



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA DE BEJAIA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

MEMOIRE DE MAGISTER

Option Microbiologie Appliquée aux substances antimicrobiennes

Thème

Activités antioxydante et antibactérienne
des huiles d'oléastres (*Olea europaea* var. *oleaster*)
de la région de Béjaïa

Présenté par

M^{me} SAIT Sabrina

Devant le jury :

M ^r . BENALLAOUA S.	Professeur (UAMB)	Président
M ^r IGUEROUADA M.A.	Professeur (UAMB)	Examineur
M ^{me} BEDJOU F.	Maitre de conférences (UAMB)	Examineur
Mr TAMENDJARI A.	Professeur(UAMB)	Promoteur

2011/2012

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, je tiens à exprimer mes remerciements et mes sincères gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements vont à Mr. le professeur TAMENDJARI A. mon directeur de mémoire, d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour ses conseils pertinents et son suivi scientifique le long de la réalisation de ce travail et surtout pour la confiance qu'il m'a témoignée, qu'il trouve ici l'expression de toute ma gratitude.

J'exprime mes sincères gratitude, à Mr. le professeur BENALLAOUA S. pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.

J'adresse mes remerciements à l'égard de Mme BEJOU F et Mr le professeur IGUEROUADA M. qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.

Je remercie Mr. SEBAI, le directeur de l'I.T.A.F.V. de Takrietz, pour son accueil. Et que tout le personnel de l'I.T.A.F.V. trouve ici mes remerciements les plus sincères, particulièrement Mr. Z. SEBAI.

Je tiens à remercier le personnel du laboratoire de CEVITAL. Particulièrement Mr Mr .Hamitri.

J'associe mes remerciements aux techniciens et ingénieurs des laboratoires de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Mr. F. AMROUCHE, Mme. N. KHERBACHI, Mr F. BOUCHENOI.

Je souligne ma reconnaissance aux enseignants : Mme GHAROUT A., Mr TOUATI A., Mme TAMENDJARI S., M^{lle} BOUCHEFFA S., M^{lle} LAINCER F., M^{lle} SAIDANI K., M^{lle} BENDALI F., Mr BELHADI J., Mme BOUCHERBA N., pour leur aide, leurs précieux conseils, leur gentillesse et leur disponibilité.

Je souhaite enfin remercier les filles de la promotion surtout RIMA, SALIMA, KARIMA avec lesquelles j'ai partagé les moments les plus difficiles dans la réalisation de cette étude.

Tout mon amour et ma gratitude sont adressés, à mes parents et à toute ma famille, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances au cours de ces années.

DEDICACE

Je dédie ce travail

A

Mes très chers et précieux parents,

Pour m'avoir encouragé et soutenu durant mes études

Mes sœurs : Razika, Alima et son mari (Lahcen)

Et mes frères

Ainsi qu'à tous mes amis (es)

Et

Toute la promotion de magister (2009)

Liste des abréviations

ANOVA: Analyse de la variance

BHA : butylhydroxyanisole

COI : Conseil Oléicole International.

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

E.A.C : Equivalent en Acide caféique

E.A.G : Equivalent en Acide Gallique

EC₅₀ : Concentration efficace pour inhiber 50 % du radical DPPH

HPLC : chromatographie liquide à haute pression

I.T.A.F.V : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne

PBST: Tampon phosphate salin tween.

Liste des tableaux

N°de tableau	Titre de tableau	Page
I	Composition en acides gras de l'huile d'oléastres et d'oliviers cultivés.	17
II	Teneurs en polyphénols totaux et <i>ortho</i> -diphénols de quelques huiles d'oléastres et des cultivars Tunisiens (exprimées en mg Equivalent d'acide caféique /Kg).	18
III	Teneurs en tocophérols de quelques huiles d'oléastres et cultivars Tunisiennes.	19
IV	Caractéristiques des olives d'oléastres et de la variété <i>Chemlal</i>	24
V	Mesure des différents caractères biométriques des fruits et des noyaux des échantillons étudiés.	38
VI	Les distances euclidiennes entre les quatre individus.	39
VII	Les caractéristiques qualitatives des échantillons d'huiles étudiés.	41
VIII	Composition en acides gras des huiles des variétés d'olives sauvages et cultivées.	43
IX	Teneurs (mg/Kg) des composés phénoliques individuels, biophénols naturels, oxydés des huiles étudiées déterminées par HPLC.	50
X	Les indices de qualité et de statut nutritionnel des échantillons d'huile étudiés.	60
XI	Concentrations efficaces 50 des différents échantillons d'huiles et des standards utilisés.	64
XII	Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles	67

Liste des figures

N°de figure	Titre de la figure	Page
1	Coupe longitudinale de l'olive	6
2	Photographie des échantillons étudiés.	25
3	Évaluation de l'activité antibactérienne des différentes variétés de l'huile d'oléastre et l'huile d'olive.	34
4	CAH des échantillons d'huiles étudiées basée sur les caractères pomologiques.	38
5	Teneur en caroténoïdes des échantillons d'huiles étudiés.	44
6	Teneur en chlorophylles des échantillons d'huiles étudiées.	45
7	Teneurs en tocophérols totaux des huiles étudiés.	46
8	Teneurs en α , β et γ tocophérols des huiles étudiés	46
9	Teneurs en polyphénols totaux des échantillons d'huiles d'étudiés.	47
10	Teneurs en <i>ortho</i> -diphénols des échantillons d'huiles étudiés.	49
11	Teneurs en dérivés secoiridoïdes des échantillons d'huiles étudiés.	51
12	Teneurs en alcools aromatiques totaux des échantillons d'huiles étudiés.	52
13	Teneurs en tyrosol et hydroxytyrosol des échantillons étudiés.	53
14	Teneurs en acides secoiridoïdes des échantillons d'huiles étudiés.	54
15	Teneurs en flavonoïdes des échantillons d'huiles étudiés.	55
16	Teneurs en lignanes des échantillons d'huiles d'étudiés.	56
17	Teneurs en acides phénoliques des échantillons d'huiles d'étudiés.	57
18	Teneurs en oléocanthal des échantillons d'huiles d'étudiés.	58
19	Rapport polyphénols oxydés sur les polyphénols totaux des échantillons d'huiles d'étudiés.	58

Liste des figures (suite)

20	Rapport d'hydrolyse (Alcools aromatiques/ Polyphénols totaux) des échantillons d'huiles étudiés.	59
21	Teneurs en composés volatiles carboniliques des échantillons d'huiles d'étudiés.	60
22	Indice de qualité et de statut nutritionnel des huiles étudiés.	62
23	Indice d'amertume des différents échantillons d'huiles d'étudiés	63
24	Activité antiradicalaire des différents échantillons d'huiles étudiés sur le radicale DPPH.	64

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

I. Synthèse bibliographique

I.1 Olivier sauvage et cultivé 3

I. 1.1 Historique et origine Botanique..... 3

I.1. 2. Domestication..... 4

I. 1.3. Olivier sauvage4

I. 1.4. Olivier cultivé5

I.2 .Olive et huile d'olive (sauvage et cultivé)..... 6

I. 2.1. Fruit d'*Olea europae* 6

I. 2.1.1. Structure de l'olive 6

I. 2.1.2 Composition chimique du fruit 7

I.2 .2.Huile d'olive 7

I.2.3. Technologie d'obtention de l'huile..... 7

I.2.4 Catégories d'huile d'olive 8

I. 2.5. Composition biochimique de l'huile d'olive et d'oléastre 8

I.2.5.1. Fraction saponifiable 8

I. 2. 5.1. 1 Glycérides	8
I. 2. 5.1. 2. Acides gras	9
I. 2. 5.2. Fraction insaponifiable.....	9
I. 2. 5. 2.1. Composés phénoliques	9
I. 2.5. 2.2. Tocophérols.....	12
I. 2. 5. 2.3. Pigments.....	13
I. 2. 5. 2.4 Substances aromatiques	14
I. 2. 5.2. 5 Stérols	15
I. 2. 5. 2.6 Squalène	15
I.3. Paramètres de caractérisation variétale	15
I.3.1. Caractères liés aux fruits	15
I.3.2. Caractères liés à la composition de l'huile d'olive	16
I.4. Activité antioxydante de l'huile d'olive	19
I.5 Propriétés antibactériennes d'huile d'olive.....	21
I.5.1 Activité antibactérienne des huiles d'olive	21
I.5.2 Activité antibactérienne des composés phénoliques.....	22

II: Matériel et Méthodes

II.1. Matériel végétal	24
II.2. Récolte et extraction	24
II.3. Caractéristiques des fruits.....	25
II.3.1. Analyses pomologiques	25
II.3.2. Indice de maturité	25
II.3.3. Humidité des fruits	26
II.3.4. Détermination de la teneur en huile des olives.....	26
II.4. Détermination des indices de l'huile	27

II.4.1. Mesure de l'acidité	27
II.4.2. L'indice de peroxyde.....	27
II.4.3. Absorbance dans l'ultraviolet	28
II.5. Composition en acides gras des huiles	28
II.6. Dosages des pigments.....	29
II.7. Détermination des tocophérols	30
II.8. Dosage des composés phénoliques	30
II.8.1. Méthode colorimétrique	30
II.8.1.1. Extraction des polyphénols totaux.....	30
II.8.1.2. Dosage des polyphénols totaux	30
II.8.1.3. Dosage des <i>ortho</i> -diphénols	31
II.8.2. Identification des composés phénoliques par HPLC	31
II.8.3. Détermination de l'indice d'amertume.....	31
II.9. Etude de l'activité antioxydante de l'huile	32
II.9.1. Activité scavenger au radical DPPH de l'huile	32
II.10. Détermination de l'activité antibactérienne.....	32
II.10.1. Standardisation des inocula bactériens	33
II.10.2. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et oléastre.....	33
II.11. Etude statistique.....	35

III: Résultats et discussion

III.1. Déterminations sur les fruits	36
III.1.1. Indice de maturité.....	36
III.1.2. Analyses pomologiques.....	36
III.1.2.1. Fruit	36
III.1.2.2. Noyau	37

III.1.2.3. Résultats de la CAH	38
III.1.3 Teneur en eau des olives	39
III.1.4 Le rendement en huile	40
III.2. Indices de qualité des huiles	40
III.2.1. L'acidité	40
III.4.2 Indice de peroxyde	41
III.4.3 Absorbance dans l'ultraviolet.....	41
III.3. La composition en acides gras.....	42
III.4. Pigments	43
III.4.1. Caroténoïdes.....	43
III.4.2. Chlorophylle.....	44
III. 5. Tocophérols	45
III.6. Les composés phénoliques	47
III.6.1. Dosage colorimétrique	47
III.6.1.1. Polyphénols totaux	47
III.6.1.2. <i>Ortho</i> -diphénols.....	49
III.6.2. Identification des phénols des huiles par HPLC	49
III.6.3. Identification des composés volatiles carbonyliques des huiles par HPLC	60
III.6.4. Indice de qualité et de statut nutritionnel des échantillons d'huiles.....	61
III.6.5. Indice d'amertume.....	63
III.7.Activité antioxydante	64
III.7.1. Activité antiradicalaire de l'huile sur le radical DPPH	64
III.8. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et oléastre	66
III.8.1 Activité antibactérienne à l'égard des Gram positif.....	67
III.8.1 L'activité antibactérienne à l'égard des Gram négatif	68

Conclusion74

Références Bibliographiques

Annexes

La consommation de l'huile d'olive dans le monde ne cesse d'augmenter en raison de ses qualités nutritionnelles et thérapeutiques. Ses vertus sont connues depuis des siècles, en particulier dans la région méditerranéenne où le climat est des plus propices à la culture d'olivier et qui est caractérisée par une gamme de variétés.

L'oléastre, qui appartient à la végétation naturelle des aires méditerranéennes, dont l'infertilité avec les cultivars est connue, a joué un rôle clé dans la diversification variétale. Sa présence généralisée dans tous les pays du bassin méditerranéen et la possibilité d'introggression génétique des populations locales d'oléastres dans les variétés sélectionnées successivement, ont déterminé non seulement la variabilité génétique actuelle mais également l'adaptation de l'olivier à différents environnements (Breton *et al.*, 2006).

Les travaux réalisés ont montré que l'olivier sauvage présente une huile de haute qualité comparable à celle des variétés cultivées les plus connues telle la variété *Chemlali* tunisienne (Bccouri *et al.*, 2008 ; Dabbou *et al.*, 2010).

Les ressources génétiques de l'olivier sauvage existent en abondance en Algérie et notamment à Béjaia. De vastes espaces incultes sont occupés par l'oléastre dans la wilaya, se propageant sans l'intervention humaine, ces ressources n'attirent l'intérêt de personne (Mendil et Sebai 2006). Actuellement, seuls quelques paysans, poussés soit par la passion soit par la nécessité, tiennent à leurs oliviers sauvages, leur prodiguant des soins et les transformant au moyen de la greffe en oliviers cultivés.

A ce jour aucune étude nationale, pour faire l'inventaire de ce patrimoine et en identifier les populations d'appartenance, n'a été réalisée. En l'état actuel des choses, personne ne peut affirmer si nos oléastres appartiennent aux populations férales ou aux vraies populations sauvages. Il en est de même de l'huile d'oléastre. D'ailleurs, trop peu de gens peuvent prétendre savoir que l'oléastre donne une huile appréciée notamment en pharmacologie mais jusqu'à présent, mis à part quelques indications thérapeutiques avancées par quelques paysans kabyles, on ne sait pratiquement rien des vertus de cette huile qui pourrait être produite chez nous en plus grande quantité puisque l'oléastre en est une espèce endémique.

Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules anti-oxydantes et antimicrobiennes comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols. Il nous est semblé donc intéressant d'inscrire ce travail dans ce contexte de recherche.

Il serait ainsi intéressant de caractériser l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile d'oléastre de la région de Bejaia.

Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette étude, une synthèse bibliographique est présentée sur l'oléastre et l'olivier cultivé, le fruit, la composition et la

qualité de l'huile, les paramètres permettant une distinction variétale, les antioxydants et l'activité antibactérienne.

La deuxième partie, expérimentale, est consacrée à l'étude des caractères biométriques des fruits, la détermination des indices de qualité de l'huile, la composition en acides gras, le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et *ortho*-diphénols) et des pigments, l'identification des tocophérols et des composés phénoliques individuels par HPLC, l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des échantillons d'huile d'oléastres et la variété d'huile d'olive *Chemlal*.

I. 1.1 Historique et origine botanique

L'olivier appartient à la famille des *Oleaceae* qui compte 20 à 30 genres (Wallander et Albert, 2000). Le genre *Olea* comprend environ 30 espèces réparties en trois sous-genres, *Tetrapilus*, *Paniculatae* et *Olea*, retrouvés respectivement en Asie, en Australie et les pays entourant le bassin méditerranéen (Breton *et al.*, 2008). *Olea* est divisé en 2 sections : *Ligustroïdes* (10 espèces environ) et *Olea* (une seule espèce : *europaea*). D'après les récentes révisions taxonomiques d'*Olea europaea* (Green, 2002 ; Breton *et al.*, 2008), cette dernière est divisée en six sous espèces, basée sur la morphologie et la distribution géographique :

- 1) Sous espèce *cuspidata*, répandue en Chine, Inde, Pakistan, Iran, Arabie, Afrique
- 2) Sous espèce *laperrinei*, limitée aux régions Sahariennes
- 3) Sous espèce *maroccana*, limitée au Maroc
- 4) Sous espèce *merasiformis*, limitée aux îles des Madeira
- 5) Sous espèce *guanchica*, limitée aux îles des Canarie
- 6) Sous espèce *europaea*, largement distribuée tout au long du bassin méditerranéen.

Les formes cultivées et sauvages de l'olivier sont considérées comme deux variétés de la sous espèce *europaea* (Médail *et al.*, 2001); le type sauvage, un complexe de formes non cultivées et chétif, classé conventionnellement comme *Olea europaea* var. *oleaster* ou *sylvestris*, est un composant, de la végétation thermophile méditerranéenne (Bronzini *et al.*, 2002 ; Baldoni *et al.*, 2006). La forme cultivée *Olea europaea* var. *sativa* est caractérisée par rapport à la forme sauvage, par une production plus élevée en bois et fruits avec un mésocarpe charnu (Breton *et al.*, 2006 ; Carrion *et al.*, 2010).

L'huile d'olive a été utilisée en tant que carburant de lampe, et comme lubrifiants. Le fruit a été facilement traité par salaison et le bois d'olivier était utilisé comme combustible et carburant (Terral *et al.*, 2004). L'huile servait aussi dans la fabrication des parfums et onguents dans les industries crétoises et mycéniennes. Les olives sauvages plutôt que celles cultivées ont été apparemment préférées, et étaient employées pour des préparations médicinales (Firestone, 2005).

En Algérie, l'oléastre véritable aurait existé depuis des millénaires avant notre ère, mais aucune indication ne permet d'en comprendre l'évolution (Mendil et Sebai, 2006).

Son importance dans l'alimentation des anciens habitants de Djerba, en Tunisie, qui, en pressant ses fruits, obtenaient de l'huile, a déjà été citée (Boudribila, 2004).

I.1.2. Domestication

L'olivier est certainement l'un des plus anciens arbres cultivés, sa culture remonte au néolithique. Les historiens et parmi eux De Candolle, considérait qu'il provenait d'Asie mineure et du proche orient, où il croissait originellement en abondance à l'état sauvage (Besnard *et al.*, 2007). En effet, les évidences archéologiques, géographiques et biologiques rendent compte que l'olivier cultivé dérivait de la domestication de l'oléastre qui constitue le pool génétique des oliviers cultivés et qu'elle s'est produite à la fin de l'âge de bronze au nord ouest de la méditerranée et s'est probablement réalisée sur de longues périodes (Amane *et al.*, 2000).

Plusieurs origines de domestication ont été suggérées en Tunisie, Algérie, Corse, Maroc, Italie, Palestine et France car les cultivars partagent des ressemblances génétiques avec les oléastres locaux de ces régions (Breton *et al.*, 2008, 2009) .

Lumaret et Ouzzani (2001) ; Bervillé *et al.* (2004) et Doveri et Baldoni(2007), ont suggéré que les premiers oléiculteurs ont choisi dans des bois des oléastres ou des oliviers sauvages améliorés par sélection des individus qui ont retenu leur attention en raison de quelques caractéristiques utiles.

La différence phénotypique entre l'oléastre et l'olivier cultivé est que ce dernier porte des feuilles plus épaisses et un fruit plus grand avec une distribution plus vaste que l'oléastre (Breton *et al.*, 2008; Hannachi *et al.*, 2009). La sélection était possible par des propagations végétatives faciles utilisant des boutures plantées directement ou des greffages sur des oléastres indigènes (Zitoun *et al.*, 2008; Fabri *et al.*, 2009). Grâce à ces propagations, des cultivars d'olivier se sont développés et distribués par les migrations successives de l'Homme (Lumaret *et al.*, 2004; Essadki *et al.*, 2006).

I. 1.3. Olivier sauvage

Typique de la garrigue méditerranéenne, *Olea europae* L. var *sylvestris*, plus communément nommée oléastre « Azeboj en kabyle». L'oléastre est un arbre vivace de 2 à 15 m de hauteur, dont les rameaux ont une section presque carrée et épineux à feuilles persistantes, caractérisé par la lenteur de croissance et le passage tardif en phase

de production ainsi qu'une remarquable longévité. Il est présent sous deux formes non distinguables morphologiquement, soit indigène, soit férale dérivant de descendant ensauvagé d'olivier (Besnard et Bervillé, 2000).

A travers le bassin méditerranéen, l'oléastre diffère de l'olivier cultivé par la présence de poussées épineuses, de petites feuilles à face inférieure argentée couverte de poils de 3 à 4 cm (5-8 cm pour l'olivier cultivé), de petits fruits (0,5-1,2 cm) caractérisés par un mésocarpe peu charnu et un contenu faible en huile (Hannachi *et al.*, 2008 ; Banilas *et al.*, 2009).

L'olivier sauvage se reproduit sexuellement et les graines sont dispersées par le vent et les oiseaux (Alcantara et Rey, 2003). Sa présence est considérée comme un bon indicateur de la région floristique méditerranéenne. D'un point de vue écologique, il possède un rôle dans la protection des sols des éventuelles désertifications due à sa résistance aux conditions environnementales défavorables (Mulas et Deidda, 1998).

I. 1.4. Olivier cultivé

L'olivier cultivé constitue dans la plupart des pays du bassin méditerranéen, la principale source fruitière, tant pour le nombre d'arbres cultivés que pour l'importance sociale et économique de sa culture et son rôle environnemental (Lumaret *et al.*, 2004). C'est un arbre très rameux au tronc noueux, au bois dur, à feuilles persistantes de 2 à 3 ans et d'une hauteur de 4 à 15 m suivant les variétés et les conditions de culture. Sa longévité et sa productivité dépassant la centaine d'années et la production commence après 5 à 6 ans de plantation (Fabri *et al.*, 2009).

On reconnaît maintenant des milliers de cultivars d'olivier différenciés par leurs ports ainsi que la phénologie et la morphologie des feuilles et des fruits et ils sont caractérisés par des formes locales (Breton *et al.*, 2006). Ces cultivars existent à la fois pour répondre aux exigences des microclimats et territoires variés, ainsi que pour satisfaire les goûts des consommateurs (Besnard *et al.*, 2001a).

I.4. Fruit d'*Olea europaea*

Le fruit est une drupe à épicarpe d'abord vert puis noirâtre à maturité, de forme ovoïde ou ellipsoïde et de dimensions très variables selon les variétés. En général, l'oléastre présente un petit fruit (0,5-1,2 cm) en comparaison à l'olivier cultivé (1,2-4 cm). Cela dépend du génotype, de l'environnement ainsi que du nombre de fruits portés par l'arbre (Baccouri *et al.*, 2008; Hannachi *et al.*, 2008).

I.4.1. Structure de l'olive

Selon Bianchi(2003), l'olive est constituée de trois parties (figure 1) : L'épicarpe, Le mésocarpe et L'endocarpe.

- ❖ L'épicarpe est la couche fine externe de l'olive. Il comprend l'épiderme avec sa cuticule. Il représente 1 à 3 % du poids du fruit. La couleur de la peau varie du vert en début de maturation au vert jaunâtre, rose violacée, violet et noir à pleine maturité. Ces variations de couleur sont liées à la composition en pigments dans le fruit (Bianchi, 2003).
- ❖ Le mésocarpe, dénommé également la pulpe, représente 70 à 80% du poids du fruit et renferme des cellules parenchymateuses. Le mésocarpe renferme la plus grande partie d'huile (96 à 98 %) qui se trouve sous forme libre dans des vacuoles et sous forme liée à l'intérieur du cytoplasme (El Antari *et al.*, 2003a).
- ❖ L'endocarpe (noyau) représente 18 à 22 % du poids du fruit. Etant caractéristique de la variété, la taille du noyau, son poids, sa forme et son degré de détachement de la pulpe sont des paramètres déterminants de la qualité du produit fini (Bianchi, 2003 ; Rodriguez *et al.*, 2007). Il est composé de deux sous systèmes : le premier constitué par la partie la plus externe de la graine, le second constitué par la matrice protéique, contenant la composante lipidique et la composante hydrophile (Bianchi, 2003).

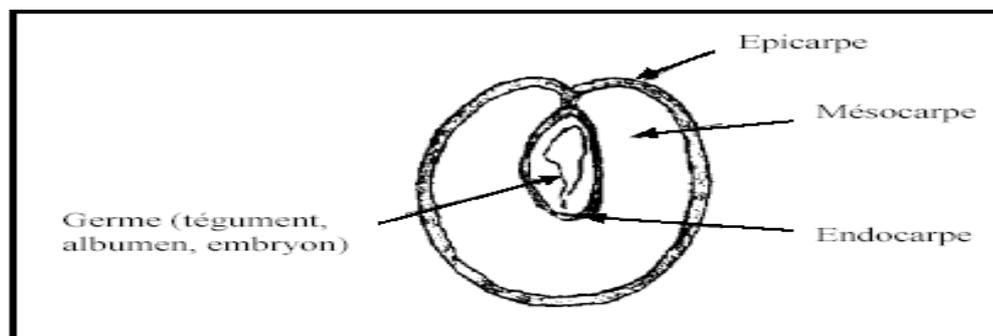


Figure n°1 : Coupe longitudinale de l'olive (Bianchi, 2003).

L'olive atteint son poids maximal après huit mois suivant la période de floraison et subit des modifications physiologiques et des changements de couleur indiquant sa maturité et son développement morphologique final (Bouaziz *et al.*, 2004). Ce développement engendre un changement de taille, de couleur, de composition, de texture, ainsi que la saveur et la susceptibilité aux pathogènes (Baccouri *et al.*, 2008; Conde *et al.*, 2008).

I.4.2. Composition chimique du fruit

Le fruit dispose d'un contenu variable en huile qui est de 8-15% et de 18-28% pour l'oléastre et l'olivier cultivé respectivement (Hannachi *et al.*, 2008). Ce contenu est variable selon la localisation géographique et les conditions environnementales et il est considéré comme un paramètre efficace pour différencier l'oléastre de l'olivier cultivé (Rotondi *et al.*, 2004; Hannachi *et al.*, 2008).

En outre, l'olive renferme une quantité considérable d'eau, des protéines, des polysaccharides, des minéraux et des composés mineurs qui confèrent à l'huile d'une part, une partie de ses qualités gustatives et nutritionnelles et d'autre part, sa stabilité oxydative (Conde *et al.*, 2008).

I.2.2. Huile d'olive

I.2.3. Technologie d'obtention de l'huile

Les tendances actuelles dans la technologie de production de l'huile d'olive se sont orientées vers la préservation des constituants mineurs présents dans l'huile, qui ont d'importantes propriétés nutritionnelles et thérapeutiques (Boskou, 2009).

Les olives cueillies doivent être entières, saines, suffisamment mûres et propres (Metzidakis *et al.*, 1995). Elles sont ensuite broyées pour faire sortir les gouttelettes d'huile (Di Giovacchino, 1991, Uceda *et al.*, 2006). Ce procédé est suivi par un malaxage, étape permettant de réunir en une phase continue les gouttes d'huiles dispersées dans la pâte. Cette phase a une grande importance pour déterminer le compromis convenable entre rendement quantitatif en huile et qualité (Di Giovacchino, 1999; Chimi, 2006).

La séparation des différentes phases est réalisée soit par le système de pression qui représente le procédé le plus ancien, la centrifugation ou le système de percolation. Après extraction par pression ou centrifugation, le liquide obtenu est composé d'eau de

végétation et d'huile. Ainsi, la séparation est réalisée grâce à la différence de densité de ces deux liquides (Koutsaftakis et Stefanodakis, 1995 ; Alba Mendoza, 1999). L'huile d'olive est filtrée sur papier ou sur terre inerte afin d'éliminer les impuretés et les traces d'eau (Uzzan, 1994) puis stockée dans des cuves en inox pour éviter toute oxydation (Benyahia et Zein, 2003).

I.2.4. Catégories d'huile d'olive

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

Les huiles d'olive peuvent être répertoriées selon diverses catégories établies selon les caractéristiques des huiles. Le Conseil Oléicole International (COI, 2003) a ainsi répertorié quatre catégories d'huile d'olive qui sont rassemblées dans le tableau en annexe 1.

I.2.5. Composition biochimique de l'huile d'olive et d'oléastre

La composition de l'huile dépend principalement de la composition et la qualité du fruit, des conditions agronomiques, du degré de maturité, des procédés d'extraction et des conditions de stockage (Kalua *et al.*, 2007).

Les constituants de l'huile d'olive sont souvent classés en deux catégories : la fraction saponifiable et la fraction insaponifiable (Inglese, 1994; Conde *et al.*, 2008).

I.2.5.1. Fraction saponifiable

La quasi-totalité de la composition de l'huile est représentée par la fraction saponifiable, environ 99 % (Ruiz *et al.*, 1999). Elle se compose essentiellement de :

I.2.5.1.1. Glycérides

Les glycérides ou les acyl-glycérols sont représentés en majorité dans l'huile d'olive par les triglycérides (plus de 95 % des lipides totaux) et les diglycérides (environ 2,6 %) (Zarrouk *et al.*, 1996). Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont : trioléine « OOO » dont le taux est très élevé (47,54 à 58,34%), la dioléopalmitine « POO » (18,72 à 21,81%), la dioléolinoléine « OOL » (15,10 à 20,96%) et la

palmitooléolinoléine « POL » (3,16 à 6,94%), les autres triglycérides ont des taux de l'ordre de 0,5 à 2%. (Ben Tekaya et Hassouna, 2005 ; Tanouti *et al.*, 2011).

I.2.5.1.2. Acides gras

La composition en acides gras constitue un aspect essentiel pour l'évaluation qualitative d'une huile et elle a été récemment utilisée par quelques auteurs comme paramètre de classification des huiles d'olive (Baccouri *et al.*, 2007a).

D'après Hannachi *et al.* (2008, 2009), l'huile d'oléastre et d'olivier cultivé ont la même composition qualitative en acides gras, et l'oléastre présente une composition conforme aux normes données par le Conseil Oléicole International 2003 (annexe 5) (Baccouri *et al.*, 2008).

Une prédominance de l'acide oléique caractérise le profil d'acides gras totaux que se soit pour l'huile d'olive ou l'huile d'oléastre qui présentent des taux de 59 - 82% et 71,1 - 86 % respectivement (Ollivier *et al.*, 2006; Hannachi *et al.*, 2009). L'abondance de cet acide gras monoinsaturé est une caractéristique qui met en valeur l'huile d'olive et la caractérise des autres huiles végétales (Baccouri *et al.*, 2007b).

Les autres acides gras tels que l'acide palmitique, linoléique, stéarique et autres sont présents à des teneurs faibles et certains à l'état de traces (Baccouri *et al.*, 2007b, 2008c ; Hannachi *et al.*, 2009). D'après Perrin (1992), de toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est celle qui présente le plus fort rapport acides gras monoinsaturés /acides gras polyinsaturés. Cette particularité confère à l'huile d'olive une plus grande stabilité à l'oxydation.

I.2.5.2. Fraction insaponifiable

Elle est appelée également fraction non glycéridique, et souvent accompagnée des termes composants mineurs de l'huile qui sont des indicateurs des caractéristiques d'authenticité physico-chimique, et lui prêtent ses propriétés sensorielles et biologiques distinctes (Pinelli *et al.*, 2003).

Ces constituants représentent 1 à 2 % de la composition totale de l'huile d'olive et comptent plus de 230 composés présents essentiellement dans l'huile d'olive extra vierge (Servili *et al.*, 2004).

I.2.5.2.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal, l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau

benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Monpon *et al.*, 1996). Ils sont issus de deux grandes voies d'aromagnèse : la voie shikimate et la voie acétate (Bruneton, 1993).

L'huile d'olive est quasiment la seule huile contenant des quantités notables de substances phénoliques naturelles, qui lui confèrent son goût si particulier à la fois amère et fruité et contribuent à la bonne stabilité de l'huile à l'oxydation (Tura *et al.*, 2007). Outre leurs propriétés antioxydantes, ils possèdent d'intéressantes propriétés antibactériennes et thérapeutiques (Shahidi et Naczki, 2004).

Selon Leger (2003), les composés phénoliques participent à la stabilité de l'huile soit par piégeage des radicaux libres, soit par chélation des métaux de transition tel que l'ion ferreux Fe^{+2} , par exemple, qui est un catalyseur d'oxydation.

D'après Baldioli *et al.* (1996), les polyphénols de l'huile d'olive ayant la plus forte activité antioxydante sont ceux appartenant au groupe d'*ortho*-diphénol principalement l'hydroxytyrosol.

Un profil spécifique de 45 composés phénoliques a été décrit chez une variété Italienne (Oliveras-Lopez *et al.*, 2007). La teneur en ces composés diffère d'une huile à une autre (Boskou, 2006) ; les valeurs usuelles oscillent entre 75 et 700 mg/kg (Morello *et al.*, 2004).

Baccouri *et al.* (2008) rapportent que les teneurs en phénols et en *O*-diphénols d'huile d'oléastre oscillent entre 186 - 435 mg/kg et 105 - 217 mg/kg respectivement et sont hautement affectés par le facteur génétique.

Différentes familles de composés phénoliques sont présentes dans les olives et dans les huiles, les classes les plus importantes sont les acides phénoliques et dérivés, les alcools phénoliques, les sécoiridoïdes, les lignanes et les flavonoïdes (Tsimidou, 1998). Ces composés présentent des structures variées associées à des propriétés diverses (figure1, annexe 2).

❖ Acides phénoliques

Les acides phénoliques de structure chimique hydroxybenzoïque (C6-C1) et hydroxycinnamique (C6-C3), sont présents dans l'huile à des proportions inférieures à 1 mg/kg et sont représentés par l'acide caféique, vanillique, syringique, *p*-coumarique, *o*-

coumarique, protocatechique, sinapique et *p*-hydroxybenzoïque (Ayez et Bertoft 2001 ; Bianco *et al.*, 2006).

❖ Alcools phénoliques

L'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenyl-éthanol) et le tyrosol (*p*-hydroxyphenyl-éthanol) sont les principaux alcools phénoliques présents dans l'huile d'olive (Bendini *et al.*, 2007). Ils dérivent respectivement de l'hydrolyse de l'oleuropeine aglycone et ligstroside aglycone durant la maturation des olives (Boskou, 2009).

Leurs teneurs sont généralement faibles dans l'huile fraîche (Servili et Montedoro, 2002). D'après Servili *et al.* (2004), cette teneur augmente graduellement au cours du stockage, cette augmentation est due à la libération des molécules d'hydroxytyrosol et du tyrosol des secoiridoïdes comme 3,4-DHPEA-EDA, *p*-HPEA-EDA et 3,4-DHPEA-EA.

D'autres travaux menés sur l'identification des composés phénoliques de l'huile d'olive ont révélé la présence d'autres alcools phénoliques, caractérisés par la présence d'hydroxytyrosol dans leur structure. En effet, une étude menée par Brenes *et al.* (1999) montre la présence d'une molécule de 4-(acétoxyéthyl)-1,2-dihydroxybenzène ou d'hydroxytyrosol acétate caractérisé par un groupement acétyle lié au groupement méthylène de l'hydroxytyrosol. La présence de cet alcool phénolique est confirmée par Gomez-Alonso *et al.* (2002).

❖ Secoiridoïdes

Appartiennent au groupe des coumarines (Bendini *et al.*, 2007), ils sont caractérisés par la présence d'acide élénolique et ses dérivés dans leur structure, ces composés sont le résultat d'hydrolyse des secoiridoïdes glucosides présents dans le fruit d'olive principalement l'oleuropéine, demethyloleuropéine et ligstroside, la réaction d'hydrolyse est catalysée par la β -glucosidase (Angerosa *et al.*, 1996).

Les secoiridoïdes représentent la fraction majoritaire des polyphénols de l'huile d'olive, généralement ils sont représentés par la forme dialdéhydrique de l'acide élénolique liée à l'hydroxytyrosol (3,4-DHPEA-EDA) ou liée au tyrosol (*p*-HPEA-EDA) et les isomères d'oleuropéine aglycone (3,4-DHPEA-EA) (De la Torre-Carbot *et al.*, 2005).

Les formes dialdéhydriques de l'oleuropéine aglycone et du ligstroside aglycone sont des secoiridoïdes présents en faible quantité dans l'huile d'olive (Montedoro *et al.*, 1993).

❖ Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent 2% de la fraction phénolique polaire de l'huile d'olive (Pinelli *et al.*, 2003). Ils sont représentés par les flavonols glycosides (lutéine -7-glucoside et la rutine) et les anthocyanes (Morello *et al.*, 2004).

Carrasco-Pancorbo *et al.* (2004) ont identifié la taxifoline qui est un flavanonol présent dans l'huile des variétés *Arbequina* et *Picual* espagnoles.

❖ Lignanes

Les lignanes sont des dimères de phénylpropanoïdes dans lesquels les unités phénylpropanes sont liées par le carbone central (C8) de chaque chaîne propyle. Ils sont présents à des concentrations considérables dans l'huile d'olive, principalement le pinoresinol et le 1-acetoxypinoresinol (Brenes *et al.*, 2000).

❖ Hydroxy-isochromanes

Selon Bendini *et al.* (2007), les hydroxy-isochromanes présents dans l'huile d'olive sont générés par l'interaction de l'hydroxytyrosol et les composés carbonylés résultants du processus d'extraction de l'huile. En effet, l'interaction de l'hydroxytyrosol avec la vanilline ou le benzaldéhyde produit le 1-phenyl-6,7-dihydroxy-isochromane et le 1-(3'-methoxy-4'-hydroxy)phenyl-6,7-dihydroxy-isochromane respectivement (Bianco *et al.*, 2001).

Durant l'étape de malaxage des olives, le taux d'hydroxytyrosol et des composés carbonylés augmente suite à l'activation de quelques enzymes favorisant ainsi la formation de dérivés isochromanes qui ont été détectés dans différents échantillons d'huile d'olive extra vierge (Bianco *et al.*, 2001).

I. 2.5. 2.2. Tocophérols

Les tocophérols sont des dérivés prenylés du benzodihydropyrane constitués d'un noyau chromane méthylé et d'une chaîne polyisoprénique plus au moins saturée. On dénombre quatre isoformes: α , β , δ , γ qui diffèrent par le nombre et la position des groupements méthyles sur le noyau aromatique (Soulier et Farines, 1992) (annexe 3). Cette différence structurale conduit toutefois à des pouvoirs antioxydants différents (Poisson et Narce, 2003).

Dans l'huile d'olive, les tocophérols se trouvent sous forme libre ou estérifiée et dans plus de 95 % sous forme d' α tocophérol, en plus de l'activité vitaminique, ils exercent une activité antioxydante par rupture de la chaîne radicalaire lors des étapes de propagation de l'oxydation lipidique, comme ils peuvent prévenir l'action de l'oxygène singulet, initiateur de la peroxydation des lipides (Kamel-Edin et Appelquist, 1996).

D'après Baccouri *et al.* (2008), le contenu en tocophérols de l'huile d'oléastre présente des teneurs qui varient de 309 à 782 mg /kg. L' α tocophérol est présente à des concentrations de 170 à 590 mg/kg, alors que la concentration des autres isoformes ne dépasse pas 100 mg /kg.

I.2.5.2.3. Pigments

La présence de pigments naturels est parmi les facteurs majeurs affectant la qualité d'une huile, vu que leurs teneurs est en rapport avec la couleur qui est un attribut de base dont le consommateur tient en considération (Salvador *et al.*, 1998). Ces pigments ont un rôle important à l'égard des caractéristiques technologiques et stabilité de l'huile due à leur nature antioxydante en obscurité et prooxydante en présence de la lumière (Baccouri *et al.*, 2008).

Deux groupes de pigments sont identifiés dans l'huile d'olive, qui sont présents naturellement dans le fruit d'olive : les caroténoïdes et les chlorophylles.

➤ Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des molécules terpéniques qui possèdent une activité antioxydante (Giuffrida *et al.*, 2006). Ils sont connus comme inhibiteurs de la photooxydation en désactivant l'oxygène singulet induit par les pigments chlorophylliens (Kiritsakis et Osman, 1995). Ils sont caractérisés par une longue chaîne carbonée à doubles liaisons conjuguées. Ils sont responsables des colorations rouge, orange et jaune des fruits et végétaux. Ils fournissent à la fois des colorants lipo et hydrosolubles ainsi qu'une activité provitaminique (Çinar, 2004).

L'huile d'olive renferme des teneurs variables en caroténoïdes allant de 2 - 29 mg/kg (Criado *et al.*, 2008). Les caroténoïdes majeurs sont la lutéine et le β -carotène (Boskou, 2009) (annexe 3). Par ailleurs, les teneurs de l'huile d'oléastre en caroténoïdes oscillent entre 1- 4,2 mg/kg et elles sont remarquablement influencées par la variété, le stade de maturité des fruits, les conditions environnementales, les conditions d'extraction et notamment de stockage (Baccouri *et al.*, 2008).

➤ Chlorophylles

Ils représentent un groupe de tetrapyroles à magnésium, responsables de la nuance verdâtre de l'huile d'olive et d'oléastre (Baccouri *et al.*, 2007b, 2008). Les teneurs en chlorophylles d'huile d'oléastre et d'olive oscillent respectivement entre 1,9 - 6,37 mg/kg et 1,9 - 6,9 mg/kg (Baccouri *et al.*, 2008 ; Allalout *et al.*, 2009).

Exposées à la lumière, les chlorophylles acquièrent une activité prooxydante contribuant ainsi à la dégradation des propriétés organoleptiques de l'huile (Kristakis, 1985). Cela, est la conséquence d'une production d'oxygène singulet par transfert d'énergie lumineuse à l'oxygène triplet qui peut directement agir sur les acides gras insaturés de l'huile générant ainsi des hydroperoxydes qui sont à l'origine du rancissement de l'huile (Ben Takaya et Hassouna, 2007). En outre, une activité antioxydante leur a été attribuée en absence de la lumière et contribuent ainsi à l'augmentation de la durée de stockage de l'huile d'olive (Criado *et al.*, 2008).

I.2.5.2.4. Substances aromatiques

Les composés responsables de l'arôme délicat et unique de l'huile d'olive, proviennent des fruits et sont formés durant le broyage et le malaxage des olives (Salas *et al.*, 2000). Ces arômes sont un mélange de composés volatils : les aldéhydes saturés et insaturés, les alcools, les esters et les cétones (Morales *et al.*, 2005).

Plus de 64 composés aromatiques ont été identifiés par Luna *et al.* (2006) dans 39 variétés cultivées. Par ailleurs, 45 composés ont été déterminés dans l'huile de 5 variétés d'oléastres dont certains ont été rarement cités dans la littérature (Baccouri *et al.*, 2007b).

Les composés volatils sont produits lors de l'oxydation des acides gras polyinsaturés à travers une cascade de réactions connues sous le nom de la voie de la lipoxigénase qui est responsable de l'arôme délicat de l'huile d'olive (Manai *et al.*, 2008), alors que les oxydations chimiques et les enzymes exogènes généralement d'origine microbienne sont associés à la qualité défectueuse de l'huile d'olive (Kalua *et al.*, 2007). En effet, ces composés peuvent être utilisés comme indicateurs de la qualité de l'huile, pour détecter un possible rancissement ou adultération ou pour déterminer la variété d'une huile (Angersora, 2002).

I.2.5.2.5. Stérols

Les stérols représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive. Ils sont présents sous forme libre ou estérifiée avec les acides gras (Philips *et al.*, 2002). Ils sont des composés importants pour la stabilité de l'huile puisque ils agissent comme inhibiteurs des réactions de polymérisation à température élevée et fournissent un important paramètre pour la détection de fraudes ainsi que l'adultération des l'huiles (Salvador *et al.*, 1998). Les teneurs de l'huile d'olive en stérols varient de 0,1 à 0,2 %, parmi les facteurs influençant ces teneurs, figurent la variété des olives, leurs degrés de maturité, les conditions d'extraction et de stockage (Boskou, 2009).

Le β -sitostérol est le principal stérol de l'huile d'olive et représente plus de 75% des stérols totaux dont les propriétés thérapeutiques sont bien discutées. Les autres stérols sont le 5-avenastérol, le campestérol, le stigmastérol (annexe 3) (Gorinstein *et al.*, 2003). Ben Tekaya et Hassouna (2005) rapportent que les stérols de l'huile d'olive, en particulier le β -sitostérol et le 5-avenastérol, sont doués de propriétés antioxydantes.

I.2.5.2.6 Squalène

Le squalène est un terpène insaturé largement distribué dans la nature (annexe 3). C'est un intermédiaire dans la biosynthèse des phytostérols et compte plus de 90 % des hydrocarbures présents dans l'huile d'olive (Owen *et al.*, 2000c). Son taux dans l'huile d'olive est de 0,8 – 12 g/kg (Manzi *et al.*, 1998) et il est caractérisé par une stabilité élevée sous des conditions d'autoxydation et contribue ainsi à la stabilité de l'huile d'olive après exposition à la lumière (Nenadis et Tsimidou, 2002).

I.3. Paramètres de caractérisation variétale

Plusieurs études ont été menées pour comprendre l'effet variétal sur les modifications de la composition qualitative et quantitative de l'huile d'olive. La plupart des résultats ont confirmé l'utilisation de quelques paramètres pour différencier les huiles de différentes variétés (Aparicio et Luna, 2002).

I.3.1. Caractères liés aux fruits

I.3.1.1. Poids des fruits

Ce paramètre est considéré comme une caractéristique variétale (El Antari *et al.*, 2003b). La grosseur du fruit et la proportion de la pulpe sont deux caractéristiques recherchées aussi bien pour les variétés d'olive de table que pour les variétés à huile

(Abaza *et al.*, 2002). D'après El Antari *et al.* (2003a), une distinction nette entre des variétés à huile de la collection méditerranéenne est obtenue grâce au poids des fruits. Manai *et al.* (2006) ont caractérisé cinq descendants d'olivier issus d'hybridation grâce au poids moyen de leur fruit; leurs résultats ont montré que les cinq descendants avaient un poids supérieur à celui de la variété *Chemlali*.

I.3.1.2. Teneur en huile

Selon Abaza *et al.* (2002), la teneur en huile est un critère à envisager lors d'une sélection variétale. Sanchez Cacas *et al.*, (1999) et Zarrouk *et al.*, (2009) ont classé les variétés selon leur rendement en huile par rapport à la matière sèche comme suit :

1. variétés présentant un rendement élevé (>46%) ;
2. variétés présentant un rendement moyen (de 46% à 38%) ;
3. variétés présentant un rendement faible (<38%).

Hannachi *et al.*, (2009) ont pu différencier l'olivier cultivé de l'oléastre grâce à ce paramètre.

I.3.2. Caractères liés à la composition biochimique de l'huile

I.3.2.1. Composition en triglycérides

Les travaux de Baccouri *et al.* (2010) ont montré une grande variabilité de la fraction triglycéridique en fonction des cultivars. L'étude menée par Diaz *et al.* (2005) sur la caractérisation des huiles d'olive vierges espagnoles, a démontré la possibilité d'une identification d'une huile obtenue des olives de "*Manzanilla cacarena*" grâce à sa composition chimique, essentiellement son profil en triglycérides utilisant une analyse par composante principale.

I.3.2.2. Composition en acides gras

La composition en acides gras, qui est génétiquement déterminée, permet de faire une distinction variétale (Ranalli *et al.*, 1997). Chaque variété conserve son propre rythme de biosynthèse des acides gras (El Antari *et al.*, 2003b) (Tableau I).

Baccouri *et al.* (2007a) ont rapporté que les proportions en quelques classes d'acides gras sont intéressantes pour caractériser des populations d'oléastres tunisiennes.

Tableau I: Composition en acides gras de l'huile d'oléastres et d'oliviers cultivés

Acide gras %		C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Références
Huiles d'oléastres (Tunisie)	ZI2	8,7	3,0	0,5	78,4	0,4	7,1	0,7	Baccouri <i>et al.</i> (2008)
	ZI1	9,2	3,5	0,5	74,8	0,6	10	0,8	
	Oléastre 3	16,2	1,31	1,82	66,96	12,46	0,9	0,29	Hannachi <i>et al.</i> (2009)
	Oléastre 4	15,14	1,22	2,56	67,03	12,90	0,83	0,3	
	Oléastre K	13,38	1,44	2,39	66,27	13,78	0,64	1,12	
Oléastre M	15,38	2,39	2,38	63,18	14,39	0,79	0,47	Dabbou <i>et al.</i> (2011)	
Huiles d'olives	<i>Ayvalik</i> (Turquie)	12,40	0,6	2,6	72,3	10,3	0,8	/	Andjelkovic <i>et al.</i> (2009)
	<i>Chemlali</i> (Tunisie)	15,01	1,80	3,22	69,54	9,17	0,69	/	Zarouk <i>et al.</i> (2008)

/ : Non déterminé.

I.3.2.3. Pigments

Plusieurs études ont montré des différences essentiellement quantitatives des pigments contenus dans le fruit et l'huile d'olive vierge de plusieurs cultivars (Psomiadou et Tsimidou, 2001).

Les huiles issues d'oléastres Tunisiens (H3 et Z11) contiennent moins de chlorophylles et caroténoïdes (5,3 et 3,3 mg/kg pour chlorophylles et 3,3 et 1 mg/kg pour caroténoïdes respectivement) analysés par Baccouri *et al.* (2008) que l'huile d'olive Iranienne analysée par Hashempor *et al.* (2010) dont les taux sont de 9,51 mg/kg pour chlorophylles et 4,97 mg/kg pour caroténoïdes.

Roca et Minguez-Mosquera (2001) ont étudié des huiles d'olives de différentes variétés extraites par différentes méthodes et ont conclu que l'effet génétique (variété) est le facteur déterminant de la couleur de l'huile d'olive comparé à l'effet de la technologie utilisée.

I.3.2.4. Composés phénoliques

La composition en polyphénols de l'huile d'olive est largement influencée par le cultivar (Ocakoglu *et al.*, 2009). De nombreuses études ont montré que certaines variétés d'olives étaient plus riches en composés phénoliques que d'autres et que le

profil en composés phénoliques peut servir pour une caractérisation variétale (Oliveras-Lopez *et al.* 2007) (Tableau II).

Baccouri *et al.* (2010) ont rapporté que les teneurs en polyphénols totaux et *Ortho*-diphénols des huiles d'oléastres sont hautement dépendantes de la variété.

Tableau II : Teneurs en polyphénols totaux et *ortho*-diphénols de quelques huiles d'oléastre et des cultivars Tunisiennes (en mg Equivalent d'acide caféique /Kg).

	Origine	Variétés	Polyphénols totaux	<i>Ortho</i> -diphénols	Référence
Huile d'oléastre	Tunisie	H3	435,3	217,5	Baccouri <i>et al.</i> (2010)
		ZI1	255	140,15	
		MAT22	186	105	
Huile d'olive		<i>Arbequina</i>	236,48	108,27	Allalout <i>et al.</i> (2009)
		<i>Koroneiki</i>	163,66	40,88	

Brenes *et al.* (2000) ont noté des différences significatives dans la teneur en 1-Acetoxypinoresinol entre les variétés espagnoles *Empeltre* (94,2 mg/kg) et *Picual* (1,9 mg/kg). Alors que Baiano *et al.* (2009) ont révélé différentes teneurs en 3,4-DHPEA-EDA pour les variétés italiennes *Leccino* (76,80 mg/kg) et *Frantoio* (34,60mg/kg).

I.3.2.5. Composés aromatiques

La variété semble être un facteur déterminant de la qualité organoleptique, notamment de la composition en substances aromatiques, cette composition présente un intérêt dans la caractérisation variétale de l'huile d'olive, et dans l'évaluation de son authenticité (Aparicio et Luna, 2002).

Selon Angerosa *et al.* (2002), l'influence de la variété est démontré par les taux variables en composés C6 qui dérivent de l'oxydation enzymatique d'acide linoléique des huiles d'olives obtenues dans des conditions d'extraction similaires mais de fruits de variétés différentes au même stade de maturité. La concentration des composés volatils dépend du niveau et de l'activité des enzymes qui sont génétiquement déterminés (Angerosa *et al.*, 1999). Baccouri *et al.* (2007b) ont pu sélectionner des huiles d'oléastre tunisiennes grâce à leur profil en composés volatils caractérisés par la présence d'hydrocarbures mono et sesquiterpène qui sont rarement rapportés pour des huiles d'olives cultivées.

I.3.2.6. Composition en tocophérols

Selon Lo Curto *et al.* (2001), la teneur en tocophérols des huiles d'olive vierge est largement influencée par la variété (Tableau III). L'étude de Douzane et Bellal (2005), portée sur la détermination des tocophérols de six variétés d'huile d'olive algérienne en considérant l'effet région, année et variété a montré que le contenu en tocophérols est étroitement lié à la variété et qui peut être utilisé comme marqueur biochimique permettant l'identification variétale.

Tableau III : Teneurs en tocophérols de quelques huiles d'oléastre et cultivars Tunisiennes.

variétés	origine	Huiles	α tocophérol	β tocophérol	γ tocophérol	δ tocophérol	Total	Références
Huile D'oléastre	Tunisie	H3	590	68	98,3	25,6	781,8	Baccouri <i>et al.</i> (2008)
		Z11	367	49,4	75,6	2,9	518,8	
Huile D'olive		Chemlali	325,81	12,83	11,66	/	350,32	Baccouri <i>et al.</i> (2008c)
		Chétoui	120,55	4,52	12,65	/	321,19	

I.3.2.7. Stérols

La connaissance de la composition de la fraction stérolique présente un intérêt dans la caractérisation variétale des huiles d'olive vierges et dans la détection des adultérations (Ranalli *et al.*, 2002).

Trois variétés d'huile portugaises (*Cobrançosa*, *Madural* et *verdial transmontana*) ont montré des différences significatives concernant la teneur en Δ -7-avénastérol (0,43 mg/100g, 0,37 mg/100g et 0,25 mg/100g, respectivement) et plus significatives concernant la teneur en Δ -5-avénastérol (20,91 mg/100g, 12,22 mg/100g, 10,26 mg/100g, respectivement) (Matos *et al.*, 2007b).

I.4. Activité antioxydante de l'huile d'olive

La formation des radicaux libres est associée au métabolisme normal des cellules. Dans certaines conditions, il y a un déséquilibre entre la production de ces radicaux libres et la capacité de défense des antioxydants, ce qui entraîne un stress oxydant impliqué dans de nombreuses pathologies (Visioli *et al.*, 2002 ; Favier 2003).

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou de ralentir le rancissement, la décoloration ou l'apparition de saveurs indésirables dues à

l'oxydation. Ainsi, l'antioxydant peut augmenter la durée de vie d'un aliment, réduire les pertes en vitamines ou en acides gras essentiels et surtout augmenter le taux d'agents antioxydants présents dans l'organisme, le protégeant ainsi des maladies dégénératives (Tripoli *et al.*, 2005).

Dans l'huile d'olive, différentes classes de composés caractérisés par une activité antioxydante ont été déterminées, à savoir les tocophérols, les caroténoïdes, les chlorophylles, le squalène et particulièrement les composés phénoliques polaires (Boskou, 2006). Ces antioxydants naturels exercent leurs activités par de nombreux mécanismes, prévenant ainsi l'initiation de la formation de radicaux libres, diminuant la concentration d'oxygène contenu dans l'huile et décomposant les peroxydes (Dais et Boskou, 2008).

La contribution des composés phénoliques à la stabilité oxydative de l'huile est estimée à 51%, dont 30 % pour les phénols et 21% pour les *o*-diphénols, alors que la contribution des autres composés a été estimée à 9% pour les tocophérols et 13% pour les chlorophylles et les caroténoïdes. Depuis que l'effet synergétique a été détecté entre ces différents composés, il est évident de conclure que 78% de la stabilité est le résultat d'une combinaison de ces composés (Bendini *et al.*, 2007).

❖ Composés phénoliques

La capacité d'un composé phénolique à agir comme antioxydant dépend des propriétés redox de ses hydroxyles et l'agencement structurel entre les différentes parties de sa structure chimique (Ryan et Robard, 1998). D'après Gorinstein *et al.* (2003), il existe une corrélation importante entre le contenu en polyphénols totaux et la capacité de piégeage des radicaux libres de l'huile d'olive. En effet, ils exercent leurs activités en cédant un atome d'hydrogène ou un électron à la chaîne radicalaire en progression formée durant la peroxydation lipidique bloquant ainsi la propagation de la peroxydation (ollivier, 2004).

Ils peuvent aussi exercer leurs effets de façon indirecte, en inhibant l'activité des enzymes de peroxydation, et en chélatant les métaux de transition qui accélèrent l'autoxydation des lipides (Yang *et al.*, 2001). Une classification de quelques composés phénoliques en terme de pouvoir antioxydant a été proposée par Carrasco-Pancorbo *et al.* (2005) et qui est par ordre décroissant comme suit : hydroxytyrosol > déacétoxy oleuropeine aglycone > oleuropeine aglycone.

❖ Tocophérols

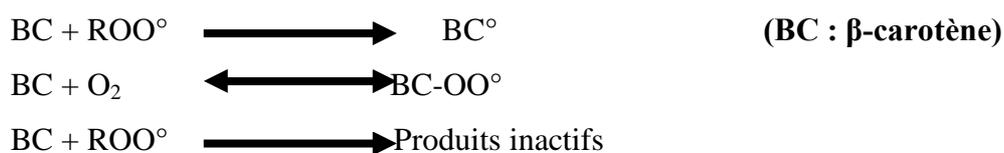
Les tocophérols protègent essentiellement contre l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Ils bloquent l'accumulation de radicaux lipidiques qui sont réduits dès leur formation. En effet, une molécule de tocophérol peut protéger 10^3 à 10^6 molécules d'acides gras polyinsaturés (Kamal-Eldin et Andersson, 1997). L'activité antioxydante des phénols est renforcée par la présence des tocophérols. Cette synergie est plus évidente à des concentrations faibles de phénols. La contribution des tocophérols à l'activité scavenger des radicaux libres a été estimée à 39 -61% dans l'huile d'olive vierge (Jiang *et al.*, 2005 ; Zarrouk *et al.*, 2009).

Les tocophérols exercent leur effet antioxydant par de nombreux mécanismes biochimiques et biophysiques. Ils agissent à la fois comme donneurs d'électron, retardant ainsi la réaction d'oxydation, soit comme accepteur d'électron agissant sur l'oxygène singulet, inhibant ainsi l'oxydation induite par ce dernier (Kamal-Eldin et Appelakist, 1996).

❖ Les caroténoïdes

Le plus important et le plus connu des caroténoïdes est le β -carotène. Les caroténoïdes peuvent agir en tant qu'antioxydants selon plusieurs mécanismes (Riché, 1999):

- ils sont capables de bloquer les chaînes de réactions radicalaires, selon les réactions suivantes :



- ils empêchent l'initiation des réactions radicalaires en neutralisant l'oxygène singulet. Néanmoins, tous les caroténoïdes n'ont pas la même efficacité pour inactiver l'oxygène singulet. Par ordre décroissant d'efficacité, on classe : le lycopène puis le β -carotène et enfin la lutéine.

I.5. Propriétés antibactériennes de l'huile d'olive

I.5.1. Activité antibactérienne des huiles d'olive

Une étude est effectuée sur l'activité antibactérienne des huiles végétales (huile de tournesol, huile de maïs, huile de coton, huile d'olive), a montré qu' aucune des huiles végétales comestibles étudiées avait cette capacité, sauf les huiles d'olive issues

de fruits, et ces résultats ont conduit à penser que les différentes composantes de l'huile d'olive, autre que les acides gras ont été responsables de l'activité antibactérienne. Bien qu'il ait été rapporté que les acides gras possèdent une activité antimicrobienne, le fait que seule l'huile d'olive présente cette activité a suggéré que les composants mineurs de l'huile devraient être impliqués dans cette propriété biologique (Medina *et al.*, 2006).

I.5.2. Activité antibactérienne des composés phénoliques

Plusieurs études attestent du rôle incontestable des composés phénoliques de l'huile d'olive dans l'inhibition d'innombrables bactéries pathogènes. Ils sont considérés comme étant des agents antibactériens prometteurs pour le traitement des infections des systèmes gastro-intestinaux ou du système respiratoire (Brenes *et al.*, 2006 ; Romero *et al.*, 2007).

Bisignano *et al.* (1999) ont rapporté l'effet inhibiteur de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol sur cinq souches bactériennes de référence (*Haemophilus influenzae* ATCC 9006, *Moraxella catarrhalis* ATCC 8176, *Salmonella typhi* ATCC 6539, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et sur quarante quatre souches cliniques.

L'étude menée par Romero *et al.* (2007), portant sur cinq variétés d'huiles d'olive espagnoles a révélé une activité bactéricide sur huit souches d'*Helicobacter pylori*, connu comme étant la principale cause l'ulcère gastro-duodéal. Cette activité est liée aux secoiridoides aglycones en particulier la forme aldehydique de ligstroside aglycone, qui a la particularité de résister à l'acidité gastrique pendant plusieurs heures.

D'après Cowan (1999) et Friedman *et al.* (2003), les polyphénols fortement hydroxylés présentent un potentiel important en tant qu'agents antibactériens. Bien que les effets antibactériens des composés phénoliques soient bien établis, leur mécanisme d'action n'est pas encore élucidé, plusieurs hypothèses ont été proposées afin d'éclaircir leur activité (Boskou, 2009).

Il a été démontré que le mécanisme de toxicité s'effectue, soit par la privation des ions métalliques (fer, magnésium), soit par des interactions non spécifiques tel que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires (les adhésines), afin d'inactiver l'adhésion des microorganismes ou bien les enzymes, telle que les enzymes hydrolytiques (protéases et carboxylases) ou autres interactions pour inactiver des transporteurs protéiques membranaires ou découplage des réactions énergétiques, ce qui conduit à la dénaturation de la membrane cytoplasmique entraînant une fuite des constituants cellulaires (Cowan, 1999 ; Zaidi-Yahiaoui *et al.*, 2008).

Grâce à un modèle de membranes bactériennes artificielles, Casas-Sanchez *et al.*,(2007) ont montré que l'oleuropéine s'intercale entre les phospholipides membranaires et provoque la déstabilisation de la membrane cytoplasmique ce qui peut avoir comme conséquence une fuite des constituants cellulaires (phosphate, calcium) qui ont un rôle dans le maintien et l'équilibre des réserves énergétiques et du pH intracellulaire. Cette perte conduit à la baisse de synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéines).

L'action des composés phénoliques sur la bactérie se fait selon les trois étapes qui suivent (Bruneton, 1999), après son adsorption à la surface de la bactérie :

- Saturation des sites de la paroi cellulaire;
- Saturation des sites de la membrane cytoplasmique;
- Pénétration dans le cytoplasme.

II.1. Matériel végétal

L'étude est effectuée sur 3 échantillons d'oléastres et la variété *Chemlal* de la région de Tazmalt de la willaya de Bejaia (tableau IV). L'échantillonnage est réalisé durant la campagne oléicole 2010/2011.

La collection a concerné principalement des arbres qui semblaient partiellement intéressants au niveau de leur charge de fruits et la grosseur de ces derniers. Les fruits ont été cueillis à partir de tous les étages de la frondaison des arbres.

Les caractéristiques des oliviers sauvages et cultivés étudiés sont présentées dans le tableau suivant ainsi qu'une photographie de chaque échantillon (figure 2).

Tableau IV : Caractéristiques des olives d'oléastres et de la variété *Chemlal*

Oléastre	Origine	Caractéristiques
Oléastre 1	Tazmalt	Fruit de forme allongée, au sommet arrondi et à la base tronqué, légèrement asymétrique.
Oléastre 2		Fruit de forme ovoïde, au sommet arrondi et à la base arrondie, symétrique.
Oléastre 3		Fruit de forme ovoïde, au sommet pointu et à la base arrondie, asymétrique.
<i>Chemlal</i>		Fruit de forme allongée au sommet arrondi et à la base arrondie, légèrement symétrique.

II.2. Récolte et extraction

La récolte des olives est réalisée à la main autour d'oliviers sauvages adultes choisis en fonction de la forme et la grosseur des fruits ainsi que la forme des feuilles qui est un déterminant essentiel pour différencier l'oléastre de l'olivier cultivé. Après effeuillage et lavage des olives, l'huile est extraite à l'aide d'un oléodoseur (Levi-Dilon-Lerogsane), au niveau de l'I.T.A.F.V (Institut technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne) de Takerietz suivant les étapes ci-après :

- 1- Broyage : réalisé avec un broyeur à marteaux
- 2- Malaxage : effectué dans des bols en inox et réalisé en 2 étapes :
 - a) 20 min sans eau
 - b) 10 min après, ajout de 50 ml d'eau tiède ($30 \pm 1^\circ\text{C}$) pour 920g de pâte d'olive.
- 3-Centrifugation : une centrifugeuse verticale à panier ayant une vitesse de 4845 tours/min est utilisée. Après décantation, les huiles ont été recueillies dans des flacons

en verre fumé remplis, étiquetés et mis au réfrigérateur (4°C) dans l'attente d'être analysées.

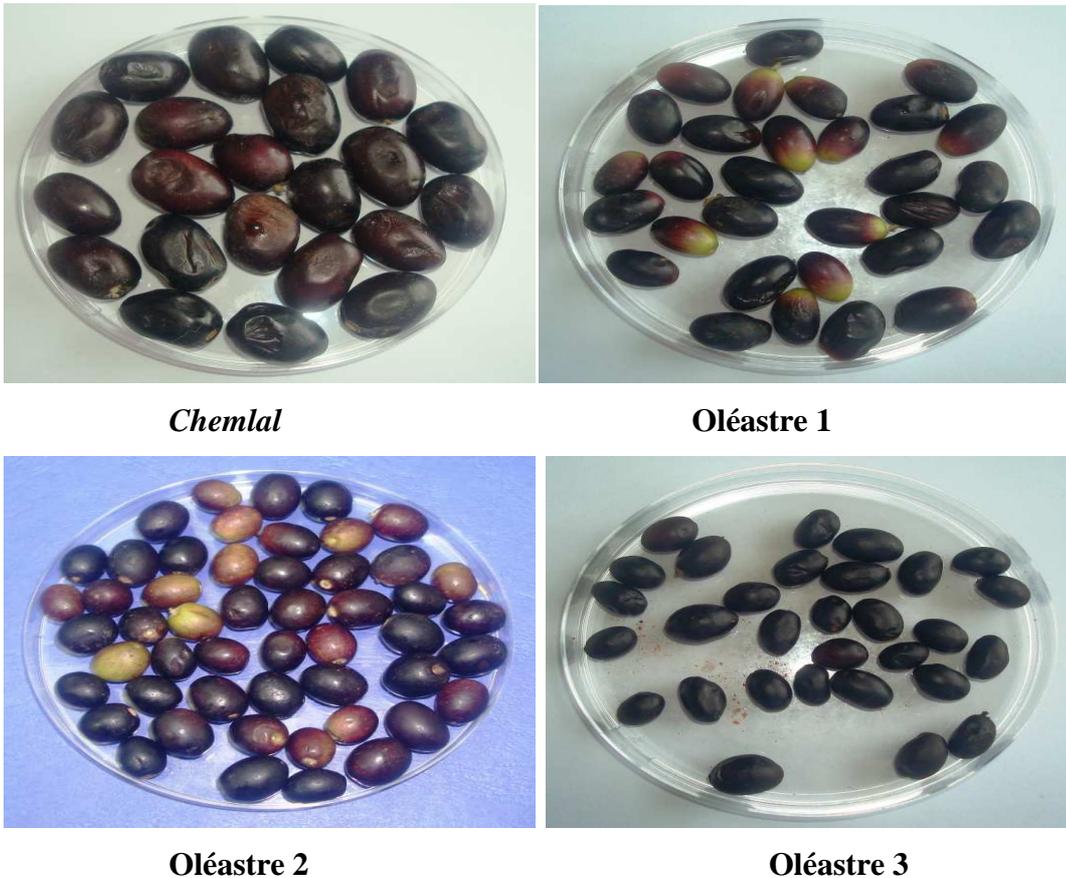


Figure n° 2: Photographies des échantillons d'oléastre et d'olive étudiés

II.3. Caractéristiques des fruits

II.3.1. Analyses pomologiques

20 fruits par arbres sélectionnés sont utilisés pour déterminer leurs poids, leurs longueur, largeur ainsi que le rapport longueur /largeur. Ces mêmes fruits sont dépulpés et par un broyage et rinçage à l'eau, les noyaux sont nettoyés afin de déterminer leurs poids, longueur, largeur, rapport longueur/ largeur ainsi que le nombre des sillons fibrovasculaires (Hilali *et al.*, 1995).

II.3.2. Indice de maturité

La détermination de l'indice de maturité est réalisée selon la méthode mise au point par l'Institut National des Recherches Agronomiques de Jean en Espagne, en se basant sur la couleur des fruits (épiderme et pulpe). Sur 100 fruits choisis au hasard sur un lot d'un kilogramme d'olives, l'indice de maturité est déterminé par notation visuelle selon une échelle de coloration de 0 à 7 variant d'une peau verte intense jusqu'à une peau noire et une pulpe entièrement violette (Ait Yacine *et al.*, 2001 ;Tovar

et al., 2002). Cela a permis de distinguer 8 groupes selon les caractéristiques suivantes :

Groupe 0 : olives à épiderme vert intense ou vert foncé.

Groupe 1 : olives à épiderme jaune ou vert jaunâtre.

Groupe 2: olives à épiderme jaunâtre présentant des taches ou zones rougeâtres.

Groupe 3 : olives à épiderme rougeâtre violet clair.

Groupe 4 : olives à épiderme noir et pulpe encore entièrement verte.

Groupe 5 : olives à épiderme noir et pulpe violette jusqu'à la moitié de son épaisseur.

Groupe 6 : olives à épiderme noir et pulpe violette pratiquement jusqu'au noyau.

Groupe 7 : olives à épiderme noir et pulpe entièrement foncée.

L'indice de maturité est donné par la formule suivante :

$$IM = [(0*n0) + (1*n1) + (2*n2) + (3*n3) + (4*n4) + (5*n5) + (6*n6) + (7*n7)]/100$$

Où **n** est la fréquence sur cent olives.

II.3.3. Humidité des fruits

L'humidité des fruits est déterminée suivant le protocole de Tovar *et al.* (2002). Un échantillon de 30 olives de chaque échantillon sont séchées à l'étuve à 105°C, celui-ci est régulièrement pesé après refroidissement au dessiccateur jusqu'à obtention d'un poids constant.

Le taux d'humidité est déterminé selon la formule ci-après :

$$H \% = [(P - P_s) / (P - P_0)] \cdot 100$$

H (%) : humidité des fruits exprimée en pourcentage ;

P : Poids du creuset plus la prise d'essai avant séchage ;

P₀ : Poids du creuset vide ;

P_s : Poids du creuset plus la prise d'essai après séchage.

II.3.4. Détermination de la teneur en huile des fruits

La méthode emploie un appareil Soxhlet. L'huile est extraite d'une pâte d'olive préalablement séchée à l'étuve pendant 24h, à l'aide de l'éther de pétrole porté à une température voisine de celle de l'ébullition du solvant, soit 60 °C environ, et la masse d'huile est déterminée par double pesée après avoir évaporé l'éther de pétrole par un évaporateur rotatif. Cette technique est utilisée pour donner une estimation exacte de la teneur en huile des olives (CEE /2568/91). Le rendement(%) est calculé selon la formule suivante :

$$R\% = [(M - M_e) / M_{pe}] \cdot 100$$

M : Masse en gramme du ballon contenant l'huile.

M_o : Masse en gramme du ballon vide.

M_{pe} : Masse en gramme de la prise d'essai.

II.4. Détermination des indices de qualité de l'huile d'olive

II.4.1. Acidité

L'acidité qui mesure le pourcentage en acides gras libres, est déterminée selon la méthode décrite dans le règlement CEE/2568/91. Le principe de la méthode consiste en un titrage des acides gras libres présents par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.

Un échantillon d'huile de 5 g est solubilisé dans 20 ml d'un mélange (V/V) diethylether-éthanol à 95%. Le mélange est titré, en agitant, avec une solution d'hydroxyde de potassium(KOH) à 0,1N jusqu'à un virage de l'indicateur coloré (la phénolphtaléine), vers le rose, persistant pendant au moins 10 secondes. Un essai témoin (sans matières grasses) est réalisé dans les mêmes conditions. L'acidité (%) est exprimée en pourcentage de poids d'acide oléique, elle est égale à :

$$A\% = \frac{(V - V_0) \times N \times P}{10 \times m}$$

V: nombre de ml de la solution KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon ;

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

m : prise d'essai en grammes ;

N : normalité de la solution KOH ;

P : masse molaire (g/ml) de l'acide oléique qui est égale à 282 g/ml.

II.4.2. Indice de peroxyde

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

La méthode utilisée est celle du règlement CEE /2568/91. Un échantillon de 2 g d'huile est introduit dans une fiole à col rodé, 10 ml de chloroforme sont ajoutés, tout en agitant, afin de dissoudre l'huile ; suite à quoi 15 ml d'acide acétique glaciale et 1 ml d'iodure de potassium saturé sont ajoutés, la fiole est bouchée rapidement, puis agitée vigoureusement pendant 1 minute et laissée à l'obscurité pendant 5 min à température

ambiante. 75 ml d'eau distillée sont ensuite ajoutés ainsi que quelques gouttes d'empois d'amidon, le tout est titré avec le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$) à 0,01N en agitant vigoureusement. L'indice de peroxyde (IP) est donné par l'expression ci après :

$$\text{IP} = \text{N} (\text{V} - \text{V}_0) * 1000 / \text{m} \text{ (meq d'O}_2 \text{ /Kg)}$$

Où:

N: normalité $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$;

V, V_0 : volume en ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ nécessaire pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à blanc, respectivement ;

m : masse en gramme de la prise d'essai.

II.4.3. Détermination de l'extinction spécifique dans l'ultraviolet

Cette méthode consiste à déterminer les absorbances à 232 nm et à 270 nm qui correspondent au maximum d'absorbance des hydroperoxydes et des produits secondaires d'oxydation (Alais *et al.*, 2003). Le taux de ces substances, exprimé comme extinction spécifique, est déterminé selon la méthode décrite par le COI (conseil international d'oléiculture) (1996). Un échantillon de 0,25g d'huile filtrée (à travers le sulfate de sodium anhydre) est ajusté à 25ml avec du cyclohexane. L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes 232 nm et 270 nm. Les coefficients d'extinction E_{232} et E_{270} sont exprimés par l'équation suivante :

$$E = A_\lambda / C * L$$

E : Extinction spécifique à la longueur d'onde λ nm.

A_λ : Densité optique à la longueur d'onde λ nm.

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

L : Largeur de la cuve en cm (1 cm).

II.5. Composition en acides gras

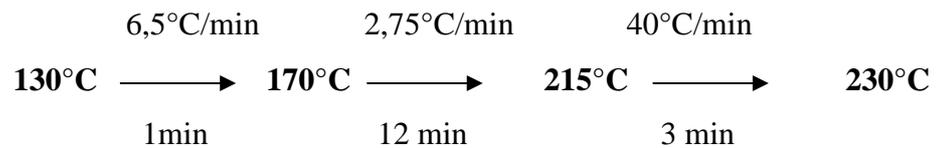
➤ Préparation des esters méthyliques

Les esters méthyliques sont préparés selon la norme internationale E.C. (2002), relative aux corps gras d'origine animale et végétale. Un échantillon de 0,5 g d'huile est dissout dans 5 ml d'hexane, 0,5 ml d'une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium 2 N préalablement préparée, sont ajoutés, le tout est agité pendant 30 secondes, puis centrifugé à 3000 tours/min, 2 gouttes du surnageant sont prélevées et mélangées avec 1 ml d'hexane.

➤ **Dosage qualitatif et quantitatif**

Un volume de 1 µl des esters méthyliques sont injectés dans un chromatographe en phase gazeuse de type Chrompack C 9002 dont les conditions d'analyse sont décrites ci-après :

- ✓ Injecteur : SPLIT 1/100 ;
- ✓ Colonne capillaire DB 23 : (longueur : 30, diamètre intérieur : 0,32 mm et épaisseur : 0,25µm);
- ✓ Gaz vecteur : Azote ;
- ✓ Détecteur : FID ;
- ✓ Températures : (injecteur : 250 °C, détecteur : 250 °C, le four : 200 °C) ;
- ✓ Vitesse du papier : 0,5 cm/min ;
- ✓ Quantité injectée : 1µl ;
- ✓ Programme (gradient de température) :



Les acides gras sont identifiés en fonction de leur temps de rétention au niveau de la colonne par comparaison à des acides gras étalons et le taux de chaque acide gras est déterminé par le calcul des aires des pics correspondants.

II.6. Dosages des pigments

Le protocole adopté au dosage des chlorophylles et des caroténoïdes est celui de Minguez-Mosquera *et al.* (1991). Un échantillon de 7,5g d'huile filtrée est ajusté à 25 ml avec du cyclohexane. Le maximum d'absorption à 670 nm renseigne sur la fraction chlorophyllienne, alors que la fraction caroténoïde est détectée à 470 nm. Les valeurs du coefficient d'extinction spécifique appliqué sont E₀=613 pour la pheophytine comme composant majeur des chlorophylles et E₀=2000 pour la lutéine comme caroténoïde majeur. Ainsi, le contenu en pigments est déterminé comme suit :

$$\text{Chlorophylle (mg/Kg)} = \frac{A_{670} * 10^6}{613.100. T} ; \text{ Caroténoïdes (mg/Kg)} = \frac{A_{470} * 10^6}{2000.100. T}$$

A: Absorbance

T : Trajet optique (largeur de la cuve 1cm).

II.7. Détermination des tocophérols

Les tocophérols sont dosés par HPLC dont les conditions sont résumées ci-dessous (Rovellini *et al.*, 1997) :

Colonne: Allsphere ODS2 (Alltech) 5 μ m 25 cm x 4,6 mm i.d. 4 mm;

Phase mobile: acétonitrile /méthanol (50/50) ;

Débit : 1,3 ml/min ;

Détecteur : UV à 292 nm ;

Echantillon : 500 mg d'huile dans 10 ml d'acétone ;

Quantité injectée: 20 μ l.

II.8. Extraction et dosage des composés phénoliques

II.8.1. Méthode colorimétrique

II.8.1.1. Extraction des polyphénols totaux

L'extraction des composés phénoliques en phase solide est réalisée en suivant le protocole de Monteleone *et al.* (1998), qui consiste en l'introduction d'un échantillon de 1g d'huile dissout dans 10 ml d'hexane à travers une colonne d'octadecyle (C18) préalablement activée avec 6ml de méthanol et 10ml d'hexane ; puis un lavage de la colonne par l'hexane et enfin une élution avec du méthanol à 95 %.

II.8.1. 2 Dosage des polyphénols totaux

Le réactif Folin Ciocalteu, consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions formés à partir d'hétéropolyacides phosphomolybdiques ($H_3PMo_{12}O_{40}$) et phosphotungstiques ($H_3PW_{12}O_{40}$).

Il oxyde les phénols en ions phénolates en milieu alcalin et réduit partiellement ces hétéropolyacides d'où la formation d'un complexe molybdotungstène bleu. La coloration bleuâtre obtenue est proportionnelle à la quantité de phénols présents (Ribéreau-Gayon, 1968).

L'estimation de la teneur en composés phénoliques est réalisée selon la méthode utilisée par Favati *et al.*, (1994) : dans des fioles de 20 ml, sont mélangés 2 ml d'extrait méthanolique, 5 ml d'eau distillée et 0,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min de réaction, 4 ml d'une solution de carbonate de sodium à 10 % sont ajoutés, le volume est ajusté à 20 ml avec de l'eau distillée. Après 90 min d'incubation à l'obscurité, la solution est centrifugée et l'absorbance est mesurée à 765 nm. La concentration en composés phénoliques des extraits de l'huile est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (annexe 6) obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les

concentrations en polyphénols totaux des extraits méthanoliques d'huile d'olive sont exprimés en mg d'E.A.G/Kg.

II.8.1.3. Détermination de la teneur en *ortho*-diphénols

La méthode est basée sur la formation de complexes jaunes, entre les *orthodiphénols* et les ions molybdates, qui absorbent au voisinage de 370 nm (Olivier *et al.*, 2004).

La concentration en *Ortho*-diphénols des extraits méthanoliques des échantillons d'huile est déterminée suivant la méthode de Bendini *et al.*, (2003) avec quelques modifications. Un volume de 4ml d'extrait méthanolique est additionné de 1 ml de la solution de molybdate de sodium dihydraté à 5% dans l'éthanol-eau (V/V), le mélange est agité vigoureusement au vortex pendant 1min, après 15 mn d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 370 nm contre un blanc réactif contenant 4ml d'extrait et 1ml d'éthanol-eau.

Les teneurs en *Ortho*-diphénols des échantillons sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage (annexe 6) réalisée avec l'acide caféique comme standard.

II.8.2. Identification des composés phénoliques par HPLC

La méthode se base sur une extraction des composés mineurs polaires de nature phénolique directement à partir de 2 g d'huile d'olive au moyen d'une solution méthanolique « méthanol/eau (80/20) », suivie de leur dosage par HPLC au moyen d'un détecteur UV à 280 nm. L'étalon interne est l'acide syringique (Norme Grassi e Derivati, 2007).

Un volume de 20 µl d'échantillon est injecté dans une colonne C18 de type Spherisorb ODS-2 (4,6 mm × 250 mm, taille des particules : 5µm). La phase mobile est composée de: eau/acide orthophosphorique (99,8 : 0,2 V/V), méthanol et acétonitrile.

Les teneurs correspondant aux polyphénols totaux et individuels sont exprimées en mg/kg.

II.8.3. Détermination de l'indice d'amertume

Le protocole de Gutiérrez Rosales *et al.* (1992) est adopté pour déterminer l'indice d'amertume (K_{225}). Ce dernier est évalué par extraction des composés amers d'un échantillon de 1 g d'huile filtrée, dissout dans 4ml d'hexane puis passé à travers une colonne d'octadecyle C_{18} préalablement activée avec 6ml de méthanol et 10ml d'hexane. La colonne est ensuite lavée avec 10 ml d'hexane pour éliminer toutes traces

de gras et la fraction polaire retenue est éluée avec 25ml du méthanol à 95%. L'absorbance est mesurée à 225 nm contre un blanc qui est le méthanol.

II.9. Etude de l'activité antioxydante de l'huile

II.9.1. Activité scavenger au radical DPPH de l'huile

La délocalisation d'un électron autour de la molécule de DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), qui est un radical stable, est responsable de sa couleur violet foncé, en présence d'une substance antioxydante et après libération d'un proton ou d'un électron, la forme oxydée du radical DPPH est réduite, se traduisant par une dissipation de la couleur violette à la faveur de la couleur jaune (Molyneux *et al.*, 2004) .

Le protocole décrit par Ramadan *et al.* (2006), avec modifications, est utilisé pour mesurer l'activité antiradicalaire de l'huile. Différentes concentrations en huile sont préparées en dissolvant une quantité d'huile dans un volume approprié de toluène ; 1 ml de la solution toluédique, ainsi préparée est mélangée avec 3,9 ml de la solution DPPH fraîchement préparée dans le toluène, le mélange est agité vigoureusement au vortex pendant 10 secondes, l'absorbance est mesurée à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité.

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

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

Ac : Absorbance du control.

Ae : Absorbance de l'échantillon.

Le graphique de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration a permis de déterminer l'EC₅₀ (concentration correspondant à 50% d'inhibition), puis comparée à celles de l'acide gallique, la BHA (butylhydroxyanisole) et l'α tocophérol (annexe 6).

II.10. Détermination de l'activité antibactérienne

➤ Les souches bactériennes

Six souches sur lesquelles nous avons testées l'activité antibactérienne des huiles ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'Homme. Elles sont issues de sources différentes.

❖ Bactéries à Gram positif

- Staphylococcus aureus* méthiciline résistant (SARM) (LMA);
- *Listeria innocua*; (LMA);
- Bacillus subtilis* ATCC 6633 (SAIDAL Antibiotical).

❖ Bactéries à Gram négatif

- Escherichia coli* ; multirésistante aux antibiotiques (LMA);
- Klebsiella pneumoniae* ; multirésistante aux antibiotiques (LMA);
- Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Institut Pasteur).

II.10.1. Standardisation des *inocula* bactériens

L'activité de tout agent antibactérien dépend de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée. La taille de l'*inoculum* bactérien est un élément primordial contribuant de façon essentielle à la qualité des résultats de l'activité antibactérienne, d'où la nécessité de standardiser l'*inoculum* bactérien. Ce dernier est préparé, dans l'eau physiologique, à partir d'une culture pure et fraîche (18 heures). Une suspension bactérienne initiale, d'une opacité équivalente à une absorbance de 0,5 à une longueur d'onde de 625 nm, est préparée. Ensuite une série de dilutions décimales est effectuée dans l'eau physiologique stérile (10^{-4} jusqu'à 10^{-8}). Un volume de 0,1 ml de chaque dilution estensemencé en surface se servant d'un râteau étaleur sur gélose PCA, des dénombrements sont alors effectués après incubation à 37°C pendant 24 heures.

II.10.2. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et d'oléastres

La figure 3 représente le protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et d'oléastre (Medina *et al.*, 2006). A partir d'une culture fraîche, nous avons préparé une suspension bactérienne à 10^7 bactéries/ml. 500µl de cette suspension et 300µl d'huile sont ajoutés à 4,2 ml du Tampon phosphate salin tween à 0,2 M à pH 7 (annexe 4). Deux témoins sont parallèlement préparés ; un premier témoin ne contenant pas l'huile et un deuxième ne contenant pas le germe à tester. Les échantillons ainsi préparés sont incubés dans un bain-marie agitateur à 37°C pendant 1h. Au terme de la période d'incubation, des dilutions allant jusqu'à 10^{-4} , suivies d'ensemencements sur gélose PCA sont réalisés en vue de dénombrer.

Le même protocole est réalisé en augmentant à chaque fois le volume d'huile à tester (700 et 1000 µl).

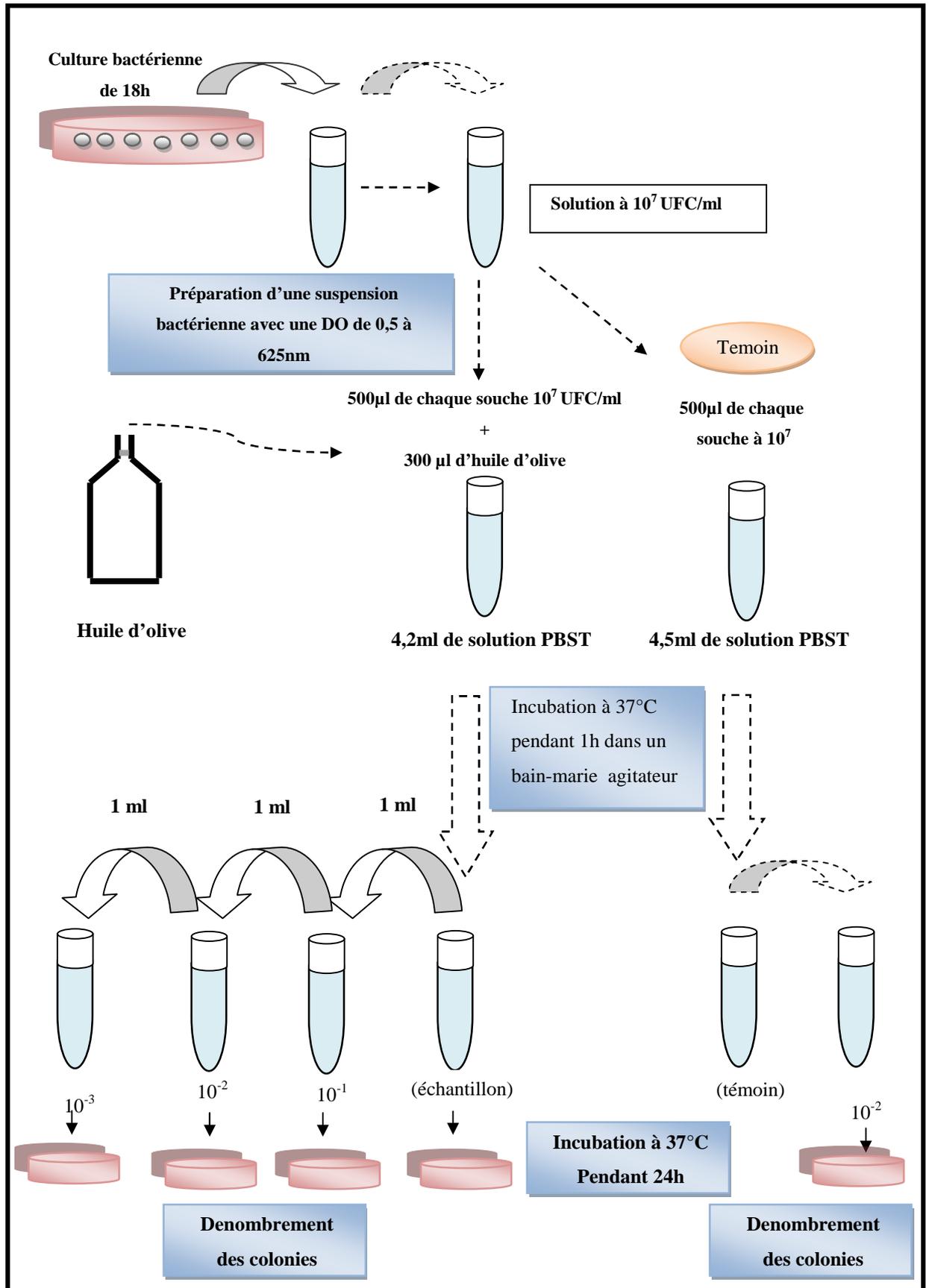


Figure 3: Évaluation de l'activité antibactérienne des différentes variétés de l'huile d'oléastre et l'huile d'olive (Medina *et al.*, 2006).

II.11. Etude statistique

L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application «ANOVA» suivie du test de Newman-keuls à l'aide d'un logiciel STATISTICA 5.5. Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité $p < 0,05$. Les coefficients de corrélation de PEARSON et la classification ascendante hiérarchique (CAH) effectués sur les paramètres pomologiques sont réalisés avec le même logiciel.

Tableau XII : Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles.

Inoculum standard	10 ⁶ UFC/ml																	
Temps de contact	1 heure																	
Taux de réduction logarithmique	(log Ni - log Nf).																	
Type d'huile	<i>Staphylococcus aureus</i> méthiciline résistant (SARM) ;			<i>Bacillus subtilis</i>			<i>Listeria innocua</i>			<i>Escherichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
Volume utilisé	300 µl	700 µl	1000 µl	300 µl	700 µl	1000 µl	300 µl	700 µl	1000 µl	300 µl	700 µl	1000 µl	300 µl	700 µl	1000 µl	300 µl	700 µl	1000 µl
Oléastre 1	6 log a	6 log a	6 log a	1,30 log a	6 log a	6 log a	3,43 log a	6 log a	6 log a	1,97 log a	6 log a	6 log a	1,18 log b	2 log b	6 log a	1,19 log a	1,78 log b	4 log b
Oléastre 2	6 log a	6 log a	6 log a	1,17 log b	6 log a	6 log a	3,31 log b	6 log a	6 log a	1,80 log b	6 log a	6 log a	1,23 log a	2,13 Log a	6 log a	0,60 log d	2,51 log a	6 log a
Oléastre 3	6 log a	6 log a	6 log a	0,90 log c	3,85 log b	6 log a	3,16 log c	6 log a	6 log a	1,98 log a	6 log a	6 log a	1,009 log c	2,07 Log a	6 log a	0,86 log c	1,67 log c	2,18 log c
Chemlal	1,31 log b	2,22 log b	6 log a	0,76 log d	2,56 log c	3,59 Log	0,76 log d	3,53 log b	6 log a	1,45 log c	4,87 log b	6 log a	0,58 log d	1,03 log c	3,89 log b	1,01 log b	1,75 log d	1,86 log c

Ni = concentration initiale des bactéries dans le tube d'essai (10⁶ UFC / ml), Nf = concentration finale bactéries (UFC / ml).

6log : bactéricide.

< 6log : bactériostatique

Les valeurs portant la même lettre sur la même colonne ne présentent aucune différence significative (p < 0,05).

III.1. Déterminations sur les fruits

III.1.1. Indice de maturité

L'indice de maturité est un paramètre qui nous renseigne d'une façon globale sur la maturité des fruits et selon Ait Yacine *et al.* (2001) il permet l'estimation de l'avancement du développement du fruit qui se traduit par l'apparition d'une couleur noire violette et la faible force de détachement. Les résultats des trois échantillons d'oléastres 1, 2, 3 et la variété *Chemlal* n'appartiennent pas à la même classe en présentant des valeurs différentes pour l'indice de maturité : 5,07 ; 4,22 ; 6,12 ; 3,75 respectivement. Toutefois, l'oléastre 3 se distingue par la valeur la plus élevée de cet indice (6,12). Ceci montre que sa vitesse d'entrée en maturité est rapide par rapport aux autres échantillons. La variation de ces valeurs d'un échantillon à un autre n'est pas due à la période de récolte car tous les échantillons ont été récoltés à la même période (la fin décembre) mais plutôt à l'effet variétal.

III.1.2. Analyses pomologiques

Le poids et les dimensions des fruits et noyaux sont des caractéristiques variétales qui permettent une évaluation du degré de variabilité au sein des variétés (Hilali *et al.*, 1995).

III.1.2.1. Fruit

Considérant le poids moyen des fruits, ce dernier montre des valeurs variables d'un sujet à un autre avec des différences significatives ($p < 0,05$). L'olive de *Chemlal* présente le poids frais moyen le plus élevé (1,70g) suivi des oléastres 1, 2 et 3 (0,78 ; 0,57 et 0,51g respectivement).

Une classification des variétés suivant le poids des fruits proposée par Abaza *et al.*, (2002), a permis de classer nos oléastres comme variétés à petits fruits avec un poids moyen inférieur ou égal à 1 g, par contre la variété *Chemlal* présente un poids moyen de 1,70 g et classée ainsi comme variété à fruit de poids moyen.

Comparés aux poids moyens frais des olives sauvages tunisiennes, on remarque que ces derniers présentent un poids moyen plus élevé que nos oléastres avec des valeurs qui varient entre 1,05 et 4,14 g (Hannachi *et al.*, 2008).

Suivant l'échelle mise au point par Rey *et al.* (1997) pour les dimensions des drupes, il en ressort l'appartenance de nos oléastres aux variétés à petit fruits (Tableau V), tandis que la variété *Chemlal* présente un fruit moyen. Les oléastres tunisiens présentent des fruits de dimensions peu similaires aux notre avec des longueurs de 0,8 à 1,5 cm (Hannachi *et al.*, 2008).

Selon Trentacoste *et al.* (2010), la variation morphologique du fruit dépend du génotype et des conditions environnementales, ainsi que la charge en fruits de l'arbre qui varie d'une année à une autre.

Le rapport longueur / largeur renseigne sur la forme des fruits (COI, 2000); on constate que les fruits des oléastres 2 et 3 et la variété *Chemlal* présentent une forme ovoïde, alors que le fruit d'oléastre 1 montre une forme allongée.

III.1.2.2. Noyau

Le poids des noyaux montre des valeurs variables d'un sujet à un autre. Toutefois, ce paramètre ne reproduit pas les mêmes regroupements réalisés à partir du poids des drupes. La valeur la plus petite est notée chez l'oléastre 2 qui présente un poids de 0,13g ; la plus élevée est notée chez la variété *Chemlal* (0,39g), suivi des échantillons E1, E3 (0,16 ; 0,20 g) respectivement (Tableau V).

D'après Terral *et al.* (2004), la longueur des noyaux est considérée comme un critère discriminant entre cultivars et oliviers sauvages. Nos sujets disposent de noyaux de longueur allant de 8,08 mm pour l'oléastre 2 à 14,05 mm pour la variété *Chemlal*, et de largeur comprise entre 5,19 mm et 6,69 mm. L'oléastre 2 présente le plus petit noyau (8,08 x 5,23mm), de forme elliptique, suivi du noyau du fruit d'oléastre 3 (9,51 x 5,46 mm) ,de forme elliptique, puis par le noyau de fruit d'oléastre 1 (12,06 x 5,19 mm) de forme ovoïde. Cependant, le plus gros noyau de forme elliptique est constaté pour le noyau de fruit *Chemlal* (14,05 x 6,69 mm). De plus, on note que le nombre de sillons fibrovasculaires est faible pour tout les noyaux des oléastres 1 et 2 et 3 et la variété *Chemlal*.

Le rapport poids du fruit / poids du noyau (Pf/Pg) permet aussi de distinguer entre les différents échantillons et donne des valeurs allant de 3,10 pour E3 à 4,34 pour *Chemlal*.

L'étude pomologique des trois oléastres et la variété *Chemlal*, montre que les caractères relatifs aux fruits et au noyau sont variables.

Tableau V : Mesures des différents caractères biométriques des fruits et des noyaux des échantillons étudiés.

	Oléastre 1	Oléastre 2	Oléastre 3	Chemlal
PM fruits	0,78±0.14 ^b	0,57±0.09 ^c	0,51±0.07 ^d	1,70±0.23 ^a
Ln fruits	15,26±0.95 b	11,45±0.62 d	12,03±0.79 c	18,37±1.07 ^a
Lr fruits	9,50±0.61 b	9,04± 0.55 c	8,27±0.50 d	12,82±0.7 ^a
Ln f/ Lr f	1.61 ^a	1.27 d	1,45 b	1.43 c
PM noyau	0,20±0.04 b	0,13±0.03 c	0,16±0.02 c	0,39±0.06 a
Ln noyau	12,06±0,71 b	8,08±0.61 d	9,51±0,67 c	14,05±0.89 a
Lr noyau	5,19±0,43 d	5,23±0.48 c	5,46±0.30 b	6,69±0.30 a
Ln N / Lr N	2,33 a	1,55 c	1,74 b	2,10 a
PM f/PM N	3,83 c	4,24 b	3,10 d	4,34 a
Nombre de sillons	5,3 b	4 ,95c	6,4 a	5 c

PM f : poids moyen des fruits, **PM N** : poids moyen des noyaux, **Ln f** : longueur du fruit ; **Lr f** : largeur du fruit ; **Ln N** : longueur du noyau ; **Lr N** : largeur du noyau. **Forme du fruit** : Longueur du fruit / largeur du fruit : sphérique (<1,25), ovoïde (1,25-1,45), allongée (> 1,45); **Forme du noyau** : Longueur / largeur : sphérique (<1,4), ovoïde (1,4-1,8), Elliptique (1,8-2 ,2), allongée (> 2,2); **Nombre de sillons** : réduit (<7), moyen (7-10), élevé (>10).

Les valeurs portant la même lettre sur la même ligne ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

III.1.2.3. Résultats de la CAH

Un dendrogramme CAH (figure 4) est réalisé sur les descripteurs pomologiques du fruit.

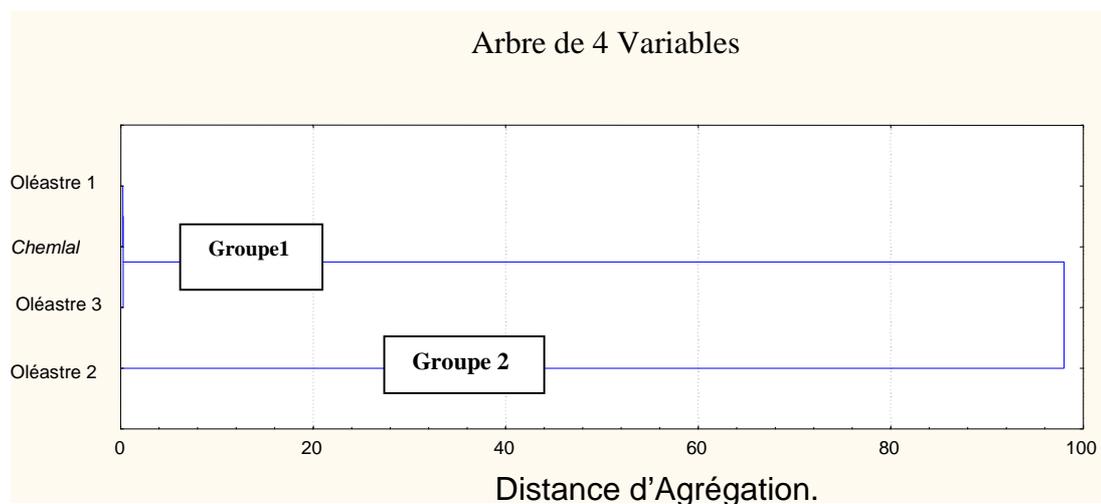


Figure n° 4 : CAH des échantillons d'huiles étudiées basée sur les caractères pomologiques.

Le dendrogramme révèle deux groupes: le groupe 1 comprend les oléastres 1 et 3 et *Chemlal* semblent être les plus proches, alors que l'oléastre 2 est le plus distinct du reste des individus.

Le tableau des distances euclidiennes permet d'estimer le degré de similitude entre les fruits de trois oléastres et fruit d'une variété d'olive cultivé *Chemlal* (Tableau VI).

D'après le tableau VI des distances euclidiennes, une distance de 0,2 à 0,3 seulement est notée entre les oléastres 1,3 et *Chemlal*. Ces derniers présentent des ressemblances pour les caractères : poids, diamètre et forme des fruits, le poids et la forme des noyaux ainsi que le nombre de sillons fibrovasculaires. Les distances les plus élevées sont notées entre l'oléastre 2 avec les oléastres 1, 3 et la variété *Chemlal* respectivement, ce qui traduit leur divergence.

Tableau VI : Les distances euclidiennes entre les quatre individus.

	Oléastre1	Oléastre2	Oléastre3	<i>Chemlal</i>
Oléastre 1	00			
Oléastre2	98	00		
Oléastre3	0,3	98	00	
<i>Chemlal</i>	0,2	98	0,3	00

L'étude pomologique des trois oléastres et la variété *Chemlal*, montre que les caractères relatifs aux fruits et aux noyaux sont variables d'un échantillon à un autre. D'après Hannachi *et al.* (2007), la plasticité d'un caractère peut être expliquée par trois composantes principales : génétique, environnementale et ontogénétique (croissance et développement).

III.1.3. Teneur en eau des olives

Le contenu en eau est un facteur majeur contribuant à plus de 50% au poids frais de l'olive. Les taux d'humidité enregistrés pour les différents échantillons sont importants, se situant entre 49,06 et 57,60% (tableau VII) et traduisant un bon rapport hydrique pendant tout le cycle de maturation (Sanchez Cacas *et al.*, 1999).

Cette humidité importante de nos olives permet de favoriser le bon déroulement des réactions biochimiques qui s'y produisent (Ait Yacine *et al.*, 2001). Des différences significatives ($p < 0,05$) sont notées entre les échantillons. L'humidité affecte d'une

façon directe la qualité du fruit et par conséquent le rendement et la qualité de l'huile (Inglese *et al.*, 1996).

III.1.4. Rendement en huile

Le rendement en huile des échantillons d'olives, exprimé en pourcentage de matière sèche, varie entre 26,87% et 36,56% pour les oléastres et pour la variété *Chemlal* est de 37,24%. L'oléastre 2 enregistre le rendement le plus élevé (36,56 %) par rapport aux autres oléastres. Le rendement le plus faible a caractérisé l'oléastre 3 (26,87 %) ce qui peut être expliqué par le poids moyen faible de leurs fruits (0,51 g) (tableau VII).

L'analyse statistique indique que les teneurs en huiles des échantillons analysés sont significativement différentes ($p < 0,05$).

D'après la classification de Tous et Romero, (1993) rapporté par Sanchez-Cacas *et al.* (1999), nos échantillons présentent un rendement faible en huile car tous les échantillons présentent un rendement inférieur à 38%.

Les teneurs en huile de nos échantillons d'olives sauvages sont proches de celles des olives sauvages australiennes dont les teneurs varient de 29,2 à 46,6% (Wirthensohn *et al.*, 2001).

III.2. Indices de qualité des huiles

III.2.1. L'acidité

Les résultats obtenus pour l'acidité libre des échantillons d'huiles analysés, sont représentés dans le tableau VII. Ces faibles acidités traduisent une faible hydrolyse durant l'extraction et le stockage de l'huile.

L'analyse de la variance montre une différence significative ($p < 0,05$) entre l'oléastre1 et *Chemlal*. Par contre, aucune différence significative n'est notée entre l'oléastre 2, 3 et *Chemlal*.

Nos huiles présentent des acidités inférieures à celles de quelques huiles d'oléastres tunisiens qui ont enregistré des acidités de 0,3 à 0,5% en acide oléique (Baccouri *et al.*, 2007a), mais sont proches de celles obtenues par Dabbou *et al.* (2010) pour les oléastres tunisiens (Oléastre K, Oléastre M) dont le taux est compris entre $0,17 \pm 0,01$ et $0,34 \pm 0,01$ %.

III.4.2. Indice de peroxyde

Pour nos huiles étudiées, les teneurs en peroxydes oscillent entre un minimum de 3,25 meq O₂/kg pour l'oléastre 1 et un maximum de 9,41 meq O₂/kg pour la variété *Chemlal* (Tableau VII). Des différences significatives ($p < 0,05$) sont notées entre les différents échantillons d'huiles.

En comparant les valeurs de l'indice de peroxyde obtenues à celles de la norme du COI, on constate que tous les échantillons analysés présentent des indices de peroxyde ≤ 20 meq d'O₂/kg, conforme à la norme fixée pour une huile extra-vierge et sont comparables à ceux des huiles d'oléastres Pakistanaises qui varient de 3,4 à 13,1 meq O₂/kg (Gulfranz *et al.*, 2006).

III.4.3. Absorbance dans l'ultraviolet

Les échantillons d'huile présentent tous des coefficients d'extinction spécifique dans l'UV (K_{232} , K_{270}) inférieurs aux limites établies par le COI (2003) pour une huile d'olive extra-vierge ($K_{232} \leq 2,5$ et $K_{270} \leq 0,22$) (Tableau VII).

L'analyse de la variance montre des différences significatives ($p < 0,05$) entre les échantillons d'huiles étudiés, néanmoins aucune différence significative n'est notée entre les huiles des oléastres (1 et 2) pour le K_{232} , par contre pour K_{270} des différences significatives sont enregistrées ($p < 0,05$) entre les échantillons d'huiles. Nos résultats sont proches de ceux enregistrés pour des variétés grecques (1,20 à 2,40 pour le coefficient K_{232} et 0,07 à 0,20 pour le coefficient K_{270}) (Blekas *et al.*, 2002), et les huiles d'oléastres tunisiens (1,62 à 2,36 pour le coefficient K_{232} et 0,12 à 0,17 pour coefficient K_{270}) (Dabbou *et al.*, 2010).

Tableau VII : Les caractéristiques qualitatives des échantillons d'huiles étudiés.

Sujets Paramètres	Oléastre1	Oléastre2	Oléastre3	<i>Chemlal</i>
Humidité %	57,6 ± 0,01 ^a	56,00 ± 0,82 ^b	49,06 ± 0,01 ^d	55,19 ± 0,01 ^c
Rendement en huile %	31,98 ± 0,02 ^c	36,56 ± 0,08 ^b	26,87 ± 0,09 ^d	37,24 ± 0,05 ^a
Acidité %	0,18 ± 0,03 ^b	0,23 ± 0,05 ^{ab}	0,30 ± 0,03 ^{ab}	0,24 ± 0,03 ^a
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	3,26 ± 0,20 ^d	5,25 ± 0,61 ^c	7,50 ± 0,408 ^b	9,41 ± 0,42 ^a
K_{232}	1,70 ± 0,01 ^c	1,80 ± 0,01 ^c	2,28 ± 0,012 ^a	2,08 ± 0,02 ^d
K_{270}	0,09 ± 0,01 ^d	0,15 ± 0,02 ^a	0,14 ± 0,01 ^b	0,10 ± 0,01 ^c

* : les valeurs portant la même lettre ne diffèrent pas significativement ($p < 0,05$).

Les résultats d'analyses (acidité, indice de peroxyde et des coefficients d'extinction spécifique dans l'UV (K232, K270) effectuées sur les huiles produites à partir des quatre échantillons étudiés s'inscrivent tous parfaitement dans les limites définies par le COI (2003) pour une huile d'olive extra vierge, ce qui nous permet de classer les huiles issues de ces échantillons dans cette catégorie « extra vierge ».

III.3. La composition en acides gras

L'analyse des chromatogrammes des huiles étudiées (annexe 5), montre une composition qualitative en acides gras similaire pour l'ensemble des échantillons. C'est d'un point de vue quantitatif que les acides gras permettent de faire une distinction variétale (tableau VIII).

Toutes les huiles des variétés étudiées présentent des teneurs en différents acides gras répondants aux normes établies par le COI (2003) (annexe5) pour les huiles d'olives extra vierge.

L'acide oléique est l'acide gras dominant, toutes les variétés étudiées ont des proportions supérieures à 60% sauf pour l'oléastre 3 qui présente un taux de 58%. L'oléastre 2 se distingue des autres variétés par le taux le plus élevé en acide oléique (79,07 %) et les taux les plus faibles en acides linoléique et linoléique soient 4,85% et 0,68% respectivement, il se caractérise ainsi par le rapport acide oléique/acide linoléique le plus élevé (16.30). L'oléastre 3 présente le plus faible taux en acide oléique (58 %) et les taux les plus élevés en acide linoléique (21,53 %) et linoléique (0,77 %), il se caractérise ainsi par le rapport acide oléique/acide linoléique le plus faible (2,72%). Des résultats proches sont rapportés pour les oléastres tunisiens (H3, ZI2, ZI1, MAT22, MAT7, MAT10, SB12) (Baccouri *et al.*, 2006).

Le rapport acide oléique/acide linoléique est utilisé comme paramètre de stabilité, plusieurs études ont montré qu'un rapport élevé engendre une stabilité oxydative importante (Haddada *et al.*, 2007).

L'huile de la variété *Chemlal* est caractérisée par le taux le plus élevé en acide palmitique (17,72 %). Le pourcentage de ce même acide gras n'est que de 14,92 % pour l'huile de l'oléastre 3, 12,05 % et 11,48% pour l'huile d'oléastres 1 et 2 respectivement.

L'acide stéarique est considéré comme marqueur de caractérisation variétale (Ajana *et al.* 1998), les valeurs enregistrées sont faibles et sont comprise entre 1,57 et 2,32 %.

L'ensemble des échantillons présente un rapport AGMI/AGPI qui varie de 2,71 (oléastre 3) à 14,61 (oléastre2). Ce même rapport se situe entre 2,68 et 10,09 pour les

variétés tunisiennes (*Chemlali, Fakhari, Zarrazi et Dhokar*) (Ouslati *et al.*, 2009), ainsi que pour les oléastres tunisiens qui ont un rapport proche de nos résultats (de 5,6 et 10,97) (Baccouri *et al.*, 2010).

Tableau VIII : Composition en acides gras des huiles des variétés d'olives sauvages et cultivées(en %).

	Oléastre1	Oléastre 2	Oléastre 3	<i>Chemlal</i>
C_{16:0}	12,05	11,48	14,92	17,92
C_{16:1}	1,49	1,47	1,77	2,18
C_{18:0}	1,58	1,57	2,32	1,98
C_{18:1}	75,70	79,07	58,67	63,56
C_{18:2}	7,98	4,85	21,53	13,05
C_{18:3}	0,64	0,68	0,77	0,87
C_{20:0}	0,29	0,28	/	0,45
C_{20:1}	0,26	0,28	/	0,00
AGI	86,07	86,35	82,74	79,66
AGS	13,92	13,33	17,24	20,35
AGI/AGS	6,18	6,48	4,80	3,91
C18:1/C18:2	9,49	16,30	2,72	4,87
AGMI	77,45	80,82	60,44	65,74
AGPI	8,62	5,53	22,3	13,92
AGMI/ AGPI	8,98	14,61	2,71	4,72

C_{16:0} :acide palmitique, **C_{18:0}** : acide stéarique, **C_{18:1}** : acide oléique, **C_{18:2}** : acide linoléique, **C_{18:3}** : acide linoléique, **C_{20:0}** : acide arachidique, **C_{20:1}** : acide gadoléique,
AGI : acide gras insaturé, **AGS** : acide gras saturé , **AGMI** : acide gras mono-insaturé
AGPI : acide gras poly-insaturé.

III.4. Pigments

III.4.1. Caroténoïdes

Les huiles analysées montrent des teneurs faibles en caroténoïdes variant entre 0,42 mg/kg pour *Chemlal* et 1,43 mg/kg pour l'oléastre 2 (figure 5). Des différences

significatives ($P < 0,05$) sont observées entre les huiles sauf entre l'oléastre 1 et *Chemlal*. Cependant, malgré que les fruits de *Chemlal* soient à maturation tardive (3,75), cette dernière présente une huile d'une teneur faible en caroténoïdes (0,42 mg/Kg) proche de celle d'huile d'oléastre 1 d'indice de maturité plus élevé. Cela peut être dû à des facteurs génétiques.

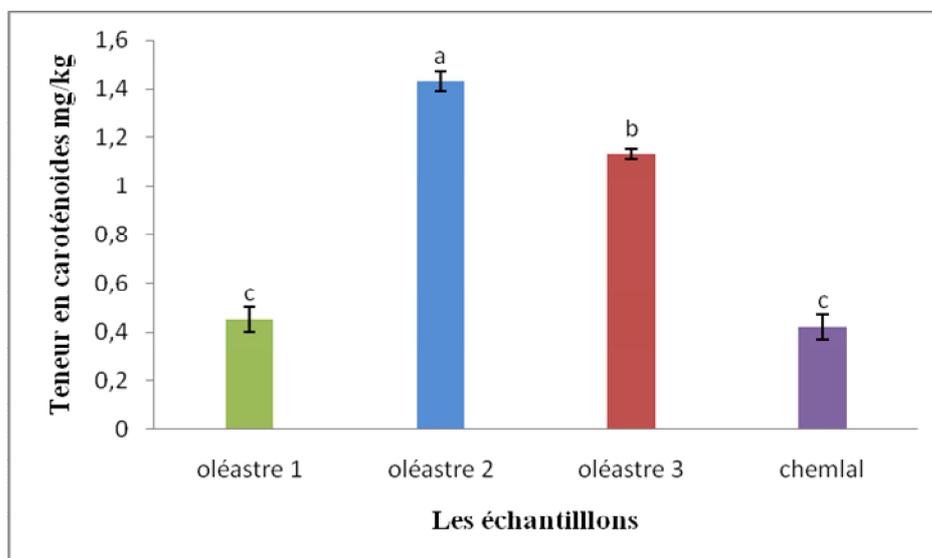


Figure n°5 : Teneur en caroténoïdes des échantillons d'huiles étudiés (n=3).

* Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$).

Comparées aux huiles d'oléastres tunisiens (entre 1,68 à 4,9 mg/Kg) analysées par Baccouri *et al.* (2007a), et celle de Hashempour *et al.* (2010) pour des variétés Iranienne (entre 3,02 à 4,97 mg/kg), nos huiles présentent des taux très faibles en caroténoïdes.

III.4.2. Chlorophylles

Les huiles analysées montrent des teneurs en chlorophylles (figure 6) qui varient entre 0,2 mg/Kg pour la variété *Chemlal* à 1,22 mg/Kg pour l'oléastre 2. Ces teneurs diffèrent significativement ($p < 0,05$) d'un échantillon à un autre, ce qui est en accord avec les résultats de Roca et Minguez-Mosquera (2001) et ceux de Giuffrida *et al.* (2006), quant à l'influence de la variété sur la composition quantitative en pigments chlorophylliens dans l'huile d'olive. Néanmoins, aucune différence significative ($p < 0,05$) n'est notée entre l'oléastre3 et l'oléastre1, l'oléastre1 et *Chemlal*.

Les résultats obtenus sont faibles comparés à ceux des huiles d'oléastres tunisiens (entre 2,63 et 6,37mg/Kg) analysées par Baccouri *et al.* (2010), et des huiles de variétés espagnoles (entre 2,20 à 43 mg/Kg) étudiées par Gomez-Alonso *et al.*

(2007). Ces faibles teneurs en chlorophylles permettent de diminuer le risque d'oxydation des huiles (Tanouti *et al.*, 2010).

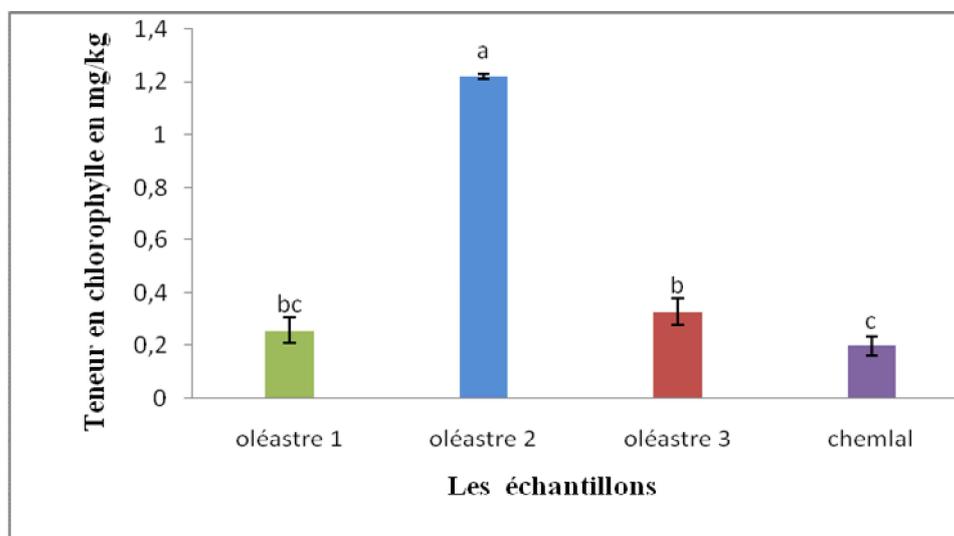


Figure n°6: Teneur en chlorophylles des échantillons d'huiles étudiés (n=3).

Le rapport caroténoïdes / chlorophylles est supérieur à l'unité pour toutes les huiles analysées, ce qui est en accord avec les résultats de Gallardo-Guerrero *et al.*, (2002).

III.5. Tocophérols

Les résultats des déterminations des tocophérols totaux des huiles étudiés sont représentés dans la figure 6. Les isomères α , β et γ tocophérol sont détectés dans toutes les huiles analysées et leurs teneurs sont illustrées dans la figure 7.

L'oléastre 1 se caractérise par la teneur en tocophérols totaux la plus élevée (335 mg/kg), suivi des oléastres 2 et 3 avec des teneurs de 329 et 205 mg/kg respectivement, la valeur la plus faible est relevée pour la variété *Chemlal* (192mg/Kg). Des différences significatives ($p < 0,05$) sont notées entre les quatre échantillons d'huiles pour les taux en tocophérols totaux.

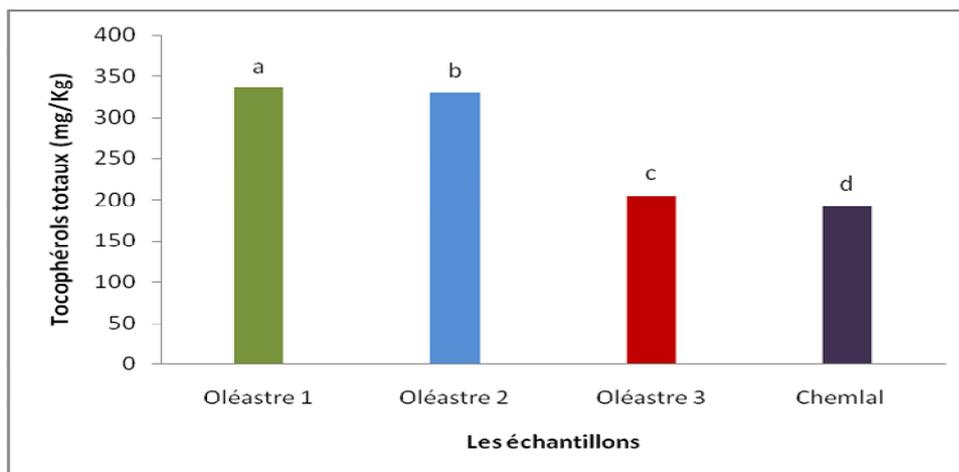


Figure n°7: Teneurs en tocophérols totaux des huiles étudiées.

D'après Baldioli *et al.* (1996), une huile d'une bonne qualité présente des teneurs en tocophérols variant de 100 à 300 mg /kg. Nos huiles présentent des teneurs supérieures à cette fourchette variant de 192 à 335 mg / kg.

Nos échantillons d'huiles présentent des teneurs en tocophérols totaux inférieures à celles obtenues par Dabbou *et al.* (2011) pour des huiles d'oléastres tunisiens (310-780 mg/Kg) mais supérieures aux teneurs obtenues par Matos *et al.*, (2007) sur des variétés Portugueues dont les taux sont compris entre 133,6 et 291,7 mg/Kg et sont proches à celles obtenues par Beltran *et al.* (2005) pour la variété espagnole (*Hojiblanca*), dont le taux est compris entre 237 et 374 mg/Kg.

L'oléastre 1 se caractérise par la teneur la plus élevée en α -tocophérol (324 mg/Kg) et une teneur de 11 mg/Kg pour la somme β et γ tocophérol, donnant ainsi une teneur en tocophérols totaux de 335 mg/Kg.

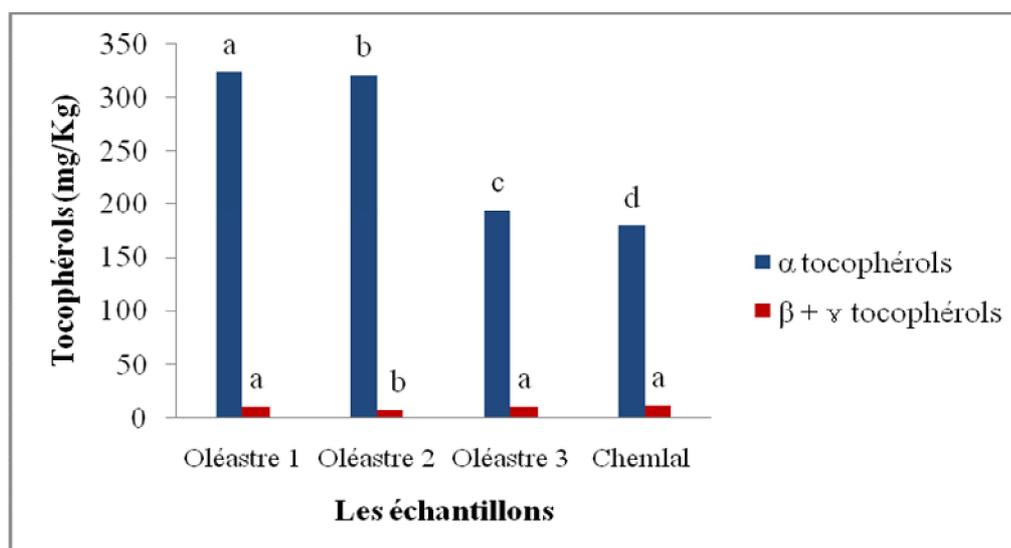


Figure n°8 : Teneurs en α , β et γ tocophérols des huiles étudiées.

Les teneurs en β et γ tocophérols montrent que les huiles de l'oléastre 2 et l'oléastre1 sont significativement différentes ($p < 0,05$) de l'huile de *Chemlal*, alors que l'huile d'oléastre 3 est semblable à celle de *Chemlal*.

Nos échantillons présentent des teneurs inférieures à celles obtenues par Baccouri *et al.* (2008) pour les huiles d'oléastres tunisiennes (125 à 166,3 mg/kg d'huile pour β et γ tocophérols et 367 à 590mg/Kg pour α tocophérol) et celle des huiles d'olives tunisiennes (8,41 à 25,12 mg/kg d'huile pour β et γ tocophérols et 120,55 à 478,13 mg/Kg pour α tocophérol (Baccouri *et al.* 2008) mais supérieures à celles obtenues par Gutiérrez *et al.* (2002) pour les huiles espagnoles (1,94 à 8,30 mg/kg d'huile pour β et γ tocophérols et 156 à 253 mg/Kg pour α tocophérol).

Les teneurs en tocophérols sont influencées par la pluviométrie et l'irrigation, le contenu en α -tocophérol est d'autant plus important que la pluviométrie est faible (Beltran *et al.*, 2005). Les teneurs appréciables en α -tocophérol enregistrées pour nos huiles vont contribuer à leur stabilité oxydative, en les protégeant contre l'autooxydation des acides gras polyinsaturés.

III.6. Les composés phénoliques

III.6.1. Dosage colorimétrique

III.6.1.1. Polyphénols totaux

Les résultats du dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux, exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique (EAG) /kg d'huile, sont montrés dans la figure 9. Des différences significatives ($p < 0,05$) sont relevées entre les échantillons d'huiles étudiés.

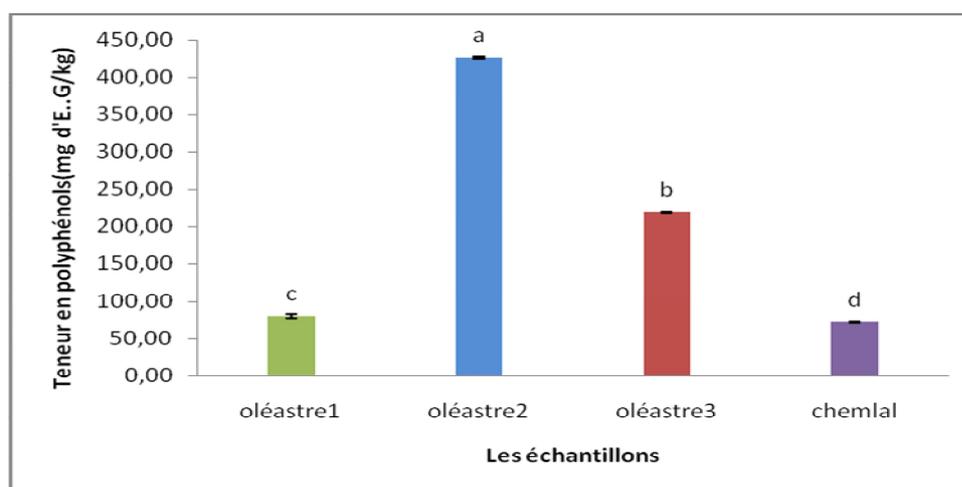


Figure n°9 : Teneurs en polyphénols totaux des échantillons d'huiles étudiés.

Les taux les plus élevés sont enregistrés chez les oléastres E2 (425,93 mg EAG/kg), E3 (219,53 mg EAG/kg). Cependant, l'oléastre1 et *Chemlal* ont montré les taux les plus faibles de 80,28 et 72, 59 mg E.A.G/kg respectivement.

D'après Tsimidou (1998), on peut classer les sujets étudiés par rapport à leurs teneurs en polyphénols comme suit :

- Variétés à faible teneur en polyphénols totaux 50-200 mg/kg
- Variétés à teneur moyenne en polyphénols totaux 200-500 mg/kg
- Variétés à teneur élevée en polyphénols totaux 500-1000mg/kg.

D'après cette classification, l'oléastre 1 et *Chemlal* sont classés dans la catégorie à teneur faible en polyphénols totaux, tandis que les échantillons d'oléastre 2 et d'oléastre 3 sont à teneurs moyennes en polyphénols totaux.

Les teneurs en polyphénols totaux enregistrées pour les oléastres 2 et 3 sont proches de celles des huiles d'oléastres tunisiennes (Baccouri *et al.*, 2010) qui varient de 186-435,3 mg/kg, mais plus élevées comparées aux huiles d'oléastres Pakistanaïses (Gulfraz *et al.*, 2009) dont le taux varie de 23,6-92,4 mg/kg et des huiles de variétés espagnoles analysées par Ceci et Carelli (2007) qui présentent des teneurs en polyphénols totaux comprises entre 37,2 et 93,2 mg/kg.

La teneur faible en polyphénols totaux des huiles d'oléastre 1 et *Chemlal* pourraient être attribuée à la diminution de l'activité de l'enzyme L-Phénylalanine Ammonia Lyase (PAL) qui joue un rôle important dans la désamination de la phénylalanine et sa conversion en acide trans-cinnamique impliqué dans la synthèse des composés phénoliques. Une forte activité de cette enzyme est associée à l'accumulation des composés phénoliques dans les olives, et par conséquent dans l'huile. L'activité de la PAL est fonction du degré de maturité des fruits (elle diminue au cours de la maturation). Par ailleurs, on constate que malgré l'avancement du stade de maturité des olives de l'oléastre 3, l'huile présente une teneur appréciable en polyphénols totaux qui est de 219,53 mg/Kg alors que *Chemlal*, qui présentant un indice de maturité de 3,75, possède la teneur la plus faible en polyphénols totaux (72,59 mg/kg). Cela pourrait être lié au système enzymatique qui est spécifique pour chaque variété ainsi que les conditions climatiques et de l'irrigation (elle augmente dans des conditions arides) (Tovar *et al.*, 2002 ; Durand et Terral, 2005).

III.6.1.2. *Ortho*-diphénols

L'analyse des teneurs en *ortho*-diphénols, exprimées en milligramme d'équivalent acide caféique des différentes huiles étudiées (figure 10), montre des différences significatives ($p < 0,05$) entre les huiles étudiées.

Les huiles de l'oléastre 2 (54,97 mg/kg) et de l'oléastre 3 (33,34 mg/kg) sont les plus riches en *ortho*-diphénols que l'oléastre 1 qui enregistre un taux appréciable qui est de 29,16 mg/kg suivi de la variété *Chemlal* (21,47 mg/kg). La teneur en *ortho*-diphénols suit de près la teneur en polyphénols totaux, un coefficient de corrélation de 0,96 ($p < 0,05$) est relevé entre les teneurs en *ortho*-diphénols des huiles étudiées et celles des polyphénols totaux.

Les teneurs enregistrées en *ortho*-diphénols pour nos échantillons sont supérieures à celles obtenues pour les variétés espagnoles *Picual*, *Hojiblanca* et *Arbequina* dont les teneurs varient entre 3,99 mg/kg et 18,92 mg/kg (Gutiérrez *et al.*, 2002), mais beaucoup plus faibles comparées à celles des huiles d'oléastres tunisiennes (Baccouri *et al.*, 2010) qui présentent des teneurs de 105 – 217,6 mg/kg ainsi que les huiles des variétés tunisiennes étudiées par Zarrouk *et al.* (2008) qui sont de l'ordre de 188,12 à 213,62 mg/Kg.

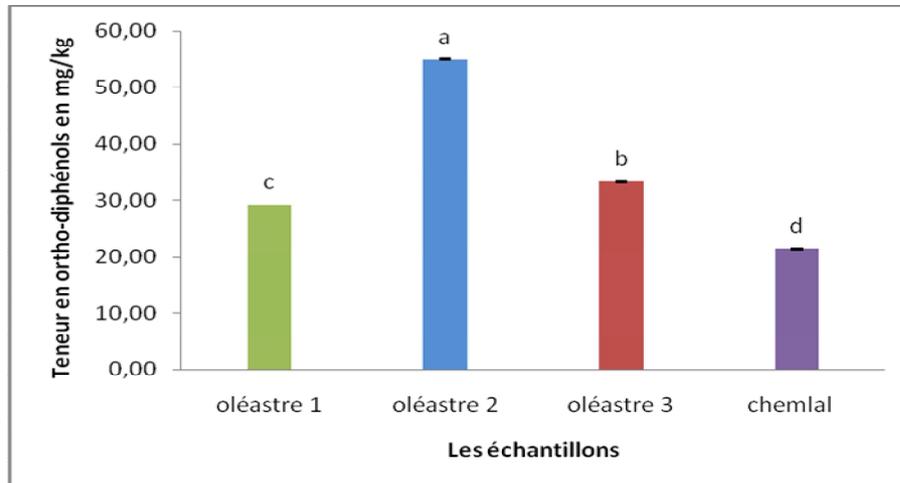


Figure n°10 : Teneurs en *ortho*-diphénols des échantillons d'huiles étudiés.

III.6.2. Identification des phénols des huiles par HPLC

L'analyse des résultats obtenus par HPLC montre une composition qualitative en composés phénoliques similaire pour l'ensemble des échantillons, mais différente d'un point de vue quantitatif. Le profil en composés phénoliques est représenté par :

- Les secoiridoides : dérivés d'oleuropéine et de ligstroside.
- Les alcools phénoliques : hydroxytyrosol et tyrosol.

- Les flavonoïdes : apigénine et lutéoline.
- Les lignanes
- Oleocanthal
- Les acides secoiridoides ainsi que des bisphénols oxydés.

Ce profil en composés phénoliques est analogue à celui observé par d'autres auteurs pour les variétés d'huiles algériennes (Laribi *et al.*, 2009), les huiles d'oléastes tunisiennes (Baccouri *et al.*, 2010) et les variétés d'huiles espagnoles (Mateos *et al.*, 2001)(tableau IX).

Tableau IX : Teneurs (mg/Kg) en composés phénoliques individuels, biophénols naturels, oxydés des huiles étudiées déterminées par HPLC.

	Oléastre 1	Oléastre 2	Oléastre 3	Chemlal
Biophénols naturels (mg/Kg)	263 b	482 a	258 c	90 d
Dérivés d'oleuropeine (mg/Kg)	84 c	268 a	91 b	11 d
Dérivés ligstroside (mg/Kg)	107 c	126 b	139 a	2 d
Alcools aromatiques (mg/Kg)	6 c	20 a	13 b	3 d
Hydroxytyrosol (mg/Kg)	3 c	13 a	6 b	2 c
Tyrosol (mg/Kg)	3 b	7 a	7 a	1 c
Flavonoïdes totaux (mg/Kg)	19 a	14 b	2 d	10 c
Lutéoléine	9 a	10 a	1 c	6 b
Apigénine	10 a	4 b	1 c	4 b
Oleocanthal (mg/Kg)	81 a	50 c	55 b	1 d
Lignanes (mg/Kg)	35 b	37 a	17 c	2 d
Acides phénoliques (mg/Kg)	3 bc	4 ab	1d	2 cd
Acides secoiridoides (mg/Kg)	117 b	138 a	22 d	50 c
Acide énoïque	114 b	132 a	14 d	46 c
Acide décarboxyméthyl- énoïque	3 c	6 b	8 a	4 c
Biophénols oxydés (mg/Kg)	15 c	33 b	8 d	38 a
Rapport d'oxydation (%) : Biophénols oxydés/ Biophénols naturels	5,7 c	6,8 b	3,3 d	39,5 a
Rapport d'hydrolyse (%) : les Alcool aromatiques/ Biophénols naturels	2,2 d	4 b	5,3 a	2,5 c

Les valeurs portant la même lettre sur la même ligne ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

❖ Secoiridoïdes : dérivés d'oleuropéine et de ligstroside

Les secoiridoïdes constituent la fraction phénolique la plus abondante dans toutes les huiles étudiées à savoir les dérivés d'oleuropeine et du ligstroside (Pinelli *et al.*, 2003; Dabbou *et al.*, 2009). En comparant aux taux des polyphénols totaux, les huiles des oléastres 3 et 2 présentent les pourcentages les plus élevés en dérivés secoiridoïdes soit 89,15% et 82,01% respectivement suivi par l'oléastre 1 qui présente un pourcentage de 72,62% ; le pourcentage le plus faible est obtenu pour l'huile de la variété *Chemlal* (30,00%).

Les teneurs maximales en dérivés d'oleuropeine et du ligstroside sont enregistrées pour l'huile de l'oléastre 2 avec des valeurs respectives de 268 et 126mg/Kg suivie des huiles 3 et 1 avec des teneurs de 91 et 84 mg/Kg pour les dérivés d'oleuropeine et de 139 et 84 mg/Kg pour les dérivés du ligstroside. La variété *Chemlal* se caractérise par les teneurs les plus faibles qui oscillent entre 11 mg/kg (dérivés d'oleuropéine) et 16mg/kg (dérivés de ligstroside) (figure 11).

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les quatre huiles pour la composition en dérivés d'oleuropeine et dérivés du ligstroside. Nos résultats sont supérieurs aux résultats obtenus pour les variétés algériennes (*Chemlal*, *Boughenfous* et *Takesrit*, *Blanquette*) analysées par Laribi *et al.*(2009) dont les teneurs en dérivés d'oleuropeine sont comprises entre 7 et 137 mg/Kg et entre 33 et 99 mg/Kg en dérivés de ligstroside. Les variétés tunisiennes (*Chétoui*, *Chemlal*, *Meski*) présentent des teneurs en dérivés d'oleuropeine comprises entre 1 et 77 mg/Kg et entre 43,3 et 60,2 mg/Kg en dérivés de ligstroside (Dhifi *et al.*,2006).

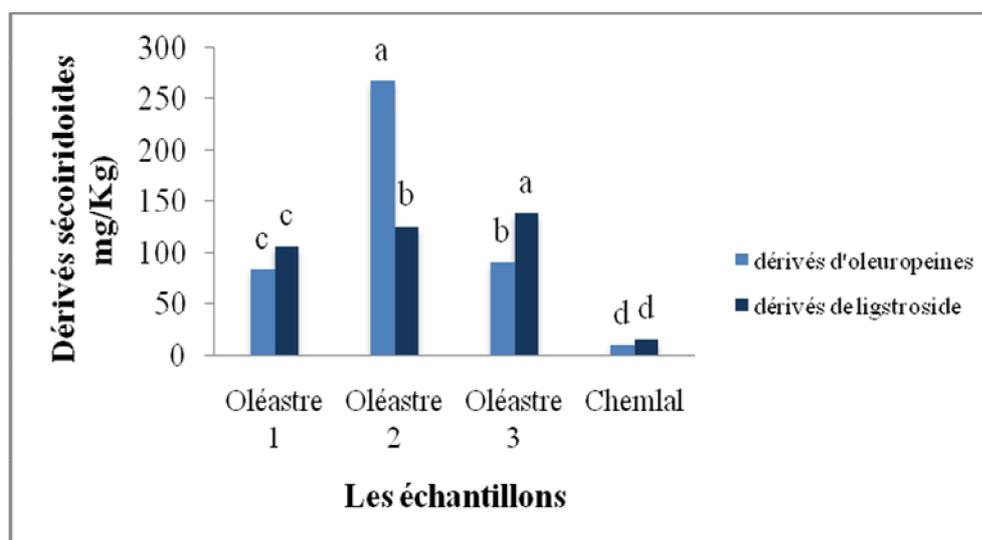


Figure n°11: Teneurs en dérivés secoiridoïdes des échantillons d'huiles étudiées.

D'après Rovellini et Cortesi (2003), le profil chromatographique et l'évaluation de la distribution des composés, en particulier dans le cas de l'oleuropeine et du ligstroside, pourrait également contribuer à la caractérisation variétale. En outre, un taux élevé en ces composés assure une bonne stabilité de l'huile (Morello *et al.*, 2004).

❖ Alcools aromatiques

Les principaux alcools aromatiques sont l'hydroxytyrosol (3,4DHPEA) et le tyrosol (*p*-HPEA). Ils dérivent respectivement de l'hydrolyse de l'oleuropeine et du ligstroside par action des glucosidases (Tsimidou, 1998; Bouaziz *et al.*, 2004).

L'huile d'oléastre 2 enregistre la teneur maximale en alcools aromatiques (20 mg/Kg), soit un pourcentage de 4,14% des polyphénols totaux suivie de l'huile de l'oléastre 3 (13 mg/Kg) qui présente le pourcentage le plus élevé en alcools aromatiques (5,04%) par rapport aux polyphénols totaux. Les huiles d'oléastre 1 et *Chemlal* se caractérisent par les taux les plus faibles en alcools aromatiques (6 et 3 mg/ Kg respectivement) soient des pourcentages respectifs de 2,28 et 3,33% (figure12).

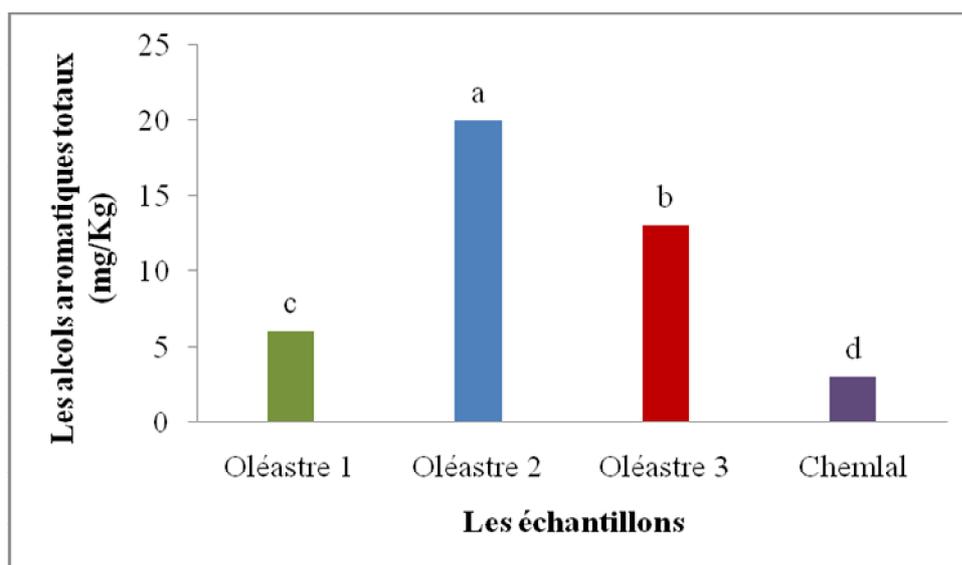


Figure n°12 : Teneurs en alcools aromatiques totaux des échantillons d'huiles étudiées.

L'analyse statistique des alcools aromatiques a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les échantillons. L'étude statistique de tyrosol a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les échantillons excepté entre les huiles d'oléastre 2 et 3. Des différences significatives ($p < 0,05$) sont notées entre les échantillons sauf entre l'oléastre 1 et *Chemlal* concernant les taux en l'hydroxytyrosol.

L'hydroxytyrosol (3,4-DHPEA) et le tyrosol (*p*-HPEA) oscillent entre 1 et 7 mg/kg et entre 2 et 13mg/kg pour le tyrosol et l'hydroxytyrosol respectivement. Les

oléastres 2 et 3 enregistrent les valeurs les plus élevées en hydroxytyrosol (13 et 6 mg/kg) et tyrosol (7 mg/kg), tandis que la valeur la plus faible en tyrosol et en hydroxytyrosol est enregistrée pour la variété *Chemlal* (1 et 2 mg/kg respectivement) (figure13).

Le pourcentage en alcools phénoliques libres par rapport aux polyphénols totaux a été rapporté comme un paramètre d'estimation de la stabilité oxydative et de la fraîcheur d'une huile d'olive (Pinelli *et al.*, 2003; Cortesi et Rovellini, 2004; Romani *et al.*, 2007).

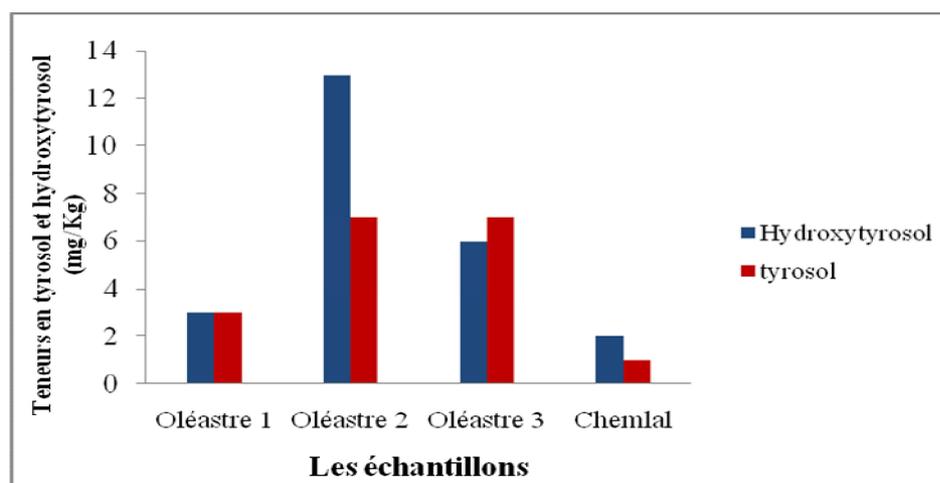


Figure n°13 : Teneurs en tyrosol et hydroxytyrosol des échantillons étudiés.

Nos échantillons présentent des teneurs en alcools phénoliques (hydroxytyrosol et tyrosol) supérieures aux teneurs des variétés tunisiennes qui présentent des teneurs comprises entre 0,65 et 5,36 mg/kg et entre 0,05 et 1,59 mg/kg respectivement (Haddada *et al.*, 2007).

❖ Les acides secoiridoïdes

L'analyse des teneurs en acides secoiridoïdes (acide élénolique, acide décarboxyméthyl élénolique et acides secoiridoïdes oxydés) des huiles analysées montre des différences significatives ($p < 0,05$) (figure 14).

Les taux en acides secoiridoïdes totaux sont compris entre 22 et 138 mg/Kg, les formes oxydées sont présentes à des teneurs très faibles ou inexistantes (0 - 1 mg/Kg).

L'oléastre 2 se révèle le plus riche en acides secoiridoïdes (138 mg/Kg) avec des taux de 132 et 6mg/Kg en acides élénoliques et décarboxyméthyl élénolique respectivement.

Les teneurs minimales sont enregistrées par la variété *Chemlal* (50, 46 et 4 mg/kg en acides secoiridoïdes, acides élénolique et décarboxyméthyl élénolique

respectivement), suivi de l'oléastre 3 qui ne présente que 22 mg/Kg en acides secoiridoïdes malgré ses teneurs appréciables en polyphénols totaux.

L'oléastre 1 montre une teneur appréciable en secoiridoïdes (117 mg/kg) avec des taux de 114 et 3 mg/kg en acides élénolique et décarboxyméthyl élénolique respectivement.

Nos huiles présentent des teneurs en acides secoiridoïdes supérieures aux variétés algériennes dont les valeurs sont comprises entre 6 et 117 mg/Kg (Laribi *et al.*, 2009), et celles de quelques variétés italiennes analysées par Rovellini (2008) qui présentent des taux en acides secoiridoïdes totaux variant de 31,8 à 106,6mg /Kg.

Le contenu en acides secoiridoïdes naturels et oxydés est un paramètre important, utilisé par Rovellini (2008) pour distinguer une huile nouvellement extraite d'une huile stockée. En outre, divers effets ont été attribués à ces composés, telles que propriétés antivirale, antifongique et antibactérienne (Hamdi et Castellon, 2005).

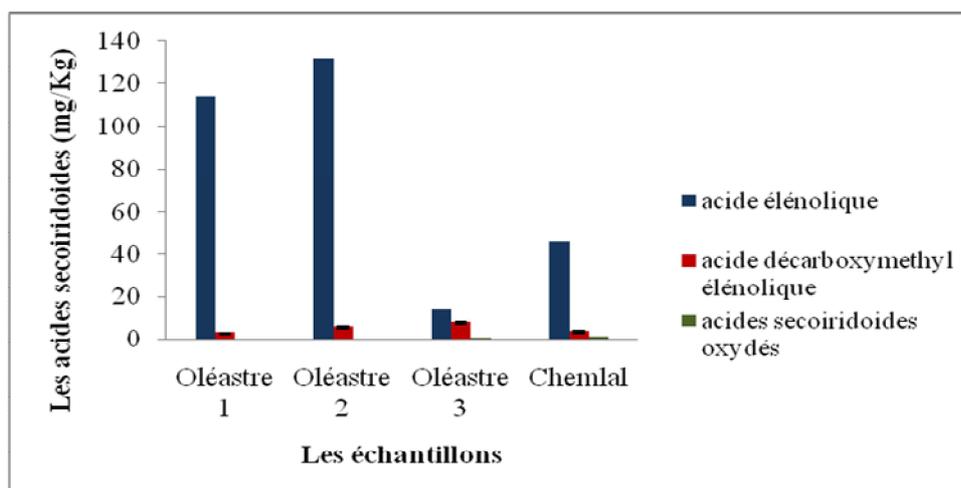


Figure n°14: Teneurs en acides secoiridoïdes des échantillons d'huile étudiées.

❖ Les flavonoïdes

D'après les résultats obtenus, l'apigénine et la lutéoline sont les flavonoïdes présents dans toutes les huiles analysées, avec une prédominance de la lutéoline à l'exception de l'oléastre 1 qui a enregistré un taux plus élevé en apigénine (figure 15). L'oléastre 2 se caractérise par la teneur la plus élevée en lutéoline 10 mg/kg, cette teneur est proche de celle des variétés françaises obtenues par Andjelkovic *et al.* (2008), suivi par l'oléastre 1. Tandis que, l'oléastre 3 se distingue par la teneur la plus faible en lutéoline (1 mg/kg) et apigénine (1mg/kg) respectivement.

D'après Brenes *et al.* (1999), la concentration de la lutéoline diminue avec la maturation du fruit d'olive alors que celle de l'apigénine ne subit aucun changement ce

qui pourrait expliquer les faibles teneurs en lutéoline chez l'oléastre³ qui présente un indice de maturité élevé (6,12).

une différence non significative est enregistrée entre les échantillons d'huiles d'oléastre 2 et *Chemlal* pour les taux en apigénine et entre les oléastres 1 et 2 pour ceux de la lutéoline.

Romani *et al.* (2001) et Pinnelli *et al.* (2003) ont rapporté un pourcentage en flavonoïdes ne dépassant pas 2 à 3 % en biophénols totaux. Nos échantillons d'huile, en revanche présentent des pourcentages qui varient de 0,76 à 11,11 % et présentent des taux en flavonoïdes supérieurs à ceux rapportés par Cortesi et Rovellini (2004) et Inarejos-García *et al.* (2010), mais moindres que ceux des huiles d'olives algériennes rapportées par Laribi *et al.* (2009).

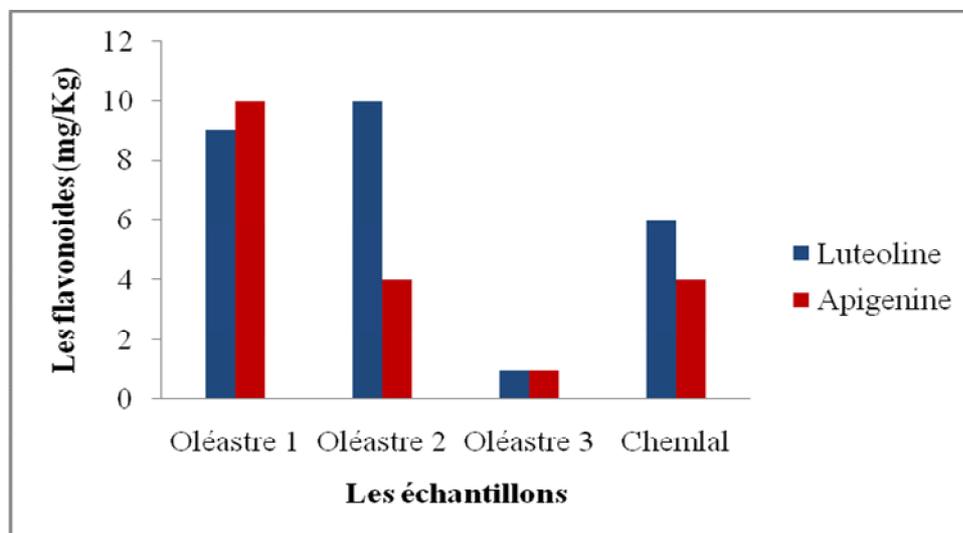


Figure n°15 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons d'huiles étudiées.

Selon Brenes *et al.* (1999), une huile ayant des teneurs supérieures à 10 ppm en lutéoline, présente un intérêt nutritionnel et thérapeutique intéressant vue les nombreux effets positifs des flavonoïdes.

❖ Les lignanes

D'après l'analyse des résultats, on constate que les teneurs en lignanes diffèrent d'une huile à une autre. En effet, les teneurs élevées ont caractérisé les huiles d'oléastres 1 et 2, tandis que les teneurs les plus faibles sont enregistrées pour les huiles d'oléastre 3 et de la variété *Chemlal* (figure16).

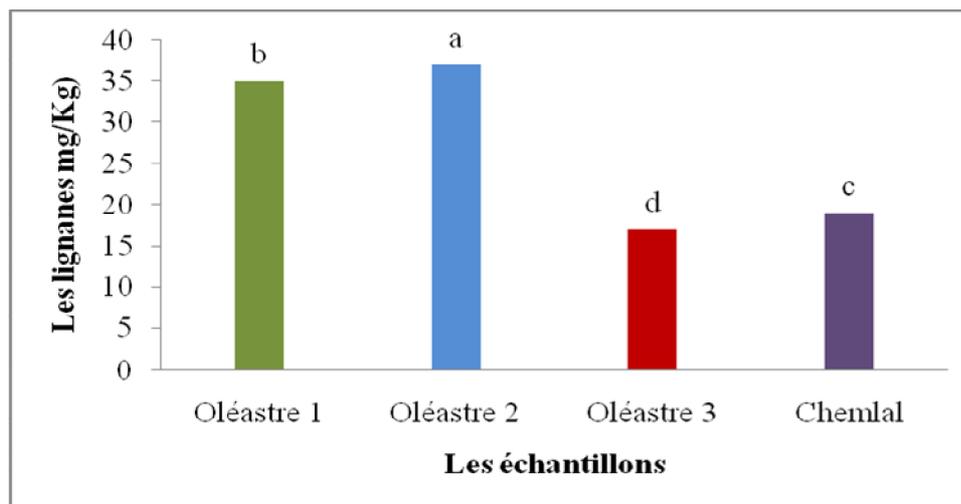


Figure 16 : Teneurs en lignanes des échantillons d'huiles d'étudiés.

L'huile de l'oléastre 2 présente la valeur maximale en lignanes (37 mg/Kg) suivie de l'huile de l'oléastre 1 qui enregistre un taux de 35 mg/Kg. La variété *Chemlal* présente une valeur de 19 mg/kg malgré sa teneur modeste en polyphénols totaux (90 mg/Kg). L'oléastre 3 qui est plus riche en polyphénols totaux (205 mg/Kg) par rapport à *Chemlal* ne présente que 17 mg/Kg. Des différences significatives ($p < 0,05$) sont notées entre les différents échantillons d'huiles.

Nos résultats sont inférieurs à ceux des variétés étudiées par Brenes *et al.* (2002) dont les teneurs sont supérieures à 100 mg/kg, mais restent supérieures aux teneurs des variétés (*Picual* et *Hojiblanca*) analysées par García-Villalba *et al.* (2010), les variétés tunisiennes analysées par Haddada *et al.* (2008) dont les teneurs oscillent entre 3,15 et 9,35 mg/kg ainsi que la variété espagnole (*Arbequina*) analysée par Artajo *et al.* (2006), dont la teneur est inférieure à 14 mg/kg.

❖ Les acides phénoliques

Les teneurs en acides phénoliques des huiles analysées sont présentées dans la figure 17. Selon Ayez et Bertoft (2001) et Bianco *et al.* (2006), les acides phénoliques sont présents dans l'huile à des proportions inférieures à 1 mg /kg et sont représentés par l'acide caféique, vanillique, syringique, *p*-coumarique, *o*-coumarique, protocatechique, sinapique et *p*-hydroxybenzoïque.

Les teneurs élevées en acides phénoliques sont enregistrées pour l'huile de l'oléastre 2 avec une teneur de 4 mg/Kg suivie d'oléastre 1 avec une teneur de 3 mg/Kg. La variété *Chemlal* et l'oléastre 3 se caractérisent par les teneurs les plus faibles 2 et 1 mg/Kg respectivement.

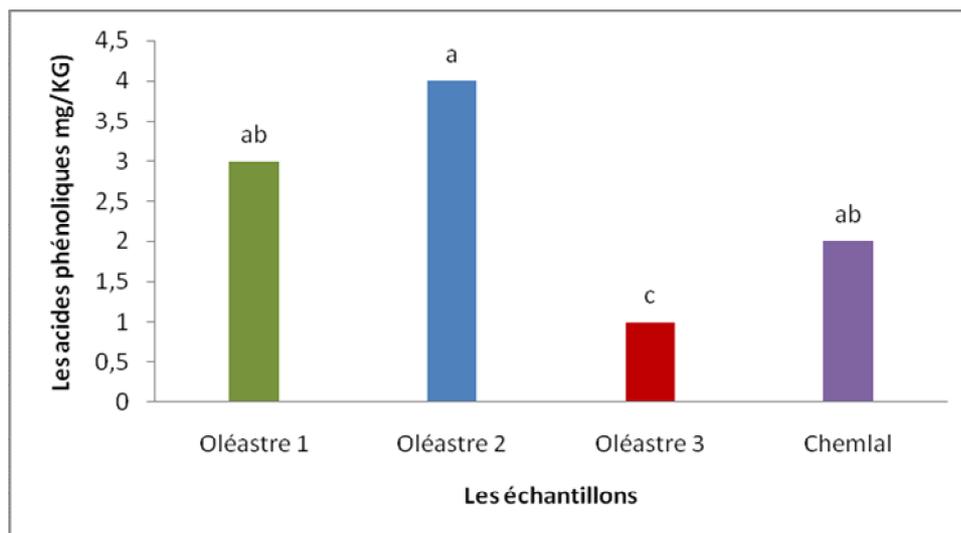


Figure 17 : Teneurs en acides phénoliques des échantillons d'huiles d'étudiées.

Une différence significative est enregistrée entre les huiles d'oléastre 2 et 3. Nos échantillons présentent des teneurs en acides phénoliques supérieures à celles des variétés italiennes qui sont de l'ordre de 1,7 mg/kg (Baldioli *et al.*, 1996), mais inférieures à celles des huiles espagnoles (*Arbequina*) analysées par Artajo *et al.* (2006) présentant des teneurs supérieures à 1,7mg/kg. Ces teneurs sont proches de celles des huiles des variétés françaises (Veillet, 2010) qui contient un taux 4,86 mg/kg.

❖ Oleocanthal

L'oléocanthal (OLC) est un composant phénolique sous la forme dialdéhyde-diacétylglucoside aglycone responsables du goût amer de l'huile extra vierge d'olive, il possède une forte activité anti-inflammatoire, semblable à celle de l'ibuprofène et que cette propriété pourrait également jouer un rôle important dans la prévention de la maladie d'Alzheimer. L'oléocanthal qui possède l'activité anti-Alzheimer mentionnée plus haut est la même molécule qui est responsable du picotement dans la gorge caractéristique de l'huile d'olive de bonne qualité (Monti *et al.*, 2011).

Les teneurs en Oleocanthal des échantillons d'huiles d'étudiés oscillent entre 1 et 81 mg/kg. Les valeurs les plus élevées sont notées pour l'oléastre 1 (81) suivies par les oléastres 3 et 2 (55 et 50 mg/kg respectivement) et la valeur la plus faible est notée pour *Chemlal* (1 mg/kg) (Figure 18).

Nos échantillons d'huile d'oléastre présentent tous des teneurs en Oleocanthal comparables à celles d'huile d'olive extra-vierge (20-200 ppm) (Impellizzeri et Lin, 2006).

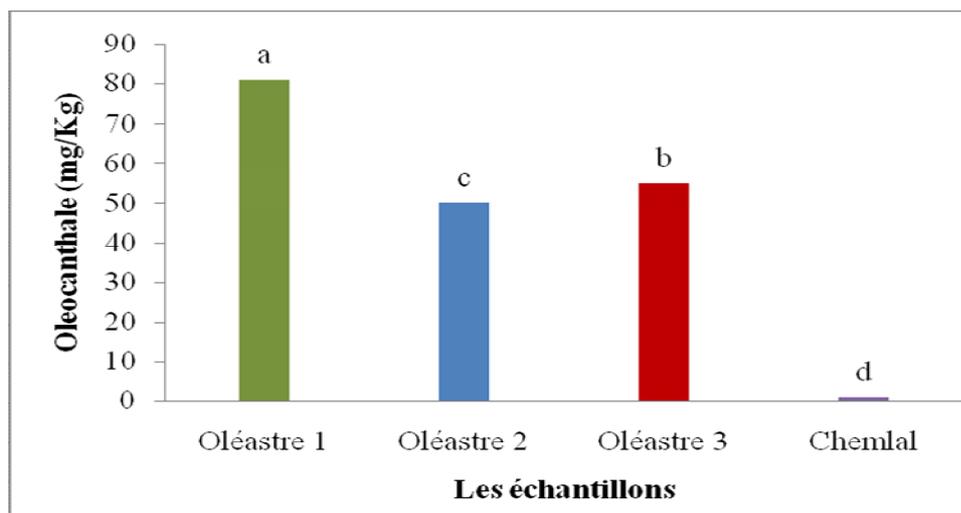


Figure n°18: Teneurs en oleocanthale des échantillons d'huiles d'étudiées.

❖ **Le rapport d'oxydation (les polyphénols oxydés/ les polyphénols totaux)**

Baiano *et al.* (2009), ont conclu qu'il pourrait être possible d'utiliser le ratio phénols oxydés / phénols totaux comme un paramètre important pour déterminer le rapport : la fraîcheur / vieillissement de l'huile.

Les résultats montrent une diminution de ces composés au cours de la maturation, le pourcentage le plus élevé est enregistré pour la variété *Chemlal* (39,5%) marquant ainsi un état d'oxydation avancé malgré qu'elle présente un indice de maturité le plus faible par rapport aux autres huiles d'oléastres analysées, et le pourcentage le plus faible est enregistré pour l'oléastre 3(3,3%) (IM= 6,12), suivi des huiles des oléastres 1 et 2 (5,7 et 6,8 %) (figure 19).

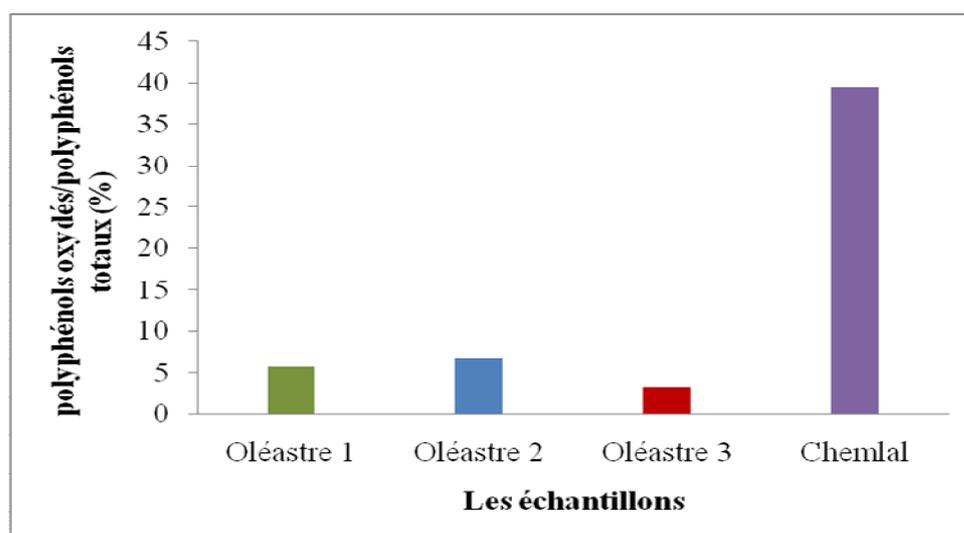


Figure n°19: Rapport polyphénols oxydés sur les polyphénols totaux des échantillons d'huiles étudiées.

Nos échantillons présentent des pourcentages en polyphénols oxydés faibles ce qui nous mène à dire que nos huiles sont fraîches et stockées dans des conditions adéquates.

Des différences significatives ($p < 0,05$) sont notées entre les différents échantillons d'huiles.

Concernant les oléastres, nos résultats obtenus sont faibles comparés aux huiles d'olives algériennes (entre 6,54 à 17,39 %) analysées par Laribi *et al.* (2009).

❖ Rapport d'hydrolyse (Alcools aromatiques/ Polyphénols totaux)

Le pourcentage d'hydrolyse des échantillons d'huiles (pourcentage tyrosol + hydroxytyrosol / polyphénols totaux) est représenté sur la figure (20).

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différents échantillons huiles.

Les oléastres 3 et 2 notent les pourcentages les plus élevés (4 et 5,3 %). La variété *Chemlal* et l'oléastre 1 marquent les pourcentages les plus faibles soient 2,5 et 2,2 % respectivement. Pinelli *et al.* (2003) ont rapporté des pourcentages allant de 1 à 16,9%.

Ce pourcentage a été rapporté par Pinelli *et al.* (2003) et Cortesi et Rovellini (2004) comme un paramètre d'estimation de l'état d'oxydation d'une l'huile d'olive étant donné qu'il renseigne sur le taux d'hydrolyse des alcools phénoliques pendant la conservation.

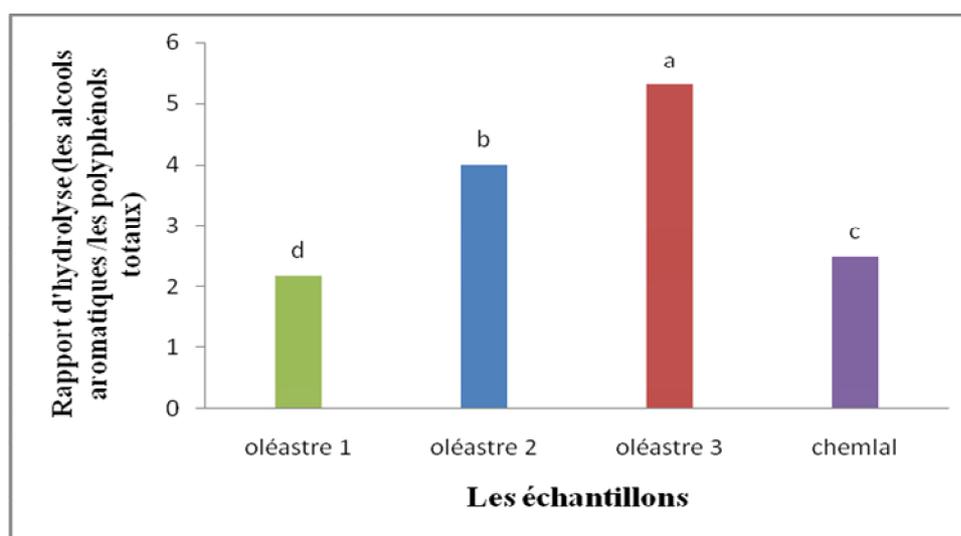


Figure 20: Rapport d'hydrolyse (Alcools aromatiques/ Polyphénols totaux) des échantillons d'huiles étudiées.

D'après nos résultats, on remarque que les pourcentages en alcools phénoliques sont faibles qui est conséquence d'une faible hydrolyse des secoiridoïdes. Ce résultat renseigne sur la fraîcheur de nos huiles.

III.6.3. Identification des composés volatiles carbonyliques des huiles par HPLC

Les résultats des déterminations analytiques des composés volatils carbonyliques des échantillons d'huiles sont consignés dans la figure (21). Les composés volatils carbonyliques sont détectés dans toutes les huiles analysées.

L'arôme de l'huile d'olive est déterminé par sa composition et sa teneur en composés volatils (Baccouri *et al.*, 2008). Certains de ces composés sont essentiellement issus de l'oxydation d'acides gras à travers l'activité d'enzymes endogènes essentiellement la lipoxygénase qui est responsable de l'arôme positif de l'huile d'olive (Angerosa, 2002). Les acides aminés participent aussi à l'arôme de l'huile d'olive (Kalua *et al.*, 2007).

La teneur maximale en composés volatils carbonyliques (Hexanal et Nonanal) est enregistrée pour l'huile de la variété *Chemlal* (236mg/Kg), l'échantillon d'huile d'oléastre 3 enregistre également une teneur appréciable de 208 mg/Kg. Les concentrations les plus faibles en composés volatils carbonyliques correspondant à 81et 69 mg/Kg sont respectivement enregistrées pour l'huile des oléastres 2 et 1.

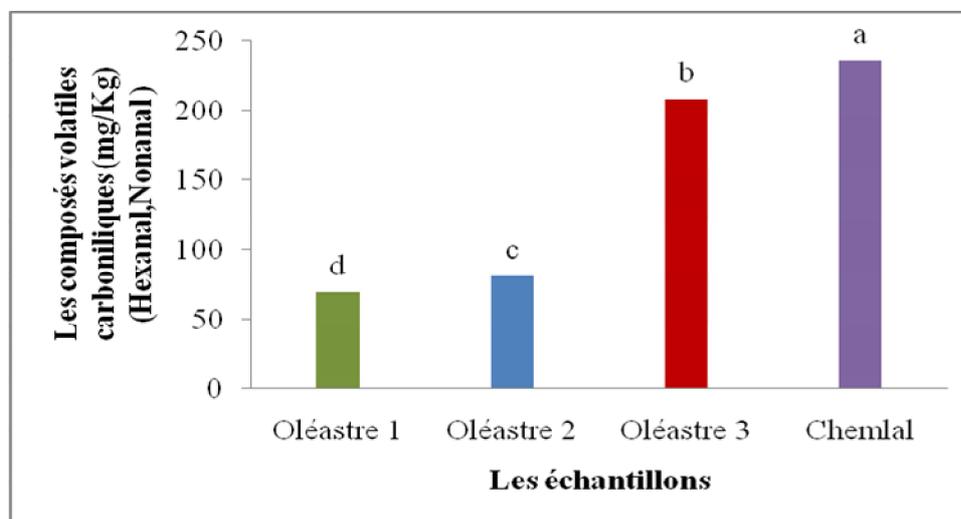


Figure n°21: Teneurs en composés volatils carbonyliques des échantillons d'huiles d'étudiées.

Nos résultats, montrent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les huiles étudiées et sont supérieurs à ceux des oléastres tunisiens étudiés par Baccouri *et al.*,

2007a dont les teneurs sont inférieures à 14,42 mg/kg, et aussi aux variétés analysées par Haddada *et al.*, (2007) dont les teneurs oscillent entre 14,7 et 61,1mg/kg.

Le profil en composés volatils de l'huile d'olive dépend de l'activité d'enzymes impliquées dans les différents voies de synthèse (Angerosa, 2002), en outre le cultivar, la localisation géographique, la maturité des fruits et le processus d'extraction sont d'importants facteurs influençant les caractéristiques sensorielles de l'huile d'olive.

III.6.4. Indice de qualité et de statut nutritionnel des échantillons d'huiles

La qualité d'huile d'olive vierge, est composée des propriétés chimiques différentes (tableau X), divisées en deux catégories parce que certaines influençant de manière positive et d'autres négativement l'aspect final du statut nutritionnel. Les attributs positifs sont représentés par la classe d'antioxydants naturels et les attributs négatifs sont composés de dérivés du processus, en général d'oxydation et d'hydrolyse (tableau X) (Rovellini *et al.*, 2004).

Tableau X : Indices de qualité et de santé nutritionnelle des d'huiles étudiés.

	Indice de qualité nutritionnelle et de santé	Références
	Attribut chimiques positifs	
	Antioxydants naturels	
1	<ul style="list-style-type: none"> Dérivés d'oleuropeine, ligstroside et Lignanes naturels. 	Corteci <i>et al.</i> (2002).
2	<ul style="list-style-type: none"> Les flavonoïdes 	Eder et Brandsch (2002)
3	<ul style="list-style-type: none"> Acides secoiridoïdes 	Rovellini <i>et al.</i> (1997)
4	<ul style="list-style-type: none"> Tocophérols totaux* 	Cortesi <i>et al.</i> (2002)
	Attributs chimiques négatifs	
	Processus d'hydrolyse	
5	<ul style="list-style-type: none"> Alcools aromatiques/ Dérivés d'oleuropeine et ligstroside et lignanes 	Cortesi <i>et al.</i> (2002)
	Processus d'oxydation	
6	<ul style="list-style-type: none"> Dérivés d'oleuropeine et ligstroside oxydés 	Rovellini et Cortesi (2002)
7	<ul style="list-style-type: none"> Dérivés d'oleuropeine et ligstroside oxydés / Dérivés d'oleuropeine, ligstroside et Lignanes naturels. 	Rovellini et Cortesi (2002)
8	<ul style="list-style-type: none"> Acides secoiridoïdes oxydés 	Rovellini et Cortesi (2002)
9	<ul style="list-style-type: none"> Tocophérols oxydés 	Rovellini <i>et al.</i> (1999)
10	<ul style="list-style-type: none"> Acides gras oxydés 	Rovellini <i>et al.</i> (1999)
11	<ul style="list-style-type: none"> Acides gras conjugué linoléique cis-trans 	
12	<ul style="list-style-type: none"> Acides gras conjugué linoléique trans- trans 	Rovellini <i>et al.</i> (1999)
13	<ul style="list-style-type: none"> Acides gras conjugué linoléique 	Rovellini <i>et al.</i> (1999)
14	<ul style="list-style-type: none"> Composés volatiles carbonyliques 	Rovellini <i>et al.</i> (2002)

* est exprimés par : $(\text{mg } \alpha \text{ tocophérol}) + (\text{mg } \beta \text{ tocophérol} * 0,5) + (\text{mg } \gamma \text{ tocophérol} * 0,1) + (\text{mg } \delta \text{ tocophérol} * 0,03)$.

Indice de qualité et du statut nutritionnel est déterminé par la formule suivante :

$$\text{L'indice de qualité et de santé} = \frac{[\text{Attributs chimiques positifs}]}{[\text{Attributs chimiques négatifs}]} * 100$$

Il s'agit d'une formule mathématique qui prend en compte la teneur totale en antioxydants naturels (mg / kg) [attributs chimiques positifs] et le produit entre le contenu total de composés à partir des procédés d'oxydation (mg / kg) et de composés à partir des processus d'hydrolyse (g/100 g) et d'oxydation [attributs chimiques négatifs].

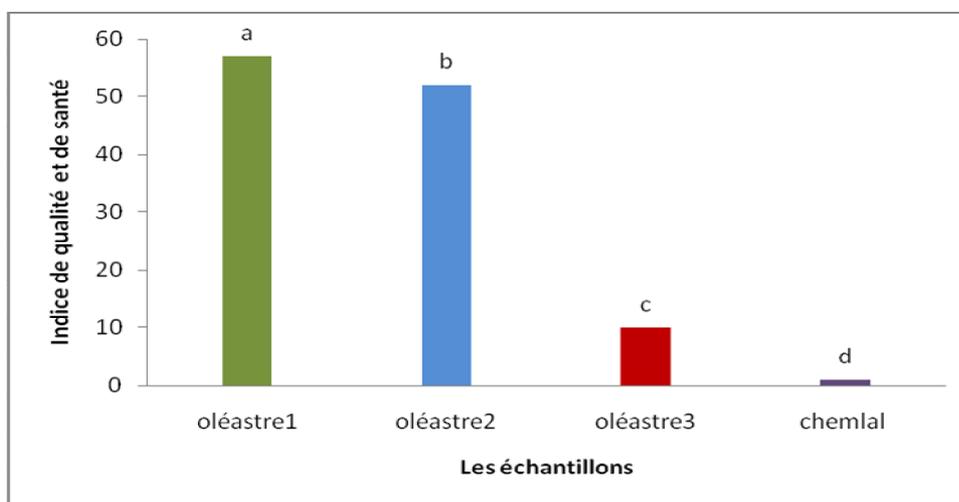


Figure n°22 : Indice de qualité et de statut nutritionnel des huiles étudiées.

Nos résultats, montrent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les huiles étudiées.

La plus petite valeur (2) est obtenue pour d'huile de la variété *Chemlal* et la valeur la plus élevée est obtenue pour l'huile d'oléastre 1(57). Les oléastres 1 et 2 sont classés dans la catégorie à qualité élevée alors que l'oléastre 3 dans la catégorie moyenne par contre la variété *Chemlal* est classée dans la catégorie faible.

Les oléastres 1 et 2 présentent les indices de qualité et de statut nutritionnel les plus élevés (57 et 52 respectivement) dus à leur richesse en composés à attributs chimiques positifs et pauvres en composés à attributs chimiques négatifs. L'oléastre 3 possède un indice moyen (10) et le plus faible est celui de la variété *Chemlal* (2).

Nos oléastres présentent des indices proches de ceux obtenus sur des variétés d'huiles d'olives italiennes par Rovellini *et al.*, (2010) dont les valeurs oscillent entre 14,8 -62.

III.6.5. Indice d'amertume

L'amertume la plus élevée est notée chez l'oléastre 2 avec un k_{225} de 1,63, alors que la variété *Chemlal* présente la valeur la plus faible soit 1,23. Les autres oléastres 1 et 3 enregistrent des k_{225} de 1,60 et 1,59 respectivement. Les résultats obtenus montrent des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différents échantillons (figure 23).

Les résultats obtenus montrent que l'amertume est plus prononcée dans les huiles d'oléastres que dans l'huile de la variété *Chemlal* malgré que cette dernière a été obtenue à partir des olives non mûres (3,75).

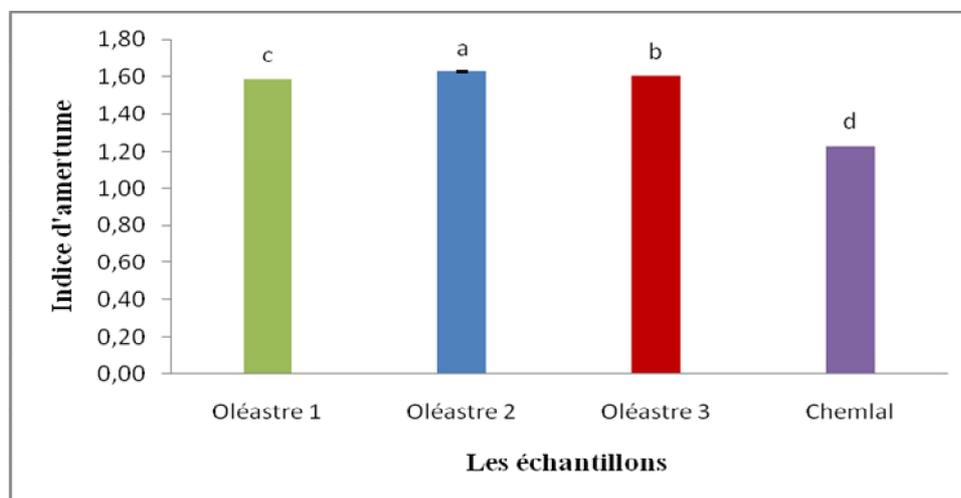


Figure n°23 : Indice d'amertume des différents échantillons d'huiles d'étudiées.

L'intensité de l'amertume est principalement liée au cultivar d'olives et à l'étape de maturation, et comme rapportée par beaucoup d'auteurs, est particulièrement abondante en huiles obtenues à partir des fruits non mûrs. (Bendini *et al.*, 2007).

D'après Gutierrez-Rosales *et al.*(2003), les polyphénols sont les principaux composés responsables de l'amertume de l'huile d'olive. Selon Berra (1998), Aparicio et Luna (2002), Morello *et al.* (2004), ce goût amer de l'huile d'olive est attribué à l'oleuropéine glucoside et ses aglycones et aux acides phénols dérivés des acides benzoïques et cinnamiques. Tovar *et al.* (2001) ont attribué la note amère et piquante aux dérivés ligstrosides tel que le *p*-HPEA-EDA) ; Gutierrez-Rosales *et al.*(2003) ont enregistré des corrélations linéaires entre l'amertume et les dérivés d'oleuropeine et de

ligstroside aglycones ; Andrewes *et al.* (2003) ont identifié p-HPEA-EDA comme principale composé responsable de la sensation piquante de l'huile d'olive.

Des corrélations négatives significatives ($p < 0,05$) ont été notés entre l'indice d'amertume et le poids moyen des fruits ainsi qu'avec les teneurs en huiles avec des coefficients de corrélation respectifs de (-0,98) et (-0,54).

En effet des teneurs élevées en composés phénoliques ont été corrélées avec l'amertume de l'huile d'olive (Tovar *et al.*, 2001; Gutierrez-Rosales *et al.*, 2003 ; Mateos *et al.*, 2004), l'amertume des différentes huiles d'olive étudiées présente des corrélations positives ($p < 0,05$) avec les teneurs en : dérivés oleuropeine ($r = 0,69$), ligstroside ($r = 0,98$), alcools aromatiques ($r = 0,71$) et en oleocanthal ($r = 0,88$).

D'après Mateos *et al.* (2004), l'estimation de l'amertume peut être utile pour une préparation de coupage ou de mélange d'huile d'oléastre et d'olive très amère avec une huile non amère ou raffinée.

III.7. Activité antioxydante

III.7.1. Activité antiradicalaire de l'huile sur le radical DPPH

La mesure de l'activité antiradicalaire des échantillons d'huile sur le radical DPPH a permis de constater que l'effet scavenger du radical DPPH augmente au fur et à mesure que les concentrations en huile et en composés de référence (acide gallique, acide caféique, α -tocophérol et BHA) augmentent.

L'analyse statistique relève des différences significatives ($p < 0,05$) entre les huiles étudiées (figure 24).

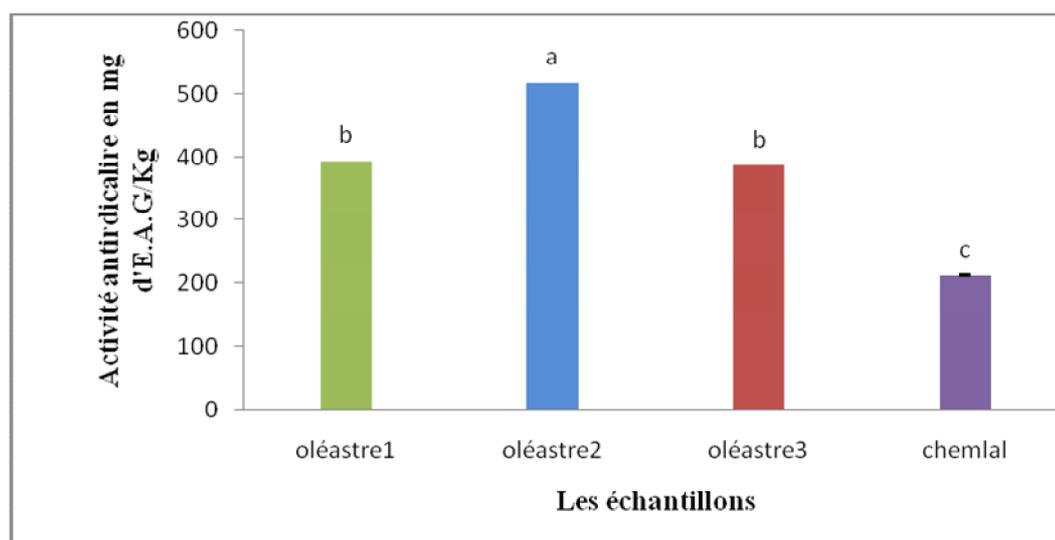


Figure n°24 : Activités antiradicalaires des échantillons d'huiles étudiées sur le radical DPPH.

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

Tableau XI: Concentrations efficaces 50 des différents échantillons d'huiles et des standards utilisés.

Echantillon	EC ₅₀ (mg/ml)
<i>Chemlal</i>	61,73± d
Oléastre 1	33,43± b
Oléastre 2	25,39 ± a
Oléastre 3	34,03± c
Acide gallique	13,14 (µg/ml)
Tocophérol	35,68 (µg/ml)
BHA	33,9 (µg/ml)

Nos résultats indiquent que l'huile d'oléastre 2 présente l'activité antiradicalaire maximale (513,54 mg d'E.A.G./Kg). Elle enregistre ainsi, la plus faible valeur EC₅₀ soit 25,39 mg/ml (tableau XI), correspondant à une meilleure efficacité de cette huile dans la neutralisation du radical DPPH. Ce résultat est lié à la richesse de cette variété en polyphénols totaux (425,93 mg/Kg), *ortho*-diphénols (54,97mg/Kg) et α -tocophérol (329mg/Kg) et une teneur non négligeable en caroténoïdes (1,43mg/Kg) soit un total de composés antioxydants de 881,33 mg/Kg. Malgré la faible teneur en polyphénols totaux et en *ortho*-diphénols (80,28 mg/Kg et 29,16 mg/Kg, respectivement) de la variété d'oléastre 1, elle exerce une activité antiradicalaire de 393,06 mg d'E.A.G./Kg, supérieure à celle d'oléastre 3 qui présente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux et en *ortho*-diphénols. Ceci est lié à sa plus grande richesse en α -tocophérol (335 mg/Kg).

L'huile de *Chemlal* a montré également une bonne aptitude à neutraliser le radical DPPH (212,86mg E.A.G./Kg) avec une EC₅₀ de 61,73mg/ml, malgré ses teneurs faibles en polyphénols totaux (72,59mg/Kg) et *ortho*-diphénols (21,47mg/Kg), mais présente une teneur appréciable en α -tocophérol (180 mg/Kg). Cette dernière peut être à l'origine d'une action antioxydante potentiellement supérieure. En effet, une activité notable des tocophérols dans des huiles raffinées en absence d'autres antioxydants est rapportée par Lo Curto *et al.* (2001) et Morello *et al.* (2004). Dans la même optique, Jiang *et al.* (2005) ont estimé la contribution des tocophérols à l'activité anti- DPPH d'environ 39 à 69 %.

L'analyse de toutes les huiles étudiées présente des EC_{50} supérieures à celles des standards testés à savoir l'acide gallique, BHA et l' α -tocophérol sauf pour l'oléastre 2 qui présente une EC_{50} inférieure à celle des BHA et l' α -tocophérol.

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

L'activité antiradicalaire des différentes huiles d'olive étudiées présente des corrélations positives ($p < 0,05$) avec les teneurs en : polyphénols totaux ($r = 0,82$), en *ortho*-diphénols ($r = 0,91$) et en α -tocophérol ($r = 0,75$) et caroténoïdes ($r = 0,77$).

Nissiotis et Tasioula (2002) et Tuck *et al.* (2002) ont rapporté que les principaux composés phénoliques responsables de l'effet antioxydant de l'huile d'olive sont les dérivés d'oleuropeine ayant une structure *ortho*-diphénolique essentiellement l'hydroxytyrosol. Les mêmes résultats ont été confirmés par Carrasco-Pancorbo *et al.* (2006), sur des composés phénoliques individuels isolés d'huile d'olive. En effet on note un coefficient de corrélation positif ($p < 0,05$) de 0,92 pour les dérivés d'oleuropeine alors que les dérivés du ligstroside enregistrent un coefficient de 0,87 vue leur nature monohydroxylée à faible efficacité antioxydante (Perrin, 1992).

III.8. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et d'oléastre

L'activité antibactérienne des différents échantillons étudiés est testée contre trois bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) et trois bactéries à Gram positif (*Listeria innocua*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* méthiciline résistant (*SARM*) (tableau XII).

L'activité antibactérienne se manifeste par une diminution ou bien une disparition de la charge bactérienne après l'ajout de l'huile à tester. Les huiles des trois oléastres montrent une meilleure activité antibactérienne à l'égard des souches testées particulièrement des Gram positives par rapport à l'huile de la variété *Chemlal*.

On remarque également que pour toutes les huiles testées, l'activité est proportionnelle (en termes de taux de réduction logarithmique) aux concentrations utilisées.

III.8. 1. L'activité antibactérienne à l'égard des Gram positifs

- **L'activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* méthiciline résistant (SARM)**

D'après le tableau XII, on remarque que les meilleures activités ont été obtenues avec les huiles des trois oléastres. L'étude statistique n'a révélé aucune différence significative ($p < 0,05$) entre ces oléastres, mais une différence significative ($p < 0,05$) est relevée entre ces derniers et la variété *Chemlal*.

Les huiles des oléastres exercent un effet bactéricide vis-à-vis du SARM a une concentration de 300 μ l huile/5ml mélange réactionnel, tandis que l'huile de la variété *Chemlal* s'avère moins actif, il permet seulement une réduction de 1,31 log.

Cette différence d'activité pourrait être attribuée à leurs profils en composés phénoliques, en effet, une corrélation positive est obtenue entre l'activité vis-à-vis du SARM et la teneur en dérivés oleuropeine, de ligstroside, hydroxytyrosol et l'oleocanthal (annexe 7).

A une concentration de 700 μ l /5ml, le SARM s'est montrée résistant vis-à-vis d'échantillon d'huile *Chemlal*, alors que à 1000 μ l huile/5ml, un effet bactéricide a été observé.

- **L'activité antibactérienne vis-à-vis de *B. subtilis***

L'étude statistique a montré une différence significative ($P < 0,05$) entre les huiles étudiées vis-à-vis de *B. subtilis*.

L'oléastre 1 et 2 possèdent les meilleurs effets inhibiteurs à l'encontre de cette souche, avec un taux de réduction de 1,30 et 1,17 log respectivement à une concentration de 300 μ l /5ml. Quand aux huiles d'oléastre 3 et *Chemlal*, ils présentent des faibles effets inhibiteurs à l'égard de *B. subtilis*.

A 700 μ l /5ml, on observe un effet bactéricide des huiles oleastres1 et 2 vis-à-vis de *B. subtilis* alors que pour les huiles de *Chemlal* et d'oléastre3 on a observé une résistance de cette souche.

A 1000 μ l /5ml, l'oléastre3 exerce un effet bactéricide, à l'exception de l'huile de *Chemlal* pour laquelle on a observé la résistance de cette souche.

- **L'activité antibactérienne vis-à-vis de *Listeria innocua***

Concernant la souche *L. innocua*, on observe un taux de réduction de 3,43, 3,31 et 3,16 log pour les trois oléastres, tandis que pour la variété *Chemlal*, on remarque une faible diminution de la charge bactérienne (1,70 log).

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les huiles étudiées vis-à-vis de *Listeria innocua*.

A **700 μl /5ml**, *L. innocua* s'est montrée sensible aux échantillons d'huile des trois oléastres, ils exercent un effet bactéricide, alors que l'huile de la variété *Chemlal* ne révèle un effet bactéricide qu'à un volume plus élevé (**1000 μl /5ml**).

III.8.2. L'activité antibactérienne à l'égard des Gram négatifs

- **L'activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli***

Les résultats dans le tableau XII indiquent que tous nos échantillons d'huile ont montré un effet inhibiteur vis-à-vis de l'espèce *E. coli*. Des taux de réduction allant de 1,45 à 1,98 log ont été observés pour une concentration de **300 μl /5ml**. A cette concentration, des différences significatives ($p < 0,05$) sont relevées entre les échantillons, néanmoins aucune différence n'est notée entre les huiles d'oléastres 1 et 3.

A une concentration de **700 μl /5ml**, la souche d'*E. coli* est sensible à l'effet des huiles des trois oléastres qui exercent un effet bactéricide, par contre l'huile de la variété *Chemlal* exerce un effet bactériostatique qui permet une réduction de 4,87 log ce qui nécessite d'augmenter le volume d'huile à **1000 μl /5ml** afin d'avoir un effet bactéricide.

- **L'activité antibactérienne vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa***

Selon le tableau XII, nous avons noté que les échantillons d'huile présentent une activité inhibitrice bactériostatique vis-à-vis de la souche de *P.aeruginosa* aux concentrations suivantes **300 et 700 $\mu\text{l}/\text{ml}$** .

A ces concentrations, l'analyse statistique a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les huiles étudiées vis-à-vis de *P.aeruginosa*.

A une concentration d'huile de **1000 μl /5ml**, les effets inhibiteurs bactéricides sont relevés pour les trois oléastres à l'encontre de cette souche, avec aucune différence significative ($P < 0,05$) entre les huiles de ces oléastres, à l'exception d'huile de *Chemlal* pour laquelle on a observé une résistance de cette souche.

- **L'activité antibactérienne vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae***

Pour *K. pneumoniae*, nous avons enregistré la même sensibilité vis-à-vis des huiles étudiées avec des taux de réduction allant de 0,60 à 2,51 log aux concentrations suivantes **300 et 700 $\mu\text{l}/\text{ml}$** .

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ($P < 0,05$) entre les huiles étudiées vis-à-vis de *K. pneumoniae* à ces concentrations.

La seule huile possédant un pouvoir bactéricide sur *K. pneumoniae* à une concentration **1000 μl /5ml**, est l'huile d'oléastre 2.

Discussion générale de l'activité antibactérienne

Des études ont démontré que une activité antibactérienne est présente dans l'huile d'olive (Tungel *et al.*, 1993 ; Medina *et al.*, 2006 ; Brenes *et al.*, 2007). Dans notre travail, cette activité est détectée pour les quatre échantillons (trois oléastres et la variété *Chemlal*) vis-à-vis des six souches testées.

Par ailleurs, les résultats obtenus montrent une nette différence dans les taux de réduction logarithmique en fonction du type d'huile utilisée et la souche cible. La variabilité du pouvoir inhibiteur des huiles testées pourrait être due à la sensibilité des souches aux différents composés présents dans ces huiles à savoir : les acides gras, triglycérides, les composés phénoliques, les composés volatils et autres composés de la phase polaire de l'huile.

L'huile d'olive est principalement composée par l'acide oléique monoinsaturé (environ 72%) et l'acide linoléique (21%) (Carvalho et Caramujo, 2008). Dilika *et al.* (2000) ont observé une activité antibactérienne élevée des acides oléique et linoléique particulièrement vis-à-vis des souches à Gram positif par rapport à celle à Gram-négatif.

En outre, Ouattara *et al.* (1997) et Zheng *et al.* (2005) ont montré que l'acide linoléique (C_{18:2}) possède une meilleure activité inhibitrice par rapport à l'acide oléique (C_{18:1}), acides gras saturés et acide gras insaturés, ce qui est en accord avec nos résultats. En effet, l'oléastre 3 possède le taux le plus élevé en acide linoléique (21,53 %), ce qui peut contribuer à son effet inhibiteur vis-à-vis de toutes les souches testées.

La littérature rapporte que l'activité antibactérienne de l'huile peut être également liée aux composés phénoliques (Medina *et al.*, 2006 ; Brenes *et al.*, 2007 ; Romero *et al.*, 2007; Karaosmanoglu *et al.*, 2010).

Les trois huiles d'oléastres (1, 2 et 3) avec des taux en polyphénols totaux de 263, 482, 258 mg/Kg respectivement, présentent de meilleures activités antibactériennes, alors que l'huile de la variété *Chemlal* qui a un taux de 90 mg/Kg, exerce un faible effet vis-à-vis des souches testées. L'activité antibactérienne des différentes huiles étudiées présente des corrélations positives ($p < 0,05$) avec les teneurs en : polyphénols totaux ($r_{SARM} = 0,70$, $r_{L.innocua} = 0,75$, $r_{B.subtilus} = 0,66$, $r_{E.coli} = 0,69$, $r_{P.aeruginosa} = 0,88$, $r_{K.pneumoniae} = 0,85$). Nos résultats antibactériens sont en accord avec ceux rapportés par Karaosmanoglu *et al.* (2010) qui ont travaillé sur neuf échantillons d'huile d'olive turque sur trois germes à savoir (*E. coli*, *S. enteritidis* et *L.*

monocytogenes), des taux de réduction logarithmique allant de 0,23 à 6 log ont été notés.

La composition des huiles en polyphénols pourrait contribuer à l'activité observée, ce qui indique la présence de composés à activité antibactérienne. Bisignano *et al.* (1999) ; Tuck et Hayball. (2002) et Cicerale *et al.* (2011) ont démontré l'effet inhibiteur de l'hydroxytyrosol à l'égard des souches à Gram positif et à Gram négatif (*Haemophilus influenzae* ATCC 9006, *Moraxella catarrhalis* ATCC 8176 et *Salmonella typhi* ATCC6539, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC17802, *Staphylococcus aureus* ATCC25923. En effet, l'oléastre 2 se caractérise par des taux élevés en hydroxytyrosol et en acides phénoliques (13 mg/Kg et 4 mg/Kg respectivement), ce qui peut expliquer l'activité bactéricide de cette l'huile vis-à-vis de toutes les souches (**1000 µl/5ml**) contrairement aux autres échantillons.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Baranowski et Nagel (1982) et Karaosmanoglu *et al.* (2010). Ils ont constaté que l'acide caféique possède une activité antibactérienne et ceux d'Aziz *et al.* (1998) qui ont rapporté que les acides caféiques, *p* - benzoïque, vanillique ont inhibé la croissance d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*.

Certains composés de l'huile d'olive, tel que les flavonoïdes et plus exactement la lutéoline, exercent un pouvoir antibactérien intéressant (Xu et Lee, 2001 ; Karaosmanoglu *et al.*, 2010), cela pourrait expliquer en partie l'activité importante de l'oléastre 1 en le comparant à l'oléastre3.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sousa *et al.* (2006) concernant la sensibilité des souches de *B. cereus*, *B. subtilis* et *S. aureus* à l'égard d'extraits méthanoliques de l'olive de table « *Alcaparra* » qui se sont avérés riches en lutéoline. Xu et Lee (2001) ont également rapporté une activité de la lutéoline à l'égard de staphylocoque résistant à la méthiciline.

Nos résultats sont en accord avec Cicerale *et al.* (2011) concernant la sensibilité élevée de *S. aureus* aux des oléastres (1, 2 et 3) qui enregistrent les taux les plus élevés en oleocanthal (81, 50 et 55 mg/Kg respectivement) comparativement à l'huile de la variété *Chemlal* (1 mg/Kg). De plus, les teneurs élevées en flavonoïdes notamment en la lutéoline pour (les oléastres 1 et 2) peuvent expliquer leurs fortes activités sur les souches par rapport aux huiles d'oléastre 3 et *Chemlal*.

Certains composés de l'huile d'olive, tels que les lignanes (verbascoside), exercent des pouvoirs antibactériens (Tripoli *et al.*, 2005), cela pourrait expliquer en

partie l'activité importante des huiles d'oléastres 1 et 2 (37 et 35 mg/Kg respectivement).

La variété *Chemlal* présente un taux élevé en polyphénols oxydé (38 mg/Kg) comparée aux autres oléastres (15, 33, 8 mg/Kg), ce qui peut expliquer sa faible activité vis-à-vis des souches testées.

Les aldéhydes présents dans l'huile d'olive montrent également une activité antibactérienne. Une étude réalisée par Carvalho et Caramujo (2008) a montré que les aldéhydes saturés et insaturés de l'huile d'olive (hexanal, le nonanal, (E)-2-hexénal, (E)-2-hepténal, (E)-2-octénal et (E)-2-nonénal) sont efficaces contre les souches à Gram positif et à Gram négatif. Nos résultats sont en désaccord avec ceux rapportés par ces derniers auteurs, car d'après la teneur de nos échantillons en composés volatils carbonyliques, ceux qui présentent la teneur la plus faible (les oléastres 1 et 2) ont un effet antibactérien important tandis que l'oléastre 3 et la variété *Chemlal* (208 et 236 mg/Kg respectivement) possèdent une faible activité vis-à-vis des souches testées.

L'activité antibactérienne des différentes huiles étudiées présente des corrélations négatifs ($p < 0,05$) avec les teneurs en : composés volatiles ($r_{SARM} = - 0,63$, $r_{L.innocua} = - 0,75$, $r_{B. subtilus} = - 0,93$, $r_{E.coli} = - 0,62$, $r_{P. aeruginosa} = - 0,87$, $r_{K. pneumoniae} = - 0,81$).

Cette contradiction pourrait s'expliquer par le fait qu'on a utilisé des échantillons bruts, car les trois oléastres 1, 2 et 3 présentent une meilleure activité antibactérienne par rapport à la variété *chemlal* bien que cette dernière soit plus riche en composés volatiles, ceci pourrait être expliqué par un encombrement stérique de ses composés volatiles ce qui réduit ainsi leur activité et aussi l'activité antibactérienne est liée à la présence de plusieurs composés autres que les composés volatiles.

Les activités antibactériennes testées peuvent également résulter d'une synergie entre les composés présents dans une huile. Il est probable que la diminution de l'activité soit due à une modification des propriétés de la substance responsable de l'activité en présence d'autres composés d'huile (Pereira *et al.*, 2007), aboutissant à une combinaison de deux composants actifs (majeur ou mineur) agissant en synergie (Pereira *et al.*, 2007), ou bien des composants mineurs d'huile qui sont également actifs à de faibles concentrations (Lindberg *et al.*, 2004).

D'autres composés présents dans l'huile d'olive ayant une activité antibactérienne sont recensés : les caroténoïdes (Carvalho et Caramujo 2008). En effet, l'oléastre 2 se caractérise par un taux élevé en caroténoïdes (1,43 mg/Kg), tandis que l'huile de

Chemlal contient 0,42 mg/Kg ce qui peut expliquer l'activité importante de cette l'huile vis-à-vis de toutes les souches contrairement aux autres échantillons.

Une diminution décimale faible n'indiquant pas automatiquement une absence d'activité, mais ceci pourrait être dû aux faibles volumes de l'huile.

Athamena *et al.* (2010) ont observé la sensibilité des bactéries à Gram positif (absence de la membrane externe) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits de plantes ce qui peut expliquer la sensibilité du SARM.

En comparant la sensibilité des différentes souches vis-à-vis des différentes huiles, on constate que *K. pneumoniae* et *B. subtilis* sont les espèces les moins sensibles. Les composés présents dans nos huiles semblent avoir une meilleure activité à l'égard des bactéries à Gram positifs que sur les Gram négatifs, ce qui est en accord avec Rahman *et al.* (2009) qui ont aboutit aux mêmes constatations. Plusieurs auteurs ont expliqué cette résistance par rapport à la bicouche lipidique présente chez les Gram négatifs, qui constitue une barrière pour les polyphénols (Al-Younis et Abdullah, 2008 ; Masibo et He, 2009).

Selon Obeid *et al.* (2007), cette différence de comportement résulte des lipopolysaccharides contenus dans la paroi des bactéries Gram négatives qui leur confèrent cette résistance. De plus, selon Bin *et al.* (2007), la membrane des bactéries Gram négatives se trouve associée à des enzymes dans l'espace périplasmique qui sont capables de détruire les molécules intruses.

Par ailleurs, nous avons comparé nos résultats avec ceux de Medina *et al.* (2006), qui ont étudié le pouvoir antibactérien de l'huile d'olive sur *S. aureus* et *E.coli*, nous avons obtenu des activités plus élevées et plus performantes que leurs résultats.

Les composés phénoliques causent des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et aux ions potassium, une réduction des réserves de l'ATP intracellulaire, une perturbation de la force proton motrice et une dénaturation des protéines intracellulaires (Amarti *et al.*, 2008).

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à caractériser des échantillons d'huiles issues des fruits de trois oléastres et fruit d'une variété d'olive cultivé *Chemlal* de la région de Tazmalt (Béjaia). L'étude a été basée sur la détermination des indices biométriques des fruits, la qualité de l'huile, le dosage des substances antioxydantes et des pigments ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et de l'activité antibactérienne, vis-à-vis de souches bactériennes Gram positives et Gram négatives.

Sur la base des critères pomologiques considérés, les échantillons de fruits sont classés comme petits fruits à petits noyaux. La CAH a fait ressortir deux groupes qui partagent des similitudes. Les oléastres 1 et 3 et *Chemlal* semblent être les plus proches, alors que l'oléastre 2 est le plus distinct du reste des individus.

Les résultats obtenus des analyses effectuées sur les olives des quatre échantillons montrent que : l'humidité et la teneur en huile des olives varient en fonction de la variété et du poids, puisqu'une corrélation de 0,61 est notée entre le poids et le rendement des fruits en huile. La variété *chemlal* se distingue des autres échantillons par un rendement en huile le plus élevé (37,24%).

La détermination des indices de qualité des huiles étudiées montrent que les valeurs obtenues d'acidité, d'indice de peroxyde et des coefficients d'extinction spécifique dans l'UV (K232, K270) sont conformes aux normes établies par le COI (2003) pour une huile d'olive extra vierge, ce qui nous mène à classer nos huiles dans cette catégorie.

Concernant la composition en acides gras, toutes les huiles issues des quatre échantillons étudiées présentent des teneurs en différents acides gras répondant aux normes établies par le COI (2003), pour les huiles d'olives extra vierge, avec une prédominance de l'acide oléique, présent à des proportions supérieures à 58%, la valeur la plus élevée est enregistrée chez l'oléastre 2 (79,07%).

Les teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes sont faibles pour l'ensemble des huiles analysées et présentent un rapport caroténoïdes / chlorophylles supérieur à l'unité.

Les résultats de la présente étude montrent également que les teneurs en différents antioxydants (tocophérols, polyphénols totaux et *ortho*-diphénols) est fonction de la variété considérée. L'oléastre 2 se distingue des autres échantillons par les teneurs les plus élevées en tocophérols (329 mg/kg), polyphénols (425,93 mg/kg) et *ortho*-diphénols (54,97 mg/kg) suivie des sujets d'oléastre3, oléastre1 et de la variété *Chemlal*.

L'analyse de la composition en polyphénols des échantillons des huiles d'olive par HPLC, nous révèle une composition qualitative similaire en composés phénoliques individuels, mais différente d'un point de vue quantitatif. Les huiles d'oléastres 2, 3 et 1 se

caractérisent par des teneurs notables en dérivés d'oleuropeine (268; 91 et 84 mg/kg respectivement) et ligstroside (126; 139 et 107 mg/kg respectivement); les alcools aromatiques caractérisent l'huile de l'oléastre 2 (20mg/kg). Les huiles des oléastres 2 et 1 présentent les taux les plus importants en lignanes (37 et 35 mg/kg respectivement), tandis que l'huile de la variété *Chemlal* enregistre la teneur la plus faible (17 mg/kg). Les taux les plus importants en acides secoiridoides totaux sont montrés par les huiles des oléastres 2 et 1 (138 et 117 mg/kg), Les trois oléastres 1, 2 et 3 se distinguent de la variété *Chemlal* (1 mg/kg) par les taux élevés en oléocanthal (81, 50 et 55 mg/kg respectivement).

L'analyse de la composition en composés volatils des échantillons des huiles d'olive par HPLC, nous révèle que l'huile de la variété *Chemlal* enregistre la teneur la plus élevée (236 mg/kg) que les trois oléastres.

La détermination du degré d'amertume de nos huiles a mis en évidence l'excès d'amertume de la majorité des échantillons d'huiles analysés en particulier les huiles issues d'oléastres. Cette amertume est liée à la teneur en polyphénols totaux ($r=0,69$) et des dérivés secoiridoides essentiellement les dérivés du ligstroside ($r=0,98$).

L'activité antioxydante et antibactérienne des huiles varient considérablement en fonction du type et du volume en huile qui sont eux même en fonction de la variété.

Concernant l'activité antioxydante des huiles des échantillons, l'oléastre 2 se montre également le plus performant avec les plus faibles concentrations en huile pour neutraliser 50% du radical DPPH. Des corrélations significatives ont été établies entre les différents antioxydants (composés phénoliques totaux ($r=0,82$), *ortho*-diphénols($r=0,91$), les dérivés d'oleuropeine ($r=0,92$), les dérivés du ligstroside ($r=0,87$), tocophérols ($r=0,75$) et caroténoïdes($r=0,77$) avec l'activité antiradicalaire des échantillons d'huile, témoignant ainsi que la teneur et la nature en substances antioxydantes contrôlent l'activité antioxydante.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles étudiées révèle que les oléastres 1 et 2 et 3 sont les plus actifs sur toutes les souches bactériennes testées que la variété *chemlal*, des taux de réduction logarithmique variables ont été enregistrés pour les différents volumes testés. Nous constatons également que les huiles étudiées présentent une activité antibactérienne, particulièrement intéressante contre les souches à Gram positif par rapport aux souches à Gram négatif mais pas comme règle générale.

Au terme de cette étude, nous constatons que ces oléastres constituent une source importante en divers composés phénoliques doués d'une activité biologique, ce qui confirme l'intérêt d'utilisation dans le domaine alimentaire, thérapeutique et cosmétique.

Cependant l'amertume de cette huile ne fait pas d'elle l'objet de grandes convoitises comparée aux huiles de variétés cultivées. Les huiles de ces oléastres sont à recommander pour des procédés de mélange afin d'améliorer la composition des huiles de variétés et de mettre au point des mélanges équilibrés en composés chimiques, principalement, en antioxydants.

Cependant et malgré l'importance, des résultats obtenus, différents axes de recherche peuvent être soulevés:

- ✓ Élargir l'échantillonnage sur d'autres oléastres et dans d'autres régions;
- ✓ Tester les composés identifiés individuellement en faisant appel à des tests *in vivo* complémentaires qui permettraient une meilleure évaluation de l'activité biologique des polyphénols d'huile d'olive;
- ✓ Effectuer des essais sur d'autres souches bactériennes afin de confirmer les performances mises en évidence;
- ✓ Déterminer les composés responsables de l'excès d'amertume et chercher des stratégies visant à diminuer ou masquer cette amertume;
- ✓ Faire appel à l'analyse moléculaire qui fournira un bon outil d'identification des formes sauvages complétant ainsi les analyses pomologiques et chimiques réalisées.

Références bibliographiques

A

- Abaza L., Msalem M., Daoud D. and Zarrouk M.** 2002. Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux Corps gras Lipides*, **9** (2): 9-174.
- Ait Yacine Z., Hilali S. and Serhrouchni M.** 2001. Etude de quelques paramètres déterminants de la date de récolte des olives dans le périmètre du Tadla. *Olivae*, **88**: 39-45.
- Ajana H., El Antari A. and Hafidi A.** 1998. Fatty acids and sterols evolution during the ripening of olives from the Moroccan Picholine cultivar. *Grasas y Aceites*, **49** (5-6): 405-410.
- Ajana H., El Antari A. and Hafidi A.** 1999. Evolution of biometric parameters and chemical composition of olives from the Moroccan *Picholine* variety during fruit ripeness. *Grasas y Aceites*, **50** (1) : 1-6.
- Alais C., Linden G. and Miclo L.** 2003. Lipides. In: *Biochimie alimentaire*. Ed Dunod, pp. 51-71.
- Alba Mendoza J.A.** 1999. Separation des phases solide et liquide (analyse des différentes méthodes). Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oleotechnique, Florence, 10, 11 et 12 mars 1999. Conseil Oleicole International, 1-20.
- Alcantara J.M. and Rey P.J.** 2003. Conflicting selection pressures on seed size: evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea*. *Journal of Evolutionary Biology*, **16**: 1168-1176.
- Allalout A., Krichène D., methennik., Taamalli A., Oueslati I., Daoud D. and Zarrouk M.** 2009. Characterization of virgin olive oil from Super Intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae*, **120**: 77-83.
- Al-Younis K.N. and Abdullah Z.M.** 2008. Isolation and antibacterial evaluation of plant extracts from some medicinal plants in Kurdistan region. *Journal of Dohuk University*, **12** (1): 250-255.
- Amame M., Ouazzani N., Lumaret R et Debain C.** 2000. Chloroplast-DNA variation in cultivated and wild and cultivated olives (*Olea europaea* L.) of Morocco. *Euphytica* **116**: 59-64, 2000.
- Amarti F., Satrani B., Aafi A., Ghanmi M., Aberchane M., El Ajjouri M., El antry S. et Chaouch A.** 2008. composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et *Thymus bleicherianus* du maroc. *Phytothérapie*, **6** : 342-347.
- Andjelkovic M., Van C.J., Pedra M., Renders K., Socaciu C. and Verhé R.** 2008. Correlations of the phenolic compounds and the phenolic content in some Spanish and French olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56** (13): 5181-5187.

Andjelkovic M., Acun S., Van Hoed V., Verhe R. and Van Camp J. 2009. Chemical composition of Turkish olive oil-Ayvalik. *Journal of the American Oil Chemists' Society* , **86**: 135-140.

Andrewes P., Busch J., De Joode T., Groenewegen A. and Alexander H. 2003. Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside aglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 1415-1420.

Angerosa F., Alessandro N., Corana F. and Mellerio G. 1996. Characterization of phenolic and secoiridoid aglycons present in virgin olive oil by gas chromatography-chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **736**: 195-203.

Angerosa F., Basti C. and Vito R. 1999. Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some Italian cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 836-839.

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**: 639-660.

Aparicio R., Roda L., Albi M.A. and Gutierrez F. 1999. Effect of Various Compounds on Virgin Olive Oil Stability Measured by Rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**(10): 4150-4155.

Aparicio R. and Luna G. 2002. Characterisation of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipids Science and Technology*, **104**:1-12.

Artajo L.S., Romero M.P. And Motilva M.J. 2006. Transfer of phenolic compounds during olive oil extraction in relation to ripening stage of the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**: 518-527.

Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S. et Khebri S. 2010 .Activité antioxydante et antimicrobienne d'extrait de *Cuminum Cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, **11**(1) :1-13.

Ayaz F.A. and Bertoft E. 2001. Sugar and Phenolic Acid Composition of Stored Commercial Oleaster Fruits. *Journal of food composition and analysis*, **14**: 505-511.

Aziz N.H., Farag S.E., Mousa L.A. and Abo-Zaid M.A. 1998, Comparative antibacterial and antimicrobial effects of some phenolics comounds. *Microbios*, **93**: 43-54.

B

Baccouri B., Ben Tamime S., Taamalli W., Daoud D., M'Sallem M. and Zarrouk M. 2007a. Analytical characteristics of virgin olives oils from two new varieties obtained by controlled crossing on Meski variety. *Journal of food lipids*, **14**:19-34.

Baccouri B., Ben Temime S., Campeol E., Cioni P.L., Daoud D. and Zarrouk M. 2007b. Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars. *Food Chemistry*, **102**(3):850–856.

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

Baccouri B., Zarrouk W., Baccouri O., Guerfel M., Nouairi I., Krichene D., Daoud D. and Zarrouk M. 2008. Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea* L. subsp. Oleaster). *GRASAS Y ACEITES*, **59** (4): 346-351.

Baccouri O., Guerfel M., Baccouri B., Cerretani L., Bendini A., Lercker G., Zarrouk M. and Daoud D. 2008c. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, **109**: 743–754.

Baccouri B., Guerfel M., Zarrouk W., Taamalli W., Daoud D. and Zarrouk M. 2010. Wild olive (*Olea europaea* L.) selection for quality oil production. *Journal of Food Biochemistry* **35** (2011) 161–176.

Baiano A., Gambacorta G., Terracone, C.; Previtali, M. A.; Lamacchia, C.; La Notte, E. 2009. Changes in phenolic content and antioxidant activity of Italian extra-virgin olive oils during storage. *Journal of Food Science*, **74**(2): 177-183.

Baldioli M., Servili M., Perreti G. and Montedoro G.F. 1996. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *American Journal Oil Chemist's Society*, **73**: 1589–1593.

Baldoni L., Tosti N., Ricciolini C., Belaj A., Arcioni S., Pannelli G., Germana M.A., Mulas M. and Porceddu A. 2006. Genetic Structure of Wild and Cultivated Olives in the Central Mediterranean Basin. *Annals of Botany*, **98**: 935–942.

Banilas G., Korkas E., Kaldis P. and Hatzopoulos P. 2009. Olive and Grapevine Biodiversity in Greece and Cyprus. E. Lichtfouse (ed.), *Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms*, Sustainable Agriculture Reviews 2, DOI 10.1007/978-90-481-2716-0_14.

Baranowski J.D and Nagel C.W. 1982. Inhibition of *Pseudomonas fluorescens* by hydroxycinnamic acids and their alkyl esters. *Journal of Food Science*, **47**: 1587–1589.

Beltran G., Aguilera M.P., Del Rio C., Sanchez S. and Martinez L. 2005. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*, **89** : 207-215.

Ben Takaya I. and Hassouna M. 2005. Étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, **12** (5-6) : 447-456.

Ben Takaya I. and Hassouna M. 2007. Effets des chlorophylles, du bêta-carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, **14**(1): 60-67.

Bendini A., Bonoli M., Cerretoni L., Bigguzi B. Lercker G. and Toschi T.G. 2003. Liquidliquid and solid-phase extractions of phenols from virgin olives oil and their separation by chromatographic and electrophoretic methods. *Journal of chromatography A*. **985**:425-433.

Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Caravaca A. M., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. and Lercker G. 2007. Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. *Molecules*, **12** :1679-1719.

Benyahia N. and Zein K. 2003. Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solution récemment développées. Contribution Spécial De Sustainable Business Associates(Suisse) à AESECII, p : 1-3.

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

Bervillé A., Breton C., Cunliffe K., Darmency H., Good A.G., Gressel J., Hall L.M., Mepheron M.A., Médail F., Pinatel C., Vaughan D.A. and Warwick S.I. 2004. Issues of Ferality or Potential for Ferality in Oats, Olives, the Pigeon-Pea Group, Ryegrass Species, Safflower, and Sugarcane. 2895_book.fm 231p.

Besnard G. and Bervillé A. 2000. Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea Europaea* L. Subsp *europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. *CR. Acad. Sci. Paris série III* **323** :173–181.

Besnard G., Breton C., Baradat P., Khadari B., Bervillé A. 2001a. Cultivar identification in olive based on RAPD markers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **126**: 668–675.

Besnard G., Casas R., Vargas P. 2007. Plastid and nuclear DNA polymorphism reveals historical processes of isolation and reticulation in the olive tree complex (*Olea europaea*). *Journal of Biogeography*, **34**:736–752.

Bester E., Butinar B., Bucjari-Miklavcic M. and Golob T. 2008. Chemical changes in extra virgin olive oils from Slovenian Istra after thermal treatment. *Food Chemistry* **108**: 446–454.

Bianchi G. 2003. Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipids and Science. Technology*, **105**: 229- 242.

Bianco A., Cocioli F., Guiso M. and Marra C. 2001. The occurrence in olive oil of a new class of phenolic compounds: hydroxy-isochromans. *Food Chemistry*, **77**: 405-411.

Bianco A., Chiacchio M.A., Grassi G., Iannazzo D., Piperno A. and Romeo R. 2006. Phenolic components of *Olea europea*: Isolation of new tyrosol and hydroxytyrosol derivatives. *Food Chemistry*, **95**: 562–565.

Bisignano G., Tomaino A., Cascio R.L., Crisafi G., Uccella N. and Saija A. 1999. On the In-vitro Antimicrobial Activity of Oleuropein and Hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and . Pharmacology*, **51**: 971-974.

Blekas G., Psomiadou E., Tsimidou M., and Boskou D. 2002. On the importance of total polar phenols to monitor the stability of Greek virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **104**: 340–346.

Boskou D. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, **17**: 505-512.

Boskou D. 2009. Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil in Olive oil: minor constituents and Health. Ed. CRC press. pp 11-44.

Bouaziz M., Chamkha M. and Sayadi S. 2004. Comparative Study on Phenolic Content and Antioxidant Activity during Maturation of the Olive Cultivar Chemlali from Tunisia . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 5476-5481.

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

Brenes M., Garcia A., Garcia P., Rios J.J. and Garrido A. 1999. Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 3535-3540.

Brenes M., Hidalgo F.J., García A., Ríos J.J., García P., Zamora R. and Garrido A. 2000. Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **77**(7): 715-720.

Brenes M., Garcia A., Rios J.J., Garcia, P. and Garrido A. 2002. Use of 1 acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *International Journal of Food Science and Technology*, **37**: 615-625.

Breton C., Médail F ., Pinatel C ., Bervillé A . 2006. De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*, **15** (4): 1-8.

Breton C., Guerin J., Ducatillion C., Médail F., Kull CA. and Bervillé A. 2008 .Taming the wild and 'wilding' the tame: tree breeding and dispersal in Australia and the Mediterranean. *Plant Science* **175**.197-205.

Breton C., Terral J-F., Pinatel C., Médail F., Bonhomme F. and Bervillé A. 2009.The origins of the domestication of the olive tree. *C. R. Biologies*, doi:10.1016/j.crv.2009.08.001.

Bronzini de Caraffa V., Maury J., Gambotti C., Breton C., Bervillé A. and Giannettini J. 2002. Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleasters, olive and feral olive from Western and Eastern Mediterranean. *Theor Appl Genet* ,**104**:1209–1216.

Bruneton J. 1993.Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} Edition : Lavoisier Paris.200-225.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier, **3**: 123-166.

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

Carrasco-Pancorbo A., Cerretani L., Bendini A., Segura-Carretero A., Gallina-Toschi T. and Fernandez-Gutiérrez A. 2005. Analytical determination of polyphenols in olive oils. *J. Sep. Sci.* **28** : 837–858.

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

Casas-Sanchez J., Alsina M.A., Herrlein M.K. and Mestres C. 2007. Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. *Colloid & Polymer Science*, **285**:1351-1360.

Ceci L.N. and Carelli A.A. 2007. Characterization of monovarietal Argentinian olive oils from new productive zones. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **84**: 1125-1136.

C.E.E. 2568/91. Communauté Economique Européenne. Règlement (CEE) N°2568/91 de la commission du 11 juillet 1991. Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes : 27-30.

Chimi H. 2006. Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. *Bulletin Mensuel D'information Et De Liaison Du Programme National De Transfert De Technologie En Agriculture*, **141** :1-4.

Cicerale S., Lucas L.J. and Keast R.S.J. 2011. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, **23**:1–7.

Cimato A., Baldini A. and Moretti R. 2001. Il frutto, *in* L'olio di oliva Cultivar, ambiente e tecniche agronomiche. SECONDA EDIZIONE. ARSIA-Regione Toscana. Pp: 51-65.

Çinar Inci. 2004. Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage conditions. *Lebensmittel-Wissenschaft and-Technology*, **37**: 363-367.

Cioffi G., Pesca M.S., De Caprariis P., Braca A., Severino L. and De Tommasi N.2010. Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxidant activity. *Food Chemistry* , **121** ; 105–111.

Cioni F., Modi G., Siminani G. and Tracchi S. 1998. Evoluzione dei componenti minori polari in oli extravergini di oliva durante la conservazione. *Bollettino dei Chimici Igienisti*, **49**: 115-118.

Clodoveo M.L., Delcuratoro D., Gomes T. and Celelli G. 2007. Effect of different temperatures and storage atmospheres on Coratina olive oil quality. *Food Chemistry*, **102**: 571-576.

Conde C., Delrot S. and Gerosa H. 2008. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening .Journal of Plant Physiology, **165**:1545-1562.

Conseil Oléicole International. 1996. Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet. Conseil Oléicole International/T20/ Doc 19 6 juin 1996, Madrid. Espagne.

Conseil Oléicole International. 2000. catalogue mondial des variétés d'olives.

Conseil Oléicole International. 2003. Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.

Cortesi N., Rovellini P., Fusari P. 2002. Dosaggio dei biofenoli degli oli vergini di oliva: idrossitirosolo, tirosolo, agliconi secoiridoidi, acidi secoiridoidi, lignani e flavonoidi. Riv. Ital. Sostanze Grasse, **79**:145-150.

Cortesi N. and Rovellini P. 2004. L'état d'oxydation de l'huile d'olive vierge : effet des antioxydants naturels. *Olivae*, **101**: 27-33.

Cowan M. M.1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(4): 564-582.

Criado M-N., Romero P.A., Casanovas M. and Motilva M.J. 2008. Pigment profile and color of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. *Food Chemistry*, **110**: 873–880.

D

Dabbou S., Issaoui M., Servili M., Taticchi A., Sifi S., Montedoro G.F. and Hammami M. 2009. Characterisation of virgin olive oils from European olive cultivars introduced in Tunisia. *European Journal of Lipids and Science Technology*, **111**: 392-401.

Dabbou S., Dabboua S., Selvaggini R., Urbanib S., Taticchi A., Servili M. and Hammami M. 2011. Comparison of the Chemical Composition and the Organoleptic Profile of Virgin Olive Oil from Two Wild and Two Cultivated Tunisian *Olea europaea* .*Chemistry & biodiversity*, **8**: 189-202.

Dais 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*. Boskou D Ed. CRC Press. Pp: 55-107.

Dilika F., Bremner P.D. and Meyer,J.J.M. (2000) Antibacterial activity of linoleic and oleic acids isolated from *Helichrysum pedunculatum*: a plant used during circumcision rites. *Fitoterapia*, **71**: 450–452.

De La Torre-Carbot D., Jauregui O., Gimeno E., Castellote A.I., Lamuela-Raventos R.M. and Lopez-Sabater M.C. 2005. Characterization and quantification of phenolic compounds in olive oils by solid-phase extraction, HPLC-DAD, and HPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53** (11) : 4331-4340.

Del Carlo M., Sacchetti G., Di Mattia C., Compagnone D., Mastrocola D., Liberatore L. and Cichelli A. 2004. Contribution of the phenolic fraction to the antioxidant activity and oxidative stability of olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**:4072-4079.

Dhifi W., Ben Khedher M., Elyes Kechouk M. and Marzouk B. 2006. Etude qualitative et quantitative des arômes et des polyphénols de quelques huiles d'olive de Tunisie. *Olivae*, **105**: 36-40.

Di Giovachino L. 1991. L'extraction de l'huile d'olive par le système de la pression, de la centrifugation et de la percolation: incidence des techniques d'extraction sur les rendements en huile. *Olivae*, **36** :14-40.

Di Giovachino L. 1999. La technologie d'élaboration de l'huile d'olive vierge : Opérations préliminaires en huilerie et préparation de la pâte d'olives. Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oleotechnique. Florence, 10, 11 et 12 mars 1999. Conseil Oléicole International, 1-39.

Diaz T.G., Meras I.D., Casas J.S. and Franco M.F.A. 2005. Characterization of virgin olive oils according to its triglycerides and sterols composition by chemometric methods. *Food Control*, **16**: 339-347.

Doveri S. and Baldoni L. 2007. Olive. *In Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Fruits and Nuts*. C Kole Ed, **4** : 253-264.

Douzane M. and Bellal M. M. 2005. Contribution à la caractérisation des huiles de quelques variétés population d'olive algériennes : étude de quelques composés mineurs de la fraction insaponifiable. *Olivae*, **103**: 33-41.

Durand A. and Terral J-F. 2005. Regarder autrement le charbon de bois archéologique: l'exemple de l'irrigation des plantations d'oliviers en France méridionale et en Catalogne (IXe-XVe siècle). "Archéologie du Midi Médiéval 23-24 ; 75-92.

E

E.C. 2002. Regulation n° 796 of 6 May 2006 on changes EC- Regulation. 2568/91. Official J.L.128/815/05/02. 2002. Bruxelles (Belgium).

EDER K., BRANDSCH C. 2002 The effect of fatty acid composition of rapeseed oil on plasma lipids and oxidative stability of low-density lipoproteins in cholesterol-fed animals. *European J. Lipid Sci. Technol*, **104**: 3-13.

El Antari A., El Moudni A. and Ajana H. 2003a . Evolution comparative de la qualité et de la composition acide de l'huile d'olive chez quelques variétés méditerranéennes cultivées au Maroc. *Olivae*, **95**: 26-31.

El Antari H., Ajana H. and Cert A. 2003b. Etude de la composition lipidique de deux compartiments du fruit d'olive (pulpe et amande) de six variétés d'oliviers cultivées au Maroc. *Olivae*, **98**: 20-28.

Essadki M., Ouazzani N., Lumaret R. and Moumni M. 2006. ISSR variation in olive-tree cultivars from Morocco and other western countries of the Mediterranean Basin. Genetic et nutritionnels. In. Lipides et corps gras alimentaires. Ed. Technique et Documents, 1-50.

F

Fabrizi A., Lambardi M and Ozden-Tokatli Y. 2009 .Olive breeding .In Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species chap 12, S.M .Jain, Priyadarshan Ed. 423-465.

Fakourelis N., Lee E.C. and Min D.B. 1987. Effects of chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 27: 31.

Farhoosh R. 2007. The Effect of Operational Parameters of the Rancimat Method on the Determination of the Oxidative Stability Measures and Shelf-Life Prediction of Soybean Oil. Journal of American Oil Chemist's Society, **84**: 205-209.

Favati F., Caporale G. and Bertuccioli M. 1994. Rapid determination of phenol content in extra virgin olive oil. Grasas Y. Aceites, **45**: 68-70.

Firestone D. 2005. Olive Oil in Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Sixth Edition, Volume 2, Edited by Fereidoon Shahidi. A John Wiley & Sons, Inc., Publication. Pp: 303-331.

Friedman M., Henika P.R. and Mandrell R.E. 2003. Antibacterial activities of phenolic benzaldehydes and benzoic acids against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enteric*. Journal of Food Protection, **66**(10): 1811-1821.

G

Gallardo-Guerrero L., Roca M. and Mínguez-Mosquera I. 2002. Distribution of chlorophylls and carotenoids in ripening olives and between oil and alperujo when processed using a two-phase extraction system. Journal of American Oil Chemist's Society, **79** (1): 105-109.

Gallina-Toschi T., Cerretani L., Bendini A., Bonoli-Carbognin M. and Lercker G. 2005. Oxidative stability and phenolic content of virgin olive oil: an analytical approach by traditional and high resolution techniques. Journal of Separation Science, **28** (9-10): 859-70.

Gandul-Rojas B., M. Roca-L. Cepero and M.I. Mínguez-Mosquera. 2000. Use of Chlorophyll and Carotenoid Pigment Composition to Determine Authenticity of Virgin Olive Oil. Journal of American Oil Chemist's Society, **77**: 853-858.

Garcia-Villalba R., Carrasco-Pancorbo A., Oliveras-Ferraro C., Vazquez-Martin A., Menendez J. A., Segura-Carretero A. and Fernandez-Gutierrez A. 2010. Characterization and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties 96 by a rapid and resolute LC-ESI-TOF MS method. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, **51**: 416-429.

Giuffrida D., Salvo F., Salvo A., Pera L.L. and Dugo G. 2006. Pigments composition in gras alimentaires. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp.81-101.

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

Gorinstein S., Martin Belloso O., Katrich E., Lojek A., Czek M. and Gligelmo-Miguel N., 2003, Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests, *J. Nutr. Biochem.* **14**: 154–159.

Green P.S. 2002. A revision of *Olea*. (*Oleaceae*). *Kew Bulletin*, **57**: 91-140.

Gulfraz M., Parveen R., Musseddque Y., Nisar U., Ithisham M. and Rehman S. 2006. Determination of Essential Oil Content of Wild Olive and Its Comparison With Olive Oil. *Ethnobotanical Leaflets* **10**: 1-12.

Gulfraz M., Kasuar R., Arshad G., Mehmood S., Minhas N., Asad M.J., Ahmad A. and Siddique F. 2009. Isolation and characterisation of edible oil from wild olive. *African Journal of Biotechnology*, **8** (16): 3734-3738.

Gutierrez Rosales F., Perdiguero S., Gutiérrez R., Olías J.M. 1992. Evaluation of the Bitter Taste in Virgin Olive Oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **69** (4), 394-395.

Gutierrez F., Villafranca M.J. and Castellano J.M. 2002. Changes in the main components and quality indices of virgin olive oil during oxidation. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **79** (7): 669-676.

Gutierrez Rosales F., Rios J.J. and Gomez-Rey M.L. 2003. Main polyphenols in the bitter taste of virgin olive oil. Structural confirmation by on-line high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51** : 6021-6025.

H

Haddada F.M., Manai H., Oueslati I., Daoud D., Sanchez J., Osorio E. and Zarrouk M. 2007. Fatty acid, triacylglycerol, and phytosterol composition in six Tunisian olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**:10941-10946.

Hamdi H.K. and Castellon R. 2005. Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **334**: 769-778.

Hannachi H., Breton C. Msallem M., Ben El Hadj S., El Gazza M. and Bervillé A. 2008 .Differences between native and introduced olive cultivars as revealed by morphology of drupes, oil composition and SSR polymorphisms:a case study in Tunisia .*Scientia Horticulturae*, **116**: 280-290.

Hannachi H., Sommerlatte H., Breton C, Msallem M., El Gazzah M., Ben El Hadj S. and Bervillé A. 2009 .Oleaster (var. *sylvestris*) and subsp. *cuspidata* are suitable genetic resources for improvement of the olive (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *europaea*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, **56**:393–403.

Hashempour A., Ghazvini R.F., Bakhshi D and Sanam S.A. 2010. Fatty acids composition and pigments changing of virgin olive oil (*Olea europaea* L.) in five cultivars grown in Iran. *Austrian journal of crop science*, **4**(4):258-263.

Hilali S., Ghrissi N. and Boulouha B. 1995. Caractérisation biométrique et protéo-enzymatique de quelques variétés d'olivier appartenant à la collection méditerranéenne. *Olivae*, **55**: 31-34.

I

Impellizzeri J. and Lin J. 2006. A simple high-performance liquid chromatography method for the determination of throat-burning oleocanthal with probated antiinflammatory activity in extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , **54** (9): 3204-3208.

Inarejos-García A.M., Santacatterina M., Salvador M.D., Fregapane G., Gómez-Alonso S. 2010. PDO virgin olive oil quality-Minor components and organoleptic evaluation. *Food Research International*, **43**: 2138-2146.

Inglese P. 1994. L'influence de la variété sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivae*, **54**: 42-44.

Inglese P., Barone E. and Gullo G. 1996. The effect of complementary irrigation on fruit growth, ripening pattern and oil characteristics of olive (*Olea europaea* L.) cv. Carolea. *Journal of Horticultural Science*, **71**: 257-263.

International Standard Organization (ISO/6886/96). 2006. Corps gras d'origines animale et végétale. Détermination de la stabilité à l'oxydation (essai d'oxydation accéléré).

J

Jiang L., Yamaguchi T., Takamura H. and Matoba T. 2005. Characteristics of Shodo Island Olive Oils in Japan: Fatty Acid Composition and Antioxidative Compounds. *Food Sci. Technol. Res* **11**(3): 254-260.

K

Kalua C.M., Allen M.S., Bedgood Jr D.R., Bishop A.G., Prenzler P.D. and Robards K. 2007. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*, **100**: 273–286.

Kamal-Eldin A. and Appelquist L.A. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols, *Lipids*, **31**:671–701.

Kamal-Eldin A. and Andersson R. 1997. A multivariate study on the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, **74**:375–380.

Karaosmanoglu H., Soyer F., Ozen B. AND Tokatli F. 2010. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Turkish Extra Virgin Olive Oils. *Journal agricultural and Food Chemistry*, **58**: 8238–8245.

Kiritsakis A. and Osman M. 1995. Effets du carotène et de l' α - tocophérol sur la stabilité photo- oxydative de l'huile d'olive. *Olivae*, **56** : 25-28.

Kiritsakis. A. 1985. Studies in the photooxydation of olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, **62**(5):892-896.

Koutsaftakis A. and Stefanoudaki E. 1995. L'extraction de l'huile d'olive par un décanteur à deux phases : résultats obtenus. *Olivae*, **56** : 44-47.

L

Laribi R., Rovellini P., Deflaoui L., Aidli A., Mettouchi S., Arrar L. and Tamendjari A. 2009. Evolution of biophenolic compounds in virgin olive oil during olive ripening of Algerian cultivars. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, **86** (3): 151-161.

Leger C.L. 2003. L'huile d'olive : sa place dans l'alimentation humaine. In : *Lipides et corps gras alimentaires*. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp.81-101.

Lo Curto S., Dugo G., Mondello L. Errante G. and Russo M.T. 2001. Variation in tocopherol content in Italian virgin olive oils. *Italian Journal of Food Science*, **13** (2): 221-228.

Lumaret R. and Ouazzani N. 2001. Ancient wild olives in Mediterranean forests. *Nature*, 413-700.

Lumaret R., Ouazzani N., Michuad H., Vivier G., Deguilloux M-F., Di Giusto F. 2004. Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean basin. *Heredity*, **92**: 343–351.

Luna G., Morales M.T. and Aparicio R. 2006. Characterisation of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions. *Food Chemistry*, **98**: 243–252.

M

Manai H., Haddada M F., Imen O., Trigui A., Daoud D. and Zarrouk M. 2006. Variabilité de la composition de l'huile d'olive de quelques hybrides obtenus par croisements dirigés. *Olivae*, 106: 17-23.

Manai H., Mahjoub-Haddada F., Oueslati I., Daoud D. and Zarrouk M. 2008. Characterization of monovarietal virgin olive oils from six crossing varieties. *Scientia Horticulturae*, **115** : 252–260.

Manzi P., Panfili G., Esti M. and Pizzoferrato L. 1998. Natural antioxidants in the unsaponifiable fraction of virgin olive oils from different cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **77**: 115–120.

Masibo M. and He Q. 2009. In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of *Mangifera indica* L. *Malaysian Journal of Microbiology*, **5**(2): 2073-80.

- Mateos R., Espartero J.L., Trujillo M., Rios J.J., Leon-Camacho M., Alcudia F., and Cert A.** 2001. Determination of phenols, flavones and lignans in virgin olive oils by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 2185-2192.
- Mateos R., Cert A., Perez-Camino M.C. and Garcia J.M.** 2004. Evaluation of virgin olive oil bitterness by quantification of secoiridoid derivatives. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **81**: 71-75.
- Mateos R., Uceda M., Aguilera M.P., Escuderos M.E. and Beltran M.G.** 2006. Relationship of Rancimat method values at varying temperatures for virgin olive oils. *European Food Research and Technology*, **223**: 246-252.
- Matos L. C., Pereira J. A., Andrade P. B., Seabra R. M. and Oliveira M. B. P.P.** 2007b. Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils. *Food Chemistry*, **102**: 976-983.
- Médail F., Quézel P., Besnard G. And Khadari B.** 2001. Systematics, ecology and phylogeographic significance of *Olea europaea* L. ssp. *Maroccana* (Greuter & Burdet) P. Vargas *et al.*, a relictual olive tree in south-west Morocco. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **137**: 249-266.
- Medina E., De Castro A., Romero C. and Brenes M.** 2006. Comparison of the Concentrations of Phenolic Compounds in Olive Oils and Other Plant Oils: Correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 4954-4961.
- Mendil M. and Sebai A.** 2006. Catalogue des variétés Algérienne de l'olivier : l'olivier en Algérie, N°1840.
- Metzidakis I., Gerasopoulos D. and Kiritsakis K.** 1995. Effet de la durée du séjour des olives dans les filets sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivae*, **56** : 40-43.
- Michaelakis N.** 1992. L'amélioration de la qualité de l'huile d'olive en Grèce : passé, present et avenir. *Olivae*, **42**:22-30.
- Minguez-Mosquera M.I., Rejano L., Gandul B., Higinio A. and Carido J.** 1991. Color pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **68**: 332-336.
- Molyneux P.** 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*. **26** (2): 211-219.
- Monpon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbled M.**1996. Extraction des polyphénols: du laboratoire à la production industrielle. In « Polyphénols 96, 18th International Conference on Polyphénols ». Edition INRA, Paris.pp 31-43.
- Montedoro G., Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Miniati E. and Macchioni A.** 1993. Simple and Hydrolyzable Compounds in Virgin Olive Oil. 3. Spectroscopic Characterizations of the Secoiridoid Derivatives. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **41**: 2228-2234.

Monteleone E., Caporale G., Carlucci A. and Pagliarini E. 1998. Optimisation of Extra Virgin Olive Oil Quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **77**: 31-37.

Monti M.C., Margarucci L., Tosco A., Riccio R. and Casapullo A. 2011. New insights on the interaction mechanism between tau protein and oleocanthal, an extra-virgin olive-oil bioactive component. *The Royal Society of Chemistry*, **2**: 423–428.

Morello J., Motilva M., Tovar M. and Romero M. 2004. Changes in commercial virgin olive oil (cv. Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, **85**: 357-364.

Morales M.T., Luna G. and Aparicio R. 2005. Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*, **91**: 293–301.

Mulas M. and Deidda P. 1998. Domestication of woody plants from Mediterranean maquis to promote crops for mountain lands. *Acta Horticulturae* **457**: 295–301.

N

Nenadis N. and Tsimidou M. 2002. Determination of squalene in olive oil using fractional crystallization for sample preparation. *Journal of the American Oil Chemists Society*, **79**: 257–259.

Ninfali P., Aluigy G., Bacchiocca M. and Magniani M. 2001. Antioxydant capacity of extravirgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **78** (3): 243-247.

Nissiotis M. and Tasioula-Margari M. 2002. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food chemistry*, **77**: 371-6.

Norme Grassi e Derivati. 2007. NGD, edito da Stazione Sperimentale Oli e Grassi, Milano. NGD C89.

Nychas G.J.E., Tassou S.C. and Board R.G. 1990. Phenolic extract from olives: inhibition of *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, **10**: 217-220.

O

Obied H.K., Bedgood Jr D.R., Prenzler P.D., Robards K. 2007. Chemical screening of olivebiophenol extracts by hyphenated liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, **603**: 176-189.

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

Oliveras-Lopez M.J., Innocenti M., Giaccherini C., Ieri F., Romani A. and Mulinac N. 2007. Study of the phenolic composition of spanish and italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids. *Talanta*, **73**: 726-732.

Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guérère M. and Artaud J. 2004. Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique (2ème Semestre)*, **965**:169-196.

Ollivier D., Artaud J., Pinatel C., Durbec J-P. and Guérère M. 2006. Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry*, **97**: 382–393.

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 arid Tataouine zone. *Food Chemistry*, **112**: 733-741.

Owen R.W., Mier W., Giacosa A., Hull W.E., Spiegelhalder B. and Bartsch H. 2000c. Phenolic Compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chemistry. Toxicology*. **38**: 647-659.

P

Parker T.D., Adams D.A., Zhou K., Harris M. and Yu L. 2003. Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. *Journal of Food Science*, **68**: 1240-3.

Phillips K.M., Ruggio D.M., Toivo J.I., Swank M.A. and Simpkins A.H. 2002. Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *Journal of Food Composition Analysis*, **15**: 123-142.

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

Pinelli P., Galardia C., Mulinaccia N., Vincieria F.F., Cimatob A. and Romania A. 2003. Minor polar compound and fatty acid analyses in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food Chemistry*, **80**: 331–336.

Perrin J.L. 1992. Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et Recherche*, **4**: 25-31.

Poisson J.P. and Norce M. 2003. Corps gras alimentaires: Aspects chimiques, biochimiques et nutritionnels. *In. Lipides et corps gras alimentaires*. Ed. Technique et Documents, 1-50.

Pokorny J., Yanishlieva N. and Gordon M. 2001. Antioxidants in food Practical applications. CRC Press 380p.

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

Q

Ouattara B., Simard R. E., Holley R.A., P Piette G. J and Bégin v.1997. Antibacterial activity of selected fattyacids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, **37**:155–162.

R

Rahman A., Eun L.K. and Sun C.K. 2009. Antibacterial and antioxidant properties of ailanthus altissima swingle leaf extract to reduce foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Journal of Food Safety*, **29**: 499–510

Rahmani M. and Csallany S.A. 2000. Etude de la stabilité des huiles d'olive vierge marocaines. *Olivae*, **82**: 37-40.

Ramadan M.F. and Moersel J.T. 2006. Screening of the antiradical action of vegetable oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**: 838-842.

Ranalli G., De Mattia G., Ferrante ML. and Giansante L. 1997. Incidence of Olive Cultivation Area on the Analytical Characteristics of the Oil. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*:501-508.

Ranalli A., Pollastri L., Contento S., Di Loreto G., Iannucci E., Lucera L. and Russi F. 2002. Sterol and alcohol components of seeds, pulp, and whole olive fruit oils. Their use to characterise olive fruit variety by multivariate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **82**, 854-859.

Rey P.J., Gutierrez J.E., Alcantara J. and Valera F.1997. Fruit size in wild olive: implication of avian seed dispersal. *Functional Ecology*, **11**: 611- 618.

Ribereau-Gayon P. 1968. Les composés phénoliques des végétaux Ed. Dunod, 173-201.

Riché Denis, 1999. Les radicaux libres et antioxydants. in *Guide nutritionnel des sports d'endurance*.

Roca M. and Minguéz-Mosquera M.I. 2001. Changes in Chloroplast Pigments of Olive Varieties during Fruit Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 832-939.

Rodriguez-Vaquero M.J., Alberto M.R. and Manca de Nadera M.C. 2007. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, **18**: 93-101.

Rolland Y. 2004. Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux Corps gras Lipides*, **11** (6) : 419-424.

Romani A., Lapucci C., Cantini C., Ieri F., Mulinacci N. And Visioli F. 2007. Evolution of Minor Polar Compounds and Antioxidant Capacity during Storage of Bottled Extra Virgin Olive Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**: 1315-1320.

Romero C., Medina E., Vargas J., Brenes M. and De Castro A. 2007. In vitro activity of olive polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55** (3): 680-686.

Rotondi A., Bendini A., Cerretani L., Mari M., Lercker G. and Gallina Toschi T. 2004. Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of cv. nostrana di brisighella extra virgin olive oil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **52**: 3649–3654.

Rovellini P., Cortesi N., Fedeli E. 1997. Analysis of flavonoids from *Olea europea* by HPLC-UV and HPLCES- MS. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, **74**: 273-279.

Rovellini P., Cortesi N., Fedeli E. 1999. The oxidative status of fatty substances: a proposal for a new quantitative analytical method. Note II. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, **76**: 109-114.

Rovellini P., Cortesi N. 2002. Liquid chromatographymass spectrometry in the study of oleuropein and ligstroside aglycons in virgin olive oil: aldehydic, dialdehydic forms and their oxidized products. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, **79**: 1-14.

Rovellini P., Cortesi N. 2002. Alfa-tocopherol oxidation products. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, **79**: 333p.

Rovellini P., Cortesi N., Mattei A., Marotta F. 2002. Composti carbonilici volatili nell'aroma dell'olio vergine di oliva. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, **79** (12) : 429-438.

Rovellini P. and Cortesi N. 2003. Détermination des composants phénoliques de différents cultivars au cours de la maturation des olives par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. Olivae, **95**: 32-38.

Rovellini P. 2004.Indice di qualità dell'olio extra vergine di oliva, antiossidanti naturali e stato di ossidazione. . La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, **L. LXXXI** : 335-341.

Rovellini P. 2008. Elenolic acid in virgin olive oil: liquid chromatography-mass spectrometry method. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, **85**: 21-31.

Rovellini P., Cortesi N., Fusari P., Zaganelli P. 2010. Nutritional-health quality index evaluation of novel extra virgin olive oils. Note I. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, **LX XXVII** : 75-85.

Ruiz L.F., Rodriguez A.G. O., Fernandez M.H., Marquez A. J., Pozo P. L. D., Bernardino J. M., Ayuso T. R. and Ojeda M. U.1999. Consejeria de Agricultura y pesca.2eme Ed. Informaciones técnicas comunidad europea. pp. 17-44.

Ryan D., Robardas K. and Lavee S. 1998. Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. Olivae, **72**: 26-38.

Ryan D. and Robard K. 1998. Phenolic compounds in olives. Analyst, **123**: 31-44.

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

Saitta M., Salvo F., DI Bella G., Dugo G. and Loredana LA Torre G. 2009. Minor compounds in the phenolic fraction of virgin olive oils. Food Chemistry, **112**: 525-532.

Salas J.J., Sanchez J., Ramli U.S., Manaf A.M., Williams M. and Harwood J.L. 2000. Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Progress in Lipid Research* 39: 151-180.

Salvador M. D., Aranda F. and Fregapane G. 1998. Chemical composition of commercial Cornicabra virgin olive oil from 1995/96 and 1996/97 crops. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, **75**: 1305–1311.

Samaniego-Sanchez C., Troncoso Gonzalez A.M., Garcia-Parrilla M.C., Quesada Granados J.J., Lopez Garcia de la Serrana H. and Lopez Martinez M.C. 2007. Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica Chimica Acta*, **593**:103-107.

Sanchez Casas J.J., De Miguel Gordillo C. and Marin Exposito J. 1999. La qualité de l'huile d'olive provenant de variétés cultivées en Estrémadure en fonction de la composition et de la maturation de l'olive. *Olivae*, **75**: 31-36.

Servili M. and Montedoro G. 2002. Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **104**: 602-613.

Servili M., Selvaggini R., Esposito S., Taticchi A., Montedoro G.F. 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 A*, 1054, 113–127.

Shahidi F. and Nacz M. 2004. Nutritional and Pharmacological Effects of Food Phenolics in Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press, pp 327-328.

Soulier J. and Fariune M. 1992. L'insaponifiable. In : Manuel des corps gras. Lavoisier, Ed.Technique et Documents, pp.95-112.

Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Calhella R., Andrade P.B., Valentao P., Seabra R., Estevinho L., Bentoa A. and Pereira J.A. 2006. Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14**: 8533-8538.

Stefanoudaki E., Kotsifaki F. and Koutsaftakis A. 1999. Classification of virgin olive oils of the two major Cretan cultivars based on their fatty acid composition. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **76** (5): 623-626.

T

Tanouti K., Elamrani A., Serghini-Caid H., khalid A., Bahetta Y, Benali A., Harkous M. et Khia M.2010. Caractérisation d'huiles d'olive produites dans des coopératives pilotes (Lakrarma et Kenine) au niveau du Maroc Oriental. *Les Technologies De Laboratoire*, **5**(18) :18-26.

Terral J.F. 2000. Exploitation and management of the olive tree during prehistoric times in Mediterranean France and Spain. *Journal of Archaeological Science*, **27**: 127–133.

Terral J.F., Alonso N., Capdevila R.B., Chatti, N., Fabre L., Fiorentino G., Marival P., Pérez Jorda G., Pradat B., Rovira N. and Alibert P. 2004. Historical biogeography of olive

domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. *Journal of Biogeography*, **31**: 63–77.

Tovar M.J., Motilva M.J., Luna M., Girona J. and Paz Romero M. 2001. Analytical characteristics of virgin olive oil from young trees (arbequina cultivar) growing under linear irrigation strategies. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **78**: 843–849.

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

Trentacoste E.R., Puertas C.M., Sadras V.O.2010. Effect of fruit load on oil yield components and dynamics of fruit growth and oil accumulation in olive (*Olea europaea* L.). *Eur J Agron* **32**:249–254.

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

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

Tuck K.L. and Hayball P.J. 2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**(11): 636-644.

Tungel G. and Nergiz C. 1993. Antimicrobial effect of some olive phenols in a laboratory medium. *Letters in Applied Microbiology*, **17** : 300-302.

Tura D., Gigliotti C., Pedò S., Failla O., Bassi D. and Serraiocco A. 2007. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea* L.) and correlations with oxidative stability. *Scientia Horticulturae*, **112**: 108–119.

U

Uceda M., Jiménez A. and Beltrán G. 2006. Olive oil extraction and quality. *Grasas y Aceites*, **57** (1): 25-31.

Uzzan A .1994. Huile D'olive .IN : Manuel De Corps Gras. Lavoisier, Ed .Technique Et Documents, Pp.763-766.

V

Veillet Sébastien.2010. Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Thèse de doctorat.Universite d'avignon et des pays de vaucluse. 160p.

Velasco J. and Dobarganes C. 2002. Oxidative stability of virgin olive oil, *European Journal of Lipids and Science Technology*. **104**:661–676.

W

Wallander E. and Albert V.A. 2000. Phylogeny and classification of Oleaceae based on rps16 and trnL-F sequence data. *American Journal of Botany*, **87**: 1827-1841.

X

Xu H-X. Lee S.F.2001. Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria, *Phytotherapy Reserch*, **15**; 39-43.

Y

Yala D.; Merad A S, Mohamedi D, Ouari Korich. M.2001. *Santemagreb.com.le guide de la médecine et de la santé au magreb*.

Yang C.S., Landou J.M., Huang M.T. and Newmark H.L. 2001. Inhibition Of Carceno-genesis By Dietary Polyphenolic Compounds. *Annual Reviews .Nutrition*, **21**:381-406.

Z

Zarrouk M., Marzouk B., Ben Miled Daoud D. and Cherif A .1996. Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition .*Olivae*, **61** :41-45.

Zarrouk W., Haddada F.M., Baccouri B., Oueslati I., Taamalli W., Fernandez Z., Lizzani- Cuvelier L., Daoud D. and Zarrouk M. 2008. Characterization of virgin olive oil from Southern Tunisia. *European Journal of Lipids Science and Technology*, **110**: 81-88.

Zarrouk W., Carrasco-Pancorbo A., Zarrouk M., Segura-Carretero A. and Fernández-Gutiérrez A.2009. Multi-component analysis (sterols, tocopherols and triterpenic dialcohols) of the unsaponifiable fraction of vegetable oils by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization–ion trap mass spectrometry. *Talanta* **80**:924–934.

Zaidi- Yahiaoui R., Zaidi F .et Ait Bessai A .2008. Influence of gallic and tannic acids on enzymatic activity and growth of *Pectobacterium chrysanthemi* (*Dickeya chrysanthemi* bv *chrysanthemi*. *African Journal of Biotechnology*, **7**:482-486.

Zheng C.J., Yooa J.S., Leeb T.G., Choc H.Y., Kimd Y.H and Kima W.G.2005. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS Lettres*, **579** :5157–5162.

Zitoun B., Caraffa V.B., Giannettini J., Breton C., Trigui A., Maury J., Gambotti C., Marzouk B. And Berti L.2008. Genetic diversity in Tunisian olive accessions and their relatedness with other Mediterranean olive genotypes. *Scientia Horticulturae* , **115** : 416–419.

Tableau I : Les différentes catégories d'huile d'olive et leurs critères de qualité (COI, 2003).

Huile paramètre	Huile d'olive Extra vierge	Huile d'olive vierge	Huile d'olive Vierge courante	Huile d'olive Vierge lampante
Caractéristiques Organoleptiques -Fruité -Défaut	Me > 0 Me = 0	Me > 0 0 < Me < 2,5	Me = 0 2,5 < Me < 6,0	Me > 6,0
Acidité libre (% acide oléique)	≤ 0,8	≤ 2	≤ 3,3	> 3,3
Indice de peroxyde (meq O ₂ /Kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité
Extinction spécifique (UV) K ₂₃₂ K ₂₇₀	≤ 2,5 ≤ 0,22	≤ 2,6 ≤ 0,25	≤ 0,3	/ /

Me : médiane.

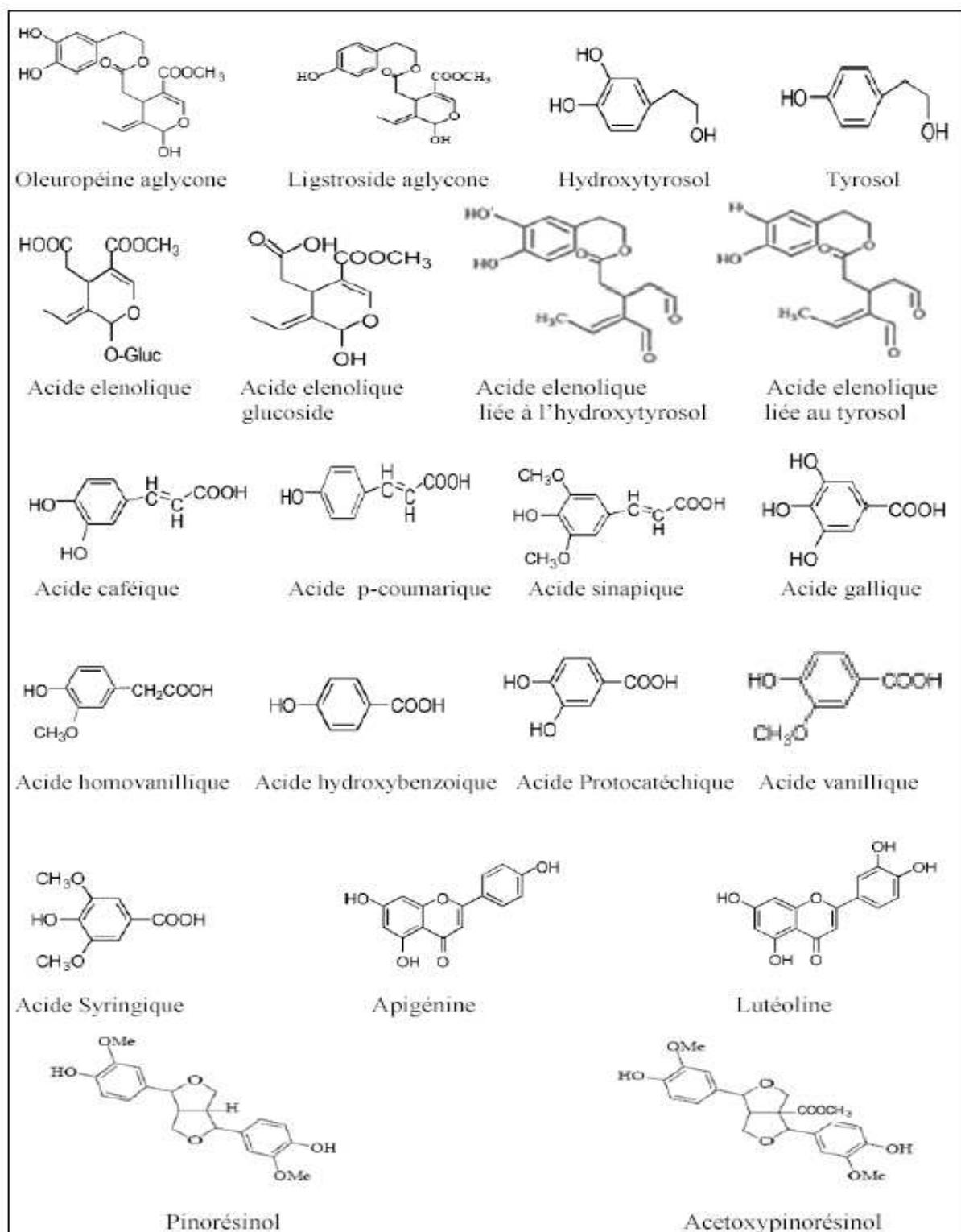


Figure N°2 : Structure des principaux composés phénoliques de l'huile d'olive (Ryan *et al.*, 2002).

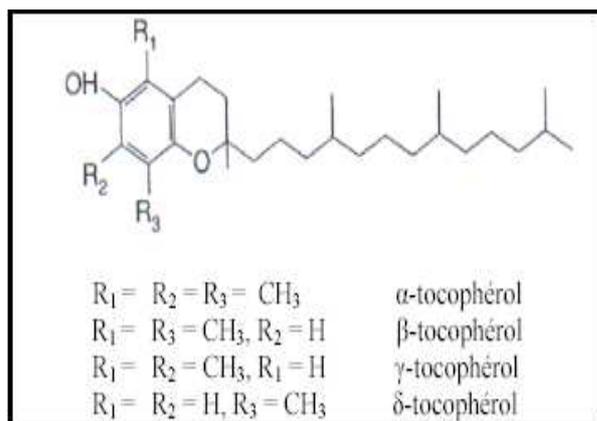


Figure N°2 : Structure des tocophérols
(Soulier et Farines, 1992).

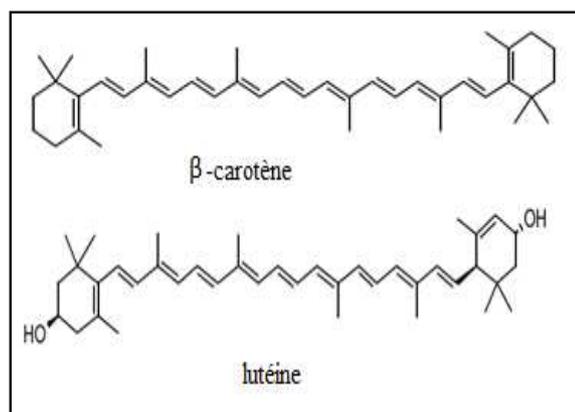


Figure N°3 : Principaux caroténoïdes de l'huile
d'olive (Pokorny *et al.*, 2001)

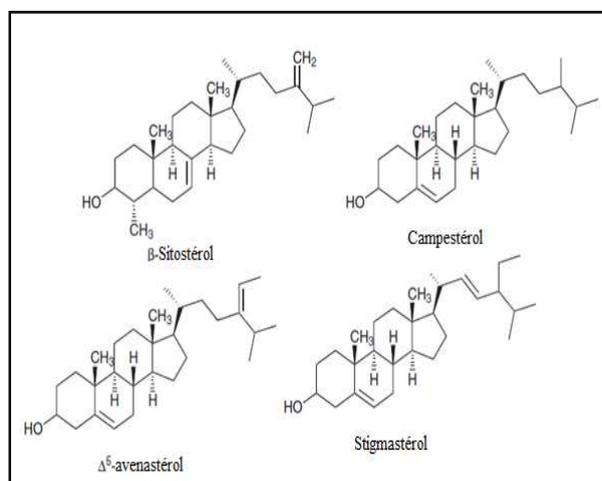


Figure N°4 : Structures des stérols présents
dans l'huile d'olives (Pokorny *et al.*, 2001).

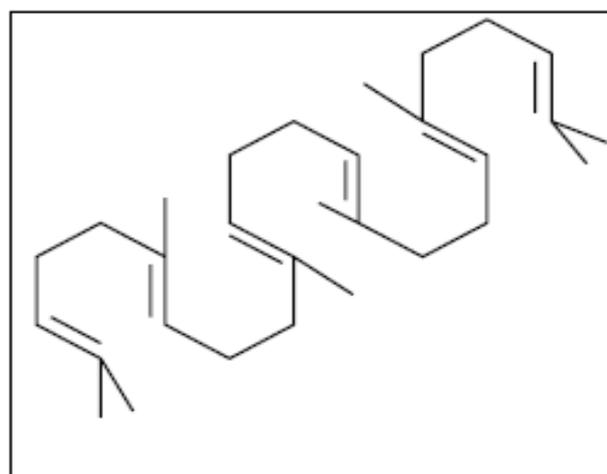


Figure N°5: Structure du squalène (Bosko, 2009).

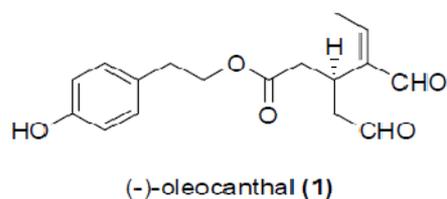


Figure n°6: Structure d'oleocanthal monti *et al.* ,2011

Préparation du tampon phosphate salin tween20

Tampon phosphate salin tween20 (PBST) est préparée en mélangeant 100 mM phosphate de sodium dibasique avec 100 mM phosphate de sodium monobasique dans un rapport 2:1, ce mélange est ajouté à 1:1 NaCl 150 mM et Tween 20 est incorporé à 0,25% (p / p) de la concentration finale.

Composition des milieux de culture

- **Bouillon nutritif**

Peptone de viande ou de gélatine	10	
extrait de levure	5	pH : 7,2
chlorure de sodium	5	

- **Milieu PCA (Plate Count Agar).**

Peptone de viande ou de gélatine	5	
extrait de levure	2,5	
glucose.....	1	pH : 7
Agar-agar.....	15	

- **Gélose Chapman**

extrait de viande	1	
Chlorure de sodium	75	
peptone	1	pH : 7,4
Agar-agar.....	15	
mannitol	10	
rouge de phénol	0,025	

- **EMB (Gélose à l'éosine et au bleu de méthylène)**

Peptone de viande ou de gélatine	10
Lactose.....	10

Phosphate diploblastique	02
Eosine jaunâtre	0,4
Bleu de méthylène	0,067
Agar-agar.....	13,5

pH : 6,8 - 7

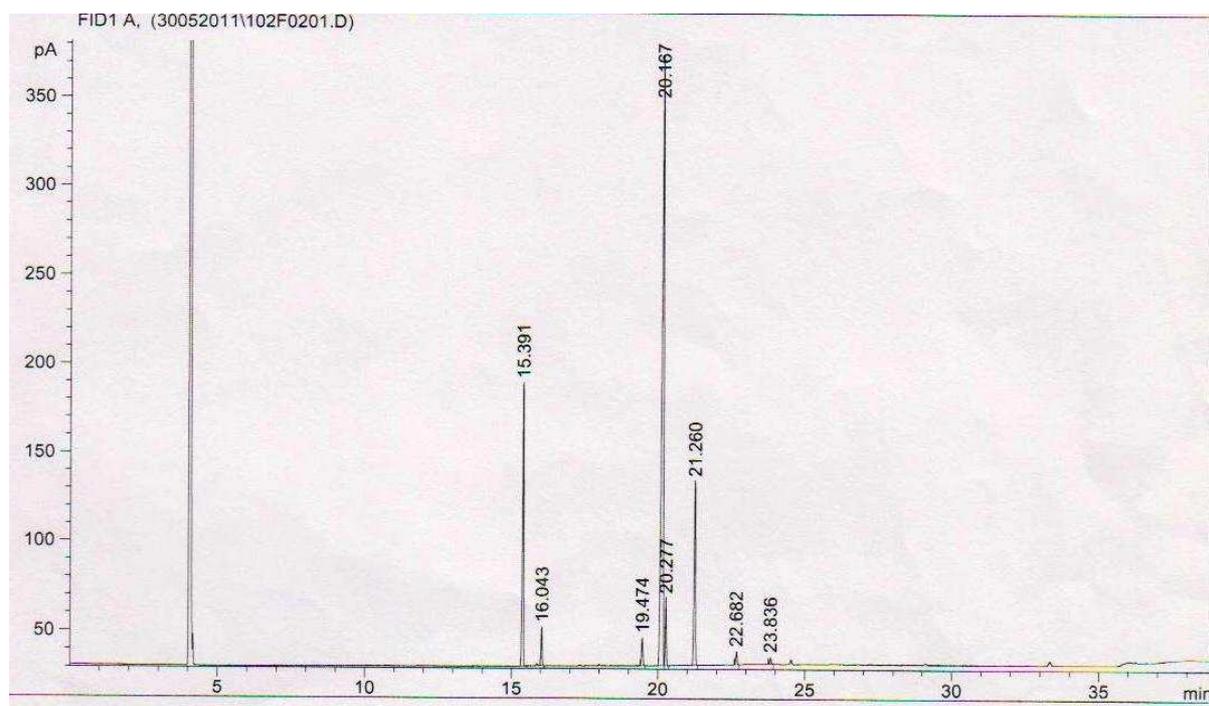


Figure 6 : Chromatogramme type des esters méthyliques des acides gras d'une huile étudiée.

Tableau I : Teneur en acides gras de l'huile d'olive vierge (COI, 2003).

Acides gras	Teneur en acides gras (%)
Acides gras	
C14:0	0,0 - 0,05
C16:0	7,5 - 20,0
C16:1	0,3 - 3,5
C17:0	0,0 - 0,3
C17:1	0,0 - 0,3
C18:0	0,5 - 5,0
C18:1	55,0 - 83,0
C18:2	3,5 - 21,0
C18:3	0,0- 1,0
C20:0	0,0 - 0,6
C20:1	0,0 - 0,4
C22:0	0,0 - 0,2
C24:0	0,0 - 0,2
Acides gras <i>trans</i>	
C18:1 <i>trans</i>	0,0 - 0,05
C18:2 <i>trans</i> + C18:3 <i>trans</i>	0,0 - 0,05

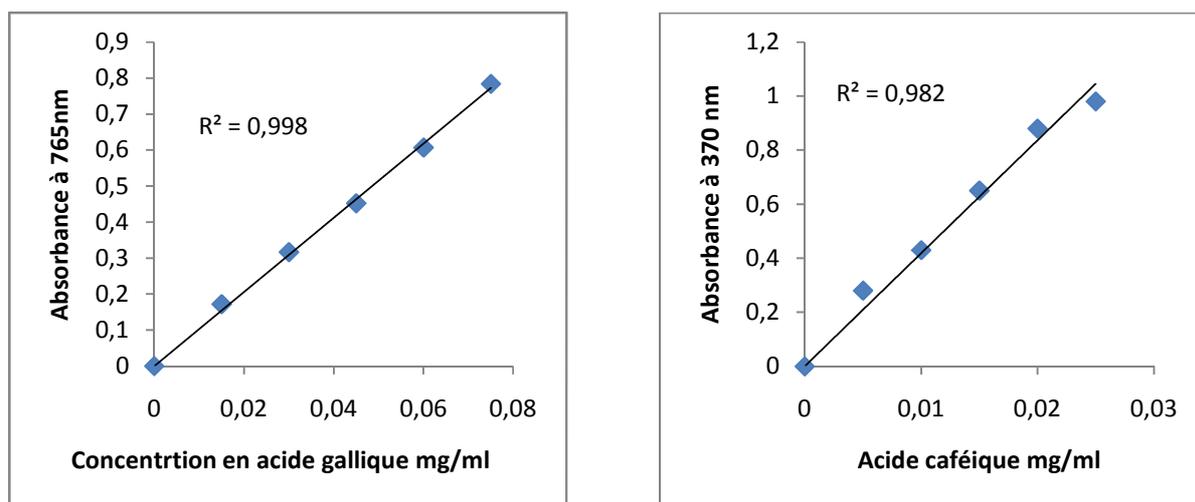


Figure 1: Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques(a), des *ortho*-diphénols (b).

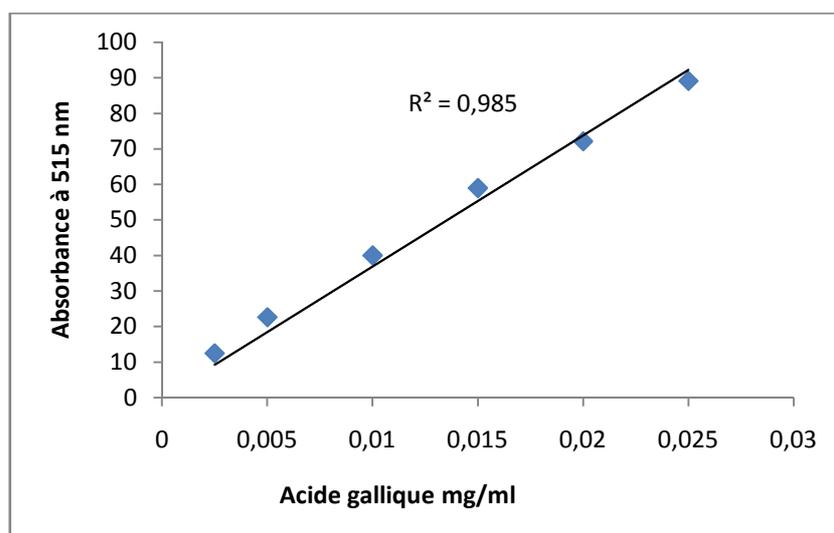


Figure 2 : Courbes d'équivalences pour l'activité antiradicalaire de l'huile contre le DPPH

Tableau 1 : matrice de corrélation

	Polyphénols HPLC	Polyphénols COL	Hydroxyrosol	Tyrosol	Flavonoïdes	Oleocanthal	Dérivées d'oleuropeine	Dérivées de ligstroside	Activité scavenger de
Polyphénols HPLC	1								
Polyphénols COL	0,90	1							
Hydroxyrosol	0,91	0,98	1						
Tyrosol	0,76	0,80	0,78	1					
Flavonoïdes	0,25	-0,09	0,02	-0,57	1				
Oleocanthal	0,54	0,16	0,21	0,44	0,36	1			
Dérivées d'oleuropeine	0,98	0,94	0,95	0,72	0,23	0,38	1		
Dérivées de ligstroside	0,76	0,61	0,60	0,86	-0,11	0,80	0,64	1	
Activité scavenger de DPPH	0,98	0,82	0,83	0,79	-0,18	0,70	0,92	0,87	1

Tableau 2 : matrice de corrélation

	Polyphénols HPLC	Polyphénols COL	Hydroxyrosol	Tyrosol	Flavonoïdes	Oleocanthal	Dérivées d'oleuropeine	Dérivées de ligstroside
<i>S. aureus</i>	0,51	0,70	0,50	0,78	0,12	0,84	0,58	0,99
<i>B. subtilis</i>	0,99	0,66	0,93	0,71	0,06	0,47	0,99	0,69
<i>L. innocua</i>	0,75	0,69	0,49	0,68	0,24	0,95	0,61	0,94
<i>K. pneumoniae</i>	0,85	0,75	0,88	0,45	0,36	0,41	0,92	0,47
<i>E. coli</i>	0,57	0,85	0,46	0,61	0,12	0,95	0,57	0,90
<i>P. aeruginosa</i>	0,69	0,88	0,64	0,66	0,39	0,87	0,78	0,87

Résumé

La présente étude porte sur la détermination des indices biométrique des fruits, des paramètres de qualité de l'huile, de la composition quantitative en acides gras et en substances antioxydantes, l'évaluation de l'activité antioxydante ainsi que des effets antibactériens des huiles issues de fruits, de trois oléastres (*Olea europaea* var. *oleaster*) et *chemlal* (*Olea europaea* var) de la région de Tazmalt (Béjaia). Les résultats obtenus montrent que les teneurs en huiles sont proportionnelles au poids moyens des fruits ($r=0,61$). L'évaluation des indices de qualité nous permet de classer les huiles testées dans la catégorie « extra-vierge ». La composition en acides gras est conforme aux normes du COI. L'huile des oléastres 2 et 1 se distinguent par des teneurs notables en acide oléique (79,07 et 75,70%). Les taux en pigments sont faibles pour l'ensemble des huiles qui présentent un rapport caroténoïdes / chlorophylles supérieur à l'unité. Les teneurs en tocophérols totaux sont supérieurs à 192 mg/kg avec une prédominance de l' α -tocophérol, l'huile de l'oléastre 1 présente la teneur la plus élevée (335 mg/kg). L'analyse des composés phénoliques individuels par HPLC révèle une composition qualitative similaire qui diffère quantitativement suivant l'échantillon, les trois oléastres 1, 2 et 3 se caractérisent par leurs teneurs élevées en oléocanthal (81, 50 et 55 mg/kg). La capacité antioxydante des échantillons suit le même ordre que celui des teneurs en antioxydants. L'huile de l'oléastre 2 présente la plus faible concentration en huile pour neutraliser 50% du radical DPPH (25,39 mg/ml). Les résultats obtenus relatifs à l'activité antibactérienne montrent une différence d'activité des huiles étudiées vis-à-vis les souches testées. L'activité antibactérienne la plus importante a été observée à l'égard *Staphylococcus aureus* méthiciline résistant(SARM), contrairement à *Klebsiella pneumoniae* qui présente la résistance la plus élevée. Les résultats de cette étude montrent que les trois huiles d'oléastre sont intéressantes pour intérêts nutritionnelles et thérapeutiques que la variété *Chemlal*.

Mots clés : oléastre, huile d'olive, Acides gras, polyphénols, HPLC, tocophérols, pigments, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

This study aimed to the determination of fruit's biometric index, oil's quality index, the composition in fatty acid and antioxidant substances and the investigation of the antioxidant potential and antibacterial effect of oils extracted from fruits of tree oleasters (*Olea europaea* var. *oleaster*) and *Chemlal* growing in Tazmalt(Bejaia). The results indicate that oil content is proportional to the fruit weight ($r=0.61$). The evaluation of the quality index of these oil which were tested allows classifying them in the extra virgin olive oil. The fatty acid composition is well within the COI standard. Oil from oleaster 2 and 1 are distinguished by their highest levels on oleic acid (79,07, 75,70%). The pigment content is low for all oils, which present caroténoïdes / chlorophylles ratio superior to the unit. Tocopherol levels are higher than 150mg/kg; with the predominance of α -tocopherol, oil from oleaster seem to be interesting with the highest level (335mg/kg). The analysis of individual phenolic compounds by HPLC reveals a similar qualitative composition which differs quantitatively following the oleaster and the harvesting area. The antioxidant capacity of samples follows the same order as that of the levels of antioxydants. oil of oleaster 2 showed the lower concentration of oil to neutralize 50% of DPPH radical. The results on the antibacterial activity show a difference in activity of the oils studied against the strains tested. The high antibacterial activity was observed against methicilin resistant *Staphylococcus aureus*, unlike *Klebsiella pneumoniae* which has the highest resistance.

The results of this study show that the three oils of oleasters are interesting for their nutritive and therapeutic values that the variety *Chemlal*.

Key words: oleaster, olive oil, Fatty acids, polyphenols, HPLC, tocopherols, pigments, antioxidant potential, antibacterial potential.

Introduction

Synthèse bibliographique

Matériel et Méthodes

Résultats et Discussion

Conclusion

Et

Perspectives

*Références
bibliographiques*

Annexes