



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Sciences Biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Qualité des produits et sécurité des aliments

Intitulé

**Enrichissement de l'huile d'olive par des antioxydants naturels
(feuilles de *Pistacia Lentiscus*)**

Présenté par : Bachra Hansali
Boulaares Ahlem

Soutenu le : 07/07/2019

Devant le jury :

Président :	M ^F Touati Nourddine	MCA Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi
Encadrant :	M ^{me} Haddache Lamia	MAB Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi
Examineur :	M ^{me} Boulkroune Hasna	MCB Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi

Année universitaire : 2018/2019

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Glossaire

Introduction 01

Partie bibliographique

Chapitre I : De l'olivier à l'huile d'olive

I. L'olivier

I.1. Historique..... 02

I.2. Oléiculture en Algérie 02

I.3. Oléiculture à Bordj Bou Arreridj..... 02

I.4. Taxonomie et origine génétique de l'olivier 03

II. Olive et huile d'olive..... 04

II.1. Définition de l'olive 04

II.2. Définition de l'huile d'olive 04

II.3. Les catégories de l'huile d'olive 05

II.4. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive 05

II.4.1. récolte des olives 05

II.4.2. Transport des olives 05

II.4.3. Effeillage et lavage 05

II.4.4. broyage 06

II.4.5. malaxage de la pâte 06

II.4.6. Extraction de l'huile d'olive 06

II.4.6.1. Système discontinu d'extraction par presse 06

II.4.6.2. Système d'extraction continu avec centrifugation à trois phases 07

II.4.6.3. Système d'extraction continu avec centrifugation à deux phases 08

Chapitre II : Compositions et bienfaits de l'huile d'olive

I. Composition chimique de l'huile d'olive

I.1. Fraction saponifiable..... 09

I.1.1. Triglycérides.....	09
I.1.2. Acides gras.....	09
I.2. Fraction insaponifiable.....	10
I.2.1. Composés phénoliques	10
I.2.2. Pigments.....	10
I.2.3. Composés volatiles.....	11
I.2.3.1. Tocophérols.....	11
I.2.3.2. Stérols.....	11
I.2.4. hydrocarbures.....	11
II. Les bienfaits de l’huile d’olive	11
 Chapitre III : Activité antioxydante de l’huile d’olive	
III.1. Généralité.....	13
III.2. Classification des antioxydants.....	13
III.2.1. Antioxydants synthétiques.....	13
III.2.2. Antioxydants d’origine végétale.....	13
III.2.2.1. Les tocophérols.....	13
III.2.2.2. Les polyphénols.....	14
III.2.2.3. Les caroténoïdes.....	15
III.3. Mécanisme d’action des antioxydants.....	15
III.4. Les facteurs influençant l’activité antioxydante de l’huile d’olive ...	16
III.4.1. Influence de la maturation des olives	16
III.4.2. Les paramètres agronomiques	16
III.4.3. Influence de la lumière	16
III.4.4. Influence de l’oxygène	17
III.5. La stabilité oxydative de l’huile d’olive.....	17

Partie expérimentale

I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétale.....	19
I.1.1. Huile d’olive.....	19
I.1.2. La plante d’enrichissement utilisé (<i>Pistacia lentiscus</i>)	19
I.1.3. Préparation du mélange huile/poudre des feuilles <i>Pistacia</i>	20

I.2. Analyse physico-chimique de l'huile d'olive	21
I.2.2. L'humidité	21
I.2.3. Détermination de l'acidité	21
I.2.4. Détermination de l'indice de peroxyde	22
I.2.4. Détermination de la teneur en pigments (chlorophylles et caroténoïdes)	23
I.3. Etude de l'activité antioxydante	23
I.3.2. Extraction des composés phénoliques totaux	24
I.3.3. Dosage des polyphénols totaux	24
I.3.3. Dosage des flavonoïdes	25
I.3.4. Test de piégeage du radical libre DPPH	25
II. Résultats et discussions	
II.1. L'humidité	27
II.2. L'acidité	27
II.3. L'indice de peroxyde	27
II.4. La teneur en pigments	28
II.5. La teneur en polyphénols	29
II.6. La teneur en flavonoïdes	30
II.7. Test de l'activité antiradicalaire DPPH	31

Conclusion

Références bibliographique

Annexe

Résumé

Abs : Absorbance.

AGI : Acide Gras Insaturé.

AGMI : Acide Gras Mono Insaturé.

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés.

AGS : Acide Gras Saturé.

CEE : Communauté Economique Européenne

COI: Conseil Oléicole International.

Ha : Hectare.

IP : Indice de Peroxyde.

ISO : Organisation International de Normalisation.

J.C : Jésus Christ.

Meq : Milliéquivalent.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

rpm: rotation par minute.

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau I	Classification botanique de l'olivier	3
Tableau II	Les principaux triglycérides de l'huile d'olive	9
Tableau III	Composition en acide gras de l'huile d'olive	10
Tableau IV	les principales classes des polyphénols dans l'huile d'olive	14

Figure	Titre	Page
01	Carte oléicole d'Algérie	3
02	Coupe longitudinale et transversale de l'olive	4
03	Système discontinu d'extraction par presse	7
04	Système continu d'extraction avec centrifugation à 3 phases	8
05	Système continu d'extraction avec centrifugation à 2 phases	8
06	Les quatre formes isométriques des tocophérols	14
07	Structure de β - carotène	15
08	Neutralisation des radicaux libre par les antioxydants	16
09	La plante de <i>Pistacia lentiscus</i>	19
10	Photo prise des feuilles de <i>Pistacia Lentiscus</i>	20
11	Les formes de la molécule du DPPH	25
12	Teneurs en polyphénols totaux de l'huile d'olive non traitée et des huiles enrichies avec la poudre de <i>Pistachia L</i>	29
13	Teneurs en flavonoïdes de l'huile d'olive non traitée et des huiles enrichies avec la poudre de <i>Pistachia L</i>	30
14	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extrais méthanoliques des différents échantillons d'huiles traitées et non traitées	31

Athérosclérose : Perte d'élasticité des artères due à la sclérose provoquée par l'accumulation des corps gras, essentiellement le cholestérol LDL, au niveau d'une des trois couches constituant la paroi des gros et moyens artères (l'intima), ce dépôt se traduit par la formation d'une plaque jaunâtre, qui se nomme « l'athérome ».

Cardiovasculaire : Relatif au cœur et aux vaisseaux sanguins.

Cholestérol HDL : Appelé bon cholestérol, est une lipoprotéine qui ramène le cholestérol au foie.

Cholestérol LDL : Appelé « mauvais cholestérol », est une lipoprotéine qui amène le cholestérol au tissu.

Hypertension : Elévation transitoire ou durable de la pression artérielle systémique à un niveau susceptible d'induire des lésions cardio-vasculaires ou d'autres conséquences néfastes.

Remerciement

*Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant
de nos avoir donné la santé, la patience, la puissance
et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

On tient à exprimé toute notre reconnaissance

Et notre gratitude à notre

Encadreur madame Haddache Lamia,

*d'avoir accepté de diriger ce travail, sans ses
orientations et ses précieux conseils, ce mémoire
n'aurait jamais vu le jour.*

*On adresse nos remerciements les plus sincères
à Monsieur Touati. N pour l'honneur qu'il nous fait en
acceptant de présider ce jury.*

On tient à remercier profondément

Madame Boulkroune. H, d'avoir d'examiner ce travail.

Dédicace

*Je tiens vivement, à dédier ce travail en signe
de respect et de reconnaissance à : Deux
personnes très chères qui ont partagé mes joies
et mes peines, qui ont été toujours à mes cotés,
qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui :
ma mère et mon père.*

*Je dédie également ce travail à une personne qui
me tient à cœur et partage tous les moments de
joie, de tristesse et qui était mon plus grand
exemple de patience à Yahia.*

*A mon frère et mes sœurs : Mohamed, Nadia et
Nassima.*

A ma collègue Bachra.

Ahlem

Dédicace

*En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir
Donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.*

Je dédie ce travail :

A mes chers parents

Mon chère Papa, qui à toujours soutenu, et pour

Sec sacrifices et ses encouragements

Que Dieu le garde.

A Ma chère mère qui ma entourée avec sa tendresse

Et qui n'a cessé de prier pour moi.

A mon grand-père

A mes frères : Mounir, Rida et chérif.

A mes sœurs : Kamar, Warda et Fatima,

À mes cousins (es)

A mes chères amis (es)

A ma collègue «Ahlem» qui a partagée avec moi les moments

Difficiles de ce travail.

Et à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

A vous tous merci.

Hansali Bachra

Introduction

L'une des nourritures sur laquelle le Coran attire l'attention est l'olive. Des recherches récentes ont indiqué que l'olive est non seulement un aliment délicieux mais il représente aussi une importante source de bienfaits pour la santé. En dehors de l'olive en tant que fruit, l'huile qui en est issue est une importante source de nutrition. C'est en ces termes que le Coran souligne l'importance de l'huile extraite de l'olivier.

En matière de production d'huile d'olive, l'Algérie est classée au 9^{ème} rang avec 1,7% de la production mondiale. La structure variétale montre la prédominance de la variété *Chemlal* qui occupe 30% des superficies totales et 44% des terres destinées à l'huile d'olive (**Marouane et al., 2014**).

L'huile d'olive représente une source typique de lipide de régime méditerranéen. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (**Boskou, 1996**). Ces bienfaits ont été liés l'un ou l'autre à sa composition en acides gras, où l'acide oléique est le composant principal et/ou à la présence des biomolécules mineures, telles que les vitamines et les antioxydants naturels qui ont un effet protecteur contre les altérations cellulaires induites par les radicaux libres (**De Faveri et al., 2008**).

La qualité de l'huile d'olive dépend de plusieurs facteurs tels que la maturation, la méthode d'extraction, le type de sol, les conditions climatiques, les variétés et les conditions de stockage.

Ces dernières années, différents procédés ont été proposés pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive, entre autres l'enrichissement exogène par l'incorporation de matières végétales.

L'objectif de notre étude consiste à réaliser une analyse physicochimique d'une huile d'olive vierge de la région de Djaafra (wilaya de Borj bou-arrérij), ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante de cette même huile avant et après l'enrichissement avec la poudre séchée des feuilles de *Pistacia Lentiscus*.

La première partie de ce travail consiste en une partie bibliographique, sur l'olive, l'huile d'olive et l'activité antioxydante de l'huile d'olive.

La deuxième partie, expérimentale, est consacrée à la détermination des indices de qualité de l'huile brute (humidité, acidité, indice de peroxyde, la teneur en pigment); et le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et les flavonoïdes) et l'activité antioxydante de l'huile d'olive avant et après enrichissement avec la poudre des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

I. L'olivier

I.1. Historique

La culture de l'olivier est très ancienne. Son histoire se confond avec celle du bassin méditerranéen, elle est apparue progressivement 10 000 ans avant notre ère (**Chevalier, 1948**). L'origine de l'olivier se situe en Asie mineure depuis six mille ans avant J.C. Il est apparu en premier temps en Palestine, la Syrie et le Liban. La culture de l'olivier a poursuivi son expansion en dehors de la Méditerranée avec la découverte de l'Amérique en 1492. En 1560, l'olivier est retrouvé au Mexique, puis au Pérou, en Californie, au Chili et enfin en Argentine (**Chevalier, 1948**).

Au cours des périodes plus récentes, l'olivier est connu en Afrique du Sud, en Australie, au Japon et en Chine. L'olivier reste cependant une culture méditerranéenne par excellence. Peu à peu, au gré des mouvements et des conquêtes, l'olivier se répandit sur tout le pourtour méditerranéen : Italie, Espagne, Algérie, Tunisie, Maroc...etc (**Breton et al., 2009**).

I.2. Oléiculture en Algérie

La culture de l'olivier revêt une importance non négligeable pour l'Algérie et surtout la Kabylie sur une surface totale d'environ 500.000 ha pour plus de 28 millions d'arbres.

Selon les chiffres avancés par l'Instance internationale de contrôle de la production d'huile d'olive, l'Algérie a produit lors de la saison 2016/2017, 66.700 tonnes d'huile d'olive contre 80.000 tonnes en 2017/2018, occupant ainsi la 9^{ième} place au niveau mondial.

Pour moderniser cette filière en difficultés, le ministère de l'agriculture a mis en œuvre des mesures incitatives à la production en faveur des professionnels de l'oléiculture. Un programme qui entre dans le cadre de la Politique de Renouveau Agriculture et Rurale (PRAR).

I.3. Oléiculture à Bordj Bou Arreridj

La wilaya de Bordj Bou-Arreridj, qui dispose de près de 2,5 millions d'oliviers est classée 5^{ième} au niveau national en matière de production d'huile après Bejaia, Tizi-Ouzou, Bouira et Boumerdès (**Direction des services agricole de la wilaya de BBA**).

Cette wilaya, qui a consacré une partie importante de sa surface à cette activité, aspire à améliorer sa production. Les oliviers qui étaient répandus surtout au Nord sont désormais présents à l'Ouest et même au Sud.

Selon la direction des services agricole de la wilaya de Bordj Bou Arreridj, la superficie oléicole a atteint 26478 Ha à la fin de l'année 2018.

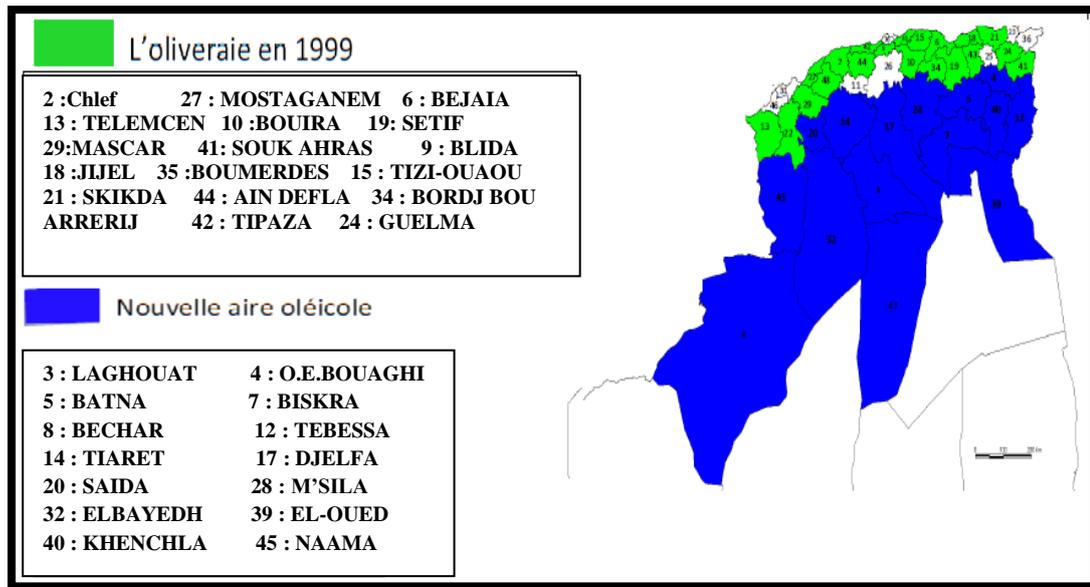


Figure n°1 : Carte oléicole d'Algérie (Boukhari, 2013/2014).

I.4. Taxonomie et origine génétique

L'olivier appartient à la famille des Oleaceae, genre *Olea*. Le patrimoine variétal comprend plus de 3000 cultivars ayant une diversité phénotypique et génétique importante (Ouazzani *et al.*, 1995).

L'étude de la diversité moléculaire de cultivars et d'oléastres révèle que les cultivars s'apparentent aux oléastres (Besnard *et al.*, 2001). L'olivier et l'oléastre représentent un très bon exemple de biodiversité, on distingue :

- L'olivier cultivé : *Olea europaea sativa*.
- L'olivier sauvage ou oléastre : *Olea europaea sylvestris* (Breton *et al.*, 2009).

Le tableau suivant résume la classification botanique de l'olivier.

Tableau n°I: Classification botanique de l'olivier (Breton *et al.*, 2009).

Famille	<i>Oleaceae</i>
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Olea europaea</i>
Sous-espèce	<i>O.europaea sylvestris</i> (oléastre)
	<i>O.europaea sativa</i>

II. L'olive et l'huile d'olive

II.1. Définition de l'olive

L'olive est une drupe à peau lisse, à enveloppe charnue renfermant un noyau très dur, osseux, qui contient une graine, quelques fois deux. Sa forme ovoïde est typique. Sa couleur, verte, vire au violacé et au noir à maturité complète, vers octobre novembre dans l'hémisphère nord (Gigon *et Jeune*, 2010).

Les principaux constituants de l'olive sont : l'eau (50%), l'huile (22%), les polysaccharides (19.5%), la cellulose (5.8%) et les sels minéraux (1.5%) (Ghanbari *et al.*, 2012). Selon Ghanbari *et al.* (2012), L'olive est essentiellement composé de :

- **L'épicarpe** : est recouvert de cire, lors de la phase de maturation. La couleur de la peau vire du vert clair au violet et noir.
- **Le mésocarpe** : avec une pulpe charnue, représente 84-90% de la masse totale de fruits.
- **Endocarpe** : noyau contenant une graine peut varier de 13 à 30% du poids du fruit.

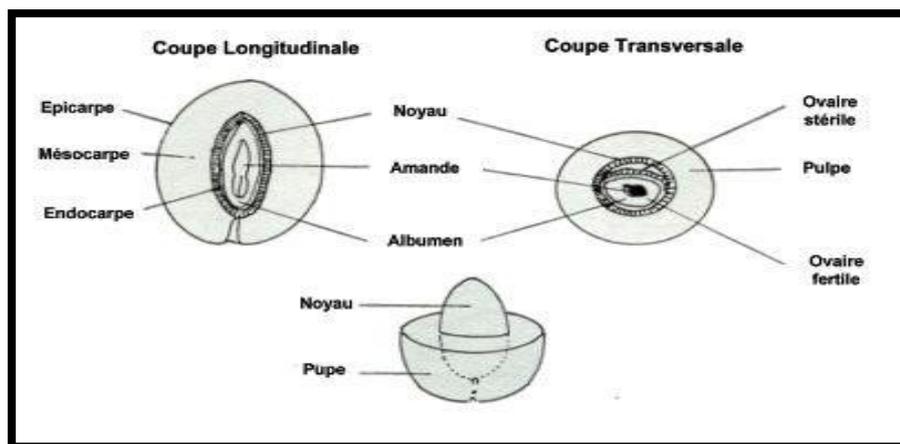


Figure n°2 : Coupe longitudinale et transversale de l'olive (Breton *et al.*, 2009).

II.2. Définition de l'huile d'olive

Huile d'olive vierge et extra-vierge (en France, vierges extra) : elles sont, d'après la définition du COI, « obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans les conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration ».

II.3. Les catégories de l'huile d'olive

Les catégories d'huile d'olive sont établies par le Conseil Oléicole International (COI, 2015).

- **Huile d'olive extra-vierge** : son taux d'acidité ne doit pas dépasser 0,8%.
- **Huile d'olive vierge** : son taux d'acidité ne doit pas dépasser 2%.
- **Huile d'olive raffinée à partir d'huiles vierges** : elle est issue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modification de la structure glycérique initiale. Son taux d'acidité ne dépasse pas 0,3%. A ne pas confondre avec des huiles d'olive bon marché qui ont subi un raffinage ou un traitement industriel.

II.4. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive

Selon le guide de production de l'huile d'olive, la récolte des olives, le stockage et les étapes de transformation d'olives sont des paramètres importants qui affectent de manière significative la qualité de l'huile d'olive vierge.

II.4.1. Récole des olives

La récolte est une opération importante de la culture de l'olivier. La phase de maturation du fruit est l'un des facteurs les plus importants qui déterminent la qualité sensorielle de l'huile (Herrera *et al.*, 2012). La récolte devrait être effectuée avant la chute naturelle des olives à une période optimale permettant de tirer le rendement maximal à l'extraction (Ahmidou *et Hammadi*, 2007).

II.4.2. Transport et stockage des olives

Le moyen le plus approprié pour le transport des olives est représenté par les caisses à claire voie en matière plastique permettant la circulation de l'air et évitant des réchauffements préjudiciables causés par l'activité catabolique des fruits.

La durée de stockage des olives avant transformation doit être aussi réduite que possible, et dans tous les cas inférieures à 3 jours, car un stockage prolongé représente une cause principale de détérioration de la qualité de l'huile (Ahmidou *et Hammadi*, 2007).

II.4.3. Effeillage et lavage

La présence des feuilles lors du broyage détériore les caractéristiques organoleptiques de l'huile avec apparition de la couleur verdâtre et d'un goût désagréable surtout si les broyeurs métalliques sont utilisés pour le broyage. Le poids de feuilles à tolérer ne doit pas dépasser 1%

du poids du lot d'olives à triturer. L'opération de lavage permet de conserver la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive en se débarrassant des impuretés (poussière; terre; pierre et autres matières solides) (**Ahmidou et Hammadi, 2007**).

II.4.4. Broyage

Le broyage des olives n'est pas uniquement un simple processus physique utilisé pour briser les tissus des fruits et libérer les gouttes d'huile contenues dans les vacuoles des cellules végétales, mais c'est aussi une étape cruciale qui affecte la qualité finale de l'huile d'olive vierge produite (**Inarejos et al., 2011**).

II.4.5. Malaxage de la pâte

Le malaxage de la pâte est conçu pour améliorer l'effet du broyage et homogénéiser la pâte. Au cours de l'étape de malaxage, les petites gouttelettes de l'huile, au moyen de pétrissage lent et continue de la pâte produite après le broyage, ces gouttelettes fusionnent en grosses goutte qui seront facilement séparés, ainsi qu'il contribue à réduire ou éliminer l'émulsion formée au cours du broyage.

L'efficacité du malaxage dépend des caractéristiques rhéologiques de la pâte d'olive et sur les paramètres technologiques de fonctionnement, tels que le temps et la température de malaxage (**Ghanbari et al., 2012**).

II.4.6. Extraction de l'huile d'olive

Le traitement des olives en vue de l'extraction de l'huile peut se faire par des moyens mécaniques (par pression ou centrifugation). Divers systèmes d'extraction sont employés pour extraire l'huile des olives.

II.4.6.1. Système discontinu d'extraction par presse

Ce système utilise des presses métalliques à vis ou, le cas échéant des presses hydrauliques. La pâte issue du broyage est empilée sur les scourtins, à raison de 5 à 10 Kg par scourtin. L'application de la pression sur la charge des scourtins doit être réalisée de manière progressive. L'opération de pressage dure au moins 45 mn. Le système discontinu d'extraction par presse est représenté par la figure 3 (**Ben Hassine et al., 2009**).

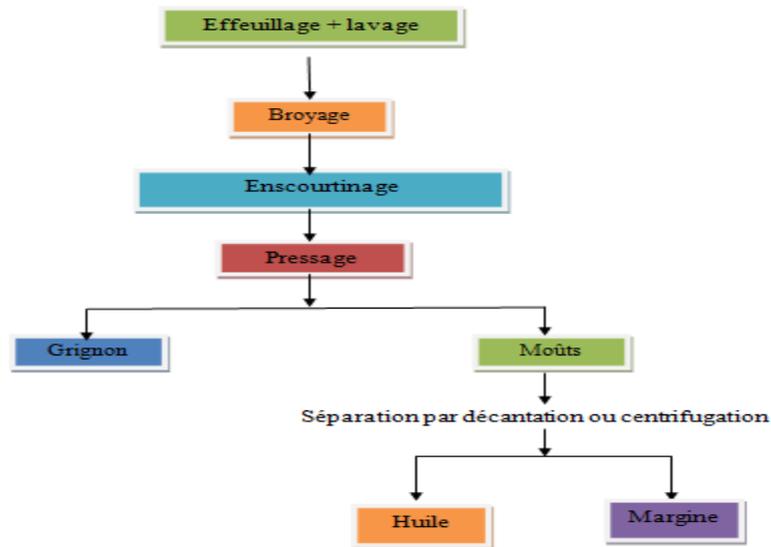


Figure n°3 : Système discontinu d'extraction par presse (Ben Hassine *et al.*, 2013).

II.4.6.2. Système d'extraction continu avec centrifugation à trois phases

Les trois phases sont : huile, margines et grignon. L'introduction de ces installations «Continues » a permis de réduire les coûts de transformation et la durée de stockage des olives avec comme conséquence une production oléicole de moindre acidité. Le système continu d'extraction avec centrifugation à trois phases est représenté par la figure 4 (Ben Hassine *et al.*, 2013).

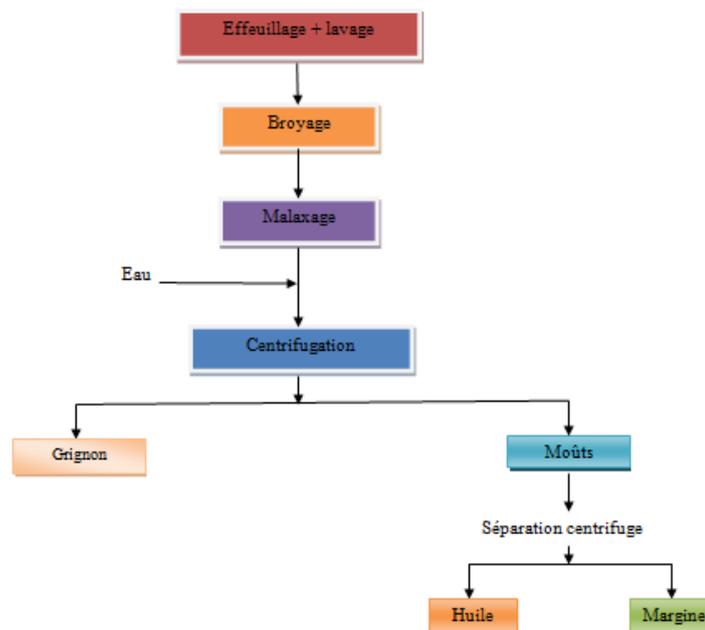


Figure n°4 : Système continu d'extraction avec centrifugation à 3 phases (Ben Hassine *et al.*, 2013).

II.4.6.3. Système d'extraction continu avec centrifugation à deux phases

Le procédé technologique d'extraction des huiles d'olive fonctionne avec un nouveau décanteur avec centrifugation à deux phases (huile et grignon) qui ne nécessite pas l'ajout d'eau pour la séparation des phases huileuse et solide contenant le grignon et les margines. Le système continu d'extraction avec centrifugation à deux phases est représenté par la figure 5 (Ben Hassine *et al.*, 2013).

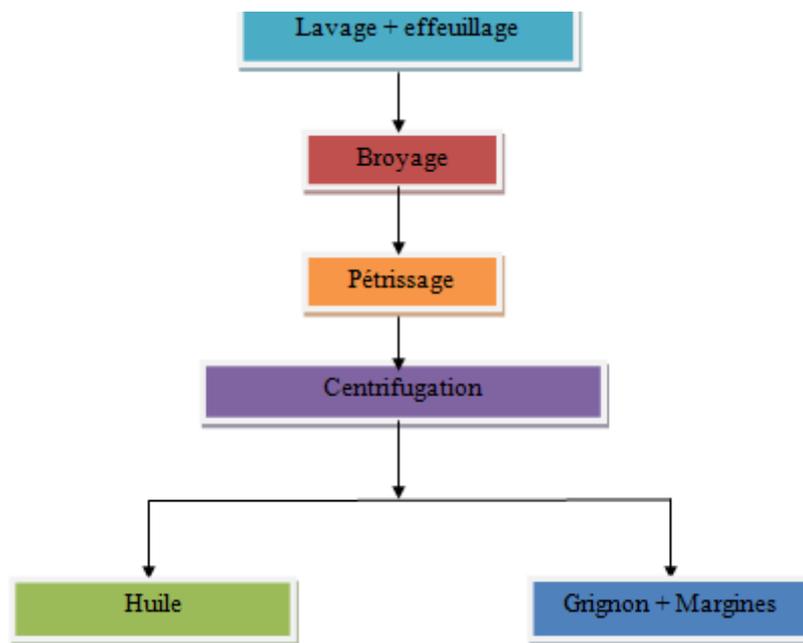


Figure n°5 : Système continu d'extraction avec centrifugation à 2 phases (Ben Hassine *et al.*, 2013).

II.1. Composition chimique de l'huile d'olive

Selon la norme internationale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive, les constituants chimiques de l'huile d'olive vierge peuvent être subdivisés en deux catégories : la fraction saponifiable (98%), formé principalement de triglycéride et d'acide gras libres et une fraction insaponifiable (2%), comportant un mélange complexe de composé mineurs.

II.1.1. Fraction saponifiable

II.1.1.1. Triglycérides

Ce sont des esters d'acides gras et du glycérol. Le triglycéride majoritaire de l'huile d'olive est la trioléine (triester de l'acide oléique avec le glycérol) (Ruiz *et al.*, 1998). Les principaux triglycérides présents dans l'huile d'olive sont représentés dans le tableau II.

Tableau n°II : Les principaux triglycérides de l'huile d'olive (Ruiz *et al.*, 1998).

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

O : Acide Oléique, L: Acide Linoléique. P: Acide Palmitique, S: Acide Stéarique

II.1.1.2. Acides gras

L'huile d'olive est riche en acide oléique qui représente 5 à 83% des acides gras totaux, suivit de l'acide linoléique et l'acide palmitique qui sont présents avec des concentrations comprises entre (3 et 21%) et (7,50 et 20%) respectivement. L'acide α -linoléique se trouve à l'état de traces (Visioli *et al.*, 2002). Le tableau suivant représente les principaux acides de l'huile d'olive.

Tableau n°III : Composition en acide gras de l'huile d'olive (COI, 2015).

Acide gras	Teneur (%)
Acide Myristique	< 0,03
Acide Palmitique	7,50 - 20,00
Acide Palmitoléique	0,30 - 3,50
Acide Heptadécanoïque	< 0,30
Acide Heptadécénoïque	< 0,30
Acide Stéarique	0,50 - 5,00
Acide Oléique	55,00 - 83,00
Acide Linoléique	2,50 - 21,00
Acide Linoléique	< 1,00
Acide Arachidique	< 0,60
Acide Gadoléique	< 0,40
Acide Béhénique	< 0,20
Acide Lignocérique	< 0,20

II.1.2. Fraction insaponifiable

II.1.2.1. Composés phénoliques

L'huile d'olive contient des quantités considérables de composés phénoliques, qui lui confèrent son goût si particulier et sa grande stabilité (Visioli *et Galli*, 2002 ; Tripoli *et al.*, 2005). La composition qualitative et quantitative de la fraction phénolique est affectée par des facteurs génétiques et agronomiques des cultivars et par les réactions enzymatiques qui se produisent au cours de l'extraction mécanique d'huile (Taticchi *et al.*, 2013).

II.1.2.2. Pigments

La couleur de l'huile d'olive est due essentiellement à la présence des chlorophylles et les caroténoïdes, qui sont transférés du fruit de l'olive à l'huile durant l'extraction (Cerretani *et al.*, 2008).

Les chlorophylles représentent 1 à 20 mg/kg de l'huile fraîche, dont 40 à 80% sont des phéophytines (Ranalli, 1992).

Le pigment caroténoïde majoritaire de l'huile d'olive est le β -carotène (Provitamine A). Son taux varie de 0,3 à 3,7 mg/Kg d'huile (Kataja, 2008). Les teneurs en β -carotène de l'huile

d'olive sont influencées par le système d'extraction, le mode et la durée de conservation et la maturation du fruit (Nieves *et al.*, 2008).

II.1.2.3. Composés volatiles

II.1.2.3.1. Tocophérols

L'huile d'olive contient l' α -tocophérol qui est le tocophérol doté de la plus forte activité vitaminique E, à des teneurs variant de 1,2 à 43 mg/100 g (Kiritsakis, 1998). Sa teneur moyenne dans l'huile d'olive est d'environ 12 à 25 mg/100 g (Psomiadou *et al.*, 2000). D'autres recherches ont abouti à des valeurs encore plus élevées, de 24 à 43 mg/100g (Gutierrez *et al.*, 1999).

II.1.2.3.1. Stérols

Les stérols représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive. Ils sont présents sous forme libres ou estérifiée avec les acides gras (Philips *et al.*, 2002). Parmi les facteurs qui influent sur leur teneur dans l'huile d'olive, figurent la variété des olives et leur degré de maturité. Dans l'huile d'olive, le principal stérol est le β -sitostérol (Gutierrez *et al.*, 1999).

II.1.2.4. Hydrocarbures

L'une des plus grandes différences entre l'huile d'olive vierge et le reste des huiles alimentaires est la composition en hydrocarbures, ils sont majoritairement représentés par le squalène avec une teneur de 780mg/100g d'huile d'olive (Lanzón *et al.*, 1994). le squalène est caractérisé par une stabilité élevée sous des conditions d'autooxydation et contribue ainsi à la stabilité de l'huile après exposition à la lumière (Grigoriadou *et al.*, 2007).

II.2. Les bienfaits de l'huile d'olive

L'huile d'olive est un produit ancestral largement reconnu pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine. Sa consommation a été associée à une faible incidence de maladies cardiovasculaires, neurologiques et cancéreuses. Ces bienfaits ont été attribués aux éléments nutritifs et fonctionnels que l'on retrouve dans l'huile tels que l'acide linoléique, les vitamines, les antioxydants naturels (Matos *et al.*, 2007).

- **Acide oléique** : Réduit particulièrement le taux du cholestérol total et le LDL responsable de la formation de l'athérosclérose et augmente le HDL (Perez-Jiménez *et al.*, 2007). Normalise les paramètres membranaires détériorés en cas d'hypertension, en améliorant la fluidité

membranaire et l'expression de protéines impliquées dans la régulation de la pression artérielle (**Perona et al., 2010**).

• **Polyphénols** : Exercent une activité bactéricide et fongicide (**Yangui et al., 2009**), et normalise la pression sanguine et prévoient l'athérosclérose en agissant comme piègeur de radicaux libres et préservent les LDL de l'oxydation in vitro et leur adhérence aux parois artérielles (**Al-Rewashdeh, 2010**).

• **Tocophérols** : Manifestent une activité vitaminique. Exercent des effets bénéfiques a l'égard des maladies cardiovasculaires et contre le cancer du poumon, du col de l'utérus et de la prostate (**Shklaret Oh, 2000**).

• **Chlorophyle** : La chlorophylle contenue dans l'huile d'olive stimule la multiplication des globules rouges et participe à l'accélération du processus de cicatrisation (**Ben Tekaya et Hassouna, 2007**).

III.1. Généralité

L'oxydation est l'un des processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants. Ces radicaux causent des dégradations majeures dans les macromolécules et l'acide nucléique (**Bubonja et al., 2011**).

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation des d'autres substances chimiques. Il est défini par **Halliwell, (1999)**, comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». C'est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques des radicaux libres.

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons des autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité (**Turrens et al., 1985**).

III.2. Classification des antioxydants

III.2.1. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire sont : le butylhydroxyanisole (**BHA**), le butylhydroxytoluène (**BHT**), le gallate propylée (**PG**) et le tétrabutylhydroquinone (**TBHQ**). Ces produits sont moins efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (**Guo et al., 2006**).

III.2.2. Antioxydants d'origine végétale

Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols (**Caillet et Lacroix, 2007**).

III.2.2.1. 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 (Figure 6). Les tocophérols 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 antioxydants.

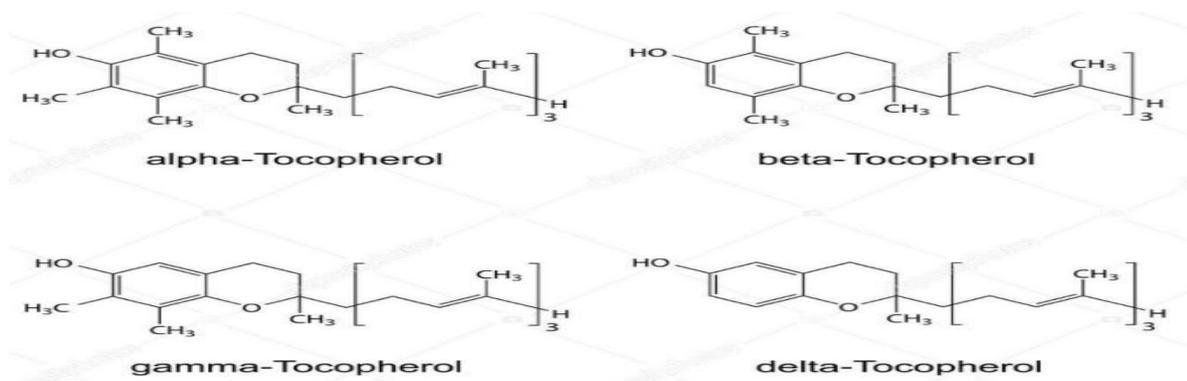


Figure n°6: Les quatre formes isométriques des tocophérols (Sebie *et al.*, 2007).

III.2.2.2. Les polyphénols

L'huile d'olive vierge est l'une des huiles végétales contenant des quantités notables de substances phénoliques. Ces composés contribuent pour une grande partie à la stabilité de l'huile (Beta *et al.*, 2005). Cette stabilité est assurée par deux manières ; d'une part ces polyphénols sont des antioxydants naturels qui vont s'oxyder préférentiellement aux acides gras insaturés (AGI), et d'autre part, ces composés phénoliques ont la capacité de piéger le radical hydroxyl OH^\cdot (Gutiérrez *et al.*, 2001).

Les composés phénoliques ont une structure chimique de base commune. Ces composés peuvent être classés en différents groupes (tableau IV) selon le nombre de fonctions phénol présentes dans leurs cycles et la structure des éléments qui sont fixés, On trouve essentiellement : les acides phénoliques, les flavonoïdes, Stilbènes (Zern *et Fernandez*, 2005).

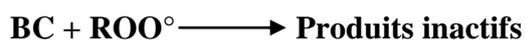
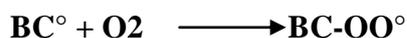
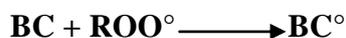
Tableau n°IV : les principales classes des polyphénols dans l'huile d'olive (Zern *et Fernandez*, 2005).

Classe	Squelette carboné
Phénols simples	C6
Acides hydroxybenzoïques	C6-C1
Stilbènes	C6-C2-C6
Flavonoïdes, Flavonols, Anthocyanes, Isoflavonoïdes	C6-C3-C6
Lignines	(C6-C3) n
Tannins	(C15) n

III.2.2.3. Les caroténoïdes

Au delà de l'intérêt vitaminique ; 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 :



BC : β -carotène

- 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, 2005).

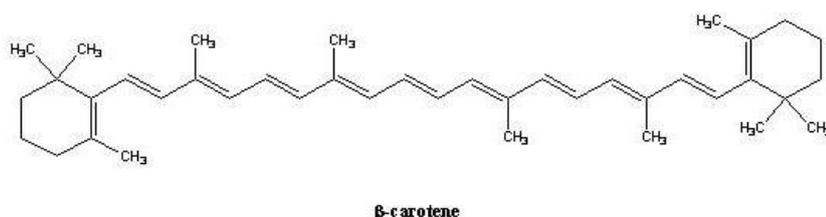


Figure n°7 : Structure de β - carotène (Justine, 2005).

III.3. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent ralentir l'oxydation de deux façons soit par transfert d'hydrogène ou d'électrons sur les radicaux libres.

Les antioxydants peuvent, en fait, inhiber l'oxydation en bloquant l'initiation de l'oxydation réagissant avec les radicaux libres de l'oxygène. Ils génèrent ainsi des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un autre acide gras. D'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Hellal, 2011). La figure suivante illustre la neutralisation des radicaux libre par les antioxydants.

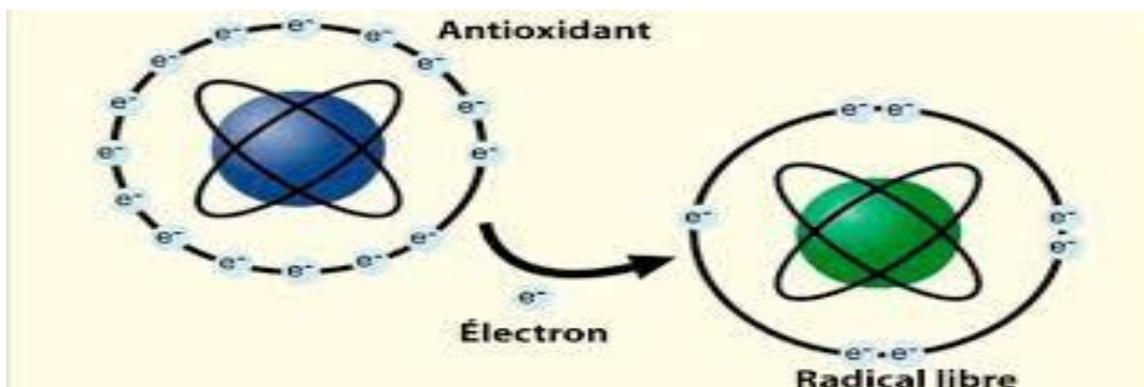


Figure n°8 : neutralisation des radicaux libre par les antioxydants (Hellal., 2011).

III.4. Les facteurs qui influencent l'activité antioxydante de l'huile d'olive

III.4.1. Influence de la maturation des olives

La maturation exerce une influence sur la composition de l'huile d'olive, des transformations importantes relevées dans sa composition qui confèrent à l'huile ses caractéristiques sensorielles particulières et sa stabilité (Matos *et al.*, 2007). En général, les paramètres liés à l'oxydation des huiles extraites indiquent une détérioration progressive de la qualité de l'huile au fur et à mesure de la maturation du fruit. Les teneurs en tocophérols tendent à diminuer au cours de la maturation (Bruni *et al.*, 1994). La composition et le taux en polyphénols totaux se trouve également affecté par la maturation, par conséquent sur la stabilité et la qualité de l'huile (Beltran *et al.*, 2005).

III.4.2. Les paramètres agronomiques

Les conditions climatiques exercent une grande influence sur la qualité du fruit, donc sur la composition et la qualité de l'huile. Les composants les plus affectés sont les composés phénoliques et par conséquent sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive (Ryan *et al.*, 1998). Mousa *et al.* (1996), ont montré que les huiles d'olives de basse altitude montrent des concentrations élevées en stérols, polyphénols et tocophérols, mais un contenu inférieur en chlorophylles et acides gras insaturés aux huiles issues des fruits récoltés à de hautes altitudes.

III.4.3. Influence de la lumière

Les chlorophylles α et β et leurs produits de dégradation phéophytines α et β , sont des photosensibilisateurs. En présence de la lumière, ces pigments passent de leur état singulet fondamental à un état singulet excité puis à un état triplet excité métastable.

Les pigments ont alors tendance à revenir à leur état fondamental en transformant l'oxygène atmosphérique (O_2^3) en oxygène singulet très réactif (O_2^1). Ce dernier réagit directement sur les acides gras insaturés de l'huile en donnant des hydroperoxydes (ROOH) très instables qui sont à l'origine du rancissement (**Ben Tekaya et Hassouna, 2007**).

Le bêta carotène, un antioxydant naturel, agit comme protecteur en désactivant l'oxygène singulet produit par les chlorophylles en filtrant les longueurs d'onde actives des radiations lumineuses et protège ainsi l'huile contre l'activation de l'oxygène par la lumière (**Ben Tekaya et Hassouna, 2007**).

III.4.4. Influence de l'oxygène

L'action directe de l'oxygène et l'action indirecte des autres facteurs qui permettent à l'oxygène de se fixer sur les acides gras entraînent l'oxydation de l'huile. Cette réaction se déroule en plusieurs étapes et comprend les réactions d'initiation, de propagation et de terminaison. Au cours de la phase d'initiation, l'absorption de l'oxygène est faible et ce ne sont donc que des réactions d'oxydation primaire qui interviennent en produisant des hydroperoxydes. Au cours de la phase de propagation, l'absorption de l'oxygène s'intensifie et les réactions d'oxydation primaire s'accélèrent à travers des mécanismes radicalaires en chaîne. Dès que cette phase de propagation a démarré, les réactions d'oxydation secondaire se déclenchent, les radicaux libres se scindent pour former des composés non radicalaires qui affectent la qualité de l'huile et représentent la cause principale de l'altération du goût et de l'odeur de l'huile (**Ben Tekaya et Hassouna, 2005**).

III.5. La stabilité oxydative de l'huile d'olive

La stabilité oxydative est un paramètre déterminant la qualité des huiles et leur aptitude à la conservation. Elle permet une estimation de la susceptibilité à la dégénérescence oxydative, qui est la cause majeure du rancissement (**Velasco et Dobargane, 2002**), qui a lieu en présence d'une atmosphère riche en oxygène, générant des radicaux libres instables qui sont réactifs et capables de modifier les caractéristiques sensorielles et nutritionnelles de l'huile d'olive (**Mateos et al., 2006**).

La stabilité oxydative d'une huile ou de toute matière grasse est liée d'une part à son taux en acides gras monoinsaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) (**Krichene et al., 2010**), et d'autre part, à sa composition en antioxydants naturels.

L'huile d'olive est caractérisée par un profil en acides gras dominé par l'acide oléique (55 à 83 %) qui participe à sa stabilité oxydative vu qu'il est beaucoup moins susceptible à l'oxydation comparé à des huiles contenant des taux élevés en acides gras polyinsaturés (**Beltran et al., 2004**).

L'huile d'olive est une source importante d'antioxydants naturels, à savoir les tocophérols, les composés phénoliques, les caroténoïdes et autres. Ces antioxydants qui agissent par différents mécanismes contribuent différemment à la stabilité de l'huile (**Bendini et al., 2007**).

I. Matériel et méthode

I.1. Matériel végétale

I.1.1. Huile d'olive

L'échantillon de l'huile d'olive utilisé dans notre travail est récolté durant la campagne 2018/2019, et provient de la région de Djaafra (wilaya de Bordj Bou Arreridj). C'est une huile extraite par première pression à froid.

I.1.2. La plante d'enrichissement utilisée

Nous avons utilisé la plante dénommée *Pistacia lentiscus*.

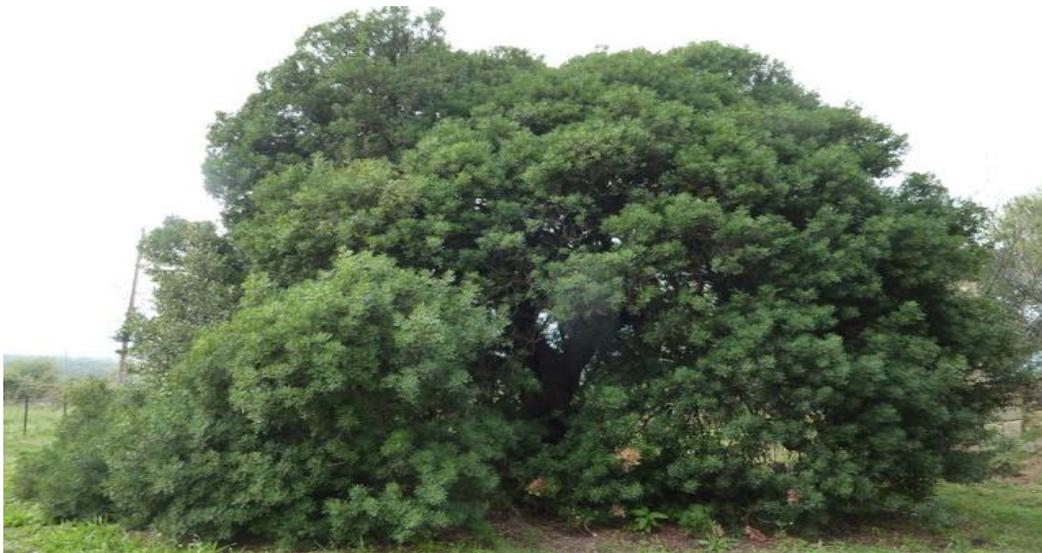


Figure n°9 : la plante de *Pistacia lentiscus*.

Pistacia l. (lentisque) est un arbuste à feuilles persistantes atteignant 3 m de haut, appartenant à la famille des Anacardiaceae et composé de plus de onze espèces. Il est largement distribué dans les écosystèmes «extrêmes» des pays méditerranéens et possède une large distribution géographique et bioclimatique, allant des zones humides aux zones arides (Lo Presti *et al.*, 2008).

Pistacia l. est une source riche en huiles essentielles (96 composants) (Lo Presti *et al.*, 2008), d'acides gras tels que l'acide oléique, l'acide palmitique et l'acide linoléique (représentant respectivement 50,72%, 23,16% et 21,75% de la fraction lipidique) et polyphénols (Trabelsi *et al.*, 2012). Ces derniers représentent 7,5% du poids sec de la feuille et comprennent le myricetinglucuronide, le myricétine 3-O-rutinoside et le myricétine 3-O-rhamnoside (20% du contenu phénolique total), la quercétine 3-O-rhamnoside, le delphinidine 3-O-glucoside. ,

cyanidine 3-O-glucoside, acides phénoliques tels que l'acide gallique (3,7 mg / g de poids sec) et l'acide 5-O-galloyl quinique (9,6 mg / g de poids sec) (**Romani et al., 2002**).

Pistacia l. revêt une grande importance nutritionnelle et industrielle, en particulier dans l'industrie pharmaceutique, et présente un grand intérêt pour la santé.

Dans cette étude, la partie de la plante exploitée sont les feuilles (figure 10). Cette plante à été récoltée en mois d'Avril au niveau d'une région montagneuse du Djaafra (wilaya de Bordj Bou Arreridj).



Figure n°10: Photo prise des feuilles de *Pistacia Lentiscus*.

Après la récolte, la plante est lavée à l'eau plusieurs fois. Ensuite, laissée égouttés à l'air libre pendant une nuit, et puis étalées sur un papier d'aluminium et laissée sécher à l'air libre.

Après séchage complet des feuilles, ces dernières ont été broyé à l'aide d'un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et puis tamisée.

I.1.3. Préparation du mélange huile/poudre des feuilles *Pistacia L*

Après homogénéisation de chaque compartiment de notre échantillon, nous avons réalisé 3 mélanges d'huile d'olive /poudre des feuilles de *Pistacia* à 10%, 20% et 30%. Les mélanges sont agités pendant 24 heures à température ambiante.

Avant d'effectuer les différentes analyses, nous avons procédé à une filtration des échantillons d'huile d'olive sur un papier filtre pour éliminer les différents débris de la plante.

I.2. Analyse physico-chimique de l'huile d'olive

1.2.1. Test d'humidité

➤ Principe

L'eau est déterminée par la perte en masse, subit par le produit (huile) après chauffage à 103°C, pendant un temps suffisamment court pour éviter l'oxydation, mais suffisamment long pour permettre l'élimination totale de l'eau et les produits volatils. Elle est exprimée en % (**ISO 662, 1998**).

➤ Protocole expérimental

Un échantillon de 10g d'huile est mis à l'étuve à 103°C pendant 3 heures. Celui-ci est régulièrement pesé après refroidissement au dessiccateur jusqu'à stabilisation du poids. La teneur en eau et matières volatiles est donnée par l'expression ci-après :

$$\% \text{ humidité} = [(P1-P2) / P] \times 100$$

P1 : Poids de cristallin et le poids de la prise d'essai ;

P2 : Poids de l'échantillon avec le cristallin après séchage ;

P : poids de la prise d'essai.

I.2.2. Détermination de l'acidité libre

➤ Principe

L'acidité d'un corps gras mesure le pourcentage d'acides gras libres contenu dans celui-ci. Elle est déterminée selon la méthode décrite dans le règlement **CEE/2568/91** relatif aux caractéristiques des fruits d'olives et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyses afférentes. Le principe repose sur la mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvant (éthanol-éther diéthylique), puis titrage des acides gras libres avec une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium.

➤ Protocole expérimental

Une prise d'essai d'huile de 5g a été dissoute dans 20 ml d'un mélange d'oxyde diéthylique-éthanol à 95% (V/V). Le mélange a été titré en agitant à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de sodium (0,1N) en présence de phénolphthaléine jusqu'à coloration rose persistant une dizaine de secondes.

Un essai témoin a été réalisé dans les mêmes conditions. L'acidité est exprimée en pourcentage d'acide oléique qui se détermine ainsi :

$$A\% (\text{acide oléique}) = (V - V_0) * (N * M/10 * m)$$

V et V₀ : volume en millilitre de **NaOH** nécessaire à la neutralisation de l'échantillon et le blanc, respectivement.

N : normalité de la solution de **NaOH (0,1N)**.

M : masse molaire de l'acide oléique qui est égale à 282 g/ml. **m** : masse en gramme de la prise d'essai.

I.2.3. Détermination de l'indice de peroxyde

➤ **Principe**

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon (**exprime en milliéquivalents d'oxygène actif par Kg de matière grasse**) qui oxydent l'iodure de potassium. Indice de peroxyde est déterminé selon la méthode décrite dans le règlement **CEE/2568/91**. Le principe repose sur la prise d'essai est traitée par l'iodure de potassium en présence de chloroforme et acide acétique. L'iode libéré est titré en retour par une solution de thiosulfate de sodium.

➤ **Protocole expérimental**

La méthode utilisé est celle d'**ISO 3960, 2007**.

- 5g d'huile pesées dans une fiole et mélangés avec 12ml de chlorophorme; le tout est agité.
- 18ml d'acide acétique glacial ainsi que 1ml d'Iodure de potassium (KI) (solution aqueuse saturée) sont ajoutés.
- Le mélange est agité pendant 1mn et laissé reposer pendant 5mn à l'abri de la lumière et à une température de 15 à 25°C.
- 75ml d'eau distillée sont additionnés suivi d'un titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium [C (Na₂S₂O₃)] à 0,01N en agitant vigoureusement et en employant la solution d'amidon (1g/100ml) comme indicateur jusqu'à disparition de la couleur.
- Un essai à blanc est effectué simultanément.

L'indice de peroxyde en milliéquivalent d'O₂/kg est calculé selon l'équation :

$$\text{Indice de peroxyde} = N (V - V_0) * 1000 / m$$

Ou

N : Normalité de thiosulfate de sodium (0.01).

V, V₀ : Volume en ml de Na₂S₂O₃ nécessaire pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à blanc respectivement.

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

I.2.5. Détermination de la teneur en pigments (chlorophylle et caroténoïde)

Le protocole du dosage des caroténoïdes et de la chlorophylle utilisé est celui de (**Minguez et al., 1991**): Une prise d'essai de 3 g d'huile est ajustée jusqu'à 10 ml de cyclohexane dans une fiole jaugée. Les absorbances maximales à 670 nm et à 470 nm nous renseignent sur la fraction chlorophyllienne et les caroténoïdes respectivement. La valeur du coefficient d'extinction spécifique utilisée :

E₀= 613 pour la Phéophytine (composant majeur des chlorophylles).

E₀= 2000 pour la Lutéine (composant majeur des caroténoïdes).

$$\text{Chlorophylle (mg/kg)} = \frac{A_{670} * 10^6}{613 * 100 * T}$$

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

A : absorbance.

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

I.3. Etude de l'activité antioxydante

L'huile d'olive représente une source très importante d'antioxydants naturels, parmi lesquels on compte essentiellement les polyphénols et les flavonoïdes. La présente étude consiste à déterminer la teneur en composés phénoliques et flavonoïques de l'huile d'olive, et de l'huile d'olive enrichie par la poudre des feuilles de *Pistacia* à des concentrations de 10%, 20%, 30%, puis à évaluer leur pouvoir antioxydant par le test anti radicalaire DPPH.

I.3.1. Extraction et dosage des polyphénols totaux

Pour extraire les composés phénoliques, nous avons adopté le protocole de **Pirisi *et al.* (2000)**.

10 g d'huile d'olive et 10 ml de solution méthanolique (méthanol/eau 80/20, v/v) sont placés dans un tube à centrifuger. On agite pendant 10 minutes au Vortex. Après centrifugation, pendant 15 min à 3800 rpm, la phase méthanolique est récupérée et transférée dans une fiole jaugée de 50 ml. L'opération est reconduite 2 fois et on complète au trait de jauge avec la solution méthanol/eau (80/20). Les 3 phases récupérées sont portées sous un rota vapeur à une température de 40°C pour échapper le solvant, puis mis au congélateur (-22°C) pendant 12 heures.

I.3.2. Dosage des polyphénols totaux

➤ **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleus de tungstène et de molybdène, ce qui aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de 765nm (**Singleton *et al.*, 1999**).

➤ **Protocole expérimental**

Après extraction, la fraction phénolique est déterminée par un dosage colorimétrique selon la méthode préconisée par **Vasquez *et al.*, (1973)**.

Une gamme étalon est réalisée en milieu aqueux (5 points de concentrations) avec un standard; l'acide gallique.

Pour réaliser le dosage : 500 µl de réactif Folin-Ciocalteu et 450 µl d'eau distillée ont été ajoutés à un tube contenant 50 µl d'extrait avec agitation vigoureuse. Après 3 minutes, 400 µl de $Na_2S_2O_3$ (75 g.L⁻¹) ont été additionnés. Les tubes ont été incubés à l'obscurité pendant 90 minutes. L'absorbance est lue à 725 nm contre un blanc qui contient le méthanol au lieu de l'extrait.

La teneur en phénols totaux est donnée en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG/kg d'huile d'olive), elle a été déduite de la courbe d'étalonnage ($y=0.0216x$) (Annexe 1) provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour la solution standard.

I.3.3. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

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

➤ Protocole expérimental

Le dosage des flavonoïdes est réalisé suivant la méthode de **Branz, (2012)**.

Un volume de 2 ml de l'extrait est mélangé à 1ml de la solution de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 2% (dans le méthanol). Après incubation à l'obscurité pendant 15 min et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La quantité de flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine dans un kg d'huile d'olive, en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine ($y = 0.0348x - 0.015$) (Annexe 2) provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour la solution standard.

I.3.4. Test de piégeage du radical libre DPPH

➤ Principe

Le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (**Brand et al., 1995**).

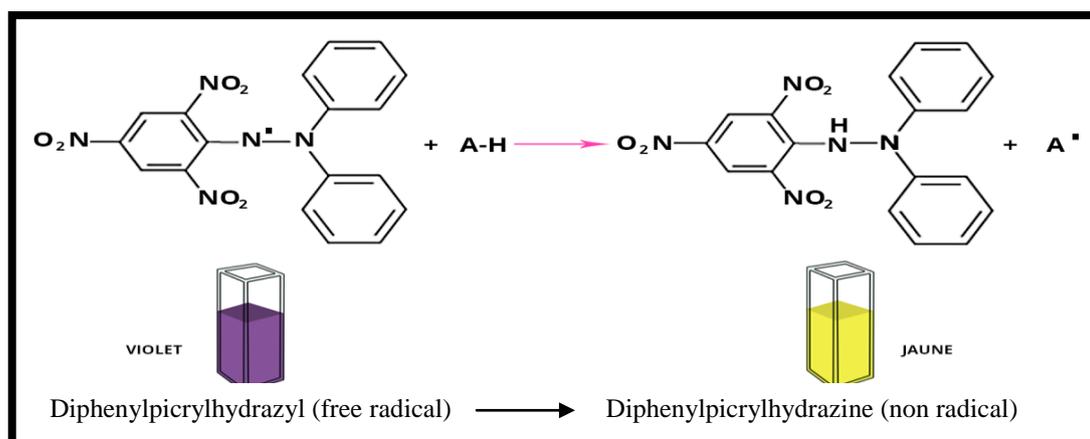


Figure n°11 : La forme réduite et non réduite de la molécule du DPPH (Molyneux, 2004).

➤ **Protocole expérimental**

Un volume de 1,5 ml d'extrait est mélangé avec un même volume de solution méthanolique de DPPH. La décoloration par rapport au témoin, contenant le DPPH et le solvant, est mesurée au spectrophotomètre à 515nm après 60 min d'incubation à l'obscurité (**Lesage et al., 2001**).

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la formule ci-après:

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = \frac{(\text{abs témoin} - \text{Abs d'échantillon})}{\text{Abs témoin}} * 100$$

I.4. Analyse statistique

Chaque test est réalisé en trois essais et le résultat représente la moyenne des trois mesures. Le traitement des résultats obtenus a été fait à l'aide d'une étude statistique en utilisant le logiciel STATISTICA (5.5). En appliquant une analyse de la variance (ANOVA), suivie du test LSD. Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité ($p < 0,05$).

II. Résultats et discussion

II.1. Humidité

L'humidité renseigne sur la stabilité du produit contre les risques d'altération durant la conservation. Le résultat de la mesure d'humidité de notre huile est (0,2%), conformes à la norme fixées par **COI. (2003)** caractérisant les huiles d'olives vierges ($\leq 0,2\%$).

Cette valeur d'humidité (0.2) peut être expliquée par le processus d'extraction et plus exactement la quantité d'eau ajoutée au cours du malaxage qui été complètement éliminée.

II.2. Acidité libre

L'acidité libre permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique, des chaînes d'acides gras des triglycérides. Ceci est à l'origine d'acides gras libres et de glycérides partiels (mono et diglycérides).

Le résultat de la l'acidité libre de notre échantillon est égale $1,56 \pm 0,03\%$. Ce résultat entre dans les limites de la catégorie des huiles d'olive vierges établies par **COI (2003)** qui se situent entre 1 et 3,3 %.

II.3. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (IP) estime l'état d'auto-oxydation de l'huile; c'est un mécanisme lent mais inéluctable. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs le favorisant (température élevée, eau, enzyme, trace de métaux Cu, Fe...). Cette auto-oxydation ou rancissement aldéhydique conduit dans un premier temps à la formation de peroxydes (ou hydroperoxydes) qui se décomposent ultérieurement en dérivés carbonylés aldéhydes et hydrocétones (responsables de l'odeur de rance) et en divers produits oxygénés (alcools, acides...) (**Tanouti et al., 2011**).

Pour l'échantillon étudié, la teneur en peroxyde est égale à $9,6 \pm 0,2$ meq O₂/ kg d'huile. En comparant cette valeur à celle de la norme commerciale du **COI (2015)**, on constate également que l'échantillon analysé est conforme à la norme ce qui permet aussi de classer cette huile dans la catégorie vierge (IP ≤ 20 meq O₂/kg) (Annexe 3).

Ce résultat se concorde avec les travaux de **Benrachou (2013)**, qui présente des teneurs en peroxyde variant entre (7,46 et 11,4 meq O₂/kg) de trois huiles issues de trois variétés d'olivier (Limli, Bouricha et Blanquette) de l'Est algérien (Jijel, Bejaia et Guelma). Cependant, ce résultat est faible par rapport à celui trouvé par **Boulfane et al. (2015)** qui présente des teneurs

en peroxyde variant entre (10,96 et 18,7 meq O₂/kg d'huile olive) de huit variétés de l'huile d'olive de la région Chaouia-Maroc.

La baisse de la valeur de l'IP de notre échantillon montre que l'huile a été extraite rapidement après la récolte des olives et qu'elle a été stockée dans des bonnes conditions. Il faut noter que l'IP augmente avec la maturité des olives, et surtout à la suite d'un choc thermique ou à un processus de l'extraction défectueux. Le stockage inadapté ou prolongé, est également une des causes d'augmentation de ce paramètre (IP) (**Tanouti et al., 2011**).

II.4. Teneur en pigments (chlorophylle et caroténoïde)

La teneur en chlorophylles pour l'échantillon d'huile étudié est d'environ $5,22 \pm 0,25$ mg/kg. Cette teneur rentre dans la fourchette des résultats trouvés par **Massioun, (2006)**, qui présente des teneurs en chlorophylles de sept variétés d'olives algériennes variant de 1,71 à 12,81mg/kg. Cependant, cette valeur est inférieure aux résultats rapportés par **Benrachou (2013)**, qui présente des teneurs en chlorophylles variant de 10,03 à 13,53 mg/kg de trois huiles issues de trois variétés d'oliviers (limli, bouricha et Blanquette) de l'est algérien (Jijel, Bejaia, Guelma).

Les teneurs élevées en chlorophylles, renseigne sur une susceptible contamination des olives par les feuilles (**Ben Tekeya et Hassouna, 2007**), d'où l'intérêt de produire des huiles d'olive à partir d'olives mûres et de procéder au défeuillage lors de l'extraction de l'huile. En effet, au début de la maturité des olives, la concentration en chlorophylles est élevée. Cette valeur diminue continuellement au fur et à mesure de la maturité des olives (**Boulfane et al., 2015**).

La teneur en caroténoïdes de l'huile étudiée est d'environ $3,26 \pm 0,30$ mg/kg. La teneur en caroténoïdes est proche de celle rapporté par **Manai et al. (2012)**, qui ont noté des valeurs entre 1,07 mg/kg et 3,82 mg/kg.

Le taux des caroténoïdes dépend du degré de la maturation et d'oxydation (**Gimeno et al., 2002**). En effet, au cours de la maturation, la teneur en caroténoïdes diminue graduellement (**Roca et Minguez-Mosquera, 2001**). Le taux en caroténoïde enregistré pour notre huile, peut être lié à l'oxydation pendant le processus de maturation, ainsi qu'à leur rôle protecteur contre la photooxydation en désactivant l'oxygène singulet (**Perrin, 1992**).

II.5. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont les principaux composés responsables de la stabilité des huiles d'olives pendant le stockage et le chauffage (**Brenes, 2002**). Les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d'huiles, huile non traitée (HNT) et les huiles traitées (HT10%, HT20% et HT30%), exprimées en milligrammes d'équivalent d'acide gallique/Kg (mg EAG/kg) sont représentées dans la figure 12.

D'après les résultats illustrés dans la figure ci-dessous, on remarque qu'il existe une augmentation significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en polyphénols de l'échantillon brute et les échantillons traités, ainsi qu'une augmentation significative de la teneur en polyphénols totaux entre les échantillons traités en augmentant la concentration de la poudre d'enrichissement.

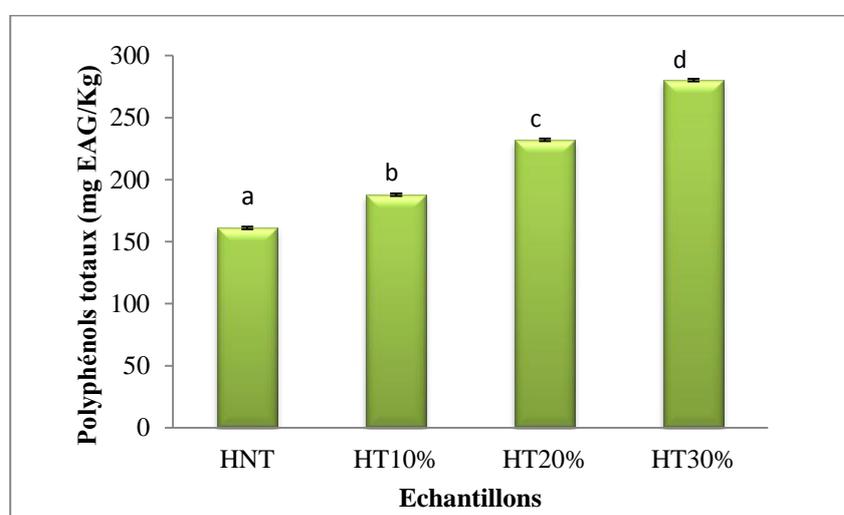


Figure n°12 : Teneurs en polyphénols totaux de l'huile d'olive non traitée et des huiles enrichies avec la poudre de *Pistachia L.*

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

*La barre verticale représente l'écart-type

La concentration en polyphénols totaux de l'échantillon d'huile brute est d'environ $161,025 \pm 2,08$ mg EAG/kg, en accord de celles des variétés italiennes étudiées par **Baiano et al. (2009)**, pour lesquelles les teneurs en polyphénols sont comprises entre 133,68 et 322,18 mg/kg et celles étudiées par **Tura et al., (2007)** pour lesquelles les teneurs en polyphénols sont comprises entre 115 et 377mg/kg.

La concentration en polyphénols de l'huile brute augmente significativement par l'ajout de la poudre des feuilles de *Pistacia L.*, elle est de $187,80 \pm 1,08$; $232,06 \pm 0,14$ et $280,27 \pm 0,67$ mg EAG/kg pour les huiles traitées à 10%, 20% et 30% respectivement. Ceci peut s'expliquer

par la richesse de la poudre des feuilles de *Pistacia L.* en métabolites secondaires, essentiellement les polyphénols et les flavonoïdes (**Bammou et al., 2015**).

II.7. Teneur en flavonoïdes

D'après plusieurs auteurs, les flavonoïdes sont présents en petites quantités dans l'huile d'olive vierge (**Servili et al., 2004 ; Oliveras-Lopez et al., 2007**). Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits d'huiles, huile non traitée (HNT) et huiles traitées (HT10%, HT 20%, HT30%), exprimées en milligrammes d'équivalent de quercétine /Kg (mg Q/kg) sont représentées dans la figure 13.

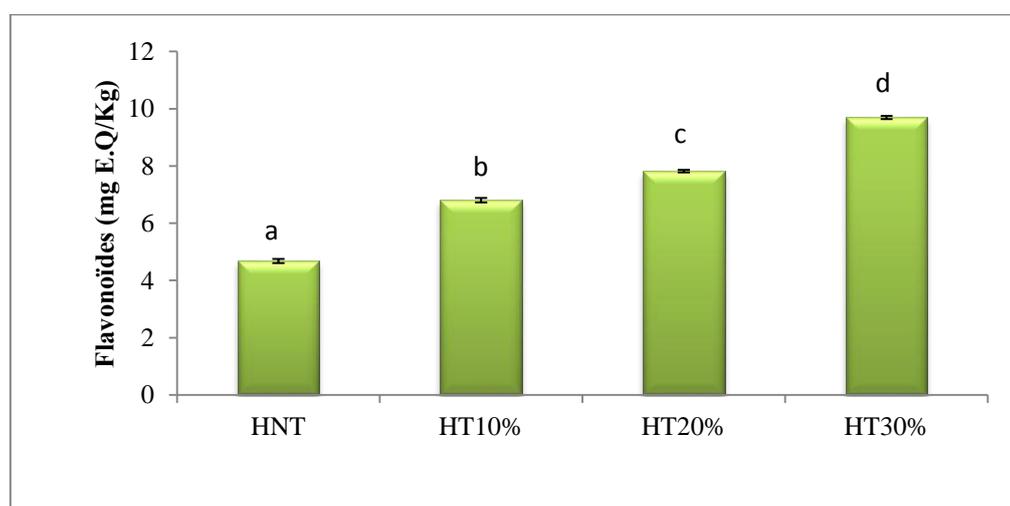


Figure n°13 : Teneurs en flavonoïdes de l'huile d'olive non traitée et des huiles enrichies avec la poudre de *Pistacha L.*

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

*La barre verticale représente l'écart-type

L'analyse statistique a révélé la présence de différence significative ($P < 0,05$) entre l'échantillon HNT et les autres échantillons traités (HT10%, HT20%, HT30%). Il apparaît là aussi, que de la même manière que pour les composés phénoliques, la teneur en flavonoïdes est observée à des concentrations plus élevées pour les échantillons traités (10%, 20%, 30%) avec des valeurs de ($6,805 \pm 0,36$; $7,82 \pm 0,39$; $9,7 \pm 0,59$ mg Q/kg de l'huile d'olive) respectivement, comparativement à l'échantillon d'huile non traité (HNT) ($4,68 \pm 0,16$ mg Q/kg de l'huile d'olive).

L'augmentation des flavonoïdes dans les huiles traitées indiquent que les feuilles de *Pistacia L.* contient une quantité considérable en flavonoïdes (**Bammou et al., 2015**).

II.8. Test de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH est largement utilisé pour évaluer la capacité des composés antioxydants d'agir en tant que piégeurs de radicaux libres ou donateurs d'hydrogène (Molyneux, 2004).

La figure 14 illustre les résultats de l'activité scavenger du radical DPPH° des extraits des huiles enrichies et non enrichies, exprimés en pourcentage (%) d'inhibition.

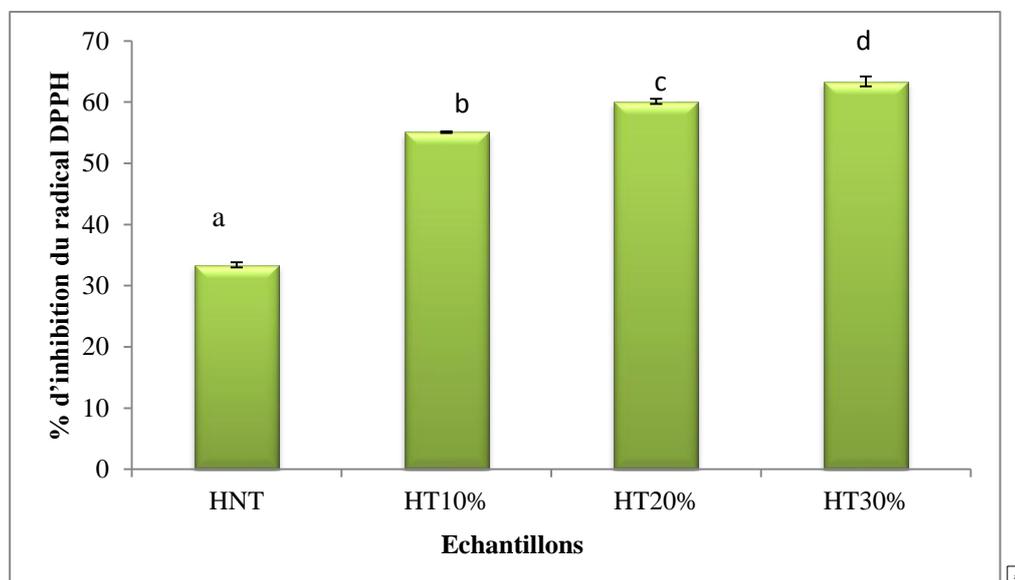


Figure n°14: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'huile d'olive non traitée et des huiles enrichies avec la poudre de *Pistacia L.*

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

*La barre verticale représente l'écart-type

L'effet d'inhibition du radical DPPH augmente significativement, dans les huiles traités (HT10%, HT20%, 30%) avec des valeurs de ($55,09 \pm 0,81\%$; $60,13 \pm 0,42\%$; $63,40 \pm 0,13\%$), respectivement, par rapport à HNT ($33,42 \pm 0,06\%$). Ceci peut s'expliquer par la présence des antioxydants naturels dans les feuilles de *Pistacia L.*

Les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH en raison de leur structure chimique (Turkmen et al., 2007).

Plusieurs études expérimentales effectuées sur *Pistacia L.* ont mis en évidence différentes activités biologiques : Les extraits des feuilles de cette plante ont montré un pouvoir anti-radicalaire important notamment l'inhibition de certaines enzymes tels que la xanthine oxydase qui est une enzyme productrice des radicaux libres (Berboucha et al., 2010). Les résultats obtenus de l'étude des extraits des feuilles de *Pistacia L.*, effectuée par Atmani et al. (2009) ; Remila et al. (2015), indiquent que *Pistacia L.* présente des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses, conformément aux utilisations traditionnelle de cette plante.

A travers cette étude, l'activité anti-oxydante de l'huile d'olive de la région de Djaafra (Bordj Bou Arreridj), enrichie avec la poudre des feuilles de *Pistacia Lentiscus* à différentes concentrations (10, 20, et 30 %) est évaluée. Cette évaluation est précédée par une étude des caractéristiques physico-chimique de l'huile d'olive brute (Humidité, Acidité libre, Indice de peroxyde et le dosage de des teneurs en chlorophylle et en caroténoïdes). Les résultats de l'analyse physico-chimique ont permis de classer cette huile dans la catégorie des « huiles d'olives vierges », avec une acidité libre de $1,56 \pm 0,03\%$ et un indice de peroxyde de $9,6 \pm 0,2$ meq O₂/ kg d'huile.

La teneur en polyphénols totaux de l'huile d'olive non traitée est d'environ $161,03 \pm 2,08$ mg EAG/kg. Cette teneur est augmentée de 14,25 % ($187,8 \pm 0,9$ EAG /kg), 44,10 % ($232,06 \pm 0,94$ EAG /kg) et 74,04 % ($280,27 \pm 0,37$ EAG /kg) , pour les huiles enrichies à 10 %, 20 % et 30 % respectivement. De même pour les teneurs en flavonoïdes qui sont passées de $4,68 \pm 0,16$ mg Q/kg pour l'huile non traitée à $6,805 \pm 0,36$; $7,82 \pm 0,39$ et $9,7 \pm 0,59$ mg Q/kg pour les huiles d'olive enrichies à 10, 20 et 30 % respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des huiles d'olives montre que les meilleurs pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés pour les huiles enrichies avec des taux de $55,09 \pm 0,81\%$; $60,13 \pm 0,42\%$ et $63,40 \pm 0,13\%$ pour les concentrations de 10, 20 et 30 % respectivement.

Ces résultats permettent de conclure que l'enrichissement de l'huile d'olive avec la poudre des feuilles de *Pistacia Lentiscus* a relativement augmenté le rendement en antioxydants, notamment en composés phénoliques. Par conséquent cette huile enrichie peut constituer un potentiel aliment fonctionnel de par sa composition.

En perspective, il serait souhaitable de poursuivre cette étude par les analyses sensorielles, étudier la stabilité des huiles issues, comme il serait intéressant d'augmenter le nombre d'échantillon en effectuant des enrichissements avec d'autres concentrations.

A

Ahmidou Ouauouich (ONUFI), Hammadi Chimi (IAV Hassan II). (2007). Guide du producteur de l'huile d'olive Préparé dans le cadre du projet de développement du petit entrepreneuriat agro-industriel dans les zones périurbaines et rurales des régions prioritaires avec un accent sur les femmes au Maroc.

Al-Rewashdeh A. (2010). Blood lipid profile, oxidation and pressure of men and women consumed olive oil. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9 (1): 15-26.

Atmani D., Chaher N., Atmani D., Berboucha M., Debbache N. & Boudaoud H. (2009). Flavonoids in Human Health: From Structure to Biological Activity. *Current Nutrition & Food Science*, 5: 225-237.

B

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

Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E. H., Ibijbijen J. & Nassiri L. (2015). Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus L.*»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86: 7966-7975.

Beltron G., Del Rio C., Sanchez S. & Martinez L. (2004). Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from. *Picual Journal of agricultural and food chemistry*, 3434-3440.

Ben hassine K., Bouchoucha S. & Kamoun N. (2009). Impact de la variété et du système d'extraction de l'huile d'olive sur les préférences consommateurs : 1-6.

Ben Tekaya I., Hassouna M. (2005). Étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage ; *OCL VOL. 12 N° 5-6 SEPTEMBRE-DECEMBRE 2005*.

Ben Tekaya I., Hassouna M. (2007). Effets des chlorophylles, du beta carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne ; *OCL Vol 14 N°1 Janvier- Février 2007*.

Bendini A., Cerretani L., Carrasco-pancorbo A., Gómez-caravaca A., seguracarretero A. & Fernández-Gutiérrez A. (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: A survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. *Interview of the last decade. Molecules*, 1-1679-179.

Benrachou N. (2013). Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. (Université Badji Mokhtar Annaba).

Berboucha M., Ayouni K., Atmani D., Atmani D. & Benboubetra M. (2010). Kinetic Study on the Inhibition of Xanthine Oxidase by Extracts from Two Selected Algerian Plants Traditionally Used for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Journal of Medicinal Food*, 13: 1-9.

Besnard G., Baradat P. & Bervillé A. (2001). Genetic relationships in the olive (*Olea europaea L.*) reflect multilocal selection of cultivars. *Theoretical and Applied Genet.*

Beta T., Nam S., Dexter J. E. & Sapirsten H. D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled and Roller_Milled fractions. *Cereal Chem* .82(4) ,390_393.

Boskou D. (1996). Olive Oil ; Chemistry and Technology. American Oil Chemist's Society. Press : *champaign, IL, USA*, pp.52-83.

Boulfane S., Maata N., Anouar A. & Hilali S. (2015). « Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc ». *Journal of Applied Biosciences*. 87 (1) : 8022-8029.

Brand-william W., Cuvelier ME., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30.

- Branz A. (2012).** Antioxidant activity and phenolic composition of brizilin hoeny and their extracts *J. Chem Sco*, 15-22.
- Brenes M., Garcia A., Rios J., Garcia P. & Garridoo A. (2002).** Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *International Journal of Food Science and Technology*. 37: 615–625.
- Breton C., Medai F., Pinatel C., Berville A. (2006).** De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'Olea europaea L. Dans le bassin méditerranéen. *Cahier Agriculturer*. Vol.15 n° 4, p: 329-336
- Bruni U., Cortesi N. & Fiorano P. (1994).** Influence des techniques agronomiques, des cultivars et des zones d'origine sur les caractères de l'huile d'olive vierge et les niveaux de certains de ses composants « mineurs ». *Olivae* . 53, 28-34.

C

- Caillet S. & Lacroix M. (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire, INRS-*Institut Armand-Frappier*, (RESALA), p. 1-8.
- Cerretani L., Motilva M. J., Romero M. P., Bendini A. & Lercker G. (2008).** Pigment Profile and chromatic parameters of monovarietal virgin olive oils from different Italian cultivars. *European Food Research Technology*. 226,1251-1258.
- Chevalier A. (1948).** L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale*. N 303-304, janvier-Février 1948.
- Communauté Economique Européenne. (1991).** Règlement (CEE) N°2568/91 de la commission du 11 juillet 1991 .Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférent : 27-30.
- Conseil Oléicole International. COI. (2003).** Classification des huiles d'olives. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive.
- Conseil Oléicole International. COI. (2015).** Norme Commercial applicable aux l'huiles d'olive et aux l'huiles de grignons d'olives conseil oléicole international, COI/T.15/NC n°3/ Rév. 8 février 2015.

D

Direction des services agricole de la wilaya de BBA.

G

- Ghanbari R., Anwar F., Alkharfy K. M., Gilani A. H. & Saari N. (2012).** Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*. 13, 3291-3340.
- Gigon F. & Jeune R. (2010).** Huile d'olive, *Olea europaea* L. *Phytothérapie* 8: 129–135 .
- Gimeno E., Castellote A. I., Lamuela-Raventos R. M., De la Torre M.C. & Lopez-Sabater M. C. (2002).** The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, a-tocopherol, and b-carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78: 207–211.
- Grigoriadou D., Androulaki A., Psomiadou E. & Tsimidou M. Z. (2007).** Solid phase extraction in the analysis of squalene and tocopherols in olive oil. *Food chemistry*. 105, 675 680.
- Guo L., Xie M. Y., Yan AP., Wan Y. Q & Wu Y. M. (2006).** Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC- MS analytical and bioanalytical and bioanalytical. *Chemestry*, 386(6), 1881-1887.

Gutierrez F., Jimenez B., Ruiz A. & Albi M. A. (1999). Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. *J Agric. Food Chem*; 47:121-7.

Gutiérrez F., Arnaud T. & Garrido A. (2001). Contribution of polyphenols to the oxidative stability of virgin olive oil. *Journal of Science of Food and Agricultural*. 81, 1-8.

H

Halliwell B. (1999). How to characterize a biological antioxidant. *Free RadicRes Commun*, 9, 1-32.

Hellal Z. (2001). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). *Mémoire de Magister*, Université Mouloud Mammer Tizi-Ouzou 16.

Herrera B. J., Velasco A. R., Ortiz A. S., Tovar M. L., & Muñoz M. Ú. (2012). Influencia del proceso de maduración del fruto en la calidad sensorial de aceites de oliva virgen de las variedades Picual, Hojiblanca y Picudo. *Grasas y aceites*. 63, 403-410.

I

Inarejos-García A. M., Fregapane G. & Salvador M. D. (2011). Effect of crushing on Olive paste and virgin olive oil minor components. *European Food Research and Technology*. 232, 441-451.

International Standard Organization. (1998). Methode ISO/662. Corps gras d'origines animale et vegetale determination de l'humidite. Ed.2.

International Standard Organization. (2007). Méthode ISO/3960. Corps gras d'origines animale et vegetale determination de l'indice de peroxyde. Ed.2.

J

Justine Pastre. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Thèse de doctorat*. 2005-TOU3-4116.

K

Kataja-Tuomola M. & Sundell J. R. (2008). Effect of alpha-Tocopherol and beta-carotene supplementation on the incidence of type 2 diabetes., *Diabetologia*. Jan, 51 (1): 47-53. Khlif M. et Reikik H. 1996. La qualité de l'huile d'olive en Tunisie en tout, des contraintes et des ambitions, PP 79-92.

Kiritsakis A. C. Stine M. & Dugan L. R. (1983). Effect of selected antioxidants on the stability of virgin olive oil; *J. Am. Oil Chem. Soc*; 50; 1289-1290.

Krichene D., Allalout A., Mancebo-campos V., Salvador M. D., Zarrouk M. & Fregapane G. (2010). Stability of virgin olive oil and behaviour of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. *Food chemistry*, 121 :171-177.

Kordali S, Cakir A, Zengin H. and Duru M.E. (2003). Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74 :164-167.

L

Lanzón A., Albi T., Cert A., & Gracián J. (1994). The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 71, 285-291.

Lesage-Messsen L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J. C., Lorquin J., Delattre M., Simon J. L., Asther M. & Labat M. (2001). Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*, 75: 501-507.

Lo Presti M., Sciarrone D., Crupi M. L., Costa R., Ragusa S., Dugo G. & al. (2008). Evaluation of the volatile and chiral composition in Pistacia lentiscus L. essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 23:249-250.

M

Manai D. H., Kriche D., Ouni Y., Gallardo L., Sanchez J., Osorio E., Daoud D., Guido F. & Zarrouk M. (2012). Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia. *Journal of Food Composition and Analysis*. 27 ,109-119.

Mateos R., Uceda M., Auguilera M. P. & Escuderos M. G. (2006). Relationship of rancimat method values at varying temperatures for Virgin olives oils. *European food research and technology* ,223:246-252.

Matos L. C., Cunha S. C., Amaral J. S., Pereira J. A , Andrade P. B., Seabra R. M. & Oliveira B.P.P. (2007). Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs.Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. *Food Chemistry*, 102:406-414.

Mehenni C., Atmani-Kilani D., Dumarcay S., Perrin D., Gérardin P. & Atmani D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of Pistacia lentiscus leaf and fruit extracts. *Journal of food and drug analysis*, 24: 653- 669.

Minguez-Mosquera M. I., Gandul-Rojas B., Garrido-Fernandez J. & GallardoGuerrero L. (1990). Pigments present in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemistry Society*. 67, 192-196.

Molinyaux P. (2004) .The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity . *Sciences Technology* 26(2), 211-219.

Mousa Y. M., Gerasopoulos D., Metzidakis I., Kiritsakis A. (1996). Effect of altitude on fruit and oil quality characteristics of ‘Mastoides’ olives. *Journal of Science of Food and Abriculture*, 71: 345-350.

N

Nieves Criado M., Paz Romero M., Casanovas M. & Motilva M. J. (2008). Pigment profile and color of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. *Food Chemistry*, (110): 873–880.

O

Oliveira B.P.P. (2007). Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs.Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. *Food Chemistry*, 102:406-414.

Ouazzani N., Lumaret R. & Villemur P. (1995). Apport du polymorphisme alloenzymatique à l'identification variétale de l'Olivier (*Olea europaea* L.). *Agronomie*, 15:31-37.

P

Perez-Jimenez F ., Ruano J., Perez-Martinez P., Lopez-Segura F. & Lopez-Miranda J. (2007). The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Molecular Nutrition Food Research*, 51:1199-1208.

Perona J. S., Alonso A. & Martinez-Gonzalez M .(2010).Virgin olive oil and blood pressure in hypertensive elderly subjects. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 85:807-812.

Philips K. M., Ruggio D. M., Toivo J. I., Swank M. A. & Simpkins A. H. (2002). Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *Journal of Food composition and analysis*, 15: 123-142.

Pirisi F. M., Cabras P., Cao C. F., Migliorini M., Magelli M. (2000). Phenolic compounds in virgin oil. 2. Reappraisal of the extraction HPLC separation, and quantification procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1191–1196.

Psomiadou E., Tsimidou M., Boskou D. (2000). alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oils. *J Agric. Food Chem.* 48:1770-5.

R

Remila S., Atmani K. D., Delemasure S., Connat J. L., Azib L., Richard T. & Atmani D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of Pistacialentiscus (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3): 274-286.

Roca M. & Minguéz-Mosquera M. I. (2001). Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78: 133-138.

Romani A., Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N., Tattini M. (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of Pistacia lentiscus L. *Phytochemical Analysis*. 13:79-86.

Ruiz – Gutiérrez V., Morgado N., PARADA J. & al. (1998). Composition of human VLDL triacylglycerol after ingestion of olive oil and high oleic sunflower oil. *The Journal of Nutrition*. 128 : 570-576.

S

Schoefs B. (2002). Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of then pigments and methods of analysis. *Food Science and Technology*, 13 , 361-371.

Sebei K., Boukhchina S., Kallel H. (2007). Évolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des graines de colza de printemps (BrassicinapusL.). *C. R. Biologies* 330 ,55–61.

Servili M., Selvaggini R., Esposito S., Taticchi A., Mantodoro G. F. & Morrozi G. (2004). Health and *Journal. Of Chromatography* sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil.. 154, P: 113-127.

Shklar G. & Oh S. K. (2000). Experimental basis for cancer prevention by vitamin E. *Cancer Invest*, 18: 214-22.

Singleton V. L., Ortofer R. & Lamuela-Raventos R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 152-178.

T

Tanouti K., Serghini-Caid H., Chaieb E., Benali A., Harkous M. & Elamrani A. (2011). Amelioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le maroc oriental Quality Improvement of Olive Oils Produced In The Eastern Morocco, Volume 6, N°22.

Taticchi A., Esposito S., Veneziani G., Urbani S., Selvaggini R. & Servili M. (2013). The influence of the malaxation temperature on the activity of PPO and POD and on the phenolic composition of virgin olive oil. *Food Chemistry*. 136, 975- 983.

Trabelsi H., Sakouhi F., Renaud J., Villeneuve P., Khouja M. L., Mayer P. & al. (2012). Fatty acids, 4-desmethylsterols, and triterpene alcohols from Tunisian lentisc (Pistacia lentiscus) fruits. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 114:968-970.

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

Références

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

Turkmen N., Sedat Velioglu Y., Ferda S & Gokce P. (2007). Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Food Chem.* 12, 484-496

Turrens JF., Alexandre A., Lehninger A. L. (1985). Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch BiochemBiophys*, 237: 408-414.

V

Vasquez Roncero A., Janer Del Valle C., Janer Del Valle M. L. (1973). Determinacion de los polifenoles totales del aceite de oliva. *Grasas y Aceites*, 24(6): 350–357.

Velasco J., Ans Dobarganes C. (2002). Oxydative stability of Virgin olive oil. *European. journal of lipides ans science technology*, 104: 661-676.

Visioli f., Galli c. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*. 22 : 65-75.

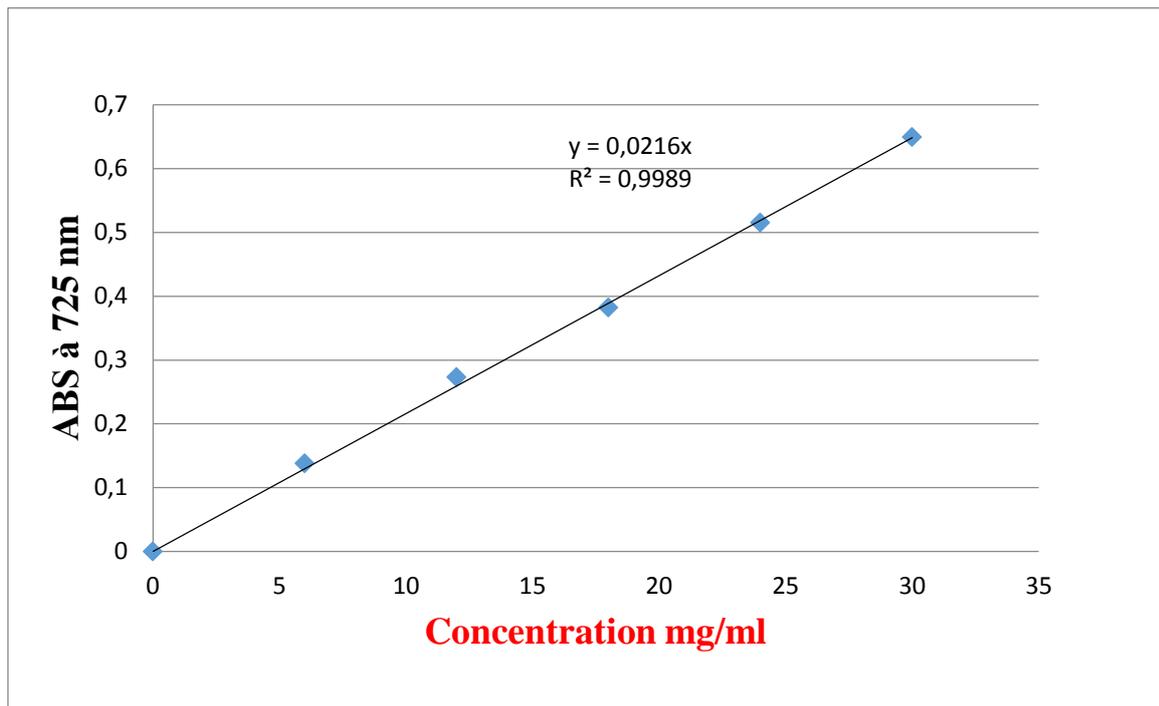
Y

Yangui T., Dhouib A., Rhouma A. & Sayadi S. (2009). Potential of hydroxytyrosol-rich composition from olive mill wastewater as a natural disinfectant and its effect on seeds vigour response. *Food Chemistry*, 117:1-8.

Z

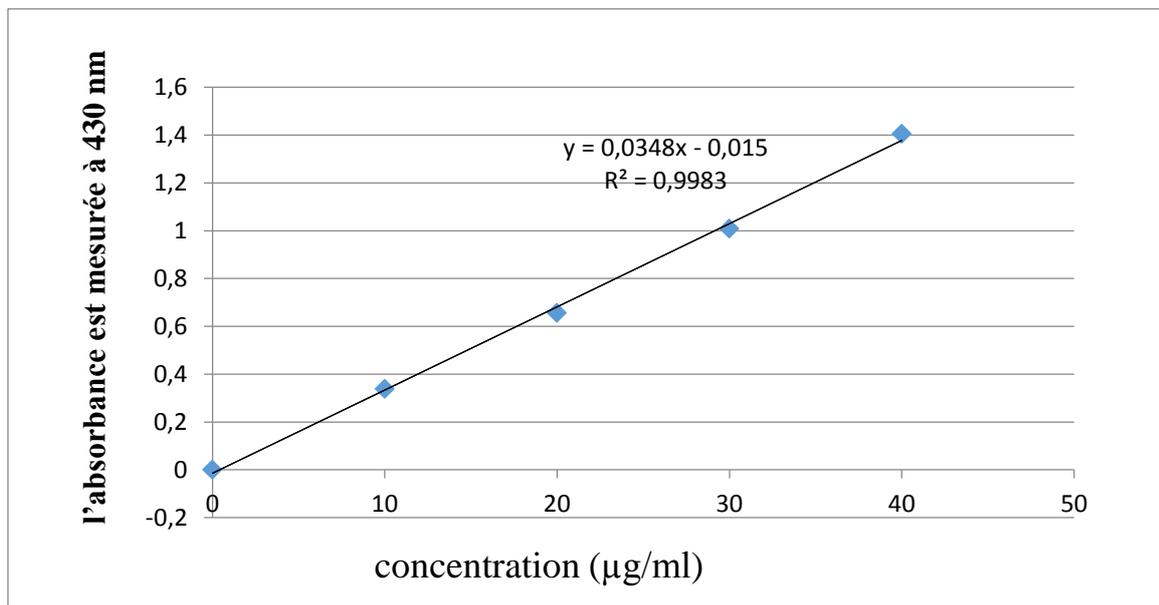
Zern T. L., Fernandez M L. (2005).Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *J.Nutr*135,2291-2294.

Annexe 1:



Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols

Annexe 2 :



Courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Annexe 3: Normes (COI, 2015) indice de peroxyde.

- Huile d'olive vierge extra : ≤ 20 meq O₂/kg
- Huile d'olive vierge : ≤ 20 meq O₂/kg
- Huile d'olive vierge courante : ≤ 20 meq O₂/kg
- Huile d'olive vierge lampante : non limitée

Annexe 4: Liste des Appareils, verreries et réactifs utilisés au cours de l'expérimentation

Appareils	Verreries	Réactifs
Balance analytique	Bécher	Trichlorure d'aluminium
Micropipette	Burette graduée	Folin-cioralten
Vortex	FiOLE jaugée	DPPH
Spectrophotomètre	Cristalliseur	Alcool éthylique 95%
cuve de 1 cm d'épaisseur	Tube à essai	Oxyde di-éthylique
Centrifugeuse	Les tubes à centrifuger	Hydroxyde de sodium
Agitateur		Phénolphtaléine
Etuve		Chloroforme
		Acide acétique
		Solution se KI saturé
		Empois d'amidon
		Cyclohexane
		Na ₂ S ₂ O ₃
		L'eau distillée
		acide acétique glacial
		Na ₂ CO ₃
		trichlorure d'aluminium AlCl ₃
		Quercétine
		Acide gallique
		solution méthanolique de DPPH

L'objectif de ce présent travail consiste à réaliser une analyse physicochimique d'une huile d'olive de la région de Djaafra (wilaya de Bordj Bou Arréridj), ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante de cette même huile avant et après l'enrichissement avec la poudre séchée des feuilles de *Pistacia Lentiscus*.

Au cours de cette étude, nous avons déterminé les indices de qualité de l'huile d'olive brute (humidité, acidité, indice de peroxyde, la teneur en pigment), les teneurs en composés phénoliques (polyphénols totaux et les flavonoïdes) et l'activité antioxydante de l'huile d'olive avant et après enrichissement avec la poudre des feuilles de *Pistacia lentiscus* à 10%, 20% et 30%.

Les résultats nous ont permis de conclure que l'huile étudiée est de qualité vierge. Et relèvent que l'enrichissement de l'huile d'olive engendre une augmentation importante de la teneur en composés phénoliques. Et une amélioration de l'activité antioxydante.

Mots clés : Huile d'olive, Analyses physico-chimiques, polyphénols, enrichissement, activité antioxydante.

Abstract

The objective of this present work is to perform a physicochemical analysis of a virgin olive oil from the region of Djaafra (wilaya of Borj Bou Arréridj), as well as the evaluation of the antioxidant activity of this same oil before and after enrichment with dried powder of leaves of *Pistacia Lentiscus*. During this study, we determined the quality indices of raw olive oil (moisture, acidity, peroxide value, pigment content), phenolic compound levels (total polyphenols and flavonoids) and the antioxidant activity of olive oil before and after enrichment with powder of leaves of *Pistacia lentiscus* at 10%, 20% and 30%. The results allowed us to conclude that the oil studied is of virgin quality. And note that the enrichment of olive oil generates a significant increase in the content of phenolic compounds. And an improvement in antioxidant activity.

Key words: Olive oil, physicochemical analyzes, polyphenols, enrichment, antioxidant activity.

الملخص:

الهدف من هذا العمل الحالي هو إجراء تحليل فيزيائي كيميائي لزيت الزيتون من منطقة جعافرة (ولاية برج بوعرييج)، بالإضافة إلى تقييم نشاط مضادات الأكسدة في هذا الزيت نفسه قبل وبعد التخصيب بالمسحوق المجفف لأوراق الضرو.

خلال هذه الدراسة، حددنا مؤشرات جودة زيت الزيتون الخام (الرطوبة، الحموضة، قيمة البيروكسيد، محتوى الصباغ)، مستويات مركب الفينول (البوليفينول الكلي والفلافونويدات) والنشاط المضاد للأكسدة في زيت الزيتون قبل وبعد التخصيب بمسحوق أوراق الضرو بنسبة 10% و 20% و 30%.

أتاحت لنا النتائج أن نستنتج أن الزيت الذي تمت دراسته هو من نوعية عذراء. ولاحظ أن إثراء زيت الزيتون يولد زيادة كبيرة في محتوى المركبات الفينولية. وتحسن في نشاط مضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون، التحليلات الفيزيائية، البوليفينول، الإثراء، نشاط مضادات الأكسدة.