour le dosage des polyphénols, les résultats ont montré une plus grande richesse pour l'huile d'Akfadou, ce qui lui confère une meilleure stabilité à l'oxydation.

Les résultats obtenus pour l'activité antioxydante des deux huiles suivent le même ordre que celui des teneurs en composés phénoliques.

La meilleure activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH, ABTS+ Enregistrée pour l'huile d'Akfadou.

Le test DPPH n'est pas quantitatif, il permet simplement de comparer différents échantillons selon leur capacité à piéger le radical DPPH^{*}et pouvoir ainsi vérifier les différences qualitatives des composés phénoliques. Cette activité dépend beaucoup de facteurs et diminue en fonction de la lumière, du pH, du solvant utilisé.

A la fin, nous pouvons dire que l'olive et son huile sont des produits fragiles. Une attention particulière est donc requise à chacune des étapes nécessaires à l'extraction d'huile : pendant la cueillette, l'extraction et le stockage, si les olives sont abîmées, moisies, fermentées ou ont pris une odeur quelconque, cela se répercutera sur l'huile.

Références bibliographiques

Abaza L., Msallem M., Daoud D. 2002. Caractérisations des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux, corps gras, Lipides*.9 :174-9.

Ait Yacine Z., Serhrouchni M., and Hilal S. 2002. Evolution de la composition acide de l'huile d'olive à différents stades de la maturité des olives. Cas du périmètre du Tadla-Maroc *Olivae*, 94 : 51-53.

Allalou A., Krichéne D., Methennik., Taamalli A., Oueslati I., Daoud D. and Zarrouk M. 2009. Characterization of virgin olive oil from Super Intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 120:77-83.

Angerosa F. 2002. Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104 (9-10) pp 639-660.

Arts M.J.T., Dallinga J.S., Voss H.P., Haenen G.R.M.M. and Best A. 2004. A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. *Food Chemistry*, 88:567-57.

Baccouri B., Ben Temime S., Compeol E., Cioni P.L., Daoud D. and Zarrouk M. 2007a. Application of solid – phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars. *Food Chemistry*, 101(3):850-856.

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

Bai J and Cederbaum AI 2001. Mitochondrial catalase and oxidative injury. *Biol Signals recept.* 10 (3-4), 189 -199.

Baudet M. 1996. L'olivier dans l'antiquité. In : *Den ausgrüwer*, 6 :6p.

Barouki R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences* n°3, vol.22, 266-72.

Beckman K and Ames B.N. (1997). Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem*, 272 : 19633-19636.

Ben Tekaya I. et Hassouna M. 2005. Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps Gras Lipides*.12:447-453.

Berra B. 1998. Les composants mineurs de l'huile d'olive : aspects biochimiques et nutritionnelles. *Olivae*, 73 :29-30.

Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pencorbo A., Gomez-Caravaca A.M., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A. and Lercker G. 2007. Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade . *Molecules*, 12: 1679-1719.

Benbrook C.M. 2005. Accroissement de la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologique. The Organic Center of Education Promotion. P : 83.

Boskou D. (Ed).1996. Olive oil: chemistry and technology (1st edition).

Champaign Illinois: American oil chemists society. USA. 268 pages.

Bouchenna S. et Mettouchi S.2005. Contribution à l'étude des caractéristiques physicochimiques de l'huile d'olive extraites de la variété chemlal traitées avec une préparation enzymatique maxoliva, mémoire DES en BMC, 17p.

Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Garyk., Horn E., Mc Analley S. et Mc Analley B. .2003. Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. 4(6) ,7p.

Bouhadjra K. 2011. Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou .

Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., kandrani I., Falleh H. and Marzouk B. 2007. Phenolic composition and biological activities of tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C.R. Biologie*. 331, 48-55.

Boizot N. et Charpentier J.P. 2006. Méthodes rapides d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier : Amélioration, Génétique et Physiologie Forestier. Edition INRA. P 79-80.

Boskou D. (Ed).1996. Olive oil: chemistry and technology (1st edition). Champaign Illinois: American oil chemists society. USA. 268 pages.

Brenes M., Hidalgo F.J., Gardia A., Rios J.J., Garcia p., Zamora R. and Garrido A. 2000. Pinoresinol and l-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 77(7): 715-720.

Brunton.J. 1999. Pharmacognosie, Phitochimie: Plante médicinales Eds. Technique et documentation Lavoisier, Paris.

Canalafuente, E.L. 2003. Diabète et société : les bienfaits de l'huile d'olive. Vol 48, N°4, PP. 36-38.

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

Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S and Hoppel CL. 2003. Production of reactive oxygen species by mitochondria. Central role of complex III. J Biol Chem. 278, 36027 -36031.

Cichelli A. and Pertesana G. P. 2004. High-performance liquid chromatographic analysis of chlorophylls, pheophytins and carotenoids in virgin olive oil: chemometric approach to variety classification. Journal of Chromatography A, 1046: 141-146:1-6.

Codex .1981. Norme CODEX pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. CODEX STAN 33-1981 (RÈV .1-1989).PP

COI.1997. Conseil Oléicole Internationale. Encyclopédie mondiale de l'olivier, PP. 189-270.

COI. 2000. Conseil Oléicole Internationale. Catalogue Mondiale des variétés d'olivier.

COI. 2003. Conseil Oléicole International. Dénomination et définition des huiles d'olive et des huiles de grignon d'olive. Décision N°DEC-7 /88-IV/2003.V2217,A-2459.

COI.2006. Conseil Oléicole International. L'olivier, pp.1-2.

Covas, M.I. 2007. Olive oil and the cardiovascular system, pharmacological research 55, PP. 175-186.

Cronquist A .1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York, USA. p:1262.

Delaveau .1988. Polyphénols et tannins dans l'alimentation. Cah, Nutr, Diet, 23 :137-139.

Delattre J. 2005. Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris -new york.p :620.

Dilis V. Trichopoulou A. 2008. Mediterranean diet and olive oil consumption estimations of Daily Intake of Antioxidant From Virgin Olive Oil and Olives .In Olive Oil Minor Constituent and Health. Boskou D Ed .CRC Press .pp 201_210.

Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M.2008. Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdjakova A (ed). P :19-43.

Etsuo N., Yasukazu Y., Yashiro S and Noriko N. 2005. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects.

Firestone D. 2005. Olive oil. United States Food and drug Administration .Ed 6 .V 7 .PP: 33-331.

fouinJ et Sarfati C .2002. Le guide des huiles d'olives. Ed : Rouergue. P : 21.

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

Garcia Gonzales D.L, .Viera M., Tena N .and Aparicio R. 2007. Evaluation Of the methods based on triglycerides and sterols for the detection of hazelnut oil in oil olive .Grasas y Aceites.58 (4):344-350.

Gimeno E., Castellote A. J., Lamuela-Raventos R. M., De la Torre M. C. & Lopez-Sabater M.C .2002. The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*. 78 (2) pp 207-211.

Giuffrida D., Salvo F., Salvo A., La pera L. and Dugo G. 2007. Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties . Food Chemistry, 101:833-837.

Gomez –Alonso S., Salvador M.D. and Fregapane G. 2002 . Phenolic compounds profile of Cornicabra virgin olive oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:6812-6817.

Guignard, J.L. 2000 .Biochimie végétal 2éme edition Dunod. 188 p.

Hadi M. 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres : Etudes et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur.

- Halliwell B.** 2006. Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide. *TRENDS in biochemical sciences*. Vol 31. n°9: 509-15.
- Hannachi H .,Breton C .,Msallem M .,Ben EL Hadj S ., El Gazza N and Bervillè A .** 2008a. difference between native and introduced olive cultivars as revealed by morphology of drupes, oil composition and SSR polymorphisms: a case study in TUNISIA. *Scientia Horticulturae*, 116:280-290
- Huangu et al.** 2008. The Mediterranean diet and cardiovascular health. *J Am Coll Surg*. 207:407–16 .
- Issaoui M., Dabbou S., Echbili A., Rjiba I., Gazzah N., Trigui A. and Hammami M.** 2007. Biochemical characterization of some Tunisia virgin olive oils obtained from different cultivars growings in Sfax National Collection. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5 (1): 17-21.
- Jacotot B .**1997. Intérêt nutritionnel de la consommation de l’huile d’olive .Oléagineux, Corp. gras, lipides ; V4, N°5.PP : 373-4.
- J.H.Weil .**2001. Biochimie générale, édition DUNOD.275-280.
- Joaqin Velasco, Carmen Dobarganes .**2002. Oxydative stability of virgin olive oil.Eur.J.Lipids Technol. 104 661-676.
- Kehrer J.P.** 1993. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical review in toxicology*, 23 (1): 21-48.
- Kiritsakis A, Markakis .**1987. P. *Olive oil: a review*. *Adv. Food Res*. 31: 453-82
- Kristina Pelly et Marika Lyly .**2003. Les antioxydants dans l’alimentation p 8.
- Luaces P ., Peres A.G., Garcia J.M. and Sanz C.** 2005. Effects of heat-treatments of olive fruit on pigment composition of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 90: 169-174.
- Marrakchi M .**1988. Coopération internationale dans le secteur oléicole.In :l’économie de l’olivier.Ed.Allaya M, paris, 27-32.
- Matos L .C., Cunha S.C., Amral J. S., Pereira J . A ;Andrade PB ;Seabra R .M. and Oliveira B.P.P.**2007.Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs.Cobrançosa , Marudal and verdeal transmontana) extracted from olives with different maturation indices.*Food Chemistry*,102:264-252.

Matos L.C., Cunha S.C., Amral J. S., Pereira J. A ;Andrdade PB ;Seabra R.M. and Oliveira B.P.P.2007.Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs.Cobrançosa , Mardual and verdeal transmota) extracted from olives with different maturation indices.Food Chemistry,102:264-252.

Mateos R., Cert A., Perez-Camino M.C.and Garcia J.M. 2004 . Evaluation of virgin olive oil bitterness by quantification of secoiridoid derivatives. Journal of American oil Chemist's Society,81:71-75.

Mínguez-Mosquera M, Rejano-Navarro L, Gandul-Rojas B.1991. Color-pigment Correlation in Virgin Olive Oil. *JAACS*. 68 : 332-336.

Mordret F.1992. Analyse des corps gras .In : manuel des corps gras. Ed .*Tec & Doc.lavoisier*, 2 :1147-1341.

Morello J., Vuorela S., Romero M.P., Motiva M.J. and Heinonen M. 2005. Antioxidant activity of olive pulp and olive oil phenolic compounds of the arbequina cultivar. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 2002-2008.

Murkovic M.,Lechner S.,Pietzka A.,Baratacos M.and Katzogiannos E.2004.Analysis of minor components in olive oil. Journal of biochemical and biophysical methods , 61:155-160.

Narce M et Pierre J (2003). Aspect chimique ,biochimique et nutritionnels :In lipides et cors gras alimentaires . Ed :Tec et Doc .lavoisier . Paris .PP :5-47.

Ndèye Anta K.2001. Etude de la composition chimique et de la qualit d'huiles végétales artisanales consommées au sènegal. thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'etas) ;Université Cheikh ANTA DIOP de Dakar .PP :72.

Nicolosi R.J., Lawton C.W and wilson T.A.1999. Vitamin E reduced plasma LDL-C, LDLoxidation, and early aortic atheroscleroris compared with black tea in hypercholesterolemicHamsters. Nutrition research vol 19 n 8:1201-1214.

Ocakoglu D., Tokatli F., Ozen B. and Korel F. 2009. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids tn Turkish monovarietal extra virgin olive olis for two harvest years. Food Chemistry, 113: 401-410.

Ollivier D., Artaud J., Pinatel C., Durbec J. P. & Guère M .2003. Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (19) pp 5723-573.

Ouaouich A et Chimi H .2007. Guide de production de l'huile d'olive. Ed: ONUD Vienne .PP: 11.

Pellegrini N.and Battino M .2006.Total antioxidant capacity of olive oil .In Olive Oil and Health . Ed J .L Quiles ,M.C .Ramirez Tortoza and P Yaqcob .CAB International .Pp63 -71.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K and Defraigne J.O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme* 16: 233–239.

Pinelli P .,Galardia C.,Mulinaccia N.,Vinciera F.F.,Cimatob Aand Romania A .2003. Minor polar compound and fatty acid analytises in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food chemistry*.

Priyadarsini K. I. 2005. Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radioprotectors. Founder's Day Special Issue : 1-6.

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

Rao C. V., Newmark h.L. and Reddy B.S.1998. Chemopreventive effect of squalene on cotton cancer. *Crcinogenesis*, 19:287-290.

Ramdan M.F. and Moersel J.T. 2006.Sceneing of the antiradical action vegetable oils *Journal of food composition and Analysis*, 19:838-842.

Re R.,Pellegrini N Proteggent A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evens C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *FREE Radical Biology and Medicine*,26:1231-618.

Roehlley Y. 2000. La fabrication de l'huile d'olive: une étude bibliographique. CBEARC de Montpellier , pp.6-22.

Rotondi A et Magli M .2004. Ripening of olives var correggiolo: modification Of oxidative stability of oils during fruit ripening and oil storage. *Journal of food, Agricultural and Environment*.344: 193-199.

Ryane D., Robards K et Lavee S .1998. Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae* n°72.

Saraoui N .2006. Marché mondiale des produits oléicoles .agriculture et développement : revue de vulgarisation et de communication .PP :06-07.

Sébastien Veillet .2010. Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Academie d'Aix –Marseille.Université d'Avignon des pays de vaucluse. ED 306 – Sciences des procédés – Sciences des Aliments.

Servili M .,Selvaggini R ., Esposto S .,Taticchi A .,Montedoro G.F and Morozzi G .2004. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols Agronomic and technological aspect of production that effect their occurrence in the oil. *Journal of chromatography A*, 1054:113-127.

Smith T., Yang G., Serial D .1998. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced Lung Tumor genesis by Dietary Olive Oil and Squalene. *Carcinogenesis* 19 : 703-706.

Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant Journal* **54**: 733-749.

Teuscher E., Anton R et Lobstein A .2005. Aromatique épice aromates, condiments et huiles essentielles. Ed .*Tec and Doc*. Lavoisier, N° 720:355-360.

Tuberoso C.L.G .,Kolaczyc A.,Sarritzu E.And Cabras P.2007.Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use .*Food chemistry* .103:1494-1501.

Tratner I. 2003. Chacun souhaite vivre longtemps, mais personne ne veut être vieux.*Médecine/Sciences* n°12. Vol 19 :1291-1292.

Uzzan A .1992. Olive et huile d'olive : In Manuel des corps gras. Ed: Lavoisier .Paris .Tom1.PP:221-227.

Valasco J. and Dobragane C.2002. Oxidative stability of vergine olive oil. *European Journal of Lipids and Science Technology*,104:661-676.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M and Telser J. 2007.Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39 : 44–84.

Visioli F. & Galli C. 1998. The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular

disease: new findings. *Nutrition Reviews*. 56 (5) pp 142-147.

Yang D. P., Kong D. X. & Zhang H. Y. 2007. Multiple pharmacological effects of olive oil phenols. *Food Chemistry*. 104 (3) pp 1269-1271.

Young A.J.,Lowe G.M. 2001. Antioxydant and pro-oxidant properties of caroténoides. *Arch. Biochem. Biophys*. 385:20-27

Zarrouk W., Marzouk B ., ben miled Daoud D and Cherif A .1996. Accumulation de la matiere grasse de l'olive et l' effet du sel sur sa composition . *olivae*, 61 :41-45

Anonyme 1: www.monde-diplomatique.fr/cartes/romseurope.

Anonyme 2: Le marché de l'huile d'olive : situation & perspectives . 2012.

Anonyme 3: www.oliéculture.com. (Avril, 2007).

Anonyme 4: http://www.info-huiledolive.net/toutsavoir2_1_a.asp.

Anonyme 5 : Les principes de des bien faits de l'extraction de l'huile d'olive. Centre d'étude techniques agricoles De pays d'Aubagne. PP : 1-2.

Anonyme 6 :<http://fr.org/wiki/huile-dolive>.

Annexes

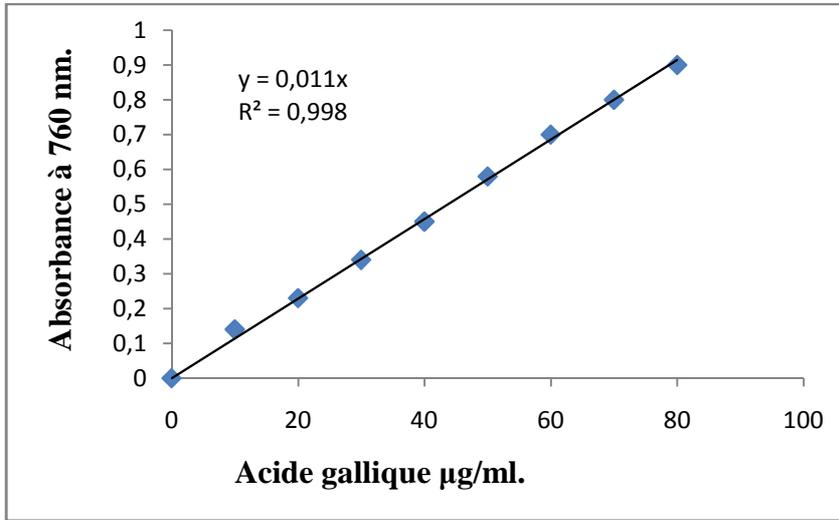


Figure 1: Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques.

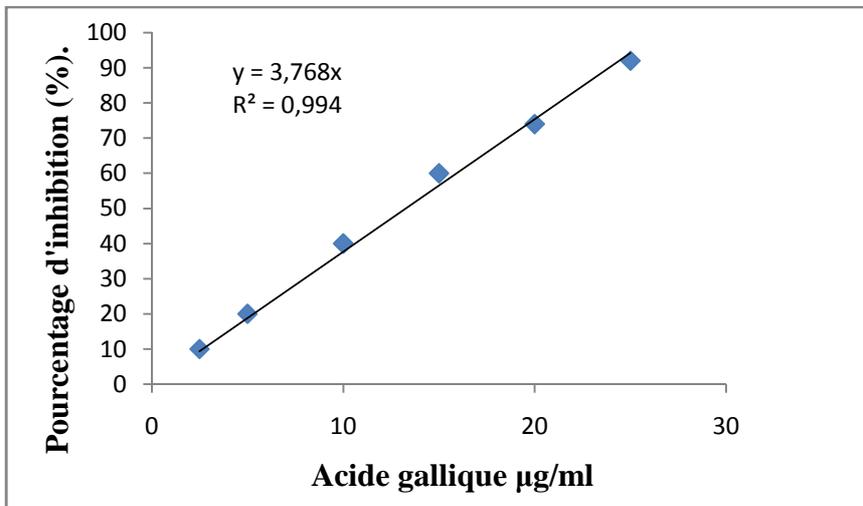


Figure 2 : Courbe d'étalonnage pour l'activité antiradicalaire de l'huile contre le DPPH.

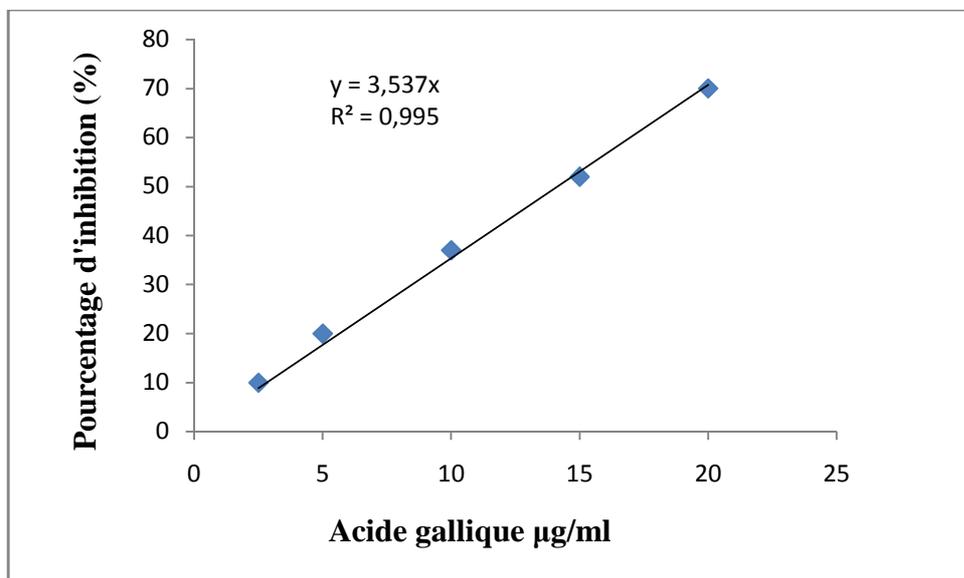


Figure 3: Courbes d'étalonnage pour l'activité antiradicalaire de l'huile contre ABTS⁺.

Résumé

L'objectif de cette étude consiste à donner un aperçu général sur l'huile d'olive, son origine, sa composition physico chimique et en antioxydants ainsi que les critères de qualité.

Notre travail s'est basé aussi sur la comparaison entre les paramètres physico-chimiques et les composés phénoliques ainsi que le pouvoir réducteur de deux huiles provenant l'une d'une région montagneuse(Akfadou) et l'autre d'une région côtière (Tichy).

Bien que les résultats expérimentaux obtenus démontrent que l'analyse physico-chimique et la teneur en polyphénols des deux échantillons d'huile analysées sont conformes aux normes établies par le COI.

L'huile issue de la région d'Akfadou a montré une meilleure qualité et une meilleure activité anti radicalaire contre (DPPH et ABTS⁺) par rapport a celle de Tichy., et cela est notamment causé par les effets de certains facteurs tel que : le stockage, la maturation et la méthode de récolte.

Mots clés: l'olivier, huile d'olive, poly phénols, paramètre physico-chimique, indice de peroxyde, réfraction, acidité, pouvoir réducteur.

Abstract

The aim of this study is to provide a general overview of olive oil, that is to say: its origin, composition of antioxidants and its quality criteria.

Our research paper is also based on the comparison between the physicochemical parameters and the phenolic compounds, as well as the redaction capacity of two different oils coming from two different regions. a mountainous region(Akfadou) and a coastal region (Tichy).

Despite the fact that the experimental results obtained has shown that the physicochemical analysis and the polyphénols grade of the both samples of the analyzed oil are conform to the norms that are established by IOC.

The oil coming from the region of Akfadou has shown a better quality and a better antiradical activity against (DPPH and ABTS⁺) comparing to the oil of Tichy, and this is mainly due to the effect of certain factors as: the store, maturation, and the harvest method.