



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 Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie

Intitulé

**Etude comparative de la composition et l'activité antioxydante de
l'huile d'olive disponible sur les marchés algérien et italien.**

Présenté par: **KADRI Chaima**
ZIAINA Barkahoum

Membres de jury :

Président: BOUMERFEG Sabah Pr

Encadrant: BOUSSAHEL Soulef MCB

Examineur: BOUMAIZA Souad MAB

Année universitaire: 2019/2020



Dédicaces

Sans l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, Je n'aurais jamais pu réaliser ce mémoire que je dédie à:

♥ *Ma mère (Fatima)*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, amour, ma fierté, tu as toujours été ma source de tendresse d'amour et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.

♥ *Ma grand-mère : Yema thassadith.*

♥ *Mes adorables sœurs: Chafia et Chahra.*

♥ *Mes frères : Bouzin, Loussif, Hamid et Islam.*

♥ *Mes neveux : Bouba, Douidi, Hiba, Youyou, Thiziri.*

♥ *Mes chères amis : Sofian et Ibtissem.*

♥ *Mon encadrant Dr Boussahel .S.*

♥ *Et mon binôme Barkahoum.*

Qui m'ont beaucoup encouragée, Merci d'être près de moi tout au Long de mes études.

♥ *A tous mes camarades de la promotion biochimie (2019-2020).*

♥ *A vous ...*

Chaima

Dédicaces

♥ *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 :

♥ *Mon cher Papa, qui m'a toujours soutenu, et pour ses sacrifices et ses encouragements que Dieu le garde.*

♥ *A Ma chère mère qui m'a entourée avec sa tendresse et qui n'a cessé de prier pour moi.*

♥ *A mon cher mari Rami, pour ses encouragements, son dévouement et son appui à toutes mes entreprises; ainsi qu'à toute sa famille.*

♥ *A mes soeurs: Fayrouz, Massouda, Besma, Ikram et Nour el-houda.*

♥ *À mon cher frère Salah eldine ♥*

♥ *À mes neveux, Et mes nièces ♥*

♥ *A mon binôme et chère amie Chaima et sa famille ♥*

♥ *A mon encadreur Dr Boussahel. S ♥*

♥ *À tous mes amis ♥*

♥ *Pour toute ma famille ♥*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce
Projet soit possible, je vous dis merci.*

Remerciements

En premier lieu, nous remercions Allah pour tous les biens qu'il nous a procurés et parmi eux l'achèvement de ce travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre encadreur Dr BOUSSAHEL Soulef pour les orientations et les conseils qu'elle n'a pas manqués de nous prodiguer durant la réalisation de ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre gratitude et de notre respect.

Nos remerciements les plus vifs sont adressés à la présidente du jury Pr BOUMARFEG Sabah, pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant ce jury.

Nos remerciements chaleureux vont aussi à Dr BOUMAIZA Souad, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont particulièrement au Dr MAKHOUKH .N responsable des Laboratoires au niveau de notre faculté, pour l'aide précieuse qu'il nous apporté.

Nous remercions vivement l'équipe du laboratoire de Chimie et Phytopathologie: Amer, Ismahan et Khalil pour leurs aides et orientations.

Nous n'oublierons pas de remercier infiniment Mr BRAHIMI.M et Mr GHAZI.F, pour leur aide précieuse et de nous avoir donné les échantillons d'huile.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Merci à vous toutes.

Résumé

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude des molécules antioxydantes d'origine naturelle. Cette étude est consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante de trois échantillons d'huiles d'olive extra vierge Algérienne (BIBAN et RAJAA) et Italienne (ORO VERDE). Au cours de cette étude, nous avons déterminé les teneurs en composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) et nous avons testé la capacité antioxydante par la méthode de réduction du fer (FRAP). Les résultats obtenus pour la teneur en polyphénols totaux révèlent que l'huile (ORO VERDE) présente une teneur plus élevée que celle des huiles BIBAN et RAJAA. Par contre la teneur en flavonoïdes indique que les plus grande valeurs sont celle des huiles algériens par rapport à celle l'huile italienne. Les résultats relatifs au pouvoir réducteur ont montré que l'huile BIBAN exerce la meilleure capacité antioxydante.

Mots clés : huile d'olive, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, pouvoir réducteur.

ملخص

تتعلق الكثير من البحوث الحالية بدراسة جزيئات مضادات الاكسدة من اصل طبيعي. هذه الدراسة مخصصة للدراسة الكيمائية النباتية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لثلاث عينات من زيت الزيتون البكر منها الجزائرية (بيبان و رجاء) والايطالية (اورو فارد). خلال هذه الدراسة , تم تحديد مستويات المركبات الفينولية (اجمالي عديد الفينولات و الفلافونويدات) واختبار قدرة مضادات الاكسدة بطريقة القدرة الإرجاعية . اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها لمحتوى عديد الفينولات الكلي ان الزيت اورو فارد يحتوي على محتوى اعلى من الزيوت الجزائرية. من ناحية اخرى , يشير محتوى الفلافونويدات الى ان اعلى القيم هي تلك الخاصة بالزيوت الجزائرية مقارنة بالزيت الايطالي. أظهرت نتائج القدرة الإرجاعية ان زيت بيبان يملك افضل قدرة مضادة للأكسدة .

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون, عديد الفينولات, فلافونويدات, نشاط مضاد للأكسدة, القدرة الإرجاعية.

Abstract

A large part of the current research related to the study of antioxidants molecules of naturel origin .this study is devoted to the phytochemical study and the evaluation of the antioxidant activity of three samples of Algerian (BIBAN et RAJAA) and Italian (ORO VERDE) extra virgin olive oils.

During this study, we determined the levels of phenolic compounds (total polyphenols and flavonoids) and we tested the antioxidant capacity by the ferric reducing antioxidant power method (FRAP).The results obtained for the content of total polyphenols show that oil (ORO VERDE) has a higher content than that of BIBAN and RAJAA oils. On the other hand, the flavonoid content indicates that the highest values are of Algerian oils BIBAN and RAJAA compared to that of Italian oil. The reducing power results showed that BIBAN oil exerts the best antioxidant capacity.

Key words: olive oil, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, reducing power.

Table des matières

Résumé	
Introduction	1
Synthèse Bibliographique	
1. <i>Olea europaea</i> L	
1.1. Description botanique d' <i>Olea europaea</i> L.....	3
1.1.1. Systématique.....	3
1.1.2. L'olive.....	4
1.1.3. Noyau du fruit.....	4
1.2. Composition chimique d'olive.....	5
1.3. L'oléiculture en Algérie.....	5
1.4. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive.....	6
1.4.1. La récolte des olives.....	6
1.4.2. Le stockage des olives.....	6
1.4.3. Effeillage et lavage.....	6
1.4.4. Broyage et malaxage.....	7
1.4.5. La décantation.....	7
1.4.6. La centrifugation verticale.....	7
2. Huile d'olive	
2.1. L'huile d'olive.....	9

2.2. Les catégories de l'huile d'olives vierge.....	9
2.3. Les critères de qualité.....	10
2.3.1. Acidité.....	10
2.3.2. Indice de peroxyde.....	11
2.3.3. Coefficients d'absorption spécifique.....	11
2.3.4. Les propriétés organoleptiques.....	11
2.4. Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive.....	11
2.4.1. Effets du climat.....	12
2.4.2. Effet de l'entretien du sol.....	12
2.4.3. Effet des ravageurs.....	12
2. 5. Composition de l'huile d'olive.....	12
2.5.1. Fraction saponifiable.....	12
2.5.1. 1. Les glycérides.....	13
2.5.1.2. Acides gras.....	13
2.5.2. Fraction insaponifiable.....	14
2.5.2.1. Les stérols.....	14
2.5.2.2. Les tocophérols.....	15
2.5.2.3. Composés aromatiques.....	16
2.5.2.4. Les composés phénoliques.....	16
2.5.2.5. Les pigments.....	18
2.5.2.6. Les chlorophylles.....	19

2.5.2.7. Les caroténoïdes.....	19
--------------------------------	----

3. Stress oxydant et antioxydants de l'huile d'olive.

3.1. Oxydation de l'huile d'olive.....	21
--	----

3.2. Stress oxydant.....	21
--------------------------	----

3.3. Les sources des radicaux libres	22
--	----

3.3.1. Sources endogènes	22
--------------------------------	----

3.3.2. Sources exogènes.....	23
------------------------------	----

3.4. Les Antioxydants.....	23
----------------------------	----

3.4.1. Définition.....	23
------------------------	----

3.4.2. Classification des antioxydants.....	23
---	----

3.4.3. Les antioxydants synthétiques.....	23
---	----

3.4.2.2. Antioxydants d'origine végétale.....	23
---	----

3.5. Principaux antioxydants de l'huile d'olive.....	23
--	----

3.5.1. Composés phénoliques.....	23
----------------------------------	----

3.5.2. Tocophérols.....	23
-------------------------	----

3.5.3. Caroténoïdes.....	24
--------------------------	----

3.5.4. Squalène.....	24
----------------------	----

Matériels et Méthodes

1. Matériels.....	26
-------------------	----

Le matériel végétal.....	26
--------------------------	----

Les solvants et les réactifs	27
------------------------------------	----

Appareillage	28
2. Méthodes	29
2.1. Extraction des composés phénoliques totaux.....	29
2.2. Dosage des polyphénols totaux.....	30
2.3. Dosage des flavonoïdes.....	32
2.4. Le test de pouvoir réducteur.....	33
Résultats et discussion	
1. Teneur en polyphénols totaux.....	34
2. Teneur en flavonoïdes.....	35
3. Activité antioxydante.....	36
Conclusion et perspectives	38
Références bibliographique.....	43
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Localisation et destination de production des principales Vs en Algérie.....	4
II	Les différentes catégories d'huile d'olive vierge et leurs critères de qualité.....	7
III	Composition moyenne en acides gras de l'huile d'olive analysée par Chromatographie en phase gazeuse (% m/m d'esters méthyliques).....	10
IV	Structures des composés phénoliques identifiés dans l'huile d'olive	13
V	Réactifs utilisé et leur formules.....	28
VI	Solvants utilisés et leurs formules.....	29

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Coupe longitudinale de l'olive	4
2	Structure morphologique du noyau d'olivier.....	5
3	Répartition de la superficie d'olivier.....	6
4	Structure chimique de quelques phytostérols majeurs de l'huile d'olive	14
5	Structure chimique des tocophérols.....	15
6	Structure chimique de la chlorophylle.....	19
7	Structure chimique de β -carotène.....	20
8	Photographie des bouteilles commercialisées d'huiles d'olive	26
9	Les appareils utilisés dans les expériences	27
10	Etapes de préparation d'extrait brut de l'huile d'olive.....	30
11	Etapes de dosage des polyphénols totaux.....	31
12	Etapes de dosage des flavonoïdes.....	32
13	Etapes de test de pouvoir réducteur	34
14	Teneurs en polyphénols des échantillons d'huile d'olive.....	35
15	Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux.....	36
16	Teneurs en flavonoïdes des échantillons d'huile d'olive	37
17	Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes	37
18	Etapes de réalisation de pouvoir réducteur.....	38

Liste des abréviations

ADN	: Acide désoxyribonucléique.
A.G.I	: Acides Gras Insaturés.
AGMI	: Acides Gras Monoinsaturés.
AGPI	: Acides Gras Polyinsaturés.
A.G.S	: Acides Gras Saturés.
COI	: Conseil Oléicole International.
Mg E.A.G/Kg	: Milligramme Equivalent en Acide Gallique.
E.Q	: Equivalent en Quercitine
FRAP	: Ferric Reducing Antioxydant Power.
TCA	: Acide trichloracétique
UV	: Ultra-violet.
r²	: Coefficient de corrélation

Introduction

Introduction

Olea europaea communément appelé olivier est non seulement un arbre à fruit 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.

L'huile d'olive est la principale source de matières grasses du régime méditerranéen ou du régime crétois. On la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours (Gharbi *et al*, 2014).

Cela est dû en grande partie à ses effets nutritionnels et bénéfiques sur la santé qui sont liés à l'équilibre optimal entre les acides gras saturés (AGS), mono insaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI), ainsi qu'à la présence de composants mineurs tels que les caroténoïdes, les polyphénols et les tocophérols (Lazzez *et al*, 2008).

L'effet bénéfique de l'huile d'olive sur la santé humaine est attribué, entre autres, à sa teneur en composés phénoliques. Ces derniers ne cessent de prendre une importance croissante dans le cadre de santé. Leur pouvoir antioxydant naturel suscite plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires. Ils sont également utilisés comme additifs dans les différentes industries : pharmaceutique et cosmétique (Aouidi *et al*, 1990).

Plusieurs études ont démontré la capacité antioxydante des polyphénols de l'huile d'olive. En plus de l'inhibition de la peroxydation des lipides, les composés phénoliques protègent le corps humain par le piégeage des radicaux libres (Servili *et al*, 2009).

L'huile d'olive possède une composition nutritionnelle équilibrée en acides gras, modérée en acide palmitique et très riche en acide oléique. Néanmoins, c'est la présence des composés phénoliques particuliers qui lui confère une haute stabilité contre l'oxydation lors du stockage avec une couleur et une saveur uniques la distinguant des autres huiles (Tanouti *et al*, 2011).

Le contenu phénolique des huiles d'olive dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels on trouve: le climat, le type de récolte, le degré de maturité des olives, les techniques de production et les méthodes de conservation (C.O.I, 2017).

La présente étude vise à évaluer la composition de l'huile d'olive en polyphénols et en flavonoïdes et l'activité antioxydante des extraits méthanoliques préparés à partir de trois échantillons d'huiles d'olive extra vierge disponibles sur le marché algérien et italien.

Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette recherche, notre travail comporte les objectifs suivants:

- Mener une synthèse bibliographique sur l'arbre de l'olive, les technologies d'extraction d'huile d'olive, la composition et les critères de qualité, et enfin les antioxydants de l'huile d'olive.
- Réaliser des expériences dans le laboratoire sur des échantillons d'huile d'olives les tests sont:
 - Composition en polyphénols totaux et en flavonoïdes.
 - Activité antioxydante.

Synthèse Bibliographique

1. *Olea europaea* L

L'olivier (*Olea europea* L) constitue une essence fruitière principale, tant par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental (Gomes *et al*, 2012).

1.1 Description botanique d'*Olea europaea*

Olea europaea est un arbre de taille moyenne (12 à 15 mètres de hauteur) auquel le climat méditerranéen convient parfaitement : hivers doux, automnes au printemps pluvieux, étés chauds et secs, une grande luminosité. Il lui faut une moyenne annuelle de température comprise entre 13 et 22 °C. Le cycle végétal de l'arbre manifeste après le repos hivernal (de novembre à février), sa floraison s'étend d'avril en juin. Le noyau du fruit se durcit en juillet-août et atteint sa taille normale en octobre. La maturation est alors plus en moins rapide suivant les variétés. Un arbre produit en moyenne 15 à 50 kg d'olives, un quintal peut donner 18 à 20 litre d'huile d'olive selon les variétés (Dupont F *et al*, 2007; Penzig O, 1902).

1.1.1. Systématique

La classification botanique de l'arbre d'olivier selon Cronquist (1981) est la suivante :

Règne: *Plantae*.

Sous-règne: *Tracheobionta*.

Division: *Magnoliophyta*.

Classe: *Magnoliopsida*.

Sous-classe : *Asteridae*.

Ordre: *Scrophulariales*.

Famille: *Oleaceae*.

Genre: *Olea*.

Espèce: *Olea europaea*.

Le nom vernaculaire: en français olivier, en arabe zitoun.

1.1.2. L'olive

Est le fruit d'olivier, sa couleur, d'abord verte avant maturation, vire au noir après maturité complète chez la plupart des variétés. La maturité est atteinte entre octobre et décembre (Zarrouk *et al*, 1996).

L'olive est constituée de trois parties: l'épicarpe composé de l'épiderme et de la cuticule, le mésocarpe (la pulpe) qui constitue la majeure partie du fruit et contient des vacuoles chargées d'huile, et l'endocarpe (noyau) (Figure 01) (Kritsakis et Markakis 1987; Fedeli, 1997).

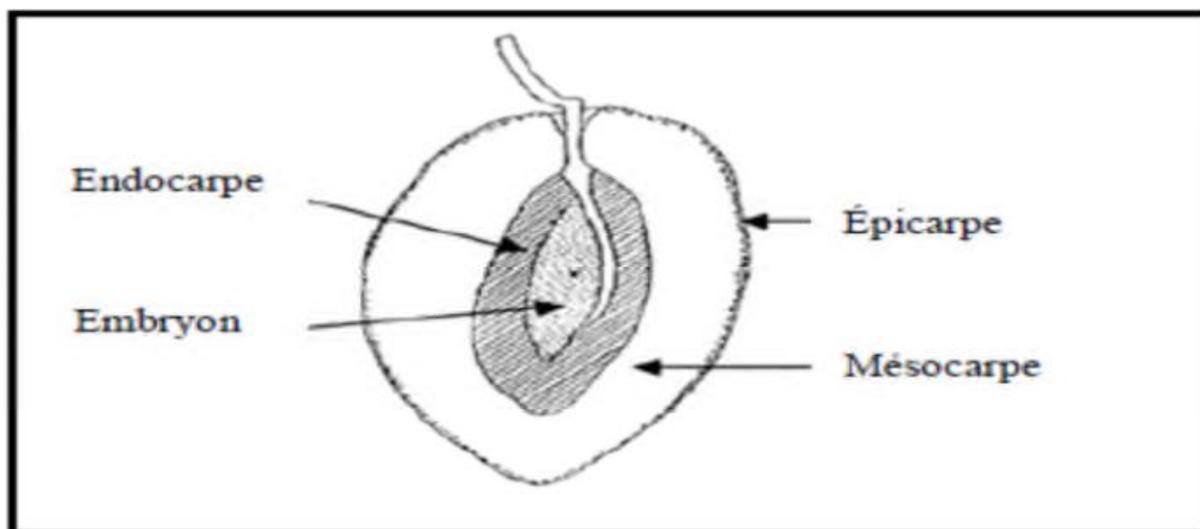


Figure 1: Coupe longitudinale de l'olive (Bianchi, 2003).

1.1.3. Noyau d'olive

Le noyau d'olive est un endocarpe fusiforme, uni-tégumentaire et sclérifié, composé de deux valves asymétriques protégeant une graine. La surface montre des sillons longitudinalement alignés, qui sont des marques des fascicules carpellaires. Les deux valves sont séparées par une ligne longitudinale de suture et ont habituellement une taille et une forme différentes (Figure 02) (Terral et al, 2004).

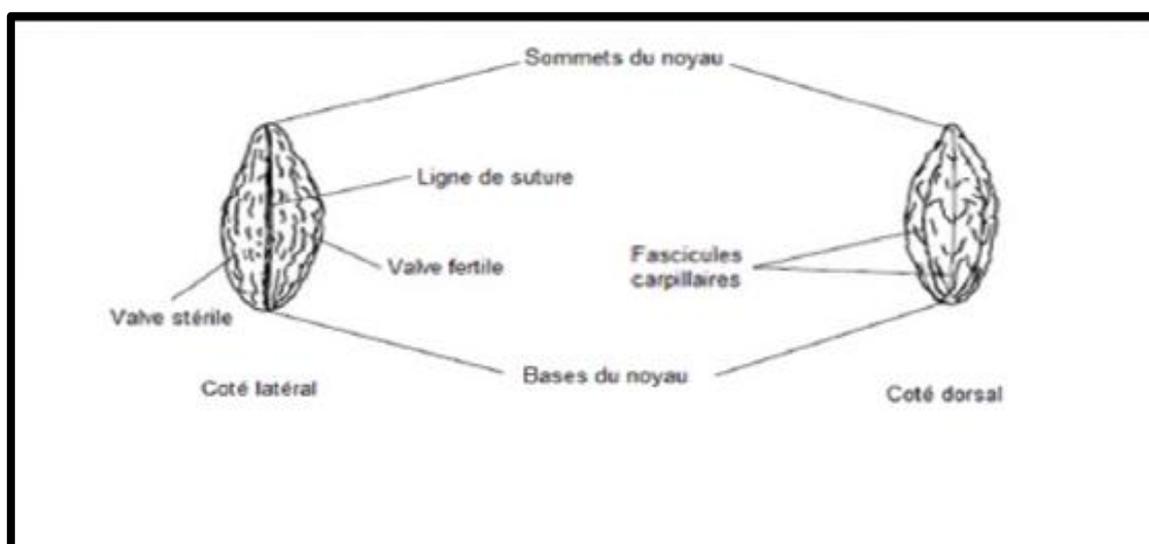


Figure 2: Structure morphologique du noyau d'olive (Terral et al, 2004).

1.2. Composition chimique de l'olive

L'olive renferme une quantité considérable en eau, protéines, polysaccharides, minéraux et une très grande variété de composés mineurs à faibles teneurs qui confèrent à l'huile ses qualités gustatives et sa stabilité (Roehly, 2000; Conde *et al*, 2008).

Récoltée au stade de maturité optimale, une olive renferme l'eau (48%) et diverses substances: huile (21%), Polysaccharides (hémicellulose, cellulose et pectines) (27%), Mono & disaccharides (1%), protéines (1,6%), Cires, triterpènes, phénols (1%) et sels minéraux (1,5%), et d'autres composés (alcanes, alkyl-esters, méthy-phenyl-esters, steryl-esters, aldéhydes, alcools, stérols, triterpénoïdes polycycliques et acides à très longues chaînes carbonées) (traces) (Roehly, 2000). Cette composition est influencée par le cultivar, les conditions agronomiques et le degré de maturité du fruit (Zamora *et al*, 2001).

1.3. L'oléiculture en Algérie

La culture de l'olivier est d'une importance non négligeable pour l'Algérie étant donné que ce secteur joue un rôle très important sur le plan socioéconomique. L'olivieraie algérienne est répartie sur environ 49% de la superficie arboricole cultivée dans le pays et est caractérisée par une gamme de variétés (Moussaoui *et al*, 2008).

Trois régions principales partagent sa production : la grande Kabylie (Tizi Ouzou), petite Kabylie (Béjaia, Bouira, Boumerdes) et une partie de l'Est (Jijel, Skikda, Sétif et Guelma) (Figure 03). Le nombre d'oliviers est estimé à 32 millions; la production oléicole est très fluctuante d'une année à l'autre en raison du phénomène d'alternance biologique de l'olivier et des conditions climatiques extrêmement aléatoires (Ministère de l'agriculture, 2015).

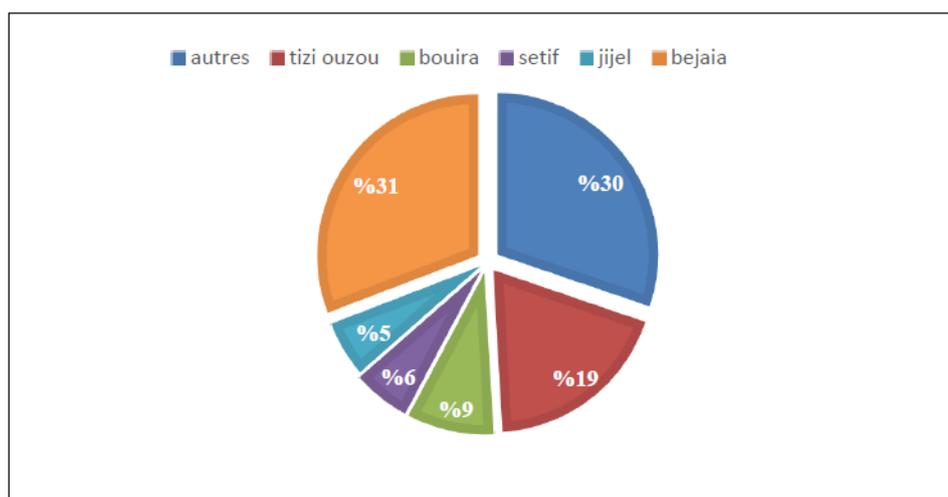


Figure 3: Répartition de la superficie d'olivier (Benabid, 2009).

1.4. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive

La qualité de l'huile d'olive vierge est tributaire de nombreux facteurs, allant du stade de la culture de l'olivier, aux étapes successives de récolte, de stockage et de transformation des olives (Di Giovacchino, 1999). Les principales étapes d'extraction sont décrites comme suit :

1.4.1. La récolte des olives

Elle se produit en général du mois de septembre pour les variétés précoces jusqu'au mois de février pour les variétés tardives, au moment de la véraison. On privilégiera une cueillette des olives quand elles sont encore vertes, ce qui garantira une huile d'olive avec une très forte puissance aromatique. La cueillette se fera de préférence à la main, pour ne pas abîmer les fruits (Amouretti *et al*, 1985).

1.4.2. Le stockage des olives

Une fois la récolte terminée, vient le stockage, il est primordial, et ne doit pas excéder 24 heures avant le pressage pour garantir une bonne qualité.

1.4.3. Effeillage et lavage

la présence des pigments chlorophylliens dans les feuilles entraîne une amertume et une couleur verdâtre de l'huile (Chimi, 2001).

L'opération d'effeuillage est réalisée par des appareils automatiques munies d'un système d'aspiration par l'application d'un courant d'air aux fruits au fur et à mesure de leur passage (Uceda *et al*, 2006 ; Cuellar, 1990).

L'élimination des impuretés (poussière, terre, pierres et autres matières solides) est réalisée par un lavage dans un bassin d'eau à circulation forcée pour le lavage des olives (Michelakis, 1992).

1.4.4. Broyage et malaxage

Cette étape est réalisée soit par des broyeurs à meules dans les huileries à système de pression, soit par des broyeurs métalliques (Uzzan, 1994). Cette opération 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 (Di Giovacchino, 1991).

La pâte obtenue subit un malaxage qui rend la pâte plus homogène (Di Giovacchino, 1991). Le malaxeur est muni d'un système permettant le réchauffement contrôlé et adéquat de la pâte pendant un temps donné de brassage continu et lent (COI, 2006).

Cette température impacte fortement la production d'huile d'olive 100% naturelle et BIO. En effet, plus la température est élevée, plus la viscosité de l'huile est réduite ce qui facilite l'extraction.

Toutefois, lorsque la température est trop élevée, l'huile perd de ses bienfaits et de ses arômes. C'est pourquoi, vous pouvez retrouver la mention « extraction à froid » (entre 18 et 24° C) sur l'huile d'olive extra vierge, Cette étape de la production d'huile d'olive dure en moyenne 45 à 60 minutes (Cuellar, 1990).

1.4.5. La décantation

Les travaux de Ranalli *et al*, (2003) ont rapporté que cette étape se déroule dans un décanteur. Il s'agit d'un décanteur doté d'un corps cylindrique avec un axe horizontal. Cette machine va profiter de la densité de chaque élément constituant la pâte pour les séparer.

C'est l'huile d'olive qui est le moins dense, viennent ensuite l'eau, les matières végétales et les noyaux. La grande vis de la centrifugeuse tournant à une vitesse de 3000 à 4000 tours par minute (Ouauich et Chimi, 2007).

La partie la plus dense de la pâte se retrouve à l'extérieur du cylindre tandis que l'huile d'olive reste dans la partie centrale. Lorsque la séparation est effectuée, un diaphragme est posé afin de contenir l'huile tandis que les autres composants sont libérés (Ranalli *et al*, 2003).

1.4.6. La centrifugation verticale

Le jus obtenu par la décantation suit son chemin dans un réservoir cylindrique vertical, appelé centrifugeuse.

Cette centrifugeuse vient compléter le travail du décanteur pour fabriquer une huile d'olive 100% naturelle et bio de parfaite qualité. Le diaphragme de contention est un mécanisme qui manque de précision, l'huile contient encore quelques restes solides. Pour les éliminer, la centrifugeuse verticale dispose d'un disque au centre duquel on place de l'eau. C'est, une fois encore, la densité de chaque élément qui fera le travail. L'eau se déplace autour du disque, emportant avec elle les autres solides (Ghezlaoui, 2011; Ranalli *et al*, 2003).

2. Huile d'olive

2.1. L'huile d'olive

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

2.2. Les catégories d'huile d'olive vierge

L'huile d'olive vierge comprend diverses appellations: vierge extra, vierge ou vierge fine, vierge courante et vierge lampante (Perrin, 1992). L'appartenance à une catégorie est définie en fonction de l'évaluation de quelques paramètres de qualité de l'huile d'olive à savoir : l'acidité, l'indice de peroxyde, l'absorbance dans l'UV et les caractéristiques organoleptiques (Christopoulou *et al*, 1995; Fedeli, 1999).

Les différentes catégories d'huile d'olive vierge ainsi que les limites des critères de qualité établies par le COI (2003), sont représentées dans le tableau I.

Tableau I : Les différentes catégories d'huile d'olive vierge et leurs critères de qualité (COI, 2019).

huile Paramètre	Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive Vierge	Huile d'olive vierge courante	Huile d'olive vierge lampante
Caractéristiques organoleptiques				
-Fruité	Me >0	Me >0	Me = 0	-
-Défaut	Me = 0	0 < Me <3,5	3,5 < Me <6,0	Me > 6,0
Acidité libre (% d'acide oléique)	≤ 0,8	≤ 2	≤ 3,3	> 3,3
Indice de peroxyde (méq O₂/Kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité
Extinction spécifique (UV)				
-K232	≤ 2,5**	≤ 2,6**	-	-
-K270	≤ 0,22	≤ 0,25	≤ 0,3	-

- Me : Médiane

** Les partenaires commerciaux du pays de vente au détail peuvent exiger le respect de ces limites lors de la mise à disposition de l'huile au consommateur final.

2.3. Les Critères de qualité

La qualité est définie comme étant l'ensemble des caractéristiques chimiques, physiques et sensorielles, permettant de classer l'huile d'olive en différentes catégories conformément aux définitions de la norme commerciale adoptée par le conseil oléicole international (COI, 2015). La qualité d'huile d'olive est influencée par une combinaison de facteurs: la variété, méthodes de récolte, processus d'extraction (Tanouti et *al*, 2010).

2.3.1. Acidité

La matière grasse de l'huile d'olive est constituée de triglycérides. Lorsque ces derniers sont dégradés, les acides gras sont libérés dans l'huile. Ils sont appelés acides gras libres. Leur taux dans l'huile désigne l'acidité de l'huile (Davis, 2007).

L'acidité est un marqueur d'altération de l'huile, elle peut être liée à certaines variétés d'olives mais aussi à l'insuffisance de précautions prises lors de la récolte ou du stockage (Kristakis et *al*, 1998).

2.3.2. Indice de peroxyde

Il mesure l'état d'autooxydation de l'huile qui est lent mais inéluctable. Les précautions prises lors de la récolte, de la fabrication et du stockage de l'huile permettent de retarder et d'en réduire les effets. Un indice de peroxyde bas indique que l'huile a été extraite rapidement après la récolte et qu'elle a été stockée dans de bonnes conditions. Il permet de conclure que l'huile ne s'oxydera pas rapidement ou prématurément et se conservera au cours du temps (Krichene et *al*, 2010).

2.3.3. Coefficients d'absorption spécifique

L'absorbance dans l'UV ou l'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse, sur son état de conservation, et sur les modifications dues aux processus technologiques. L'oxydation d'une huile aboutit à une dégradation en chaîne des acides gras insaturés par l'oxygène atmosphérique sous l'effet de différents facteurs exogènes et endogènes initiateurs, accélérateurs ou retardateurs, conduisant à des produits oxydés volatils ou non, citons les hydroperoxydes linoléiques qui absorbent la lumière au voisinage de 232 nm. Si l'oxydation se poursuit, il se forme des produits secondaires d'oxydation, en particulier des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent la lumière vers 270 nm (Tanouti et *al*, 2010).

2.3.4. Les propriétés organoleptiques

La valeur intrinsèque des matières n'est que l'un des éléments de la qualité du produit.

En effet, divers réactions et traitements technologiques auxquels sont soumis les olives peuvent affiner ou non la qualité de l'huile d'olive produite. On s'aperçoit alors que l'analyse sensorielle doit compléter les déterminations analytiques rendues possibles au fur et à mesure du développement de l'analyse chimique ou physique et qu'elle demeure un élément prépondérant. L'homme doit connaître les différentes stimulations qu'il va ressentir pendant la dégustation. Ces propriétés organoleptiques à évaluer peuvent concerner l'aspect, la couleur, la texture, le goût, l'arôme, la saveur, etc. La formation et l'apprentissage pratique sont indispensables pour réaliser une évaluation correcte (Ouaouich et *al*, 2007).

2.4. Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive

2.4.1. Effet du climat

Selon Ouaouich et Chimi (2007) la culture de l'olivier est 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 et par conséquent la réduction de la production de l'arbre.

2.4.2. Effet de l'entretien du sol

L'olivier pousse mal sur les sols argileux (>40 %) à cause de l'asphyxie que subissent les racines durant les saisons pluvieuses, sans oublier qu'en été, ce type de sol se caractérise par des fissures qui engendrent un dessèchement des racines et les oliviers souffrent par la suite d'un manque d'eau. Les conséquences néfastes se résument en une chute des fruits et en un calibre réduit des olives, ce qui affecte la qualité et le rendement de l'huile extraite (Ouaouich et Chimi, 2007).

2.4.3. Effet des ravageurs

Les insectes ravageurs ont une action nuisible qui peut intervenir sous différentes formes et notamment par la destruction ou la détérioration des olives. Ces insectes ravageurs peuvent affecter les deux produits de l'olivier : l'huile d'olive et les olives de table. Les plus terribles sont : la mouche de l'olivier («Keiroun» en Provençal, *Dacus Oleae*), un petit coléoptère («Neiroun », *Phloeotribus Oleae*) et une espèce de Thrips (« ver noir, Barban», *Phloeothrips Oleae*) (Malheiro *et al*, 2015, Penzig O, 1902).

2. 5. Composition de l'huile d'olive

L'huile d'olive comprend une fraction saponifiable constituée d'acides gras et de leurs dérivés, et une fraction insaponifiable qui est représentée par les stérols, les alcools aliphatiques, les pigments, les hydrocarbures, les composés aromatiques, les tocophérols et les composés phénoliques (Berra, 1998).

La composition chimique de l'huile d'olive dépend largement de la variété, des conditions agronomiques, du degré de maturité, des procédés d'extraction et des conditions de stockage (Dugo *et al*, 2004).

2.5.1. Fraction saponifiable

La fraction saponifiable est constituée d'acides gras et de leurs dérivés (acylglycérols, phosphatides). Elle représente environ 99% de l'huile et lui confère la plupart de ses caractéristiques physiques, chimiques et métaboliques (Ryan *et al*, 1998). Elle se compose essentiellement de :

2.5.1. 1. Les glycérides

Ce sont des esters d'acides gras et glycérol. Plusieurs travaux de recherche ont signalé que les glycérides constituent le principal composant d'huile d'olive, environ 98%. Les triglycérides sont les composants majoritaires (95,4 %), les diglycérides ne représentent qu'environ 1-2,8%. Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont : la trioléine « OOO » (40 à 60 %), la dioléopalmitine « POO » (10 à 20 %), la dioléolinoléine « OOL » (10 à 20 %), La palmitooléolinoléine « POL » (5 à 7 %) et la dioléostéarine « SOO » (3 à 7 %) (Zarrouk *et al*, 1996; Ryan *et al*, 1998; Boskou *et al*, 2006).

2.5.1.2. Acides gras

D'après Ryan *et al* (1998), l'huile d'olive présente un profil en acides gras (Tableau II) dominé par l'acide oléique (C18: 1) présent en grande quantité (55 à 83 %) et renferme une faible teneur en acides gras polyinsaturés.

La composition de l'huile d'olive en acides gras joue un rôle important au niveau de sa qualité nutritionnelle (Douzane *et al*, 2012). La variation de la composition en acide gras des huiles d'olive ne semble pas être seulement affectée par les facteurs pédoclimatiques (D'imperio *et al*, 2007) mais aussi par plusieurs autres facteurs dont l'époque de la récolte et la variété (Boskou *et al*, 2006).

Tableau II: Composition moyenne en acides gras de l'huile d'olive analysée par Chromatographie en phase gazeuse (% m/m d'esters méthyliques) (COI, 2019).

Acide gras	Symbole	Pourcentage (%)
Acide oléique	C18 :1	55 – 83
Acide linoléique	C18 :2	2,5 – 21
Acide palmitique	C16 :0	7,5 – 20
Acide stéarique	C18 :0	0,5 – 5
Acide palmitoléique	C16 :1	0,3 - 3,5
Acide linoléique	C18 :3	< 1
Acide arachidique	C20 :0	< 0,6
Acide gadoléique (eicosénoïque)	C20 :1	<0,5
Acide myristique	C14 :0	<0,03
Acide heptadécanoïque	C17 :0	< 0,40
Acide heptadécénoïque	C17 :1	< 0,60
Acide béhénique	C22 :0	< 0,2
Acide lignocérique	C24 :0	< 0,2

2.5.2. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable contient des constituants dits « mineurs » car ils présentent de faibles proportions dans la composition chimique de l'huile d'olive, mais qui lui apportent une valeur biologique d'une grande importance. L'insaponifiable représente de 0,4 à 0,8 % de l'huile d'olive et compte plus de 230 composés différents (Henry, 2003; Visioli et Galli, 1998).

2.5.2.1. Les stérols

Les stérols végétaux ou phytostérols, constituent une fraction importante de l'insaponifiable, ils en représentent entre 10 à 15 %. La quantité totale de stérols dans l'huile d'olive extra vierge varie de 113 à 265 mg/100g (Essiari *et al*, 2014).

(Ajana *et al*, 1998; Pardo *et al*, 2007; Ben Temime *et al*, 2008) ont noté que ces teneurs varient en fonction de la variété, de la maturité des olives et de l'origine géographique des olives.

La composition stérolique est spécifique de chaque espèce végétale. Plusieurs études ont identifié trois principaux stérols dans les huiles d'olive: le β -sitosolérol, le campestérol et le stigmastérol (Bentemime *et al*, 2008; Stiti *et al*, 2002) (figure 4).

Plusieurs travaux ont signalé que la composition de la fraction stérolique constitue un paramètre important dans la détection d'adultérations des huiles (Phillips *et al*, 2002).

Selon Viola (1997), l'huile d'olive est la seule huile qui contient un taux élevé de β -sitosolérol, substance qui s'oppose à l'absorbance intestinale du cholestérol.

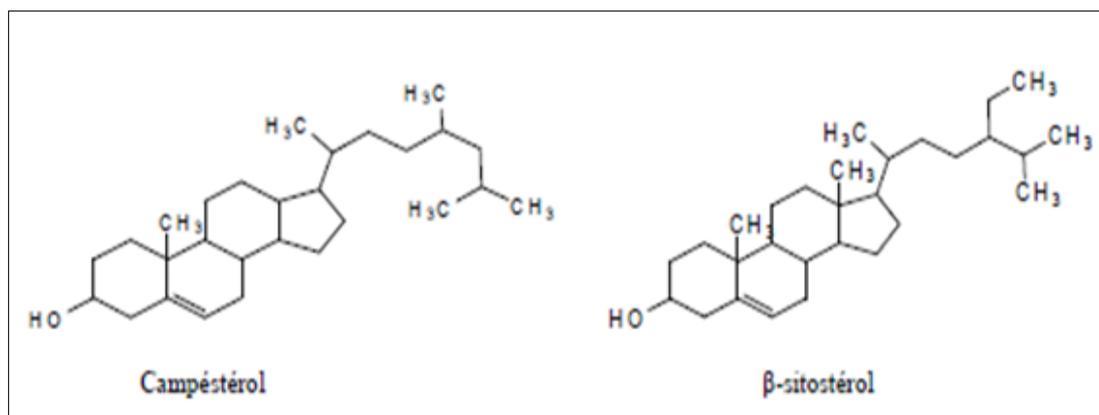


Figure 4 : Structures de quelques phytostérols majeurs de l'huile d'olive (Ramírez-Tortosa *et al*, 2006).

2.5.2.2. Les tocophérols

On distingue quatre formes de tocophérols (α , β , γ et δ) qui diffèrent par le nombre et la position des groupements méthyles sur le noyau aromatique (Azzi et Stocker, 2000) (Figure 05).

Ils se trouvent libres ou estérifié, l' α tocophérol, doté de la plus forte activité antioxydante, représentent plus de 95 % des tocophérols totaux (Ryan *et al*, 1998).

Sa concentration naturelle varie entre quelques ppm jusqu'à 300 ppm. Ces derniers agissent comme des inhibiteurs des radicaux libres en leur donnant des protons pour les rendre plus stables (Blekas *et al*, 1994).

Les tocophérols sont reconnus pour leur double action bénéfique :

- Ils contribuent à la stabilité oxydative et aux qualités nutritionnelles de l'huile d'olive (Ryan *et al*, 1998). En effet, ils exercent une activité antioxydante par rupture de la chaîne radicalaire lors des étapes de propagation de l'oxydation lipidique, comme ils peuvent prévenir l'action de l'oxygène singulet, initiateur de la peroxydation lipidique (Psomiadou et Tsimidou, 2002; Ben Tekaya et Hassouna, 2005).

Et ils ont l'avantage d'être une vitamine liposoluble (vitamine E) (Aparicio et Luna 2002).

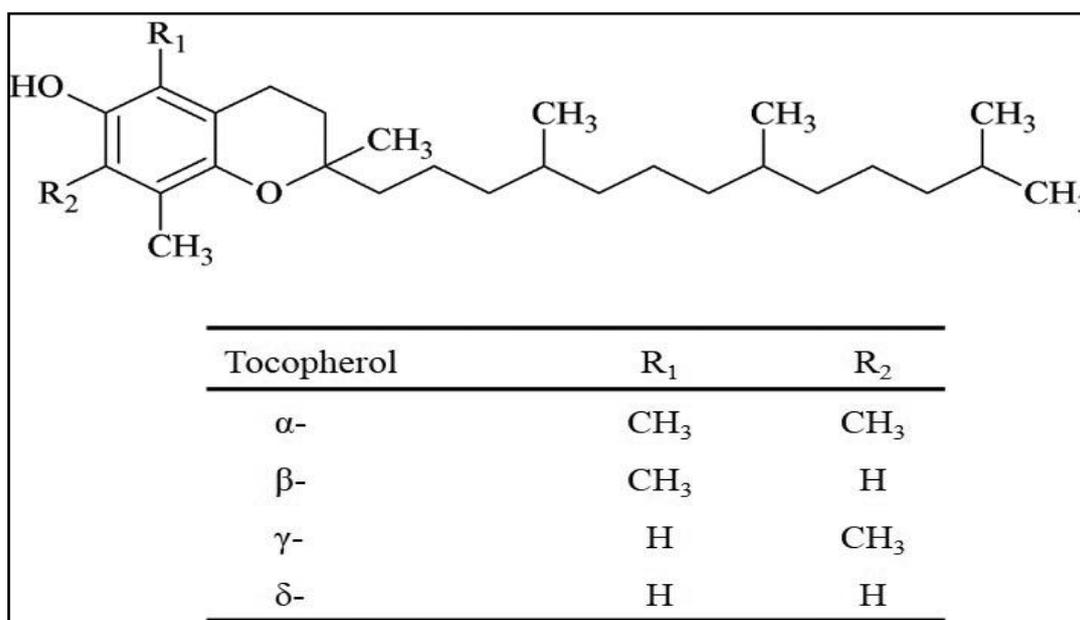


Figure 5: Structure des tocophérols (Kamal-Eldin et Appelquist, 1996).

2.5.2.3. Composés aromatiques

L'huile d'olive est intéressante d'un point de vue nutritionnel, elle est surtout appréciée pour son goût et ses arômes particuliers. Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire possédant une volatilité à température ambiante (Veillet, 2010). Ils sont constitués d'un mélange de composés volatils tels que les hydrocarbures, les aldéhydes, les alcools, les cétones, les furanes et les esters (Vichi *et al*, 2003; Luna *et al*, 2006). L'odeur de l'huile est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez (Angerosa, 2002).

La teneur en composés volatils varie d'un cultivar à un autre et dépend étroitement de l'activité des enzymes de la voie de la lipoxigénase (Dhifi *et al*, 2005 ; Runcio *et al*, 2008).

D'autres facteurs peuvent influencer leurs teneurs, à savoir : le degré de maturité des olives, le stockage des olives, le temps et la température du malaxage, les conditions climatiques et l'état sanitaire des olives (Morales *et al*, 2005).

2.5.2.4. Les composés phénoliques

L'huile d'olive est riche en composés phénoliques mineurs, en particulier l'hydroxytyrosol, molécule bioactive, puissante comme antioxydant et représentant une action anti-inflammatoire (Jose *et al*, 2015).

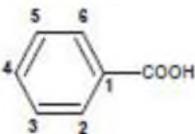
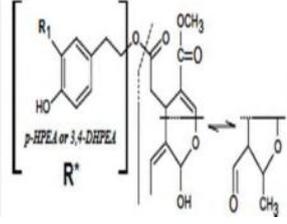
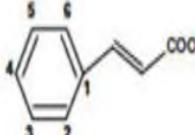
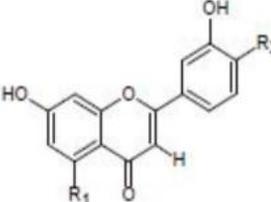
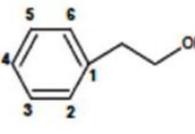
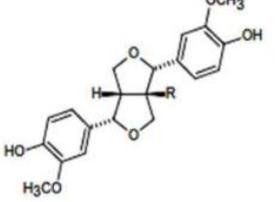
Ces substances sont responsables de la bonne stabilité à l'oxydation des huiles d'olive vierges et contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et l'amertume des huiles (Ollivier *et al*, 2004; Haddam *et al*. 2014).

Ces polyphénols regroupent un ensemble de molécules qui présentent dans leurs structures au moins un cycle aromatique à 6 carbones lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles, Ils sont constitués d'un mélange: d'acide phénolique, alcool phénolique, dérivés secoiridoides, lignanes, flavonoïdes et hydroxy-isochromanes (Ribéreau-Gayon, 1968; Boskou, 2009) (tableau III).

Les teneurs pour une huile d'olive oscillent généralement entre 75 et 700 mg/kg (Morello *et al*, 2006 ; Issaoui *et al*, 2007).

Cette quantité dépend du degré de maturité des olives (Rovellini et Cortesi, 2003), la saison et les conditions climatiques, l'état sanitaire des olives, la variété et le système d'extraction de l'huile (Tamendjari *et al*, 2004).

Tableau III: Structures des composés phénoliques identifiés dans l'huile d'olive (Segura-Carretero *et al.* 2010).

Composés	Structures générales	Composés	Structures générales
Acides benzoïques Acide vanillique Acide syringique Acide gallique Acidehydroxybenzoïque		Secoiridoïdes Oleupéine aglycone Ligstroside aglycone Oleuropéine Forme dialdehydique de l'acide élénolique	
Acides cinnamiques Acide <i>p</i> -Coumarique Acideo- coumarique Acide cafféique		Flavonoïdes apigénine lutéoline	
Alcools phénoliques Hydroxytyrosol Tyrosol		Lignanes - (+)-1-Acétoxypinoresinol - (+)-Pinoresinol	

2.5.2.5. Les pigments

La couleur de l'huile d'olive dépend de sa composition en pigments (Roca et Minguez-Mosquera, 2001). Ils sont responsables de la couleur verdâtre à jaune de l'huile d'olive (Cichelli et Pertesana, 2004).

Les pigments sont transférés du fruit d'olive à l'huile durant son d'extraction. Ces composés sont importants pour la conservation de la qualité des huiles comestibles, vu qu'ils sont impliqués dans les mécanismes de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation (Oueslati *et al.*, 2009).

2.5.2.5.1. Les chlorophylles

Les chlorophylles appartiennent à la famille des tétrapyroles, les teneurs de ces composés dans l'huile d'olive s'étendent entre 1 et 20 ppm (Boskou, 1996). Ce sont des pigments essentiellement responsables de la couleur caractéristique de l'huile d'olive.

Au cours de l'extraction de l'huile, la libération d'acides provoque une perte en chlorophylles a et b, par transformation en phéophytines a et b suite à la perte du Mg (Minguez-Mosquera *et al*, 1990) (figure 06). Ils ont une activité pro-oxydante en présence de la lumière, en assurant la formation de l'oxygène singulet et promouvoir la première phase du processus d'autooxydation, cette espèce d'oxygène excité est plus réactive envers les lipides insaturés que l'oxygène à l'état fondamental dissout dans l'huile (Perrin, 1992).

Leur action pro-oxydante dans la lumière, est en fonction directe de leurs concentration et leurs structures: phéophytines b > phéophytines a > chlorophylles b > chlorophylles a (Rahmani et Saad, 1989).

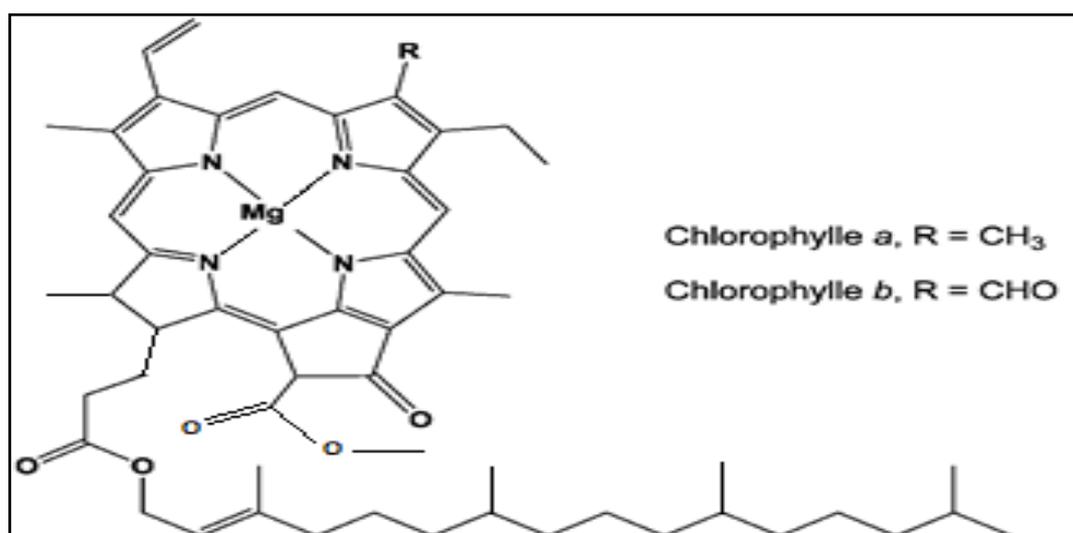


Figure 6: Structure de la chlorophylle (Folly, 2000).

2.5.2.5.2. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des tétraterpènes, ils constituent une famille de pigments liposolubles, dont la couleur varie du jaune au rouge orangé (absorption de la lumière entre 400 et 550 nm) (Ryan *et al*, 1998). L'huile d'olive présente des teneurs variables en caroténoïdes (0,5 à 1mg/100g), avec une prédominance de la lutéine et du β -carotène (Uzzan, 1992) (figure 7). Le rapport entre ces deux principaux caroténoïdes de l'huile d'olive est étroitement dépendant de la variété (Nieves-Criado *et al*, 2004).

Morello *et al* (2004) ont indiqué que les caroténoïdes exercent une activité antioxydante en désactivant l'oxygène singulet généré par les pigments chlorophylliens. Leur importance en tant que composants nutritionnels est également reconnue ; certains caroténoïdes sont des précurseurs de la vitamine A (Psomiadou et Tsimidou, 2002).

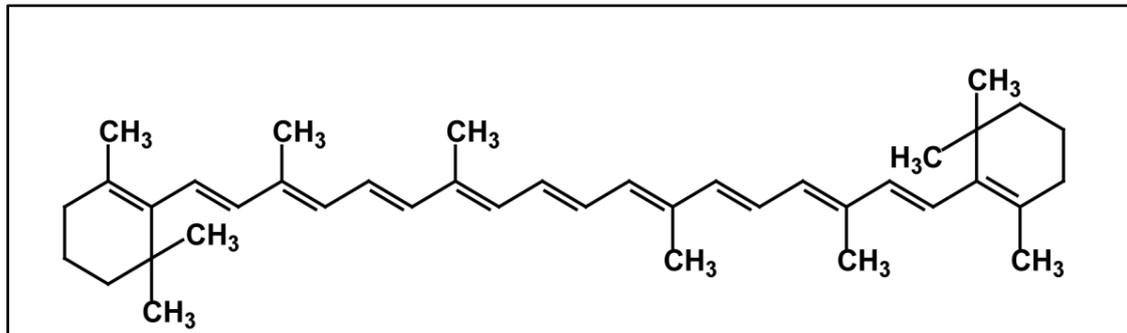


Figure7: Structure chimique de β -carotène (Perrin, 1992).

3. Stress oxydant et antioxydants de l'huile d'olive

3.1. Oxydation de l'huile d'olive

L'oxydation est un mécanisme qui se produit par plusieurs réactions, ce qui provoque la formation des radicaux libres, ces derniers sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron non apparié sur la couche électronique externe.

L'oxydation constitue un facteur majeur pour la détérioration de la qualité de l'huile d'olive. Plusieurs facteurs influencent l'oxydation des huiles tels que; la température, la lumière, etc (C.O.I., 2011; Pristouri *et al*, 2010).

Ces facteurs affectent la qualité d'huile d'olive par la perte de la valeur nutritionnelle, développement de l'odeur désagréable et le goût de rance (Hrncirik *et al*, 2005).

Selon Ben Tekaya *et al*, (2005); Pristouri *et al*, (2010) l'huile d'olive vierge subit une oxydation pendant son stockage, cette oxydation est le résultat de la photo-oxydation et de l'auto-oxydation. Cette dernière dépend du degré d'instauration de l'huile et la photo-oxydation qui est influencée par la quantité totale des antioxydants naturels (tocophérols, phénols bêta- carotène) et pigments chlorophylliens contenus dans l'huile d'olive vierge La stabilité de l'huile est influencée par les antioxydants, qui sont définis par toute substance qui retarde considérablement ou empêche l'oxydation de ce substrat , lorsqu'elle est présente à des faibles concentrations par rapport à ceux d'un substrat oxydable (Benlemlih *et al*, 2016).

3.2. Stress oxydant

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes. Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs et sous même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Kohen et Nyska, 2002; Haleng *et al*, 2007).

Les radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité, cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans ces conditions normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre.

Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant ».

Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des espèces réactives d'oxygène (ERO). Ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et

les altérations de l'ADN, provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neurodégénératives et des maladies cardiovasculaires.

L'organisme humain a développé des systèmes de défense pour traiter le phénomène du stress oxydant et lutter contre les espèces réactives qui sont préjudiciables à la vie humaine (Beaudeau *et al*, 2006).

Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. Elle peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs antioxydants apportés par la nutrition (Favier, 2003).

3.3. Les sources des radicaux libres :

3.3.1 Synthèse physiologique des radicaux libres (source endogène)

Les ERO et ERN, pourtant réactifs et toxiques, sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire les bactéries et réguler des fonctions cellulaires létales (Favier, 2003).

- **Mitochondrie**

La principale source des ERO est la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire, s'accompagne d'une production non réductible des radicaux libres. en effet elle produirait 90% des radicaux libres cellulaires (Hosset, 1990). Les électrons dérivés du NADH et du FADH de la chaîne respiratoire mitochondriale peuvent directement réagir avec l'oxygène ou d'autres accepteurs d'électrons pour générer les radicaux libres, donc la respiration cellulaire sera l'origine de lésions mitochondriales due aux radicaux qui limiteraient dans le temps la survie de la cellule (Cadenas et Davies, 2000).

- **Peroxisomes**

Les peroxisomes sont une importante source de production d'H₂O₂ cellulaire. Ce dernier apparaît suite à la présence de nombreuses enzymes qui génèrent le peroxyde pour être utilisé comme substrat par la catalase peroxysomiale afin de réaliser des réactions de peroxydation avec d'autres substrats (Schisler et Singh, 1989).

- **Réticulum cytoplasmique**

Le réticulum cytoplasmique renferme des enzymes qui catalysent des réactions pour détoxifier les drogues liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (Schisler et Singh, 1989). La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des radicaux libres (Morel *et al*, 1999). De manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir de l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production d'ERO.

3.3.2. Source exogène

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (Priyadarsini, 2005). Les nombreuses sources potentielles de ROS exogènes comprennent les radiations, les infections pathogènes, les herbicides, insecticides, les toxines, les UV et la fumée de cigarette (Kregel et Zhang, 2007).

3.4. Les Antioxydants

3.4.1. Définition

Un antioxydant est une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : (1) prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou (2) désactiver directement les ROS. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres (Halliwell, 1990).

L'organisme possède des systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. De nombreux antioxydants exogènes sont également présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydante. Nous les trouvons dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales. Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à réagir directement avec les radicaux libres en les « neutralisant » par réaction de réduction (Halliwell 1990, Powers et Jackson 2008).

3.4.2. Classification des antioxydants

3.4.2.1. Antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) sont utilisés largement parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (Lisu *et al*, 2003).

3.4.2.2. Antioxydants d'origine végétale

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. 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... (Bouhadjra, 2011).

3.5. Principaux antioxydants de l'huile d'olive

3.5.1. Composés phénoliques

L'huile d'olive est riche en composés phénoliques qui ont des propriétés antioxydantes qui réduisent les risques des maladies cardiovasculaires. Ceci est surtout vrai pour les *ortho*-diphénols (Ollivier *et al*, 2004; Essiari, 2014). Leurs propriétés antioxydantes sont dues à leur capacité à former une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'hydrogène libre du groupement hydroxy et l'hydroxyle du radical phénoxy pour conduire à la formation d'une quinone (Ollivier *et al*, 2004). Ils ont aussi la capacité de donner un atome d'hydrogène aux radicaux libres formés pendant la propagation (Cinquanta *et al*, 2001).

3.5.2. Tocophérols

Les tocophérols contribuent à la stabilité oxydative et aux qualités nutritionnelles de l'huile d'olive (Ryan *et al*, 1998; Gimeno *et al*, 2002).

L'alpha tocophérol montre un effet inhibiteur de l'auto- et la photo-oxydation. À l'obscurité, l'alpha tocophérol interrompt la réaction en chaîne du processus radicalaire en agissant avec les radicaux hydroperoxydes par transfert d'hydrogène avec la formation d'hydroperoxydes et d'autres radicaux, qui se couplent avec les autres radicaux hydroperoxydes dans une réaction de terminaison, pour former des produits non radicalaires.

À la lumière, l'alpha tocophérol agit par une désactivation de l'oxygène singulet à l'oxygène atmosphérique mais aussi par une réaction chimique avec lui pour former des produits de dégradation tels que; les quinones tocophéroliques et les époxydes de quinones. L' α -tocophérol montre un effet synergiste avec le bêta carotène en présence de la lumière (Ben Tekaya *et al*, 2007).

3.5.3. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des substances antioxydantes naturelles liposolubles, le plus important c'est le β -carotène (Benaziza *et al*, 2016) qui présente une capacité à agir comme un protecteur, tout en désactivant l'oxygène singulet produit par les chlorophylles, en outre, le bêta carotène filtre les longueurs d'onde actives des radiations lumineuses en protégeant ainsi l'huile contre l'activation de l'oxygène par la lumière. Son effet diminue progressivement au cours de l'exposition de l'huile à la lumière (Ben Tekaya *et al*, 2007).

3.5.4. Squalène

C'est un triterpène impliqué dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive; il protège les acides gras non saturés de l'oxydation. De plus, il est considéré comme protecteur contre le cancer et les maladies cardio-vasculaires (Sagratini *et al*, 2012).

Le squalène joue un rôle important dans l'inhibition de l'oxygène singulet, qui lui confère une activité antioxydante durant la photo-oxydation de l'huile d'olive exposée à la lumière (Psomiadou et Tsimidou, 2002).

Matériels et méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel

Le matériel végétal

Notre étude porte sur trois huiles d'olive extra vierge commerciales dénommées :

1-Huile BIBAN

Produite dans la commune Belimour situé à la daïra de bordj laghdir wilaya de bordj bouariridj (A).

-La variété d'olivier: Chemlal.

-La période de récolte: le mois d'octobre et novembre.

2-Huile RAJAA

Les olives sont cultivées dans la région de N'GAOUS, wilaya de Batna et l'huile d'olive est produite dans la région de Rabta wilaya de Bordj Bouariridj (B).

-La variété d'olivier : Manzanilla.

-La période de récolte : le mois d'octobre et novembre.

3- Huile ORO VERDE

Produite dans la ville Firenze (Florence) en Italie (C).

-La variété d'olivier : Picual, Arbequina et Koroneiki.

- La période de récolte : Octobre.



Figure 08 : les bouteilles commercialisées des huiles d'olive.
(A): huile BIBAN, (B): huile RAJAA, (C): huile ORO VERDE.

Les solvants et les réactifs**Tableau V** : réactifs utilisés et leurs formules.

2.2-diphényl-1-picryle-hydrazyle (DPPH)	$C_{18}H_{12}N_5O_6$
Le folin-Ciocalteu(FCR)	
Ferricyanure de potassium	$K_3Fe(CN)_6$
Potassium Phosphate dibasique	K_2HPO_4
Phosphate de potassium monobasique	KH_2PO_4
(TCA) ou Acide trichloracétique	CCl_3COOH
Chlorure ferrique	$FeCl_3$
Carbonate de sodium	Na_2CO_3
Trichlorure d'aluminium	$AlCl_3$

Tableau VI : solvants utilisé et leur formule.

Méthanol	CH ₃ OH
Hexane	C ₆ H ₁₄

1.3. Appareillage

La balance (Kern KB)	Le rotavapor(BUCHI)	Agitateur magnétique (Agimatic-N)
Le vortex (Fisher Scientific)	Le spectrophotomètre(JENWAY)	Le pH mètre(WTW)
La centrifugeuse (Sigma)	Le bain mari (memmert)	La balance de précision (Kern KB)

Figure 09: Les appareils utilisés dans les expériences.

2. Méthodes

2.1. Extraction des composés phénoliques totaux

L'extraction des polyphénols totaux est réalisée selon le protocole proposé par Tsimidou et *al.* (1992), il s'agit d'une extraction liquide-liquide.

50g d'huile d'olive sont introduits dans un bécher auxquels sont ajoutés 50 ml d'hexane, puis 30 ml d'un mélange méthanol/eau distillée (60% méthanol et 40% d'eau distillée) sont ajoutés, le mélange est agité pendant 5 à 10 min pour la séparation de deux phases l'une est huileuse et l'autre est aqueuse, cette dernière représente l'extrait méthanolique riche en polyphénols.

La phase huileuse reste dans l'ampoule à décanter subit 2^{ème} et 3^{ème} extraction par 30 ml de mélange (méthanol/eau distillé).

Chaque fraction polaire de la 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} extraction subit un lavage avec 50ml d'hexane (figure 10).

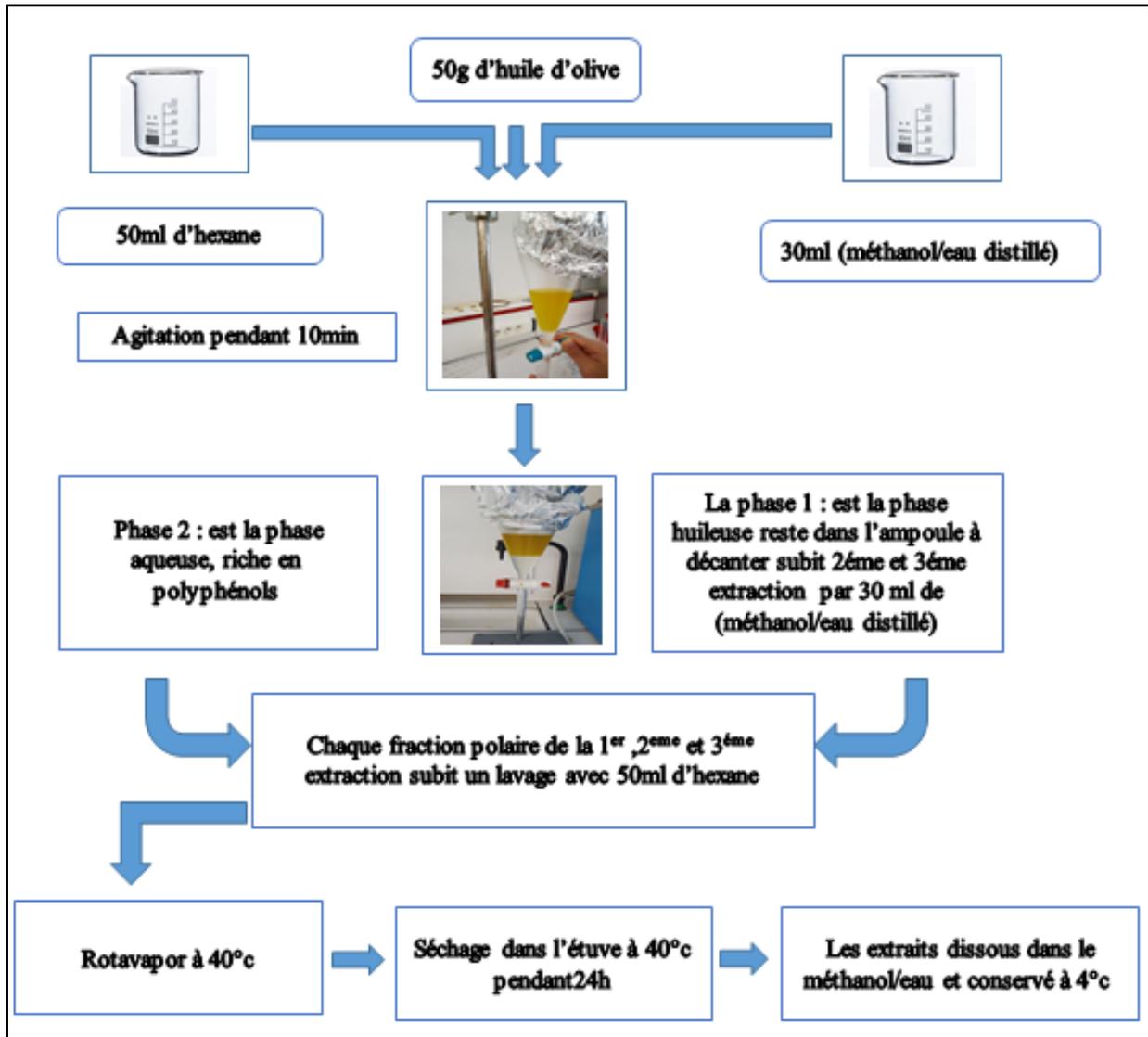


Figure 10 : Etapes de préparation d'extrait brut de l'huile d'olive.

2.2. 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).

➤ **Mode opératoire**

Le dosage des composés phénoliques totaux est effectué en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et est réalisé selon la méthode de (Chan *et al*, 2008) avec quelques modifications.

On réalise une gamme étalon en milieu avec un standard, l'acide gallique .pour réaliser le dosage, 200 ul d'extrait sont ajoutés à 500ul du Folin-Ciocalteu (10%). Après 5 minutes, on ajoute 1500 ul de Na₂CO₃ (7.5%). Les mélanges réactionnels, correspondant à chaque point de gamme et échantillons, sont agités puis incubés pendant 30min à l'ombre ; la lecture de l'absorbance à 675 nm se fait grâce à un spectrophotomètre UV-visible (figure 11). 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 ($y=9.04x+0.029$) provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour la solution standard.

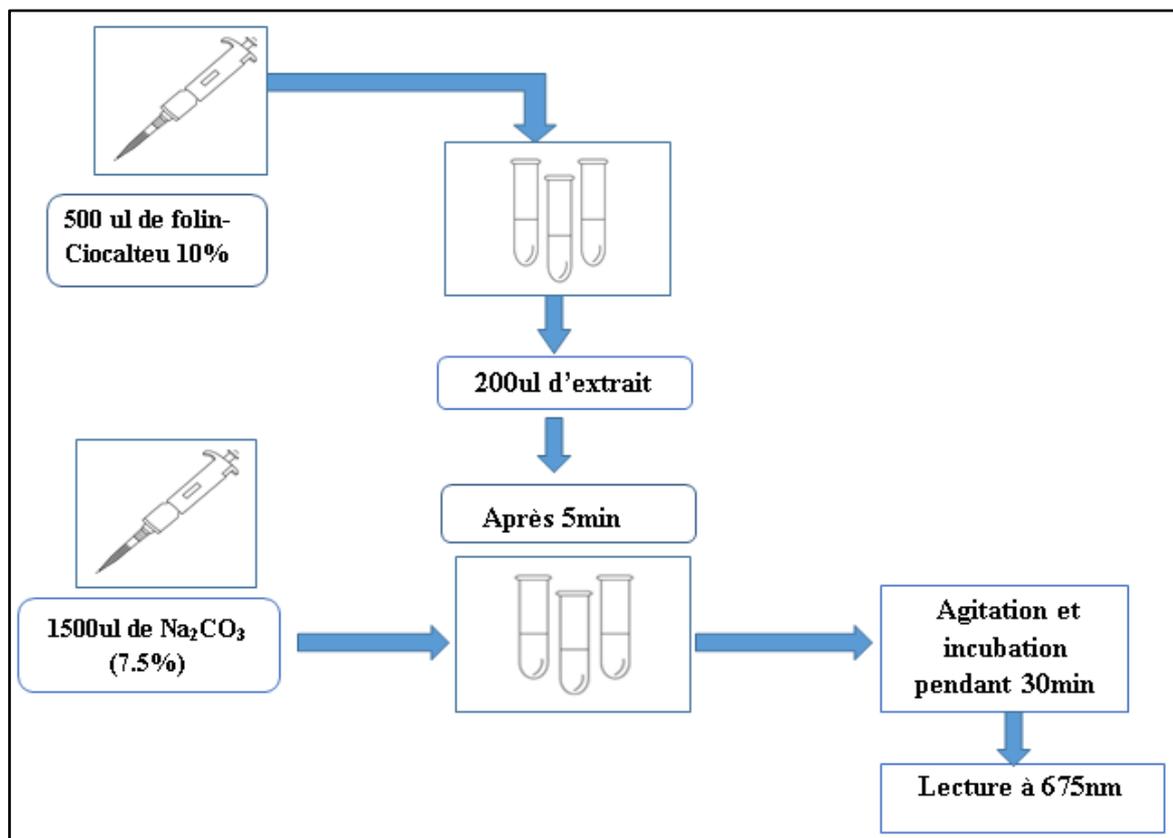


Figure 11 : Etapes de dosage des polyphénols totaux.

2.3. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Le chlorure d'aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Ribereau-Gayon, 1968).

➤ Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes des différentes huiles d'olives a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (djeridane *et al*, 2006).

Un volume de 1ml de chaque extrait dilué ou de la molécule standard (quercétine) a été mélangé avec 1ml d'une solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex puis incubé pendant 15min à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 430nm (figure 12). Les résultats obtenus sont exprimée en mg d'équivalent de quercétine (EQ)/kg d'huile d'olive ; elle a été déduite de la courbe d'étalonnage ($y = 6.406x+0.012$) provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour la solution standard.

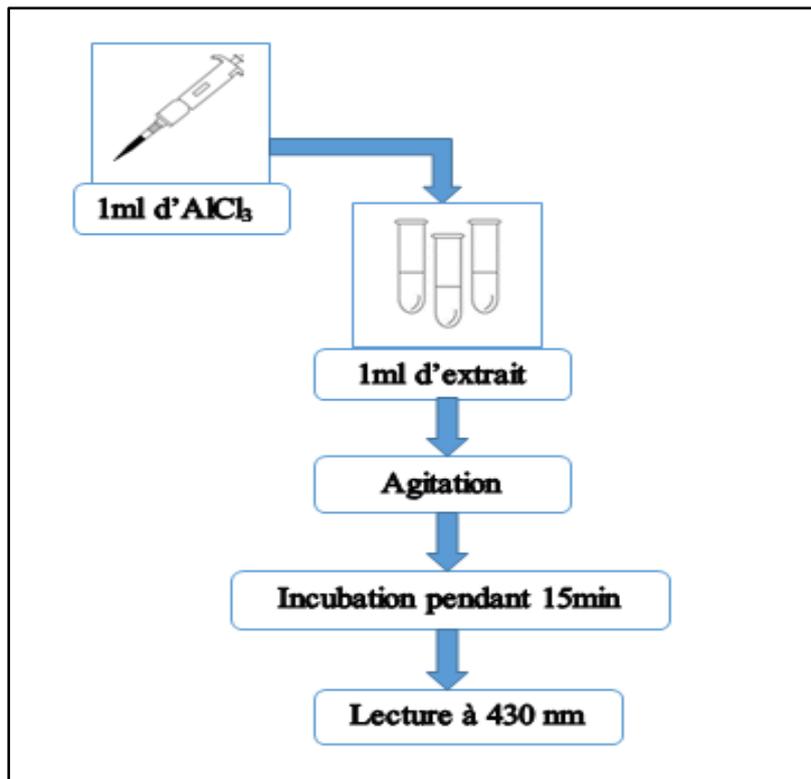


Figure 12 : Etapes de dosage des flavonoïdes.

2.4. Le pouvoir réducteur

➤ Principe

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants à réduire le fer ferrique (FeCl_3) en fer ferreux (FeCl_2) en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN}_6)$] et en milieu acidifié par l'acide trichloracétique. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Odabadoğlu et al, 2004 ; Gülçin et al, 2005).

➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur de l'extrait dilué d'huile d'olive des différents échantillons a été déterminé par la méthode d'OYAZIU(1986) avec quelques modifications. Un volume de 1ml de ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN}_6)$] à 1% est ajouté à 1ml de chaque extrait. Le mélange est incubé pendant 20min à 50°C.

Après refroidissement, 1ml d'une solution d'acide trichloracétique 10% est ajouté, suivit d'une centrifugation à 3000rpm pendant 10min. 1ml de surnagent est prélevé puis mélangé avec 1ml d'eau distillé et 0.5 ml de chlorure ferrique (FeCl_3) à 0.1 %. Après 10min, l'absorbance de la solution est mesurée à 700nm (figure 13).

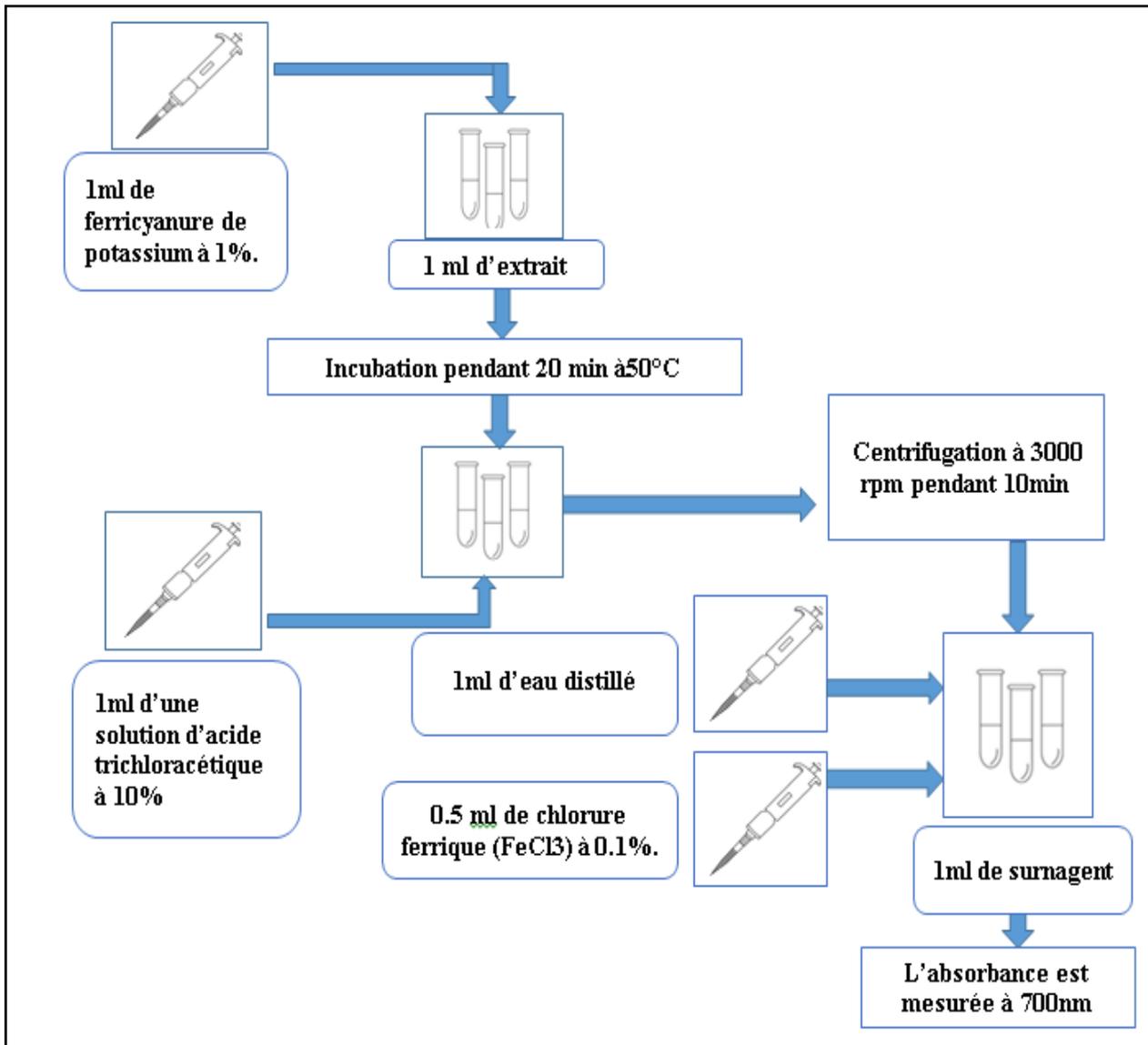


Figure 13 : Etapes de réalisation de pouvoir réducteur.

Résultats et Discussion

1. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats du dosage des polyphénols totaux sont représentés dans la figure 14, ils montrent que:

Les teneurs en polyphénols sont: 220 mg/Kg pour l'huile RAJAA et 222mg/Kg pour l'huile BIBAN et 243mg/Kg pour l'huile Italienne (ORO VERDE).

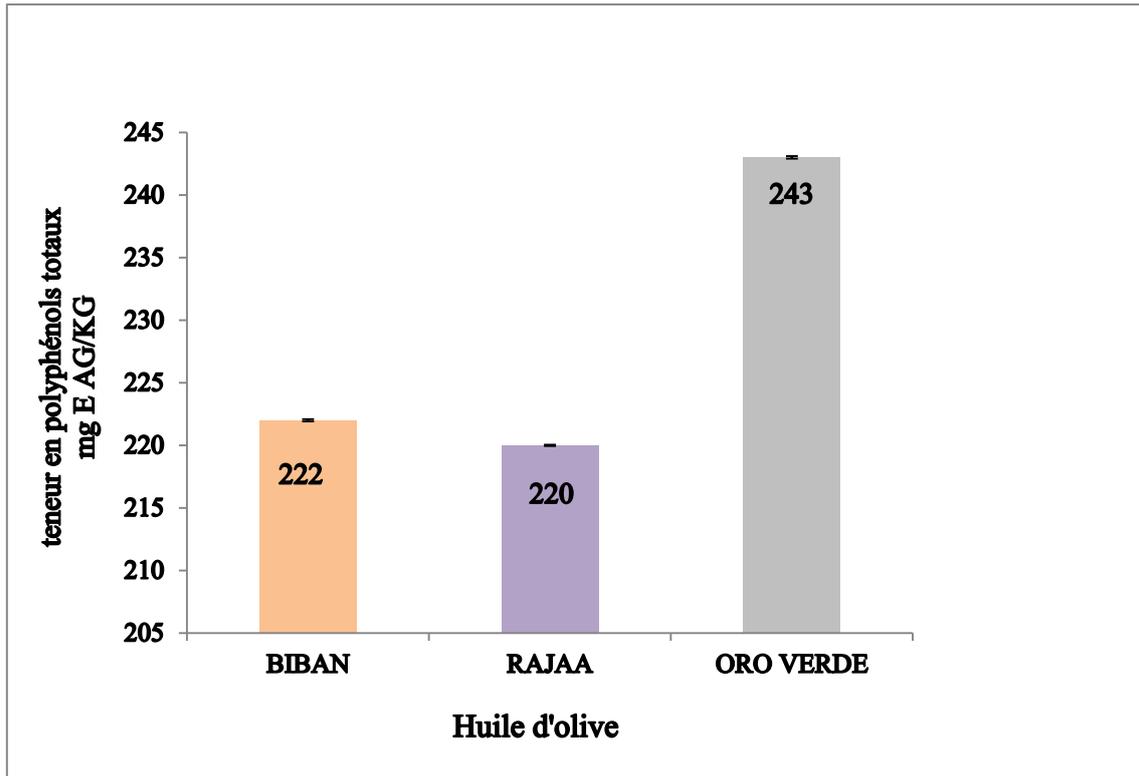


Figure 14: Teneurs en polyphénols des échantillons d'huile d'olive.

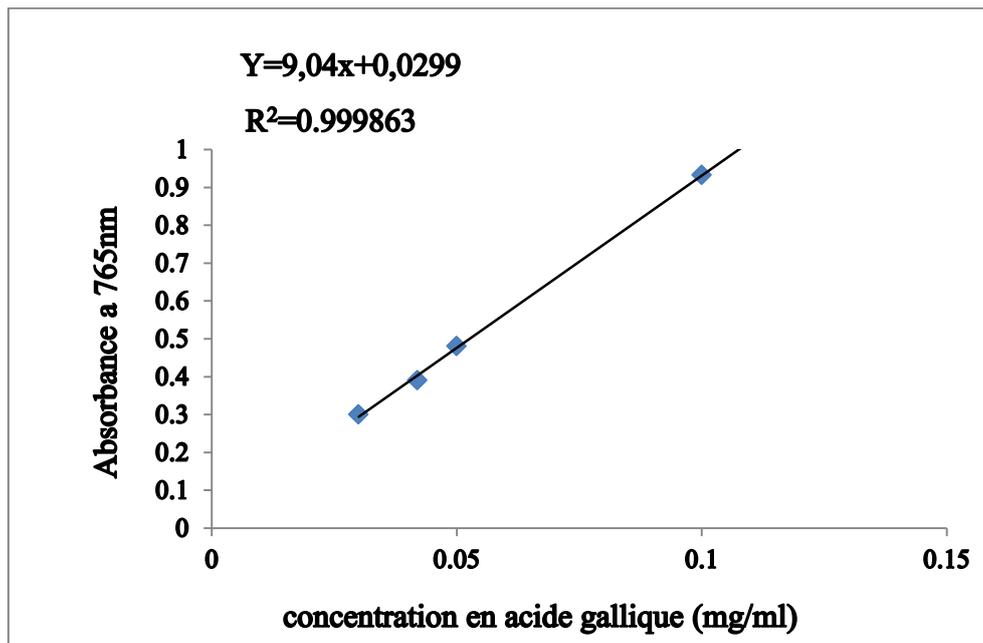


Figure 15 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux.

A partir des résultats obtenus on observe une différence significative entre l'huile RAJAA et ORO VERDE à $p < 0.05$.

D'un autre côté, on a remarqué l'absence de différences significatives entre BIBAN et RAJAA et entre BIBAN et ORO VERDE.

Selon Montedoro et al. (1992); Tsimidou (1998) et Paz Romero et al, (2003), les variétés d'olives sont classé selon leur teneur en polyphénols totaux comme suit:

- Variétés présentant une teneur faible (50-200mg/Kg).
- Variétés présentant une teneur moyenne (200-500mg/Kg).
- Variétés présentant une teneur élevée (500-1000mg/Kg).

D'après nos résultats, il ressort que les trois échantillons d'huile sont classés comme des huiles à teneur moyenne.

Les différences notées peuvent être liées au facteur variétal (Ryan et Robards, 1998).

Les teneurs en polyphénols totaux enregistrées pour nos échantillons d'huiles sont relativement proches de celles des variétés Italiennes étudiées par Carmine et al. (2019), pour lesquelles les teneurs oscillent entre 138 à 278 mg/Kg.

2.2. Dosage des flavonoïdes

Plusieurs auteurs ont rapporté que les flavonoïdes sont présents en petites quantités dans l'huile d'olive vierge (Servili *et al*, 2009 ; Oliveras-Lopez *et al*, 2007).

Les teneurs en flavonoïdes des différents échantillons d'huile analysés sont indiquées dans la figure ci-dessous.

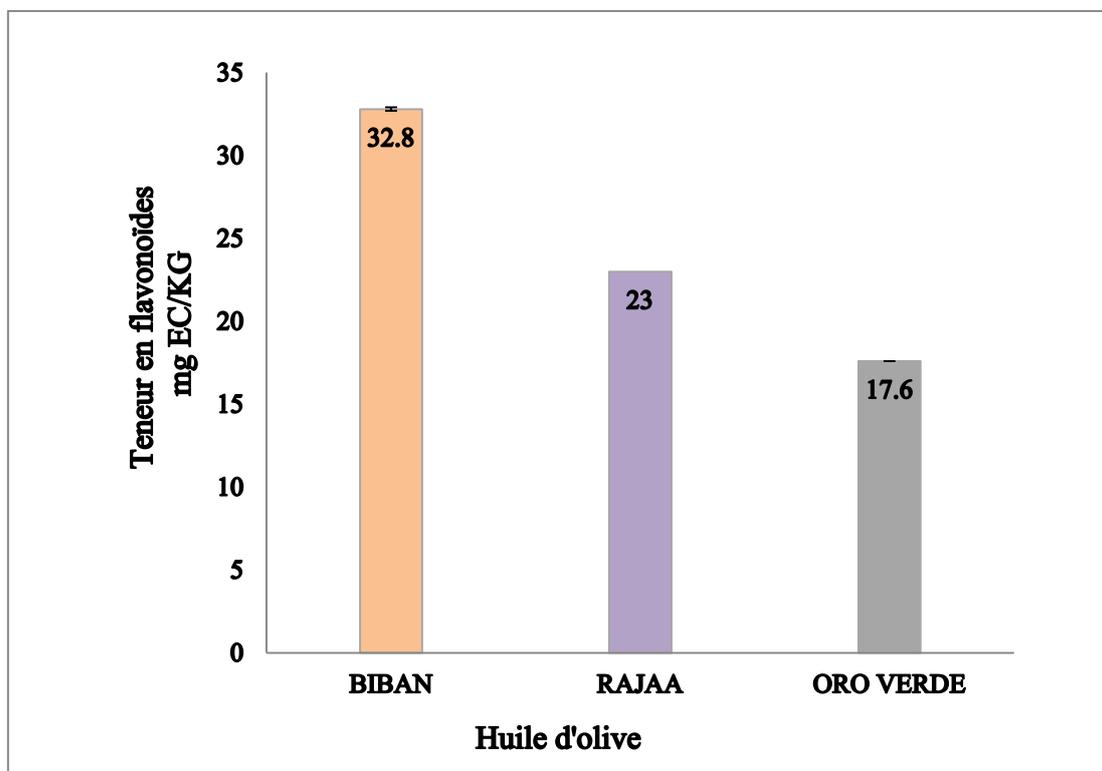


Figure 16 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons d'huile d'olive.

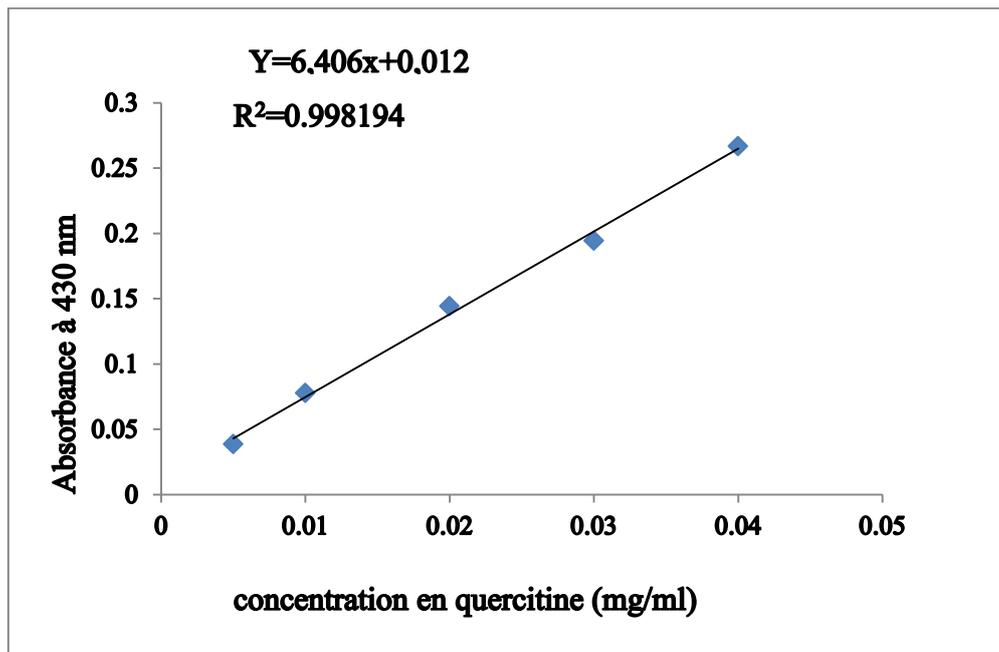


Figure 17 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

La plus grande valeur revient à l'huile BIBAN (32.8mg/kg), puis l'huile RAJAA (23mg/ kg) et finalement l'huile ORO VERDE contient les teneurs les plus faibles (17.6 mg/Kg) qui représente à peu près la moitié de la teneur de l'huile BIBAN.

Aucune différence significative n'est relevée entre les trois huiles étudiées.

Ces résultats sont proches à ceux obtenus pour quelques variétés d'huiles algériennes par Laribi en 2015 qui sont oscillent entre 10.13 et 49 mg/kg, et ceux obtenus par Hammad et Hammoudi en 2017 pour trois huiles d'olives qui sont oscillent de 13.33 à 66.6 mg/kg.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en flavonoïdes tels que les facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, le degré de maturation du fruit et la durée de stockage (Aganga et Mosase, 2001; Pedneault et al. 2001).

2.3 Le pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur mesure la capacité d'un antioxydant à donner un électron (Lim et Tee, 2007). Ces antioxydants sont des piègeurs de radicaux libres et agissent sur certains précurseurs peroxydes et empêchent ainsi la réaction en chaîne de la peroxydation (Chang et al, 2007; Harliansyah et al, 2007).

Selon Paixão et al, 2007, les propriétés antioxydantes de plusieurs composés phénoliques sont relativement liées à leur pouvoir réducteur.

Les résultats du pouvoir réducteur des extraits sont représentés dans la figure 16, ils montrent que :

L'absorbance d'huile BIBAN est 0.535 et 0.262 pour d'huile RAJAA et 0.133 pour l'huile Italienne (ORO VERDE).

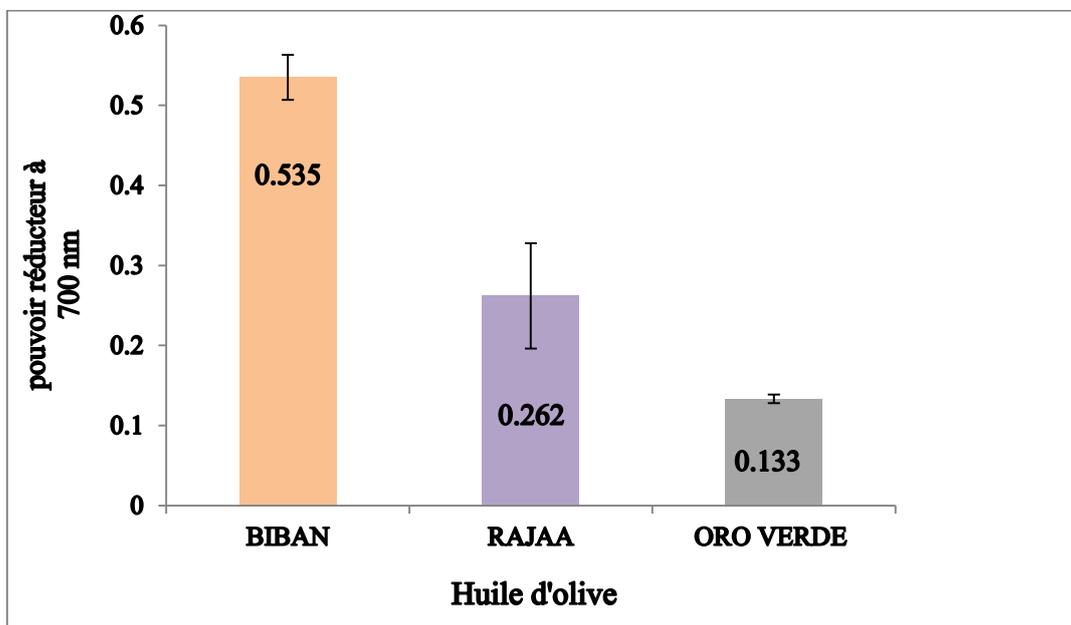


Figure 16 : Pouvoir réducteur des différents échantillons d'huile d'olive.

L'analyse statistique a montré des différences significatives ($p < 0,05$) existent entre les extraits d'huiles BIBAN et ORO VERDE. Néanmoins aucune différence significative n'est enregistrée entre BIBAN et RAJAA, ni entre RAJAA et ORO VERDE à ($p < 0,05$).

Malgré que l'huile ORO VERDE soit plus riche en polyphénols totaux elle présente un pouvoir réducteur faible que celle BIBAN et RAJAA ceci pourrait être en relation avec les teneurs en flavonoïdes car les huiles BIBAN et RAJAA sont plus riches en flavonoïdes.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Dans le cadre de l'étude biologique de l'huile d'olive extra vierge, nous avons réalisé une identification de composés phénoliques (Polyphénols totaux et flavonoïdes) de trois échantillons d'huiles d'olive vierge extra commerciale (BIBAN, RAJAA, ORO VERDE).

Nous avons aussi évalué l'activité antioxydante de ces extraits méthanoliques par le test du pouvoir réducteur.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait méthanolique de l'huile italien ORO VERDE a une teneur élevée en polyphénols totaux par rapport aux autres huiles BIBAN et RAJAA. En ce qui concerne les teneurs en flavonoïdes, l'étude montrée que l'huile BIBAN a des teneurs plus élevée que celles des autres échantillons étudiées.

Quant à l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques, la capacité réductrice la plus élevée est trouvée dans l'huile algérienne BiBAN même si la teneur était plus faible que l'huile italienne en termes de polyphénols, cependant, son pouvoir antioxydant reste le plus important.

Au terme de cette étude, il apparait que l'étude de la fraction phénolique peut fournir un paramètre précieux dans la caractérisation des huiles d'olive. Nous avons constaté que les huiles d'olive extra vierges peuvent constituer une source importante en divers composés phénoliques doués d'une activité biologique et surtout antioxydante, ce qui confirme l'intérêt de la consommation des huiles d'olive, Cependant, et malgré leur importance, ces résultats restent partiels et d'autres travaux s'imposent. Donc, il serait intéressant de :

- Déterminer le profil en composés phénoliques.
- Etablir l'influence de certains paramètres sur l'activité antioxydante des composés phénoliques de l'huile d'olive (le stockage des olives et de de l'huile, les paramètres d'extraction, les techniques d'extraction).
- Etudié les différentes variétés d'olive algériennes pour améliorer la qualité d'huile locale.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Aganga ,A.A .,Mosase,K.W (2001).**Tannin content,nutritive value and dry matter digestibility of Lonchocarpus capassa,Zizyphus mucranata ,Sclerocarya birrea,Kirkia acuminata and rhus lanceaseeds. *Anim.feed Sci.Technol.*,91(1/2):107-113.
- Ajana H., El Antari A. and Hafidi A. (1998).** Fatty acids and sterols evolution during the ripening of olives from the *Moroccan Picholine* cultivar. *Grasas y Aceites*, 49 (5-6): 405-410.
- Amouretti M-C.,Comet.G .(1985).** le livre de l'olivier, edition Edisud ,.173pages
- Angerosa F. (2002).** Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*; vol 104, p.639-660.
- Aparicio R. et Luna G. (2002).** Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipids Science and Technology*, 104:1-12.
- Azzi A. et Stocker A. (2000).** Vitamin E: non-antioxidant roles. *Progress in Lipid Researc*, 39(3), p. 231-255.

B

- Beaudeau J.L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. and Peynet J. (2006).** Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose Oxidative stress in the atherosclerotic process. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*; 21, p. 144–150.
- Benabid H. (2009).** Caracterisation de l'huile d'olive algerienne apports des méthodes chimiométriques. these de doctorat en sciences, universite mentouri de constantine, p.139.
- Benaziza A. and Semad D. (2016)** . Oleiculture: Caracterisation De Six Varietes D'olives Introduites Dans Le Sud – Est Algerien. *European Scientific Journal*, 12 (33), p.545-551.
- Benlemlih M., Ghanam J. and Henri J. (2016).** Polyphénols d'huile d'olive, tresors sante : Polyphénols aux actions antioxydantes, anti-inflammatoires,anticancéreuses,antivieillessement et protectrices cardio-vasculaires. Edition: *marco pietteur. Belgique*: 59-97p.
- Ben Tekaya I. and Hassouna M. (2005).** Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 12 (5-6) : 447-453.
- Ben Tekaya I. et Hassouna M.(2007).** Effet des chlorophylles de la beta carotène de L'alphatocophérol du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive Tunisienne.OCL, 14(1): 60-67.
- Ben Tekaya I. and Hassouna M. (2005).** Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 12 (5-6) : 447-453.
- Ben Temime S., Manai H., Methenni K., Baccouri B., Abaza L., Daoud D., Sanchez Casas J., Bueno E.O. and Zarrouk M. (2008).** Sterolic composition of *Chetoui* virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chemistry*, 110:368-374.
- Berra B. (1998).** Les composants mineurs del'huile d'olive : aspects biochimiques et nutritionnels. *Olivae*, 73: 29-30.
- Bianchi, G. (2003).** Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipids and,Science Technology*, 105: 229- 242.
- Blekas G., Tsimidou M. et Boskou D. (1994).** Contribution of α - tocopherol to olive oil stability. *Food Chem.*, 52, PP: 289-294.
- Bouhadjra K. (2011).** Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- Boskou D., Blekas G. and Tsimidou M. (2006).** Olive oil composition In olive oil: Chemistry and Technology, Boskou, D., Ed. *The American Oil Chemists' Society Press*, p. 41-72.
- Boskou D. (2009).** Phenolic compounds in olives and olive oil In Olive oil: minor constituents and health. Ed. CRC press. pp 11-44
- Bianchi, G. (2003).** **Lipids and phenols in table olives.** *European Journal of Lipids and,Science Technology*, 105: 229- 242.
- Boskou D. (1996).** Olive oil: chemistry and technology. Champaign Illinois. *Americain oil chemists' Society*, 69:552-555.

C

- Cadenas, E. et Davies, K.J.A. (2000).** Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 29: 222-230.
- Chan E.W.C.,Lim Y.Y.,Wong L.F.,Lianto F.S.,Lim K.K.,Joe C.E & Lim T.Y.(2008).**Antioxidant and tyrosinase inhibition propr ties of leaves and rhizomes of ginger species . *Food Chemistry* 109,477-483.

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.

E

Essiari M., Bachir S., Zouhair R., Chimi H., Misbahi H and Boudkhal M. (2014). Influence de la Variété et du Milieu de Culture Sur la Composition en Acide Gras, en Stérols et en Polyphénols Totaux Pour les Huiles Vierges de Quatre Variétés D'olives de la Région de Saïs (Maroc). *European Journal of Scientific Research*, vol 125, p. 95-114.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

Fedeli E. (1997). Technologie de production et de conservation de l'huile. In : Encyclopédie mondiale de l'olivier. Ed. Plaza et Janes, pp.253-273.

Fedeli E. (1999). Qualité (stockage, conservation et conditionnement de l'huile), réglementation et contrôle. Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oléotechnique. Florence, 10, 11 et 12 mars 1999. *Conseil Oleicole International*, 1-20.

Folly P. (2000). Catabolisme de la chlorophylle b structures, mécanismes et synthèse, 200p. Doctorat en sciences naturelles : Fribourg (Suisse) : Faculté des sciences de l'université de Fribourg

G

Gharbi I., Issaoui M., et Hammami M. (2014). oil crops and supply chain in africa *OCL*, 21(2):1-3

Ghezlaoui M., (2011). Influence de la variété Nature du sol et les conditions climatiques sur la qualité des huiles d'olives des variétés chemlal, Sigoise et d'Oléastre dans la Wilaya de Telemcen. Mmoire de Magister. université Telemcen, p 23.

Gomes S ; Martins-Lopes P et Guedes-Pinto H., 2012. Olive Tree Genetic Resources Characterization through Molecular Markers, Genetic Diversity in Plants, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0185-7, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/genetic-diversity-in-plants/olivetree-genetic-resources-characterization-through-molecular-markers>

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 Research International*, 41: 433-440.

Gulcin., Alici M.A. Cesur M., (2005). Determination in vitro of antioxidant and radical scavenging activities of propofol *CP B* 53,281-285

H

Haddam M., Hammadi chimi H. et Amine A. (2014). Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. *OCL*, 21(5), p.507.

Haleng J., Pincemai J., Defraigne J.O., Charlier. C., CaPelle J.P. (2007). Le stress oxydant, *Rev Med Liege*, vol 62 (10), p. 628-638.

Halliwell .B, « How to characterize a biological antioxidant », *Free Radic. Res. Commun.*, vol. 9, no 1, p. 1-32, 1990.

Henry, S. (2003). L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Thèse : université Henri-Poincaré - Nancy. P. 9-29.

Harliansyah, Noor Azian Murad, Wan Zurinah Wan Nagh Yassmin Anum Mohd Yusof (2007). ANTIPROLIFERATIVE, antioxidant and apoptosis effects of zingiber officinale and 6gingerol on Hep G2 cells *Asian journal of biochemistry* 421-426.

Hrcirik K, Fritsche S. (2005). Relation between the Endogenous Antioxidant System and the Quality of Extra Virgin Olive Oil under Accelerated Storage Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(6):2103-10.

I

Issaoui M., Dabbou S., Echbili A., Rjiba I., Gazzah N., Trigui A. et Hammami M. (2007). Biochemical characterisation of some Tunisian virgin olive oils obtained from different cultivars growing in Sfax National Collection. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5 (1): 17-21.

J

Jose R.M., Xicota L., Fitó M., Farré M., Dierssen M. and Rafael de la Torre. (2015). Potential Role of Olive Oil Phenolic Compounds in the Prevention of Neurodegenerative Diseases. *Molecules*, 20, p. 4655-4680.

K

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

Krichen D., Allalout A., Campos V., Salvador M., 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.

Kohen, Ron and Nyska Abraham. (2002). Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification, Toxicologie pathology, vol 30, no 6, pp 620-650.

Kiritsakis A. (1998). Flavor Components of Olive Oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 75(6): 673-681

Kristakis A. et Markakis P. (1987). Olive oil. *Food Research*, 31: 7-18.

L

Lazzez A., Perri E., Caravita M.A., Khlif M. et Cossentini M. (2008). Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the Chemlal variety. *J. Agric. Food Chem.*, 56(3):982-988

Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L. et Wul M.J. (2003). Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of food and Drug Analysis*. 11(1): 60-66.

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

M

Medjkouh L., Tamendjari A., Keciri S., Santos J., Nunes M.A., Oliveira M.B.P.P. (2016). The effect of the olive fruit fly (*Bactrocera oleae*) on quality parameters, and antioxidant and antibacterial activities of olive oil. *Food Function* 7: 2780-2788.

Michelakis N. (1992). L'amélioration de la qualité de l'huile d'olive en grec. Passé, présent et avenir. *Olivae*, 42: 22-28

Minguez-Mosquera M.I., Gandul-Rojas B., Garrido-Fernandez J., and Gallardo-Guerrero L. (1990). Pigments present in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 67 (3): 192-196.

Morales M.T., Luna G. et Aparicio R. (2005). Comparative defects. *Food Chemistry*, 91 (2): 293-301.

Morel, L., Tian, X.H., Croker, B.P. et Wakeland, E.K. (1999). Epistatic modifiers of autoimmunity in a murine model of lupus nephritis. *Immunity*, 11: 131-139.

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

Morello J.R., Romero M.P. and Motilva M.J. (2006). Influence of seasonal conditions on the composition and quality parameters of monovarietal virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 83 (8): 683-690.

Moussaoui, R., Labbaci, W., Hemar, N., Youyou, A. et Amir, Y. (2008). Physicochemical characteristics of oils extracted from three compartments of the olive fruit (pulp, endocarp and seed) of variety Chemlal cultivated in Kabylia (Algeria). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6 (2): 52-55.

N

Nieves-Criado M., Ramón Morelló J., José Motilva M. et Paz Romero M. (2004). Effect of Growing Area on Pigment and Phenolic Fractions of Virgin Olive Oils of the Arbequina Variety in Spain. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 81:633–640 .

O

Odabasoglu F., Aslan A., Cakir A., Suleyman M., Karagos Y., Malici M. & Bayir Y., (2004). Comparaison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species. *phytotherapy Res* 18, 938-941.

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

Ouaich A., Chimi H. (2007). Guide du producteur de l'huile d'olive. 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. Ed<Onud>Vienne : 22-34.

Oueslati I., Anniva C., Daoud D., Tsimidou M.Z. et Zarrouk M. (2009). Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. *Food Chemistry*, 112: 733–741.

Oyaizu M., (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxydative activities of products of browning reaction prepared from glucodamine *Jpn J Nutr* 44, 307-315

P

Pedneault K., Leonhart S., Angenol L., Gosselin A., Ramputh A. et Arnason J.T. (2001). Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Texte de conférence, 5ème colloque sur les produits naturels d'origine végétale, Université Laval, Qc, Canada : 1-5.

Penzig O. (1902). Flore coloriée de poche du littoral méditerranéen p.72-73

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

Phillips K.M., Ruggio D. M., Toivo J. I., Swank M. A. and Simpkins A.H. (2002). Free and Esterified Sterol Composition of Edible Oils and Fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15:123-142.

Powers S. K. et Jackson M. J. (2008). « Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production », *Physiol. Rev.*, vol. 88, no 4, p. 1243-1276.

Pristouri G., Badeka A. and Kontominas M.G. (2010). Effect of packaging material headspace, oxygen and light transmission, temperature and storage time on quality characteristics of extra virgin olive oil. *G.Pristouri et al. / Food Control*, 21, p. 412–418.

Priyadarsini K. I. (2005). Molecular Mechanisms Involving Free Radical Reactions of Antioxidants and Radioprotectors. *Founder's Day Special Issue*. 1-6.

Psomiadou E. and Tsimidou M. Stability of Virgin Olive Oil . (2002). 1. Autoxidation Studies. *Journal of Agriculture and food Chemistry*, 50 (4), p.716-720.

R

Rahmani M. et Saad. (1989). Photooxydation des huiles d'olive : influence de la composition chimique. *RFCG*, N°25 9/10, p.355 - 360

Ramírez-Tortosa M.C., Granados S. and Quiles J.L. (2006). Chemical composition, types and characteristics of olive oil. In *Olive oil and health*. CABI Publishing, pp 45-62.

Ranalli A., Pollastri L., Contento S., Iannucci E. et Lucera L. (2003). Effect of olive paste kneading process time on the overall quality of virgin olive oil. *European Journal of Lipids and Science Technology*, 105 : 57-67.

Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris: 173- 201.

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

Roehly Y. (2000). La fabrication de l'huile d'olive. Une étude bibliographique. Ed: *Ecole supérieure d'Agronomie Tropicale de Montpellier*. P.23.

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

Runcio A., Sorgona L., Mincione A., Santacotérina S. et Poiana M. (2008). Volatile compounds of virgin olive oil obtained from Italian cultivars grown in Calabria. Effect of processing methods, cultivar, stone removal, and anthracnose attack. *Food Chemistry*, 106 :735-740.

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

§

Sagrati G., Allergini M., Caprioli G., Cristalli G., Giardina D., Maggi F., Ricciutelli M., Sirocchi V., Vittori S. Simultaneous. (2012). determination of squalene, α -tocopherol and β -carotene.

Schisler, N.J. et Singh, S.M. (1989). Effect of ethanol in vivo on enzymes which detoxify oxygen free radicals. *Free Radical Biology and Medicine*, 7: 117-123

Sebai A ; Sebai Z ; Saïbi Z ; Boukari N ; Saidani F ; Belkacemi S ; Bekhouche N ; Akmouche H., (2012). La culture de l'olivier, Tessala El Merdja - Birtouta – Alger, P32.

Segura-Carretero A., Menéndez J. et Fernández-Gutiérrez A. (2010). Polyphenols in Olive Oil: The Importance of Phenolic Compounds in the Chemical Composition of Olive Oil In „Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. Editions Elsevier. Preedy V. R. and Ross Watson R. pp. 169-170.

Servili M., Espostol S., Fabiani R., Urbanil S., Taticchil A., Mariuccil F., Selvaggini R. et Montedoro G.F. (2009). Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, 17: 1-9.

Singleton V.L., Ortofer R. & Lamuela-Raventos R. M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent In : Packer L. (ED). *Methods in Enzymology*. Orlando. Academic Press 152-178.

Stiti N., Msallem M., Triki S. and Cherif A. (2002). Etude de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive de différentes variétés tunisienne, *La Rivista Italiana dell Sostanze Grasse* 79(10), p. 357-363.

†

Tamendjari A., Angerosa F. and Bellal M. M. (2004). Influence of *Bactrocera oleae* infestation on olive oil quality during ripening of Chemlal olives. *Italian Journal of Food Science*, 16 (3): 343-354.

Tamendjari A., Sahnoune M., Mettouchi S., Angerosa S. (2009). Effet de l'attaque de ravageur *Bactrocera oleae* sur la qualité de l'huile d'olive de trois variétés algériennes: Chemlal, Azzeradj et Bouchouk. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 86: 103-111.

Tanouti K., Eaid H., Benali E., Harkous M., Elamrani A. (2011). Amélioration qualitative d'huiles d'olives produites dans le Maroc. *Les technologies de laboratoire*, 6 (22) :1-12.

Tanouti K., Serghini Caid H., Abid M., Mihamou A., Khiar M., Hachem M. E., Bahetta Y. et Elamrani A. (2011b). Huile d'Olive Vierge Analyse des Triglycérides et Composition en Acides Gras, les technologies de laboratoire, vol, n° 23, p. 58-63.

Terral, J. F., Alonso, N., Capdevila, R. B., Chatti, N., Fabre, L., Fiorentino, G., Marival, P., Pérez Jorda, G., Pradat, B. et al. (2004). Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. *Journal of Biogeography*, 31:63-77.

Tsimidou M., Papadopoulos G. & Boskou D., (1992). Phenolic compounds and stability of virgin olive oil- Part I. *Food Chemistry* 45,141-144.

U

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

Uzzan A. (1994). Huile d'olive. In : Manuel des corps gras. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp.763-766.

Uzzan A. 1992. Olive et l'huile d'olive. In: Manuel des corps gras. Karliskind A. Ed. Tec et Doc. 1:8-229.

V

Veillet, S., Tomao, V., & Chemat, F. (2010). Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chem*, 123(3), 905-911.

Vichi S., Castellote A.I., Pizzale L., Conte L.S., Buxaderas S. and Lopez-Tamames E. (2003). Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 983: 19-33.

Viola. (1997). L'huile d'olive. In: L'huile et la santé. Espagne : Ed. Conseil Oléicole International 64p.

Visioli F. and Galli C. (1998). Olive oil phenols and their potential effects on human health. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 4292-4296.

Z

Zamora R., Alais M. et Hidalgo F.J. (2001). Influence of cultivar and fruit ripening on olive (*Olea europaea*) fruit protein content, composition, and antioxidant activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49: 4267-4270.

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

Annexes

- **Dosages des polyphénols totaux**

- Préparation de Folin–Ciocalteu 1/10**

- Mélanger 1ml de Folin-Ciocalteu avec 9ml d'eau distillée

- Préparation de carbonate de sodium 7.5%

- 7.5g \longrightarrow 100ml

- X g \longrightarrow 50ml donc X=3.75 g

- Dissoudre 3.75g de carbonate de sodium dans 50ml d'eau distillée

- **Dosage des flavonoïdes**

- Préparation de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2%**

- 2g \longrightarrow 100ml

- X g \longrightarrow 50ml donc X=1g

- Dissoudre 1g de trichlorure d'aluminium dans 50ml de méthanol.

- **Pouvoir réducteur**

- Préparation de ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) à 1%**

- Dissoudre 1g de ferricyanure de potassium dans 100ml d'eau distillée.

- Préparation d'acide trichloracétique (TCA) à 10%**

- Dissoudre 10 g de TCA dans 100ml d'eau distillée.

- Préparation de la solution de chlorure ferrique (FeCl₂) à 0.1%**

- Dissoudre 0.1g de chlorure ferrique (FeCl₂) dans 100 ml d'eau distillé.