

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de : Sciences Alimentaires
Filière : Biologie
Option : Sciences des Aliments



Réf :

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

MASTER

Thème

**Evaluation physico-chimique et étude de
L'activité antioxydante de quelques
échantillons d'huiles d'olives locales**

Présenté par :

Ait kheddache Dehia & Benatsou Sabrina

Soutenu le : **14 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mme.LEHOUCHE
Mme.MAMOU
Mme.TAFININE
Mme.SOUFI

Presidente
Encadreur
Co-Encadreur
Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier le dieu tout puissant de nous avoir donné la volonté, la santé et surtout la patience pour l'élaboration de ce modeste travail.

Nous tenons à remercier vivement madame Mamou F, notre encadreur, qui nous a aidé à progresser dans notre recherche grâce à ses conseils, directifs et son soutien tout long de l'élaboration de ce travail.

Nous remercions également madame Taffinine Z, pour le temps qu'elle nous a accordé et pour son orientation et son effort qui ont permis d'achever ce travail.

Nous exprimons nos vifs remerciements à l'ensemble des membres de jury, madame Lehouche en tant que présidente de jury, madame Soufi en tant que examinatrice, pour avoir mobilisé de leur temps pour examiner et juger ce travail.

Nous remercions également tout le personnel de l'ITAFV et celui de laboratoire Analyse physico-chimique des aliments (bloc 12) pour leur accueil et leur dévouement.

Merci à tous ceux qui nous ont aidés, de près ou de loin, à l'achèvement de ce travail.

Dédicaces

*Après Avoir remercié« ALLAH» le tout puissant qui m'a aidé
d'accomplir mes études, je tiens à dédier ce modeste travail :*

*A celui qui par sa gentillesse et s'a volonté m'a appris les valeurs nobles
de la vie, à celui qui m'a fait de moi ce que je suis maintenant, mon
agréable père que j'aime toujours.*

*A celle qui a veuille sur mon repos et m'a soutenu le long de mes études,
à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours
montré son affection, à ma mère que j'aime toujours.*

A les deux princesses, mes très chères sœurs Yasmine et Dadouche

A mes chers frères Mourad et Youyou

*A ma Grande mère qui m'a toujours aider et encourager, que dieu nous
la garde toujours en vie.*

Mes oncles et leurs femmes ainsi que leurs enfants.

Mes tantes et leurs maris ainsi que leurs enfants.

Mes grands-parents, et à la mémoire de mon grand-père et mon oncle.

A toute personne qui m'aime et que j'aime

A Tous mes amis

Sabrina

Dédicaces

Je dédie affectueusement ce modeste travail à toutes les personnes qui me sont chères :

- *Mes parents à qui je dois respect et humilité.*
- *Mon mari Takfarinas qui n'a jamais cessé de croire en moi.*
- *Mon frère Jigo qui est mon exemple, et ma chère sœur Mounia.*
- *Mes tantes et leurs maris ainsi que leurs enfants.*
- *Mes oncles et leurs femmes ainsi que leurs enfants.*
- *Ma cousine Lydia et sa famille.*
- *Ma cousine Asma.*
- *Mes grands-parents, et à la mémoire de ma chère grand-mère.*
- *Mes beaux-parents, mes belles sœurs et la petite dida, mon beau-frère et sa femme.*
- *Mes amies : Kouka et sa famille, Maro,...*

Dehia

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Etude bibliographique	
Chapitre I : Olive et huile d'olive	
I) Olive	2
I-1) Définition et description	2
I-2) Composition chimique.....	2
I-3) Les principales opérations d'élaboration d'huile d'olive	3
II) Huile d'olive	5
II-1) Définition et classification	5
II-2) Composition chimique	6
II-2-1) La fraction saponifiable	6
II-2-2) La fraction insaponifiable	7
II-3) Les principaux facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive	9
II-3-1) Facteurs génétiques	9
II-3-2) Facteurs environnementaux	10
II-3-3) Facteurs agronomiques	11
II-3-4) Facteurs technologiques.....	11
Chapitre II : Activité antioxydante de l'huile d'olive	
I) Les antioxydants de l'huile d'olive	12
I-1) Les tocophérols	12
I-2) Les caroténoïdes	12
I-3) Les composés phénoliques	13
II) Mécanismes d'action des antioxydants	13
II-1) Les antioxydants primaires ou distributeurs de chaîne	13
II-2) Les antioxydants secondaires	14
III) Efficacité des antioxydants.....	14
IV) Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	14
V) Effet des antioxydants sur la santé humaine	15

Sommaire

Partie pratique

I) Matériel végétal	17
I-1) Echantillonnage	17
I-2) Préparation des échantillons	17
II) Méthodes d'Analyses	17
II-1) Analyses effectuées sur les olives et les pâtes.....	17
II-1-1) Indice de maturité	17
II-1-2) Poids moyen des olives.....	18
II-1-3) Taux d'humidité de la pâte et des fruits.....	18
II-1-4) Détermination de la teneur en huile par Soxhlet.....	18
II-2) Analyse sur l'huile	19
II-2-1) Indices de qualité	19
II-2-1-1) Acidité	19
II-2-1-2) Indice de peroxyde.....	20
II-2-1-3) Analyse de l'Absorbance spécifique dans l'ultraviolet	20
II-2-2) Dosage des pigments.....	21
II-2-3) Extraction et dosage des composés phénoliques	21
II-2-3-1) Préparation de l'extrait méthanolique	21
II-2-3-2) Dosage des composés phénoliques	21
II-2-3-3) Dosage des <i>ortho</i> -diphénols	22
II-2-4) L'indice d'amertume.....	22
II-2-5) Etude de l'activité anti-oxydante des extraits méthanoliques.....	23
II-2-5-1) Activité scavenger sur le radical DPPH [•]	23
II-2-5-2) Pouvoir réducteur	23
III) Etude statistique	24

Résultats et discussion

I- Analyses physiques.....	25
I-1) Analyse des olives	25
I-1-1) Indice de maturité.....	25
I-1-2) Poids moyen des fruits	26
I-1-3) Taux d'humidité des fruits et des pâtes d'olives étudiées.....	26
I-1-4) Rendement en huile par Soxhlet.....	27
II-Analyses sur l'huile	29

Sommaire

II-1) Indices de qualité.....	29
II-1-1) Acidité.....	29
II-1-2) Indice de peroxyde.....	30
II-1-3) Coefficient d'absorption spécifique à l'Ultra-violet.....	31
II-2) Résultats de dosage des pigments	33
II-3) Composés phénoliques.....	35
II-4) Dosage des <i>ortho</i> -diphénols	36
II-5) Indice d'amertume.....	37
II-6) Détermination de l'activité antioxydante	38
II-6-1) Activité scavenger du radical DPPH [•]	38
II-6-2) Pouvoir réducteur.....	39
Conclusion	41
Références bibliographiques	
Annexes	

Listes des figures

Figure 1 : Structures chimiques des chlorophylles a et b de l'huile d'olive.....	8
Figure 2 : Structure chimique des principaux caroténoïdes présents dans l'huile d'olive	9
Figure 3 : Indice de maturité de différentes variétés d'olives étudiées	25
Figure 4 : Poids moyen des trois variétés d'olives.....	26
Figure 5 : Taux d'humidité des fruits des variétés d'olives étudiées	27
Figure 6 : Taux d'humidité des pâtes des variétés d'olives étudiées	27
Figure 7 : Rendement en huile par Soxhlet des variétés d'olives étudiées	28
Figure 8 : Acidité des différents échantillons d'huiles d'olive.....	29
Figure 9 : Indice de peroxyde des différents échantillons d'huiles d'olive	30
Figure 10 : Coefficient d'absorption spécifique à 232 nm des échantillons d'huiles d'olive	31
Figure 11 : Coefficient d'absorption spécifique à 270 nm des échantillons d'huiles d'olive	32
Figure 12 : Teneurs en chlorophylles des différents échantillons d'huiles d'olive.....	33
Figure 13 : Teneurs en caroténoïdes des différents échantillons d'huiles d'olive	33
Figure 14 : Teneurs en polyphénols des différents échantillons d'huiles d'olive	35
Figure 15 :Teneur en <i>ortho</i> -diphénols des différents échantillons d'huiles d'olive.....	36
Figure 16 : Indice d'amertume des différents échantillons d'huiles d'olives	37
Figure 17 : Activité scavenger du radical DPPH des extraits phénoliques des échantillons d'huile.....	39
Figure 18 : Pouvoir réducteur des extraits phénoliques des différents échantillons d'huiles d'olives	40

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique de l'olive	2
Tableau II : Teneur en acides gras de l'huile d'olive.....	7

Liste des abréviations

ABTS:2,2' Azobis (3 ethylbenzothianzoline-6-sulfonique).

ANOVA : Analyse de la variance.

COI : conseil oléicole internationale.

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

DMPD: N, N-dimethyle-p-phenylenediamine.

E.A .C : Equivalent en acide caféique.

E .A.G : Equivalent en acide gallique.

FRAP : Ferric reducing power.

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

LDL : Low Density Lipoproteins.

LSD : La plus petite différence significative.

Méq : milliéquivalent.

IP : Indice de peroxyde.

OOL : Dioléolinoléine.

OOO : Trioléine.

POL : Palmitooléolinoléine.

SOO : Dioléostéarine.

UV : Ultra violet.

Plus qu'un arbre, l'olivier est devenu un véritable mythe. Rares sont les essences végétales qui ont autant marqués l'histoire de l'humanité. Elle fut témoin de l'arrivée de l'agriculture, de la naissance des mathématiques, de l'alphabet et de la philosophie. Symbole de lumière, de paix, d'éternité, de fécondité, de sagesse, l'olivier incarne aussi la force grâce à son bois dur, la richesse grâce à ses fruits et l'espoir par la vitalité de ses rameaux. Aucune autre espèce végétale n'a connu un tel succès au travers des siècles. L'olivier demeure encore aujourd'hui la figure emblématique de la civilisation méditerranéenne. Bref, si l'olivier s'est installé si facilement dans tout le bassin méditerranéen, c'est avant tout parce qu'il produit de *l'Or liquide* (Fouin et Sarfati, 2002).

La qualité de l'huile d'olive ne dépend pas seulement des pratiques de culture, de l'époque et des techniques de récolte et post-récolte utilisées, mais aussi de la variété (Dugo et al., 2004). En effet, ce sont les caractères génétiques qui influent sur la résistance ou la sensibilité des olives aux maladies, aux ravageurs et aux aléas climatiques et qui déterminent de près la qualité de l'huile (Tores et Maestri, 2006).

Donc, la place de l'huile d'olive revêt une importance non négligeable car elle intervient dans la lutte contre le stress oxydant impliqué dans l'étiologie de diverses pathologies : l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires, certains types de cancers, les pathologies cérébrales et les dégénérescences liées au vieillissement accéléré (Covas, 2007 ; Sotiroudis et Kyrtopoulos, 2008).

La présente étude vise deux objectifs, le premier c'est d'évaluer la qualité physico-chimique de trois variétés d'huile d'olive (provenant de la région Seddouk, wilaya de Bejaïa) ainsi que leurs mélanges (coupages) à différents taux. Le second est de déterminer leurs activités antioxydantes avec deux méthodes (DPPH et pouvoir réducteur).

I) Olive :

I-1) Définition et description :

C'est une drupe charnue ayant une forme plus au moins ovale ou ellipsoïde, à peau lisse, sa grosseur varie suivant les variétés avec un poids allant de 2 à 12g environ, comme elle peut aller jusqu'à 20g. Elle est constituée de l'extérieur vers l'intérieur de trois parties : l'épicarpe, le mésocarpe et l'endocarpe (**Therios, 2009**).

- **L'épicarpe** : c'est la couche externe de l'olive, il contient l'épiderme avec sa cuticule et il représente 1 à 3% du poids de fruit (**Bianchi, 2003**).
- **Le mésocarpe** : représente 70 à 80% du poids du fruit (**Bianchi, 2003**). Il contient de l'eau (environ 60%), de l'huile (30%), des sucres (4%), des protéines (3%), et enfin des fibres (**Conde et al., 2008**).
- **L'endocarpe** : représente 13 à 30% du poids du fruit (**Parvaiz et al., 2013**). C'est un noyau fusiforme, constitué d'une amande ayant une texture rigide, protégeant une ou, rarement, deux graines à albumen huileux cellulaire (**Bianchi, 2003**). Il de l'eau (10%), de la cellulose (30%), les hydrates de carbone (40%) et de l'huile (1%) (**Conde et al., 2008**).

I-2) Composition chimique :

Les différents constituants de l'olive sont : eau, huile, protéines, sucres simples (glucose, saccharose, mannitol,...), polysaccharides (cellulose, hémicellulose) ainsi que d'autre constituant (minéraux, vitamines...) qui confèrent à l'huile d'une part, une partie de ses qualités gustatives et nutritionnelles et d'autre part sa stabilité oxydative. Cette composition est influencée par le cultivar, les conditions agronomiques et le degré de maturité du fruit (**Gomez-Rico et al., 2008**).

Tableau I : Composition chimique de l'olive (**Benlemlih et Ghanam, 2012**).

Constituants	Teneurs (%)
L'eau	50
Huile	22
Polyphenols	1,5
Protéines	1,5
Sucres	1,8
Cellulose	5,5
Minéraux	1,5

I-3) Les Principales opérations d'élaboration de l'huile d'olive :

L'huile d'olive présente deux caractéristiques essentielles qui la différencient des autres huiles végétales et la rendent d'autant plus recherchée : tiré d'un fruit frais, mûr et de bonne qualité et consommable en l'état sans qu'il soit nécessaire de lui faire une technologie très poussée (Koustsftaki et al., 2002).

L'élaboration de l'huile d'olive comprend une série de processus mécanique et/ou physiques qui se fait par plusieurs étapes :

a) Récolte des olives :

Pour produire une huile de qualité, il est important que les olives soient de bonne qualité et dans un bon état sanitaire au moment de la récolte (El antari et al., 2000).

Plusieurs techniques de récolte existent. Les olives peuvent être ramassées à la main, à l'aide d'un instrument appelé peigne ou à l'aide de moyens mécaniques (vibreux, secoueur,...) qui permettent le détachement des olives qui sont alors récupérées dans des filets posés sur le sol ou en hauteur (çavusoglu et Oktar, 1994; Metzidakis et al., 1995; El Antari et al., 2000).

b) Transport et conservation:

Dans le souci de conserver les caractéristiques qualitatives, que les olives possèdent au moment de la récolte, il s'avère nécessaire de les acheminer immédiatement vers les huileries (Di Giovacchino, 1999).

Le moyen le plus approprié pour le transport des olives est les caisses à claire voie en matière plastique permettant la circulation de l'air et évitant le réchauffement préjudiciable causé par l'activité catabolique des fruits COI (1990).

c) Effeillage et lavage :

L'opération d'effeuillage est effectuée à l'aide d'un appareil automatique muni d'un système d'aspiration, à défaut de disposer d'un système mécanique, cette opération peut être réalisée manuellement. Cette étape est nécessaire pour éviter une coloration trop verdâtre de l'huile se traduisant par un excès d'amertume et l'obtention d'une huile ayant une saveur caractéristique dénommée «feuilles vertes» ou «fruité vert herbacé» qui ne plaît pas toujours aux consommateurs (Chimi, 2001).

Après l'effeuillage, il convient de procéder au lavage des olives, pour les débarrasser de toutes les impuretés (terre, poussière, résidu des produits phytosanitaires, brindilles et les corps étrangers) (**Chimi, 2001**).

d) Broyage et malaxage :

Les olives propres sont soumises à un broyage poussé qui provoque, d'une part la rupture des cellules de la pulpe afin de provoquer la sortie de l'huile des vacuoles, et d'autre part le concassage du noyau (**Giovachino, 1991**). Cette opération est effectuée soit par des broyeurs à meules dans les huileries à système de pression, soit par des broyeurs métalliques (à marteaux, à dents, à disques, à cylindres ou à rouleaux) (**Pagès-Xatart-Parès, 2012**).

Après le broyage, la pâte obtenue subit un malaxage qui rend l'ensemble plus homogène avec la coalescence des gouttelettes d'huile (**Veillet, 2010 ; Pagès-Xatart-Parès, 2012**). Elle s'effectue au moyen d'un équipement dénommé malaxeur, muni d'un système permettant le réchauffement contrôlé et adéquat de la pâte pendant un temps donné de brassage continu et lent (**COI, 2006**).

e) Procédures d'extraction de l'huile d'olive :

Différents processus technologiques sont utilisés pour extraire l'huile des pâtes d'olive malaxées qui sont :

➤ Procédé discontinu par presse:

C'est un système d'extraction discontinu utilisant des presses métalliques à vis ou hydrauliques. L'huile est extraite de la pâte d'olive et l'eau de végétation ainsi que le grignon d'olive sont produits en parallèle (**wiesman, 2009**).

Les opérations de broyage et de pressage des olives exposées à l'air libre provoquent l'oxydation des acides gras insaturés. Par conséquent, les hydroperoxydes formés peuvent se décomposer en produits volatils conduisant à un état de rancissement oxydatif de l'huile (**chimi, 2006**).

➤ Procédé continu par centrifugation :

La centrifugation est une méthode plus rapide et plus efficace avec un gain significatif de productivité, ce système exploite les différences existant entre les poids spécifiques de la phase solide (grignon) et les phases liquides (huile et margines). Il existe une centrifugation à 2 phases et une autre à 3 phases (**chimi, 2006**).

➤ **Procédé par sinoléa :**

Le sinoléa se compose d'un façonnage semi-cylindrique d'acier inoxydable avec beaucoup de petites lames se déplaçant par des fentes dans le façonnage. Lorsque les lames plongent dans la pâte d'olive avec un lent mouvement et sans interruption, elles sont enduites de l'huile, et quand celle-ci sont retirées l'huile s'égoutte, qui sera récupérée dans un bac opaque (Aparcio et Harwood, 2013).

II) Huile d'olive :

II-1) Définition et classification :

L'huile d'olive est celle provenant uniquement du fruit de l'olivier (*olea europaea L*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec d'autres huiles (COI, 1999). Ce produit, est un véritable jus de fruit avec l'excellente qualité alimentaire, sensorielle et fonctionnelle, c'est l'élément de base pour le régime méditerranéen (Longobardi et al., 2012).

Sa qualité dépend, en plus de la qualité des olives utilisées, du système d'extraction, de l'origine et de la zone de production, de la variété des olives ainsi que de leur stade de maturité (Amamon, 1999).

Selon le COI (2015), l'huile d'olive est classée en différentes catégories :

a) Les huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état :

- *Huile d'olive vierge extra*, dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 g pour 100g.
- *Huile d'olive vierge*, qui est obtenue du fruit de l'olivier par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions thermiques n'entraînant par l'altération de l'huile. Elle est claire, de couleur jaune à vert, d'odeur ou de saveur spécifique, dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 g pour 100g.
- *Huile d'olive vierge courante*, dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est de 3,3 g pour 100 g.

b) Les huiles d'olives vierges lampantes :

Sont des huiles qui ne sont pas propres à la consommation dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieur à 3,3g pour 100g.

- *Huile d'olive raffinée*, qui est obtenue par des techniques de raffinage des huiles d'olive vierges impropres à la consommation sans entraîner l'altération de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0.3g pour 100g.
- *Huile d'olive (huile d'olive courante)*, qui est constituée par le coupage de l'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1g pour 100g.

À côté des catégories citées, on trouve *l'huile de grignon d'olive* qui est obtenue par traitements aux solvants de grignon d'olives, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autres natures.

II-2) Composition chimique :

II-2-1) Fraction saponifiable :

Elle représente les composés majeurs de l'huile et elle est constituée fondamentalement d'acides gras et de glycérols (**Benlemlih et Ghanam, 2012**).

a) Les acides gras :

La composition en acides gras totaux est un paramètre de qualité et d'authenticité des huiles d'olives. Comparé à d'autres huiles végétales, l'huile d'olive est caractérisée par sa richesse en acides gras monoinsaturés, et une faible teneur d'acides gras saturés (**Ajana et al., 1998; Salas et al., 2000; Keceli et Gordon, 2001**).

L'huile d'olive présente un profil en acides gras dominé par l'acide oléique; peu d'acides gras saturés; modérément d'acides linoléiques et pratiquement pas d'acides linoléiques. Le tableau II donne la composition de l'huile en acides gras, exprimée en pourcentage.

a) Les 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 %).

Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont : trioléine (OOO : 47,54 à 58,34%), dioléopalmitine (POO : 18,72 à 21,81%), dioléolinoléine (OOL : 15,10 à 20,96%), palmitooléolinoléine (POL : 3,16 à 6,94 %) et dioléostéarine (SOO : 2 à 5 %) (**Tanouti et al., 2011**).

Tableau II : Teneur en acides gras de l'huile d'olive (**Harwoode et Aparicio,2000**).

Acides gras	Teneurs %
Acides myristique	≤ 0,05
Acides palmitique	7,5-20
Acide palmitoléique	0,3-3,5
Acide heptadecanoïque	≤ 0,3
Acide heptadécénoïque	≤ 0,3
Acide stéarique	0,5-5,0
Acide oléique	55-83
Acide linoléique	3,5-21
Acide linoléique	≤ 1
Acide arachidique	≤ 0,6
Acide eïcosanoïque	≤ 0,4
Acide béhénique	≤ 0,3
Acide lignocérique	≤ 0,2

II-2-2) Fraction insaponifiable :

Les insaponifiables représente 0,4 à 0,8 % dans l'huile d'olive vierge et 1à 2 % dans l'huile de grignon d'olive. Cette fraction comprend de nombreux composés mineurs à fonctions divers tels que les composés phénoliques, les tocophérols, les stérols, les composés aromatiques, les chlorophylles et les caroténoïdes (**Benlemlih et Ghanam,2012**). Ces composés jouent un grand rôle dans l'arôme de l'huile d'olive vierge, et sa qualité dont les principaux sont :

- Les phytostérols :

Ce sont des constituants importants d'huile d'olive qui représentent la principale portion de sa partie insaponifiable. Ils contribuent d'une manière significative à la valeur nutritionnelle du produit, comme ils possèdent des effets anti-inflammatoires, anti-cancérigènes et hypocholestérolémies (**Lukić et al., 2013**). Dans l'huile d'olive brute les phytostérols prédominants sont le sitostérol et le stigmastérol(**Cañabate-Díaz et al.,2007**).

- Les substances aromatiques :

La feuille et le fruit de l'olivier sont connus pour leur résistance naturelle aux microbes et aux insectes, cela est dû aux composés aromatiques, qui sont classés en hydrocarbures, aldéhydes, cétones, esters, phénols, thioterpènes et dérivés de furfuranne, responsables de la flaveur et du goût caractéristique de l'huile d'olive (Hassouna,2010).

- Les tocophérols :

Les tocophérols ou la vitamine E sont des composants importants de l'huile d'olive en raison de leur contribution à sa stabilité oxydative et à sa qualité nutritionnelle. Ils agissent comme inhibiteurs de l'oxydation lipidique (Koustsftaki et al., 2002).

Un certain nombre de travaux ont démontré que l'huile d'olive vierge est plus sensible à l'oxydation qu'une huile de tournesols ou mélange de ces deux huiles, cela a été expliqué par le fait que, la cinétique de dégradation des tocophérols était plus importante en présence d'acides gras mono-insaturés que polyinsaturés (Rahmani, 1990).

Ces molécules, sont représentées essentiellement par une grande quantité de α -tocophérol et une faible quantité de β et γ -tocophérol. Leurs teneurs dépendent étroitement de la variété et du degré de maturité des fruits (Quiles et al., 2002).

- Les pigments :

La couleur de l'huile d'olive est dépendante de sa composition en pigments, qui est considérée comme un paramètre de qualité (Matos et al., 2007a). Cette couleur verdâtre à jaune est due essentiellement à la présence des chlorophylles, des phéophytines et des caroténoïdes. Les propriétés anti-oxydantes et pro-oxydantes ont été attribuées à ces molécules (Boskou, 2010).

Les figures 1 et 2 illustrent les structures chimiques de principaux chlorophylles et caroténoïdes, respectivement, trouvés dans l'huile d'olive.

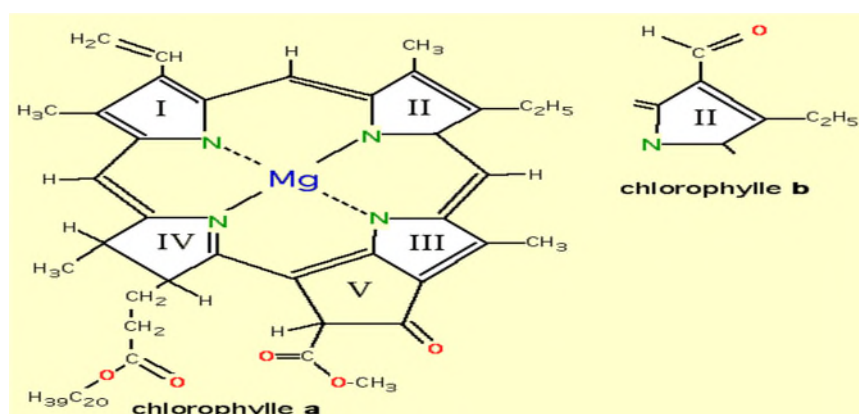


Figure 1 : Structures chimiques des chlorophylles a et b de l'huile d'olive (Levent, 2011).

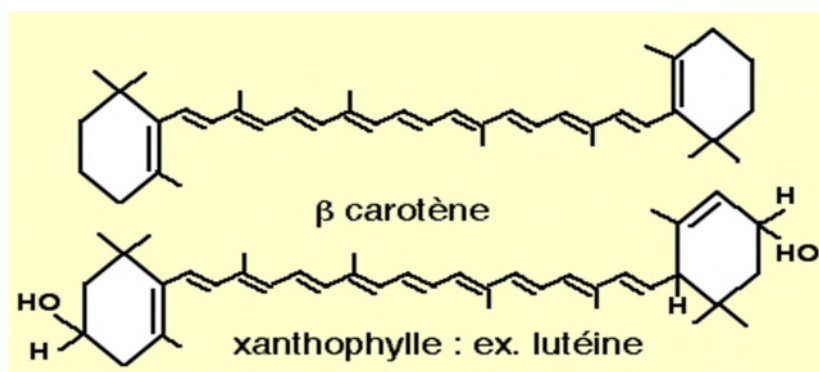


Figure 2: Structure chimique des principaux caroténoïdes présents dans l'huile d'olive (Gunstone, 2011).

- Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou polyphénols regroupent un ensemble de molécules, qui présentent dans leur structure au moins d'un cycle aromatique à 6 carbones lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles. Leur classification est basée sur le nombre et la nature des substituants (Hennebelle *et al.*, 2004).

Ces composés font partie des antioxydants naturels de l'huile d'olive, et ils sont importants dans l'évaluation de la qualité de cette huile vu leur implication dans la stabilité auto-oxydative et leur caractéristique organoleptique (Esti *et al.*, 1998).

- Les hydrocarbures :

Parmi ces substances, on trouve le squalène ($C_{30}H_{50}$), qui est présent en grande quantité dans l'huile d'olive (136 à 780 mg/100g d'huile) et le β -carotène, à action vitaminique A et antioxydant, à des taux variables (85 à 90% de la fraction totale des hydrocarbures) (Simopolous, 1995).

II-3) Les Principaux facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive :

L'huile d'olive est la résultante d'une série d'interaction entre facteurs génétiques, environnementaux, qui marque aussi bien la phase de développement et de maturation du fruit que sa transformation (Inglesse, 1996).

II-3-1) Facteurs génétiques :

L'huile d'olive est extraite à partir des fruits de différentes variétés d'olives, chaque cultivar montre des caractéristiques physiques et biochimiques spécifiques (Matos *et al.*, 2007). L'influence de la variété sur la composition chimique de l'huile pourrait être

considérée comme « directe » si elle fait référence à des variations spécifiques des constituants individuels à degré de maturation égale, et comme « indirect » si elle est liée à des variations de la maturation des fruits (Inglesse, 1994).

II-3-2) Facteurs environnementaux :

a) Le climat :

La culture de l'olivier est une culture très sensible aux températures hivernales inférieures à 0° C et même pour des températures inférieures à 10° C qui contribuent à l'arrêt du processus de fécondation pendant la période de floraison. Ceci affecte la fécondation des fleurs et la réduction de la production de l'arbre. Cependant, les hautes températures au printemps et en été provoquent la chute précoce des fruits et un ralentissement du processus de grossissement de ces derniers, à cause de l'effet excessif de l'évapotranspiration. Cela a des retombées négatives sur la qualité et la quantité d'huile extraite (Çavusoglu et Oktar, 1994).

b) Le sol :

La salinité du sol affecte la teneur en acide gras, et en particulier le rapport acide oléique/acide linoléique, ce qui conduit à l'abaissement de la stabilité de l'huile et du rapport acide gras mono insaturé/acide gras polyinsaturé. De même, l'exposition excessive à l'azote abaisse la teneur en polyphénols totaux, et la limitation de certains éléments (phosphore, potassium...) peut avoir un effet négatif sur la qualité d'huile d'olive obtenue (Aparicio et Harwood, 2013).

c) L'irrigation :

Les besoins de l'olivier en eau varient suivant la nature du sol et sa capacité de retenir l'eau, et aussi de la température du milieu. L'irrigation a un effet remarquable, surtout, sur la composition de l'huile, car elle provoque une légère augmentation des acides palmitique, oléique et linoléique (Ouaouich et chimi, 2007).

d) La maturation :

L'indice de maturité est un paramètre important dans la différenciation variétale (Sanchez casas et al., 1999). Il augmente avec la maturation des olives. Par exemple, la teneur totale en composés phénoliques diminue au cours du processus alors que, les teneurs en acide oléique, stéarique et linoléique augmentent (Ait yacine et al., 2002).

II-3-3) Facteurs agronomiques :

a) La récolte :

La récolte est une étape cruciale et décisive. Si les olives sont abîmées, même légèrement marquées ou écrasées, le goût de l'huile en pâtira, c'est pourquoi, dans beaucoup d'oliveraies, les fruits sont encore cueillis à la main, il s'agit là d'un travail minutieux et fatiguant, une fois l'olive au bout des doigts il la pose délicatement dans son panier en osier ou en toile qu'il porte en bandoulière autour du cou ou de la taille (Fouin et Sarfti, 2002).

b) Transport et stockage des olives :

Au moment du stockage, les olives risquent aussi de s'abîmer, entassées les unes sur les autres, elles peuvent moisir, s'oxyder et perdre de leur arôme au contact de l'air. Les fruits doivent être impérativement livrés et transportés au moulin dans un délai de quatre jours après récolte (Fouin et Sarfti, 2002).

II-3-4) Facteurs technologiques :

Le système d'extraction constitue un paramètre déterminant pour juger la bonne qualité de l'huile d'olive (Dhifi et al., 2002). Les huiles produites par système de centrifugation à deux phases sont de bonne qualité par rapport à celles produites par système de centrifugation à trois phases et le système à presse, du point de vue stabilité oxydative et organoleptique. En effet, l'huile extraite par ces deux derniers systèmes se trouve appauvrie en composés phénoliques et aromatiques, et par conséquent une faible résistance à l'oxydation. Cependant, les huiles obtenues par le système à deux phases se caractérisent par leur richesse en antioxydants notamment en polyphénols totaux et en *ortho*-diphénols (Chimi, 2006).

I) Les antioxydants de l'huile d'olive

L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydoréduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les antioxydants sont capables de stopper ou de retarder ces réactions, en se réduisant avec les radicaux libres et annulant ainsi leur action. Ces propriétés se trouvent beaucoup dans les familles des thiols et des phénols. Les antioxydants les plus connus dans l'huile d'olive on trouve : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols.

I-1) Les tocophérols :

La grande stabilité des huiles végétales, dans les conditions d'oxydation, est due à la présence d'un taux élevé d'antioxydants naturels dont les plus importants sont les tocophérols qui se présentent sous quatre formes isométriques : α , β , δ et γ . Ces composés protègent contre l'oxydation naturelle des acides gras, en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI) **Sebie et al. (2007)** ont signalé qu'une molécule de tocophérol peut protéger 103 à 106 molécules d'AGPI. Son activité anti-oxydante repose principalement sur l'existence du système de réduction tocophérol-tocophérylquinone. En effet, une molécule de tocophérol peut réduire deux radicaux lipidiques en formant une molécule de l' α -tocophérylquinone. En revanche, deux radicaux tocophéryls peuvent s'associer entre eux pour former des dimères qui peuvent avoir des propriétés antioxydantes.

Certains auteurs ont démontré que pour les huiles végétales, il y'a une corrélation positive entre l' α -tocophérol et l'acide linoléique (C18:2) et probablement entre le γ -tocophérol et l'acide linoléique (C18:3). Il y'a une indépendance complète entre les teneurs en tocophérol et les taux des acides gras saturés (C16:0 et C18:0) et monoinsaturés (C16:1 et C18:1) (**Sebie et al., 2007**).

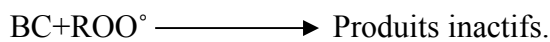
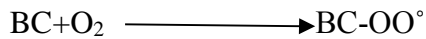
I-2) Les caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont, avec la chlorophylle et les anthocyanes, les pigments les plus répandus dans la nature. A ce jour, plus de 600 caroténoïdes ont été identifiés, mais seule une quarantaine est retrouvée régulièrement dans l'alimentation humaine, dont certains ainsi que leurs métabolites ont été identifiée dans le plasma et les tissus humains. Six caroténoïdes sont majoritaires : β -carotène, lycopène, lutéine, β -cryptoxanthine, α -carotène et zéaxanthine.

Le β -carotène est le plus important des caroténoïdes. Il a longtemps été étudié pour son activité de provitamine A. Cependant, tous les caroténoïdes ne peuvent pas être convertis en vitamine A.

Les caroténoïdes peuvent agir en tant qu'antioxydants selon plusieurs mécanismes

- Ils sont capables de bloquer les chaînes de réactions radicalaires, selon les équations 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 (**Justine Pastre, 2005**).

I-3) Les composés phénoliques:

Les composés phénoliques sont constitués de trois grandes catégories: Les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins. Dans la nature, on les retrouve sous forme d'esters ou plus généralement sous forme d'hétérosides (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Ces composés peuvent être regroupés dans plusieurs classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C_6 à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, et de méthylation...). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines....) (**Herbert, 1989**).

II) Mécanismes d'action des antioxydants:

Selon **Kouame (2004)**, deux mécanismes peuvent retarder la réaction d'oxydation :

- Soit intercepter les radicaux libres responsables de la réaction en chaîne.
- Soit éviter la décomposition des hydroperoxydes.

Ces réactions fournissent la base de classification des antioxydants sous forme primaire ou secondaire selon leur mécanisme d'action.

II-1) Les antioxydants primaires ou distributeurs de chaîne:

Ils sont caractérisés par la possession d'atomes d'hydrogènes et ils jouent le rôle d'évacuateurs de radicaux. Dès lorsqu'ils fonctionnent au stade de la propagation, leur action est essentiellement palliative. On notera bien que les antioxydants primaires sont consommés

au cours de la transformation. Les phénols, dont l'activité stérique est réduite, et les amines aromatiques secondaires constituent les deux classes chimiques les plus importantes dans cette catégorie (Yaacoubi, 2009).

II-2) Les antioxydants secondaires :

Ils fonctionnent au moyen de la décomposition des hydroperoxydes en produits inertes, et évitent ainsi ou ralentissent le taux d'initiation de la chaîne. Pour cette raison, on fait, parfois référence aux antioxydants secondaires sous le nom d'antioxydants préventifs. Ces molécules sont presque toujours utilisées en conjonction avec les antioxydants primaires, ils sont connus également sous le nom d'agents synergiques dont les plus connus ce sont les phosphites et les thioesters (Yaacoubi, 2009).

III) Efficacité des antioxydants:

Les antioxydants les plus efficaces sont ceux qui ont les énergies de liaison les plus faibles au niveau du groupe donneur d'hydrogène. Cette efficacité est due en particulier à la stabilisation des radicaux phénoxyliques par la délocalisation des électrons autour du cycle aromatique. Comme elle dépend du nombre de fonction OH à hydrogène labile (Yaacoubi, 2009).

IV) Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante:

a) Test DPPH• :

Le principe du test DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) est basé sur la décoloration du DPPH, qui traduit la réaction positive du radical DPPH• avec les antioxydants dans le milieu dont le DPPH• est converti en DPPH (MartysiàK-ZurowsKa et wenta, 2012). La réduction de ce radical par un donneur d'atome H venant de l'antioxydant à tester AH conduit à la formation de la 2,2-diphényle-1-picrylhydrazine incolore DPPH-H et au radical A°.



b) Test ORAC :

La méthode ORAC (ou Oxygène Radical Absorbance Capacity) est basée sur la décroissance de la fluorescence de la fluorescéine en présence d'un oxydant chimique l'AAPH (un radical peroxy libre stable). Le produit à tester peut être capable de protéger la fluorescéine et réduire la vitesse de dégradation de la fluorescence. Il possède alors un pouvoir antioxydant (Zuleta et al., 2009).

c) Test ABTS (ou TEAC):

Trolox Equivalent Antioxydant Capacity ou test ABTS^{•+} Decolorization Assay. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de

coloration bleu-verte en le transformant en ABTS⁺ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant (Zuleta *et al.*, 2009).

d) Test FRAP:

Le test de la réduction du Fer (FRAP : Ferric reducing power) est un essai simple, rapide et reproductible. Il est universel et peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux. Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Perreira-Caro *et al.*, 2009).

e) Test DMPD^{•+}:

Cette méthode est basée sur la capacité de l'antioxydant à empêcher la formation du radicale (Gülçin *et al.*, 2010). En présence de Fe³⁺, les antioxydants peuvent transférer un atome d'hydrogène au DMPD⁺, ayant pour résultat une décoloration de la solution mesurée par la diminution de l'absorbance à 505 nanomètre (Gülçin *et al.*, 2010).

f) Méthode au β -carotène-linoléate:

Mesure le degré de dégradation du β – carotène par les produits de dégradation de l'acide linoléique (Gorinstein *et al.*, 2003 ; Samaniego-Sanchez *et al.*, 2007). La méthode met en jeu la dégradation oxydative du β -carotène en présence d'acide linoléique, elle est mesurée selon la méthode décrite par (Gorinstein *et al.*, 2003).

g) Test Chimiluminescence:

Ce test fonctionne avec un composé, le luminol, qui émet des photons lumineux en présence de radicaux libres. Ces photons sont quantifiés en RLU (Relative Light Unit) par un luminomètre. En présence d'antioxydants, les radicaux libres n'activent plus le luminol, et le signal lumineux diminue. La capacité antioxydant est exprimée en équivalent d'antioxydant standard (équivalent d'acide caféique/g d'extrait) (Miniotti et Georgiou, 2008).

V) Effet des antioxydants sur la santé humaine:

Lors de la photosynthèse, les plantes fabriquent des substances antioxydantes pour se protéger des effets délétères des radiations solaires. Par conséquent, des vitamines C et E, des caroténoïdes et des enzymes (catalases, peroxydases) sont synthétisés. De plus, ces plantes élaborent des flavonoïdes qui préviennent l'oxydation. Ces substances jouent deux rôles au niveau de la plante: Celui d'un filtre solaire et celui d'un antioxydant vis-à-vis des radicaux

libres produits par les radiations. Tous ces antioxydants sont directement assimilables par notre organisme (**Charbonnier, 1996**).

➤ **Les effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé:**

Les huiles végétales contiennent des acides aminés saturés, semblables à ceux d'origine laitière comme le beurre. L'huile d'olive par contre, riche en acides gras mono-insaturés, est responsable des bienfaits cardiovasculaires, elle diminue la sécrétion acide de l'estomac, et l'acide oléique permet aussi d'améliorer l'absorption intestinale de calcium et de la vitamine D (**Bosetti, 2000**).

Des études réalisées en Grèce et à Harvard ont mis en évidence une réduction de plusieurs types de cancers lors de la consommation d'huile d'olive tels que ; les cancers du sein, du colon, de l'épidermoïdes, de l'œsophage et de la prostate (**Bosetti, 2000**). Cela grâce à sa forte proportion en AGMI et en antioxydants.

Des études épidémiologiques démontrent que le régime méditerranéen, riche en huile d'olive, est associé à une diminution des valeurs de la pression artérielle (**Costa, 2002**). Le seul facteur nutritionnel significativement influant sur la densité osseuse est la consommation régulière d'huile d'olive (**Charbonnier, 1996**).

Remplacer les graisses saturées par des graisses mono-insaturées, réduit le cholestérol LDL, en réduisant ainsi le risque cardiovasculaire. Néanmoins, tous les effets bénéfiques de la consommation d'huile d'olive ne sont pas dus à l'acide oléique. D'autres composants secondaires de l'huile d'olive ont des effets bénéfiques sur la santé. IL a été démontré que l'oleuropéine et le tyrosol inhibent l'oxydation in vitro des LDL (**Stéphanie, 2003**).

I) Matériel végétal :

La présente étude porte sur des échantillons d'huile d'olives issues des trois variétés d'olives: *Azerradj*, *Chemlal* et *Limli*, provenant de la région Seddouk (ferme privée) de la wilaya de Bejaïa, dans le but d'effectuer les analyses physico-chimiques ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante de ces huiles et de leurs coupages (mélanges).

I-1) Echantillonnage:

La récolte des olives est faite durant la fin du mois de décembre 2014, à la main et autour de l'arbre. Les olives de chaque variété sont effeuillées, une partie est utilisée pour la détermination de l'indice de maturité, du poids des fruits et de la teneur en eau, le reste est utilisé pour l'extraction de l'huile.

Après effeuillage, triage, et lavage des olives, l'huile est extraite à l'aide d'un Oléodoseur au niveau de L'ITAFV (Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne), situé à Takerietz, commune de Souk-Oufella, wilaya de Bejaïa. L'extraction est faite suivant les étapes ci-après:

- Broyage des olives par un broyeur à marteau,
- Malaxage de la pâte dans des bacs en inox tournant pendant 40min,
- Centrifugation par une centrifugeuse verticale à panier pendant 40 seconds.

Après décantation, les huiles sont recueillies dans des flacons en verre fumé, étiquetés et stockés à 4°C dans l'attente d'être Analysées.

I-2) Préparation des échantillons:

À partir des trois variétés d'huiles d'olive, nous avons préparé d'autres échantillons d'huiles à différents rapports : V/V, 1V/2V, 1V/3V, 3V/1V, 2V/1V et V/V/V.

II) Méthodes d'Analyses:

II-1) Analyses effectuées sur les olives et les pâtes :

II-1-1) Indice de maturité:

L'indice de maturité est un paramètre qui peut nous renseigner, d'une façon globale, sur la maturité des fruits (**Ajana et al., 1999**). Sa détermination 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 cent fruits (100), choisis au hasard, une notation visuelle a été réalisée (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). Alors, l'indice de maturité (IM) des olives est calculé comme suit:

$$IM = \frac{A0 + B1 + C2 + D3 + E4 + F5 + G6 + H7}{100}$$

Où A, B, C, D, E, F, G et H sont le nombre de fruits, et les chiffres de 0 à 7 représentent:

0:épiderme vert intense;

1:épiderme vert Jaunissant;

2:épiderme vert avec taches rougeâtres;

3:épiderme rougeâtre à violet;

4:épiderme noir à pulpe blanche;

5:épiderme noir et pulpe violette sur moins de la moitié de la pulpe;

6:épiderme noir et pulpe violette sur plus de la moitié de la pulpe;

7:épiderme noir et pulpe entièrement violette.

II-1-2) Poids moyen des olives:

Le poids moyen des olives permet d'évaluer la grosseur du fruit. Un échantillon de cent fruits est prélevé au hasard puis pesé par une balance analytique (El Antari *et al.*, 2003).

II-1-3) Taux d'humidité de la pâte et des fruits:

Taux d'humidité ou teneur en eau est la perte de masse que subit l'échantillon, après séchage à une température voisine de 105°C, dans une étuve isotherme et à une pression atmosphérique, jusqu'à stabilisation du poids (Agar *et al.*, 1998).

Ce taux est exprimé en pourcentage massique selon la formule ci-après:

$$H (\%) = (P_0 - P_1 / P_0) \times 100$$

H(%): Taux d'humidité de l'échantillon (exprimé en pourcentage);

P₀: Poids de l'échantillon avant séchage (g);

P₁: Poids de l'échantillon après séchage (g).

II-1-4) Détermination de la teneur en huile par Soxhlet:

Le rendement en huile est déterminé par rapport aux caractéristiques des fruits d'olives et de la pâte, par extraction sur Soxhlet avec de l'hexane COI (2011).

Après broyage des olives, la pâte obtenue subit un séchage puis broyée pour obtenir une poudre, et on va la mettre dans des cartouches placées dans l'appareil de Soxhlet, à

45°C pendant 6 heures. Le rendement en huile **R(%)** est déterminé, après évaporation totale du solvant et obtention d'un poids constant, selon la formule suivante:

$$R (\%) = \frac{M_0 - M_1}{M_0} * 100$$

Où:

M₀: masse de la prise d'essai de la pâte (10g);

M₁: masse de l'extrait après séchage (g).

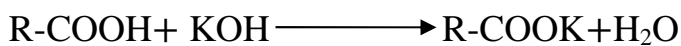
II-2) Analyse sur l'huile:

II-2-1) Indices de qualité:

II-2-1-1) Acidité:

L'acidité, nous renseigne sur le degré d'hydrolyse et le taux d'acide gras libres présents dans une huile. Selon la nature des matières grasses, elle est exprimée en acide oléique dans le cas de l'huile d'olive (**U.I.C.P.A, 1979**).

Le principe est basé sur la neutralisation d'une quantité connue de matière grasse avec une solution d'hydroxyde de potassium préparée dans l'éthanol à une normalité bien déterminée, pour donner des savons comme l'explique la réaction suivante (**AFNOR, 1984**):



(Acide gras)

(Savon)

A 5g d'huile d'olive on ajoute 20ml d'éther-diéthylique/éthanol(V/V). Après agitation on titre le tout avec une solution de KOH (0,1N) en présence de phénolphtaléine (1%) jusqu'au virage de l'indicateur coloré et apparition d'une couleur rose, persistante pendant au moins 10 secondes, un essai témoin a été réalisé dans les mêmes conditions. L'acidité est exprimée en pourcentage en poids d'acide oléique, et elle est donnée par la formule suivante:

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

V et V₀: Volumes des solutions de KOH nécessaires pour neutraliser l'échantillon et le blanc respectivement (ml) ;

N: Normalité de l'hydroxyde de potassium utilisé pour titrer l'échantillon (0,1N) ;

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

m: masse de la prise d'essai (5g).

II-2-1-2) Indice de peroxyde:

Cet indice représente la quantité de substances contenues dans un Kilogramme de produit, exprimée en milliéquivalents d'oxygène, qui oxydent l'iodure de potassium. Il permet la mesure quantitative des hydroperoxydes, du degré d'altération ainsi que d'évaluer l'état de fraîcheur des huiles (**Tanouti et al., 2011**).

2g d'huile d'olive sont mélangés avec 10ml de chloroforme, tout en agitant afin de dissoudre l'huile; ensuite 15ml d'acide acétique glaciale et 1ml d'iodure de potassium saturé (KI) sont ajoutés. Après agitation et incubation à l'obscurité pendant 5 min, 75ml d'eau distillée sont additionnée, en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon (0,1%). Le tout est titré avec le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$) à 0,01N, en agitant vigoureusement jusqu'à disparition de la couleur. Un essai à blanc est effectué simultanément et l'indice de peroxyde est donné par l'expression ci-après:

$$I_p = N (V - V_0) \times 1000 / m \text{ (meq d'O}_2\text{/Kg)}$$

Où:

N:Normalité de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$) (0,01N);

V, V₀: Volumes de $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$ nécessaires pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à blanc, respectivement (ml);

m:masse en de la prise d'essai (2g).

II-2-1-3) Analyse de l'Absorbance spécifique dans l'ultraviolet:

Cette méthode consiste à déterminer les absorbances à 232nm et à 270nm qui correspondent au maximum d'absorbance des hydroperoxydes et des produits secondaires d'oxydation respectivement (**U.I.C.P.A, 1979**).

L'extinction spécifique est déterminée selon la méthode décrite par le **COI (2003)**.Après filtration des échantillons d'huile d'olive, on prend 0,1g dans une fiole de 10ml, qui sont ajustés avec du cyclohexane. L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes 232nm et 270nm. Les coefficients d'extinction K_{232} et K_{270} sont exprimés par l'équation suivante:

$$K = \frac{A\lambda}{CI}$$

Où:

K:Extinction spécifique à la longueur d'onde λ ;

A λ :Absorbance mesurée à la longueur d'onde λ ;

C:La concentration de la solution (g/100ml);

I:épaisseur de la cuve en centimètre.

II-2-2) Dosage des pigments: Chlorophylles et caroténoïdes :

Le protocole décrit par **Minguez-Mosquera et al.(1991)**,est adopté pour estimer la teneur des pigments (chlorophylles et caroténoïdes).Pour cela, 3g d'huile d'olive sont filtrées et introduits dans des fioles de 10 ml.Le volume est ajusté au trait de jauge avec de cyclohexane et l'absorbance est mesurée à 670 nm (pour les chlorophylles) et à 470 nm (pour les caroténoïdes) contre un tube témoin contenant le cyclohexane.

Les teneurs en chlorophylles sont déterminées par la formule suivante:

$$\text{Chl (ppm)} = \text{Abs}_{670} \times 10^6 / 613 \times 100 \times I$$

Où:

Chl: La teneur en chlorophylle (ppm);

Abs: Absorbance à la longueur d'onde indiquée (670nm) ;

I:Epaisseur de la cuve (1 cm);

613:Coefficient spécifique de la phéophytine a comme standard.

Les teneurs en caroténoïdes sont exprimées par la formule suivante :

$$\text{Carot (ppm)} = \text{Abs}_{470} \times 10^6 / 2000 \times 100 \times I$$

Carot : Teneur en caroténoïde (ppm);

Abs : Absorbance à la longueur d'onde indiquée (470nm) ;

I : Epaisseur de la cuve (1cm) ;

2000 : Coefficient spécifique de la lutéine comme standard.

II-2-3) Extraction et dosage des composés phénoliques :

II-2-3-1) Préparation de l'extrait méthanolique :

L'extraction des composés phénoliques est réalisée suivant le protocole décrit par **Favati et al.(1994)**.Un gramme d'huile d'olive filtrée est dissout dans 10 ml d'hexane.Cette solution est introduite dans une colonne d'octadecyl C₁₈ préalablement activée avec 6ml de méthanol et 10ml d'hexane. Les composés phénoliquessont récupérés en versant 8 ml du méthanol après lavage de la colonne avec 10ml d'hexane.

II-2-3-2) Dosage des composés phénoliques :

Le principe de la réaction de dosage des composés phénoliques est basé sur leur capacité de réduire les acides phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolybdique (H₃PM₁₂O₄₀), présent dans le réactif de Folin-Ciocalteu, en oxyde de tungstène et molybdène (couleur bleu) (**Vuorela, 2005**).

La détermination des polyphénols totaux dans nos extraits, est réalisée selon la méthode préconisée par **Favati et al. (1994)**. Dans des fioles de 10ml, sont mélangés 1ml d'extrait méthanolique, 2,5ml d'eau distillée et 0,25 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 minutes de réaction, 2ml de solution de carbonate de sodium (10%) sont ajoutés, le volume est ajusté à 10ml avec l'eau distillée. Après 90 minutes d'incubation à l'obscurité, le mélange est filtré et la lecture des absorbances est faite à 765nm, avec un tube témoin préparé dans les mêmes conditions.

Les concentrations en polyphénols totaux des échantillons analysés sont exprimées en μg d'équivalent d'acide gallique/g d'huile, en se référant à la courbe d'étalonnage préparée avec l'acide gallique comme standard (Annexe I).

II-2-3-3) Dosage des *ortho*-diphénols :

La méthode est basée sur la formation d'un complexe jaune entre les *ortho*-diphénols et les ions molybdates (**Olivier et al., 2004**).

La concentration en ces substances dans les extraits méthanoliques est déterminée suivant la méthode de **Bendini et al. (2003)**. 0,5ml d'extrait méthanolique est additionné de 5ml de méthanol-eau (V/V). À partir de ce mélange un volume de 4ml est prélevé dans lequel on ajoute 1ml de la solution de molybdate de sodium déshydraté à 5% préparé dans l'éthanol-eau (V/V). Le mélange est agité vigoureusement au vortex pendant 1min. L'absorbance est mesurée à 370nm, avec un témoin qui est préparé dans les mêmes conditions.

Les concentrations en *ortho*-diphénols des échantillons sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage (Annexe I) réalisée avec l'acide caféique comme standard. Ces concentrations sont exprimées en μg d'équivalent d'acide caféique /g d'huile.

II-2-4) L'indice d'amertume :

L'indice d'amertume est évalué, après extraction des composés amers de l'huile d'olive, suivant la méthode décrite par **Morello et al. (2004)**. Un échantillon d'huile d'olive filtrée (1g) est dissout dans 4ml d'hexane puis introduit dans la colonne d'octadecyle C_{18} préalablement activée (6 ml de méthanol et 10 ml d'hexane). Celle-ci est lavée avec 10ml d'hexane pour éliminer toute trace de gras et la fraction polaire retenue est éluée ainsi avec 25ml du méthanol-eau (V/V). L'absorbance est mesurée à 225nm contre un blanc qui est méthanol-eau (V/V). Les résultats sont exprimés en termes d'absorbance.

II-2-5) Etude de l'activité anti-oxydante :

II-2-5-1) Activité scavenger sur le radical DPPH' :

La technique au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est largement employée pour évaluer l'activité anti-oxydante. Elle est rapide et facile à mettre en œuvre comparée à d'autres méthodes. Elle s'effectue à température ambiante ce qui permet de préserver les molécules testées de l'éventuelle dégradation thermique.

La délocalisation d'un électron autour de la molécule de DPPH, qui est un radical stable, est responsable de sa couleur violette foncée, en présence d'une substance antioxydante et après libération d'un proton ou d'un électron, et lorsque un antioxydant réagit avec le radical DPPH', ce dernier est converti en DPPH. Alors on obtient une couleur jaune. L'effet antioxydant est évalué en observant une diminution de l'absorption à 515nm (Martysiak-Żurowska et wenta, 2012).

2,9 ml de la solution méthanolique du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) sont ajoutés à 0,1 ml d'extrait méthanolique d'huile d'olive. L'absorbance est mesurée à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité. Un témoin est préparé en mélangeant une quantité de la solution de DPPH avec la même quantité de méthanol.

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

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs_t - Abs_e) / Abs_t] \times 100$$

Abs_t et Abs_e sont les absorbances respectives du témoin et de l'échantillon.

II-2-5-2) Pouvoir réducteur :

Ce pouvoir mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} en présence d'un agent chromogène ferricyanure de potassium $K_3[Fe(CN)_6]$. Ceci se traduit par le virage de la couleur de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant (Chou et al., 2003).

Le protocole de Conde et al. (2009) est utilisé pour évaluer le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques. Un volume de 1 ml d'extrait est additionné de 1 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH = 6,6) et 1 ml de ferricyanure de potassium $K_3[Fe(CN)_6]$ à 1%. Après incubation à 50°C pendant 20 min, 1ml d'acide trichloracétique à 1% sont ajoutés au mélange puis, centrifugé pendant 10 min à 4600 tours/min. 1 ml du surnageant sont mélangés à 1 ml d'eau distillée et 0,2 ml de trichlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,1%. L'absorbance est mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation. La quantité d'antioxydants

ayant un pouvoir réducteur est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide caféique (Annexe I).

III) Etude statistique :

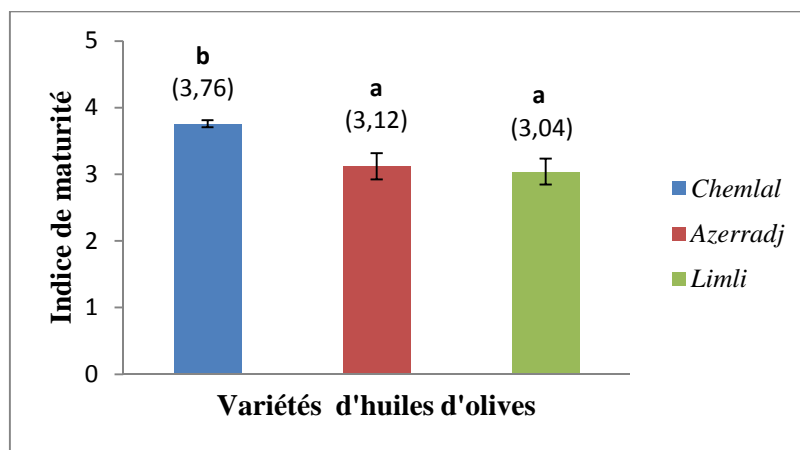
Les résultats obtenus pour chaque échantillon représentent la moyenne de trois essais. L'étude statistique a été réalisée pour la comparaison de ces résultats et la mise en évidence des différences significatives ou non entre les échantillons, et ce, pour chaque paramètre en appliquant une analyse de la variance (ANOVA) à l'aide d'un test LSD. Le seuil de signification des résultats est pris à la probabilité $p < 0,05$.

I- Analyses physiques :

I-1) Analyse des olives:

I-1-1) Indice de maturité :

L'indice de maturité est un paramètre très important qui nous renseigne sur la maturité du fruit et la date optimale de récolte. Les résultats obtenus, pour cet indice, pour chaque variété étudiée sont représentés dans la figure 3.



Les Barres verticales représentent les écarts-types
Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 3 : Indice de maturité de différentes variétés d'olives étudiées

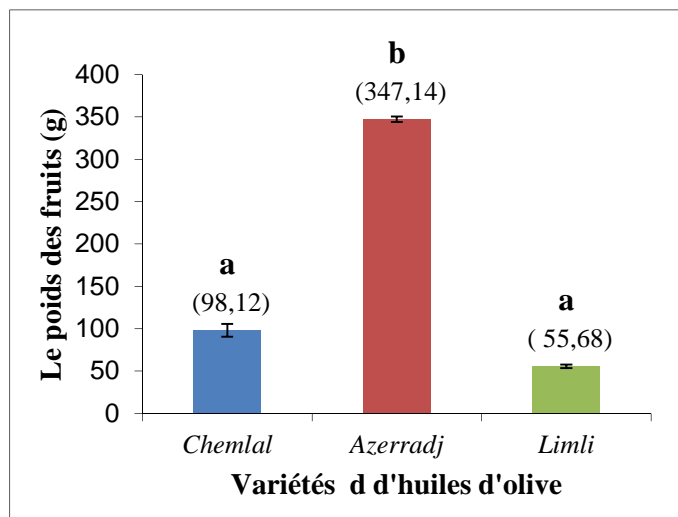
D'après les résultats obtenus (figure 3), l'analyse statistique révèle des différences significatives entre la variété *Chemlal* et les deux autres variétés (*Azerradj* et *Limli*). Les trois variétés étudiées sont dominées par la classe de maturité à épiderme rougeâtre ou violet clair.

En comparaison, ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus pour les variétés étudiées par **Sanchez-Casas et al. (1999)**. En effet, d'après ces auteurs, la variation d'indice de maturité d'une variété à une autre n'est pas due seulement à l'époque de récolte, car toutes les variétés ont été récoltées à la même période, mais plutôt à l'effet variétal, suite à des facteurs génétiques. Autrement dit, certaines variétés entrent en maturation plus vite que d'autres.

Ces différences peuvent être aussi liées à la variation des charges des oliviers par les olives, ce qui engendre une compétition entre ces fruits **El Antari et al. (2000)**.

I-1-2) Poids moyen des fruits:

Les résultats obtenus pour le calcul du poids moyen des trois variétés d'olives sont illustrés dans la figure 4.



Les Barres verticales représentent les écarts-types
Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 4 : Poids moyen des trois variétés d'olives.

A partir des résultats obtenus en figure 4, des différences significatives ($P < 0,05$) sont notées entre *Azerradj* (qui présente le poids le plus élevé) et les deux autres variétés (*Chemlal* et *Limli*) avec des faibles valeurs.

Par comparaison, nos résultats sont différents de ceux trouvés par **Abaza et al. (2002)** qui ont étudié les variétés tunisiennes. Ces différences peuvent être expliquées par plusieurs facteurs, en effet, selon **Ait Yacine et al. (2001)**, la quantité d'irrigation a une incidence positive sur le poids des drupes; une augmentation de 20 à 25 % du poids du fruit pour les échantillons d'arbres irrigués par rapport aux témoins non irrigués.

I-1-3) Taux d'humidité des fruits et des pâtes d'olives étudiées:

Les figures 5 et 6 représentent respectivement les résultats du taux d'humidité trouvés sur les fruits et les pâtes des trois variétés d'olives étudiées.

L'analyse statistique montre des différences significatives entre la variété *Limli* et les deux autres variétés (*Chemlal* et *Azerradj*) (figure 5). D'après la figure 6 la variété *Azerradj* révèle des différences significatives par rapport à les deux autres variétés.

D'après les résultats au dessus (les figures 5 et 6), on remarque que la variété *Limli* révèle des teneurs importantes en eau par rapport aux deux autres variétés (*Chemlal* et

Azerradj). Ces différences peuvent être expliquées par le cultivar sans oublier l'effet de l'irrigation des sols (Tovar *et al.*, 2002).

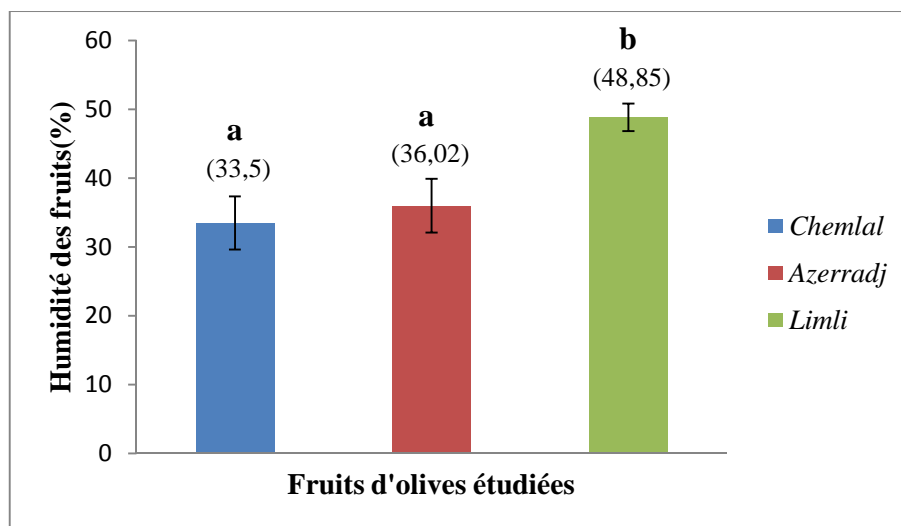
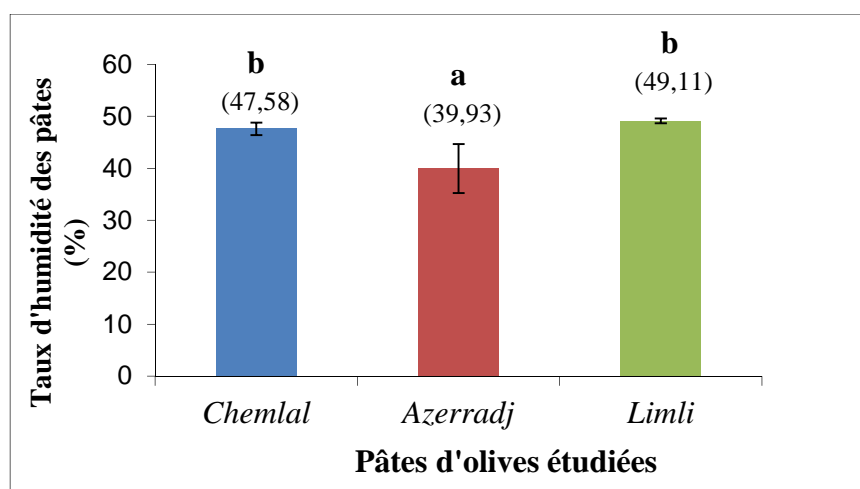


Figure 5: Taux d'humidité des fruits des variétés d'olives étudiées



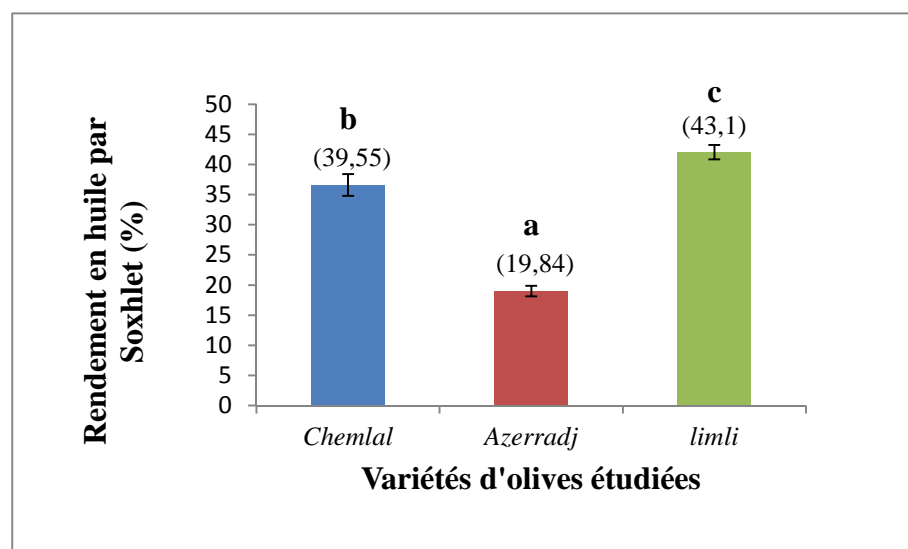
Les Barres verticales représentent les écarts-types
Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 6: Taux d'humidité des pâtes des variétés d'olives étudiées

I-1-4) Rendement en huile par Soxhlet:

La figure 7 représente La teneur en huile par Soxhlet des trois variétés d'olives étudiées.

Des différences significatives ($P < 0,05$) sont enregistrées entre les variétés *Azerradj*, *Chemlal* et *Limli* (figure au dessous). Le meilleur rendement a été présenté par la variété *Limli* (43,1%), suivi de la variété *Chemlal* (39,55%) et en dernier la variété *Azerradj* (19,84%).



Les Barres verticales représentent les écarts-types
 Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 7 : Rendement en huile par Soxhlet des variétés d'olives étudiées.

D'après **Lavee et wodner (2004)**, les petits fruits donnent des teneurs plus élevées en huile que les gros fruits et cela concorde avec nos résultats trouvés. De plus, par comparaison, nos rendements sont inférieurs à ceux obtenus par **Bourzah (2013)**, sur les mêmes variétés locales (*Chemlal* et *Azerradj*) dont les teneurs sont supérieures à 50 %.

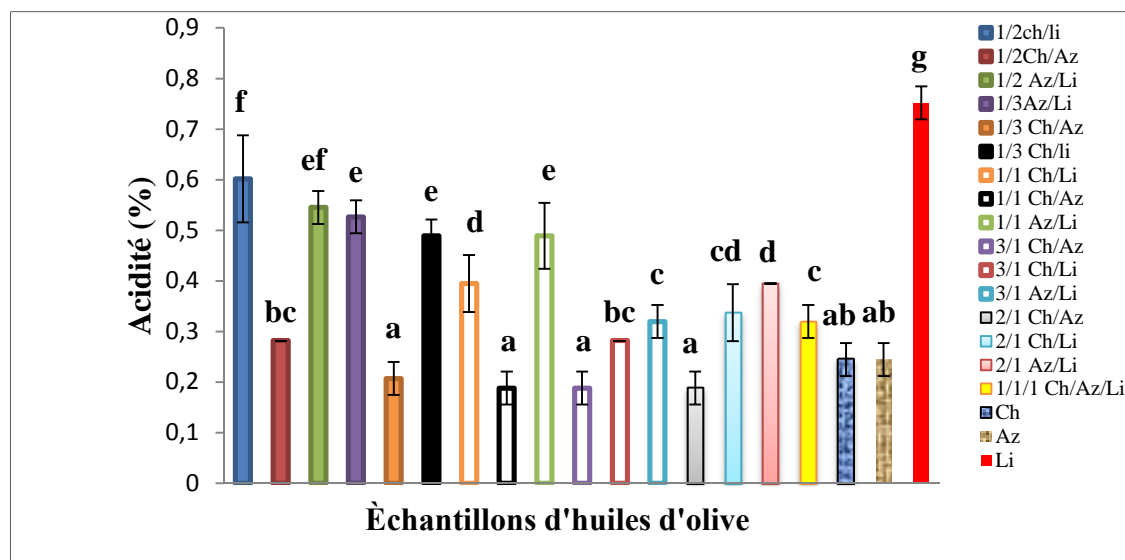
Selon les résultats de différentes études, menées par plusieurs auteurs, le rendement en huile des olives, peut être influencé par plusieurs facteurs tel que, le procédé d'extraction, les conditions agricoles appliquées, la variété utilisée ainsi que le degré de maturation des fruits (**Fuentes de Mendoza et al., 2013**).

D'après **Sanchez et ces collaborateurs (1999)**, une classification des variétés d'olives peut être établie par rapport à leur rendement après extraction, qui dépend de leur poids sec ; une variété avec un bon rendement c'est celle qui présente un taux supérieur à 46% ; une variété intermédiaire avec un taux de 38 à 46% ; et la dernière classe c'est celle qui a un rendement faible inférieur à 38 %.

II-Analyses sur l'huile:

II-1) Indices de qualité:

II-1-1) Acidité : La figure 8 présente les résultats de l'acidité des différents échantillons d'huiles (en % d'acide oléique).



Ch(Chemlal),Az(Azerradj),Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ;
Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 8: Acidité des différents échantillons d'huiles d'olive

L'acidité permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique, des chaînes d'acides gras des triglycérides (Abaza et al., 2002). C'est un critère qui permet aussi, de classer l'huile d'olive en différentes classes: vierge, extra vierge...

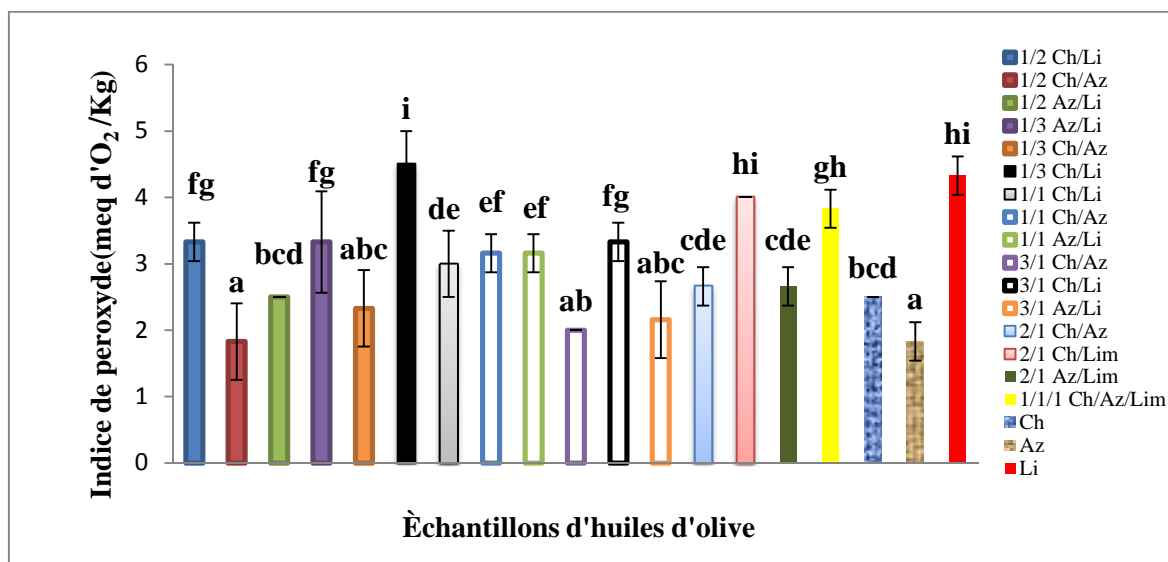
D'après les résultats consignés dans la figure 8, l'étude statistique montre des différences significatives entre la plupart des échantillons. Les valeurs vont de 0,18 à 0,75, nous remarquons que toutes les valeurs d'acidité de nos échantillons sont conformes aux normes établies par le COI (2015) ($\leq 0,8$). Cela peut être expliqué par les conditions de transport des olives et d'extraction des huiles ainsi que leur conservation qui sont adéquates. Ce qui nous permet, également, de classer nos huiles dans la catégorie des huiles d'olive vierge extra.

En effet, de nombreuses études ont confirmé que le non-respect des bonnes pratiques de récolte et d'extraction de l'huile, de même la maturation des olives peut entraîner des modifications du caractère physique et chimique du fruit, conduisant à

l'augmentation du taux d'acidité dans l'huile extraite (Kammoun et al., 1999 ; Baccour et al., 2007 ; Aguilera et al., 2010 ; Tanouti et al., 2011).

II-1-2) Indice de peroxyde:

Les résultats de l'indice de peroxyde, abstenus pour nos échantillons, sont illustrés dans la figure 9.



Ch(Chemlal),Az(Azerradj),Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ; Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 9 : Indice de peroxyde des différents échantillons d'huiles d'olive

D'après les normes de **COI (2015)**, l'indice de peroxyde ne doit pas dépasser 20még d'O₂/kg pour l'huile d'olive vierge et l'huile d'olivevierge extra, ce qui est le cas pour nos échantillons, dont les valeurs sont largement inférieures de la limite établie (figure 9).Cela est probablement due, soit à la non abondance de peroxyde et d'hydroperoxyde dans nos huiles, qui se décomposent ultérieurement en dérivés carbonylés aldéhydes et hydrocétones (responsable de l'odeur de rance) et en divers produits oxygénés(alcools, acides,...),soit à la richesse en antioxydants (les polyphénols,tocophérols,caroténoïdes,...) (Arslan et al.,2012).

D'après la figure 9, la variété *Azerradj* a enregistré un indice de peroxyde le plus faible (1,83) contrairement à la variété *limli* qui donne un indice de peroxyde le plus important(4,33). Dans le cas des mélanges, on note que *Chemlal /Limli* (1/3 et 2/1) possède un indice supérieur aux autres mélanges, par contre *Chemlal/Azerradj* (1/2) présente une

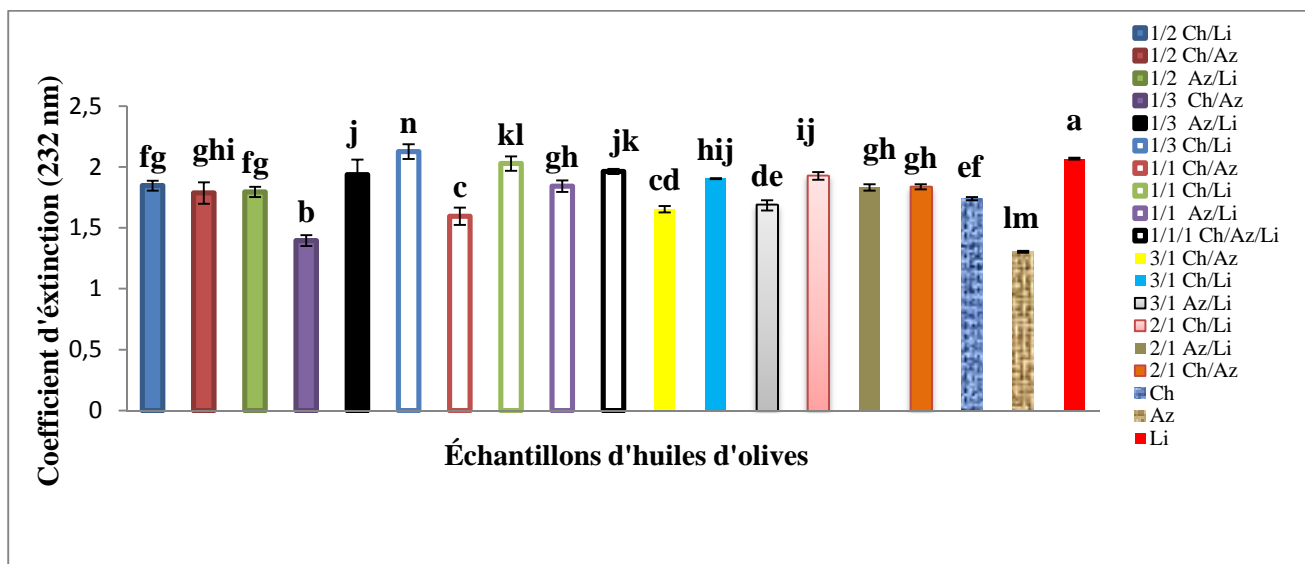
faible valeur. De plus, nous remarquons, presque tous les mélanges ont des indices qui se situent dans l'intervalle des variétés qui les forment, sauf pour *Chemlal-Limli* (1/3).

Nos résultats inférieurs de ceux trouvés par **Boussekine et Ouazar (2010)** qui ont étudiées les mêmes variétés (*Azerradj* et *Chemlal*). Par contre, ils sont proches de ceux trouvés par **Arslan et al. (2012)** sur les variétés turques. Ces variations peuvent être due à plusieurs facteurs à savoir ; l'état sanitaire et la maturation des fruits, les conditions de transformation (récolte, transport, stockage...), la variété étudiée, conditions climatiques En effet, **Agar et al. (1998)** ont montré que l'IP augmente significativement avec l'inadaptation ou prolongation du stockage à l'air libre d'olives de qualité différentes(en vrac ou dans des sacs).

II-1-3) Coefficient d'absorption spécifique à l'Ultra violet (UV) :

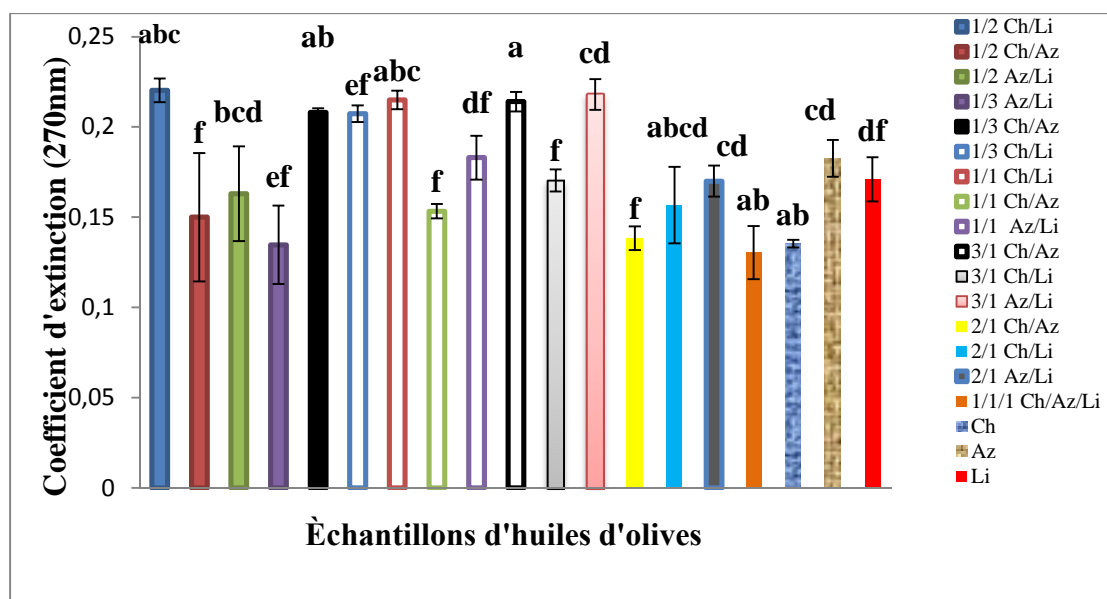
Les valeurs de l'IP $\leq 20\text{meq O}_2/\text{Kg}$ d'huile ne signifie pas toujours l'absence du phénomène d'oxydation. Le recours à la détermination des coefficients d'extinctions (K_{232} , K_{270}) à l'ultraviolet, renseigne sur la présence ou l'absence de produits d'oxydation secondaire dans le produit.

Les résultats de l'absorption à l'UV (232 nm et à 270 nm), pour nos échantillons, sont représentés dans les figures 10 et 11 respectivement.



Ch(*Chemlal*),Az(*Azerradj*),Li(*Limli*) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ; Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,05)

Figure 10 : Coefficient d'absorption spécifique à 232 nm des échantillons d'huiles d'olive.



Ch(Chemlal),Az(Azerradj),Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ;
Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 11: Coefficient d'absorption spécifique à 270 nm des échantillons d'huiles d'olive.

Les valeurs illustrées dans les figures 10 et 11, nous permettent de confirmer que les extinctions spécifiques (K_{232} , K_{270}) de nos échantillons, sont conformes aux normes fixées par le **COI (2015)** pour les huiles extra vierge et qui sont : $\leq 2,5$ (à 232 nm) et $\leq 0,22$ (à 270 nm).

La valeur la plus élevée à 232nm est observée chez la variété *Limli* (2,06), néanmoins, à 270 nm c'est la variété *Azerradj* qui absorbe le plus (0,18). Concernant les mélanges, l'échantillon *Chemlal/Limli* (1/3) révèle une valeur importante (2,12) à la longueur d'onde (232 nm) par rapport aux autres mélanges, et à la longueur d'onde (270 nm) c'est l'échantillon *Chemlal/Limli* (1/2) qui donne la valeur maximale (0,22).

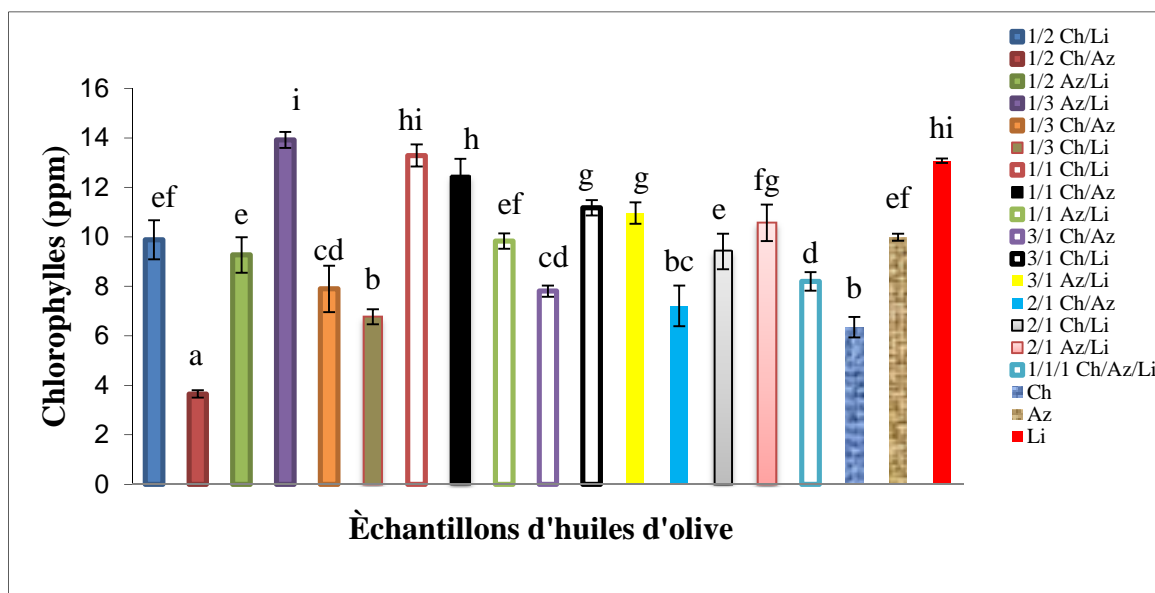
En effet, les hydroperoxydes des premiers stades de l'oxydation absorbent à 232 nm, alors que les produits d'oxydation secondaires absorbent au voisinage de 270 nm (**Ollé, 2002 ; Jeantet et al., 2006**). Plus l'extinction à 232 nm est forte, plus l'huile est peroxydée, de même plus l'extinction à 270 nm est élevée, plus elle est riche en produit d'oxydation secondaires favorisant ainsi les phénomènes d'oxydation et une faible aptitude à la conservation (**Wolff, 1968**).

En outre et avec comparaison avec la bibliographie, nos résultats sont proches de ceux rapportés par **Mahdjoub et al. (2006)**, qui ont travaillé sur les variétés tunisiennes

(Chétoui, Neb Djmel et Jarboui). Ce qui nous pousse, aussi, à dire que les produits d'oxydations sont moins abondants dans nos échantillons d'huiles.

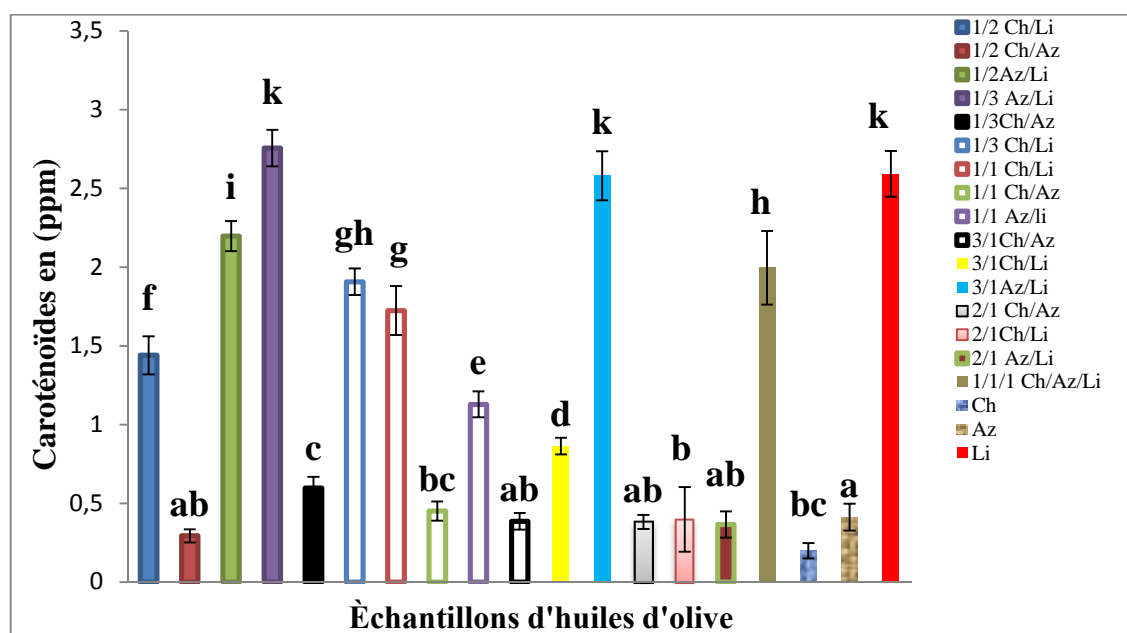
II-2) Résultats de dosage des pigments:

L'estimation des quantités de chlorophylles et de caroténoïdes de nos échantillons est illustrée dans les figures 12 et 13 respectivement.



Ch(Chemlal),Az(Azerradj),Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ; Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,05)

Figure 12: Teneurs en chlorophylles des différents échantillons d'huiles d'olive.



Ch(Chemlal),Az(Azerradj),Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ;

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,05)

Figure 13 : Teneurs en caroténoïdes des différents échantillons d'huiles d'olive.

L'huile d'olive contient des composés mineurs qui lui confèrent ses qualités organoleptiques et nutritionnelles. Parmi ces composés, on a les pigments (chlorophylles et caroténoïdes).

L'analyse statistique a montré des différences significatives entre les échantillons étudiés ($p < 0,05$). On remarque d'après la figure 12 que les teneurs en chlorophylles varient entre 3,65 ppm pour l'échantillon *Chemlal/Azerradj* (1/2) et 13,92 ppm pour *Azerradj/Limli* (1/3). De plus, la variété *Chemlal* ne donne une faible valeur (6,35 ppm), et *Limli* donne la valeur maximale (13,08 ppm).

Nous constatons aussi, que la plupart des coupages réalisés à partir de la variété *Limli* possèdent des teneurs élevées en chlorophylles. Cependant, pour les autres mélanges les teneurs augmentent avec l'augmentation des taux de proportions des coupages réalisés entre les variétés concernées. En effet, **Giuffrida et al. (2006)**, ont montré qu'il existe une relation directe entre la variété et la composition quantitative en pigments chlorophylliens de l'huile d'olive.

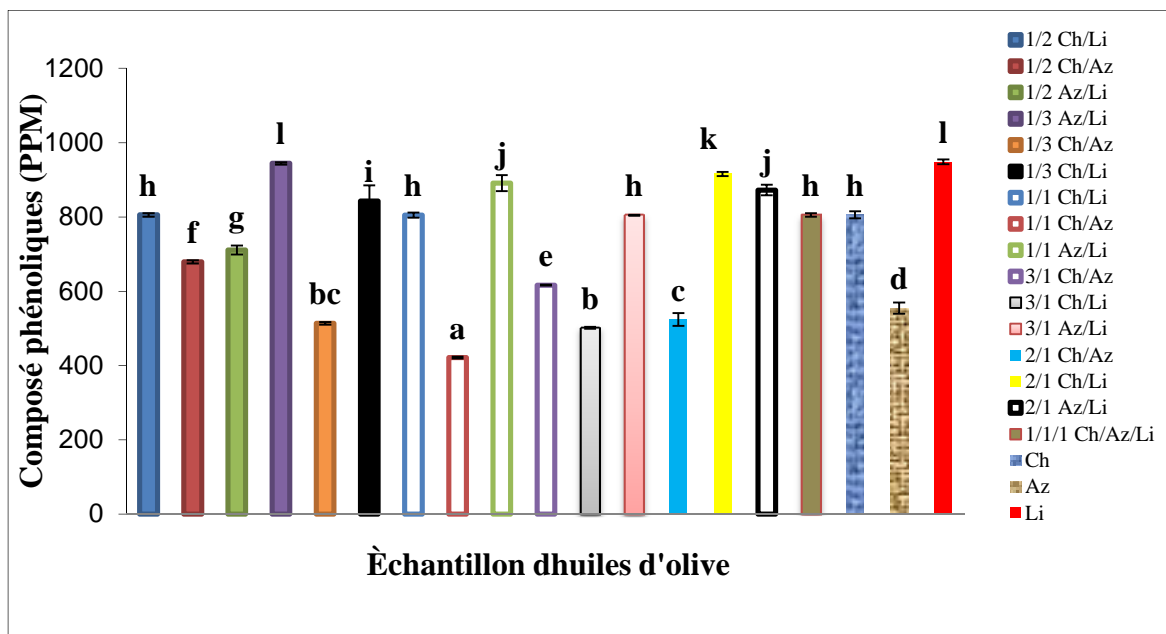
Les résultats de la figure 13 montrent une variabilité des teneurs en caroténoïdes allant de 0,19 ppm (pour la variété *Azerradj*) à 2,62 ppm (pour la variété *Limli*), et de 0,29 ppm (pour le coupage *Chemlal/Azerradj* à 1/2) à 2,75 ppm (pour le coupage *Azerradj/Limli* à 1/3).

En comparant nos résultats à ceux trouvés par **Salvador et al. (1998)**, les variétés locales étudiées présentent des teneurs inférieures en caroténoïdes par rapport à la variété *Cornicabra* d'origine espagnole qui présentent des teneurs variant entre 7 et 11 ppm. Cependant, nos huiles contiennent un peu plus de caroténoïdes par rapport aux variétés étudiées par **Boufoudi et Yakoubi (2006)** (*Bouchouk* de Sidi-Aich, *Bouchouk* de Guergour, *Aguenao*, *Nebdjmel*, *Zaltini*, *Bouichert*, *Chemlal*, *Roujette* de Mtidja et Abbani) dont les teneurs varient entre 0,174 ppm et 1,183 ppm.

Selon **Minguez-Mosquera et al. (1990)** ; **Ait Yacine et al. (2001)** et **Criado et al. (2007)**, les teneurs en pigments chlorophylliens et caroténoïdes varient en fonction du cultivar et diminuent au cours de la maturation. Cette diminution est plus prononcée pour les chlorophylles. Ce qui concorde ainsi avec nos résultats ; la variété *Limli* qui présente un faible indice de maturité (3,04) donne une teneur élevée en chlorophylles et en caroténoïde. De plus, nous avons remarqué aussi (d'après les figures 12 et 13) que nos huiles enregistrent des quantités plus importantes en pigments chlorophylliens que ceux des caroténoïdes.

II-3) Composés phénoliques:

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques analysées exprimée en microgramme EAG/g d'huile ou en ppm sont représentées dans la figure 14.



Ch(Chemlal),Az(Azerradj),Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ;
Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 14: Teneurs en polyphénols des différents échantillons d'huiles d'olive.

Des différences significatives ($p < 0,05$) sont relevées entre la plupart de nos échantillons d'huiles étudiées. D'après les résultats obtenus en figure 14, on remarque que les huiles issues des variétés *Limli* et *Chemlal* sont les plus riches en phénols totaux (948,33ppm et 805,533ppm respectivement) par rapport à la variété *Azerradj* (554,696ppm). Pour les mélanges, on note que les échantillons *Azerradj/Limli* (à 1/3, 1/1 et à 2/1) et *Chemlal/Limli* (à 2/1, 1/2 et à 1/3) présentent des quantités élevées en composés phénoliques par rapport aux autres mélanges.

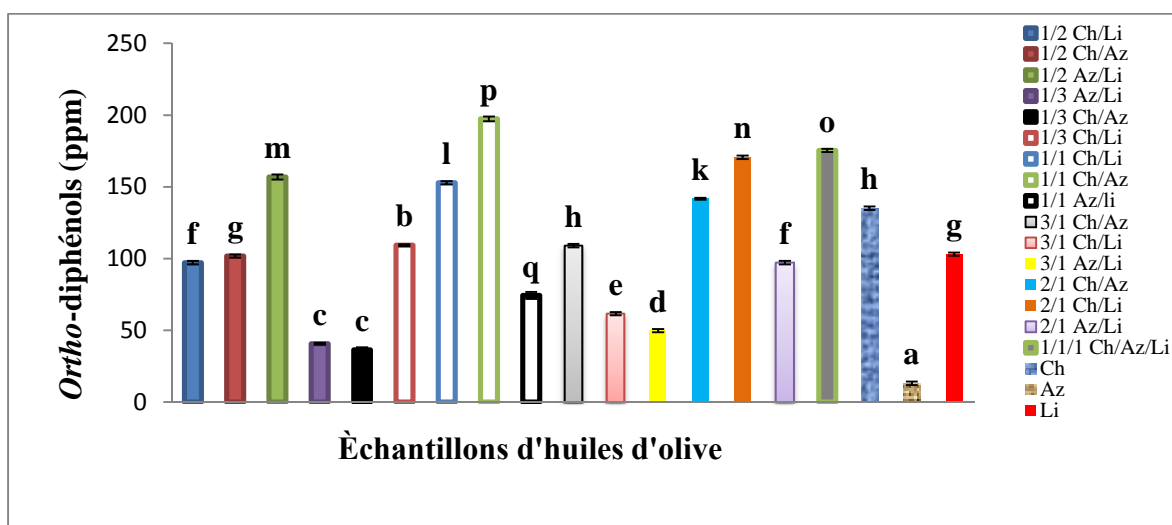
On remarque aussi, que la plupart des coupages possèdent des teneurs en polyphénols qui se situent dans l'intervalle des variétés qui les forment, sauf pour certains d'eux, *Chemlal/Azerradj* (à 2/1 et à 1/1) et *Chemlal/Limli* (à 3/1) qui sont inférieures par rapport à leur intervalle.

Par comparaison, nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Tura et al. (2007)** pour dix-huit variétés italiennes (allant de 55,4 à 615,78 ppm) et ceux trouvés par **Brahmi et Boutagrabet (2008)** pour cinq variétés algériennes allant de (71,89 à 539,78 ppm).

D'après nos résultats, il ressort que le cultivar est un facteur important influençant la composition en polyphénols totaux, tels que déjà observé par plusieurs auteurs, parmi eux **Dugo et al. (2004)** ; **Zarrouk et al. (2008)** et **Ocakoglu et al. (2009)**. En outre, cette composition n'est pas seulement liée à la variété, mais aussi aux interactions complexes entre plusieurs facteurs à savoir: Le degré de maturité et l'état sanitaire des olives, la zone géographique oléicole, le système et les paramètres d'extraction de l'huile... (Angerosa et al., 2001; Rovellini et Cortesi, 2003; Salvadord et al., 2003).

II-4) Dosage des *ortho*-diphénols :

Les résultats d'analyse des teneurs en *ortho*-diphénols, exprimées en $\mu\text{g d'E.A.C/g}$ d'huile ou en ppm, des différents extraits méthanoliques sont montrées dans la figure 15.



Ch(Chemlal), Az(Azerradj), Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ;
Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 15: Teneur en *ortho*-diphénols des différents échantillons d'huiles d'olive.

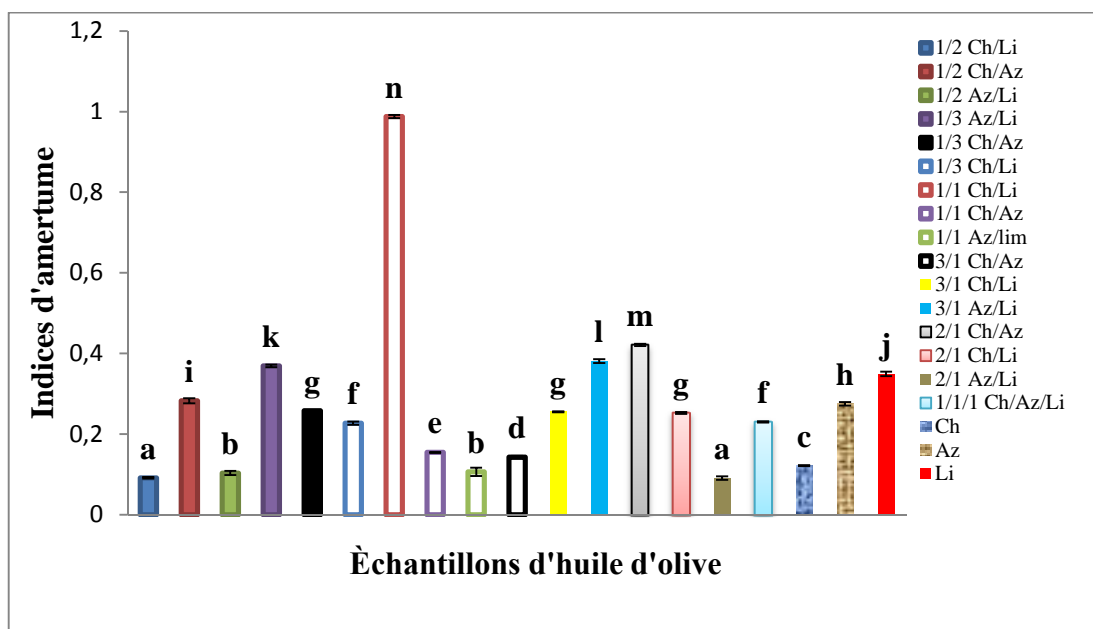
Les *ortho*-diphénols (comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique), présents dans l'huile d'olive sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation. Ils lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage (**Gutierrez et al., 2001** ; **Ollivier et al., 2004**).

L'analyse statistique a révélé des différences significative ($p < 0,05$) pour la plus part des échantillons. D'après la figure ci-dessus 15, la variété *Chemlal* enregistre une valeur maximale (135,07 ppm), et la variété *Azerradj* présente une valeur minimale (13,03 ppm). Cependant, pour les mélanges les valeurs vont de 36,33 ppm (*Chemlal/Azerradj* à 1/3) à 197,35 ppm (*Chemlal/Azerradj* à 1/1).

Par comparaison, nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Zarrouk et al.** (2008) (199-213,24 ppm) pour trois variétés tunisiennes, et elles sont dans l'intervalle de ceux trouvés par **Baccouri et al.** (2008) (105-217 ppm). Donc, nous pouvons dire que la plus part de nos échantillons possèdent des teneurs appréciables en *ortho*-diphénols.

II-5) Indice d'amertume :

La figure 16 représente les résultats de l'indice d'amertume de nos échantillons.



Ch(*Chemlal*),Az(*Azerradj*),Li(*Limli*) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ;
Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 16: Indice d'amertume des différents échantillons d'huiles d'olive.

L'indice d'amertume des échantillons d'huiles étudiés, sont significativement différents ($p < 0,05$). Nous constatons que la variété *Limli* possède une intensité plus élevée (0,34) par rapport aux autres variétés (*Chemlal* et *Azerradj*) (figure 16), dont leurs intensités sont (0,27 et 0,12 respectivement).

Dans le cas des mélanges, on a trouvé que *Chemlal/Limli (1/1)* possède un indice d'amertume très élevé (0,98) par rapport aux autres mélanges et *Azerradj/Limli (2/1)* donne un taux très faible (0,09). Néanmoins, pour d'autres échantillons ces valeurs sont situées dans l'intervalle des variétés qui les forment.

Les intensités d'amertumes obtenues pour nos échantillons sont proches de celles obtenues pour les variétés locales étudiées par **Bourzah (2013)** qui varient entre 0,07 et 0,6, et elles sont inférieures à celles décelées pour certaines variétés italiennes étudiées par **Favati et al. (2013)** dont les valeurs oscillent entre 0,7 et 4.

Selon **Garcia et al. (1996)** ; **Beltran et al. (2005)** et **Paz-Aguilera et al. (2005)**, une relation étroite existe entre l'indice d'amertume et les concentrations en polyphénols totaux. De plus, l'amertume de l'huile d'olive est considérée comme un attribut positif, plus l'indice d'amertume est élevé, plus l'échantillon d'huile est riche en polyphénols, ce qui concorde ainsi avec nos résultats (la teneur la plus élevée en composés phénoliques obtenues par la variété *Limli* (948,33) et la plus faible par la variété *Azerradj* (554,68)).

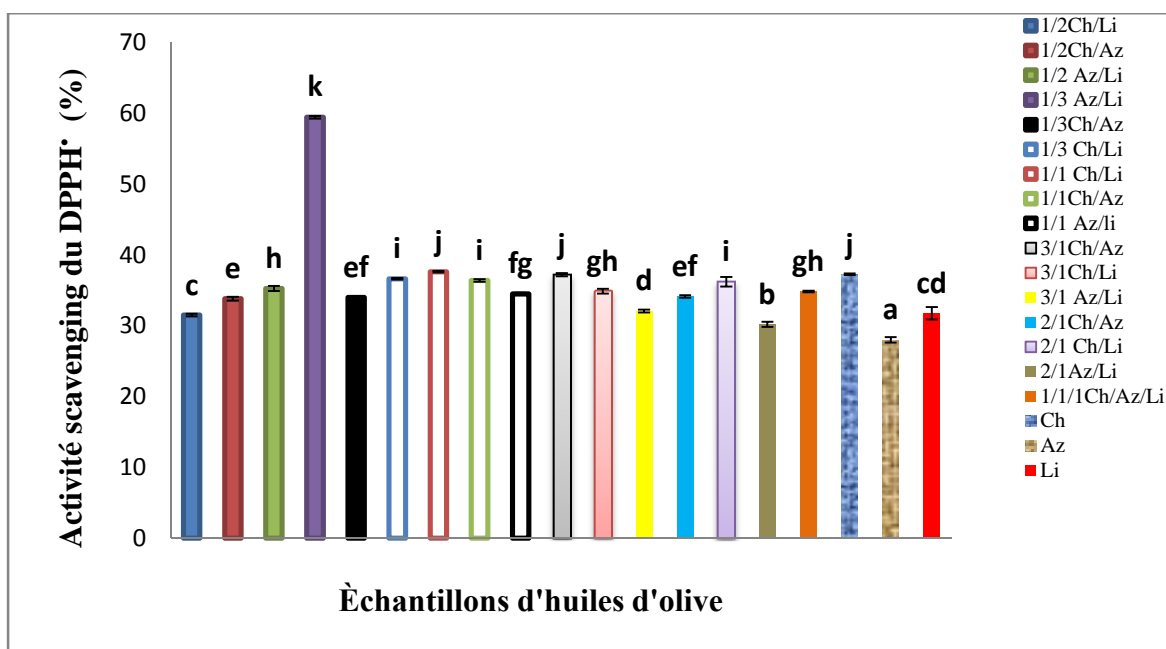
Plus précisément, selon **Berra (1998)** ; **Aparicio et Luna (2002)** et **Morello et al. (2004)**, le goût amer d'huile d'olive est attribué à l'oleuropéine glucoside et ses aglycones et aux acides phénols dérivés des acides benzoïque et cinnamiques.

II-6-Détermination de l'activité antioxydante :

II-6-1) Activité scavenger du radical DPPH' :

Les résultats de l'activité antiradicalaire sur le radical DPPH des échantillons d'huiles sont représentés dans la figure 17.

A partir des résultats obtenus dans la figure au dessous, l'étude statistique montre une différence significative ($p < 0,05$) entre les échantillons. Et on remarque que l'extrait méthanolique de l'huile issue de la variété *Chemlal* exerce une meilleure activité antiradicalaire (37,27%), contrairement aux extraits issus des huiles des variétés *Limli* et *Azerradj* (31,76% et 28,07% respectivement). Pour les mélanges, la plupart exercent des activités comprises entre les intervalles des variétés qui les forment, sauf pour le mélange *Azerradj/Limli (1/3)* qui est supérieur par rapport à leur intervalle qui le forme.



Ch(Chemlal),Az(Azerradj),Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ;

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

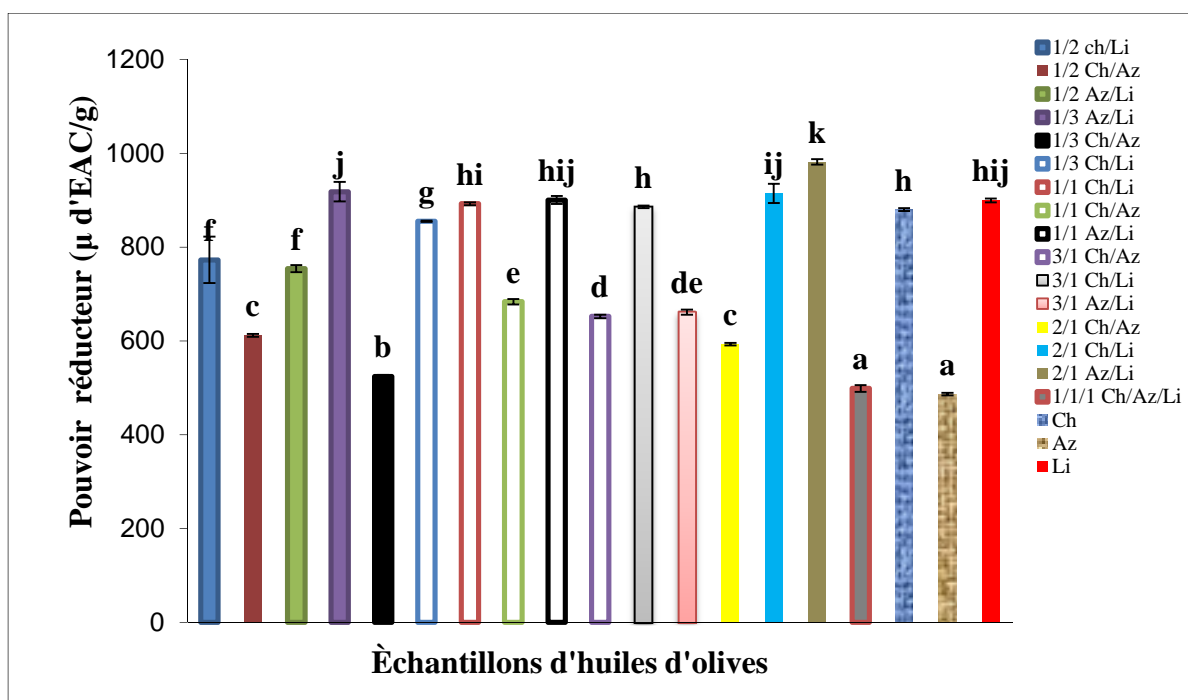
Figure 17: Activité scavenger du radical DPPH* des extraits phénoliques des échantillons d'huiles d'olive.

Donc d'après les résultats obtenues on peut constater également, qu'il ya une relation entre l'activité antiradicalaire sur le radical DPPH* et les teneurs en polyphénols totaux notamment en *ortho*-diphénols, ce qui a été confirmé par plusieurs auteurs ; **Visioli et Galli (1998)** ; **Gorinstein et al. (2003)** et **Ollivier et al. (2004)**.

En outre, cette activité peut être réduite en fonction de maturation des fruits, selon **Brenes et al. (1999)** et **Rovellini et Cortesi, (2003)**, au début de maturité (stade vert) les composés majeurs sont l'oleuropéine et tyrosol, par contre aux stades plus avancés (tournant et noir) ce sont plutôt les *ortho*-diphénols (hydroxytyrosol et acide caféique) qui sont majoritaires.

II-6-2) pouvoir réducteur :

Les résultats du pouvoir réducteur exprimés en microgramme d'équivalent d'acide caféique/g d'huile sont représentés dans la figure 18.



Ch(Chemlal),Az(Azerradj),Li(Limli) ; Les barres verticales représentent les écarts-types ;

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$)

Figure 18: Pouvoir réducteur des extraits phénoliques des différents échantillons d'huiles d'olive.

L'analyse statistique montre des différences significatives ($P < 0,05$) entre les huiles des variétés étudiées sauf pour certains. D'après les résultats de la figure 18, les variétés *Limli* et *Chemlal* exercent les meilleures activités réductrices ($899,96 \mu\text{g}$ d'EAC/g et $880,26 \mu\text{g}$ d'EAC/g respectivement). En revanche, la variété *Azerradj* enregistre un faible pouvoir réducteur ($486,93 \mu\text{g}$ d'EAC/g). Pour les mélanges, on observe que les échantillons *Azerradj/Limli* (à 2/1 et à 1/1) et *Chemlal/Limli* (à 2/1, 1/1, 3/1 et à 1/3) présentent les meilleures activités réductrices. Cependant un faible pouvoir réducteur est donné par *Chemlal/Azerradj/Limli* (1/1/1) et *Chemlal/Azerradj* (à 1/3).

D'après ces résultats nous pouvons dire que les antioxydants ayant une propriété réductrice, tels que les polyphénols présents dans les extraits d'huiles d'olives, réagissent comme donneurs d'électrons entraînant la réduction du complexe Fe^{3+} ferrique (de couleur Jaune) en fer ferreux Fe^{2+} (de couleur bleu verdâtre), dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Gülçin et al., 2007). En effet, d'après ces derniers, la nature et la concentration en antioxydants contrôlent l'intensité du pouvoir réducteur, nous déduisons alors, que la plupart de nos huiles étudiées contiennent des quantités appréciables en antioxydants.

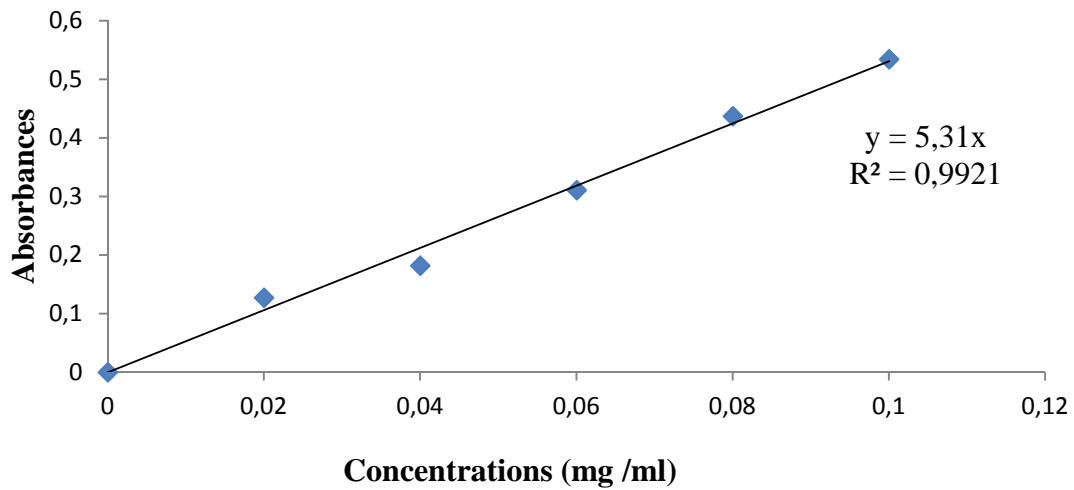


Figure 1: Courbe d'étalonnage des polyphénols avec l'acide gallique.

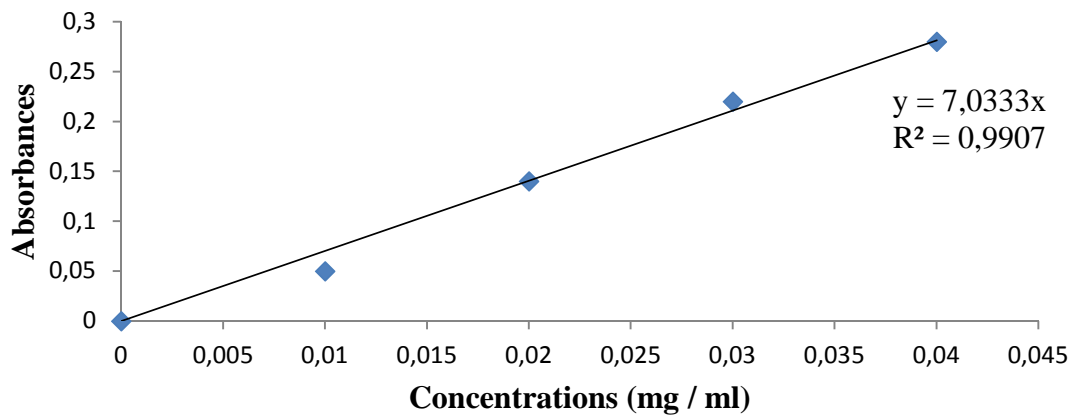


Figure 2: Courbe d'étalonnage des ortho-diphénols avec l'acide caféique.

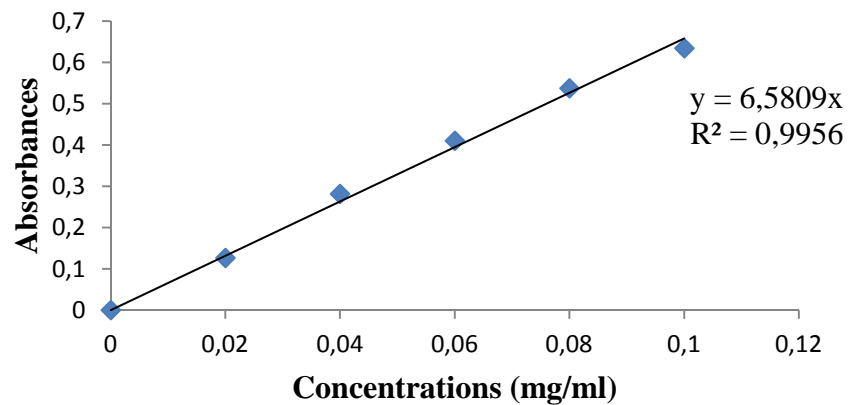


Figure 3 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur avec l'acide gallique.

Tableau I: Tableau récapitulatif des résultats des trois variétés d'huiles d'olive.

	<i>Chemlal</i>	<i>Azerradj</i>	<i>Limli</i>
I.M	3,76	3,12	3,04
Poids	98,12	347,14	55,68
H (%)	33,5	36,02	48,85
R.L (%)	37,60	18,98	42,06
Acidité	0,53	0,53	1,43
IP	2,5	1,83	4,33
K 232	1,73	1,3	2,06
K 270	0,13	0,18	0,17
Chl	6,35	9,99	13,08
Car	0,19	0,41	2,59
CP	805,53	554,68	948,33
<i>Ortho</i>	135,07	13,03	103,08
Amer	0,12	0,27	0,34
PR	880,26	486,93	899,96
DPPH*	37,27	28,01	31,76

Sous la vision des résultats acquis dans la présente étude, nous avons retenus l'ensemble des constatations suivantes:

Pour ce qui est des analyses physiques effectuées sur les olives, les résultats obtenus nous mènent à dire que l'indice de maturité, le poids moyen des fruits et leur teneur en eau ainsi qu'en huile varient considérablement en fonction de la variété étudiée.

Sur le plan des caractéristiques chimiques, nous avons relevé que l'acidité, l'indice de peroxyde et l'extinction spécifique à l'UV, de nos huiles répondent aux normes établies par le COI (2015), ce qui nous a permis de classer nos huiles dans la catégorie des huiles d'olives extra vierge.

Egalement, les résultats obtenus pour la détermination des chlorophylles et des caroténoïdes, ont montré que la variété *Limli* et la plupart des coupages réalisés à partir de cette variété possèdent des teneurs élevées en ces deux pigments par rapport aux variétés *Chemlal* et *Azerradj* avec les mélanges qu'elles forment.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux et des *ortho*-diphénols, ont montré que les variétés *Limli*, *Chemlal* et la plus part des coupages réalisés à partir de ces deux dernières, sont plus riches en composés phénoliques et en *ortho*-diphénols par rapport aux autres échantillons.

Concernant, le test d'indice d'amertume, une relation étroite entre la saveur amère et les concentrations en composés phénoliques a été constatée.

Pour l'estimation de l'activité scavenger sur le radical DPPH[•] et du pouvoir réducteur, les résultats obtenus nous conduisent à dire que les huiles d'olive étudiées présentent une activité antioxydante importante.

En perspectives, grâce à leurs teneurs élevées en antioxydants naturels, les variétés étudiées sont à prendre en considération lors d'une sélection variétale ou encore pour faire l'objet d'un croisement entre variétés afin d'obtenir des hybrides donnant des huiles de meilleure qualité.

La thématique, mérite d'être poursuivie et approfondie. Nombreux les aspects qui peuvent être développés, comme : Le dosage des stérols, des composés volatiles, des tocophérols, effectués une analyse sensorielle, l'évaluation de l'activité antioxydante par d'autre méthodes tel que β -carotène, ABTS ...

A

Abaza L., Mongi M., Douja D. et Zarrouk M. 2002. Caractérisation des huiles de sept variétés d'oliviers tunisiennes, *O.C.L*, pp: 174-179.

AFNOR (Association Française de normalization),**1984.** Corps gras-graines oléagineuses-produits dérivés, 4^{eme} édition, Paris, P 459.

Agar T., Hess– Pierce B.Sourour M. M. et Kader A.M. 1998. Quality of fruit and oil of black-ripe olives is influenced by cultivar and storage period. *J.Agric FoodChem*,pp :3415-3421.

Aguilera M. P., Beltran G., Sanchez-Villasclaras S., Uceda M.et Jimenz A.2010. Kneading olive paste from unripe 'Picual'fruit : I. Effect on oil process yield. *Jornal of Food Engineerin*,97: 533-538.

AitYacine Z., Hilali S. et Serhouchni M. 2001. Etude de quelques paramètres déterminants de la date de récolte des olives dans le périmètre du Tadla. *Olivae*, 88 : 39-45.

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

Ajana H., El Antari A. et Hafidi A.1999. Evolution of biometric parameters and chemical composition of olives from the Moroccan Picholine variety during fruit ripness.*Grasas y Aceites*,50:1-6.

Amamon T. 1990. Typologie et variabilité des huiles d'olives en fonction de l'origine des fruits. *OCL* 6, pp: 76-78.

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

Aparicio R, et Harwood J. 2013. *Handbook of olive oil, Analysis and Properties.* Second edition. Springer Science, pp: 1-769.

Arslan D. et Schreiner M.2012. Chemical characteristics and antioxidant activity of olive oils from Turkish varieties grown in Hatayprovince. *Scientia Horticulturae*,144:141-152.

B

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

Baccouri O., Guerfel M., Baccouri B., Cerretani L., Bendini A., Lercker G., Zarrouk M., Doud D. et Ben Miled. 2008. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard of fruits ripening. *Food Chemistry*, 109: 743-754.

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

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

Benlmih M. et Ghanam J. 2012. Polyphenols d'huile d'olive, trésors et santé. *Macro pietteur*, pp 5-113.

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

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

Boufoudi, N., et Yakoubi K. 2006. Caractérisation physico-chimique de quelque variété d'huile d'olive locales vierge. *Mémoire d'ingénieur et en contrôle de qualité d'analyse*, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa: 36.

Bosetti (2000). Institut de recherche pharmacologique « Mario Negri » (Milan, Italie); *International journal of cancer*, 87: 289-294.

Boussekine Z. et Ouazar Z. 2010. Evaluation physico-chimique de quelques variétés d'huile d'olive locales. *Mémoire de D.E.S*, Université Abderrahmane Mira de Bejaia, pp : 1-47.

Bourzah C. 2013. Evaluation physico-chimique des mélanges de trois variétés d'huiles d'olive locales. *Mémoire de fin de cycle*, Université Abderrahmane Mira de Bejaia, pp : 1-38.

Brahmi S. et Boutagrabet K .2008. Activité antioxydante des extraits phénoliques de quelques variétés de l'huile d'olive algérienne. *Mémoire d'ingénieur en contrôle de qualité et analyse alimentaire*, Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

Brenes M., Garcia A., Garcia P., Rios J.J. et Garrido A.1999. Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47:3535-3539.

Boskou, D.2010. Olive Oil Minor Constituents and Health.Taylor&Francis,pp 1-219.

Bursal E., et Gülçin I .2011. Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilized aqueous extract of Kiwifruit (*Actinidiadeliciosa*).*Food Research International*,44:1482-1489.

C

Cañabate-Díaz B., Segura Carretero A., Fernandez-Gutierrez A.,Belmonte Vega A., Garrido French A., Martiner Vidal J.L. et Duran Matos J. 2007. Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. *Food Chemistry*, 102: 593-598.

Çavusaglu A.L. et Oktar A. 1994. Les effets des facteurs agronomiques et des conditions de stockage avant la mouture sur la qualité de l'huile d'olive. *Olivea*, 52, 18-24.

Chimi H. 2001. Qualité des huiles d'olive au Maroc. Transfert de Technologie en Agriculture. *Bulletin Mensuel d'Information et de Liaison du Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture*, 79: 1-4.

Chimi H. 2006. Technologies 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.

Chou S.T., Chao W.W. et Chung Y.C. 2003. Antioxydative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*phaseolus Radiatus L. var. Aurea*). *Journal of food science*, 68:21-25.

Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Castro E. et Dominguez H. 2009. Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning.*Food Chemistry*, 114: 806-812.

Conde C., Delrot S. et Hernani G. 2008. Physiological, biochemical and molecular changes occring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1545-1562.

C.O.I. 1990. Amélioration de la qualité de l'huile d'olive. *Collection manuel pratique*, pp : 63-79.

C.O.I 1999. *Normes commerciales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive*, T 15/ NC 2/ REV9.

C.O.I 2003. *Trad Standard Applying to olive oils and olive-pomaceoils*, T 15/NC 3/25 June 2003.

C.O.I 2006. *Guide de gestion de la qualité de l'industrie de l'huile d'olive : les moulins.*

C.O.I 2011. *Guide pour la détermination des caractéristiques des olives à huile*, COI/OH/Doc.N°1.

C.O.I 2015. *Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignon d'olive*, T 15/NC 3/REV8.

Costa. (2002). Non-pharmacological treatment of hypertension in women; *Journal of hypertendion*, pp: 57-61.

Covas M.I.2007. Olive oil and the cardiovascular system. *Nutritional Pharmacology*, 55:175-186.

Criado M.N., Motilva M.J., Goni M. et Romero M.P. 2007. Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga Cultivars. *Food Chemistry*, 100: 748-755.

D

Dhifi W., Maalaoui B., Zitoun B.et Marzouk B.2002. Etude qualitative et quantitative des arômes et des polyphenols de quelques huiles d'olives de Tunisie. *Olivae*,105: 36-40.

Di Geovacchino 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 enoléiculture et oleotechnique. Florence, 10,11 et 12mars 1999. *Conseil Oléicole International*, 1-39.

Dugo G., Lo Turco V., Pollicino D.,MavrogeniE. Et Pipitone F.2004. Caractérisation d'huiles d'olive vierges siciliennes. Variation qualitative des huiles des fruits des cultivars«Biancolilla,NocellaradelBelice, Cerasuola, TondaIblea et Crastu » en fonction des techniques et de l'époque de récolte des olives. *Olivae*, 101: 44-52.

E

El Antari A., Hilal A., Boulouha., et El Moudni A. 2000. Etude de l'influence de la variété, de l'environnement et des techniques culturales sur les caractéristiques des fruits et la composition chimique de l'huile d'olive vierge extra au Maroc. *Olivae*, 80: 29-36.

El Antari A., El Moudni A. et Ajana H. 2003. Evolution comparative de la qualité et de la composition acide de l'huile d'olive chez quelques variétés méditerranéennes cultivées au Maroc. *Olivae*, 95: 26-3.

Esti M., Cinquanta. L et Notte E. L. 1998. Phenolic compounds in different olive varieties. *J. Agric. Food chemistry*, pp: 32-34.

F

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

Favaty F., Condelli N., Galgano F. et Caruso M.C. 2013. Extra virgin olive oil bitterness evaluation by sensory and chemical analyses. *Food chemistry*, pp: 949-954.

Fouin J., Sarfati C. 2002. *Le guide des huiles d'olive*. Edition : Rouergue.

Fuentes de Mendoz M., De Miguel Gordillo C., Marin Expósito J., Sánchez Casas J., Martínez Cano M., Martín Vertedor D., et Franco Baltasar M.N., 2013. Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. *Food Chemistry*, pp: 2575-2581.

G

Gharbonnier. A. 1996. *L'huile d'olive aliment santé*. Edition Frison Roche, P: 282.

Garcia J.M., Sella S. et Perez-Camino C. 1996. Influence of fruit ripening on oil quality. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, pp: 3516-3520.

Giovachino D.L. 1991. L'extraction de l'huile des olives par le système de la pression de la centrifugation et de la percolation : incidences des techniques d'extraction sur le rendement en huiles. *Olivae*, pp: 14-36.

Giuffrida D., Salvo F., Salvo A., Pera L.L. et Dugo G. 2006. Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive oil. *Food Chemistry*,pp:207-211.

Gomez-Rico A., Fregapane G. et Salvador M. D. 2008. Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Res Int*,pp: 433-440.

Gorinstein S., Martin-Belloso O., Katrich E., Lojek A., Ciz M.,Gligelmo-Miguel N., Haruenkit R., Park Y. S.,Jung S.T. et Trakhtenberg S.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. *Journal of Nutritional Biochemistry*,pp: 154-159.

Gülçin I.,Bursal E., Sehitoglu H.,Bilsel M.et Goren A.C.2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey.*Food and Chemical Toxicology*,pp:2227-2238.

Gülçin I., Elias R.,Gepdiremen A.,BoyerL. Et Köksal E.2007. A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthusvirginicus L.*) extracts. *African Journal of Biotechnologie*, pp: 410-418.

Gutiérrez F., Arnaud T., Garrido A.2001. Contribution of polyphenols to the oxidative stability of virgin olive oil.*Journal.Sciences.Food Agriculture*, pp: 1-8.

H

Hassouna, V.2010. Virgin Olive Oil, *Books on Demand*, pp: 9-94.

Harwood, J. et Aparicio, R. 2000. *Handbook of olive oil – Analysis and properties*, An Aspen publication, Aspen Publishers.

Hennebelle T., Sahpaz S. Et Bailleul F.2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*,pp: 2-5.

Herbet, R.B. (1989). *The Biosyntheses of secondary metabolites*. 2^{ème} édition Chapman and Halle,pp :11-15.

I

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

Ingless P., Barone E. et Gullo G.1996. The effet of complementary irrigation on growth ripening pattern and oil characteristics of olive(*Olea europaea L.*) cv.*carolea*.*Journal of Horticultural Science*,pp: 257-263.

J

Jeantet R., Croguennec T., SchuckP., Brulé G. 2006. *Science des aliments*, pp:197-223.

Justine. P. 2005. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Thèse de Doctorat*, T043-4116.

K

Kammoun N.G., Khlif M., Ayadi M., Rekik H., Rekik B., et Hamid M. T. 1999. Evolution des caractéristiques chimiques de l'huile au cours de la maturation des olives.*Revue Ezzaitouna*, 5:30-47.

Keceli T.et Gordon M.H .2001. The antioxydantactivity and stability of the phenolique fraction of green olives and extra virgin olive oil. *J. Sci Food Agri*, 81:21-32.

Kouame.A.E.F. (2004). Etude de la migration des antioxydants phénoliques dans les boissons en sachet.*These de doctorat en pharmacie*.

Koustsftaki R., et Kotsifaki F. et E. Stefanodaki. 2002. La caractérisation des huiles d'olives vierges extra crétoises obtenues à partir de la variétésKoroneiki. Influence du site origine sur plusieurs paramètres chimiques. *Olivae*, pp : 20-25.

L

Longobardi F.,Ventrella A., Casiello G.,Sacco D.,Catucci L.,Agostiano A. et Kontominas M.G.2012. Instrumental and multivariate statistical analyses for the characterization of the geographical origin of Apulian virgin olive oils. *Food Chemistry*, 133: 579-584.

Lvee, Shimon et Wodner, Maria. 2004. The effect of yield, harvest time and fruit size on the oil content in fruit of irrigated olive treess (*Olea europaea*), cvs. Barnea and Manzanille, *Scientia Horticulturae*, 99: 267-277.

Levent I.A. 2011. Chlorophyll: Structural Properties, *Health Benefits and Its Occurrence in virgin Olive Oils*, 9: 26-32.

LuKić, M., LuKić I., Krapac M., Sladonja B., et Pilizota V. 2013. Sterols and triterpenediols in olive oil as indicators of variety and degree of ripening. *Food Chemistry*, 136: 251-258.

M

Mahjoub F., Manai H., Daoud D., Fernandez X ; Lizzani Cuvelier L. et Zarrouk M. 2006. Profiles of volatiles compounds from sommonovariétal Tunisian virgin olive oils. *Food Chemistry*, 10:1016.

Martínez Cano M., MartínVertedor D., et Franco Baltasar M.N., 2013. Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. *Food Chemistry*, 141: 2575-2581.

Matos L.C., Pereira J.A., Andrade P.B., Seabra R. M. et Oliveira M.B.P. 2007. Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils. *Food Chemistry*, 102: 976– 983.

Matos L.C., Cunha S.C. et Amaral J.S. 2007. Chemometric characterization of three varietal olive oils (*cvs.cobrançon, Madural and Transmontana*) extracted from olives with different maturation indices. *Food chemistry*, 102:406-414.

Martysiak-Żurowska D. et Wentka W .2012. A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Technologie Aliment*, 11: 83-39.

Metzidakis I., Gerasopoulous D. et Kiritsakis K. 1995. Effet de la durée du séjour des olives dans les filets sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivea*, 56: 40-43.

Minguer-Mosquera M., Gandul-Rojas B., Garrido-Fernandez J., et Gallardo-Guerrero L. 1990. Pigments présent in Virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists*, 67: 192-196.

Minioti K.S. et Georgiou C.A. 2008. High throughput flow injection bioluminometric method for olive oil antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 109:455-461.

Minguez-Mosquera, M. I., Rejano, L., Gandul, B., Sanchez, A. H. et Garrido, J. 1991. Color-pigments correlation in virgin olive oil. *Jornal of the American Oil Chemists*, 68: 322-337.

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

O

Ocakoglu D., Tokatli F., Ozen B. et 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.

Ollé Michel, 2002. Analyse des corps gras DGCCRF, Laboratoire interrégional de Montpellier France, *Techniques de l'ingénieur*, pp 3325.

Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guerere M.et Artaud J.2004. Analyse de la fraction phénolique de l'huile d'olive vierge. *Annales de falsification, de l'expertise chimique et toxicologique*, 965 : 169-196.

Ouachich A. et Chimi H. 2007. *Guide du producteur de l'huile d'olive in production de l'huile d'olive*, 346:321-329.

P

Pagès-xatart-parès X.2012. *Technologies des corps gras,techniques de l'Ingénieur*, pp: 2-18.

Parvaiz M., Hussain K., Shoaib M., William G., Tufail M., Hussian Z., Gohar D et Imtiaz S. 2013. Therapeutic Significance of olive *oleaeuropea L.* (Olaeceae Family). *Global Journal of Pharmacology*, 7:333-336.

Paz Aguilera M., Beltran G.,Ortega D.,Fernandez A., Jimenez A. et Uceda M. 2005. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars:'Frantoio' and 'Leccino',grown in Andalusia. *Food Chemistry*, 89:387-391.

Perreira-Caro G.,Madrona A., BravoL.,Espantero J.L., Alduria F.,Cert A. Et Matios R.2009. Antioxydant activity evaluation of alkyl hydroxytyrosol ethers, a new class of hydrxytyrosol derivatives. *Food Chemistry*, 115:86-91.

Q

Quiles J.L., Ramirez-Tortosa M C., Gomez J. A.,HuertasJ.R. et Mataix J.2002. Role of vitamin E and phenolic compounds in the antioxidant capacity, measured by ESR, of virgin olive, olive and sunflower oils after frying. *Food Chemistry*,76: 461-468.

R

Rahmani M., et Saaricsallany A. 1990. Mise au point d'une méthode de chromatographie liquide (C L H P) pour la détermination des pigments chlorophylliens dans les huiles végétales. *Revue de mla recherche agronomique marocaine*, pp : 1-7.

Ribéreau-Gayon. P, 1968. Les composés phénoliques des végétaux.

Roca M. et Minguez-Mosquera M.I. 2001. Changes in chloroplast pigments of Olive Varieties during Fruit Ripening. *J.Agric. Food Chemistry*, 49:832-939.

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

S

Salas J. J., Sanchez J., Ramli U.S., Manaf A.M., Williams M. et Harwood J.L. 2000. Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruit tissues. *Food Chemistry*, 94: 529-543.

Salvador M. D., Aranda F. et Fregapane G. 1998. *Chemical composition of commercial Cornicabra virgin olive oil* from 1995/96 and 1996/97 corps.

Salvador M.D., Aranda F. et Fregapane G. 2001. Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality: A study of four successive corps seasons. *Food Chemistry*, 73:45-53.

Salvador M.D., Aranda F., Gomez-Alonso S. et Fregapane G. 2003. Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five corp season. *Food Chemistry*, 80: 359-366.

Samaniego-Sanchez C., Troncoso-Gonzalez A.M., Garcia-Parrilla M. C., Quesada-Grandos J.J., Lopez Garcia de la Serrana H. et 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. Et 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.

Sebeie. K., Boukhchina. S., Kallel. H. 2007. Evolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des graines de colza de printemps (*Barassicanapus L.*). *C.R. Biologies*, 330: 55-61.

Simopolous P., 1995. The mediteranean food guide.Greeccoloumn rather than Egyptian pyramid. *Nutrition today*, pp: 58-59.

Sotiroudis T.G. et Kyrtopoulos S.A. 2008. Anticarcinogenic compounds of olive oil and related biomarkers. *European Journal of Nutritional*, 47: 69–72.

St Angelo J.A.1996. Lipid oxidation in foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 36: 175-224.

T

Tanouti K.,Serghini-Caid H.,ChaiebE.,Benali A.,Harkous M., et Elamrani A.2011. Amélioration qualitative d’huiles d’olive produites dans le Maroc oriental. *Les technologies de laboratoire*, 22 :1-12.

Therios, I. N.2009. *Olives*, CABI, pp: 1-399.

Torres M. M et Maestry D.M. 2006. The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from Traslasierra Valley (Cordoba, Argentina).*Food Chemistry*,96 :507–511.

Tovar M.J., Paz Romero M., GironaJ. et Motilva M.J. 2002. L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive (*Olea europaea–L cvArbequina*) fruit grown under different irrigationregimes.*Journal of Science of food and Agriculture*, 82: 892-898.

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

U

Union International de la chimie Pure et Appliquée (UICPA). (1979). *Méthodes d’analyse de la matière grasse et dérivée*, 53 :324-329.

V

Veillet S. 2010. *Enrichissement nutritionnel de l’huile d’olive: Entre tradition et Innovation*, Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse, pp : 1-130.

VisioliF. et Galli C.1998. Olive Oil Phenols and their Potential Effects on Human Health. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46: 4292-4296.

Vuorela S. 2005. Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics.

W

Wiesman, Z. 2009. Desert Olive Oil Cultivation: Advanced Bio Technologies, *Elsevier Science*, pp: 1–395.

Wolff J.P; 1968. *Méthodes générales d'analyses, dosage des produits d'oxydation*, Paris : 259-266.

Y

Yaacoubi.R. 2009. Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineuse ; Intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés.

Z

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

Zulueta A., Esteve M.J et Frigola A.2009. ORAC and TEAC essays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114:310-316.

Résumé

Ce travail a été entrepris dans le but de comparer, du point de vue physico-chimiques trois variétés d'huiles d'olives (*Chemlal*, *Azerradjet Limli*) cultivées dans les mêmes conditions pédo-climatiques et agronomiques à Seddouk, ainsi qu'aux coupages issus de ces variétés d'une part, et d'autre part d'estimer leur activité antioxydante par deux méthodes (avec le radical DPPH et le pouvoir réducteur). Les résultats obtenus révèlent que, l'indice de maturité, le poids moyen des fruits, le taux d'humidité et le rendement en huile, dépend fortement de la variété étudiée; les indices de qualité (acidité, indice de peroxyde, les extinctions spécifiques à l'UV) sont conformes aux normes recommandées par le COI (2015), ce qui nous a permis de classer nos huiles dans la catégorie vierge extra. Nos échantillons révèlent une grande capacité antioxydante, vu leur richesse en composés phénoliques et en *ortho*-diphénols. Concernant les mélanges, en effet, la plus part des coupages issus de la variété *Limli* possède des teneurs élevées en pigment, en polyphénols et en *ortho*-diphénols notamment pour l'échantillon *Limli/Chemlal*. Ces résultats nous mènent à confirmer que nos variétés d'huile d'olive étudiées constituent une bonne source d'antioxydants naturels. Cependant, d'autres analyses sont à envisager afin de compléter la présente étude.

Mots clés : huile d'olive, variété, *Azerradjet*, *Chemlal*, *Limli*, coupage, qualité, activité antioxydante.

Abstract

This study was undertaken to compare, from a physicochemical point of view for three varieties of olive oils (*Chemlal*, *Azerradjet* and *Limli*) grown in the same soil and agronomic conditions in Seddouk, as well as blends from these varieties on the one hand, and on the other hand to estimate their antioxidant activity by two methods (with DPPH radical and reducing power). The results show that, the maturity index, the average fruit weight, humidity and oil yield, highly dependent on the variety; the quality indices (acidity, peroxide value and the specific extinctions to UV) comply with the standards recommended by the IOC (2015), which gives us our oils in extra virgin category. Our samples show high antioxidant capacity, given their wealth of phenolic compounds and *ortho*-diphenols. For mixtures, in fact, most of the blends resulting from the *Limli* variety have high pigment contents, polyphenol and *ortho*-diphenols including the sample *Limli/Chemlal*. These results lead us to confirm that our olive oil varieties are a good source of natural antioxidants. However, further analysis should be considered in order to complete this study.

Keywords: olive oil, variety, *Azerradjet*, *Chemlal*, *Limli*, blends, quality, antioxidant activity.