

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de sciences alimentaire
Filière : Biotechnologie, Nutrition, Agroressources,
Aliment et Nutrition
Option : Cors gras



Réf :

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

MASTER

Thème

**Activité antioxydante de mélanges
d'huile d'olive et d'huile de table**

Présenté par :

AMZAL Hakima

Soutenu le : 17 Juin 2015

Devant le jury composé de :

Mme GUERFI F.	MAA	President
Mme LEHOUCHE R.	MAA	Encadreur
Mme TAFININE Z.	MAA	Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciement

Je tiens à remercier tout d'abord le Bon Dieu le tout puissant, maître des cieux et des terres, merci.

Mes remerciements les plus sincères vont à Mm LEHOUCHE, ma promotrice qui a veillé et dirigé ce labeur par son aide scientifique, ses précieux conseils. Je la remercie jamais assez pour sa constante disponibilité et d'avoir mis tous les moyens à ma disposition.

Je remercie vivement, Mm GUERFI de m'avoir fait l'honneur de présider le jury, ainsi que M^{me} TAFNINE d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Mes plus vifs remerciements s'adressent aussi à tous le personnel du laboratoire d'analyse physico-chimique des aliments, particulièrement la responsable du laboratoire pour sa profonde gentillesse et son soutien moral durant tout ce travail.

Enfin, mes remerciements les plus sincères à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail

Dédicace

Je dédie ce travail

A la mémoire de ma grand mère, j'espère que je suis à la hauteur de ces espérances.

A mon grand père

A ma chère et adorable mère

A mon cher père.

A mes sœurs et frères Nassima, Cherifa, Nacer, Sofiane, Sadek

A mes chers amis.

A ma chère tante et mes chère oncle.

A mes camarades de la spécialité corps gras

A tous ceux qui m'ont aidés pour la réalisation de ce travail, walid, faroudj, aziz, dahbia, kahina, fatiha, yasmine, hassiba, nassima.....etc.

AMZAL HAKIMA

Sommaire

Sommaire

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des abréviations

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les huiles végétales

I.1. Huile d'olive.....	3
I.1.1. Définition et origine.....	3
I.1.2. La composition chimique de l'huile d'olive.....	3
I.1.2.1. Fraction saponifiable.....	3
I.1.2.2. Fraction insaponifiable.....	5
I.2. Huile de tournesol.....	12
I.2.1. Définition et origine.....	12
I.2.2. Composition chimique de l'huile de tournesol.....	12
I.2.2.1. Fraction saponifiable.....	12
I.2.2.2. L'insaponifiable.....	13
I.3. Huile de soja.....	14
I.3.1. Définition, origine et propriétés.....	14
I.3.2. Composition chimique de l'huile de soja.....	14
I.3.2.1. Fraction saponifiable.....	14
I.3.2.2. L'insaponifiable.....	16
I.3.2.3. Les autres composés.....	16

Chapitre II : Activité antioxydante des huiles alimentaires

II.1. Les antioxydants.....	17
II.1.1. Mécanismes d'actions des antioxydants.....	17
II.1.1.1. Les caroténoïdes.....	18
II.1.1.2. Les tocophérols.....	18
II.1.1.3. Les composés phénoliques.....	19
II.1.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	20
II.1.2.1. Test mesurant l'inhibition de l'oxydation des lipides.....	20
II.1.2.2. Test de stabilité oxydative d'un corps gras.....	20

Sommaire

II.1.2.3. Test évaluant l'effet « scavenger » sur les radicaux libres.....	20
II.1.2.4. Test de blanchissement au β -carotène.....	20
II.2. Le mélange des huiles.....	21

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	22
I.2. Préparation des échantillons d'huiles.....	22
I.3. Analyses.....	23
I.3.1. Dosage des composés phénoliques.....	23
I.3.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....	23
I.3.1.2. Dosage des <i>ortho</i> -diphénols.....	23
I.3.1.3. Dosage des flavonoïdes.....	24
I.3.2. Dosage des caroténoïdes.....	24
I.3.3. Indice d'amertume.....	25
I.3.4. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH.....	25
I.3.5. La stabilité oxydative de l'huile.....	26
I.3.6. Analyse statistique.....	26

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Les antioxydants.....	27
II.1.1. Dosage des composés phénoliques	27
II.1.1.1. Dosage des polyphénols totaux	27
II.1.1.2. Dosage des <i>ortho</i> -diphénols.....	29
II.1.1.3. Dosage des flavonoïdes.....	30
II.1.2. Dosage des caroténoïdes.....	32
II.1.3. Indice d'amertume.....	33
II.1.4. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH.....	35
II.1.5. La stabilité oxydative de l'huile.....	38
II.1.6. L'aspect commercial.....	39
Conclusion.....	41

Références bibliographiques

Sommaire

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

N° du tableau	Titre	page
I	Composition de l'huile d'olive en triglycérides	4
II	Les principaux acides gras présents dans l'huile d'olive	5
III	Composition de l'huile de tournesol en acides gras	13
IV	Composition de l'insaponifiable de l'huile de tournesol en composés mineurs	13
V	Composition de l'huile de soja en acides gras	15
VI	Composition en insaponifiables de l'huile de soja	16
VII	Préparation des mélanges d'huiles	22
VIII	Les valeurs moyennes des concentrations efficaces EC ₅₀ des différentes échantillons d'huiles étudiées.	37
IX	Les temps d'induction du test Rancimat.	38

Liste des tableaux en annexes

N° du tableau	Titre	N° de l'annexe
I	Tableaux récapitulatif des résultats obtenus	III

Liste des figures

N° de figure	Titres de la figures	Page
1	Formule chimique des principaux composés phénoliques présents dans l'huile d'olive vierge	7
2	Structure chimique des tocophérols	8
3	Structure des principaux stérols de l'huile d'olive	9
4	Structure chimique des composés volatils majoritaires de l'huile d'olive	10
5	Structure chimique du β -carotène	11
6	Mécanisme traduisant l'activité antioxydante des caroténoïdes, cas des ROO [•]	18
7	Mécanisme d'action antioxydante des composés phénolique	19
8	Teneur en polyphénols totaux des échantillons d'huiles étudiées	28
9	Teneur en <i>ortho</i> -diphénols des échantillons d'huiles étudiées.	29
10	Teneur en flavonoïdes des échantillons d'huiles étudiées.	31
11	Teneur en caroténoïdes des échantillon d'huiles étudiées.	32
12	Indice d'amertume des échantillons d'huiles étudiées.	34
13	Activité antiradicalaire sur le DPPH des échantillons d'huiles étudiées à une concentration de 0,4g d'huile /ml toluène.	35
14	Estimation des prix des mélanges pour 1litre d'huile	40

Liste des figures en annexes

N° de figure	Titres de la figures	Annexes
1	Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.	I
2	Courbe d'étalonnage pour le dosage des <i>ortho</i> -diphénols	I
3	Courbe d'étalonnage pour le de dosage des flavonoides	I
4	Graphes représentant les temps d'induction obtenus par test de Rancimat pour d'huile d'olive, l'huile de soja et l'huile de tournesol.	II
5	Graphes représentant les temps d'induction obtenus par test de Rancimat pour le mélanges d'huile d'olive et d'huile de soja.	II
6	Graphes représentant les temps d'induction obtenus par test de Rancimatpour le mélanges d'huile d'olive et d'huile de tournesol.	II

Liste des figures

7	Graphes représentant les temps d'inductions pour les trois mélanges des huiles.	II
----------	---	-----------

Liste des abréviations

AG : Acide Gras.

AGMI : Acide gras monoinsaturés.

AGPI : Acide gras polyinsaturés.

AGS : Acide gras saturé.

COI : Conseil Oléicole International.

DPPH : 2,2 diphényl-1- picrylhydrazil

ECH: Echantillon

HO : Huile d'olive.

HT : Huile de tournesol.

HS : Huile de soja

ISO : Organisation internationale de normalisation.

O₂ : Dioxygène.

Ppm : Partie Par Million.

Introduction

Introduction générale

Les lipides appelés corps gras ou matières grasses, constituent les éléments essentiels de notre alimentation. Ils sont consommés à l'état naturel ou bien ils sont présents dans un aliment. Les lipides sont considérés comme une source de saveur et de plaisir, en contribuant aussi au bon fonctionnement de l'organisme et à son développement.

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

L'huile d'olive est riche en composés phénoliques (principalement l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine et le tyrosol), agissant comme antioxydants naturels, qui peuvent contribuer à la prévention contre le cancer et les maladies cardiovasculaires (VISIOLI *et al.*, 2002).

Dans le cadre de la recherche de nouvelles sources d'alimentation et aussi de matières premières pour l'industrie, les huiles font actuellement l'objet d'intenses recherches en raison de leur immenses utilisations (DE KOCK *et al.*, 2005).

Une grande partie des recherches actuelles vise à enrichir les huiles alimentaires moins stables pour améliorer leur qualité organoleptique, leur composition et surtout leur stabilité et leur activité antioxydants (DE LEONARDI & MACCIOLA, 2012). Grâce à ses caractéristiques, l'huile d'olive est l'une des huiles les plus utilisées pour réaliser des mélanges avec des huiles alimentaires essentiellement avec l'huile de tournesol et l'huile de soja (SANCHEZ-MUNIZ *et al.*, 2009 ; MONFREDA *et al.*, 2012)

En effet, les mélanges d'huile d'olive et d'autre huiles végétales sont autorisés par les commissions de l'union européenne de la régulation de marketing (EU No 29/2012), selon des normes de commerce européen, une huile de coupage ne peut être lancée sur le marché si seulement, elle présente 50% ou plus d'huiles d'olives



L'objectif principal de notre étude est d'obtenir un meilleur mélange d'huile sur le plan nutritionnel et économique à partir de trois types d'huiles de base (l'huile d'olive commerciale extra vierge « Ifri », l'huile de tournesol et l'huile de soja raffinées).

La première partie de ce travail consiste en une synthèse bibliographique sur les huiles végétales et l'activité antioxydante des huiles alimentaires.

La deuxième partie, expérimentale, est consacrée à la détermination des teneurs en antioxydants des différents mélanges d'huiles, (polyphénol, ortho-diphénols, flavonoïdes et caroténoïdes), ainsi que l'activité antioxydante des échantillons d'huiles étudiées.



Synthèse
bibliographique

Chapitre I
Les huiles végétales

Chapitre I : Les huiles végétales

I.1. Huile d'olive

I.1.1. Définition et origine

Selon le C.O.I. (2013), l'huile d'olive vierge est l'huile obtenue du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration.

I.1.2. Composition chimique de l'huile d'olive

L'huile d'olive vierge est un système chimique complexe constitué de plus de 250 composés (ANGEROSA *et al.*, 2004). Elle est composée d'une fraction saponifiable constituée de triglycérides et d'acides gras libres et d'une fraction insaponifiable (composants mineurs), cette dernière représente 1% de l'huile (SERVILI *et al.*, 2004).

I.1.2.1. Fraction saponifiable

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

a) Les triglycérides

Résultant de l'estérification d'une molécule de glycérol avec une, deux ou trois molécules d'AG, appelés mono-, di- ou tri acylglycerols (mono, di ou triglycérides) (POISSON & NORCE, 2003).

L'huile d'olive est constituée de 98% à 99% de triglycérides, de 2 à 3% de diglycérides et de 0,1 à 0,25% de monoglycérides, ces deux derniers augmentent avec l'acidité jusqu'à atteindre 20% et 4% respectivement (VELASCO & DOBARGANES, 2002).

En règle générale, les chaînes saturées sont fixées sur les carbones n-1 ou n-3, tandis que la position n-2 est occupée préférentiellement par des acides gras insaturés (ARANDA *et al.*, 2004). Les triglycérides majoritaires de l'huile d'olive tableau I sont la trioléine, la



palmitoyldioléine, la linoléyldioléine, la palmityl-2-oléo-3-linoléine et la stéaryldioléine (GARCIA-VILLALBA *et al.*, 2010).

Tableau I : Composition de l'huile d'olive en triglycérides (RYAN *et al.*, 2002).

Nature	OOO	POO	OOL	POL	SOO
Triglycerides (%)	40-60	10-20	10-20	5-7	3-7

O = acide oléique

L = acide linoléique

P= acide palmitique

S = acide stéarique

b) Les acides gras

Les acides gras sont constitués d'une fonction carboxylique et d'une chaîne aliphatique dont la longueur peut varier de 4 à 24 atomes de carbones. La chaîne aliphatique peut être saturée et linéaire ou présente une ou plusieurs doubles liaisons séparées par un groupe méthylène (RYAN *et al.*, 2002).

La variabilité en acides gras est relativement importante, mais en moyenne, l'huile d'olive vierge se compose de 72% d'acides gras mono-insaturés (AGMI), 14% d'acides gras poly-insaturés (AGPI) et 14% d'acides gras saturés (AGS) (HARWOOD & APARICIO, 2000).

L'huile d'olive a un profil en acide gras caractéristique, dominé par l'acide oléique C18:1, l'acide linoléique C18:2 et l'acide palmitique C16:0 (RYAN *et al.*, 2002). Le tableau suivant illustre à la fois la grande variété d'acides gras présents dans l'huile d'olive.

Tableau II: Les principaux acides gras présents dans l'huile d'olive (COI, 2013).

Acides gras	Longueur de la chaîne et nombre d'insaturations	Teneur en %
Acide myristique	C14 : 0	≤ 0,05
Acide palmitique	C16 : 0	55 – 83
Acide palmitoléique	C16 : 1	3,5 – 21
Acide heptadécanoïque	C17 : 0	7,5 – 20
Acide héptadécénoïque	C17 : 1	0,5 – 5
Acide stéarique	C18 : 0	0,3 – 3,5
Acide oléique	C18 : 1	≤ 1,0
Acide linoléique	C18 : 2	≤ 0,6
Acide linoléique	C18 : 3	≤ 0,4
Acide arachidique	C20 : 0	≤ 0,3
Acide gadoleïque	C20 : 1	≤ 0,3
Acide béhenique	C22 : 0	≤ 0,2

I.1.2.2. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable ou la non triglycéride est souvent accompagnée de terme « composants mineurs » : hydrocarbures, squalènes, béta-carotène, tocophérols, phénols et substances dérivées, esters, aldéhydes, cétones, alcools aliphatiques, alcools terpéniques et stérols (DOVERI & BALDONI, 2007).

a) Les composés phénoliques

L'huile d'olive est une source d'au moins 30 composés phénoliques. Ces composés sont des antioxydants qui contribuent à la bonne stabilité de l'huile en augmentant sa résistance à l'auto-oxydation à l'échelle cellulaire, ils ont un pouvoir de piégeage des radicaux libres et confèrent à l'huile des caractéristiques sensorielles et nutritionnelles intéressantes (MANAI, 2006).

Les composés phénoliques regroupent toute une gamme de substance diverses qui fait que l'huile d'olive possède un goût si différent des autres huiles. Mais s'ils sont aujourd'hui



au centre de nombreuses études, c'est surtout pour leur potentiel en matière de prévention de la santé humaine (MAIURI *et al.*, 2005 ; GARCIA-VILLALBA *et al.*, 2010).

Une forte teneur en composés phénoliques semble constituer un attrait nutritionnel et donc pourrait favoriser une variété d'olive plutôt qu'une autre. Les teneurs usuelles pour une huile d'olive oscillent généralement entre 75 à 700 mg/kg (MORELLO *et al.*, 2005 ; ISSAOUI *et al.*, 2007).

Ils font partie de la fraction polaire de l'huile et leur teneur varie en fonction de la variété, des conditions pédoclimatiques, du degré de maturation, ainsi que des processus industriels utilisés pour l'extraction de l'huile (VISIOLI *et al.*, 2002).

Les principaux composés phénoliques (figure) sont l'hydroxytyrosol (HT), le tyrosol (T), les substances chimiquement dérivées de l'HT et de l'oleuropéine (ester de l'acide élenoléique et de l'HT) responsable de l'amertume du fruit, la diméthyloleuropéine, le ligstroside et le verbascoside (BOSKOU, 2009).

Les deux principaux flavonoïdes présents dans l'huile d'olive vierge sont la lutéoline et l'apigénine (CORTESE & ROVELLINI, 2004).



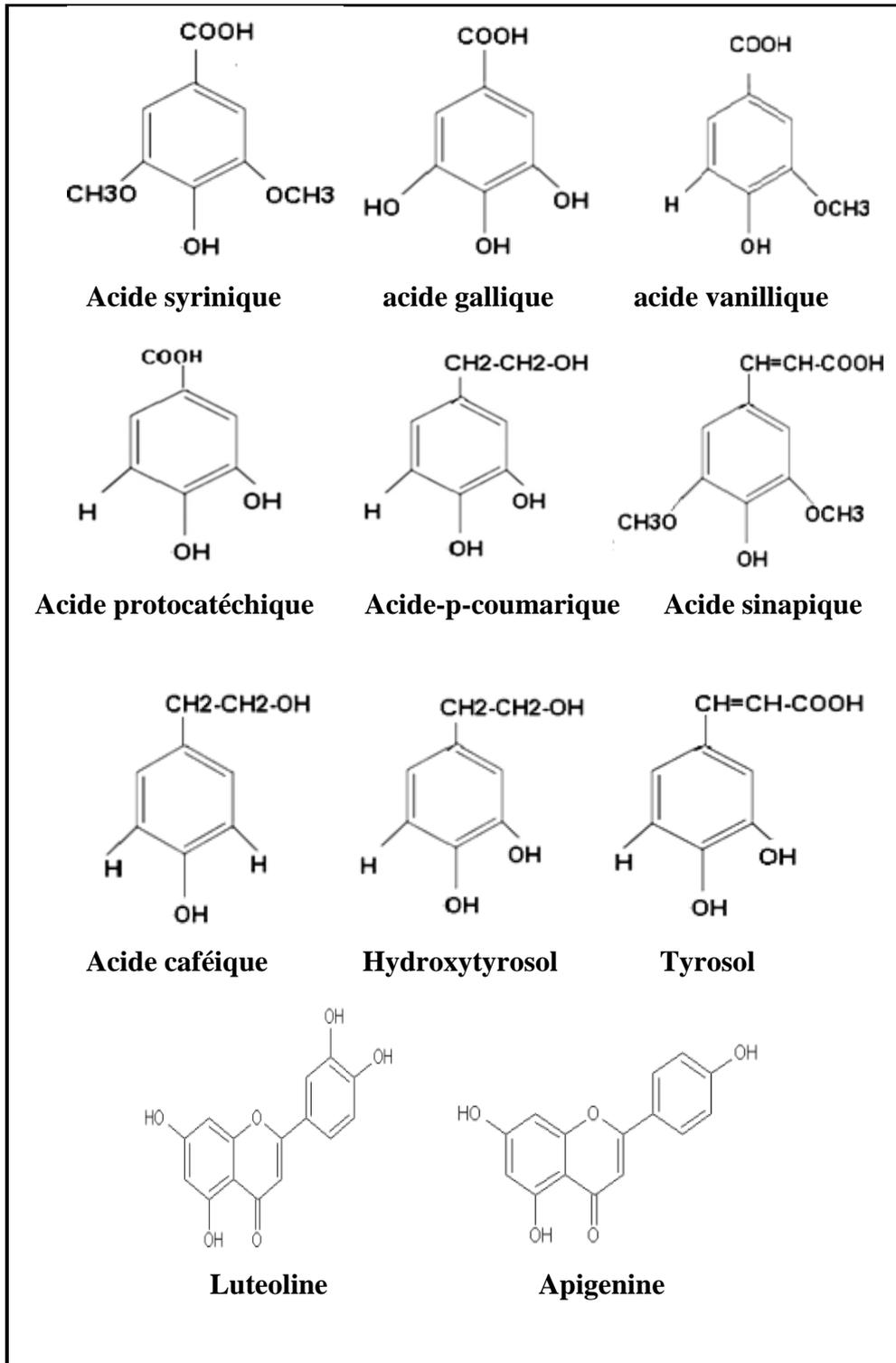


Figure 1 : Formule chimique des principaux composés phénoliques présents dans l'huile d'olive vierge (OLLIVIER *et al.*, 2004).

b) Les tocophérols

Les tocophérols 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 antioxygène (antioxydants lipophiles) en raison de leur contribution à la stabilité oxydative et à la qualité nutritionnelle (OWEN *et al.*, 2004). La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable puisqu'elle a été reportée dans une gamme allant de quelques mg à 450 mg/kg d'huile (BOSKOU *et al.*, 2006).

La molécule de tocol constitue la structure de base des tocophérols. Elle est constituée d'un noyau hydroxychromane sur lequel est fixée une chaîne phytyle entièrement saturée. Les différents tocophérols se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (FERNAND, 2003).

L'alpha-tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols, 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 (PSOMIADOU *et al.*, 2000).

Les principaux tocophérols de l'huile d'olive sont représentés dans la figure suivante :

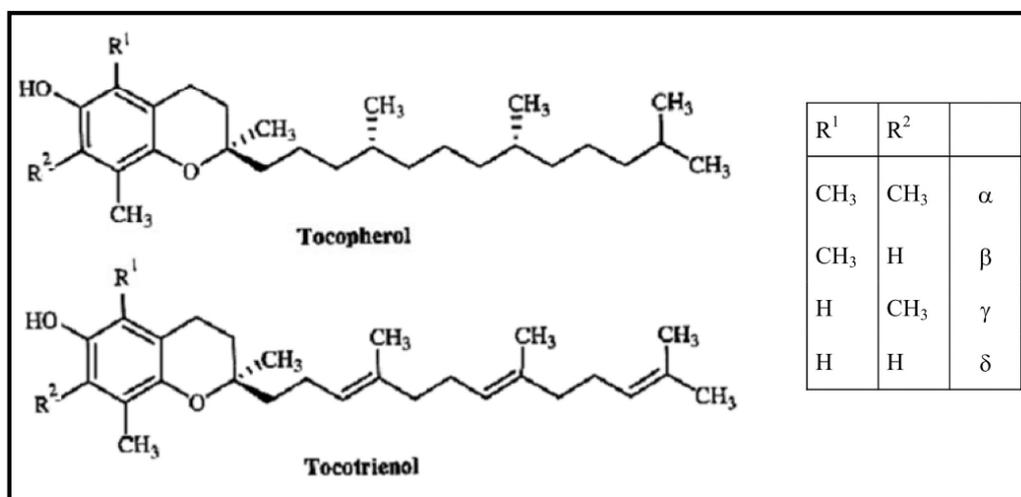


Figure 2: Structure chimique des tocophérols (LEE *et al.*, 2004).

c) Les hydrocarbures

Le principal hydrocarbure de l'huile d'olive est le squalène (C₃₀H₅₀). Celui-ci apparaît dans la voie de la biosynthèse du cholestérol. L'huile d'olive vierge extra contient du squalène à raison d'environ 400 - 450 mg/100g, tandis que l'huile d'olive raffinée en contient 25 % de



moins (OWEN *et al.*, 2000). Le squalène présente un effet protecteur à des faibles températures et à l'obscurité (VELASCO & DOBARGANES, 2002).

d) Les stérols

Les stérols ayant tous en commun le noyau stérol et se différenciant par leur chaîne latérale, sont rencontrés dans l'huile d'olive sous forme libre ou estérifiée avec les acides gras et représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable (LEROY, 2001).

La quantité totale de stérols dans l'huile d'olive vierge extra varie de 113 à 265mg/100g dont le principal stérol, est le β -sitostérol, qui représente jusqu'à 75-90 % du total, le delta-5 avénastérol (3 à 14%), le campésterol (2à 4%), le stigmastérol (1 à 2%) et le cholestérol (<0, 3) (VELASCO & DOBARGANES, 2002).

Parmi les facteurs, qui influent sur cette teneur, figurent la variété des olives et leur degré de maturité (GUTIERREZ *et al.*, 1999).

Les principaux stérols de l'huile d'olive sont représentés dans la figure suivante :

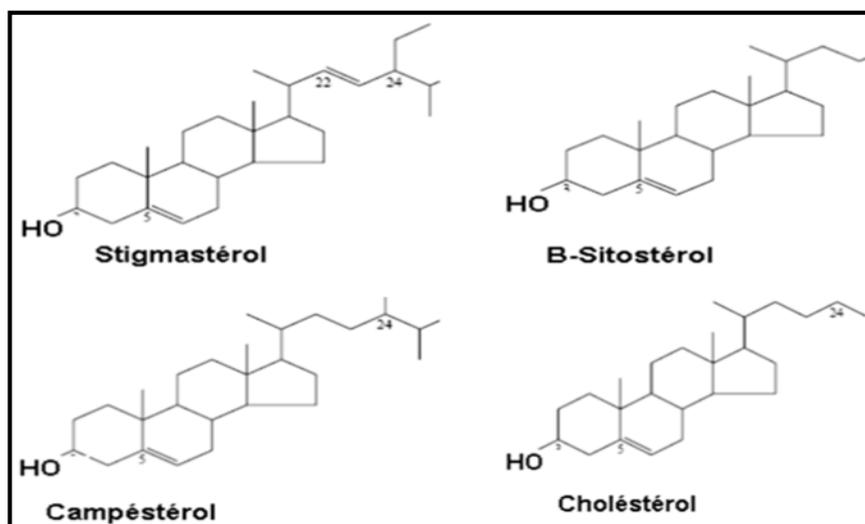


Figure 3: Structure des principaux stérols de l'huile d'olive (VERLEYEN, 2002).

e) Les composés aromatiques

On estime que plus de 70 molécules composent la fraction volatile des huiles d'olives. Ces composés se développent après extraction de l'huile à partir des fruits d'olives (KIRITSAKIS, 1998 ; KALUA *et al.*, 2007). Parmi ceux ci figurent des produits de dégradation d'acides gras insaturés comme les aldéhydes, les hydrocarbures aliphatiques et



aromatiques, les alcools, les cétones, les éthers, les esters, ainsi que des furanes et des dérivés thiopteréniques qui contribuent à l'odeur et à la saveur de l'huile (KIRITSAKIS, 1998 ; ANGEROSA, 2002).

La teneur en ces composés est influencée par le cultivar, la maturation des fruits et le système d'extraction ainsi que la durée de stockage (KALUA *et al.*, 2007).

Les principaux composés volatils sont représentés dans la figure suivante :

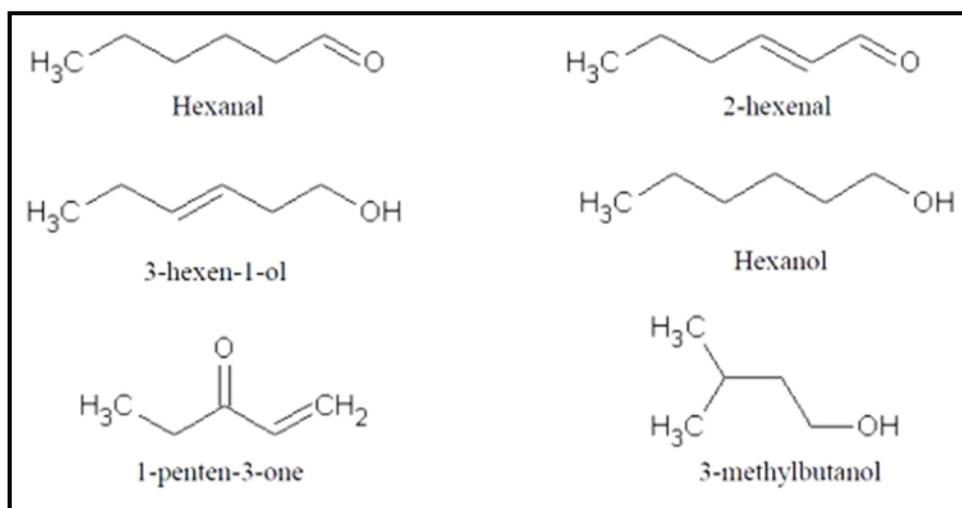


Figure 4 : Structure chimique des composés volatils majoritaires de l'huile d'olive (VEILLET, 2010).

f) Les pigments

La composition et la teneur totale en pigments naturellement présents dans l'huile sont d'importants paramètres de qualité, parce qu'ils sont corrélés avec la couleur, qui est un attribut de base pour évaluer la qualité de l'huile d'olive. Les pigments ont également un caractère antioxydant dans l'obscurité et pro-oxydant dans la lumière et semblent jouer un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile au cours de son stockage (OUESLATI *et al.*, 2009).

Ils sont représentés par les chlorophylles et leurs produits de dégradation ; les phéophytines et par les caroténoïdes (OUESLATI *et al.*, 2009).

➤ Les chlorophylles et dérivés

La chlorophylle est présente dans l'huile d'olive sous ses formes dégradées comme la phéophytine. La composition d'huile d'olive en chlorophylle dépend du stade de maturation des olives qui diminue continuellement du début jusqu'à la fin de la récolte (VELASCO & DOBARGANES, 2002).

En présence de la lumière, la chlorophylle et ses dérivés sont dotés d'un pouvoir photosensibilisateur, alors qu'à l'obscurité elle possède une activité antioxydante. C'est l'une des raisons pour lesquelles il est conseillé de conserver l'huile d'olive à l'abri de la lumière (GUIRDA *et al.*, 2005).

➤ Les caroténoïdes

Le β -carotène et la lutéine sont les caroténoïdes les plus importants dans l'huile d'olive à raison de 1,0 à 2,7 ppm et 0,9 à 2,3 ppm, respectivement (PSOMIADOU & TSIMIDOU, 2002).

Les caroténoïdes, et en particulier le β -carotène, sont capables de capturer les radicaux libres oxygénés, et jouent aussi un rôle de filtre anti-UV. Le stockage de l'huile contribue à la perte de ces derniers (VAN DEN BERG *et al.*, 2000). La figure 5 représente la structure du β -carotène.

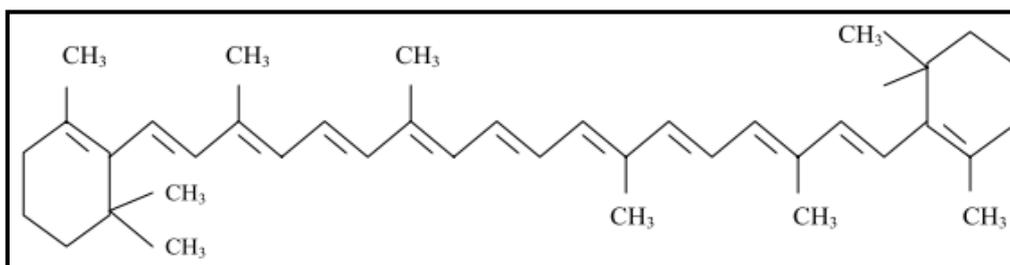


Figure 5 : Structure chimique du β -carotène (LEE *et al.*, 2004).

g) Les autres composés

L'huile d'olive contient d'autres composés tels que les phospholipides avec des teneurs allant de 60 à 165 ppm ; représentés par la phosphatdylcholine et la phosphatdyléthanolamine, les cires qui se trouvent à une teneur inférieure à 250 ppm (VIOLA, 1997).

I.2. Huile de tournesol

I.2.1. Définition et origine

L'huile de tournesol est préparée à partir de graines de tournesol. C'est l'une des cultures oléagineuses les plus importantes dans le monde (VALENT, 2001). Cette culture est d'origine d'Amérique du nord où il fut traditionnellement cultivé par les indiens, le tournesol fait son apparition en Europe vers le milieu de XVI^e siècle. Les principaux producteurs de l'huile de tournesol sont la Russie, suivie par l'Etats-Unis, l'Ukraine et l'Argentine (CTA, 2014).

I.2.2. Composition chimique de l'huile de tournesol

L'huile de tournesol est composée d'une fraction saponifiable constituée essentiellement de triglycérides et dans une faible proportion de substances diverses regroupées sous le terme d'insaponifiables (ROCHE, 2006).

I.2.2.1. Fraction saponifiable

a) Les triglycérides

L'huile de tournesol se compose essentiellement des triglycérides (98 à 99 %). Près d'un tiers des triglycérides sont représentés par la fraction LLL (trilinoléine) conjugués à une forte teneur en oléo-dilinoléine (OLL). Cette caractéristique confère à l'huile de tournesol un point de fusion relativement bas (ROCHE, 2006).

b) Les acides gras

Globalement, l'huile de tournesol se compose de 90% d'AGI (acide oléique et linoléique) et de 10% d'AG saturés (acide palmitique et stéarique) (ROCHE, 2006).

Les variétés classiques de tournesol produisent des huiles riches en acide linoléique (C18 :2 \approx 60%), faible en acide oléique (C18 :1 \approx 20%), et très faible en acide linoléique (C18 :3 \approx 0 <1 %) (LENTZ *et al.*, 2008 ; WERNER *et al.*, 2010). Le tableau III montre la composition de l'huile de tournesol en acides gras.

Tableau III : Composition de l'huile de tournesol en acides gras (ROCHE, 2006).

Acides gras	Symbole	Teneur en %
Acide myristique	C14 :0	5 - 7
Acide palmitique	C16 :0	≤ 0,4
Acide palmitoléique	C16 :1	4 - 6
Acide stéarique	C18 :0	15 - 25
Acide oléique	C18 :1	62 - 70
Acide linoléique	C18 :2	≤0,2
Acide linoléique	C18 :3	0 <1
Acide arachidique	C20 :0	<0,7

I.2.2.2. L'insaponifiable

La fraction insaponifiable ou la non triglycéride d'huile de tournesol contient une gamme de constituants qui sont importants pour le maintien de la santé. Appelé encore composés mineurs, ne sont mineurs que de point de leurs concentrations qui représentent (1 à 5%), tels que les tocophérols et les stérols qui sont les deux fractions les plus importantes. On trouve aussi les pigments, les alcools aliphatiques, les phospholipides et les triterpéniques (ROCHE, 2006 ; FERNANDES & CABRAL, 2007). Le tableau IV montre la composition de l'huile de tournesol en insaponifiable.

Tableau IV : Composition de l'insaponifiable de l'huile de tournesol en composés mineurs (FERNANDES & CABRAL, 2007)

Composés	Teneur
Stérols	325 à 515 mg/100g
Tocophérols	44 à 120 mg/100g
Hydrocarbures	15 à 20 mg/100g
Alcools aliphatiques	100 mg/100g

I.3. Huile de soja

I.3.1. Définition, origine et propriétés

L'huile de soja provient de l'extraction de la fève de soja ; légumineuse native de l'Asie orientale, classée parmi les graines oléagineuses, elle est devenue un aliment très demandé dans le monde.

L'huile de soja est fluide et d'un jaune plus ou moins foncé suivant la nature des graines et les procédés d'extraction. Fraîche, elle a une saveur assez prononcée d'haricot qui s'atténue peu à peu. Parmi les principaux pays producteurs d'huile de soja sont les États-Unis, le Brésil, l'Argentine, puis la Chine. Ces quatre pays représentent ensemble près de 90% de la production mondiale (CTA, 2014).

Elle contient un fort taux d'acides gras polyinsaturés, d'acides linoléiques et α -linoléiques qui sont indispensables à l'organisme humain (HUBERT, 2006). Par ailleurs, l'huile de soja contient des acides gras saturés, monoinsaturés, vitamine E, minéraux, isoflavones. La principale différence de l'huile de soja par rapport aux autres huiles végétales, c'est qu'elle se situe au niveau de la forme d'insaturation et de la présence d'acide linoléique (C18 :3) en quantité appréciable. Cet acide gras étant très sensible à l'oxydation, il conviendrait d'éviter au maximum le contact de l'huile avec l'oxygène de l'air (HURBERT, 2006).

Elle contient aussi de la lécithine qui a une action hypocholestérolémiante. Sa richesse en lécithine la rend précieuse pour la reconstitution des cellules nerveuses et cérébrales (COSSUT *et al.*, 2002). Elle est recommandée pour les assaisonnements, cette huile supporte une chaleur de 177 - 200° C (COSSUT *et al.*, 2002).

I.3.2. Composition chimique de l'huile de soja

I.3.2.1. Fraction saponifiable

L'huile de soja est composée d'une fraction saponifiable constituée de triglycérides et d'acides gras libres et d'une fraction insaponifiable (composants mineurs), cette dernière représente 1% de l'huile (SERVILI *et al.*, 2004).

a) Les triglycérides

Les triglycérides constituent plus de 95% des composés lipidiques de l'huile de soja, la teneur en acides gras insaturés de l'huile de soja étant très élevée, les molécules de triglycérides contiennent au moins deux acides gras insaturés et les glycérides di et tri-saturés sont pratiquement absents ou en très faible quantités. L'huile de soja est donc très sensible à l'oxydation (POUZET, 1992).

b) Les acides gras

Elle est riche en acides gras poly-insaturés environ 60% dont 8% en acide gras essentiel alpha-linolénique et environ 25% d'acide gras monoinsaturés. La principale différence entre l'huile de soja et les autres huiles végétales, se situe au niveau de la forme d'insaturation et de la présence d'acide linoléique (C18 :2) en quantité appréciable. Cet acide gras étant très sensible à l'oxydation, il conviendrait d'éviter au maximum le contact de l'huile avec l'oxygène de l'air. Le tableau V montre la composition de l'huile de soja en acides gras.

Tableau V: Composition de l'huile de soja en acides gras (HARWOODE & APARICO, 2000).

Acides gras	Symbole	Teneur en %
Acide myristique	C14 :0	0 - 0,1
Acide palmitique	C16 :0	8-13
Acide palmitoléique	C16 :1	0 - 0,2
Acide stéarique	C18 :0	2-5
Acide oléique	C18 :1	20-50
Acide linoléique	C18 :2	35-60
Acide linoléique	C18 :3	4-10
Acide arachidique	C20 :0	0,2-0,5

I.3.2.2. L'insaponifiable

La partie insaponifiable de l'huile de soja présente 1,6% dans l'huile brute et 0,6 à 0,7% dans l'huile raffinée. Elle se compose essentiellement de stérols, de tocophérols et d'isoflavones qui sont des polyphénols à propriétés antioxydantes et phytohormonales (PLATON, 2015). Le tableau VI montre la composition de l'huile de soja en insaponifiable.

Tableau VI : Composition en insaponifiables de l'huile de soja (CAROL *et al.*, 2001)

Composé	Teneur
Stérols	325 à 515 mg/100g
Tocophérols	9 à 30 mg/100g
Cholestérol (en % de stérols totaux)	< 1

I.3.2.3. Les autres composés

Les autres composés étant les phospholipides et les diacylglycérol. Les phosphatides se présentent dans l'huile sous deux formes : hydratables, en particulier la phosphatidylcholine (30%) et la phosphatidyléthanolamine (30%), et non hydratables tels que les sels de calcium et de magnésium des acides phosphatidiques et des phosphatidylinositols (40%) (DEBRUYNE, 2001).

Chapitre II

Activité antioxydante des huiles alimentaires

Chapitre II : Activité antioxydante des huiles alimentaires

Les huiles végétales représentent un produit très varié de corps gras, qui se caractérisent par leur intérêt nutritionnel, leurs usages et leurs critères biologiques, et leur composition en acides gras et en antioxydants, particulièrement en composés phénoliques qui présentent une source d'antioxydants puissants (PELLEGRINI *et al.*, 2001), en plus sa participation dans la détermination des caractéristiques organoleptiques (MARSILIO *et al.*, 2001).

II.1. Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (TRIPOLI *et al.*, 2005 ; CAROCHO & FERREIRA, 2013).

Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (HANG, 2005).

II.1.1. Mécanismes d'actions des antioxydants

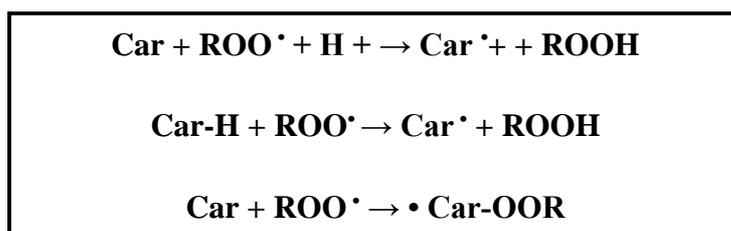
L'oxydation est l'un des processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants. Ces radicaux causent des dégradations majeures dans les macromolécules et l'acide nucléique (BUBONJA-SONJE *et al.*, 2011). Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (BENLMLIH & GANAM, 2012). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (FAVIER, 2003).

Différentes classes de composés caractérisés par une activité antioxydante ont été déterminées dans les huiles alimentaires à savoir les caroténoïdes, les tocophérols, et particulièrement les composés phénoliques (BOSKOU, 2006). Ces antioxydants naturels exercent leurs activités par de nombreuses mécanismes, prévenant ainsi l'initiation de la

formation des radicaux libres, diminuant la concentration d'oxygène contenu dans l'huiles et décomposant les peroxydes (DIAS & BOSKOU, 2008).

II.1.1.1. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments, leur activité antioxydante est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO^\bullet , HO^\bullet , $\text{O}^{2\bullet-}$, R^\bullet par simple addition électrophile et transfert d'électron figure 6. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (VALKO *et al.*, 2006).

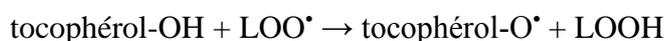


Car : β -carotène

Figure 6 : Mécanisme traduisant l'activité antioxydante des caroténoïdes, cas des ROO^\bullet
(VALKO *et al.*, 2006).

II.1.1.2. Les tocophérols

Ce sont des antioxydants alimentaires, mais surtout leur rôle physiologique chez l'homme, comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant. Ils agissent soit comme donneur d'électrons, retardant la réactions d'oxydations, ou comme accepteurs d'électrons agissant sur l'oxygène singulet, inhibant ainsi l'oxydations induite par ce dernier, prévient l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux LOO^\bullet (SEBEI *et al.*, 2007). Ainsi, la vitamine E a la capacité de capter et de stabiliser (par résonance) l'électron célibataire des radicaux libres suivant la réaction :



(LOO^\bullet : radical libre lipidique).

La vitamine E est souvent utilisée comme conservateur alimentaire (E306 à E309) pour éviter le rancissement des aliments par les radicaux libres (CHOE *et al.*, 2009).

Les tocophérols protègent les acides gras polyinsaturés, contre l'oxydation naturelle. Une molécule de tocophérol peut protéger 10^3 à 10^6 molécules d'acides gras polyinsaturés. L'activité antioxydante des tocophérols repose principalement sur l'existence du système de réduction tocophérol-tocophérylquinone. En effet, une molécule de tophérols peut réduire

deux radicaux lipidiques en formant une molécule de l' α -tocopherylquinone (SEBEI *et al.*, 2007).

II.1.1.3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques d'origine végétale prennent de plus en plus un grand intérêt vu leurs effets fonctionnels et alimentaires bénéfiques. Outre le prolongement de conservation des denrées alimentaires, ces composés éteignent les effets des radicaux libres et protégeant ainsi le corps humain contre leurs dommages (SCHROETER *et al.*, 2002; LEOPOLDINI *et al.*, 2011).

Les composés phénoliques, et en particulier les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisés par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique figure7 (SCHROETER *et al.*, 2002; LEOPOLDINI *et al.*, 2011).

De façon générale, l'activité biologique des flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituant, en particulier du nombre de groupements hydroxyles (SCHROETER *et al.*, 2002).

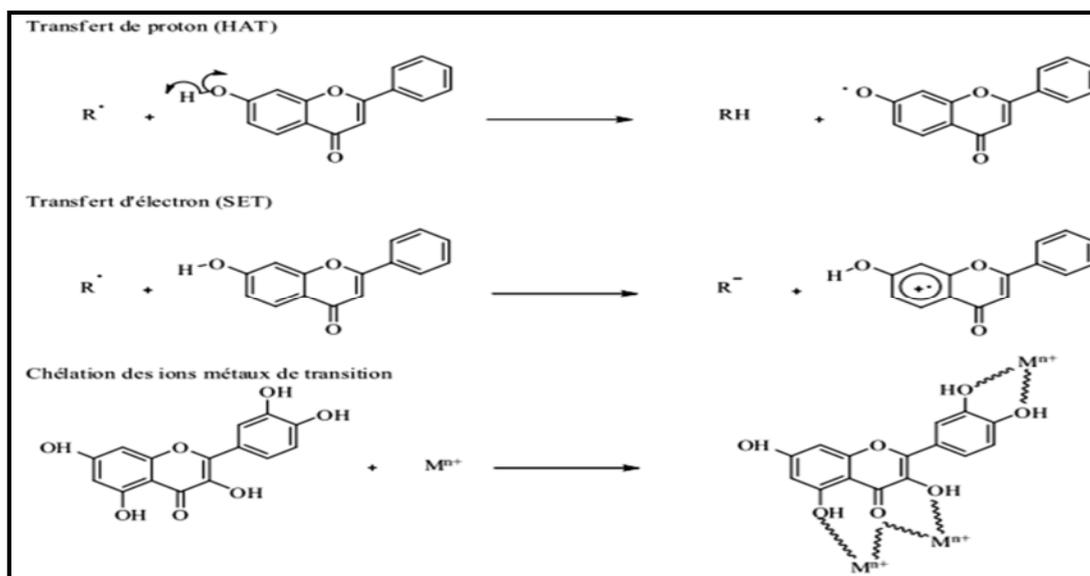


Figure 7 : Mécanisme d'action antioxydante des composés phénoliques (LEOPOLDINI *et al.*, 2011).

II.1.2. Méthodes d'évaluation de l'activité anti oxydante

II.1.2.1. Test mesurant l'inhibition de l'oxydation des lipides

Ce test implique l'incorporation d'un antioxydant à une huile, comme l'acide linoléique ou le linoléate de méthyle. Après incubation, le pouvoir antioxydant s'exprime par le taux d'inhibition de la formation des hydroperoxydes (MANIAN *et al.*, 2006).

II.1.2.2. Test de stabilité oxydative d'un corps gras

La mesure de la stabilité d'un corps gras est réalisée par des tests de vieillissement accélérés ; le matériel le plus utilisé est l'appareil de Rancimat. Il permet de déterminer le temps de résistance d'un échantillon à l'oxydation par conductimètre et correspond au TIR (Temps d'Induction au test Rancimat) (ROLLAND, 2004).

II.1.2.3. Test évaluant l'effet « scavenger » sur les radicaux libres

Les méthodes d'évaluation de potentiel antioxydant sont nombreuses et variées, en mesurant l'aptitude des antioxydants à piéger les radicaux libres : le radical stable DPPH[•], (2,2 diphényl-1-picrylhydrazil), les radicaux cationiques ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2,2-azino bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (CARRASCO-PANCORBO *et al.*, 2005 ; FRANKEL, 2010) et le DMPD^{•+} (NN-diméthyl-p-phenylene diamine) (FOGLIANO *et al.*, 1999).

II.2.2.4. Test de blanchissement au β-carotène

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de blanchissement du β-carotène repose sur la mesure d'inhibition des composés organiques volatils et des hydro-peroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (KELEN & BEKTAS, 2008).

D'autres procédés peuvent être cités, la mesure du pouvoir réducteur qui met en avant la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron. Le test de la chélation des ions Fe²⁺ quant à lui, détermine la capacité d'une molécule à fixer les ions Fe²⁺ qui jouent un rôle important lors de la production des radicaux libres notamment lors de la réaction de fenton. Le fer joue aussi un rôle dans la phase de propagation de la lipoperoxydation ainsi que la formation du radical O₂⁻ (HUANG *et al.*, 2005).

II.2. Le mélange des huiles

Chaque huile a une composition particulière. C'est pourquoi chacune d'elle a une utilisation conseillée en fonction du type de cuisine (assaisonnement, cuisson à la poêle, cuisson au four, friture) et en fonction des besoins nutritionnels de chacun.

Une amélioration est possible : celle du mélange de différentes huiles. Par exemple, l'huile Isio4, qui est un mélange de 4 huiles créé par LESIEUR en 1990 (Anonyme, 2014), permettant un apport équilibré en acides gras et autres composés.

Les mélanges d'huiles comestibles doivent être dénommés «huile comestible». La dénomination «huile végétale» est admise lorsque le mélange est constitué exclusivement d'huiles végétales.

Les mélanges des huiles comestibles peuvent aussi être désignés par l'indication des différentes matières premières utilisées, pour autant que leur teneur respective soit indiquée, par exemple «huile d'olive avec 25 % d'huile de tournesol» (COSSUT *et al.*, 2002).

Partie expérimentale

Matérielset méthodes

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal

Les huiles sélectionnées pour cette étude sont l'huile d'olive "extra vierge" commerciale produit par "Ifri", l'huile de tournesol et l'huile de soja raffinées produites par Cevital.

I.2. Préparation des échantillons d'huiles

Nous avons préparé sept mélanges tableaux VII dans différentes fractions (volume). Les trois échantillons témoins sont : 100% huile d'olive, 100% huile de tournesol, 100% huile de soja. Les mélanges d'huile ont été agités aux vortex, ensuite conservées dans des flacons en verre fumés étiquetés de 200 ml, puis mis au réfrigérateur à une température de 4°C, en attendant d'être analysés.

Tableau VII : Préparation des mélanges d'huiles.

Echantillons	Huile d'olive HO (V/V)	Huile de soja HS (V/V)	Huile de tournesol HT (V/V)
ECH: I	100%	/	/
ECH : II	/	100%	/
ECH :III	/	/	100%
ECH :IV	1/2	1/2	/
ECH :V	1/3	2/3	/
ECH :VI	2/3	1/3	/
ECH :VII	1/2	/	1/2
ECH :VIII	1/3	/	2/3
ECH :IX	2/3	/	1/3
ECH :X	1/3	1/3	1/3

HO : Huile d'olive

HS: Huile de soja

HT : Huile de tournesol

ECH : Echantillon.



I.3. Analyses

I.3.1. Dosage des composés phénoliques

I.3.1.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

La méthode utilisée pour déterminer la composition en composés phénoliques totaux est basée sur l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu.

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue est proportionnelle au taux de composés phénoliques (WEN REHABA, 2001).

➤ Extraction

Un gramme d'huile est dissout dans 10ml d'hexane, cette solution est introduit dans de la colonne d'octadecyl C_{18} qui retient les composés phénoliques, préalablement activer avec 6ml de méthanol et 10 ml d'hexane, puis ont procédé au lavage de la colonne avec 10ml d'hexane. Les polyphénols sont éluées avec 2×4 ml de méthanol (FAVATI *et al.*, 1994).

➤ Dosage

Le dosage des polyphénols totaux des échantillons d'huiles sont déterminés selon la méthode décrite par (FAVATI *et al.*, 1994).

Dans des fioles ; de 20ml, sont mélangés 2ml d'extrait phénolique, 5ml d'eau distillée et 0,5ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3min, 4ml de solution de carbonate de sodium (10%) sont ajoutés, ensuite ajuster à 20ml avec de l'eau distillé. Après 90 min d'incubation à l'obscurité, le mélange est filtré et l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 765nm.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux sont calculés en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (annexe I). Ils sont exprimés en milligramme d'acide gallique par Kg d'huile.

I.3.1.2. Dosage des *ortho*-diphénols

La méthode est basée sur la formation de complexes entre les *ortho*-diphénols et les ions molybdates, les *ortho*-diphénols réagissent avec le molybdate pour former un complexe jaune, qui absorbe au voisinage de 370 nm (OLLIVIER *et al.*, 2004).

La concentration en *ortho*-diphénols des extraits méthanoliques de nos échantillons d'huile est déterminée suivant la méthode de BENDINI *et al.* (2003). Un volume de 0,5ml d'extrait méthanolique est dissout dans 5ml de la solution méthanol-eau (1:1, V/V). A 4ml de mélange, on ajoute 1ml de la solution de molybdate de sodium dihydraté à 5%, préparé dans l'éthanol- eau (1:1, V/V), le mélange est agité vigoureusement au vortex pendant 1min, puis mis à l'obscurité pendant 15min et enfin filtré. L'absorbance est mesurée à 370 nm contre un témoin préparé dans les mêmes conditions.

Les résultats de dosage des *ortho*-diphénols sont calculés en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide caféique comme standard (annexe I). Ils sont exprimés en milligramme équivalent d'acide caféique par Kg d'huile.

I.3.1.3. Dosage des flavonoïdes

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

Le dosage des flavonoïdes est réalisé suivant la méthode de BRAZ (2012). Un volume de 2ml de l'extrait est mélangé à 1ml de la solution de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 2%.

Après incubation à l'obscurité pendant 15min et à température ambiante, l'absorbance est mesuré à 430 nm.

La quantité de flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine contenant dans un Kg d'huile, on se référant à une courbe d'étalonnage réalisé avec la quercétine (annexe I).

I.3.2. Dosage des caroténoïdes

La détermination de la teneur en caroténoïdes a été effectuée conformément à la méthode décrite par (SALVADOR *et al.*, 2001).

Dans des fioles de 10 ml, 3g d'huile sont dissouts dans le cyclohexane après ajustement au trait de jauge avec ce dernier, l'absorbance est mesurée à 470 nm.

Les teneurs en caroténoïdes, sont donnés par la formule suivante :

$$\text{Caroténoïdes (mg/kg)} = \frac{A_{470} \times 10^6}{2000 \times 100 \times I}$$

Où :

A : Absorbance à la longueur d'onde indiquée;

I : Epaisseur de la cuve.

La valeur de coefficient d'extinction appliquée est $E_0 2000$ pour la lutéine, élément majeur des caroténoïdes.

I.3.3. Indice d'amertume

➤ Principe

L'indice d'amertume (K_{225}) est évalué par extraction des composés amers de l'huile d'olive, suivant la méthode, décrite par (MORELLO *et al.*, 2004).

Un échantillon d'un gramme d'huile filtrée est dissout dans 4ml d'hexane puis passé à travers une colonne d'octadecyl C_{18} préalablement activée (6ml de méthanol et 10ml d'hexane), la colonne est éluée avec 10ml d'hexane pour éliminer toutes traces de gras. L'éluion des composés amers a été réalisée par 25 ml d'un mélange méthanol/eau (1/1 : v/v).

L'absorbance est mesurée à 225nm. Les résultats sont exprimées en termes d'absorbance.

I.3.4. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH

La méthode est basée sur la capacité des d'huiles à réduire le radical DPPH qui est de couleur violette en solution vers une couleur jaunâtre (après réduction), lorsque son électron célibataire est apparié avec un hydrogène provenant d'un antioxydant (BOSKOU *et al.*, 2006). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la concentration d'antioxydants et au temps de la réaction (KROYER, 2003 ; ES SAFI *et al.*, 2007).

L'évaluation de l'activité antioxydante des d'huile est estimée selon la méthode décrite par RAMADAN & MORSEL (2006). Un volume de 3,9 ml de la solution DPPH qui à été préparée dans le toluène (10^{-4} M) est additionné de 0,1ml de solution d'huile diluée dans le toluène à différentes concentrations (0,02-0,4g/ml). Le mélange est agité pendant 10 second au vortex, ensuite mis à l'obscurité pendant 60min. L'absorbance est mesurée à 515nm.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radicale DPPH selon la formule suivante :

$$\text{Le (\%)} \text{ DPPH} = (\text{Ac} - \text{Ae} / \text{Ac}) \cdot 100$$

Ac : Absorbance du contrôle ;

Ae : Absorbance de l'échantillon.

Le graphique de la variation de l'absorbance en fonction de la concentration à permis de déterminer les EC₅₀ (concentration correspondant à 50% d'inhibition).

I.3.5. La stabilité oxydative de l'huile

La stabilité oxydative de l'huile (test d'oxydabilité) est estimée par la méthode de Rancimat décrite dans la norme (ISO 6886, 1996).

Ce test est très utilisé dans les cahiers de charges pour évaluer la stabilité oxydative des matières grasses. La spécification de Temps d'Induction au test Rancimat (TIR), exprimé en heures correspond au temps pendant lequel la matière grasse résiste à un stress oxydatif. Le principe du test consiste à vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique, sous un bullage intensif d'air.

La stabilité de notre huile est déterminée à l'aide d'un appareil Rancimat Metrohm 743. Un flux d'air fixé à 10 l/h traverse les 10 échantillons d'huile de 3 g chauffé à 98°C.

Les acides organiques, produits de dégradation de cette oxydation poussée, sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une cellule de mesure remplie d'eau distillée dans laquelle est immergée une électrode de la mesure de la conductivité électrique. L'électrode est connectée à un dispositif de mesure et d'enregistrement. La fin de période d'induction est indiquée lorsque la conductivité se met à augmenter rapidement.

Les résultats sont exprimés sous forme de courbes (annexe II) par le temps d'induction à l'oxydation en heure et correspond au temps pendant lequel l'huile résiste à un stress oxydatif.

I.3.6. Analyse statistique

Pour pouvoir traiter les résultats obtenus, une étude statistique a été réalisée en appliquant une analyse de la variance (ANOVA), suivie du test LSD en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5. Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité ($P < 0,05$).

Résultats et discussion

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Les antioxydants

II.1.1. Dosage des composés phénoliques

II.1.1.1. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols de l'huile est une analyse d'extrême importance, ils peuvent jouer un rôle en tant qu'antioxydants et avoir une influence sur la saveur de l'huile (ÇAVUSOGLU & OCTAR, 1994).

Les résultats de la quantification des composés phénoliques totaux exprimés en mg E.A.G/Kg des échantillons d'huiles sont illustrés dans la figure 8. Des différences significatives ($p < 0,05$) sont enregistrées entre les échantillons d'huiles, mais aucune différence significative n'est observée entre les échantillons (II et III) et entre les échantillons (V et X).

D'après les résultats obtenus, la valeur la plus élevée en polyphénols totaux a été observée pour l'extrait méthanolique de l'huile d'olive ($139,09 \pm 1,90$ mg E.A.G /Kg). Cette teneur en polyphénols totaux est inférieure à celle notée par le C.O.I. (2009). En effet, l'huile d'olive extra vierge doit contenir 153 à 694 mg/Kg.

La teneur en polyphénols totaux est inférieure à celles trouvées par MEFTAH *et al.* (2014) sur les huiles de variétés marocaines (179,9 à 281,35 mg E.A.G/Kg) et proche de celles trouvées par OWEN *et al.* (2004) (62 à 232 mg E.A.G/Kg).

La teneur en polyphénols totaux du fruit d'olive est influencée par plusieurs facteurs (DUGO *et al.*, 2004). Le sol, les conditions climatiques, l'altitude, la variété affectent principalement la composition en phénols de l'huile d'olive (CHIMI, 2006), ainsi que le système d'extraction et les conditions de stockage avant et après trituration (EL-ANTARI *et al.*, 2003). La plupart des phénols sont des composés polaires, l'addition de l'eau à la pâte réduit donc la qualité de l'huile produite.

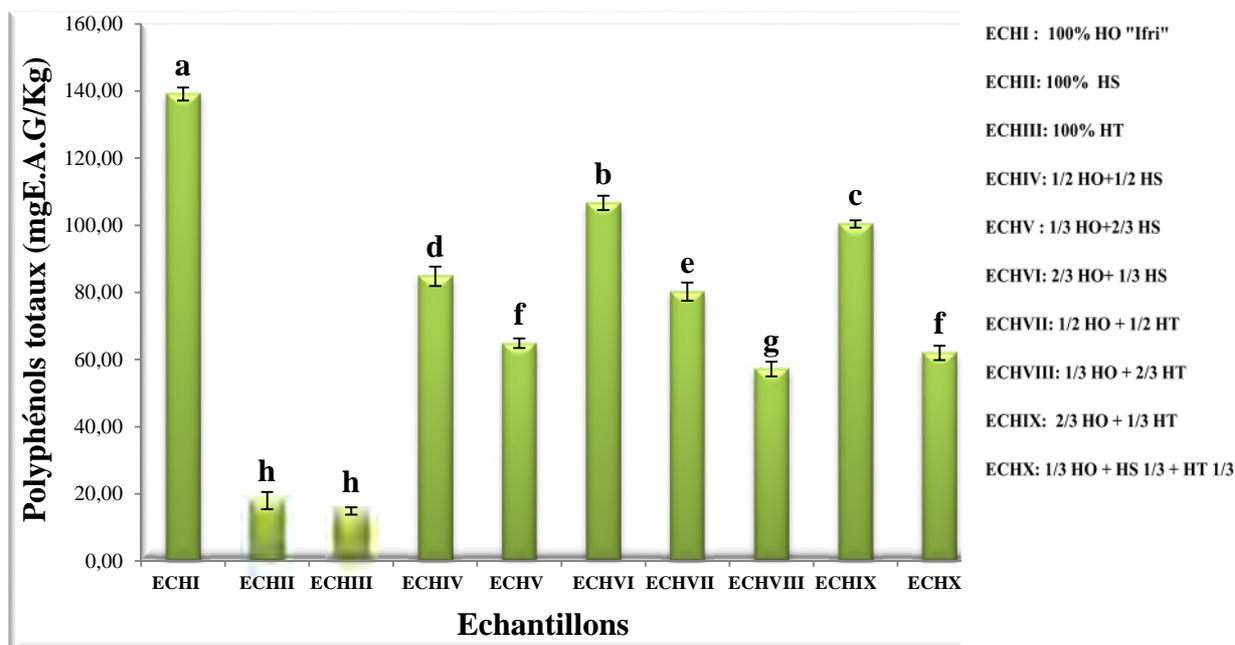


Figure 8 : Teneur en polyphénols totaux des échantillons d'huiles étudiées.

*Les valeurs qui portent les différentes lettres présentent une différence significative ($p < 0,05$).

*Les barres verticales représentent les écarts-types.

Les valeurs minimales en polyphénols totaux sont notées pour l'huile de tournesol ($14,90 \pm 1,10$ mg E.A.G /Kg) et huile de soja ($18,02 \pm 2,59$ mg E.A.G /Kg). Cela est lié à leur faible teneur en composés phénoliques. En effet, selon PAPADOPOULOS & BOSKOU. (1991), le raffinage d'une huile est à l'origine de l'élimination de toute trace de composés polaires tels que les composés phénoliques. Ainsi, le taux infime obtenue en polyphénols de l'huile de tournesol peut être expliqué par l'existence d'autres composés qui absorbent à la même longueur d'onde que les composés phénoliques (CHIMI *et al.*, 2001).

Les coupages réalisés entre d'huile de soja et l'huile d'olive présentent des en polyphénols teneurs qui varient entre $64,86 \pm 1,441$ mg E.A.G /Kg pour l'échantillon IV (1/3HO +2/3 HS) et de $106,67 \pm 2,162$ mg E.A.G /Kg pour l'échantillon VI (2/3HO +1/3 HS).

Concernant les coupages réalisés entre d'huile de tournesol et l'huile d'olive, les teneurs oscillent entre $57,18 \pm 2,20$ mg E.A.G /Kg pour l'échantillon VII (1/3HO +2/3 HS) et $100,42 \pm 1,10$ mg E.A.G /Kg pour l'échantillon IX (2/3HO +1/3 HS). La valeur minimale pour les mélanges d'huile est enregistrée pour l'échantillon X (1/3 HO +1/3 HS + 1/3 HT) avec une teneur de $61,98 \pm 2,162$ mg E.A.G /Kg.

On constate que l'augmentation de la teneur en polyphénols pour tous les mélanges est directement lié à leur enrichissement par l'huile d'olive extra vierge qui contient une quantité appréciable en polyphénols totaux. Donc, le meilleur mélange obtenu et qui présente une teneur élevée en polyphénols correspond aux échantillons (IV et VI) avec une fraction de deux tiers d'huile d'olive et un tiers d'huile de soja et d'huile de tournesol respectivement.

II.1.1.2. Dosage des *ortho*-diphénols

Les *ortho*-diphénols (présents dans l'huile d'olive (l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine) sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation. Ils lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant (OLLIVIER *et al.*, 2004 ; BEN TEMIME *et al.*, 2006).

Les résultats de dosage des *ortho*-diphénols des huiles, exprimés en mg E.A.C/Kg, sont illustrés dans la figure 9. Des différences significatives ($p < 0,05$) sont enregistrés entre les différents échantillons d'huiles.

Des corrélations sont établies entre les teneurs en *ortho*-diphénols et les teneurs en polyphénols totaux, avec un coefficient de corrélation significative qui correspond à $r = 0,87$.

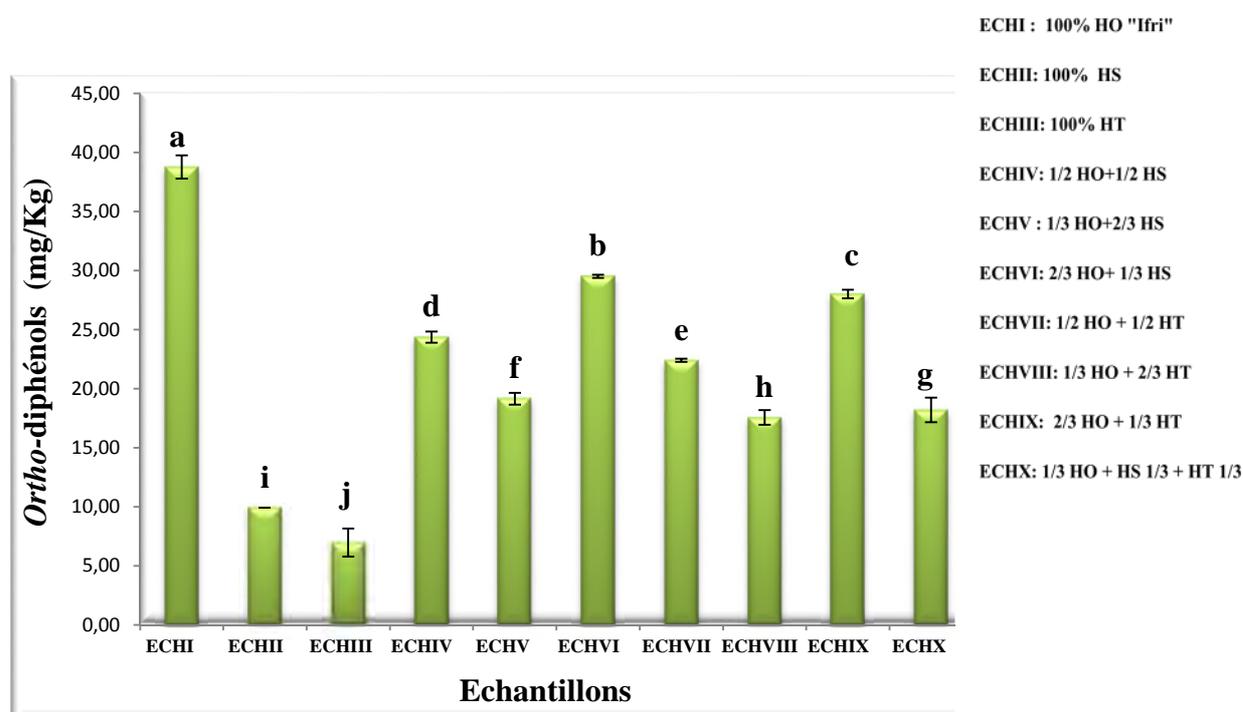


Figure 9: Teneur en *ortho*-diphénols des échantillons d'huiles étudiées.

*Les valeurs qui portent les différentes lettres présentent une différence significative ($p < 0,05$).

*Les barres verticales représentent les écarts-types.

Le taux en *ortho*-diphénols le plus élevé est enregistré pour l'extrait méthanolique de l'huile d'olive ($38,77 \pm 0,99$ mg E.A.C/Kg), suivie par l'huile de soja ($9,89 \pm 0,00$ mg E.A.C/kg) et l'extrait méthanolique de l'huile de tournesol ($6,96 \pm 1,19$ mg E.A.C/Kg).

La teneur en *ortho*-diphénols de l'huile d'olive est supérieure à celles enregistrées pour les variétés espagnoles (3,99 à 18,92 mg E.A.C/Kg) analysées par GUTIERREZ *et al.* (2002), mais inférieure à celles enregistrées par MEFTAH *et al.* (2014) pour les huiles de variétés marocaines (179 à 217,35 mg E.A.C /Kg).

La faible teneur en *ortho*-diphénols dans l'huile de tournesol et l'huile de soja est significativement affectée par le procédé de raffinage (PAPADOPOULOS & BOSKOU, 1991), le taux infime obtenue en *ortho*-diphénols de l'huile de tournesol peut être expliqué par l'existence d'autres composés qui absorbent à la même longueur d'onde.

Le taux en *ortho*-diphénols des huiles de coupages analysées varie selon la fraction d'huile d'olive rapportée, pour les l'huiles de coupage d'huile d'olive et d'huile de soja, la teneur en *ortho*-diphénols varie entre $19,15 \pm 0,49$ mg E.A.C/kg pour l'échantillon IV jusqu'à $29,52 \pm 0,14$ mg E.A.C/kg pour l'échantillons VI. Concernant les mélanges réalisés d'huile d'olive et d'huile de tournesol, les teneurs oscillent entre $17,57 \pm 0,63$ mg E.A.C/kg pour l'échantillons VII (1/3HO +2/3 HT) jusqu'à $28,01 \pm 0,36$ mg E.A.C/kg pour l'échantillon IX (2/3HO +1/3 HT).

L'échantillon (X) qui correspond aux mélange des trois huiles avec une faction d'un tiers pour chaque présente une teneur de $18,20 \pm 1,03$ mg E.A.C/kg.

Le mélange d'huile qui présente une teneur appréciable en *ortho*-diphénols est obtenue pour les échantillons (VI) et (IX).

II.1.1.3. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des différents échantillons d'huile analysés sont indiqués dans la figure 11. L'analyse statistique a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les échantillons d'huiles étudiées, mais aucune différence significative n'est observée entre les échantillons (VIII et X) et entre les échantillons (VI et IX).

Des corrélations significatives sont établies entre les résultats de la teneur en flavonoïdes des échantillons d'huiles analysés et ceux des composés phénoliques, des *ortho*-diphénols et l'indice d'amertume respectivement ($r=0,82$), ($r=0,66$) et ($r=0,66$).

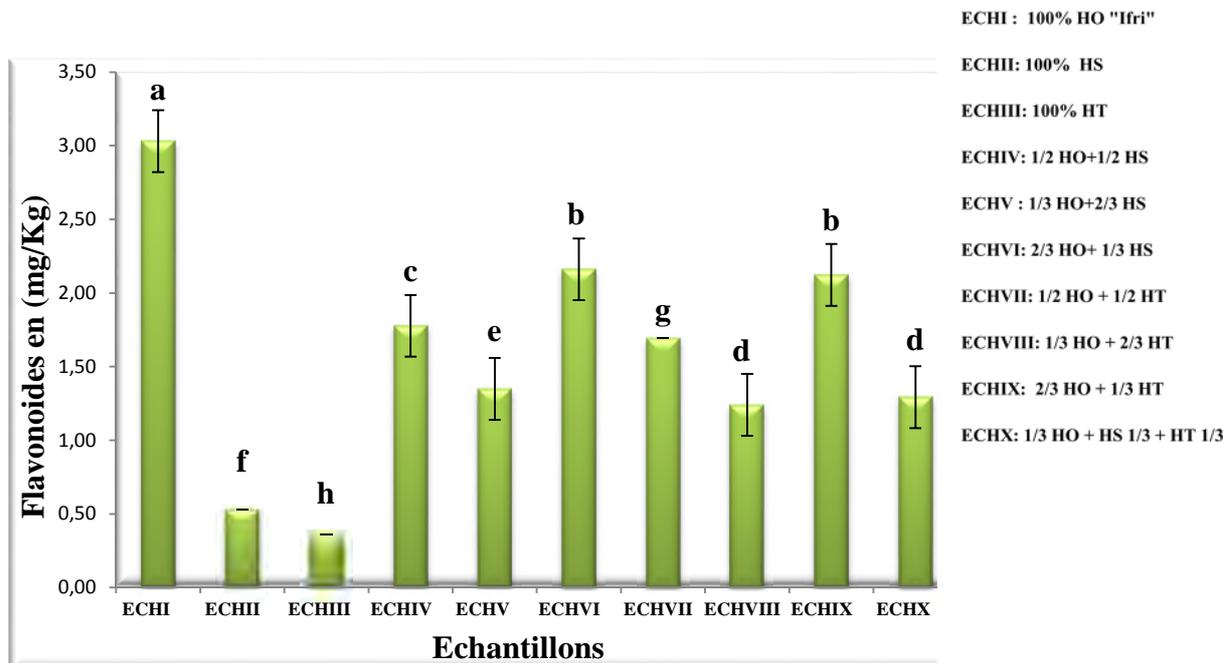


Figure 10 : Teneur en flavonoïdes des échantillons d'huiles étudiées.

*Les valeurs qui portent les différentes lettres présentent une différence significative ($p < 0,05$).

*Les barres verticales représentent les écarts-types.

D'après les résultats obtenus, les échantillons d'huile étudiés présentent des teneurs faibles en flavonoïdes (0,36 mg/Kg) et (0,53 mg/Kg), pour l'huile de tournesol et l'huile de soja respectivement, suivie de huile d'olive "Ifri" ($3,03 \pm 0,21$ mg/Kg) qui présente une teneur un peu plus supérieure à celle rapportée par OLLIVER *et al.* (2006) (0,6 à 2,6 ppm) pour trois variétés italiennes et huit variétés espagnoles.

La teneur en flavonoïdes des échantillons d'huile issus de coupage d'huile "Ifri"/soja est de $1,35 \pm 0,21$ mg/Kg (1/3 HO + 2/3HS) pour l'échantillon V, suivie de l'échantillon VI avec une teneur de $0,21 \pm 0,01$ mg/Kg (1/2 HO+1/2 HS) et $2,16 \pm 0,21$ mg/Kg pour l'échantillon VI (2/3 HO+1/3 HS) qui marque la quantité la plus élevés en flavonoïdes pour ce mélange.

Le taux en flavonoïdes des échantillons d'huile obtenus de mélange réalisé entre l'huile d'olive "Ifri"/tournesol oscille entre $1,24 \pm 0,21$ mg/Kg pour l'échantillon VIII à $2,12 \pm 0,21$ mg/Kg pour l'échantillon IX.

Le mélange entre "Ifri"/soja/tournesol enregistre également une teneur appréciable en flavonoïdes ($1,29 \pm 0,21 \text{ mg/Kg}$).

Les échantillons qui présentent le mélange d'huile le plus intéressant correspondent à 2/3 d'huile d'olive et 1/3 huile de soja, 2/3 d'huile d'olive et 1/3 d'huile de tournesol.

II.1.2. Dosage des caroténoïdes

Les pigments sont des paramètres de qualité de l'huile, ils sont corrélés avec la couleur et la stabilité oxydative de l'huile d'olive (SALVADOR *et al.*, 2003).

Les teneurs en caroténoïdes des échantillons d'huiles analysées sont indiquées dans la figure 12. Des différences significatives ($p < 0,05$) sont enregistrées, sauf entre les échantillons (V, VIII et X), et entre les échantillons (VI et IX) et entre les échantillons (IV et VII).

A la lumière des résultats obtenu, la teneur en caroténoïdes de l'huile d'olive se caractérise par une moyenne de $1,86 \pm 0,078 \text{ mg/Kg}$. Selon BERLENIH & GHANAM. (2012), l'huile d'olive extra vierge doit contenir une teneur comprise entre 0,33 ppm à 4,0 ppm.

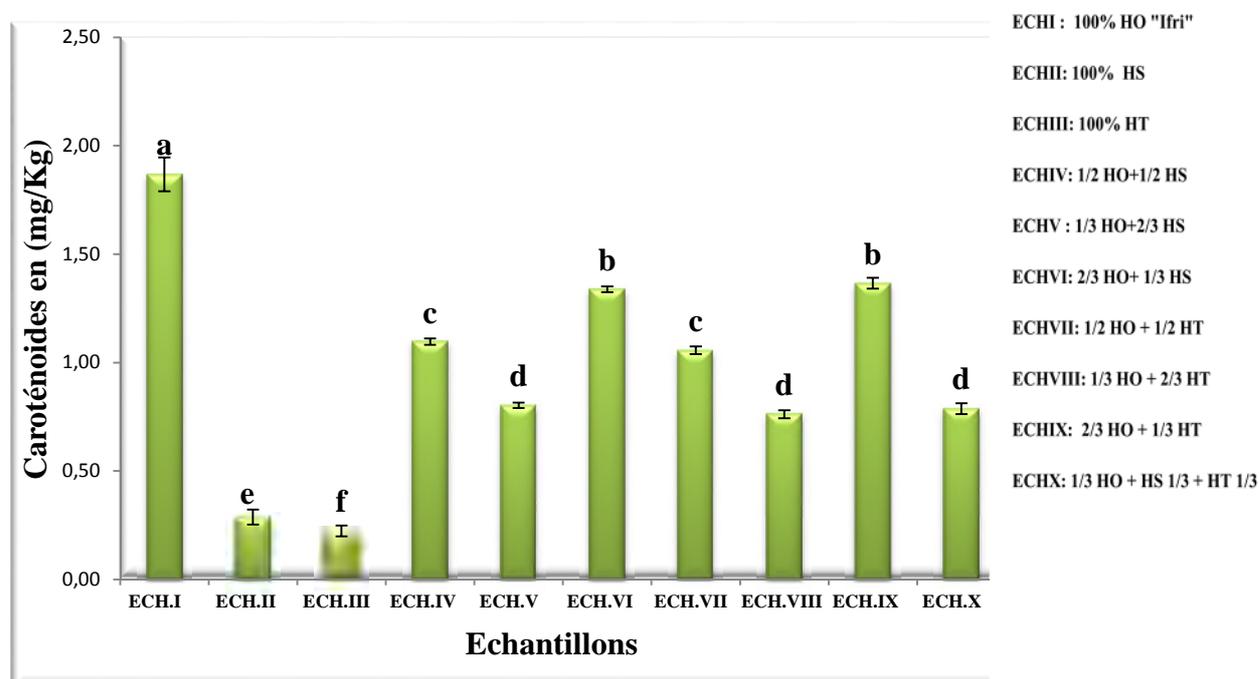


Figure 11 : Teneur en caroténoïdes des échantillons d'huiles étudiées.

*Les valeurs qui portent les différentes lettres présentent une différence significative ($p < 0,05$).

*Les barres verticales représentent les écarts-types.

La teneur en caroténoïdes de l'huile "Ifri" est proche des teneurs en caroténoïdes trouvées par BACCOURI *et al.* (2008) (1,23 à 4,56 mg/kg) pour les huiles d'olives tunisiennes. Cependant, elle est très faible par rapport à celles obtenues par CERRETANI *et al.* (2008) pour les huiles italiennes (de 2,93 à 14,6 mg/kg).

On remarque la présence d'une petite quantité de caroténoïdes dans l'échantillon de l'huile de soja ($0,28 \pm 0,03$ mg/kg), et l'huile de tournesol ($0,22 \pm 0,02$ mg/kg), cette faible teneur pourrait être due aux processus de raffinage effectué. En effet, les principaux facteurs affectant cette perte sont la température, la durée de chauffage, la pression et le flux d'air (QUILES *et al.*, 2002).

Le coupage entre l'huile Ifri et l'huile de soja présente une teneur de $0,80 \pm 0,01$ mg/Kg obtenu pour l'échantillons IV (1/3 HO + 2/3HS), suivie de l'échantillon V (1/2 HO+1/2 HS) avec une teneur de ($1,09 \pm 0,01$ mg/Kg), et la plus grande teneur ($1,33 \pm 0,01$ mg/Kg) est enregistrée pour l'échantillon VI (2/3 HO+1/3 HS). On constat que l'huile d'olive améliore significativement la teneur en caroténoïdes des mélanges.

Les résultats enregistrés pour les mélanges d'huiles Ifri et l'huile de tournesol présentent une augmentation progressive de $0,76 \pm 0,018$ mg/Kg pour l'échantillon VIII, suivie de l'échantillon VII ($1,05 \pm 0,018$ mg/kg) et avec $1,36 \pm 0,02$ mg/Kg pour l'échantillon IX.

Le mélange des trois huile Ifri/soja/tournesol présente une valeur de $0,78 \pm 0,025$ mg/Kg. D'après tous ces résultats, les mélanges présentant les plus grande teneurs sont les échantillons VI et IX.

II.1.3. Indice d'amertume

L'indice d'amertume est considéré comme un paramètre chimique corrélé avec l'évaluation sensorielle (OLLIVIER *et al.*, 2004).

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les échantillons d'huiles étudiées. Les résultats de l'indice d'amertume des extraits sont illustrés dans la figure 10.

Des corrélations significatives sont établies entre les teneurs en composées phénoliques et en *ortho*-diphénols des échantillons d'huiles et ceux de l'indice d'amertume, et qui sont respectivement de $r=0,87$ et $r=98$.

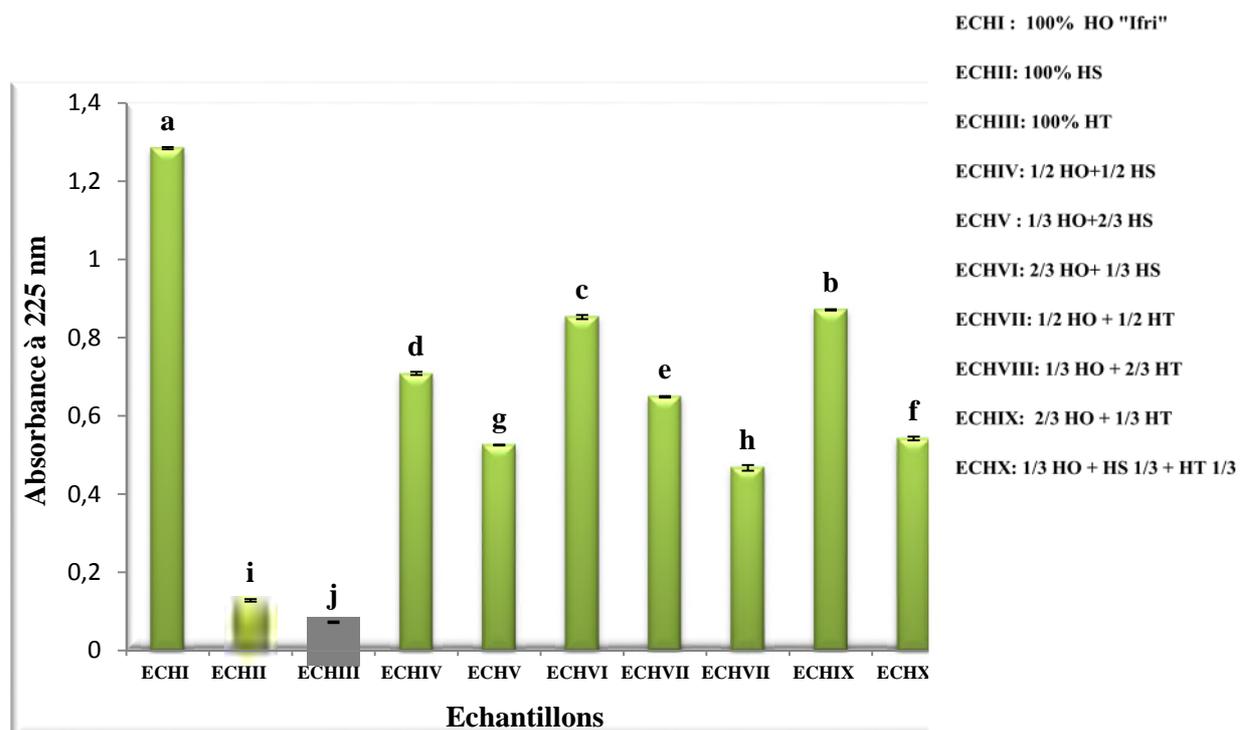


Figure 12 : Indice d'amertume des échantillons d'huiles étudiées.

*Les valeurs qui portent les différentes lettres présentent une différence significative ($p < 0,05$).

*Les barres verticales représentent les écarts-types.

Les résultats que nous avons obtenus pour l'huile d'olive correspondent à $1,28 \pm 0,003$, à $0,13 \pm 0,003$ pour l'huile de soja. Un très faible indice d'amertume est obtenu pour l'huile de tournesol ($0,07 \pm 0,002$). La valeur de l'indice d'amertume résultat de l'huile d'olive est en accord avec ceux obtenus par de MORELLO *et al.* (2004); BELTRAN *et al.* (2007).

Selon IDRISSE *et al.* (2004), les acides phénoliques, l'oleuropéine glycoside et ses aglycones sont responsables du goût amer de l'huile d'olive.

D'après les travaux menés par GARCIA *et al.* (1996), des similitudes ont été relevées entre l'indice d'amertume et la stabilité de l'huile à l'oxydation. Ces deux paramètres sont en fonction de la teneur en polyphénols.

Les valeurs enregistrées après le coupage de l'huile d'olive et l'huile de soja a révélé que l'indice d'amertume varie entre $0,53 \pm 0,001$ pour l'échantillon IV et $0,87 \pm 0,002$ pour l'échantillon VI. Ces huiles issues de coupage présentent une augmentation significative, ceci est due aux composés amers de l'huile d'olive ($1,28 \pm 0,003$).

Les résultats obtenus de coupage d'huile d'olive et l'huile de tournesol varie entre $0,47 \pm 0,007$ pour l'échantillon VII (1/3HO +2/3 HS) jusqu'à $0,85 \pm 0,005$ pour l'échantillon IX (2/3HO +1/3 HS). L'indice obtenu pour l'échantillon X (1/3 HO+1/3 S+1/3T) est de $0,54 \pm 0,005$.

II.1.4. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH

L'activité antiradicalaire des échantillons d'huile analysés est indiquée dans la figure13. Des différences significatives ($p < 0,05$) sont enregistrées entre quelques échantillons.

L'analyse statistique n'a révélée aucune différence significative entre les échantillons (IV et IX) et entre les échantillons (V et VII) et entre les échantillons (II et VIII). Tous les échantillons d'huile étudiés ont des aptitudes à piéger le radical DPPH, exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, et présentent des activités comprises entre 50,33 et 80,07%.

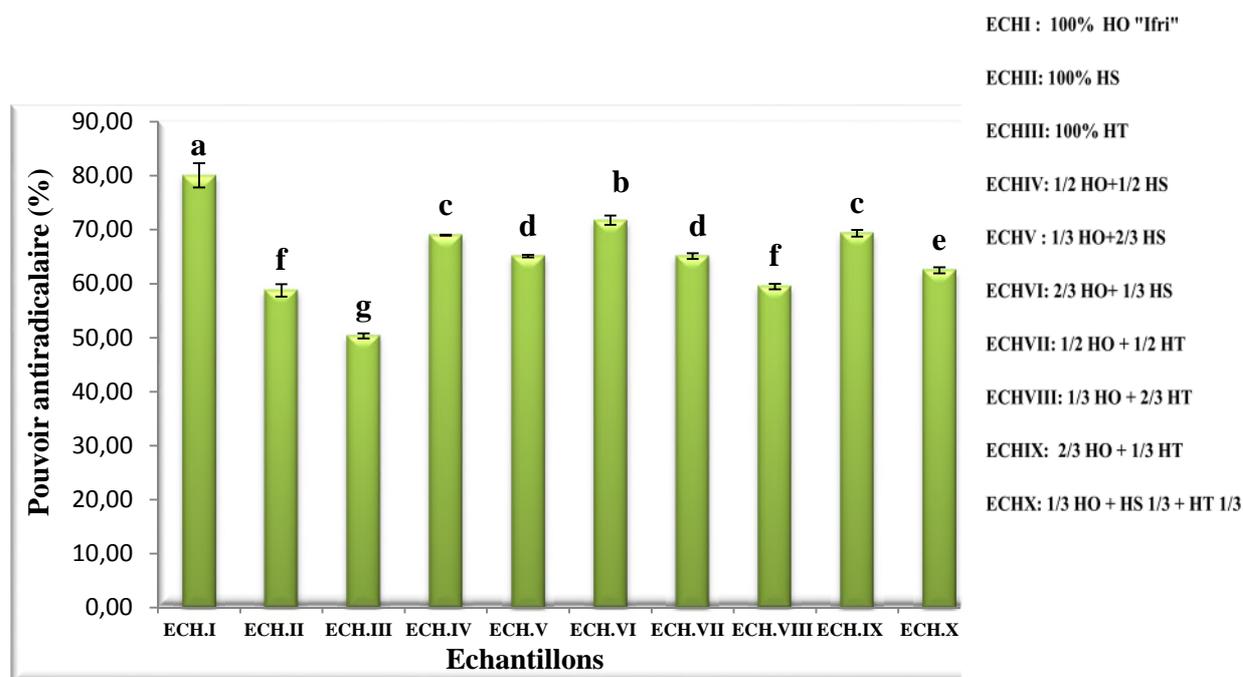


Figure 13 : Activité antiradicalaire sur le DPPH des échantillons d'huiles étudiées à une concentration de 0,4g d'huile /ml toluène.

*Les valeurs qui portent les différentes lettres présentent une différence significative ($p < 0,05$).

*Les barres verticales représentent les écarts-types.

L'huile d'olive "Ifri" exerce la meilleure activité antiradicalaire (80,07%) par rapport à l'huile de soja et l'huile de tournesol qui sont moins performantes, avec des pourcentage d'inhibition de 58,77% et 50,33% respectivement.

Concernant le coupage d'huile d'olive "Ifri" et l'huile de soja, le pouvoir antiradicalaire des échantillons varient entre 65,106% pour l'échantillon V et 68,99% pour l'échantillon IV et un pourcentage d'inhibition élevé 71,77% est enregistré pour l'échantillon VI.

Le mélange d'huile d'olive "Ifri" et l'huile de soja montre des pourcentages d'inhibition appréciables : 69,34% pour l'échantillon IX, 65,11% pour l'échantillon VII et 59,49% pour l'échantillon VIII. Le pouvoir antiradicalaire de l'échantillon X (1/3HO+1/3HS+1/3HT) est de 62,46%.

Les forts pourcentages d'inhibition de radical DPPH enregistrés pour les mélanges réalisés sont obtenus pour l'échantillon VI (2/3 HO+1/3 HS) qui est de 71,77% et l'échantillon IX (2/3 HO+1/3 HT) qui représente une inhibition de 69,34%.

Des corrélations sont établies entre l'activité antiradicalaire des échantillons d'huiles étudiées et les teneurs en polyphénols totaux ($r=0,44$), les teneurs en caroténoïdes ($r=0,44$), et les teneurs en flavonoïdes ($r=0,48$) et l'indice d'amertume ($r=0,37$).

Ces résultats sont proches de ceux établis par TURK *et al.* (2002) qui ont abouti à des corrélations significatives entre l'activité scavenger du radical DPPH et les teneurs en composés phénoliques totaux pour la variété turque Memecik.

Les concentrations efficaces pour inhiber 50% du radical DPPH (EC_{50}) des huiles analysés (tableaux VIII) montrent des différences significatives entre les échantillons, excepté les échantillons : III et IX ; II et VIII ; I et X ; IV et entre V et VII.

Les EC_{50} enregistrées sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important.

Tableaux VIII : Les valeurs moyennes des concentrations efficaces EC_{50} des différentes échantillons d'huiles étudiées.

Echantillons	EC_{50} (mg/ml)
ECH : I	36,20±1,06 e
ECH : II	45,73±1,53 b
ECH : III	49,33 ±1,10a
ECH : IV	40,89 ±0,46 c
ECH : V	42,11±0,27c
ECH : VI	39,10±0,58 d
ECH : VII	42,17±0,29c
ECH : VIII	44,64±0,73b
ECH : IX	40,1±1,52a
ECH : X	43,31±0,95e

Les résultats obtenus confirment la performance de l'huile d'olive, qui exerce la meilleure activité antiradicalaire où seulement une concentration de 36,20mg/ml est nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH. On a enregistré une EC_{50} de 45,73mg/ml de pour l'huile de soja et une EC_{50} de 49,33mg/ml pour l'huile de tournesol.

TURK *et al.* (2002) ont rapporté que les principaux composés phénoliques responsables de l'effet antioxydant de l'huile d'olive sont les dérivés d'oleuropéine ayant une structure *ortho*-diphénolique, essentiellement l'hydroxytyrosol.

Les échantillons issus de mélange de l'huile d'olive "Ifri" et l'huile de soja montrent une aptitude à neutraliser le radical DPPH avec une EC_{50} de 39,10 mg/ml pour l'échantillon VI, suivie de l'échantillon IV avec une EC_{50} de 40,89 mg/ml, et en fin l'échantillon V (42,11mg/ml).

Les EC_{50} obtenues pour les mélanges d'huile "Ifri" et l'huile de tournesol sont de 44,64mg/ml pour l'échantillon VIII (1/3 HO + 2/3 HT), suivie de l'échantillon VII avec une EC_{50} de 42,17mg/ml et de 40,1mg/ml pour l'échantillon IX (2/3 HO + 1/3 HT). Le coupage d'huile d'olive Ifri/soja/tournesol (échantillon X) montre également une EC_{50} de 43,31mg/ml.

Le meilleur mélange qui présente une grande capacité à piéger le radical DPPH est noté pour l'échantillon VI avec un pourcentage antiradicalaire de 71,77% , qui présente l'EC₅₀ la plus élevée (39,10mg/ml) et l'échantillon IX avec un pourcentage d'inhibition de 69,34% et une EC₅₀ de 40,1mg/ml.

Selon RAMADAN & MORSEL. (2006) et TUBEROSO *et al.* (2007), la différence dans l'activité antiradicalaire des huiles étudiées pourrait être interprétée par la différence de composition et du contenu en antioxydant, par la diversité structurale des composés présents dans l'huile ainsi que par la différence dans la cinétique du potentiel antioxydant. 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'interactions entre les antioxydants (PELLEGRINI & BATTINO, 2006)

II.1.5. La stabilité oxydative de l'huile

La stabilité oxydative est un paramètre important pour évaluer la qualité des corps gras, car elle donne une bonne évaluation de leur susceptibilité à la dégradation oxydative (APARICIO *et al.*, 1999).

Les graphes présentant les résultats du test Rancimat sont représentés dans l'annexe III. Les temps d'induction sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau IX : Les temps d'induction du test Rancimat.

Echantillons	Temps d'induction (heures)
ECH :I	39,51
ECH : II	11,36
ECH :III	9,06
ECH :IV	32,09
ECH :V	26,95
ECH :VI	12,33
ECH :VII	28,50
ECH :VIII	33,15
ECH :IX	36,00
ECH :X	15,99

A la lumière des résultats obtenus, le temps d'induction d'huile d'olive, de soja et de tournesol sont respectivement équivalents à 39,51 h, 11,36 h, 9,06 h. De là, nous pouvons dire que l'huile d'olive présente la meilleure résistance à l'oxydation par rapport aux autres échantillons, en raison de sa richesse en antioxydants phénoliques et en caroténoïdes.

Les échantillons d'huiles de table présentent des temps d'induction faibles ceci pourrait être expliqué par leur faible teneur en antioxydants.

Les temps d'induction enregistrés pour le mélange d'huile d'olive "Ifri" et l'huile de soja est de 32,09h qui correspond à l'échantillon IV, suivie de l'échantillon V (26.95h), et un temps de résistance à l'oxydation bas de 12,33h pour l'échantillons VI.

Les échantillons issus de coupage d'huile d'olive "Ifri" et l'huile de tournesol présentent un temps d'induction de 28,50h pour l'échantillon VII, un temps de résistance à l'oxydation moyen de 33,15h pour l'échantillon VIII et un temps de résistance le plus élevé (36h) pour l'échantillon IX.

Un temps d'inductions faible 15,99h est enregistré pour l'échantillon X (1/3HO+ 1/3HS 1/3T).

Les échantillons issus de coupage d'huile présentant la meilleure stabilité à l'oxydation sont obtenus pour l'échantillon IV (1/2 HO+1/2 HS), l'échantillon VIII (1/2 HO+1/2 T) et l'échantillon IX (2/3 HO+1/3 S) qui montrent une très bonne stabilité à l'oxydation. Ceci pourrait être lié en partie aux teneurs appréciables de ces échantillons en antioxydants (polyphénols, *ortho*-diphénols, caroténoïdes) qui inhibent les radicaux libres.

Selon CHOIE *et al.* (2009), la vitesse d'oxydation des lipides est directement proportionnelle à la concentration en oxygène dans l'espace environnant et dans le produit lui-même lorsque cette concentration est faible. En revanche, elle en devient indépendante lorsque la concentration en oxygène est très élevée. La relation entre la vitesse d'oxydation et la pression partielle en oxygène dépend aussi de plusieurs facteurs comme l'activité de l'eau, la température et la nature des catalyseurs d'oxydation.

II.1.6. L'aspect commercial

Considérant que l'aspect économique joue un rôle important dans la commercialisation de produits alimentaires, nous avons jugé utile d'évaluer le coût des mélanges d'huiles obtenus puisque le but ultime de ce travail est d'obtenir un produit bien équilibré et stable avec un prix acceptable.

L'huile d'olive est un produit rare qui nécessite une main d'œuvre chère, ce qui rend ce produit inaccessible pour la majorité de la population (EL WATAN, 2014). Le prix de l'huile d'olive "Ifri" pour l'année 2014/2015 atteint 750 DA le litre, l'huile de soja est d'environ 120 DA/litre et pour l'huile de tournesol est de 190 DA pour un litre.

La figure suivante indique le prix estimé pour les mélanges d'huiles étudiés. Les prix de l'huile d'olive, de l'huile de soja et de l'huile de tournesol considérés sont les prix de détail.

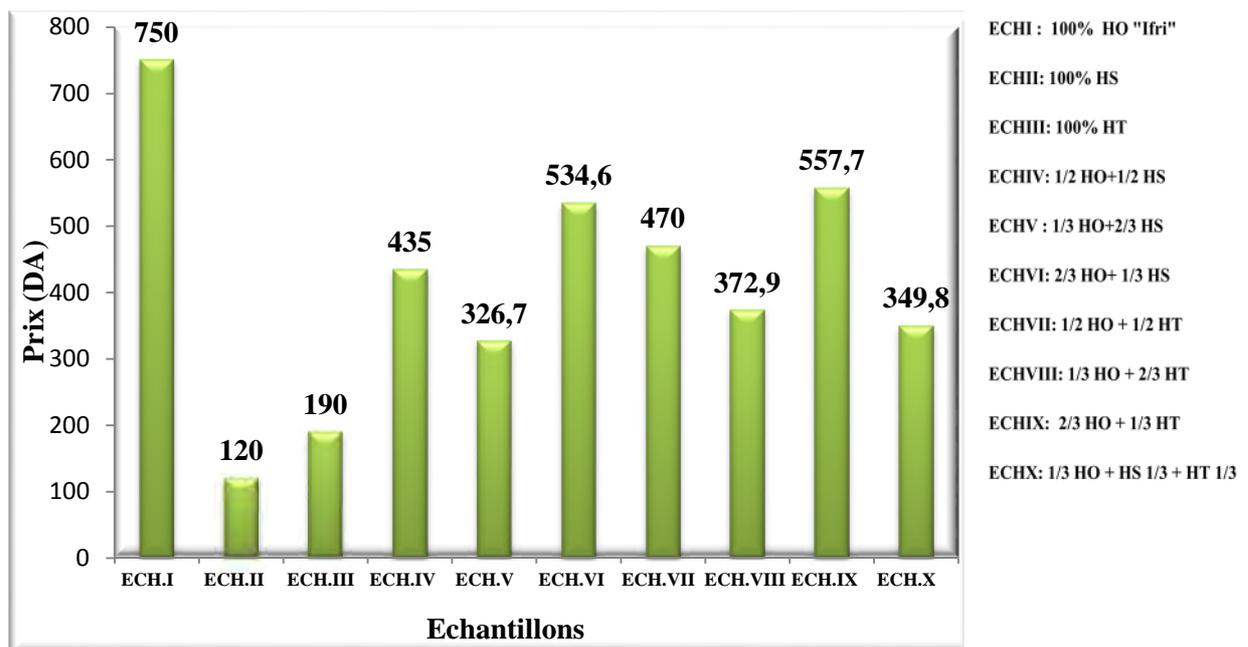


Figure 14 : Estimation des prix des mélanges pour 1litre d'huile.

La figure montre que le prix diminue en comparant le coût de l'huile d'olive à celui de l'huile de soja et de tournesol et des mélanges d'huiles étudiées. En effet, le prix des mélanges d'huiles n'est pas aussi élevé que celui de l'huile d'olive, il est en général inférieur à 600 DA.

Ceci constitue donc un avantage non négligeable rendant l'huile d'olive plus accessible aux ménages dont le revenu est faible. Ainsi, le choix du produit commercialisé pour les mélanges est justifié par un meilleur apport nutritionnel et un prix abordable.

Conclusion

Conclusion générale

Le travail réalisé a pour but de déterminer la composition en antioxydants (polyphénols totaux, *ortho*-diphénols, flavonoïdes et caroténoïdes) de huile d'olive commerciale extra vierge "Ifri", de l'huile de soja, de l'huile de tournesol et leurs mélanges à différentes fractions (1/2 HO+1/2HS), (1/3 HO +2/3 HS), (2/3HO+1/3HS), (1/2 HO+1/2HT), (1/3 HO +2/3 HT), (2/3HO+1/3T), (1/3 HO +1/3H S+1/3HT). Nous avons également évalué leur activité antioxydante.

Les résultats de la présente étude montre que les teneurs en polyphénols totaux et en *ortho*-diphénols sont appréciables pour les échantillons d'huiles étudiées, à l'exception de l'huile de soja et l'huile de tournesol qui notent des teneurs minimales de 14,90 mg E.A.G /Kg et 18,02 mg E.A.G /Kg respectivement pour les polyphénols et des teneurs de 9,89 mg E.A.C/Kg et 6,96 mg E.A.C/Kg respectivement pour les *ortho*-diphénols.

La valeur maximale en polyphénols totaux et en *orth*-diphénols est enregistrée pour l'huile d'olive (139,09 mg E.A.G /Kg et 38,77 mg E.A.C/Kg respectivement).

Les mélanges d'huiles qui présentent la teneur maximale en polyphénols (106,67 mg E.A.G /Kg) contient 2/3 d'huile d'olive et 1/3 d'huile de soja, alors que la teneur minimale est de 57,18mg E.A.G /kg pour 1/3 d'huile d'olive et 2/3 d'huile de soja. Les mélanges d'huiles qui contiennent une teneur maximale en *ortho*-diphénols (29,52mg E.A.C/kg) est de 2/3 d'huile d'olive et 1/3 d'huile de tournesol Le taux minimal enregistré correspond à 17,57mg E.A.C/kg pour 1/3 d'huile d'olive et 2/3 d'huile de tournesol.

Concernant les teneurs en caroténoïdes, les taux sont faibles pour toutes ces huiles analysées, la valeur la plus élevée caractérise l'huile d'olive "Ifri" (1,86 mg/Kg). Alors que les teneurs minimales sont notées pour l'huile de tournesol et l'huile de soja 0,22 mg/Kg et 0,28 mg/Kg respectivement

La plus grande teneur en caroténoïdes caractérise le mélange de 2/3 d'huile d'olive "Ifri" et 1/3 d'huile de tournesol (1,36 mg/Kg), et la teneurs minimale (0,78mg/Kg) caractérise le mélange 1/3 d'huile d'olive et 1/3 d'huile de soja et 1/3 pour l'huile de tournesol, donc l'huile d'olive améliore significativement la teneur en caroténoïdes des mélanges.

L'huile d'olive montre l'indice d'amertume le plus élevé (1,28). Le coupage d'huiles enregistre une augmentation significative de l'indice d'amertume avec un taux minimal de 0,47 (1/3HO +2/3 HS) et un taux maximal de 0,85 (2/3HO +1/3 HS).

La teneur en flavonoïdes déterminée pour les échantillons d'huile est faible et oscillent entre 3,03 mg/Kg pour l'huile d'olive "Ifri" et 0,36 mg/Kg pour l'huile de soja. La quantification de la teneur en flavonoïdes des échantillons d'huile issue de coupage a révélé deux quantités intéressantes 2,16 mg/Kg (2/3 HO+1/3 HS) et 2,12 mg/Kg (1/3 HO+1/3 HS +1/3HT).

Le test de stabilité oxydative montre que l'huile d'olive présente la meilleure résistance à l'oxydation avec un temps d'induction de 39,51 h, en raison de sa richesse en antioxydant par contre, l'huile de soja et l'huile de tournesol ont enregistré des valeurs faibles (11,36 h, et 9,06 h respectivement).

Les échantillons issus de coupage d'huiles présentant la meilleure stabilité oxydative sont obtenus avec l'échantillon VII (32,09h), l'échantillon IV (33,15h) et l'échantillon VI (36h). Ceci est dû à leurs teneurs appréciables en antioxydants (polyphénols, *ortho*-diphénols, caroténoïdes) qui inhibent les radicaux libres responsables de l'altération de l'huile.

L'activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH varie d'un échantillon à un autre. Toutes les huiles étudiées ont des aptitudes distinctes à piéger le radical DPPH. L'huile d'olive "Ifri" exerce la meilleure activité antiradicalaire avec 80,07%, suivie de l'huile de soja (58,77%) et l'huile de tournesol (50,33%).

Les EC₅₀ enregistrées sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important.

Les meilleurs pourcentages enregistrés pour les mélanges qui présentent une grande capacité à piéger le radical DPPH sont notés pour l'échantillon VI (2/3 HO+1/3 HS) avec un pourcentage d'inhibition de 71,77% et une EC₅₀ de 39,10mg/ml et l'échantillon IX (2/3 HO+1/3 HT) avec un pourcentage d'inhibitions de 69,34% et une EC₅₀ de 40,1mg/ml.

Au terme de cette étude, on peut conclure que les mélanges d'huiles présentent une composition en antioxydants et une activité antioxydante améliorée par l'ajout de l'huile d'olive "Ifri".

De nombreuses perspectives sont envisageables pour la poursuite de cette étude :

- ✓ L'étude des caractéristiques organoleptiques d'huile et leurs mélanges ;

- ✓ L'élargissement de l'échantillonnage à d'autres huiles alimentaires ;
- ✓ Tester d'autres fractions de mélanges d'huiles;
- ✓ Réaliser des tests in vivo d'activité antioxydante de l'huile ;
- ✓ Etude de la composition des huiles en tocophérols et composés phénoliques par HPLC ;
- ✓ Réaliser une étude économique approfondie sur les mélanges d'huile afin d'assurer leur commercialisation ;
- ✓ Enrichir les mélanges d'huiles par des extraits de plantes comme les huiles essentielles de (coriandre, lentisque, clou de girofle) ;
- ✓ Etudier l'influence des conditions du stockage sur les mélanges d'huiles.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- ✚ ANONYME. (2014). <http://www.lesieur.fr/Entreprise/Notre-histoire>.
- ✚ APARICIO R., RODA L., ALBI M. A., GUTIÉRREZ F., (1999). Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,(47) : 4150–4155.
- ✚ ANGEROSA F., SERVII M. AND SELVAGGINI R. (2004). Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *J. chroma, Vol 1054, p.17-31*.
- ✚ 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.
- ✚ ARNEZEDER C., AND HAMPEL W.A. (1990). «Influence of growth rate on the accumulation of ergosterol in yeast-cells." *Biotechnol. Lett.* 12: 277–282.

B

- ✚ BACCOURI B., BEN TEMINE S., CAMPEOL E., CIONI P.L., DAOUD D., ZARROUK M. (2007a). Application of solid-phase microextraction to the analysis pdf volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars. *Food Chemistry*, 102(3): 850-856.
- ✚ BELTRAN G., RUANO M T., JIMENTEZ A., UCEDA M., AGUILERA M P (2007). Evaluation of virgin olive oil bitterness by total phenol content analysis. *European Journal of lipid Science and Technologie*. 108 : 193-197.
- ✚ BENDINI A., BONOLI M., CERRETONI L., BIGGUZI B., LERCKER G., AND TOSCHI TG. (2003). Liquid-liquid and solid-phase extractions of phenols
- ✚ BENLMLIH M., AND GHANAM J. (2012). Polyphénols d'Huile d'Olive, Tresors Santé! Medicatrix Editions: Embourg, Belgique.

- ✚ **BEN TAMMIME S., TAAMALLI W., BACOURRI B., ABAZA L., DAOUD D AND ZARROUK M (2006).** Changes in olive oil quality of chétoui variety according to origin of plantation *Journal of Food Lipid.* 13 : 88-99.
- ✚ **BOSKOU D. (1996).** Olive oil: chemistry and technology. Champaign Illinois. American Oil Chemists Society, 69:552-556.
- ✚ **BOSKOU D., BLEKAS G., AND TSIMIDOU M. (2006).** Olive oil composition. Dans D. Boskou (Ed.), *Olive oil, chemistry and technology (2nd edition)*. Champaign Illinois: American oil chemists, society.USA. pp 41-72.
- ✚ **BOSKOU D. (2009).** Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil In *Olive Oil: minor constituents and Health*. Ed. CRC Press. Pp: 11-44.
- ✚ **BRAZ A. (2012).** Antioxidant activity and phenolic composition of brizilin hoeny and their extracts *J. Chem Soc.*, 2: 15-22.
- ✚ **BUBONJA-SONJE M., GIACOMETTI J., ABRAM M. (2011).** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127: 1821–1827.



- ✚ **ÇAVUSOGLU A., OKTAR A. (1994).** Les effets des facteurs agronomiques et des conditions de stockage avant la mouture sur la qualité de l'huile d'olive. *Olivae* , 52 :18-24.
- ✚ **CAROL K., PHILIPPE M., ANTOINE P. (2001).** Huile végétale naturelle concentrée en insaponifiable comme ingrédient alimentaire, EP1280420 A1, WO2001070046A1.
- ✚ **CASADEI E. (1978)** - First Results on Detection of Adulterated Olive Oil Products with Hazelnut and/or Esterified Oils by HPLC of Triglycerides. *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 64.
- ✚ **CARRASCO-PANCORBO A., CERRETANI L., BENDINI A., SEGURA-CARRETERO A., DEL CARLO M., GALLINA-TOSCHI T., LERCKER G., COMPAGNONE D., FERNANDEZ-GUTIERREZ A. (2005).** Evaluation of antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8918–8925.
- ✚ **CAROCHO M., FERREIRA I. C. F. R. (2013).** A Review on anti-oxidants, Prooxidants and Related Controversy: Natural and synthetic compounds. *Screening and Analysis Methodologies and Future Perspectives. Food and Chemical Toxicology.* 51:15-25.

- ✚ **CERRETANI L., BENDINI A., ROTONDI A., MARI M., LECKER G., GALLINA AND TOSCHI T. (2004).** Evaluation of the oxidative stability and organoleptic properties of extra-virgin olive oils in relation to olive ripening degree. *Progress in Nutrition*, 6(1):50-56.
- ✚ **CHIMI H. (2001).** Qualité des huiles d'olive au Maroc ,enquête nationale et analyse au laboratoire .Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, *transfert de technologie en agriculture ,N°79.pp.1-10.*
- ✚ **CHIMI H. (2006).** Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion d'olive et gestion de sa qualité. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, *transfert de technologie en Agriculture. N°3 :20-31.*
- ✚ **CHOE E., LEE J., AND MIN D.B. (2009b).** Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Sci. Food Safety.* vol. 8, p. 345-358.
- ✚ **C.O.I. (2013).** Conseil Oléicole International. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive.
- ✚ **C.O.I. (2009).** Conseil Oléicole International. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive.
- ✚ **CORTESI N., AND ROVELLINI P. (2004).** L'état d'oxydation de l'huile d'olive vierge: effet des antioxidant naturels. *Olivae*, 101 : 27-33.
- ✚ **CTA. (2014).** (agritrade), Enjeux du commerce dans le secteur des oléagineux pour les pays ACP, Secteur des oléagineux. Mars 2014. <http://agritard.cta.int>
- ✚ **COSSUT J., DEFRENNE B., DESMEDT C., FERROUL S., HUMBERT S., ROELSTRAETE L., VANUXEEM M., VIDAL D., AND GARNET S. (2002).** Les corps gras: entre tradition et modernité, thèse de Master, Université des Sciences et Technologies de Lille, France, p111.



- ✚ **DEBRUYNE I. (2001).** Soja: transformation et aspects industriels. *Techniques de l'ingénieur.* F6030. pp: 1-12.
- ✚ **DE KOCK J., DE GREYT W., GIBON V., AND KELLENS M. (2005).** Développements récents en matières de raffinage et de modifications : élimination des contaminants dans les huiles alimentaires et réduction du taux d'acides gras trans. *Oléagineux Corps Gras Lipides (OCL).* Vol 12. n°5-6. p : 378-384.

- ✚ **DE LEONARDIS A. AND MACCIOLA V. (2012).** Heat-oxidation stability of palm oil blended with extra virgin olive. *Environmental and Food Sciences. Food Chemistry* 135:1769-1776.
- ✚ **DIAS P., AND BOSKOU D. (2008).** Detection And Quantification Of Phenolic Compounds In Olive Oil, Olives, And Biological Fluids In Olive Oil Minor Constituents And Health Crc Press Pp: 55-107
- ✚ **DOVERI S., AND BALADONI L. (2007).** Olive in Genome Mapping and Molecular Breeding in plants. Ed C. Kole. *Fruit and Nuts* 425-3264.

E

- ✚ **EL ANTARI A., ELMOUDNI A., AND AJANA H. (2003).** Evolution comparative de la qualité de la composition acide de l'huile d'olive chez quelques variétés méditerranéennes cultivées au Maroc. *Olivae*, N°95 :26-31. *Food Science and Technology*, 40:1246-1252.
- ✚ **ES-SAFI N., KOLLMANN A., KHLIFI S., AND DUCROT P H. (2007).** Antioxydative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L. Structure activity relationship.

F

- ✚ **FAVATI F., CAPORALE G., BERTUCCIOLI M. (1994).** Rapid determination of phenol content in extra virgin olive oil. *Journal of Food Science*.52 (1) : 234-235.
- ✚ **FAVIER A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 11-12: 108-115.
- ✚ **FERNAND C.B. (2003).** Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Londres – Paris – New York.
- ✚ **FERNANDES P., WERNER J.B., RAPHAEL B., JURG L. AND ALIN E., (2007).** Sciences et technologie des aliments. Presses polytechniques et universitaires romandes. 1ere Edi. ISBN: 978- 2-88074- 754-1.

- ✚ **CABRAL L M S. (2007).** Phytosterols: Applications and recovery methods. *Bioresource Technology* 98 (12): 2335-2350.
- ✚ **FOGLIANO V., VERDE V., RANDAZZO G., RITIEN A. (1990).** Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant activity of wines. . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1035–1040.
- ✚ **FRANKEL EN. (2010).** Chemistry of extra virgin olive oil: Adulteration, oxidative stability, and antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 5991–6006.



- ✚ **GARCIA-VILLALBA R., CARRASCO-PANCORBO A., OLIVERAS-FERRAROS C., VAZQUEZ-MARTIN A., MENENDEZ J. A., SEGURA-CARRETERO A., FERNANDEZ-GUTIERREZ A. (2010).** Caractérisation and quantification of phénolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties by a rapid resolutive LC-ESI-TOF MS method. *Journale of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 51:416-429.
- ✚ **GARCIA J M., GUTIERREZ F., CASTELLANO J M., PERDIGUERO S., MORILLA A., ALBI M.A. (1996).** Influence of storage temperature on fruit ripening and olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 264-267.
- ✚ **GUTIERREZ F., JIMENEZ B., RUIZ A., ALBI M A. (1999).** Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties pictual and hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (1) pp 121- 127.
- ✚ **GUIRDA D., FRANCESCO S., AND REKIK B. (2005).** Pigment composition in monovarietal virgin olive oils from various silician olive varieties. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 28:11-15.

H

- ✚ **HANG H H., KWOK K., AND CAND LIANG H H. (2005).** Effet of tea polyphenols on the activities of soybean trypsin inhibitors and trypsin. *Journal of the Science Food and Agricultural*, 84: 121-126.
- ✚ **HARWOOD J., AND APARICIO R. (2000).** *Handbook of olive oil – Analysis and properties*, An Aspen publication, Aspen Publishers.
- ✚ **HUBERT J. (2006).** *Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja- Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines.* Thèse de doctorat del'institut national polytechnique de Toulouse: 13-52.

I

- ✚ **IDRISSI I J., RAHMANI M. AND SOUIZI A.A. (2004).** Essais de métamérisation biologique des olives de table à échelle industrielle. *Olivaie*, 101 : 34-37.
- ✚ **ISO : NORME INTERNATIONALE. (1996).** *Méthode ISO 6886: 1996 (F). Corps gras d'origine animale et végétale – Détermination de la stabilité à l'oxydation (essai d'oxydation accéléré).* Ed: 2.
- ✚ **ISSAOUI M., DABBOU S., ECHBILI A., RJIBA I., GAZZAH N., TRIGUI A., HAMMAMI M.(2007).** Biochemical characterization of some Tunisian virgin olive oils obtained from different cultivars growing in Sfax National Collection. *Journal of Food, Agriculture and Environement*. 51 (1):17-21.

K

- ✚ **KIRITSAKIS A. (1998).** Flavor components of olive oil - a review. *American Oil Chemists' Society*, 75(6): 673-681.

- ✚ **KALUA C.M., ALLEN M.S., AND BEDGOOD D R. (2007).** Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: critical review. Food Chemistry.100:273-286.
- ✚ **KROYER G T. (2003).** Red clover extract as antioxydant active and functional food ingredient innovative. Food Sciences and Emerging Technologies,5:101-105.
- ✚ **KELEN M., BEKTAS T. (2008).** Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of essential oils of three Salvia species from Turkish flora. Bioressources technology, 99: 4096-4104.

L

- ✚ **LAZZEZ A., PERRI E., CARAVITA M.A., KHLIF M., COSSENTINI M. (2008).** Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the Chemlali Variety. J. Agric. Food Chem. 56 (3), 982–988.
- ✚ **LEE J., KOO N., AND MIN D B. (2004).** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative Nutraceuticals.Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 3:21-33.
- ✚ **LEOPOLDINI M., RUSSO N., TOSCANO M. (2011).** "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." Food Chemistry 125(2): 288-306.
- ✚ **LENTZ D L., POHL M D., ALVARADO J L., TARIGHAT S., AND BYE R. (2008).** Sunflower (*Helianthus annus L.*) as a pre-Columbian domesticate in Mexico.Proceedings of the National Academy of sciences of the United States America.105(17) :6232-6237.
- ✚ **LEROY I. (2001).** L'huile d'olive dans tous ses états pp 50-51 : Thèse pour Le Diplôme De Docteur D'état En Pharmacie.

M

- ✚ **MAFTAH H., LATRACHE H., HAMADI F., HANINE H., ZAHIR H., EL LOUALI M. (2014).** Comparaison des caractéristiques physico chimiques des huiles d'olives issus de différentes zones de la région Tadla Azilal (Maroc). *Journal of Materiel and environnemental science* 5(2) : 641-646.
- ✚ **MAIURI M. C., DE STEFANO D., DI MEGLIO P., IRACE C., SAVARESE M., SACCHI R., CINELLI M. P., AND CARNUCCIO R. (2005).** Hydroxytyrosol, a phenolic compound from virgin olive oil, prevents macrophage activation. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 371: 457- 465.
- ✚ **MANAI H. (2006).** Variabilité de la composition d'huile d'olive de quelques hybrides obtenus par croisements dirigés. *Economie. Science et technique. Olivae.* N° 106. P 17-31.
- ✚ **MARSILIO V., CAMPESTRE C., AND LANZA B. (2001).** Phenolic compounds change during California-style ripe olive processing. *Food Chemistry*, 74: 55–60.
- ✚ **MILI S. (2006).** Olive oil marketing in non-traditional markets: prospects and strategies. *New Medit.* 5 (1), 27–37.
- ❖ **MINGUEZ MOSQUERA M. I. et GANDUL-ROJAS B. (1996)-** Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *J.Sci food Agric.* N°, pp:31-39.
- ✚ **MONFREDA M., GOBBI L AND GRIPPA A. (2012).** Blends of olive oil and sunflower oil: Characterisation and olive oil quantification using fatty acid composition and chemometric tools. *Food Chemistry.* 134: 2283-2290.
- ✚ **MORELLO J.R., MOTILVA M.J., TOVAR M.J., AND ROMERO M P. (2004).** Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*,85:357-364.
- ✚ **MORELLO J.R., VUORELA S., ROMERO M.P., MOTILVA M.J.; HEINONEN M. (2005).** Antioxydant activity of olive pulp and olive oil phenolic compounds of the Arbequina cultivar. *Journale of Agricultural and Food Chemistry.*53: 2002-2008.



- ✚ **OLLIVIER D., BOUBAULT E., PINATEL C., SOUILLOL S., GUERERE M., AND ARTAUD J. (2004).** Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. J. Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, N.965, p: 169 - 196.
- ✚ **OWEN R W., MIER W., GIACOSA A., HULL W.E., SPIEGELHALDER B., AND BARTSCH H. (2000).** Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. Food Chem. Toxicol. 38:647-59.
- ✚ **OWEN R W., HAUBNER R., WURTELE G., HULL W E., SPIEGELHALDER AND B., BRATSCH H. (2004).** Olives and olive oil in cancer prevention. European Journal of Cancer Preventions. 13 (4), 319-326.
- ✚ **OUESLATI I., ANNIVA C., DAOUD D.,TSIMIDOU M Z., AND ZARROUK M. (2009).** Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the Tataouine zone. *Food Chemistry*,112:733-741.
- ✚ **OLLIVIER D., ARTAUD J., PINATEL C., DURBEC J-P., GUERERE M. (2006).** Differentiation of French virgin olive RDOs by sensory characteristics, fatty acid triacylglycerol compositions and chemometrics. Food Chemistry. 97: 382-393.



- ✚ **PAPADOPOULOS G., BOSKOU D. (1991).** Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. Journal of the American Oil Chemists Society 68 (9) : 669-671.
- ✚ **PELLEGRINI N., AND BATTINO M. (2006).** Total Antioxydants Capacity Of Olive Oil In Olive Oil and Health. Ed J L Quiles M. C. Ramirez Tortoza and O Yaqcob. CAB International. Pp 63-71.
- ✚ **PELLEGRINI N., VISIOLI F., BURATTI S., BRIGHENTI F. (2001).** Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 2532-2538.
- ✚ **PLATON J. F. (2015).** Raffinage de l'huile de soja. ASA : American Soybean

Association.

- # **POISSONJ P., AND NORCE M. (2003).** Corps gras alimentaires: Aspects chimiques, biochimiques, et nutritionnels. In. Lipides et corps gras alimentaires. Ed. Tec et doc .pp.1-50.
- # **POUZET P. (1992).** Soja In : "*Manuel des corps gras* ". Tome 1. Ed. Tec et Doc - Lavoisier, Paris. P. 131-136. ISBN : 2-85206-662-9.
- # **PSOMIADOU E., TSIMIDOU M., AND BOSKOU D. (2000).** α -tocopherol content of Greek virgin olive oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48 (5) pp 1770 -1775.
- # **PSOMIADOU E., TSIMIDOU M. (2002).** Stability of virgin olive oil. Autoxidation studies. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50:716-721.

R

- # **RAMADAN M F., MORSEL J T. (2006).** Screening of the antiradical action of vegetable oils. Journals of Food Composition and Analysis, 19:838-842.
- # **ROLLAND Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux Corps gras Lipides, 11(6):419-424.
- # **ROCHE J., BOUNIOLS A., MOULOUNGUI Z., BARRANCO T., AND CERNY M. (2006).** Management of environmental crop conditions to produs useful sunflower oil components. European Journal of Lipid Science and Technology 108 (4): 287-297.
- # **RYAN D., ANTOLOVICH M., PRENZLER P., ROBARDS K., AND LAVEE S. (2002).** Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea L.* Scientia Horticulturae, 92: 147-176.

S

- # **SANCHEZ-MUNIZ F J., BASTIDA S., GUTIERREZ-GARCIA O. AND CARBAJAL A. (2009).** Olive oil-diet improves the simvastatin effets with respect to

sunflower oil-diet in men with increased cardiovascular risk: a preliminary study. *Nutr Hosp.* 24 (3) 333-9.

- ✚ **SALVADOR M D., ARANDA F., FREGAPANE G. (2001).** Chemical composition of commercial cornicabra Virgin olive oil from 1995/1996 and 1996/1997 crops. *Food chem, Vol 75, N° 10:1035-1311.*
- ✚ **SALVADOR M.D., ARANDA F., GOMEZ-ALONSO S., FREGAPANE G. (2003).** Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. *Food Chemistry,80:359-366.*
- ✚ **SERVILI M., SELVAGGINI R., ESPOSTO., TATICCHI A., MONTEDORO G., AND MOROZZI G. (2004).** Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols Agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography. 154 : 113-127.*
- ✚ **SEBEI K., BOUKHCHINA S., AND KALLEL H. (2007).** Evolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des grains de colza de printemps (*Brassica napus L.*). *Comptes Rendus Biologies. 330 (1) 55-61.*
- ✚ **SCHROETER H., BOYD C., SPENCER J. P. E., WILLIAMS R J., CADENAS AND E., RICE-EVANS C. (2002).** "MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitric oxide." *Neurobiology of Aging 23(5): 861-880.*

T

- ✚ **TRIPOLI E., GIAMMANCO M., TABACCHI G., DI MAJO D., GIAMMANCO S., AND LA GUARDIA M., (2005).** The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews. 18 :98-112.*
- ✚ **TURK K L., HAYBAL PJ. (2002).** Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects. *Journal of Nutritional Biochemistry 13: 636-644.*
- ✚ **TUBEROSO C I G., KOWALCZYK A., SARRITZU E., CABRAS P .(2007).** Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chemistry. 103 : 1494-1501.*

V

- ✚ **VALENT J. (2001).** Les fruits, les légumes et les céréales. Ed Vigot. Paris, p 333.
- ✚ **VALKO M C. J. RHODES J., MONCOL M., IZAKOVIC M., AND MAZUR. (2006).** "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chemico-Biological Interactions* 160 (1) : 1-40.
- ✚ **VAN DEN BERG H., FAULKS R., GRANADO HF., HIRSCHBERG J., OLMEDILLA B., SANDMANN G., SOUTHON S., AND STAHL W. (2000).** The potential for improvement of carotenoid levels in foods and likely systemic effects. *Journal of science of Food and Agriculture*. 2000. 80: 880-912.
- ✚ **VELASCO J., AND DOBARGANES C. (2002).** Oxidative stability of virgin olive oil. *Eur. J.Lipidsc Technol.*104 661-676.
- ✚ **VEILLET S. (2010).** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. THESE : Doctorat en Sciences, option: chimie, l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. PP. 7-130.
- ✚ **VERLEYEN T. (2002).** Stability of minor components during vegetable oil refining. *Applied biological sciences, chemistry*. University of Gent. Gant. P. 277.
- ✚
- ✚ **VIOLA P. (1997).** L'huile d'olive et la santé. Ed. Espagne, Conseil Oléicole International.
- ✚ **VISIOLLI F., POLI A., AND GALLI C. (2002).** Antioxydand and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, 22 (1) :65-75.

W

- ✚ **WEN-REHABA A I. (2002).** Etude des activités biologiques et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Thèse doctorat en sciences chimiques.PP

- ✚ **WERNER J.B., RAPHAEL B., JURG L. AND ALIN E. (2010).** Sciences et technologie des aliments. Presses polytechniques et universitaires romondes. 1ere Edi. ISBN: 978- 2-88074- 754-1.

Annexes

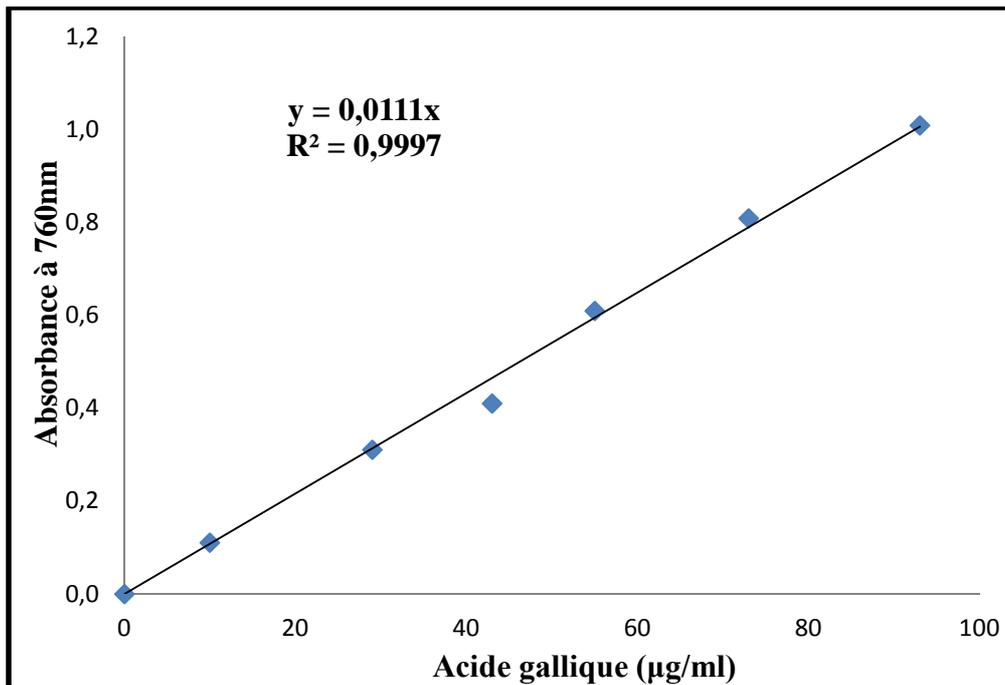


Figure 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux.

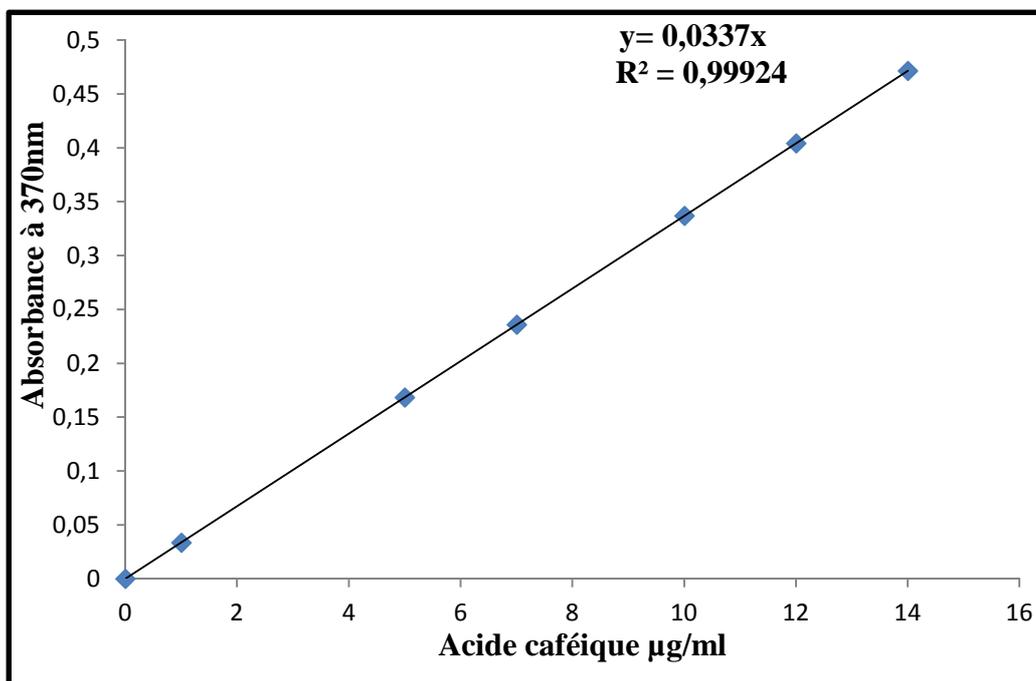


Figure 2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des *ortho*-diphénols.

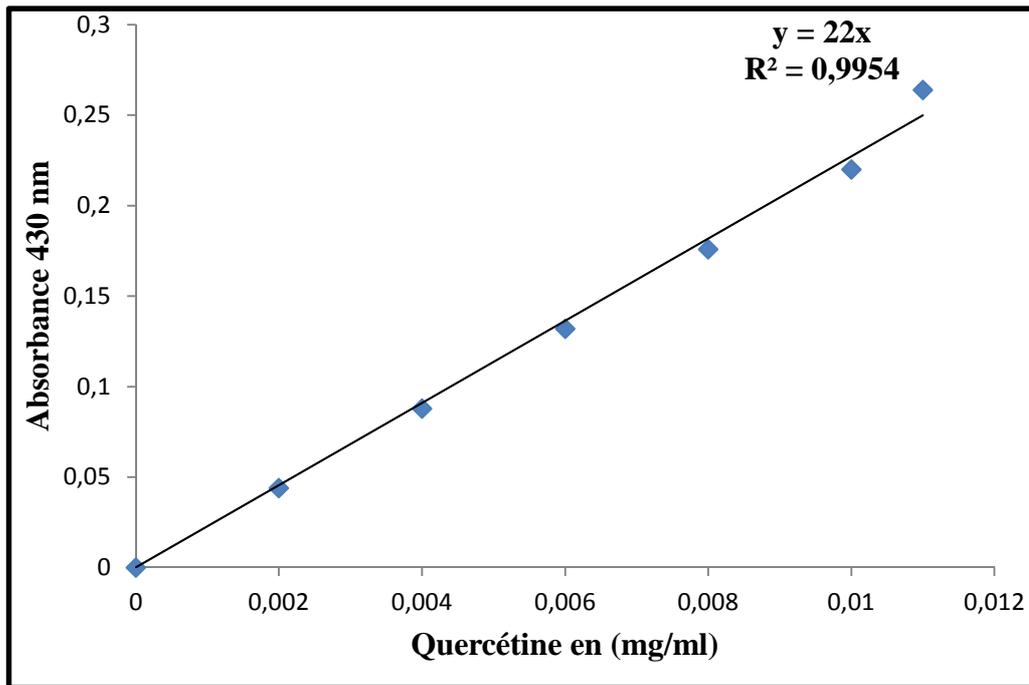


Figure 3: Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoides.

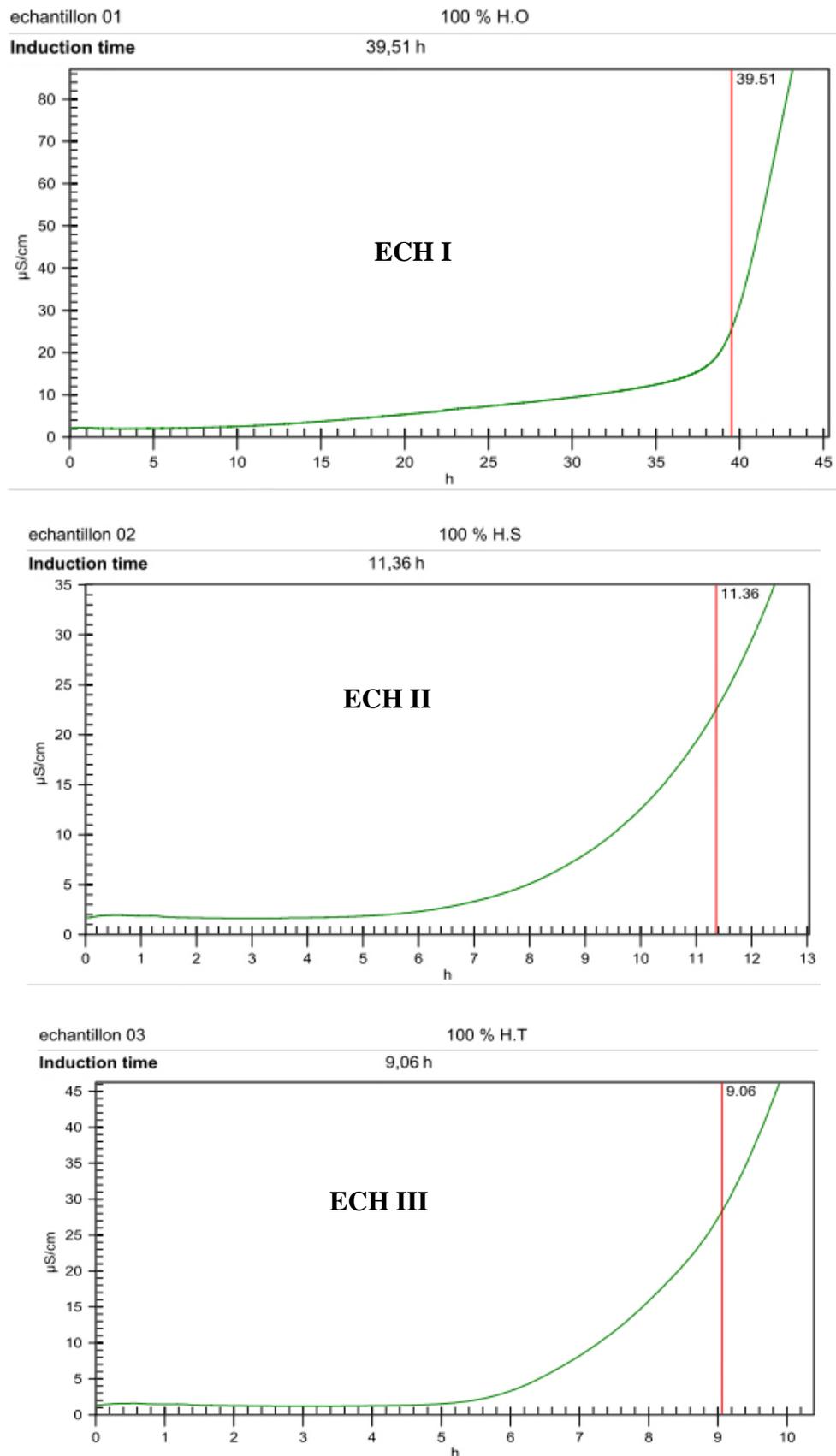


Figure 4: Graphes représentant les temps d'induction obtenus par test de Rancimat pour l'huile d'olive, l'huile de soja et l'huile de tournesol.

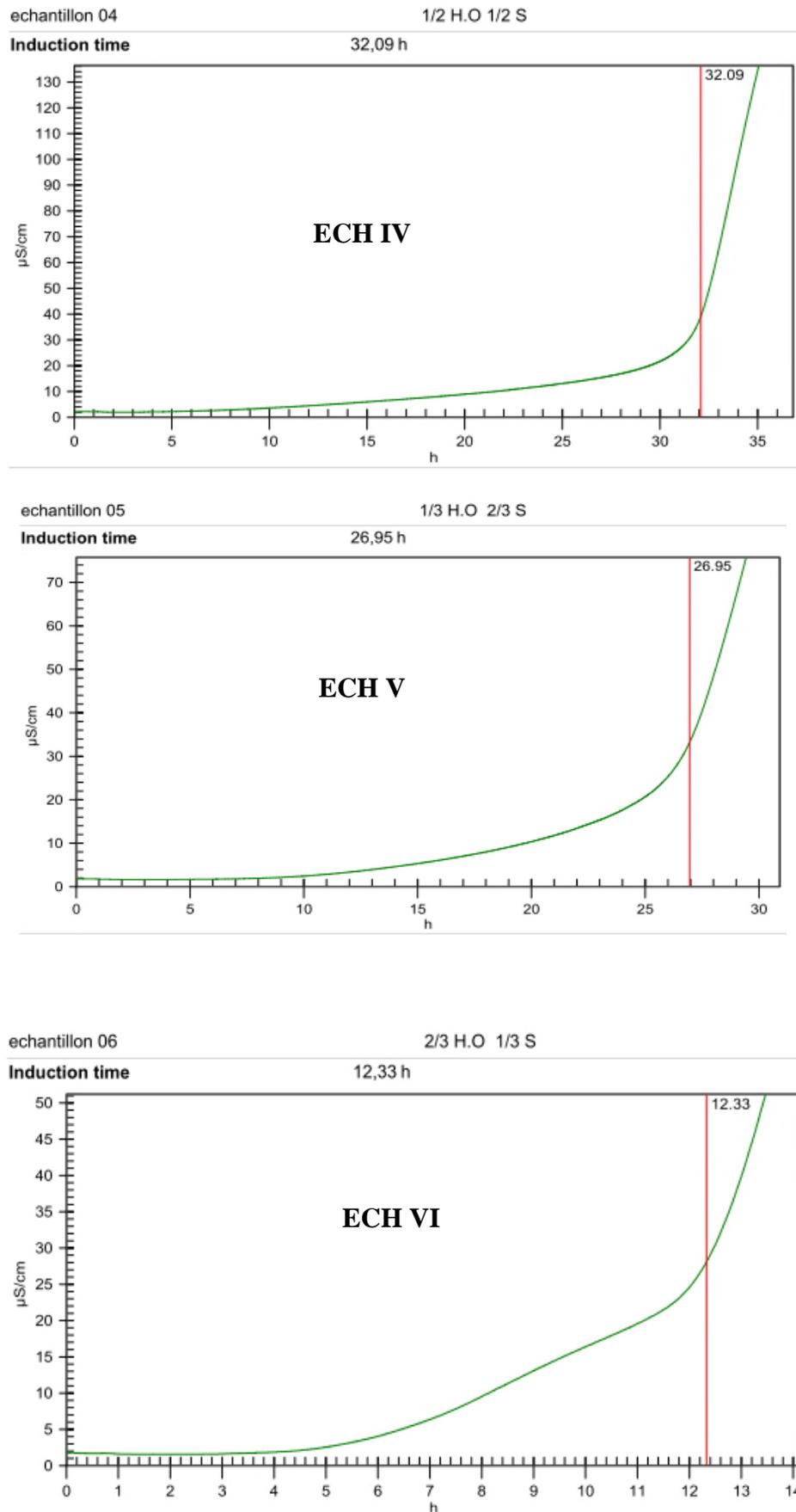


Figure 5: Graphes représentant les temps d'induction obtenus par test de Rancimat pour le mélanges d'huile d'olive et d'huile de soja.

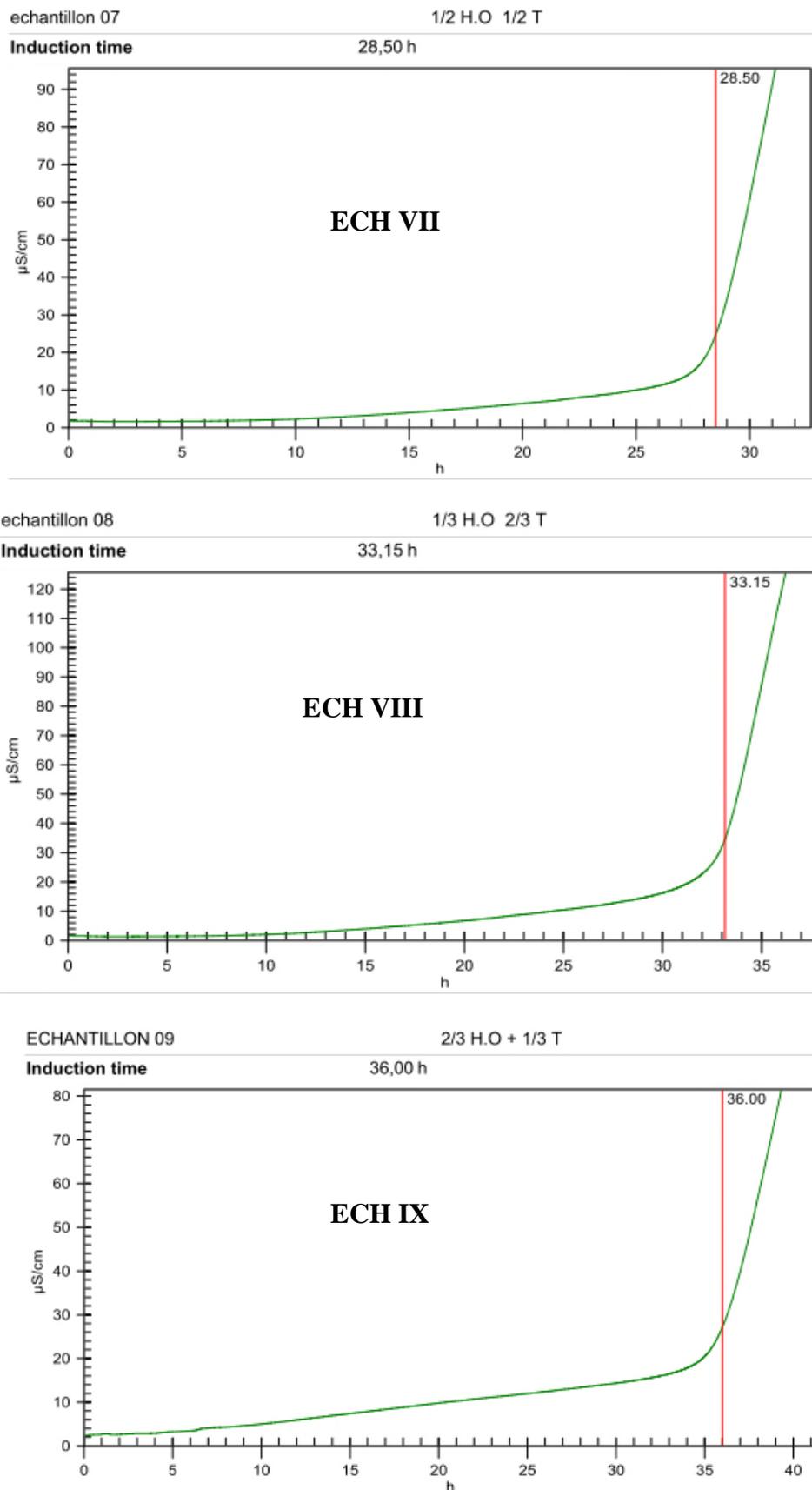


Figure 6: Graphes représentant les temps d'induction obtenus par test de Rancimat pour le mélanges d'huile d'olive et d'huile de tournesol.

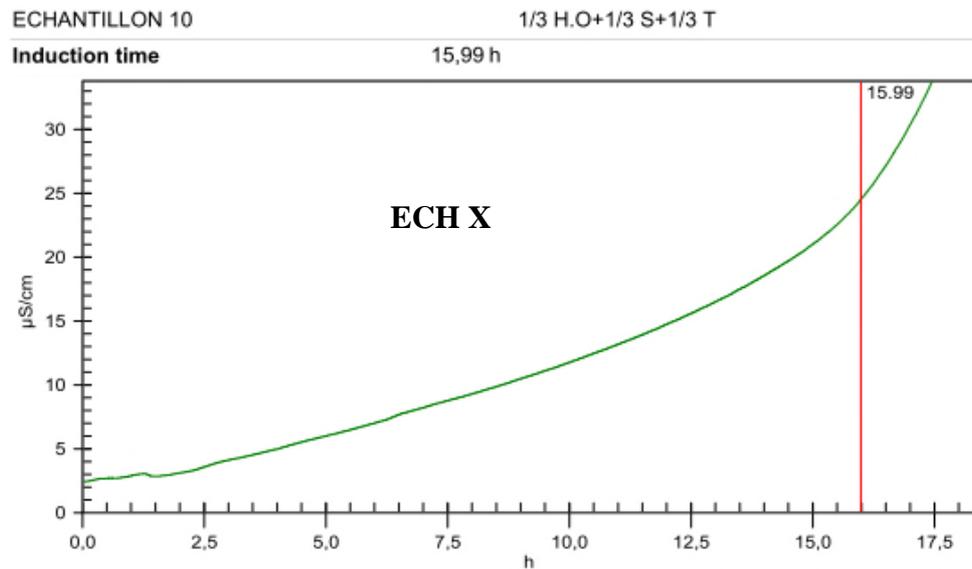


Figure 7 : Graphes représentant les temps d'inductions pour les trois mélanges des huiles.

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

Echantillons	<i>Ortho-</i> diphénols (Ppm)	Polyphénols totaux (Ppm)	Caroténoïdes (Ppm)	Indice d'amertume	DPPH (I%)	EC50 (Mg /ml)	Flavonoïdes (Ppm)	Rancimat (h)
ECH.I	38,77 ±0,99	139,10 ±1,91	1,87 ±0,078	1,28 ±0,003	80,07 ±2,26	36,20 ±1,06	3,03 ±0,21	39,51
ECH.II	9,89 ±0,00	18,02 ±2,60	0,29 ±0,035	0,13 ±0,003	58,78 ±1,15	45,73 ±1,53	0,53 ±0,00	11,36
ECH.III	6,96 ±1,19	14,90 ±1,10	0,22 ±0,025	0,07 ±0,002	50,33 ±0,46	49,33 ±1,10	0,36 ±0,00	9,06
ECH.IV	24,37 ±0,47	84,80 ±2,91	1,10 ±0,015	0,71 ±0,004	69,00 ±0,11	40,89 ±0,46	1,78 ±0,21	32,09
ECH.V	19,15 ±0,49	64,86 ±1,44	0,80 ±0,013	0,53 ±0,001	65,11 ±0,23	42,11 ±0,27	1,35 ±0,21	26,95
ECH.VI	22,39 ±0,14	106,67 ±2,16	1,34 ±0,013	0,85 ±0,002	71,78 ±0,88	39,10 ±0,58	2,16 ±0,21	12,33
ECH.VII	29,52 ±0,14	80,24 ±2,73	1,06 ±0,018	0,65 ±0,002	65,11 ±0,52	42,17 ±0,29	1,69 ±0,00	28,50
ECH.VIII	17,57 ±0,63	57,18 ±2,20	0,76 ±0,018	0,47 ±0,007	59,50 ±0,51	44,64 ±0,73	1,24 ±0,21	33,15
ECH.IX	28,01 ±0,36	100,42 ±1,10	1,37 ±0,025	0,87 ±0,005	69,34 ±0,62	40,1 ±1,52	2,12 ±0,21	36,00
ECH.X	18,20 ±1,03	61,98 ±2,16	0,79 ±0,025	0,54 ±0,005	62,47 ±0,56	43,31 ±0,95	1,29 ±0,21	15,99

Résumé

Le mélange des huiles raffinées (soja, tournesol) avec l'huile d'olive est une pratique commerciale qui a tendance à prendre de l'ampleur à cause du prix élevé de l'huile d'olive, qui la rend inaccessible pour les ménages à faible revenu.

La présente étude porte sur la détermination de la composition en antioxydants (polyphénols totaux, les *ortho*-diphénols, les flavonoïdes, les caroténoïdes) et l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive extra vierge commerciale "Ifri", de l'huile de soja, de l'huile de tournesol ainsi que leurs mélanges à différentes fractions.

Les résultats enregistrés pour les échantillons d'huiles ont révélé que les mélanges d'huile contenant 2/3 d'huile d'olive et 1/3 d'huile de soja sont les meilleurs, avec des teneurs appréciables en polyphénols totaux et en *ortho*-diphénols de 106,67E.A.G mg/Kg, et 29,52 mg E.A.C/Kg respectivement.

Des teneurs faibles en flavonoïdes et caroténoïdes sont obtenus pour tous les échantillons analysés. L'huile d'olive "Ifri" montre l'indice d'amertume le plus élevé (1,28) suivie de coupage 2/3 huile d'olive et 1/3huile de soja (0,85).

L'activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH varie d'un échantillon à un autre, l'huile d'olive" Ifri" exerce la meilleure activité antiradicalaire (80,07%), avec une EC50 de 36,20 mg/ml suivie, du mélange 2/3 d'huile d'olive et 1/3 de l'huile de soja (71,77%) avec une EC50 de 39,10 mg/ml.

Le coupage d'huile présentant la meilleure stabilité à l'oxydation est obtenu à 36h pour 2/3 d'huile d'olive et 1/3 d'huile de soja.

Au terme de cette étude, nous constatons que l'huile d'olive "Ifri" utilisée pour réaliser les coupages améliore significativement en composition en antioxydants, la stabilité et l'activité antioxydante de l'huile de soja et de tournesol.

Mot clés : huile d'olive "Ifri", coupage d'huile, antioxydants, activité antioxydante, l'huile de table, stabilité oxydative.

Abstract

The mixture of the oils refined (soya, sunflower) with the olive oil is a commercial practice which tends to become extensive because of the high price of the olive oil, which makes it inaccessible for the households to low income.

The present study relates to the determination of the composition out of antioxydants (total polyphenols, *ortho* - diphenols, flavonoïdes, and carotenoids) and the evaluation of the antioxydant activity of the virgin olive oil extra commercial "Ifri", of the soya oil, the sunflower oil like their mixtures with various fractions.

The results recorded for the oil samples revealed that the mixtures of oil containing 2/3 of olive oil and 1/3 of soya oil are the best, with appreciable contents of total polyphenols and *ortho*-diphenols of 106,67mg E.A.G/Kg, and 29, 52 E.A.C mg /Kg respectively.

Low contents of flavonoïdes and carotenoids are obtained for all the analyzed samples. The olive oil "Ifri" shows the index of bitterness highest (1, 28) followed cutting 2/3 olive oil and 1/3huile of soya (0, 85).

The antiradicalaire activity of oil against radical DPPH varies from a sample with another, the olive oil "Ifri" carries on best the activity antiradicalaire (80,07%), with a EC50 from 36,20mg/ml followed, mixture 2/3 of olive oil and 1/3 of the soya oil (71,77%) with a EC50 of 39,10mg/ml.

The oil cutting having best stability at oxidation is obtained with 36h for 2/3 of 1/3 and olive oil of soya oil.

At the end of this study, we note that the olive oil "Ifri" used to carry out cuttings improves significantly in composition out of antioxydants, the stability and the antioxydant activity of the sunflower and soya oil.

Keywords: olive oil "Ifri", oil cutting, antioxydants, antioxydant activity, salad oil, oxydative stability.