

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia
Faculté des Sciences technologiques
Département de génie des procédés
Option : Génie Alimentaire

Réf :

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

MASTER

Thème

*Optimisations d'enrichissement de l'huile d'olive vierge
par **Zizyphus lotus** et **Opuntia ficus indica***

Présenté par :

Nadia AIT OUALI et Meriem DJERRADA

Soutenu le : **04-07-2019**

Devant le jury composé de :

Mr. METREF

Professeur

Examineur

Melle. ACHAT. S

M.C.A

Encadrante

Melle. BERKANI. F

Doctorante

Co-encadrante

Mme. SMAIL.L

M.A.A

Présidente

Année universitaire : 2018 / 2019

Remerciements

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

Je remercie vivement ma promotrice, M^{elle} ACHAT, S et Co-promotrice M^{elle} BARKANI, F pour leur patience, leur encouragement, leur conseils et leur disponibilité tout au long de mon travail.

Je remercie également M. MADANI, K d'avoir accepté de réaliser ce travail au sein de son laboratoire.

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

Je remercie également tout le personnel du laboratoire BBBS, notamment les ingénieures M^{me} DJERRADA, N et M^{me} BENSIDHOUM, S ainsi que tout l'équipe de recherche

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

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents en témoignage de ma reconnaissance

pour leur

Patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes

études, que

Dieux leur donne longue vie et leur prête sante.

A mon très cher frère Nadjib.

A mon fiancé Yacine et à tous les membres de sa famille.

A ma grand-mère paternelle.

A toute ma famille ancles, tantes, cousins et cousines.

A mon adorable binôme et amie Meriem et sa famille.

A tous mes amis(e) de près ou de loin.

NADIA

Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail :

*A la mémoire de mon père qui ma toujours soutenu, que dieu
le protège.*

*A ma très chère douce mère qui a su me donner la confiance,
la fierté et la valeur.*

A ma très chère sœur Siham et mon très chère frère Makhlouf.

A toute ma famille.

A ma binôme Nadia et tt sa famille.

A toute mes amis.

MERIEM

SOMMAIRE

Introduction	01
--------------	----

Partie bibliographique

Antioxydants naturels

I .Antioxydants naturels	03
I.1 Jujube « <i>Zizyphus lotus</i> »	03
I.1.1 Description botanique	03
I.1.2 Classification botanique	03
I.1.3 Composition biochimique	04
I.1.4 Son utilisation	04
I.1.5 Composés phénoliques et propriétés	04
I.2 Figue de barbarie « <i>Opuntia ficus indica</i> »	05
I.2.1 Description botanique	05
I.2.2 Classification botanique	05
I.2.3 Composition biochimique	05
I.2.4 Son utilisation	06
I.2.5 Composés phénoliques et propriétés	06
I.3 Les bienfaits de ZL et d’OFI pour la santé	06

Généralité sur l’huile d’olive

I.4 Définition d’huile d’olive	08
I.5 Composition biochimique	08
I.5.1 Les acides gras	08
I.5.2 Les composés phénoliques	09
I.5.3 Les tocophérols	09
I.5.4 Les composés aromatiques	10
I.5.5 Les pigments	10
I.6 Les différents types de l’huile d’olive	10
I.7 Procéder d’extraction de l’huile d’olive	11
I.8 Avantages et inconvénients de la consommation d’huile d’olive vierge sur la santé humaine	12

Enrichissement de l'huile d'olive vierge

I.9 Généralités sur l'enrichissement	14
I.9.1 Procèdes d'enrichissement	14
I.9.1.1 Infusion.....	14
I.9.1.2 Enrichissement et extraction	14
I.9.1.3 Co-traitement.....	14
I.9.1.4 Enrichissement assisté par ultrasons	14
I.9.1.4.1 Principe d'extraction aux ultrasons	14
I.9.2 Différentes techniques d'enrichissement d'huile d'olive.....	15

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes.....	17
II.1 Produits chimiques et réactifs	17
II.2 Matériel végétal.....	17
II.3 Préparation du matériel végétal.....	17
II.3.1. Extraction.....	17
a-Séchage.....	17
b-Broyage et tamisage	18
II.3.2. Extraction par ultrasons	18
II.3.3. Analyse phytochimique	18
II.3.3. 1. Détermination du taux d'humidité	18
II.3.3. 1. Dosage des composés phénolique totaux (TPC).....	19
II.3.4. Optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons	19
II.3.4. 1. Etape préliminaire.....	19
II.3.4.2. Méthodologie de surface de réponse (MSR)	20
II.3.4.3. Analyse phytochimique de l'huile d'olive enrichie	22
II.3.4.3.1. Extraction des composés phénoliques totaux	22
II.3.4.3.2. Détermination de la teneur en chlorophylle.....	22
II.3.4.3.3. Tests d'activité antioxydante	23

II.3.4.3.3. 1. Test de DPPH.....	23
II.3.4.3.3.2. Test de pouvoir réducteur	24
II.3.4.3.3.3. Test d'ABTS	24
II.3.4.3.3.4. Détermination des acides gras libres.....	25

Résultats et discussions

III Résultats et discussions	26
III.1 Test d'humidité.....	26
II.3 Analyses phytochimiques	26
III.3. Optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons	26
III.3.1. Etude préliminaire	26
III.3.2. Optimisation des conditions d'enrichissement assistée par ultrasons	28
III.3.2.1. Plan composite centré.....	28
III.3.2.2. Validation du modèle.....	30
III.3.2.3. Analyse de la variance ANOVA	31
III.3.2.4. Surfaces de réponse	35
III.3.2.5. Conditions optimales	38
III.4. Activités antioxydantes.....	39
III.5. Indice d'acidité	42

Liste des abréviations

Liste des abréviations

BBBS: Biochimie, Biophysique, Biomathématique, Scientometrie

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

ABTS: 2, 2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

KI: Iodure de Potassium

OFI: *Opuntia ficus indica*

ZI: *Zizyphus lotus*

HE: Huile enrichie

HT: Huile témoin

PT: Polyphénols Totaux

ANOVA: Analyse Of Variance

FC: Folin- ciocalteu

T: Température

D: Diamètre

t : Temps

R : Ratio

Liste des figures

<i>Figure</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
1	Image du fruit de <i>Zizyphus lotus</i>	3
2	La fleur de l'OFI	5
3	Structure générale de l'acide gras	9
4	Principaux composés phénoliques de l'huile d'olive	9
5	Formule développée des tocophérols	10
6	Schéma récapitulatif des différents types d'huile d'olive.	11
7	Principe d'ultrason	15
8	L'extraction assistée par ultrasons	18
9	DPPH• radical reduction	23
10	Protocole pour la détermination du pouvoir réducteur	24
11	Comparaison entre les valeurs prédites des TPC, chlorophylles et les valeurs expérimentales pour jujube (A), (B) et la figue de barbarie (C), (D)	31
12	Surfaces de réponses pour les TPC et la chlorophylle successivement (A) et (B).pour la figue de barbarie	35
13	Les surfaces de réponse des TPC pour jujube	36
14	Les surfaces de réponses de la chlorophylle pour jujube	37

15	Conditions optimales d'enrichissement assisté par ultrasons de l'huile d'olive vierge par le jujube	38
16	Conditions optimales d'enrichissement assisté par ultrasons de l'huile d'olive vierge par la figue de barbarie	39
17	Activité scavenger du radical DPPH de HE et HT dilué dans chloroforme pour les matrices végétales	40
18	Le pourcentage d'inhibition ABTS pour deux HE par deux matrices végétales et HT	41

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Composition biochimique de <i>Zizyphus lotus</i>	4
II	Composition biochimique d' <i>Opuntia ficus indica</i>	6
III	Les bienfaits de ZL et d'OFI pour la santé humaine	7
IV	Composition biochimique de l'huile d'olive.	8
V	Les avantages et inconvénients de la consommation de l'huile d'olive pour la santé humaine	13
VI	Résumé des travaux récents sur l'effet d'enrichissement de l'huile d'olive	16
VII	Enrichissement d'huile d'olive vierge par ZL et OFI	20
VIII	Les conditions d'enrichissement d'huile d'olive par jujube	21
IX	Les conditions d'enrichissement d'huile d'olive par la figue de barbarie	21
X	Etude préliminaire pour jujube et figue	28
XI	Plan d'optimisation de l'enrichissement de l'huile d'olive vierge par le jujube	29
XII	Plan d'optimisation de l'enrichissement de l'huile d'olive vierge par la figue de barbarie	30
XIII	Analyse de la variance (ANOVA) pour l'estimation de l'effet des Variables temps, températures, ratio, diamètres sur l'enrichissement de l'huile d'olive en TPC	32
XIV	Analyse de la variance (ANOVA) pour l'estimation de l'effet des Variables temps, températures, ratio, diamètres sur l'enrichissement de l'huile d'olive en chlorophylles	33
XV	Analyse de la variance (ANOVA) pour l'estimation de l'effet des Variables temps, températures sur l'enrichissement de l'huile d'olive en TPC.	34

Liste des tableaux

<i>XVI</i>	Analyse de la variance (ANOVA) pour l'estimation de l'effet des Variables temps, températures sur l'enrichissement de l'huile d'olive en chlorophylle	34
<i>XVII</i>	Teneur de pouvoir réducteur de l'huile d'olive vierge non enrichie et enrichie par jujube et figue de barbarie	42

INTRODUCTION

Introduction

L'huile d'olive est un produit populaire dans les pays méditerranéens en raison de son goût délicieux, de son arôme agréable et avantages nutritionnels. Ce produit a son propre arôme et goût caractéristiques, qui le différencie des autres produits similaires [66]. Chaque huile d'olive a une composition particulière en acides gras et contient également plusieurs micronutriments et une variété de composants mineurs responsables de ses caractéristiques nutritionnelles.

Les acides gras (comptant pour environ 98% du poids de l'huile d'olive) sont principalement incorporés dans les triglycérides et di-glycérides. Les composants mineurs incluant principalement les pigments, les tocophérols les composés phénoliques et les antioxydants en général jouent un rôle très important dans l'amélioration de la qualité de l'huile d'olive [40].

Les composés phénoliques sont largement recherchés pour leurs propriétés biologiques autant qu'antioxydants, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti carcinogènes. Notant que l'efficacité puissante de ces substances à stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est due principalement à leurs structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyles [12].

L'oxydation des lipides d'huile d'olive est considérée comme l'une des réactions majeures correspondantes à la dégradation de sa qualité organoleptique, non seulement à la formation d'odeurs rances mais également par la diminution de sa qualité nutritionnelle. Cette dernière se manifeste à travers la formation de radicaux libres [38].

En revanche, la quasi-totalité (98%) de ces composés phénoliques sont perdus lors du procédé d'extraction des huiles [30], et l'usage des antioxydants synthétiques l'hydroxyanisolebutylé (BHA) et l'hydroxytoluènebutylé (BHT) présente une sérieuse menace pour la santé (cancérogènes) [54], c'est pourquoi une solution de rechange naturelle loin de synthétique exige le meilleur.

Dans cette présente étude, nous nous intéressons à une optimisation d'enrichissement d'une huile d'olive vierge avec la pulpe de fruit de jujube et les fleurs de la

figue de barbarie, pour les valoriser en tant que sources d'antioxydants naturels, vu leur richesse en composés phénoliques par incorporation direct dans cette huile.

✚ Le premier volet est consacré à la recherche bibliographique, décrivant les informations essentielles sur les deux matrices à étudier et donnant un aperçu des travaux antérieurs sur l'enrichissement de l'huile d'olive vierge.

✚ Le deuxième volet est voué à l'étude expérimentale, traitant l'optimisation de l'enrichissement d'huile d'olive vierge par les substances bioactives de jujube et de la figue de barbarie en étudiant l'effet de quatre paramètres à savoir le temps, la température, le ratio et le diamètre des poudres pour chacune des deux matrices. Pour ce faire, un plan d'expériences a été utilisé par la méthodologie de surfaces de réponses, ayant comme réponses la quantité de phénols totaux (TPC) et de la chlorophylle de l'huile enrichie, pour enfin mesurer son activité antioxydant ainsi que son acidité.

A la lumière des résultats obtenus, différentes investigations et perspectives de recherches ont été proposées

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

***ANTIOXYDANTS
NATURELS***

I. Antioxydants naturels

De nombreuses études ont été faites sur l'utilisation des antioxydants issus des plantes végétales, ces molécules présentes en faible concentration, sont capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules [12]. Certains composés antioxydants, agissent en piégeant les radicaux libres et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables [29]. Ces radicaux libres sont des espèces caractérisées par une instabilité et /où un pouvoir oxydant fort, ils se différencient par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Toutes ces destructions augmentent le risque d'atteinte de certaines maladies, parmi ces dernières, nous citons, l'alzheimer, les maladies cardiovasculaires, déficience cardiaque, vieillissement prématuré de la peau et le cancer [12].

I.1 Jujube « *Zizyphus lotus* »

I.1.1 Description botanique

Le jujubier *Zizyphus lotus* (ZL) est un arbuste épineux et fructueux, appartenant à la famille des rhamnacées communément appelé en Afrique du Nord "Sedra". Il forme des touffes de quelques mètres de diamètre, jusqu'à 2 à 3 mètres de haut. Les fruits sont des drupes à noyaux soudés, de la taille ou d'un poids d'une olive, de l'endocarpe mucilagineux appelé "Nbeg" [6].

I.1.2 Classification botanique

Du point de vue de la classification, il appartient à :

La branche : spermatophytes
La sous-branche : angiosperme
La sous-classe : dicotylédone
L'ordre : célastral
La famille : rhamnacées
Le genre : *Zizyphus*
Espèces : *lotus*



Figure 1: Image du fruit de *Zizyphus lotus* [6].

I.1.3 Composition biochimique

Zizyphus lotus constitué de plusieurs compositions comme le montre le tableau (I).

Tableau I : Composition biochimique des différentes parties de *Zizyphus lotus*.

Fraction	Pulpe et épluchures	Grains	Feuilles	Racines	Références
Teneur en humidité (%)	12.27	6.05	-	9.11	
Les glucides (%)	65.90	40.87	8720 mg/100 g	8.71	
Protéine brute(%)	3.80	19.11	-	3.18	
Gras éprude(%)	1.32	-	-	-	
Crudifibe(%)	8.41	-	-	47.90	
Cendre(%)	3.28	1.05	-	2.69	[26]
Pectine(%)	3.78	-	-	-	
Valeurs calorifiques Kj/g	16.341	-	-	-	
L'acide oléique(%)	88.12	61.93	-	-	
Acide elaidique (%)	7.88	-	-	-	
acide linoléique (%)	-	-	9.15	-	
saponines (mg/100 g)	-	-	340	-	

I.1.4 Son utilisation

Les différentes espèces du jujube (*Zizyphus lotus*) sont largement utilisées dans le traitement de certaines maladies comme les troubles digestifs, la faiblesse, les affections du foie, l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie [1]. Les recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques issues de cette plante ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne. Parmi ces effets on souligne les plus importants : activités anti-inflammatoires, activités anti-fongiques, activités anti-ulcérogéniques et antioxydantes.

I.1.5. Composés phénoliques et propriétés

La pulpe de ZL est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins) [26], tel que les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques son rôle biologique dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes [31]. et les flavonoïdes sont considérées comme des pigments quasiment universels des

végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles [26].

I.2. Figue de barbarie « *Opuntia ficus indica* »

I.2.1 Description botanique

Il s'agit d'une plante arborescente *Opuntia ficus indica* (OFI) qui peut atteindre de 3 à 5 m de haut. Les feuilles présentent une forme conique et ont seulement quelques millimètres de longueur. À la base des feuilles se trouvent des bourgeons axillaires typiques des cactaceae qui donnent une épine blanche, robuste, des bouquets ou glochides de minuscules et fines épines. La fleur a des sépales peu visibles, des pétales jaunes ou orangés bien visibles, des étamines nombreuses [27].

I.2.2 Classification botanique

Sa classification botanique a été démontrée par [11], elle est rappelée ci-dessous :

La branche : Phanérogames
La sous-branche : Magnoliophyta
La sous-classe : Caryophyllidae
L'ordre : Opuntiales, Caryophyllales
La famille : Cactaceae
Le genre : *Opuntia*
Espèces : *Opuntia ficus indica* (L.)



Figure 2 : La fleur de l'OFI.

I.2.3 Composition biochimique

Opuntia ficus indica contient plusieurs composantes comme le montre le tableau (II).

Tableau II : Composition biochimique d'*Opuntia ficus indica*

Fraction	Pulpe	Pelure	Références
Teneur en humidité (%)	94.4	90.33	[24]
Protéine (%)	0.21-1.06	-	
Lipide (%)	0.7	1.06	
Fibre (%)	0.02-3.15	40.8	[62]
Carbohydrates (%)	12-17	-	
Vitamine K1 (mg)	53.2	109	
Vitamine C (mg)	1-48	59.82	
Sodium (mg)	1.09	1.1	
Magnesium (mg)	18.8	15.2	
Potassium (mg)	199	98	
Calcium (mg)	12.4	15.7	

I.2.4 Son utilisation

De nombreuses études ont été réalisées pour trouver les domaines d'utilisation de la figue de barbarie, traditionnellement utilisé pour l'alimentation humaine et animale et connue comme plante médicinale en raison de sa composition riche en polyphénols, vitamines, acides gras polyinsaturés et acides aminés. Cela fait de la figue de barbarie une culture prometteuse pour les applications alimentaires commerciales [62].

I.2.5. Composés phénoliques et propriétés

Les fleurs d'OFI est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes), Les flavonoïdes ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques plus de 6 000 composés chez les plantes. Ils sont responsables des colorations jaune, orange et rouge des végétaux [11].

I.3 Les bienfaits de ZL et d'OFI pour la santé

Plusieurs recherches ont été effectuées sur l'effet bénéfique de quelques plantes végétales, parmi ces matrices on a cité le ZL et OFI et leurs bienfaits sur la santé humaine (tableau III)

Tableau III : Les bienfaits de ZL et d'OFI pour la santé humaine

ZL	Références	OFI	Références
Les fruits de ZL utilisée pour le Traitement de la lithiase urinaire	[37]	Diminution du stress oxydatif corporel par les fruits chez l'homme.	[43]
Les fruits ont une source précieuse de nutriments en tant qu'antioxydant, antimicrobien et antifongique, immunosuppresseur, aussi des composés anti-ulcérogènes	[26]	La poire de cactus réduit le taux de cholestérol dans le sang humain.	[24]
Les feuilles ont un effet hypoglycémique et une bonne activité antiseptique	[26]	Fruits, cladodes ou infusions de fleurs ont été utilisé pour traiter l'ulcère, l'allergie, fatigue et rhumatisme. Les tiges ont été utilisées pour traiter le diabète chez humaine.	[24]
Les racines et les tiges ont une activité antispasmodique et un Effet anti-ulcérinique	[36]	Les fruits ont des propriétés anti-oxydantes.	[24]
Les saponosides et les oligomères flavonoïques totaux présent dans le fruit ont une activité anti-inflammatoire.	[26]	Effets protecteurs cardiovasculaires par les fruits chez l'homme	[43]

GENERALITES SUR
L'HUILE
D'OLIVE

I.4 Définition d'huile d'olive

L'huile d'olive est l'une des plus anciennes huiles végétales connues, principalement Produites dans les pays riverains de la mer Méditerranée. C'est un jus de fruit naturel [33]. L'huile d'olive est une des rares huiles pouvant être consommée dans son état nature [33]. Sa composition peut nous renseigner sur les mécanismes impliquant son fonctionnement, sa qualité organoleptique et nutritionnelle.

I.5 Composition biochimique [63]

Les huiles d'olive vierges jouent un rôle important dans l'industrie agroalimentaire et sont importantes en nutrition humaine pour plusieurs raisons. En premier lieu car les lipides sont la principale source d'énergie pour le corps humain en comparaison de leur masse [63].

Tableau IV: Composition biochimique de l'huile d'olive.

Composition	Définition	Références
Acides gras	Ce sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe, saturés ou non saturés.	[20]
Tocophérols	Ce sont des antioxydants qui assurent une protection des acides gras.	[20]
Composés phénoliques	Caractérisés par la présence d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones dans leur structure, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH).	[12]
Composés aromatiques	Sont des molécules de faible poids moléculaire possédant une volatilité à température ambiante.	[63]

I.5.1 Les acides gras

Les acides gras appartiennent à la famille des lipides. Ces lipides contiennent une fraction principale dite : saponifiable (phospholipides, triglycérides) et une fraction mineure insaponifiable (stérols, vitamines liposolubles, caroténoïdes). Les lipides sont caractérisés par leurs insolubilités dans l'eau et la solubilité dans les solvants organiques [63].

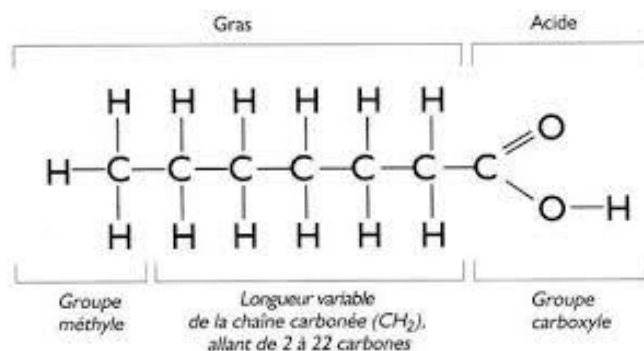


Figure 3 : Structure générale de l'acide gras

I.5.2 Les composés phénoliques

L'une des caractéristiques les plus importantes de l'huile d'olive est sa richesse en composés phénoliques. Les principaux composés phénoliques qui existent dans le fruit de l'*Olea europaea* sont l'oleuropéine, la dimethyloleuropéine, ligstroside et la verbascoside. Le tyrosol et l'hydroxytyrosol sont directement dérivés de l'hydrolyse de l'oleuropéine et du ligstroside (Figure 4) [55].

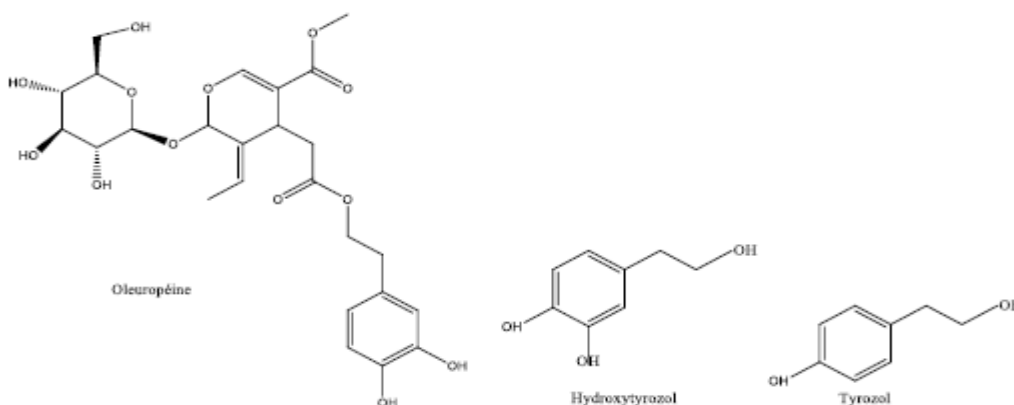


Figure 4: Principaux composés phénoliques de l'huile d'olive.

I.5.3 Les tocophérols

Les tocophérols sont reconnus pour leur double action bénéfique. En effet, ils ont tout d'abord l'atout d'être une vitamine (vitamine E) et ils ont également une forte activité anti oxygène. La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable puisqu'elle a été reportée dans une gamme allant de quelques mg à 450 mg/kg d'huile. L'alpha-tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols [63].

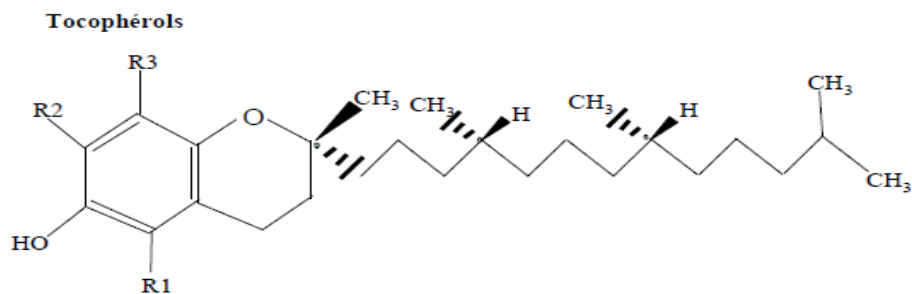


Figure 5 : Formule développée des tocophérols

I.5.4 Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 300 Da) possédant une volatilité à température ambiante [63]. On estime que plus de 70 composés contribuent aux parfums et au goût de l'huile d'olive [10], cette odeur est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez. Ces composés volatiles sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras [63].

I.5.5 Les pigments

La couleur de l'huile d'olive est essentiellement liée à la présence des chlorophylles, de la phéophytine ainsi qu'aux caroténoïdes, leur contenu dans l'huile d'olive s'étend entre 1 et 20 ppm, mais change selon la variété, la température et la durée du traitement thermique de l'olive [10].

I.6 Les différents types de l'huile d'olive [61]

Les huiles d'olive sont classées comme le montre le schéma suivant :

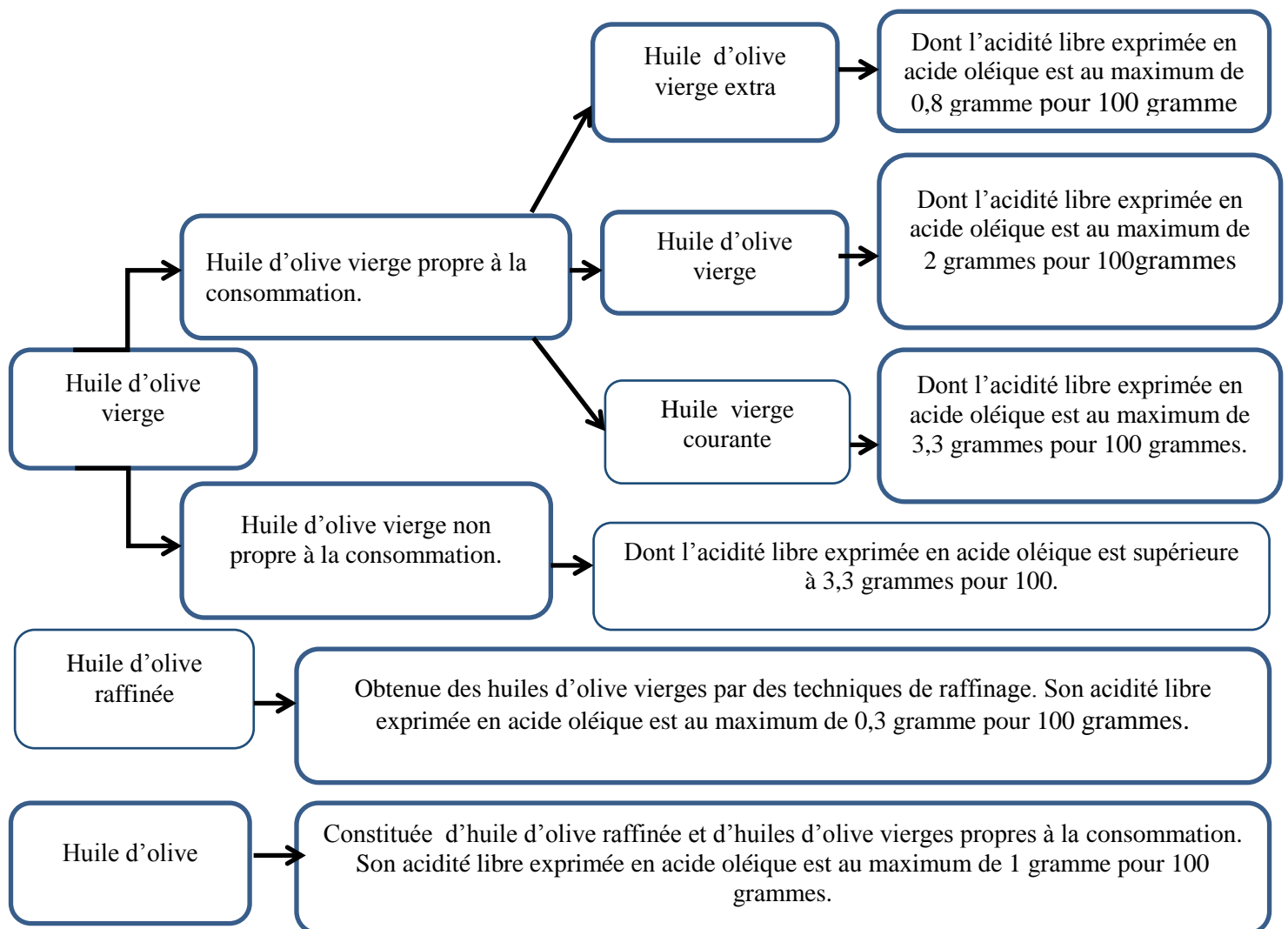


Figure 6 : Schéma récapitulatif des différents types d'huile d'olive.

I.7 Procéder d'extraction de l'huile d'olive

La plupart des moulins font passer les olives sur une surface vibrante avec l'aide d'un ventilateur qui enlève les feuilles et autres débris [64]. Un broyage est réalisée à l'aide d'un broyeur à marteau, Dans le cas des huileries disposant d'équipements de centrifugation, l'opération de malaxage s'avère nécessaire et doit être réalisée pendant 60 minutes au minimum. Pour l'unité équipée d'une chaîne en continue avec centrifugation, le rendement est meilleur et le temps de séparation est réduit. La centrifugeuse permet de séparer l'huile et le grignon riche en eau de végétation des olives.

Le processus traditionnel d'extraction de l'huile est discontinu. Cette unité disposant de centrifugeuse horizontale, le grignon se trouve humidifié. Pour le valoriser, il faut abaisser son humidité jusqu'à 50% d'eau pour ne pas contaminer l'huile [18]. L'huile doit être stockée en vrac pendant 1 à 3 mois pour régler toute autre particules restantes et eau de fruit. "Nouveau huile", qui est mis en bouteille, doit être consommé dans environ 6 semaines pour éviter le changement de la saveur dans la bouteille [64].

I.8 Avantages et inconvénients de la consommation d'huile d'olive vierge sur la santé humaine

Il existe plusieurs avantages et inconvénients concernant la consommation d'huile d'olive vierge sur la santé humaine, quelques avantages et inconvénients sont illustrés dans le tableau (V)

Tableau V: Les avantages et inconvénients de la consommation de l'huile d'olive pour la santé humaine

Les avantages	Références	Les inconvénients	Références
Diminution des maladies cardiovasculaires.	[53]	La présence de 77% d'acides gras oléiques, favorisent la coagulation du sang.	[57]
Protection des particules de lipoprotéines de basse densité (LDL) contre le dommage oxydatifs	[57]	Réagir facilement avec les radicaux libres (oxydation) car l'huile d'olive est très sensible à la chaleur, à la lumière et à l'air.	[57]
Protège le corps contre le cancer.	[56]	L'huile d'olive vierge à haute teneur en phénols a un goût piquant.	[57]
L'huile d'olive extra vierge peut protéger le foie du stress oxydatif.	[53]	L'huile d'olive vierge Fait grossir, après tout il reste encore un gras et porte 9 Calories par gramme.	[57]
Caractérisé par ces activités anti - microbiennes, anti-inflammatoires, anti-oxydantes	[56]		

***ENRICHISSEME DE
L'HUILE D'OLIVE***

I.9 Généralités sur l'enrichissement

L'huile d'olive est considérée la meilleure de toutes les huiles comestibles par rapport à ses caractéristiques organoleptiques et sa composition chimique [25]. En effet, sa faible résistance à la détérioration oxydative est due à l'élimination d'une grande quantité de composés phénoliques (98%) durant le processus d'extraction [30]. D'où l'intérêt de faire un enrichissement, ce dernier est réalisé généralement par des méthodes dites traditionnelles (conventionnelle, macération) et plus récemment par des méthodes innovantes, à savoir, les ultrasons qui ne consomment pas beaucoup de temps et d'énergie [2].

I.9.1 Procèdes d'enrichissement

Il existe différentes procédures d'enrichissement d'huile d'olive et on peut distinguer :

I.9.1.1 Infusion: connue sous le nom de macération et d'extraction solide- liquide, et qui consiste à faire dissoudre la matière végétale solide dans la phase huileuse [16].

I.9.1.2 Enrichissement et extraction : Ce type de procédure nécessite la dissolution de l'extrait dans un solvant généralement l'éthanol avant son incorporation dans l'huile.

I.9.1.3 Co-traitement: Consiste à l'addition d'herbes ou d'autres matières végétales à la pâte d'olive avant l'étape de malaxage, et cela peut être favorisé par l'utilisation des ultrasons avant le malaxage de la pâte d'olive [19].

I.9.1.4 Enrichissement assisté par ultrasons : Des études utilisent l'huile d'olive comme un solvant d'extraction des substances d'intérêt à partir de différents matrices végétales, cette extraction est favorisée et accélérée par l'application des ultrasons [3].

I.9.1.4.1 Principe d'extraction aux ultrasons

Les ultrasons sont des ondes mécaniques qui sont capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz).

L'utilisation des ultrasons pour l'extraction sur les matrices végétales ou alimentaires est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction et de minimiser le temps. Ces améliorations peuvent être attribuées à

l'amélioration de la diffusion des substances dissoutes de l'intérieur de la cellule vers le milieu d'extraction [2].

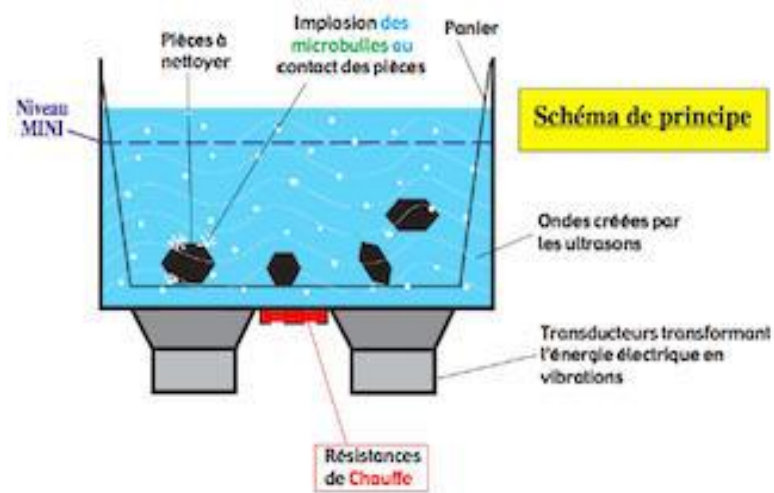


Figure 7 : Principe d'ultrason

I.9.2 Différentes techniques d'enrichissement d'huile d'olive

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

Tableau VI : Différents travaux d'enrichissement de l'huile d'olive

Matrice	Analyte	Méthodes	Référence
Plantes de basilique	Composés phénoliques	Macération assistée par ultrasons R=150 g/ 1 L d'huile. T=25°C t=15min	[63]
Citron	Composés phénoliques	Macération R=Le matériel végétal /d'huile [un taux de 5% (p / p)]. T= ambiante t=2 semaines.	[9]
Feuille d'olivier	Composés phénoliques	Macération R= 200 mg / 1kg	[59]
Tomate	Lycopène	Macération R=0.5g/ 100ml d'huile T=ambiante. t=37 semaines.	[49]
Feuilles d'olivier	Composés phénoliques	Macération. R=400 mg kg-1 T=ambiante t= 2h	[65]
Tomate	Caroténoïdes	Assistée par bain à ultrasons. R=5% (p/v). T=20°C t=50 min	[50]
Tomate	Caroténoïdes	Assistée par micro-ondes R=5g/100ml d'huile T=20°C t=5 min	[50]
Tomate	Caroténoïdes	Macération R=5g /100ml d'huile T=20°C t=7 jours	

ETUDE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

II. Matériel et méthodes

La partie matérielle et méthodes a été effectuée au sein de laboratoire BBBS dans le but d'optimiser l'enrichissement de l'huile d'olive vierge par des antioxydants naturels.

II.1. Produits chimiques et réactifs

Méthanol, hexane, FC, carbonate de Sodium, cyclohexane, éthanol, DPPH, ABTS, persulfate, cyclohexanes, chloroforme, tampon phosphate, ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$, acide trichloracétique, chlorure ferrique ($FeCl_3$), éther éthylique, phénolphtaléine, KOH, acide acétique, KI, amidon, thiosulfate de sodium.

II.2. Matériel végétal

Les matières végétales utilisées dans notre étude sont : les figues de barbarie et les jujubes (à incorporer dans la matrice huileuse) et l'huile d'olive vierge (matrice d'enrichissement).

- ❖ **Jujube** : la pulpe des fruits sont récoltés de Biskra durant le mois de septembre 2018, présentaient une couleur marron foncée en pleine maturité.
- ❖ **Figue de barbarie** : les fleurs sont récoltés de Souq-Ahras durant le mois d'août 2018, présentaient une couleur jaunâtre en pleine maturité.

Le choix de ces deux matrices revient à leurs richesses en substances secondaires (antioxydantes).

- ❖ **Huile végétale** : l'huile d'olive vierge utilisée dans notre travail est commercialisée par l'huilerie IFRI, Ighzer Amokrane d'Ouzallaguen. C'est un jus obtenu par des moyens exclusivement mécaniques par une extraction à deux phases (pression) à partir du fruit de l'olivier (*Olea europaea*L).

II.3. Préparation du matériel végétal

II.3.1. Extraction

a- Séchage

Les deux matrices végétales (OFI, ZL) ont été réalisées séchées à l'étuve ventilée à 40°C jusqu'à obtention d'un matériel sec.

b- Broyage et tamisage

Les fruits de jujube ont été d'abord dénoyautés, ensuite la partie comestible a été séchée, par contre, les fleurs de figue de barbarie ont été enlevées des épines juste après récolte puis préparées au séchage. Les deux matrices végétales séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisées en vue d'obtention d'une poudre dont le diamètre varie entre 63µm et 250µm. Les poudres obtenues ont été conservées à une température ambiante et à l'abri de la lumière et d'humidité dans un flacon en verre ombrés.

II.3.2. Extraction par ultrasons

L'extraction des composés phénoliques à partir des deux matrices végétales a été faite en utilisant les ultrasons, extraction solide-liquide à l'aide d'un solvant polaire, selon la méthode décrite par [31]. Brièvement, 1g de poudre a été incorporé dans 67 ml d'éthanol à 50% durant 25 min à 63°C dans un bain à ultrasons. Le mélange a été filtré avec un papier filtre.



Figure 8 : L'extraction assistée par ultrasons

II.3.3. Analyse phytochimique

II.3.3. 1. Détermination du taux d'humidité

Afin de déterminer la teneur en eau, un test d'humidité a été réalisé suivant la protocole de [60]. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'humidité selon la formule suivante :

Où H% = Taux d'humidité en pourcentage
PF : Poids d'échantillon avant séchage
PS : Poids d'échantillon après séchage

$$H\% = [(PF-PS)/PF] \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

II.3.3. 1. Dosage des composés phénolique totaux (TPC)**✚ Principe**

L'estimation quantitative des polyphénols est réalisée à l'aide du réactif folin-ciocalteu, mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀), il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux.

✚ Mode opératoire

La détermination de la teneur en polyphénols totaux est réalisée selon le protocole décrit par [31]. Dans des tubes à essai, nous avons mélangé 125 µl d'extrait (*Opuntia ficus indica* / *Zizyphus lotus*) ont été mélangés avec 125µl du réactif FC, ensuite dilués dans 500 µl d'eau distillée. Après 6 min à l'obscurité, on ajoute 1250µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃ à 7%). Après 90 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 760 nm contre un témoin où l'extrait est remplacé par le même volume du solvant d'extraction utilisé. Les concentrations sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par g de matières sèches.

II.3.4. Optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons

Le processus d'enrichissement d'huile d'olive vierge par les poudres issus des deux matrices végétales pourrait être influencé par les différents facteurs. Pour cela, nous avons mené une étude sur l'effet de certains paramètres à savoir le temps, la température, le diamètre et le ratio sur la teneur en TPC et chlorophylles des huiles enrichies en déterminant les niveaux (bas et haut) de chaque facteur retenu par le plan d'expérience (JMP®). La deuxième approche consiste au choix du plan d'expérience adéquat à l'étude autrement dit la méthode d'expérimentation choisie doit faciliter l'interprétation des résultats. Elle doit également minimiser le nombre des essais sans toutefois altérer la qualité.

II.3.4. 1. Etape préliminaire

Dans le précédent paragraphe nous avons vu que cette étude pourra être influencée par plusieurs facteurs d'où l'intérêt de l'étude préliminaire effectuée avant optimisation, qui va

nous limiter les intervalles des facteurs à utiliser dans le plan d'expériences. Une quantité de poudre de l'une des matrices végétales utilisée a été ajoutée à l'huile d'olive comme solvant dans le bain à ultrasons pendant différents temps (5, 10, 15, 20, 30 et 40 min), différentes températures (20, 25, 30, 35, 40 et 45 °C), différents diamètres (63, 156.5 et 250 μm) et a différents ratios (1/20, 1/30, 1/40 et 1/50 g/ml). Le mélange a été ensuite centrifugé à 3500 tr/min pendant 10 min. Finalement, l'huile est ainsi filtrée est conservé à 6°C Jusqu'à son analyse.

Tableaux VII : Enrichissement d'huile d'olive vierge par ZL et OFI

Temps d'extraction (min)	Diamètres de la particule (μm)	Température d'extraction ($^{\circ}\text{C}$)	Ratio (mL/g)
t1	D1	T1	R1
t2	D2	T2	R2
t3	D3	T3	R3
t4		T4	R4
t5		T5	
t6		T6	

II.3.4.2. Méthodologie de surface de réponse (MSR)

Les plans d'expériences consistent à sélectionner et ordonner les essais. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, y , et des variables, x_i . Afin d'identifier, à moindres coûts, les effets des paramètres sur la réponse du produit [28]. Son principe consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou plusieurs facteurs à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés. En détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse [23].

Les plans composites prennent facilement la suite d'un premier plan factoriel dont les résultats sont insuffisamment expliqués par un modèle du premier degré. Il suffit d'effectuer les expériences correspondant aux points en étoile et de faire les calculs sur l'ensemble de toutes les expériences. Les plans composites sont parfaitement adaptés à une acquisition progressive des résultats [28].

Notre étude est consacrée à modéliser mathématiquement les réponses choisies pour les quatre facteurs étudiés dans les analyses préliminaires.

Dans le jujube 27 essais ont été effectués pour 4 facteurs étudiés, 11 essais effectués pour la figue de barbarie on tenant compte de deux facteurs.

Tableau VIII : Les conditions d'enrichissement d'huile d'olive par jujube.

Essai	Temps d'extraction (min)	Extraction Température (°C)	Solvant à solid ratio (mL/g)	X4-Taille des particules (µm)
1	15	35	20	63
2	15	25	40	63
3	10	35	40	63
4	20	35	40	63
5	15	45	40	63
6	15	35	60	63
7	15	25	20	156,5
8	10	35	20	156,5
9	20	35	20	156,5
10	15	45	20	156,5
11	10	25	40	156,5
12	20	25	40	156,5
13	15	35	40	156,5
14	15	35	40	156,5
15	15	35	40	156,5
16	10	45	40	156,5
17	20	45	40	156,5
18	15	25	60	156,5
19	10	35	60	156,5
20	20	35	60	156,5
21	15	45	60	156,5
22	15	35	20	250
23	15	25	40	250
24	10	35	40	250
25	20	35	40	250
26	15	45	40	250
27	15	35	60	250

Tableau IX : Les conditions d'enrichissement d'huile d'olive par figue de barbarie.

Essai	X1-Température (°C)	X2-temps (min)
1	25	20
2	35	20
3	45	20
4	25	30
5	35	30
6	35	30
7	35	30
8	45	30
9	25	40
10	35	40
11	45	40

II.3.4.3. Analyse phytochimique de l'huile d'olive enrichie

II.3.4.3.1. Extraction des composés phénoliques totaux

✚ Principe

L'extraction des composés phénoliques contenus dans les huiles étudiées (HT et HE) a été réalisée avec deux solvants, hexane et méthanol. D'après la littérature la solubilité des composés phénoliques dépend de la polarité des solvants utilisés, c'est pour cela on a opté pour le méthanol étant plus polaire par rapport à l'éthanol, acétone etc, qui présente une faible affinité vis-à-vis de ces substances [51]. L'hexane permet de séparer les deux phases non miscibles, après avoir libéré les phénols, tel que la phase hexanique renferme tout ce qui est lipidique, et la phase méthanolique contient les composés phénoliques.

✚ Mode opératoire

Les polyphénols sont extraits à partir des huiles végétales étudiées (HT et HE) enrichies par les deux matrices végétales suivant le protocole de [35]. Une prise d'essai de 2.5 g d'huile (HE et HT) est additionnée à 5 ml d'hexane (99%) et 5 ml du méthanol/eau (6/4, v/v), puis agitée au vortex pendant 2 min, ensuite le mélange est centrifugé à 3200 tr/min pendant 5 min. La fraction polaire (phase méthanolique) est récupérée, tandis que la phase apolaire (hexanique) subit un épuisement (une autre extraction). Les deux fractions obtenues sont mélangées et conservées à 4°C et à l'abri de la lumière.

II.3.4.3.2. Détermination de la teneur en chlorophylle

Selon [47], le protocole du dosage des caroténoïdes et de la Chlorophylle est comme suit : Une prise d'essai de 3 g d'huile est ajustée jusqu'à 10 ml de Cyclohexane dans une fiole jaugée. Les absorbances maximales à 670 nm et à 470 nm nous renseignent sur la fraction chlorophyllienne et les caroténoïdes respectivement. La valeur du coefficient d'extinction spécifique utilisée :

- $E_{670} = 613$ pour la Phéophytine (composant majeur des chlorophylles).
- $E_{470} = 2000$ pour la Lutéine (composant majeur des caroténoïdes).

$$\text{Chlorophylle} = A_{670} \cdot 10^{-6} / 613 \cdot 100 \cdot T \quad (\text{Eq.2})$$

$$\text{Caroténoïdes} = A_{470} \cdot 10^{-6} / 2000 \cdot 100 \cdot T \quad (\text{Eq.3})$$

Où A : absorbance. T : trajet optique (épaisseur de la cuve 1 cm)

II.3.4.3.3. Tests d'activité antioxydante

II.3.4.3.3. 1. Test de DPPH

✚ Principe

L'activité du piégeage des radicaux libres, utilise la solution de radicale libre 2,2-diphényl -1-picrylhydrazyl (DPPH), non biologique comme réactif. L'aptitude des extraits et de certains composés purs à donner un hydrogène ou un électron est mesurée par la décoloration de la solution méthanolique violette de DPPH. Ce radical libre stable possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle. La capacité de piégeage de radical est évaluée généralement dans un milieu organique par la mesure de diminution de l'absorbance à 515 -528 nm jusqu'à ce que l'absorbance reste constante. Dans sa forme radicalaire le DPPH absorbe a 515 nm, mais part une réduction avec un antioxydant (AH) ou des espèces radicalaire (R•), l'absorbance disparaît [15].

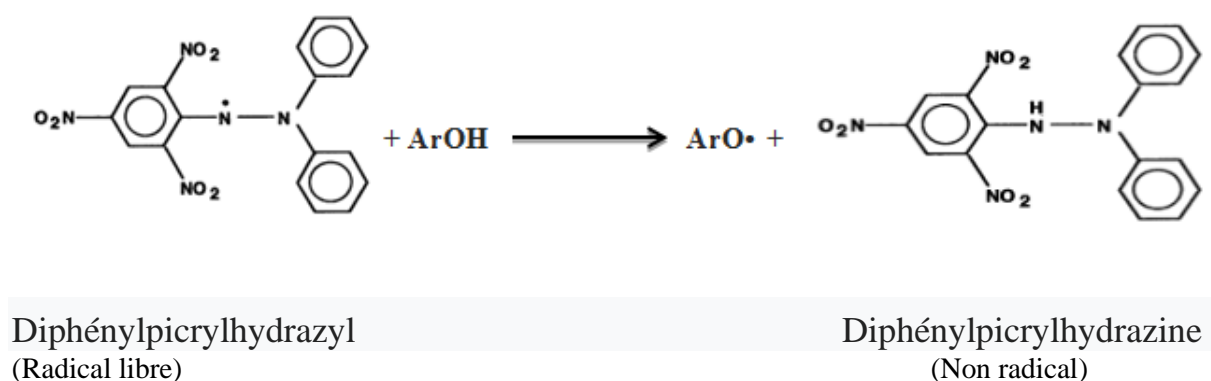
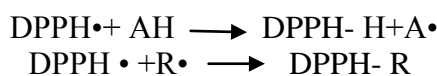


Figure 09: DPPH• radical reduction [48].



Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage d'inhibition des radicaux libre en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs témoin} - \text{Abs d'échantillon}) / \text{Abs témoin}$$

✚ Mode opératoire

Le test DPPH est réalisé selon la méthode décrite par [59], une solution d'huile dans du chloroforme (10% p / v) a été préparé, une quantité (1 ml) a été ajouté à 4ml de la solution de DPPH préparé dans du chloroforme (0.0023g/100ml), bien mélangé, et l'absorbance a été mesurée après 30 min. L'absorbance de la solution de DPPH dans le chloroforme (1ml

chloroforme / 4ml DPPH) utilisé comme témoin a également été mesuré en parallèle. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition.

II.3.4.3.3.2. Test de pouvoir réducteur

La présence des agents réducteur dans les HE et HT induit la réduction de fer ferrique Fe (III) en Fe (II), l'aptitude des phénols totaux a réduire le fer ferrique est évalué par la méthode de [52]. Le protocole de détermination du pouvoir réducteur est illustré dans la figure suivante :

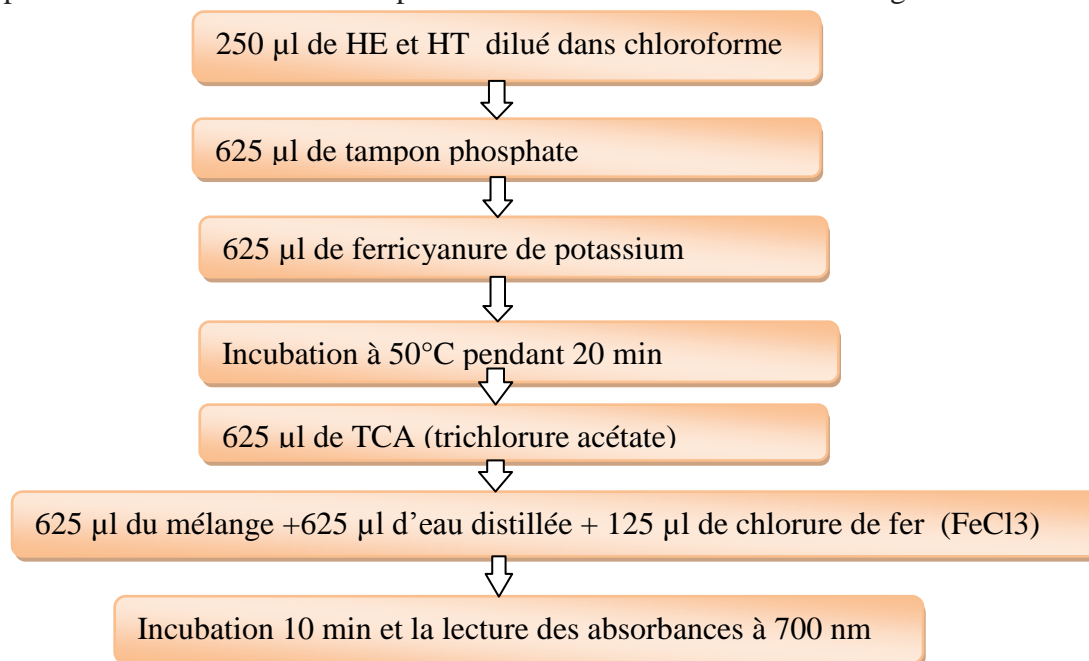


Figure 10 : Protocole pour la détermination du pouvoir réducteur.

II.3.4.3.3.3. Test d'ABTS

Principe

Cette méthode repose sur la capacité des antioxydants à réduire (ABTS) radical, ABTS a été dissous dans de l'eau en faisant réagir la solution mère ABTS avec 3.3 mg de poudre persulfate de potassium. Le mélange a été stocké dans le noir pendant 12–16 h avant utilisation. La solution stock était diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de $0,70 \pm 0,02$ à 734 nm à 25 ° C [17].

✚ Mode opératoire

Suivant le protocole de [21]. On prend 125 µl de HE et HT dilués dans chloroforme (10g / 100 ml), au quels o, ajoute 480 µl de solution ABTS. Après 6 min d'incubation à 30 °C, l'absorbance est lue à 734 nm.

II.3.4.3.3.4. Détermination des acides gras libres

C'est une neutralisation des acides gras libre (AGL) par une solution de KOH (0.1N) en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré.

✚ Mode opératoire

Pour 5g de HE et HT dans une fiole 250 ml, on ajoute 25 ml (éther éthylique /éthanol) et place le mélange sous agitation pour bien solubiliser le HE et HT dans le solvant, puis on ajoute quelque gouttes de phénol phtaléine et on titre avec KOH (0.1N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante [8].

$$\text{Acidité \%} = (V-V_0) (N \times \text{Meq}/10.m)$$

Où :

Meq : masse équivalente d'acide oléique = 282meq

N : normalité de KOH à 0.1N.

m : poids de la prise d'essai.

V : volume de KOH utilisé pour le titrage de l'échantillon.

V0 : volume en ml de KOH nécessaire au titrage du blanc.

***RESULTATS ET
DISCUSSIONS***

III. Résultats et discussions

III.1. Test d'humidité

Le taux d'humidité joue un rôle important dans la conservation de la poudre des fruits et des fleurs séchées. De plus, lorsqu'on fait un enrichissement d'une matrice huileuse par une matrice végétale, il est préférable d'éliminer la quantité d'eau qui se trouve dans la matrice végétale pour éviter toute hydrolyse possible des triglycérides ce qui pourrait par conséquent libérer des acides gras libre plus oxydables. Ceci peut favoriser la croissance et le développement des micro-organismes et des moisissures qui dégradent le matériel végétal au cours de la conservation. La poudre de la fleur de figes de barbarie séchée a présenté un taux d'humidité de 5%, par contre il est de 10 % pour la poudre de jujube séchée.

III.2. Analyses phytochimiques

La détermination des teneurs en polyphénols totaux est une étape importante dans l'évaluation de la valeur nutritionnelle d'un aliment qu'il soit fruit ou légume [7]. Les teneurs en composés phénoliques de la poudre étudiées sont représentées dans le Tableau X. Les résultats ont montrés une quantité de TPC égale à 5173.73 ± 0.02 (mg EGA/100g MS) pour ZL et une teneur de 4677.11 ± 0.0302 (mg EGA/100g MS) pour OFI. Nos résultats pour l'extraction des TPC à partir de jujube sont approximativement proche de ceux trouvés par [31] à une teneur de $40.72 \mu\text{g EGA}/100\text{g MS}$.

III.3. Optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons

L'utilisation des ultrasons dans l'enrichissement des matrices végétales ou alimentaires est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction. L'enrichissement de l'huile d'olive par jujube et la fige de barbarie présente un intérêt vu leur richesse en antioxydants et pigments naturels [22].

III.3.1. Etude préliminaire

Avant d'avoir recours à un plan d'expérience, une étude préliminaire est jugée importante en vue de déterminer les bornes des différents paramètres à savoir le temps, température, ratio et diamètre des particules à impliquer au plan d'optimisation.

Ces derniers influencent sur la libération des substances bioactives contenues dans les poudres séchées à partir des deux plantes (jujube et figue de barbarie) vers l'huile d'olive vierge.

- **Effet du diamètre des particules**

Le choix du diamètre des particules à utiliser est sélectionné en fixant le temps, température et le ratio par 15min, 35°C et 1/20 g/ml respectivement et en variant celui-ci (63,156.5 et 250µm). Les résultats sont montrés dans le tableau (XI), le meilleur rendement en TPC a été obtenu à 63µm (1.15 ± 0.59 mg GAE/kg d'huile) pour l'huile enrichie par la poudre de jujube. Tandis que pour l'huile enrichie par la poudre de figue de barbarie, l'effet du diamètre des particules n'a pas été étudié et a été fixé à 63µm pour des raisons de sécurité alimentaire (épines). Selon [5] plus la poudre est très fine, meilleure sera l'extraction car elle augmente la surface de contact entre le solvant et l'échantillon.

- **Effet du temps**

Le temps d'extraction est un autre paramètre important qui influence l'extraction des composés phénoliques et des pigments [13]. De ce fait une série d'essais (5, 10, 15, 20, 30 et 40min) a été réalisé, et les autres paramètres ont été fixés à 35°C, 1/20 g/ml, 63µm pour le jujube et 250µm pour la figue de barbarie. Les résultats obtenus sont résumés dans la Figure 16 qui ont montrés une meilleure teneur en TPC de 0.43 ± 0.11 (mg GAE/kg d'huile) et de 0.42 ± 0.27 (mg GAE/kg d'huile) pour ZL, OFI respectivement dans une durée de 15min pour les deux matrices.

- **Effet de température**

Une série d'essais (20, 25, 30, 35, 40 et 45°C) a été effectué en fixant les autres paramètres à 63°C, 15min et 1/20 g/ml pour les deux matrices. Les résultats obtenus ont été montrés dans le tableau (XI). D'après ce dernier, le meilleur résultat obtenu en termes de TPC est de 1.42 ± 0.31 (mg GAE/kg d'huile) à 35°C, de 2.67 ± 0.18 (mg GAE/kg d'huile) à 25°C pour l'HE par ZL et OFI respectivement. En travaillant sur l'huile d'olive vierge, la température ne doit pas être inférieure à 10°C, sinon une partie de cette huile va figer ce qui altérerait l'homogénéité du mélange [63]. De plus, la qualité de l'huile d'olive enrichie par les composés phénoliques issus des deux plantes est conditionnée par la température en vue de sa sensibilité vis à vis de la composition après traitement thermiques surtout à haute température. Il s'agit de molécules

thermosensibles connues pour dégradation à partir d'une température supérieure à 50°C [39]. Pour cela et pour ne pas fausser les résultats du plan d'expériences, 40°C a été choisie comme meilleure borne.

- **Effet du ratio**

Après avoir fixé les autres paramètres et en variant celui-ci entre 1/20, 1/30 et 1/50 (g/ml). Les résultats ont été montrés dans le tableau XI. La meilleure teneur en TPC est obtenue à 1/20 (g/ml) avec 1.66 ± 0.26 (mg GAE/kg d'huile). Ce facteur n'a pas marqué d'effet significatif pour la figue de barbarie enrichie dans l'huile d'olive. De ce fait, le ratio est fixé à 1g/20ml pour les matrices enrichies [3]. Ont montrés que la charge est bornée entre 4% et 25% dans l'optique de ne pas avoir le colmatage qui gêne homogénéisation de l'huile, ni de perte d'huile par saturation.

Tableau X : Etude préliminaire pour jujube et figue

TPC (mg GAE/kg d'huile)	Effet du diamètre des particules	Effet du temps	Effet du ratio	Effet de la température
Jujube	63µm : 1.15 ± 0.59^a	5min : 0.30 ± 0.26^c	1/20 : 1.66 ± 0.26^a	20°C : 0.69 ± 0.34^d
	156.5µm : 0.85 ± 0.34^b	10min : 0.41 ± 0.10^a	1/30 : 0.7 ± 0.008^c	25°C : 0.57 ± 0.09^{de}
	250µm : 0.66 ± 0.23^c	15min : 0.43 ± 0.11^a	1/50 : 1.53 ± 0.05^b	30°C : 1.11 ± 0.45^b
		20min : 0.38 ± 0.02^b		35°C : 1.42 ± 0.31^a
		30min : 0.27 ± 0.14^d		40°C : 0.40 ± 0.008^e
		40min : 0.30 ± 0.06^c		45°C : 0.90 ± 0.34^c
Figue de barbarie	Fixé à 63µm	5min : 0.24 ± 0.01^d	1/20 : 1.28 ± 0.03^a	20°C : 1.56 ± 0.11^d
		10min : 0.24 ± 0.02^d	1/30 : 1.27 ± 0.08^a	25°C : 2.67 ± 0.18^a
		15min : 0.42 ± 0.27^a	1/50 : 1.30 ± 0.15^a	30°C : 1.74 ± 0.09^{cd}
		20min : 0.26 ± 0.01^c		35°C : 1.82 ± 0.05^c
		30min : 0.32 ± 0.01^b		40°C : 2.11 ± 0.52^b
		40min : 0.26 ± 0.03^c		45°C : 1.79 ± 0.04^{cd}

III.3.2. Optimisation des conditions d'enrichissement assistée par ultrasons

III.3.2.1. Plan composite centré

L'objectif d'utilisation du modèle composite centré est d'optimiser le procédé d'enrichissement assisté par ultrasons. 27 et 11 essais ont été réalisés pour jujube et la figue de barbarie respectivement et 2 réponses pour chaque condition ont été rapportées. Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous

La variation des réponses obtenues est en fonction des paramètres étudiés et leurs teneurs varient entre 0,50 à 2,12 ; 0,45 à 1,92 mg EGA/kg et de 0,01 à 0,09 ; 0,04 à 0,06 mg/kg en

TPC et chlorophylles pour jujube et figue de barbarie respectivement. A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que les paramètres étudiés ont un effet significatif sur le plan composite centré appliqué pour l'enrichissement d'huile d'olive vierge par jujube et figue de barbarie.

Tableau XI : Plan d'optimisation d'enrichissement de l'huile d'olive vierge par le jujube.

Essai	Temps d'extraction (min)	Température d'extraction (°C)	Ratio solide-liquide (mL/g)	X4-Diamètre des particules (µm)	Valeurs TPC expérimentales (mg EGA/kg)	Valeurs TPC prédites (mg EGA/kg)	Valeurs expérimentales chlorophylles (mg/kg)	Valeurs prédites chlorophylle (mg/kg)
1	15	35	20	63	1,19496389	1,36316881	0,07027271	0,07608225
2	15	25	40	63	0,83529229	0,88615239	0,06087131	0,06653279
3	10	35	40	63	0,70734238	0,6233973	0,0711499	0,06616104
4	20	35	40	63	0,56	0,48474864	0,09074055	0,08258404
5	15	45	40	63	0,83132143	0,83546586	0,01645936	0,01055353
6	15	35	60	63	0,63377005	0,56975705	0,06101345	0,06859362
7	15	25	20	156,5	2,12326253	1,78562915	0,03128495	0,0351283
8	10	35	20	156,5	1,30085347	1,48389969	0,07563333	0,06892748
9	20	35	20	156,5	1,37938824	1,50929898	0,07465867	0,07394697
10	15	45	20	156,5	2,0809067	1,82104183	0,03128636	0,0360874
11	10	25	40	156,5	0,83970436	0,85917158	0,04770936	0,0445297
12	20	25	40	156,5	0,84588125	0,90979023	0,04468791	0,03868175
13	15	35	40	156,5	0,87014761	0,87014761	0,06081852	0,07127986
14	15	35	40	156,5	0,87014761	0,87014761	0,07836238	0,07127986
15	15	35	40	156,5	0,87014761	0,87014761	0,07465867	0,07127986
16	10	45	40	156,5	0,91912154	0,90753593	0,02076004	0,02775
17	20	45	40	156,5	0,81102593	0,84388208	0,02894717	0,03311062
18	15	25	60	156,5	0,72	0,80811257	0,04195887	0,04401394
19	10	35	60	156,5	0,50459723	0,49411542	0,07806998	0,07094177
20	20	35	60	156,5	0,51929823	0,45568093	0,06656901	0,06543495
21	15	45	60	156,5	0,58927501	0,75515609	0,01725127	0,02070403
22	15	35	20	250	1,59910912	1,71544549	0,08109142	0,07449505
23	15	25	40	250	0,85294055	0,96822505	0,0263156	0,02438151
24	10	35	40	250	0,71175445	0,61525352	0,07046764	0,08548026
25	20	35	40	250	0,82867419	0,74086698	0,05672495	0,06856993
26	15	45	40	250	0,93279894	1,00136777	0,07151134	0,05800994
27	15	35	60	250	0,58133647	0,46545493	0,0803117	0,07548595

Tableau XII : Plan d'optimisation d'enrichissement de l'huile d'olive vierge par la figue de barbarie.

Essai	X1- Température (°C)	X2- Temps (min)	Valeurs TPC expérimentales (mg EGA/kg)	Valeurs TPC prédites (mg EGA/kg)	Valeurs expérimentales chlorophylles (mg/kg)	Valeurs prédites chlorophylle (mg/kg)
1	25	20	0,97083095	1,0919329	0,05467817	0,05352354
2	35	20	1,92560198	1,71722487	0,04424932	0,04660731
3	45	20	0,84376346	0,93103862	0,06393743	0,06273407
4	25	30	0,54598266	0,45423021	0,0591616	0,05823824
5	35	30	1,15713971	1,2079133	0,0465885	0,04788633
6	35	30	1,17949194	1,2079133	0,05155926	0,04788633
7	35	30	1,17125691	1,2079133	0,04376199	0,04788633
8	45	30	0,57421705	0,55011816	0,06140331	0,06057742
9	25	40	0,45056016	0,42121066	0,05311871	0,0551967
10	35	40	1,21075909	1,30328486	0,04551637	0,04140913
11	45	40	0,83705712	0,77388084	0,04863528	0,05066454

III.3.2.2. Validation du modèle

Le modèle mathématique composite centré utilisé relie la réponse aux facteurs qui l'influencent. Afin d'acquérir une meilleure réponse, plusieurs conditions doivent être vérifiées. Les modèles d'ajustement obtenus pour les différentes réponses concernant les deux matrices végétales utilisées sont illustrés dans la figure 11. Comme on peut le constater, une bonne qualité d'ajustement est présentée pour les TPC et la chlorophylle, avec des R^2 de 0.92, 0.90 ; 0.95, 0.87 respectivement pour jujube et figue de barbarie, ces valeurs approximativement proches à celles de $R^2_{\text{ajusté}}$. Cela, indique une bonne représentation et explication de la variabilité des réponses par le modèle proposé [42]. Selon [41], un modèle est considéré adéquat quand $R^2 > 0.75$. De plus, l'analyse d'ANOVA montre que le modèle polynomial est hautement significatif avec P -value compris entre 0.0002 à < 0.0005 pour jujube et entre 0.0034 à 0.0309 pour figue de barbarie. De plus, les valeurs de l'erreur d'ajustement (Lack of fit en anglais) sont supérieures à 0.05, ce qui signifie que le manque d'ajustement n'est pas significatif.

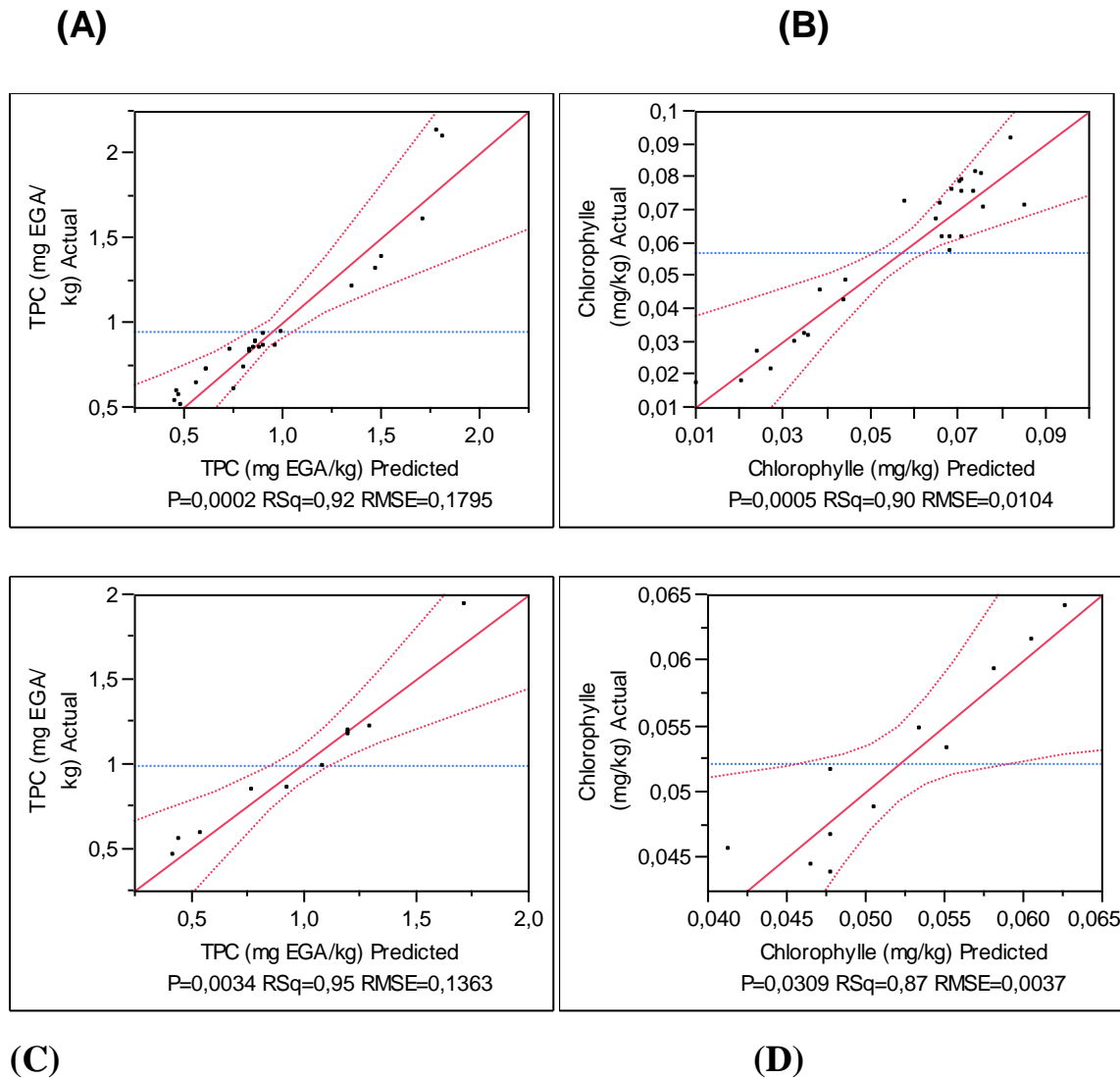


Figure 11 : Comparaison entre les valeurs prédites des TPC, chlorophylles et les valeurs expérimentales pour jujube (A), (B) et la figue de barbarie (C), (D)

III.3.2.3. Analyse de la variance ANOVA

Une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée sur les résultats obtenus. Cette analyse permet de tester la pertinence des variables impliquées dans le modèle étudié et de représenter graphiquement l'importance de chaque facteur sur la réponse étudiée. Les résultats sont représentés dans le tableau XIV.

La valeur «F-value» dépend du nombre de degrés de liberté impliqués dans le modèle qui est représentée dans la colonne Prob> F à un niveau de confiance de 95% par référence à une table statistique. De ce fait, les effets ayant une influence hautement significative sur les réponses sont ceux ayant un $P<0.0001$.

❖ **Jujube**

Le tableau XVI a montré clairement l'existence d'un seul effet linéaire X3 pour les deux variables quantitatives qui est hautement significatif, suivie d'un effet quadratique significatif (X3)². Cependant, aucun effet d'interaction n'a été obtenu pour l'huile enrichie par le jujube sur les TPC. Concernant les résultats obtenus dans le tableau XVI, c'est l'effet quadratique qui a montré une influence significative dans le domaine expérimental étudié avec l'existence d'un seul effet d'interaction (X2X4) observé pour l'huile enrichie par le jujube sur les chlorophylles. Par contre les autres effets d'interaction et quadratiques n'ont montrés aucun effet significatif. Ainsi, l'effet linéaire suggère une absence totale dans le domaine expérimental étudié.

Tableau XIII : Analyse de la variance (ANOVA) pour l'estimation de l'effet des différentes variables sur l'enrichissement de l'huile d'olive en TPC.

Paramètre	DF	Somme des carrés	Valeur F	Prob> F
Interception de modèle (TPC)	14	4,2415672	8.40	0.0001
Linéaire				
X1	1	0,0001274	0,0040	0,9509
X2	1	0,0002308	0,0072	0,9339
X3	1	3,1316198	97,1786	<0,0001
X4	1	0,0461185	1,4311	0,2547
Quadratique				
X1 ²	1	0,1174448	3,6445	0,0805
X2 ²	1	0,1337179	4,1495	0,0643
X3 ²	1	0,3716995	11,5344	0,0053
X4 ²	1	0,0595715	1,8486	0,1989
Interaction				
X1X2	1	0,0032646	0,1013	0,7557
X1X3	1	0,0010187	0,0316	0,8618
X1X4	1	0,0174586	0,5418	0,4758
X2X3	1	0,0019523	0,0606	0,8097
X2X4	1	0,0017568	0,0545	0,8193
X3X4	1	0,0521161	1,6172	0,2276
Manque d'ajustement	10	0,38670468	3,2531	0,2579
Pure erreur	2	0,00000000		
Erreur totale	12	0,38670468		
R2			0.92	
R2 Ajusté			0.82	
Corr. Total	26	4,6282719		

Les réponses d'enrichissement sont données sous formes d'équations polynomiales tenant compte de l'influence des variables et leurs interactions :

$$Y(\text{TPC}) = 0.87 - 0.51X_3 - 0.022 X_3^2 \quad (\text{Eq.4})$$

$$Y (\text{chlorophylle}) = 0.071 - 0.035X_2^2 + 0.022 X_2X_4 \quad (\text{Eq.5})$$

Tableau XIV : Analyse de la variance (ANOVA) pour l'estimation de l'effet des différentes variables sur l'enrichissement de l'huile d'olive en chlorophylles.

Paramètre	DF	Somme des carrés	Valeur F	Prob> F
Interception de modèle (chlorophylle)	14	0,01176576	7,7587	0,0005
Linéaire				
X1	1	0,00000018	0,0016	0,9683
X2	1	0,00037467	3,4590	0,0876
X3	1	0,00003167	0,2923	0,5986
X4	1	0,00002111	0,1949	0,6667
Quadratique				
X1²	1	0,00000043	0,0040	0,9508
X2²	1	0,00673861	62,2114	<,0001
X3²	1	0,00001635	0,1509	0,7044
X4²	1	0,00009120	0,8420	0,3769
Interaction				
X1X2	1	0,00003141	0,2900	0,6001
X1X3	1	0,00002770	0,2557	0,6222
X1X4	1	0,00027778	2,5645	0,1353
X2X3	1	0,00014725	1,3594	0,2663
X2X4	1	0,00200738	18,5323	0,0010
X3X4	1	0,00001798	0,1660	0,6909
Manque d'ajustement	10	0,00112880	1,3201	0,5061
Pure erreur	2	0,00017102		
Erreur totale	12	0,00129982		
R2			0.90	
R2 Ajusté			0.78	
Corr. Total	26	0,01306558		

❖ **Figue de barbarie**

Les résultats obtenus dans le (tableau XVI) nous indiquent qu'il y a des effets significatifs et d'autres non significatifs. En outre, les TPC sont influencés significativement par X2 (effet linéaire) et par les effets quadratiques (X1)² et (X2)², par contre X1 et X1X2 ne sont pas significatifs. Concernant la chlorophylle, le tableau XVI nous montre un seul effet quadratique X1 et aucun effet d'interaction et linéaire n'ont été observés.

Les réponses d'enrichissement sont données sous formes d'équations polynomiales tenant compte de l'influence des variables et leurs interactions :

$$Y(\text{TPC}) = 1.20 - 0.2 X_2 - 0.7X_1^2 + 0.3X_2^2 \quad (\text{Eq.6})$$

$$Y (\text{chlorophylle}) = 0.047 + 0.11 X1^2 \text{ (Eq.7)}$$

Tableau XV : Analyse de la variance (ANOVA) pour l'estimation de l'effet des différentes variables sur l'enrichissement de l'huile d'olive en TPC.

Paramètre	DF	Somme des carrés	Valeur F	Prob> F
Interception de modèle (TPC)	5	1,6340534	17,5996	0,0034
Linéaire				
X1	1	0,0137917	0,7427	0,4282
X2	1	0,2570195	13,8412	0,0137
Quadratique				
X1 ²	1	1,2617715	67,9497	0,0004
X2 ²	1	0,2315731	12,4708	0,0167
Interaction				
X1X2	1	0,0659371	3,5509	0,1182
Manque d'ajustement	10	0,09259042	241,5192	0,0041
Pure erreur	2	0,00025558		
Erreur totale	12	0,09284600		
R2			0.94	
R2 Ajusté			0.82	
Corr.Total	10	1,7268994		

Tableau XVI : Analyse de la variance (ANOVA) pour l'estimation de l'effet des différentes variables sur l'enrichissement de l'huile d'olive en chlorophylles.

Paramètre	DF	Somme des carrés	Valeur F	Prob> F
Interception de modèle (chlorophylle)	5	0,00043401	6.4426	0,0309
Linéaire				
X1	1	0,00000821	0,6092	0,4704
X2	1	0,00004053	3,0083	0,1434
Quadratique				
X1 ²	1	0,00033629	24,9595	0,0041
X2 ²	1	0,00003810	2,8279	0,1535
Interaction				
X1X2	1	0,00004722	3,5044	0,1201
Manque d'ajustement	3	0,00003620	0,7744	0,6061
Pure erreur	2	0,00003117		
Erreur totale	5	0,00006737		
R2			0.86	
R2 Ajusté			0.73	
Corr.Total	10	0,00050138		

III.3.2.4. Surfaces de réponse

D'après les observations réalisées lors de l'étude de la surface de réponse figure (12, 13 et 14), on a déduit que les teneurs en TPC et en chlorophylle diminuent en fonction du temps, et augmentent en fonction des températures pour l'huile d'olive enrichie par l'OFI, par contre diminuent et augmentent en fonction du temps, température, ratio ainsi que diamètre des particules pour l'huile enrichie par ZL en terme des deux réponses étudiées. Ces résultats ont confirmés ceux obtenus par les tableaux expliqués dans les précédents paragraphes.

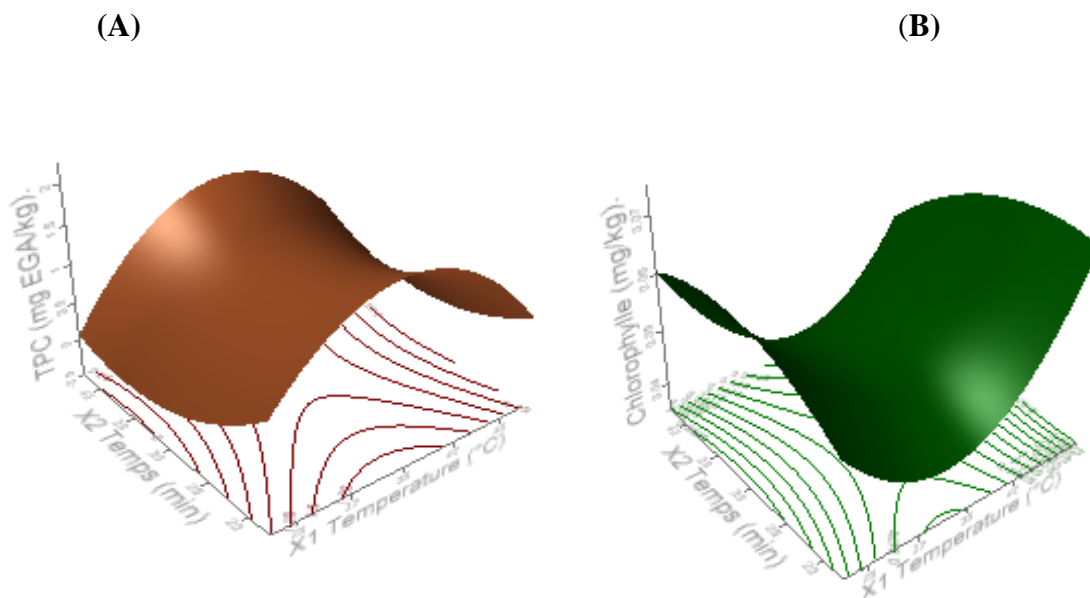


Figure 12 : Surfaces de réponses pour les TPC et la chlorophylle successivement (A) et (B) pour la fige de barbarie

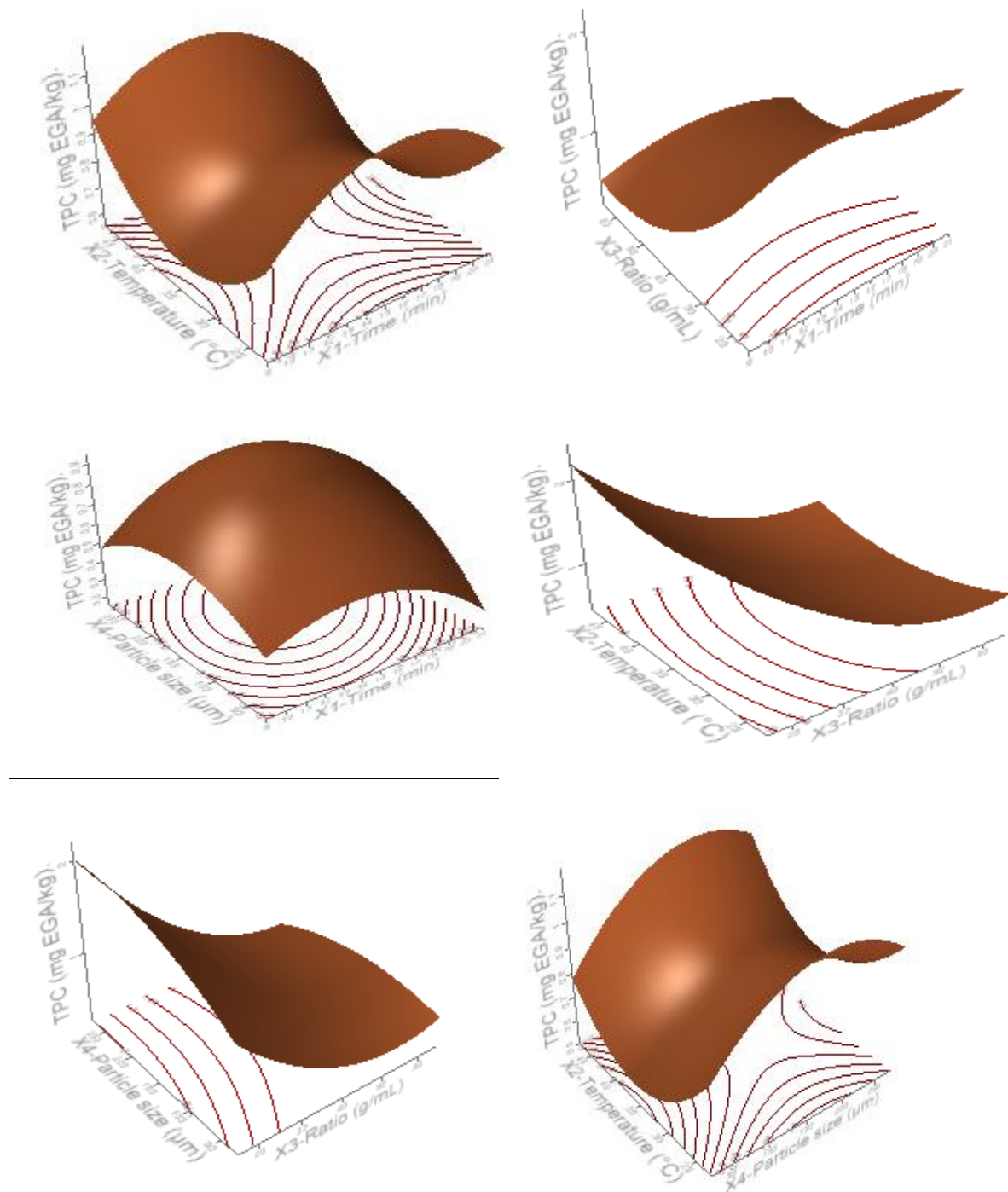


Figure 13 : Surfaces de réponse des TPC pour jujube.

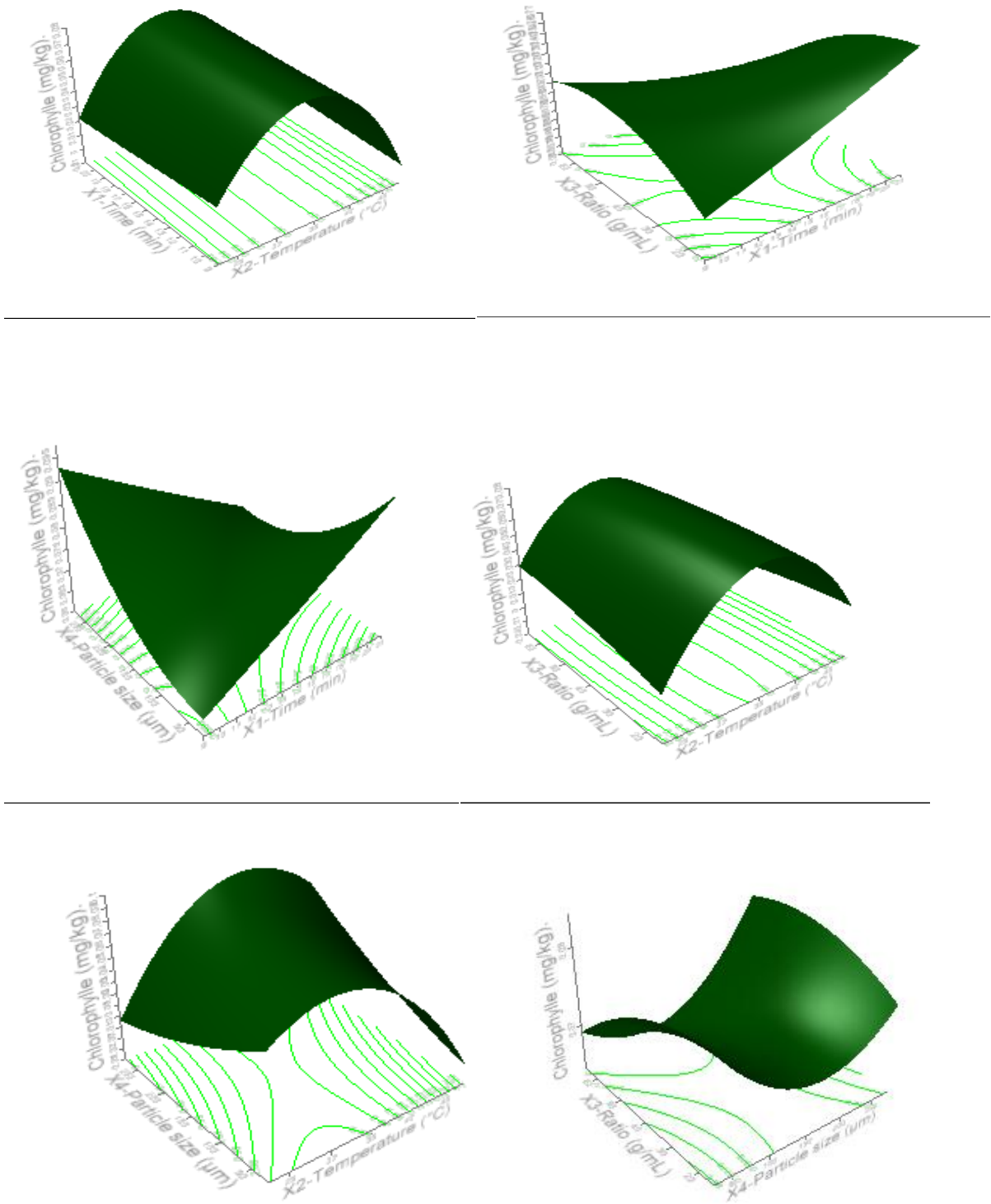


Figure 14 : Surfaces de réponses de la chlorophylle pour jujube

III.3.2.5. Conditions optimales

Dans cette étude, les conditions optimales d'enrichissement d'huile d'olive vierge par le jujube assisté aux ultrasons sont les suivants : 13.20 min, 38.75°C, 1g/20ml, et 250µm pour le temps, la température, le ratio solide-liquide et le diamètre respectivement. Les réponses données en fonction des paramètres étudiés sont de 1.70 ± 0.33 mg EGA/kg pour les TPC, et de 0.07 ± 0.01 mg/kg pour les chlorophylles comme le montre la (figure 15).

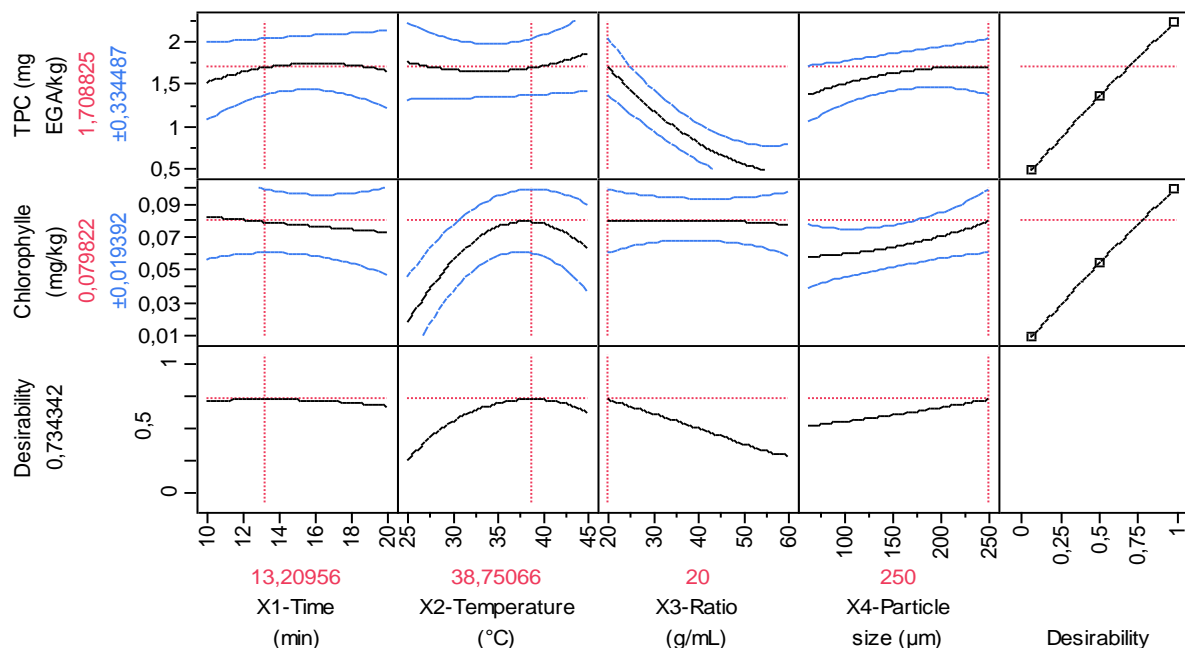


Figure 15 : Les conditions optimales d'enrichissement assisté par ultrasons de l'huile d'olive vierge par le jujube.

Les conditions optimales obtenues pour l'enrichissement d'huile d'olive vierge par figue de barbarie assisté par ultrasons sont : le temps (20min) et la température (45°C), dont la teneur en TPC et en chlorophylle sont 0.79 ± 0.31 mg EGA/kg, 0.06 ± 0.008 mg/kg successivement comme nous le montre la (figure16).

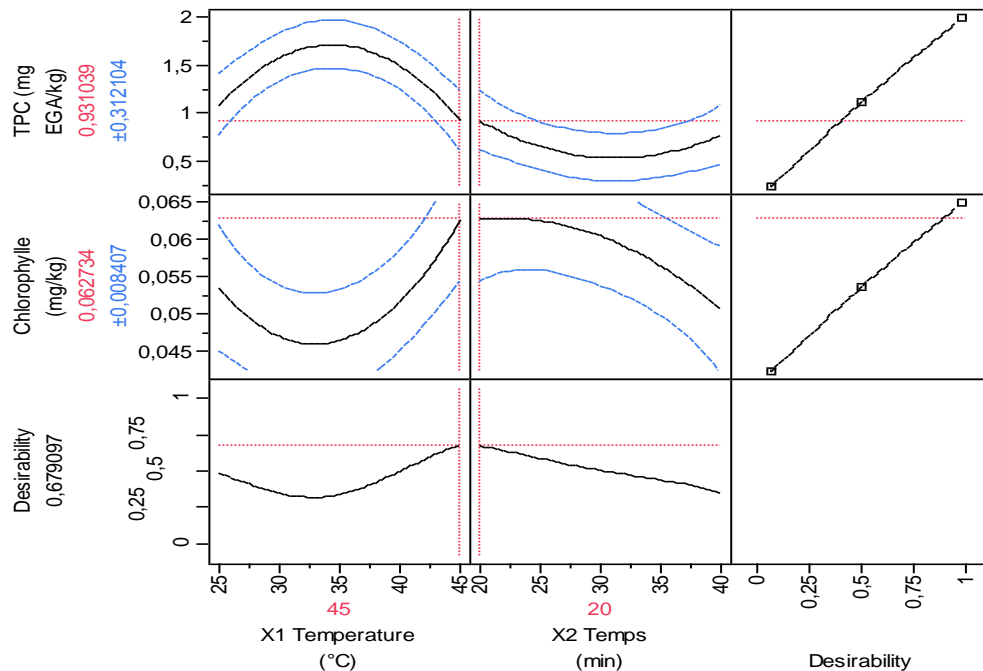


Figure 16: Les conditions optimales d'enrichissement assisté par ultrasons de l'huile d'olive vierge par la figue de barbarie.

III.4. Activités antioxydantes

✚ Test du DPPH

Plusieurs auteurs ont déterminés l'effet scavenger des huiles sur le radical DPPH• à 517 nm [2]. Les résultats obtenus pour HE et HT exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont présentés dans la figure 17 (a-b).

Les résultats du pouvoir anti radicalaire des HE par jujube et HT indiquent que la capacité de piéger le DPPH est plus importante dans l'HE (61%±0.01) que dans l'HT (50%±0.02), la même chose a été observée dans la (figure 17 (a)) dont on trouve la capacité de piéger le DPPH pour l'HE avec la figue de barbarie (57%±0.01) est supérieure à celle de l'HT (51%±0.02).

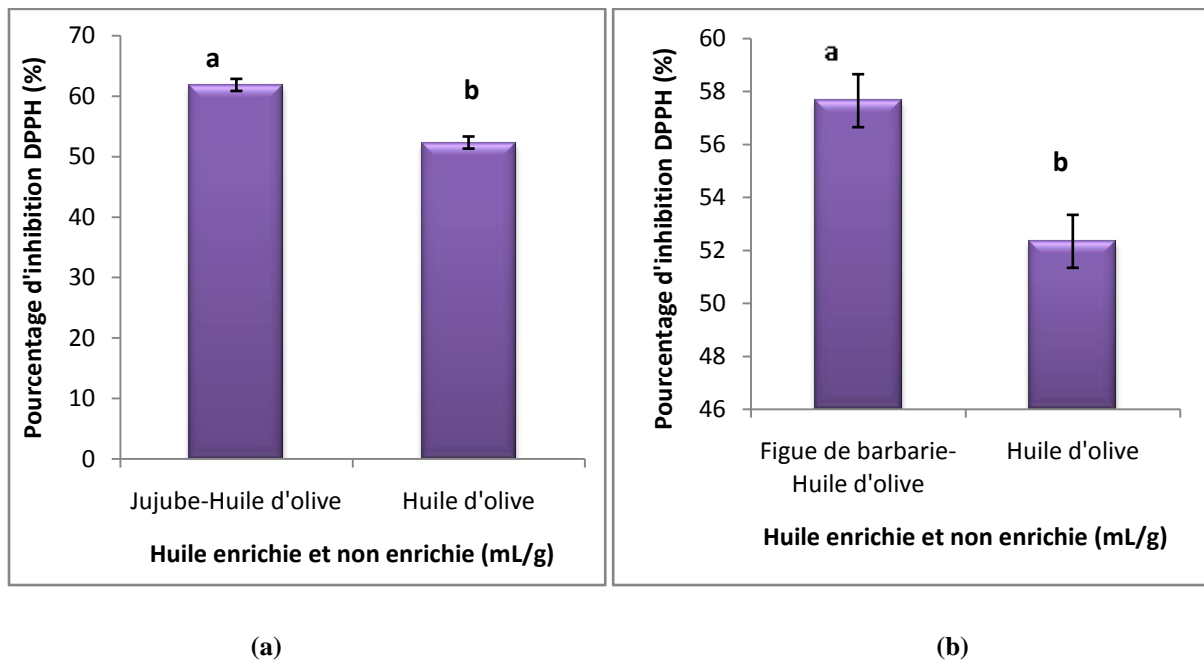


Figure (17) : Activité scavenger du radical DPPH de HE et HT dilué dans chloroforme pour les matrice végétales.

✚ Test d'ABTS

L'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite par sa capacité à inhiber le radical ABTS^{•+} obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine ou horseradishperoxidase) en présence de H₂O₂ ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). Le radical ABTS^{•+}, en contact avec un donneur de H[•] conduit à l'ABTS⁺ et à la décoloration à 734 nm de la solution [46].

Les résultats de (figure 18 (a)) du pouvoir anti radicalaire des HE par jujube et HT indiquent que la capacité d'inhiber l'ABTS est plus importante dans l'HE (71%±0.01) que dans l'HT (52%±0.02), la même indication a été porté dans la (figure 18 (b)), la capacité d'inhiber ABTS pour l'HE par la figue de barbarie (62%±0.01) est plus importante à celle l'HT (55%±0.02).

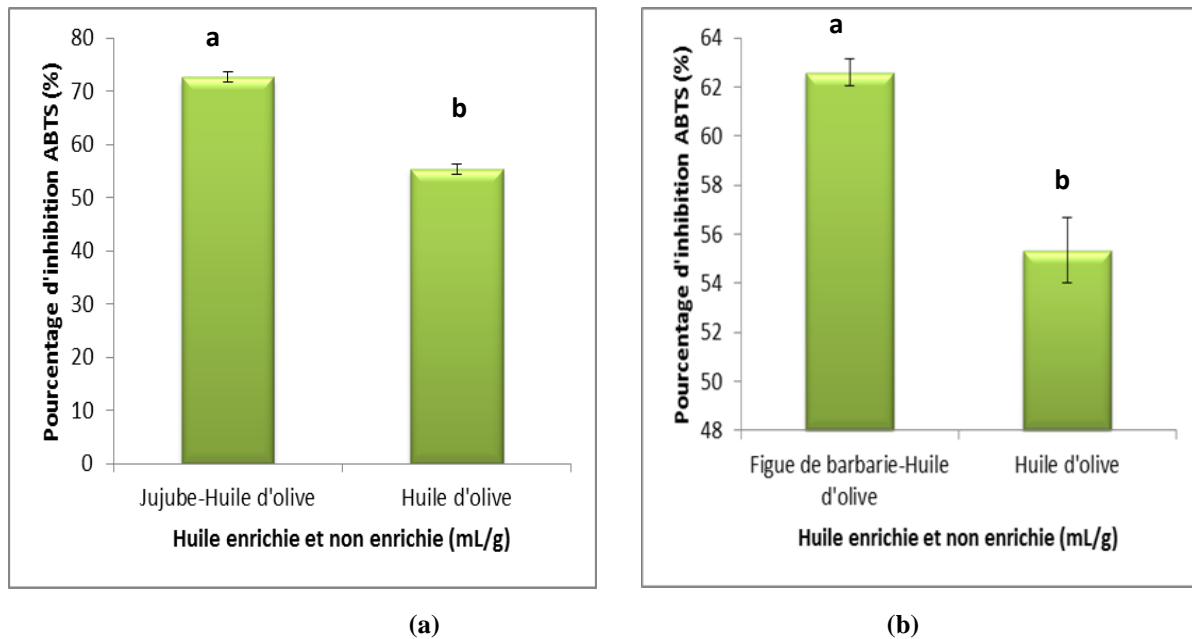


Figure 18 : Le pourcentage d'inhibition ABTS pour deux HE par deux matrices végétales et HT.

Les données des deux figures 16 et 17 montrent que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH et ABTS par les composés phénoliques présents dans l'HE par jujube et figue de barbarie est plus élevé que celui de l'HT. Pour les deux matrices végétales présentées dans la (figure 16 et 17) le pourcentage d'inhibition DPPH et ABTS dans le jujube est supérieur à celui de la figue. En effet, la capacité anti-oxydante des huiles enrichies dépend en grande partie de la composition chimique de ces matrices végétales essentiellement les composés phénoliques.

🚩 Test du pouvoir réducteur

Ce test mesure la capacité à réduire les ions métalliques, le fer ferrique (Fe^{3+}) du ferrocyanure de potassium pour donner du fer ferreux (Fe^{2+}) [32]; [58]. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant [32]. Les résultats d'évaluation du pouvoir réducteur pour l'HE par ZL et OFI sont illustrés dans le tableau XVIII, la capacité réductrice du Fer par ZL et OFI après enrichissement est de 104.36 ± 3.32 , 104.54 ± 1.53 (mg/100g DM) respectivement, ces résultats sont bien supérieurs à ceux obtenus par l'huile témoin qui est de 102.32 ± 1.08 (mg/100g DM) ce qui signifie la richesse en composants antioxydants des deux matrices

ont comparant à l'HT. on peut constater qu'il n'y a pas d'amélioration de l'activité réductrice, voir même une diminution par rapport à lui témoin. Il a été montré que des effets antagonistes peuvent avoir lieu dans un mélange complexe d'antioxydant et cela dépend aussi de type test utilisé.

Tableau XVII : Teneur du pouvoir réducteur de l'huile d'olive vierge non enrichie et enrichie par jujube et figue de barbarie.

Huile Enrichie	Pouvoir réducteur (FRAP) (mg/ 100g DM)
Jujube	104.36±3.32
Figue de barbarie	104.54±1.53
Huile non enrichie (témoin)	102.32± 1.08

III.5. Indice d'acidité

Les résultats d'enrichissement d'huile d'olive vierge donnent un indice d'acidité de 2% pour l'HE par jujube et de 1.89% pour l'HE par la figue de barbarie, ce qui signifie que les deux matrices végétales ont une source précieuse d'acides gras. Seul on plusieurs auteurs, les huiles de qualité supérieure récemment produites présenteront une très faible acidité, qui ne doivent pas dépasser 0,35% dans les meilleures huiles d'olive. En revanche, la norme du CIO pour les acides gras libres dans l'huile d'olive extra vierges doit être au maximum de 0,8% [4].

CONCLUSION

CONCLUSION

La compréhension du phénomène d'oxydation est indispensable surtout dans le cas des aliments, en particulier les huiles végétales dont la dégradation peut avoir des effets néfastes sur la sécurité alimentaire. Etant donné que les composés phénoliques sont des molécules bioactives qui pourraient lutter contre l'oxydation des lipides et porter des effets bénéfiques sur la santé humaine, leur incorporation peut être un atout pour l'amélioration de la qualité des aliments.

Ce présent travail montre que le model composite centré utilisé dans l'optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons est validé, les conditions optimales pour HE avec jujube sont comme suit : le diamètre 250 μ m, le temps 13 min, la température 39°C, le ratio 1g/20ml. Tandis que pour l'HE avec la figue de barbarie sont : diamètre 63 μ m, le temps 20 min, température 45°C, ratio 1g/20ml. Ces conditions nous ont permis d'avoir une huile plus riche en substances bioactives à savoir les TPC et la chlorophylle par rapport à HT

La détermination quantitative après extraction directe des composés phénoliques des poudres des deux matrices végétales étudiées ont donné des valeurs de TPC de 5173.73 \pm 0.02 mg EGA/100g MS pour ZL et 4677.11 \pm 0.03 02 mg EGA/100g MS pour OFI. Ces résultats renforcent l'idée d'enrichissement et d'exploitation de ZL et d'OFI comme deux sources de polyphénols naturels. Et la mesure des activités antioxydantes ont montré des pourcentages d'inhibition des radicaux libres plus important avec les HE que dans les HT.

Ces résultats nous ont permis de conclure que l'incorporation de la poudre des figues barbaries et jujube dans l'huile d'olive a relativement amélioré sa composition en antioxydants. Par conséquent, cette huile produite peut constituer un aliment fonctionnel potentiel par sa richesse en molécules bioactives naturelles.

En perspectives, nous souhaitons continuer notre travail en faisant un enrichissement par d'autres méthodes innovantes à savoir les micro-ondes et méthodes conventionnelles pour s'assurer de la meilleure technique pouvant donner une meilleure qualité de l'huile d'olive. Egalement, une analyse sensorielle pour l'HE et l'HT afin d'évaluer le degré de préférence et d'appréciations des consommateurs. Enfin, l'indice de peroxyde, rancimat et test de friture sont jugés nécessaires pour confirmer l'inhibition de l'oxydation de l'huile après enrichissement et de voir l'efficacité des antioxydants utilisés (figue de barbarie et jujube) et voir même assurer une longue conservation de cette huile.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références

1. Abdel-Zaher, A. O., S. Y. Salim, et al. (2005). "Antidiabetic activity and toxicity of Zizyphus spina-christi leaves." Journal of ethnopharmacology **101**(1-3): 129-138.
2. Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques, Avignon.
3. Achat, S., V. Tomao, et al. (2012). "Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale." Ultrasonics Sonochemistry **19**(4): 777-786.
4. Al-Qudah, M. A., H. I. Al-Jaber, et al. (2014). "Flavonoid and phenolic compounds from Salvia palaestina L. growing wild in Jordan and their antioxidant activities." Phytochemistry **99**: 115-120.
5. Alvar, J., I. D. Velez, et al. (2012). "Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence." PloS one **7**(5): e35671.
6. AMARA, M. Etude géobotanique du genre Zizyphus dans la région de Naama (Algerie sud-occidentale), Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid.
7. Anjum, F., S. A. Bukhari, et al. (2015). "BIO-MECHANICAL LEACHING OF URANIUM FROM LOW GRADE BLACK SHALE." Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ) **14**(12).
8. Ayachi, W., D. Boufkhed, et al. (2017). "Enrichissement de l'huile d'olive par les mûres sauvages."
9. Ayadi, M., N. Grati-Kamoun, et al. (2009). "Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants." Food and Chemical Toxicology **47**(10): 2613-2619.

Références bibliographiques

10. Benabid, H. "Caractérisation de l'huile d'olive algérienne."
11. BENATTIA, F. K. Analyse et Application des Extraits de pépins de Figes de Barbarie, 08-01-2018.
12. BENHAMMOU, N. (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien.
13. Boserup, E., S. F. Tan, et al. (2013). Woman's role in economic development, Routledge.
14. Boudraa, S., L. Hambaba, et al. (2010). "Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie: *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L." Fruits **65**(2): 75-84.
15. Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, et al. (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." LWT-Food science and Technology **28**(1): 25-30.
16. Caponio, F., V. Durante, et al. (2016). "Effect of infusion of spices into the oil vs. combined malaxation of olive paste and spices on quality of naturally flavoured virgin olive oils." Food chemistry **202**: 221-228.
17. Caporaso, N., A. Paduano, et al. (2013). "Capsaicinoids, antioxidant activity, and volatile compounds in olive oil flavored with dried chili pepper (*C. annuum*)." European Journal of Lipid Science and Technology **115**(12): 1434-1442.
18. Chimi, H. and A. Ouaouich (2007). "Guide du producteur de l'huile d'olive, Préparé dans le cadre du projet de développement du petit entrepreneuriat agro-industriel dans les zones périurbaines et rurales des régions prioritaires avec un accent sur les femmes au Maroc, Cas de Kalaât Bni Rotten à Chefchaouen et de Jabryne à Ouazzane." Cas de Kalaât Bni Rotten à Chefchaouen et de Jabryne à Ouazzane, Organisation Des Nations Unies Pour Le Développement Industriel, Vienne.

Références bibliographiques

19. Clodoveo, M. L., T. Dipalmo, et al. (2016). "Comparison between different flavored olive oil production techniques: Healthy value and process efficiency." Plant foods for human nutrition **71**(1): 81-87.
20. Cuvelier, C., J.-F. Cabaraux, et al. (2004). Acides gras: nomenclature et sources alimentaires. Annales de Médecine Vétérinaire, Annales Medecine Veterinaire.
21. Dahmoune, F., G. Spigno, et al. (2014). "Pistacia lentiscus leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction." Industrial Crops and Products **61**: 31-40.
22. De Marco, E., M. Savarese, et al. (2007). "Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters." Food chemistry **104**(2): 858-867.
23. Faucher, J. (2006). Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue.
24. Feugang, J. M., P. Konarski, et al. (2006). "Nutritional and medicinal use of Cactus pear (Opuntia spp.) cladodes and fruits." Front Biosci **11**(1): 2574-2589.
25. García, A., M. V. Ruiz-Méndez, et al. (2006). "Effect of refining on the phenolic composition of crude olive oils." Journal of the American Oil Chemists' Society **83**(2): 159-164.
26. Ghazghazi, H., C. Aouadhi, et al. (2014). "Fatty acids composition of Tunisian Ziziphus lotus L.(Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts." Natural product research **28**(14): 1106-1110.
27. Ghédira, K. and P. Goetz (2018). "Figuier de barbarie: Opuntia ficus-indica (Cactaceae)." Phytothérapie **16**(6): 374.

Références bibliographiques

28. Goupy, J. (2005). Pratiquer les plans d'expériences, Dunod Paris.
29. Gramza, A., J. Korczak, et al. (2005). "Tea polyphenols-their antioxidant properties and biological activity-a review." Polish journal of food and nutrition sciences **14**(3): 219.
30. Hamdi, M., J.-L. Garcia, et al. (1992). "Integrated biological process for olive mill wastewater treatment." Bioprocess Engineering **8**(1-2): 79-84.
31. Hammi, K. M., A. Jdey, et al. (2015). "Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian Zizyphus lotus fruits using response surface methodology." Food chemistry **184**: 80-89.
32. Hinneburg, I., H. D. Dorman, et al. (2006). "Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices." Food chemistry **97**(1): 122-129.
33. Houshia, O. J., O. Zaid, et al. (2014). "Effect of olive oil adulteration on peroxide value, delta-K and on the acidity Nabali-Baladi olive oil quality." Adv Life Sci **4**: 235-244.
34. Idris, Y. "Les plans d'expériences Initiation à la construction et l'analyse des plans factoriels complets à deux niveaux et du plan composite centré."
35. Kalantzakis, G., G. Blekas, et al. (2006). "Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils." European Journal of Lipid Science and Technology **108**(4): 329-335.
36. Kaleem, W. A., N. Muhammad, et al. (2014). "Pharmacological and phytochemical studies of genus Zizyphus." Middle-East J Sci Res **21**(8): 1243-1263.
37. Khouchlaa, A., A. Talbaoui, et al. (2018). "Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de Zizyphus lotus L. d'origine marocaine." Phytothérapie **16**(1): 14-19.

Références bibliographiques

38. Kubow, S. (1990). "Toxicity of dietary lipid peroxidation products." Trends in Food Science & Technology **1**: 67-71.
39. Kyi, T. M., W. R. W. Daud, et al. (2005). "The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans." International journal of food science & technology **40**(3): 323-331.
40. Laincer, F., N. Iaccarino, et al. (2016). "Characterization of monovarietal extra virgin olive oils from the province of Béjaïa (Algeria)." Food research international **89**: 1123-1133.
41. Le Man, H., S. Behera, et al. (2010). "Optimization of operational parameters for ethanol production from Korean food waste leachate." International Journal of Environmental Science & Technology **7**(1): 157-164.
42. Li, M. and P. Vitányi (2013). An introduction to Kolmogorov complexity and its applications, Springer Science & Business Media.
43. Livrea, M. A. and L. Tesoriere (2006). "Health benefits and bioactive components of the fruits from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill." Journal of the Professional Association for cactus Development **8**(1): 73-90.
44. Lkrik, A., K. Souidi, et al. "Effet des polyphénols extraits à partir des tourteaux et feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L) sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive."
45. MANSOUR, I. F. Z. (2016). Détermination des principes nutritionnels et fonctionnels de la pulpe du fruit du jujubier. étude de son potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.
46. Miller, N. J. and C. A. Rice-Evans (1997). "The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink." Food chemistry **60**(3): 331-337.

Références bibliographiques

47. Minguéz-Mosquera, M. I., B. Gandul-Rojas, et al. (1991). "Determination of chlorophylls and carotenoids by high-performance liquid chromatography during olive lactic fermentation." Journal of Chromatography A **585**(2): 259-266.
48. Molyneux, P. (2004). "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." Songklanakarin J. Sci. Technol **26**(2): 211-219.
49. Montesano, D., L. Cossignani, et al. (2006). "Pure lycopene from tomato preserves extra virgin olive oil from natural oxidative events during storage." Journal of the American Oil Chemists' Society **83**(11): 933-941.
50. Nour, V., A. R. Corbu, et al. (2018). "Effect of carotenoids, extracted from dry tomato waste, on the stability and characteristics of various vegetable oils." Grasas y Aceites **69**(1): 238.
51. Ollivier, D., E. Boubault, et al. (2004). Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique.
52. Oyaizu, M. (1986). "Studies on products of browning reaction." The Japanese journal of nutrition and dietetics **44**(6): 307-315.
53. Planell, M. I. C., R. de la Torre, et al. (2014). "Scientific evidence of the benefits of virgin olive oil for human health." Medicina balear **29**(2): 39-46.
54. Prasad, K. N., B. Yang, et al. (2009). "Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds." Food chemistry **116**(1): 1-7.
55. Radia, S. Etude de l'huile d'olive d'Algérie, Université 8 mai 1945 de Guelma.
56. Rahmani, A. H., A. S. Albutti, et al. (2014). "Therapeutics role of olive fruits/oil in the prevention of diseases via modulation of anti-oxidant,

Références bibliographiques

- anti-tumour and genetic activity." International journal of clinical and experimental medicine **7**(4): 799.
57. Rubió, L., M.-J. Motilva, et al. (2012). "Development of a phenol-enriched olive oil with both its own phenolic compounds and complementary phenols from thyme." Journal of agricultural and food chemistry **60**(12): 3105-3112.
58. Sahgal, G., S. Ramanathan, et al. (2009). "In vitro antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic Swietenia mahagoni seed extracts." Molecules **14**(11): 4476-4485.
59. Salta, F., A. Mylona, et al. (2007). "Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract." Food Science and Technology International **13**(6): 413-421.
60. Schössler, K., H. Jäger, et al. (2012). "Effect of continuous and intermittent ultrasound on drying time and effective diffusivity during convective drying of apple and red bell pepper." Journal of Food Engineering **108**(1): 103-110.
61. SELAIMIA, R. (2018). Etude de l'huile d'olive d'Algérie.
62. Slimen, I. B., T. Najar, et al. (2016). "Opuntia ficus-indica as a Source of Bioactive and Nutritional Phytochemicals." Journal of Food and Nutrition Sciences **4**(6): 162-169.
63. Veillet, S. (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive: Entre Tradition et Innovation, Université d'Avignon.
64. Vossen, P. (2007). "Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils." HortScience **42**(5): 1093-1100.
65. YAHYAOU, A., G. RIGANE, et al. (2017). "Oxidative Stability of Extra Virgin Olive Oil with Natural Plant Extracts during Microwave Heating." Asian Journal of Chemistry **29**(12): 2655-2659.

Références bibliographiques

66. Yilmazer, M., S. G. Karagöz, et al. (2016). "Aroma transition from rosemary leaves during aromatization of olive oil." journal of food and drug analysis **24**(2): 299-304.

Résumé

L'élaboration d'une huile d'olive fonctionnel a gagné ces dix dernières années un grand d'intérêt en utilisant des matières végétales. Dans cette perspective, l'objectif de notre travail consiste à optimiser un procédé d'enrichissement de l'huile d'olive vierge avec les poudres de *Zizyphus lotus* et d'*Opuntia ficus indica* assisté aux ultrasons en utilisant le modèle composite centré. Les facteurs étudiés sont le temps d'induction, diamètre des particules, température d'enrichissement et ratio solide/liquide. Les résultats ont montrés que tous les facteurs influençant sur le rendement en polyphénols totaux et en chlorophylle après enrichissement. Dans cette étude, les conditions optimales sont de 13.20 min, 38.75°C, 1g/20ml et 250µm obtenues par la poudre de jujube enrichie, par contre, elles sont de 20min, 45°C obtenues par la poudre de figue de barbarie enrichie. De plus, l'huile d'olive enrichie possède une composition plus riche en antioxydants, des activités anti-oxydantes meilleures également. L'huile d'olive enrichie par les deux matrices végétales étudiées peut constituer un aliment fonctionnel pouvant avoir un effet bénéfique sur la santé et qui pourra faire l'objet d'industrialisation.

Abstract

The development of a functional olive oil has gained a great deal of interest over the last ten years using plant materials. In this perspective, the objective of our work is to optimize a process of enrichment of virgin olive oil with powders of *Zizyphus lotus* and *Opuntia ficus indica* assisted with ultrasound using the composite model centered. The factors studied are induction time, particle diameter, enrichment temperature and solid / liquid ratio. The results showed that all factors influencing the yield of total polyphenols and chlorophyll after enrichment. In this study, the optimum conditions are 13.20 min, 38.75 ° C, 1g / 20ml and 250µm obtained by enriched jujube powder, however, they are 20min, 45 ° C obtained by enriched fig powder. In addition, the enriched olive oil has a composition richer in antioxidants, better anti-oxidant activities too. Olive oil enriched by the two plant matrices studied can be a functional food that can have a beneficial effect on health and can be industrialized.