

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

Université Mohammed Seddik Ben yahia – Jijel -

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département : de Microbiologie Appliquée
et Sciences alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية
و علوم التغذية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

Option : Contrôle de Qualité des produits Alimentaires

Thème

**Qualité de l'huile d'olive produite par l'huilerie
moderne Koutama**

Membres de jury :

Présidente : M^{me} DJABALI Saliha

Examineur : D^r DAIRI Sofiane

Encadrant : P^r IDOUI Tayeb

Présenté par :

M^{elle} : BOUCHIREB Narimene

M^{elle} : BOURAOUI Selma

Année Universitaire 2016-2017

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah pour tous les biens qu'il nous a procurés et parmi eux l'achèvement de ce travail.

*Nous remercierions vivement notre encadreur le **P^r. Idoui T** de nous avoir encadré et d'avoir guidé nos efforts, pour les orientations et les conseils qu'il n'a pas manqués de nous prodiguer durant la réalisation de ce travail, pour sa patience, sa compréhension et sa disponibilité exceptionnelle malgré son emploi du temps trop chargé. Merci de nous avoir accompagnées et assistées durant tous le travail de recherche.*

Nous remercions également Mme Djaballi enseignante à la faculté de science de la nature et de la vie à l'université de Jijel d'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions Mr Dairi enseignant à la faculté de science de la nature et de la vie à l'université de Jijel d'avoir accepté de juger ce modeste travail et participer au jury.

*Nous remercions **M^r Bensegheir** le gérant de l'huilerie « Koutama » pour son accueil et pour les échantillons d'huiles d'olives.*

*Nous remercions aussi le personnel du Laboratoire d'en particulier **Nassiha** et **Asma**, pour leurs encouragements et leurs hautes qualités humaines.*

Tous nos remerciements vont aussi à nos parents, nos frères et sœurs pour le soutien toute au long de nos études et durant ce mémoire. Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous.

Liste des figures et des photos

Figure 1 : Indice d'acide, acidité oléique et pH des 03 échantillons d'huile d'olive.....	47
Figure 2 : L'indice de peroxyde des 03 échantillons d'huile d'olive.....	49
Figure 3: Indice de saponification des 03 échantillons de l'huile d'olive.....	51
Figure 04 : Indice d'iode des 03 échantillonsde l'huile d'olive.....	53
Figure 05 : Comparaison entre l'indice d'iode et la composition en acide gras insaturés des 03 échantillons d'huile d'olive.....	53
Figure 06 : Indice d'ester des 03 échantillonsde l'huile d'olive.....	54
Figure 07 : Teneur en eau des 03 échantillons de l'huile d'olive.....	56
Figure 08 : Teneur en impuretés des 03 échantillons d'huile d'olive.....	57
Figure 09: Point de solidification et de fusion des 03 échantillons d'huile d'olive.....	58
Figure 10 : Point de fumée des 03 échantillons d'huile d'olive.....	59
Figure 11: Densité des 03 échantillons d'huile d'olive.....	61
Figure 12 : Absorbances en UV K232 et K270 des 03 échantillons d'huile d'olive.....	62
Figure 13 : Indice de réfraction des 03 échantillons d'huile d'olive.....	63
Figure 14 : Chromatogramme des acides gras de l'échantillon E1.....	64
Figure 15 : Chromatogramme des acides gras de l'échantillon E2.....	65
Figure 16 : Chromatogramme des acides gras de l'échantillon E3.....	65
Figure 17 : Teneur en pigments des 03 échantillons d'huile d'olive.....	67
Figure 18 : Teneur en polyphénols des 03 échantillons d'huile d'olive.....	68
Figure 19 : Teneur en orthodiphénols des 03 échantillons d'huile d'olive.....	70
Figure 20 : Analyse qualitative des polyphénols par HPLC d'huile d'olive E1.....	71
Figure 21 : Analyse qualitative des polyphénols par HPLC d'huile d'olive E2.....	72

Figure 22 : Analyse qualitative des polyphénols par HPLC d'huile d'olive E3.....	72
Figure 23 : Teneur en flavonoïdes des 03 échantillons d'huile d'olive.....	73
Figure 24 : Teneur en tanins des 03 échantillons d'huile d'olive.....	74
Figure 25 : Activité antioxydante des extraits des 03 échantillons d'huiles d'olive (DPPH)..	77
Figure 26 : Activité antioxydante des extraits des 03 échantillons d'huile d'olive (FRAP).....	78
Figure 27 : Activité antioxydante des extraits des 03 échantillons d'huile d'olive (catalase).....	79
Figure 28 : Activité antioxydante des extraits des 03échantillons d'huile d'olive (CAT).....	80
Photo 1 : Vue d'une parcelle de l'oliveraie	19
Photo 2 : Les éléments de l'unité d'extraction d'huile d'olive.....	20
Photo 3 : Les éléments de l'unité de filtration et remplissage.....	20
Photo 4 : Appareil de sertissage.....	21
Photo 5 : Type d'emballage et étiquetage du produit.....	22
Photo 6 : Aspect visuel des 03 échantillons de l'huile d'olive.....	44
Photo 7 : Mise en évidence de la présence du glycérol.....	55

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition en acide gras d'une huile d'olive.....	7
Tableau 2 : Codage et système d'extraction des 03 échantillons de l'huile d'olive.....	23
Tableau 3 : Résultats donnés par le dégustateur 1.....	40
Tableau 4 : Résultats donnés par le dégustateur 2.....	41
Tableau 5: Résultats donnés par le dégustateur 3.....	42
Tableau 6 : Résultats donnés par le dégustateur 4.....	42
Tableau 7 : Résultats donnés par le dégustateur 5.....	42
Tableau 8 : Qualité microbiologique des 03 échantillons de l'huile d'olive.....	46
Tableau 9 : Résultats de la recherche de glycérol.....	55
Tableau 10 : Résultats de l'analyse qualitative des polyphénols par HPLC.....	72
Tableau 11: Teneures en Sodium (Na), Potassium (K) et Calcium (Ca) dans les 03 échantillons d'huile d'olive.....	75
Tableau 12: Teneurs en Plomb (Pb), Cuivr (Cu), Cadmium (Cd) et Zinc (Zn) dans les trois échantillons d'huile d'olive.....	76
Tableau 13 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits des 03 échantillons d'huile d'olive.	81

Liste des abréviations

AB : absorbance ;

A% : acidité Oléique ;

AG : Acide Gras ;

AGI : Acide Gras Insaturé ;

AGL : Acide Gras Libres ;

AGMI : Acide Gras Mono-Insaturés ;

AGPI : Acide GrasPoly-Insaturés ;

C : Concentration de la solution en gramme par 100millilitres ;

C° : Degré Celsius ;

D : Densité ;

DO : Densité Optique ;

DPPH : DiPhenylPicryl-Hydrazyl ;

EAA :Equivalents d'Acide Ascorbique ;

EAC :Equivalents d'Acide Caféique ;

EAG : Equivalent d'Acide Gualique ;

FRAP :Ferric Reducing Antioxidant Power ;

H₂O₂ :Le peroxyde d'hydrogène ;

GC-MS : GasChromatographic-Mass Spectroscopic ;

K₂₃₂ : Coefficient d'extinction à 232nm ;

K₂₇₀ : Coefficient d'extinction à 270nm

M : Masse molaire ;

MRS :Man-Rogosa-Sharpe ;

MS :Matière Sèche ;

OGA :Gélose à l'oxytétracycline glucose ;

P : risque d'erreur ;

PCA :Plate Count Agar ;

pH : Le potentiel hydrogène ;

ppm : Partie par million ;

TAC :Capacité antioxydante totale ;

UFC : Unité Formant Colonie ;

UV : Ultra Violet ;

V : Volume ;

VRBG : Violet Red Bile Glucose.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures et photos

Liste des abréviations

Introduction	1
Partie I: Synthèse Bibliographique,	
Chapitre I : L'oléiculture	
I .1- La production oléicole en Algérie.....	4
I. 2- L'olivier et les olives.....	4
I. 3- Huile d'olive.....	5
I. 3.1- Les catégories de l'huile d'olive.....	5
I .3.2 -Composition de l'huile d'olive.....	7
I. 3.3 -Technologie de fabrication de l'huile d'olive.	10
I .3.4 - Condition de stockage et de conservation de l'huile d'olive.....	12
I .3.5- Les sous-produits d'une huilerie.....	13
Chapitre II : Qualité de l'huile d'olive	
II .1- Critères d'évaluation de la qualité de l'huile d'olive.....	14
II.1.1- Caractéristiques sensorielle ...	14
II.1.2- Caractéristiques microbiologiques	15
II.1.3- Caractéristiques physicochimiques	15
II .2- Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive.....	17
ChapitreIII: Présentation de l'huilerie Koutama	
III. 1- Données sur l'oliveraie Koutama.....	19
III. 2- Extraction de l'huile d'olive.....	19
III. 3- Identification du produit Koutama.....	21
III. 4- Les sous-produits de l'huilerie Koutama.....	22
Partie II.: Matériel et Méthodes	
II. 1. Matériel.....	23
II.1.1. Echantillonnage.....	23
II.1.2. Milieux de culture	23

II.1. 3. Souches microbiennes.....	24
II.2-Méthodes.....	24
II.2.1- Contrôle organoleptique.....	24
II.2.2- Contrôle microbiologique.....	25
II.2.2.1- Préparation des dilutions décimales.....	25
II.2.2.2- Dénombrement de la FTAM.....	25
II.2.2.3- dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants.....	26
II.2.2.4- Dénombrement des Levures et moisissures.....	26
II.2.2.5- Dénombrement de la flore lactique.....	26
II.2.3- Qualité physicochimique	
II.2.3.1- Qualité chimique.....	27
a. pH.....	27
b. Indice acide et l'acidité oléique	27
c. Indice de peroxyde.....	27
d. Indice de saponification	28
e. Indice d'iode	28
f. Indice d'ester	29
i. Recherche de glycérol.....	29
II.2.3.2- Qualité physique	
a. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles.....	30
b. Mesure de la teneur en impuretés insolubles.....	30
c. Détermination du point de solidification et de fusion.....	31
d. Détermination du point de fumée.....	31
e. Détermination de la densité relative	31
f. Détermination du coefficient d'extinction K_{270} et K_{232}	31
i. Indice de réfraction.....	32
II.2.4- Analyse de la composition.....	32
II.2.4.1- Détermination de la composition en acide gras.....	32
II.2.4.2- Dosage des caroténoïdes totaux.....	33
II.2.4.3- Dosage de la teneur en chlorophylles.....	33
II.2.4.4- Dosage des composés phénoliques.....	34
II.2.4.5- Dosage des ortho-diphénols.....	34
II.2.4.6- Analyse qualitative des polyphénols.....	34

II.2.4.7- Dosage des flavonoïdes.....	35
II.2.4.8- Dosage des tanins condensés	35
II.2.4.9- Dosage de potassium, calcium et de sodium par le spectrophotomètre a flamme.....	35
II.2.4.10. Dosage des métaux lourds.....	36
II.2.5- Activité antioxydante	36
II.2.5.1- Piégeage du radical libre DPPH.....	36
II.2.5.2- Réduction de fer : FRAP (FerricReducingAntioxidant Power).....	36
II.2.5.3- Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂ scavengingactivity).....	37
II. 2.5.4- Activité antioxydante totale (TCA).....	37
II. 2.6-Activité antimicrobienne.....	38
II.2.6.1- Activité antibactérienne	38
II.2.6.2- Activité antifongique.....	39
II.2.7- Analyse statistique	39

Partie III : Résultats et Discussion

III.1-Contrôle organoleptique.....	40
III.2-Contrôle microbiologique.....	45
III.3-Contrôle physicochimique.....	47
III.4- Activité antioxydante	76
III.5- Activité antimicrobienne.....	81
Conclusion	83

Références bibliographiques

Annexe

Introduction générale

L'olivier étant une plante emblématique de la Méditerranée. En effet, il n'est pas étonnant que la plupart de la superficie mondiale dédiée à cette culture se trouve, justement, dans le Bassin méditerranéen. C'est ici que se concentrent 95 % de la production et 85 % de la consommation mondiale (**Mili, 2006**). Comme pour la plupart des pays méditerranéens, l'olivier constitue en Algérie la principale essence fruitière qui est en rapide extension.

Ces dernières années, la wilaya de Jijel a connu un développement considérable et accéléré en activité agricole surtout après la création de nouvelles huileries et les soutiens de l'Etat. Parmi les cultures qui connaissent cette évolution, l'oléiculture qui peut occuper une place très importante dans la région, vue sa rusticité et sa tolérance.

L'huile d'olives est le produit méditerranéen par excellence, on la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours. Elle est la principale source de matières grasses du régime crétois ou du régime méditerranéen qui sont bien connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine (**Dugo et al., 2004**). Elle représente un produit très varié de corps gras, qui se caractérise par leurs intérêts nutritionnels, leurs usages et leurs critères biologiques tels que la composition en acides gras et en antioxydants, particulièrement en composés phénoliques qui présentent une source d'antioxydants puissants (**Pellegrini et al., 2001**).

L'huile d'olives vierges est considérée meilleure de toutes les huiles d'olives par rapport à ses caractéristiques organoleptiques, sa stabilité et sa composition chimique parce qu'elle est le jus des olives récoltées à une maturité optimale (**Mendez et al., 2007**). Il est actuellement bien admis que la forte demande en huile d'olives vierges de bonne qualité est due non seulement à ses vertus de santé mais également à ses propriétés organoleptiques (**Luaces et al., 2003**).

Le sujet portant sur l'huile d'olives nous était très intéressant, ainsi, nous nous sommes proposé de mener une étude, qui consistait à faire une analyse fine de trois échantillons d'huile d'olives de la région de Jijel, extraite par un système continue de centrifugation à l'huilerie Koutama.

Ce manuscrit est organisé en trois parties, une première partie qui va passer en revue l'essentiel de la bibliographie sur l'oléiculture, les critères de la qualité de l'huiles d'olives ainsi une présentation de l'huilerie Koutama, une deuxième partie qui est réservée à la description de l'ensemble des approches et techniques employées. La troisième partie est consacrée à la présentation et à la discussion des résultats articulés autour des parties expérimentales suivantes : l'évaluation de la qualité organoleptique de l'huile d'olives, détermination de la qualité

Introduction générale

physicochimique, analyse de la composition, et enfin l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits des échantillons.

Bibliographie

Chapitre I : L'oléiculture

I. 1. La production oléicole en Algérie

L'olivier est un arbre magique et riche. Ses utilisations sont nombreuses et reconnues. Tout est utilisable dans l'olivier, il a toujours considéré comme un symbole de paix et de fécondité dans l'Antiquité grecque et romaine (Gomez, 2013).

En Algérie, la production de l'huile d'olive a enregistré, durant la campagne 2015/2016, le niveau le plus élevé de ces 15 dernières années, en atteignant plus de 900.000 hectolitres à travers le territoire national, soit une croissance de 25% comparativement à la campagne écoulée. Tels sont les résultats du dernier bilan publié par l'Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires (ONFAA, 2016).

Ce résultat s'explique, selon l'ONFAA (2016), par l'entrée en production de près de 2,5 millions d'oliviers au cours de cette campagne. La production d'olives destinée à l'huile a connu une évolution considérable, puisque la production est passée de 420.000 tonnes, au cours de la campagne écoulée, à plus de 470.000 tonnes au cours de cette campagne, soit un accroissement de 13%, a-t-on indiqué. Ces chiffres énoncés dans le bilan de la campagne oléicole 2015/2016 segment «huile d'olives» précisent également que la production de cette dernière a enregistré une évolution de 7%, comparativement à la campagne précédente 2014/2015. Aussi, force est de constater que malgré les conditions climatiques relativement difficiles qui ont caractérisé la campagne oléicole, notamment la vague de chaleur qui est survenue au cours du stade floraison et grossissement du fruit, la production totale d'olives (pour conserve et pour huile) n'a pas été gravement affectée à travers l'ensemble des wilayas.

I.2. L'olivier et les olives

I.2.1. L'olivier : L'olivier (*oléauropea* L.), arbre ancestral profondément ancré dans les civilisations méditerranéennes et arabo-musulmanes, a toujours constitué, de par sa forte charge emblématique en termes de paix et de prospérité, un facteur d'atténuation des clivages culturels des peuples du bassin méditerranéen (Mataix et Barbancho, 2006).

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen, de 6 à 8 m de hauteur, à tronc tortueux et à écorce grisâtre et crevassée. Les feuilles sont blanches argentées sur la face inférieure, vertes grisâtres sur la face supérieure, opposées, persistantes, coriaces et lancéolées. Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées. L'olivier est le nom commun d'environ 35 espèces

d'arbustes et d'arbres du genre *Olea*. Le nom est particulièrement utilisé pour l'espèce *Olea europaea* (Benlemlih et Ghanam, 2012).

I. 2.2. Les olives : Le fruit de l'olivier, l'olive est une drupe charnue, de forme ovoïde. Sa couleur varie du vert léger au noir en passant par le rose violacée selon le degré de maturation du fruit. Son poids varie de 2 à 12 g et peut atteindre les 20g suivant la variété (Fedeli, 1997). Le fruit est constitué de 3 parties (Roehly, 2000) :

- L'épicarpe (cuticule) représente 1,5 à 3% du poids du fruit ;
- Le mésocarpe (pulpe) représente 66 à 85% du poids du fruit ;
- L'endocarpe inclus le grain, représente 13 à 80%.

I.3. L'huile d'olive

Selon le Codex Alimentarius, l'huile d'olive est définie comme étant, « l'huile provenant uniquement de l'olivier (*Olea europaea* L.), à l'exclusion des huiles obtenues par solvants ou par procédés de ré estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature ».

I.3.1. Les catégories de l'huile d'olive : Selon des critères chimiques et organoleptiques, il existe différentes catégories :

I.3.1.1. Les huiles d'olive vierges : Elles sont les huiles obtenues du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.), uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des 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 (C.O.I, 2013). Cette catégorie des huiles est classée en :

I.3.1.1.1. Les huiles d'olives vierges propres à la consommation en l'état : La classification donnée par le C.O.I (2013) est la suivante :

- **L'huile d'olive vierge extra:** C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes ;
- **L'huile d'olive vierge:** C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes ;
- **L'huile d'olive vierge courante:** C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes.

I.3.1.1.2. L'huile d'olive vierge non propre à la consommation en l'état dénommée huile d'olive vierge lampante : C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide

oléique est supérieure à 3,3 grammes pour 100 grammes et/ou dont les caractéristiques organoleptiques et les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la norme commerciale du **C.O.I (2013)**. Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques.

I.3.1.2. L'huile d'olive raffinée : C'est une huile d'olive, obtenue des huiles d'olives vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes et ses autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la norme commerciale du **C.O.I (2013)**. Ce produit peut être vendu directement aux consommateurs seulement si le pays de vente au détail l'autorise.

I.3.1.3. L'huile d'olive : C'est une huile, constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes et ses autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la norme commerciale du **C.O.I (2013)**. Le pays de vente au détail peut exiger une dénomination plus précise.

I.3.1.4. L'huile de grignons d'olive : C'est une huile obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olives, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. Elle est commercialisée selon les dénominations et définitions ci-après:

- **L'huile de grignons d'olive brute :** est l'huile de grignons d'olive dont les caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la norme commerciale du **C.O.I (2013)**. Elle est destinée au raffinage en vue de son utilisation pour la consommation humaine, ou destinée à des usages techniques;
- **L'huile de grignons d'olive raffinée :** est l'huile obtenue à partir de l'huile de grignons d'olive brute par des techniques de raffinage n'entraînant pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes et ses autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la norme commerciale du **C.O.I (2013)**. Ce produit peut être vendu directement aux consommateurs, seulement si le pays de vente au détail l'autorise;
- **L'huile de grignons d'olive :** est l'huile constituée par le coupage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'huile d'olives vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en

acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes et ses autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la norme commerciale du **C.O.I (2013)**. Le pays de vente au détail peut exiger une dénomination plus précise. Ce coupage ne peut, en aucun cas, être dénommé huile d'olive.

I.3.2. Composition générale de l'huile d'olive

I.3.2.1. Les acides gras : L'huile d'olive contient des éléments majeurs et mineurs, elle possède une composition nutritionnelle équilibrée en acides gras et en triglycérides (98 % du poids total) (**Ollivier et al., 2003**).

La composition en acides gras de l'huile d'olive (Tableau 1), joue un rôle important au niveau de sa qualité nutritionnelle, elle varie en fonction de la zone de production, le climat, la variété et le stade de maturation de fruit (**Baccouri et al., 2008**). Elle contient une forte teneur en acides gras mono-insaturée représentée par l'acide oléique de la famille oméga-9 (65-80%), 15% d'acide gras saturée et 10% d'acide gras polyinsaturés représentés par l'acide linoléique (Oméga- 6) dominant et des traces de l'acide α -linoléique (Oméga 3) ; acides gras essentiels, indispensables (**Mezghache et al., 2010**).

Tableau 1: Composition en acide gras d'une huile d'olive.

Acide gras	Formule brute	Composition en %	
		Ollivier et al. (2003)	Codex alimentarius
Acide myristique	C14 :0	Tr	< 0.1
Acide palmitique	C16 :0	7.5-15.6	7.5-20
Acide sapiénique	C16 :1n-9	0.1-0.2	0.3-3.5
Acide palmitoléique	C16 :1n-7	0.3-1.9	0.3-3.5
Acide margarique	C17 :0	< 0.3	< 0.5
Acide margaroleique	C17 :1n-8	< 0.5	< 0.6
Acide stéarique	C18 :0	1.4-3.4	0.5-5
Acide oléique	C18 :1n-9	60.9-82.1	55-83
Acide vaccénique	C18 :1n-7	0.7-3.6	-
Acide linoleique	C18 :2n-6	4.5-16.1	3.5-21
Acide α -linoléique	C18 :3n-3	0.4-1.2	< 1.5
Acide arachidonique	C20 :0	0.3-0.5	< 0.8

Acide gadoleique	C20 :1n-9	0.2-0.5	-
Acide béhénique	C22 :0	< 0.2	< 0.2
Acide lignocérique	C24 :0	< 0.1	< 1

Tr : traces

I.3.2.2. Les stérols : Les stérols représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive (20%) et sont présents sous forme libre et estérifiée avec les acides gras (**Phillips et al., 2002**). Les principaux stérols de l'huile d'olive sont le β -sitostérol (75% à 90%) et le campestérol. D'autres stérols sont également présents à l'état de traces (**Boskou et al., 2006**). Les teneurs en stérols de l'huile d'olive varient de 1000 à 3000 mg/Kg (**Matos et al., 2007**). Ces teneurs varient en fonction de la variété, de la maturité des olives (**Pardo et al., 2007**) et de l'origine géographique des olives (**Ben Temime et al., 2008**).

Plusieurs travaux ont signalé que la composition de la fraction stérolique constitue un paramètre important dans la détection d'adultérations des huiles (**Pardo et al., 2007**).

I.3.2.3. Les composés phénoliques : L'une des caractéristiques les plus importantes de l'huile d'olive est sa richesse en composés phénoliques. La teneur de ces composés varie d'un composé à un autre. Le tyrosol et l'hydroxytyrosol et leurs dérivés sont les composés les plus importants du point de vue de leur concentration. Ils contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à l'amertume des huiles (**Yang et al., 2007**).

Les composés phénoliques sont des agents antioxydants naturels qui font partie de la fraction polaire des huiles d'olives vierges. Il a été démontré que la stabilité des huiles à l'auto oxydation était due en particulier à la présence de ces substances dans des proportions élevées, notamment les orthodiphénols (**C.O.I, 2015**).

I.3.2.4. Tocophérols : L'huile d'olive contient des tocophérols α , β , γ et δ . Le α -tocophérol est majoritaire à plus de 88% avec une teneur moyenne d'environ 12 à 25 mg/100g (**Psomiadou et al., 2000**).

Les teneurs en tocophérols, généralement rapportées pour une huile d'olive d'une bonne qualité, varient de 100 à 300 mg/Kg (**Allalout et al., 2009**). Ces teneurs varient en fonction de plusieurs facteurs dont la variété de l'olive et sa maturité ainsi que les conditions et la durée de la conservation de l'huile (**Gimeno et al., 2002**).

I.3.2.5. Les composés aromatiques : Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire, possédant une volatilité à température ambiante. 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**). Ces composés volatiles sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras, d'une manière générale, les enzymes endogènes présentes dans l'olive, vont dégrader les acides gras par des voies de lipoxygénases et les produits de dégradation vont être associés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olives. A l'inverse, les produits d'oxydation chimique ou dus à des enzymes exogène (activité microbiologique) seront généralement associés à des défauts sensoriels (**Venkateshwar-lu et al., 2004**).

I.3.2.6. Les pigments : Ce sont principalement, la chlorophylle pour la couleur verte et le carotène pour la couleur jaune. Parmi les pigments, il y a les caroténoïdes dont le plus abondant dans l'huile d'olive est le β -carotène (provitamine A), son taux varie de 0,3 à 3,7 mg / kg d'huile. 2 mg de β -carotène se transforment en 1mg de vitamine A (**KatajaTuomola et al., 2008**). Le β -carotène présente une action vitaminique et antioxydante. Les facteurs biologiques et technologiques, le système d'extraction, le mode et la durée de conservation et particulièrement la maturation du fruit influent sur la composition en pigments caroténoïdes de l'huile d'olives (**NievesCriado et al., 2008**).

I.3.2.7. Les hydrocarbures : Deux hydrocarbures sont présents en quantités importantes dans l'huile d'olive, le squalène et le β -carotène. Ce sont quantitativement les principaux composants de la fraction insaponifiable. Le composant majeur est le squalène (2,6,10,15,19,23 hexaméthyl-2-,6,10,14,18,22 tétracosahexane) qui constitue 30 à 50 % de cette fraction, c'est un hydrocarbure polyénique dont la teneur est plus élevée que dans n'importe quelle autre huile végétale ou animale (**Samaniego-Sanchez et al., 2010**).

Le squalène, précurseur de synthèses des stérols, 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 (**Psomiadou et Tsimidou, 2002**). Sa présence est considérée comme partiellement responsable des effets bénéfiques de l'huile d'olives sur la santé et de son action chimio-préventive contre certains cancers (**Rao et al., 1998 ; Smith et al., 1998**).

La concentrations en hydrocarbures peut atteindre jusqu'à 12000 mg / kg (**Lanzón et al., 1994**). Cette quantité dépend du cultivar, de la méthode d'extraction de l'huile de plus, elle est considérablement réduite au cours du processus de raffinage (**Mínguez et al., 1990 ; Manzi et al., 1998**).

I.3.3. Technologie d'extraction d'huile d'olive

L'huile d'olive est obtenue par trituration des péricarpes des fruits et pas de leurs graines, dans un moulin à huile spécifique. La teneur en huile varie en fonction du terroir, de la variété (cultivar), du stade de maturité à la récolte et des pratiques agronomiques (**Ben Sassi et al., 2006**). L'objectif idéal de toute méthode d'extraction consiste à produire la plus grande quantité d'huile possible sans altération de sa qualité d'origine. Toutefois, si la qualité ne doit pas être modifiée, il est nécessaire d'utiliser uniquement des méthodes mécaniques ou physiques pour extraire l'huile, en évitant les réactions chimiques et enzymatiques qui pourraient changer sa composition naturelle (**Benlamlah et Ghanam, 2012**).

L'extraction de l'huile d'olive passe par les étapes suivantes :

I.3.3.1. Nettoyage et préparation des olives : Ces opérations consistent, en effeuillage des olives qui se fait généralement par tamisage (tamis rotatifs, tamis vibrants) suivi par le lavage (à l'eau froide) afin d'éliminer les corps étrangers. Ces matières peuvent, d'une part altérer les propriétés organoleptiques de l'huile (couleur, odeur, goût) et d'autre part, user les broyeurs métalliques (**Barraco et al., 2001**).

Arrivées au moulin, les olives doivent être triturées le plus tôt possible afin de garantir une bonne qualité de l'huile extraite (**Sacchi, 2007**).

I.3.3.2. Broyage : Le broyage consiste à la dilacération des tissus des olives afin de libérer la plupart des gouttelettes d'huile contenues dans les cellules. Selon le **C.O.I (2004)**, la durée de broyage ne doit pas dépasser 20 à 30 minutes sinon la pâte deviendrait trop fine et le rendement d'extraction s'en trouverait alors réduit.

I.3.3.3. Malaxage : L'huile doit être extraite par des moyens mécaniques et doit être libérée à partir des tissus de telle sorte que les gouttelettes peuvent fusionner en gouttes plus grosses jusqu'à ce qu'elles forment ce qu'on appelle les « poches ». Le malaxage est fondamental pour augmenter le rendement de l'extraction, il est conçu pour renforcer l'effet d'écrasement et d'uniformiser la pâte, son premier objectif est de briser l'émulsion huile/eau de sorte que les gouttelettes d'huile se rassemblent pour former des gouttes plus grosses. Les conditions idéales de malaxage sont de 30 à 45 minutes à une température de 3°C (**Benlamlah et Ghanam, 2012**).

I.3.3.4. Séparation des phases : Cette opération consiste à :

- ✓ Séparation des phases liquide-solides : le broyage et le malaxage aboutissent à la formation d'une pâte qui contient de la matière solide et des fluides, la matière solide appelée grignon est formée de débris de noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires.....etc, alors que la partie fluide est composée d'huile et d'eau de végétation appelée margine (**Chimi, 2007**).
- ✓ Séparation des phases liquides-liquides : la séparation entre la phase aqueuse de la phase huileuse se fait essentiellement par simple décantation ou par centrifugation. Elle est basée sur la différence de densité entre l'huile d'olive et l'eau de végétation (**Di-Giovacchino, 1996**).

La séparation se fait par un des moyens suivants :

- ✓ **Système à presse** : Ce système, dont le processus d'extraction 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/scourtin. L'application de la pression sur la charge des scourtins doit être réalisée de manière progressive. La durée totale de l'opération de pressage, réalisée en une seule fois, varie entre 45 à 60 mn (**Hammadi, 2006**).

Le système de presse peut donner une huile riche en polyphénols permettant de la conserver convenablement, propre à la consommation selon les caractéristiques physico-chimiques mises en œuvre par la réglementation en vigueur, mais peut être déclassée par les propriétés organoleptiques, surtout le défaut du critère de goût lié au goût "scourtin" et le goût "margines" (**Ouaouich et Chimie, 2007**).

- ✓ **Centrifugation** : Cette méthode est basée sur la séparation des différents constituants d'un mélange en fonction de leur densité. Si seulement la force gravitationnelle est appliquée, la vitesse de séparation peut être extrêmement lente, toutefois, si le mélange est soumis à une force de gravitation artificielle, la vitesse de séparation peut être augmentée. Cela se fait avec des machines tournantes dont la vitesse et l'efficacité de séparation sont directement proportionnelles à la vitesse angulaire au rayon de rotation, ainsi que de la différence de la densité des liquides qui doivent être séparés. Les machines utilisées sont des centrifugeuses horizontales qui opèrent à une vitesse angulaire jusqu'à 3000 fois plus grande que l'accélération gravitationnelle naturelle (**Vielle, 2010**).

La centrifugation en continu comprend les étapes suivantes : effeuillage et lavage, broyage des olives, malaxage de la pâte d'olives, centrifugation avec ou sans addition d'eau pour le système à deux phases et à trois phases, respectivement (**Sacchi, 2007**).

- ✓ **Extraction par percolation** : Cette méthode également nommée extraction partielle ou sélective consiste à utiliser des moyens filtrants. Ce système permet d'extraire l'huile des pâtes d'olives en maintenant inchangées ses propriétés qualitatives et nutritionnelles naturelles ainsi que sa teneur en composés phénoliques car le processus est réalisé à température ambiante et sans ajout d'eau, l'huile extraite dans ces conditions est donc d'une grande qualité organoleptique et chimique. Par contre, le rendement d'extraction est assez faible (varient de 30 à 70%), mais on peut après cette première extraction par percolation, soumettre la pâte d'olives à une deuxième extraction par centrifugation (**Mahbouli, 2005**).

I.3.4. Condition de stockage et de conservation de l'huile d'olives

L'huile d'olives peut être stockée pendant plusieurs mois, durant son stockage, l'huile d'olive peut subir des changements organoleptiques caractérisés par l'augmentation de l'acidité (due à l'action des lipases) et le développement des réactions de rancissement. Pour cela, **Benlemlih et Ghanam (2012)** ont rapporté qu'un ensemble de précautions doit être mis en place pour le stockage de l'huile d'olive :

- ✓ Les réservoirs ou tambours pour le stockage devraient être construits en matière inerte et imperméable à l'huile ;
- ✓ L'huile doit être abritée de l'air, de la lumière, et de la fluctuation de la température ;
- ✓ L'huile doit être conservée à l'intérieur de la chambre de stockage, si le stockage a lieu à l'extérieur, les réservoirs doivent être revêtus d'un revêtement extérieur pour éviter les changements extrêmes de température ;
- ✓ L'huile doit être stockée à une température entre 12-18°C, évitant à la fois le chauffage et le gel. Sinon, l'huile devient blanchâtre, relativement solide, avec un dépôt formé par la cristallisation partielle des triglycérides et des acides gras saturés au cours de l'hiver (à une température inférieure à 10°C) ;
- ✓ Les températures supérieures à 22-25°C doivent également être évitées car elles accélèrent les modifications biochimiques et les phénomènes d'oxydations qui peuvent conduire au rancissement de l'huile d'olive.

I.3.5. Les sous-produits d'une huilerie

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (**FAO, 1979**), il est important de définir les différents sous-produits, car il existe une certaine confusion dans les publications qui ne permet pas toujours d'identifier clairement de quel sous-produit il s'agit. L'on distinguera donc:

- ✓ Le grignon brut: c'est le résidu de la première extraction de l'huile par pression de l'olive entière, ses teneurs relativement élevées en eau (24%) et en huile (9%) favorisent son altération rapide lorsqu'il est laissé à l'air libre ;
- ✓ Le grignon épuisé: c'est le résidu obtenu après déshuilage du grignon brut par un solvant, généralement l'hexane ;
- ✓ Le grignon partiellement dénoyauté: résulte de la séparation partielle du noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation, il est dit "gras" si son huile n'est pas extraite par solvant, il est dit "dégraissé ou épuisé" si son huile est extraite par solvant ;
- ✓ La pulpe d'olives : c'est la pâte obtenue lorsque le noyau a été séparé de la pulpe préalablement à l'extraction de l'huile, elle est riche en eau (60%) et de conservation très difficile ;
- ✓ Les margine: c'est le résidu liquide aqueux brun qui s'est séparé de l'huile par centrifugation ou sédimentation après le pressage ;
- ✓ Les feuilles collectées à l'huilerie: ce ne sont pas les résidus de la taille, mais des feuilles obtenues après le lavage et le nettoyage des olives à l'entrée de l'huilerie, leur quantité est estimée, à environ 5% du poids des olives.

II.1.Critères d'évaluation de la qualité de l'huile d'olive

II.1.1. Caractéristiques sensorielles : Une simple analyse chimique, ne peut suffire pour déterminer la qualité d'une huile. En effet, les composés volatiles qui se développent au cours du procédé de fabrication de l'huile puis pendant son stockage sont capables de modifier l'odeur et la saveur de l'huile. Pour cela, une analyse sensorielle codifiée et détaillée a été développée par le **C.O.I** et la Communauté Economique Européenne (**CEE**). Les attributs sensoriels d'une huile ont été classés en deux catégories, les attributs positifs et les défauts.

Les principaux attributs négatifs, qui doivent être évités, si l'on désire obtenir une huile d'olive vierge de qualité irréprochable sont **COI, (2015) :**

- ✓ Chômé : Flaveur caractéristique de l'huile d'olive entassées ou stockées dans des conditions telles qu'elles se trouvent dans un état avancé de fermentation anaérobie;
- ✓ Vineux-vinaigré -acide aigre : Flaveur caractéristique de certaines huiles rappelant le vin ou le vinaigre. Elle est due fondamentalement à un processus de fermentation aérobie des olives ou des restes d'olives dans les scourtins qui n'auraient pas été lavés correctement; ceci donne lieu à la formation d'acide acétique, d'acétate d'éthyle et d'éthanol;
- ✓ Moisi-humide : Flaveur caractéristique de l'huile obtenue d'olives attaquées par des moisissures et des levures par suite d'un stockage des fruits pendant plusieurs jours dans l'humidité;
- ✓ Lies : Flaveur caractéristique de l'huile restée en contact avec les "boues" de décantation, ayant elles aussi subi un processus de fermentation anaérobie, dans les piles et les cuves;
- ✓ Métallique : Flaveur qui rappelle les métaux. Elle est caractéristique de l'huile qui est demeurée longtemps en contact avec des surfaces métalliques, au cours des processus de broyage, de malaxage, de pression ou de stockage;
- ✓ Margines : Flaveur acquise par l'huile à la suite d'un contact prolongé avec les eaux de végétation qui ont eux-mêmes subi des processus de fermentation;
- ✓ Rance : Flaveur des huiles ayant subi un processus d'oxydation intense lors du stockage;
- ✓ Autres attributs négatifs : Cuit-brûlé, foin-bois, grossier, lubrifiants, saumure, sparte, terre, ver, concombre, bois humide.

Il existe trois grands attributs positifs **COI, (2015) :**

- ✓ Fruité : Ensemble de sensations olfactives caractéristiques de l'huile, dépendant de la variété des olives, provenant de fruits sains et frais, verts ou mûrs, perçues par voie directe et/ou rétronasale;
- ✓ Amer : Goût élémentaire caractéristique de l'huile obtenue d'olives vertes ou au stade de véraison, perçu par les papilles caliciformes formant le V lingual;
- ✓ Piquant : Sensation tactile de picotement, caractéristique de l'huile produites au début de la campagne, principalement à partir d'olives encore vertes, pouvant être perçu dans toute la cavité buccale, en particulier dans la gorge.

II.1.2. Caractéristiques microbiologiques : Les résultats des analyses microbiologiques d'une huile d'olive sont importants pour se prononcer sur la qualité. On cherche à dénombrer le plus souvent, les flores qui sont qualifiées d'indicateurs en microbiologie alimentaire, ces dernières servent à évaluer la sécurité alimentaire, les bonnes pratiques de fabrication et parfois à définir la fraîcheur des produits (**Cardinal et al., 2003**).

II.1.3. Quelques caractéristiques physicochimiques d'huile d'olive

II.1.3.1.L'acidité libre : L'acidité est exprimée en pourcentage d'acide oléique de l'huile d'olive. Elle constitue un moyen simple et efficace pour l'évaluation qualitative et la classification par catégorie commerciale des huiles d'olives. Ce paramètre est déterminé généralement selon la référence **ISO 660:2009**. Une acidité élevée est le résultat d'une oxydation poussée, qui se traduit par un rancissement de l'huile et qui est due à la dégradation des acides gras insaturés (acide oléique et linoléique) et à la production de composés secondaires d'oxydation dont certains ont été prouvés nuisibles à la santé (aldéhydes, cétones, radicaux libres, hydroperoxydes) (**Tanouti et al., 2011**).

II.1.3.2.Indice de peroxyde : L'indice de peroxyde s'intéresse au nombre d'oxygènes actifs dans les chaînes organiques d'un corps gras (lipides, acides gras libres, monoglycérides, diglycérides et triglycérides) (**Tanouti et al., 2011**). Cet indice permet d'évaluer le degré d'oxydation des acides gras insaturés de la matière grasse (rancissement). Plus celui-ci est élevé, plus la matière grasse est oxydée. Cependant, cet indice n'est qu'un indicateur de début d'oxydation (**M'baye et al., 2011**).

II.1.3.3. Absorbance dans l'ultraviolet : La stabilité oxydative est un paramètre important pour l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive, elle se définit comme étant le temps nécessaire pour que

l'huile d'olive commence à présenter des symptômes de rancissement suite à l'oxydation accélérée des acides gras insaturés (Ollé, 2002).

La détermination de l'absorbance est basée généralement sur la méthode **ISO 3656:2011**. Le principe de cette méthode est le mesurage spectrométrique, dans un domaine spécifié de longueur d'onde dans l'ultraviolet, de l'absorbance d'un échantillon en solution.

II.1.3.4. Les composés phénoliques : L'huile d'olive contient une quantité appréciable de composés phénoliques qui passent dans l'huile lors de son extraction, ces composés nobles sont des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation et lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage et une saveur amère (Ollivier *et al.*, 2004).

Les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation et la valeur nutritionnelle des huiles, ils peuvent aider le corps à renforcer son système de défense contre les anomalies liées au stress oxydatif (Ocakoglu, 2008).

II.1.4. Activité antioxydante d'huile d'olive :

L'auto-oxydation (oxydation non enzymatique par l'O₂) est l'un des principaux phénomènes de dégradation des lipides polyinsaturés présents dans divers produits alimentaires tels que les huiles végétales et leurs dérivés, ce phénomène intervient typiquement au cours des traitements industriels et domestiques : procédés thermiques, conditionnement, stockage et cuisson (Haddam *et al.*, 2014).

L'altération chimique des corps gras insaturés par l'oxygène de l'air conduit à la formation d'un peroxyde. Cette réaction étant une réaction autocatalytique, commence lentement puis après une période d'incubation ou l'oxydation est pratiquement indécélable s'accélère de façon exponentielle (Rahmani, 2007). Les substrats lipidiques de ces réactions sont principalement les acides gras insaturés libres, ils s'oxydent généralement plus vite que lorsqu'ils font partie de molécules de triglycérides ou phospholipides, mais c'est surtout le degré d'insaturation qui influence la vitesse d'oxydation. (Jeanret *et al.*, 2006)

Globalement, ce processus conduit à la formation des produits lipidiques oxydés (aldéhydes, époxydes, hydroperoxydes), à leur tour, réagissent avec d'autres ingrédients alimentaires (vitamines, protéines et autres lipides) en diminuant :

- Les propriétés organoleptiques des aliments : apparition de saveurs et odeurs désagréables rendant les aliments difficilement acceptables par le consommateur ;
- La valeur nutritionnelle des aliments : les AGPI sont essentiels à la composition des membranes cellulaires et pourraient exercer une action protectrice contre le développement des maladies

cardiovasculaires. Par contre, certains de leurs produits d'oxydation sont oxydants et/ou électrophiles donc potentiellement toxiques (Sanchez et al., 2007).

II.2. Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive

La qualité de l'huile d'olive commence au moment de la plantation de telle ou telle variété, continue à travers la conduite culturale de l'olivier, l'époque et les modalités de récolte, les travaux préliminaires et la durée de stockage au niveau de l'oliveraie, les conditions de transport des fruits à l'unité, la durée de stockage avant transformation et la conduite technologique d'extraction, ainsi que les conditions de stockage et de distribution de l'huile. Donc ce sont les facteurs agronomiques, climatiques et technologiques qui influencent la qualité de l'huile d'olive (Angerosa et al., 2002).

II.2.1. Les facteurs agronomiques

II.2.1.1. Les facteurs climatiques : La culture de l'olivier est une culture très sensible aux températures hivernales inférieures à 0° C et même pour des températures inférieures à 10° C qui contribuent à l'arrêt du processus de fécondation pendant la période de floraison. Ceci a pour effet le non fécondation des fleurs et la réduction de la production de l'arbre. Les hautes températures au printemps et en été provoquent la chute précoce des fruits et un ralentissement du processus de grossissement de ces derniers à cause de l'effet excessif de l'évapotranspiration. Cela a des retombées négatives sur la qualité et la quantité d'huile extraite (Abdulgani et al., 1994).

II.2.1.2. Les facteurs géographiques : Les olives cultivées dans différentes zones géographiques présentent des caractéristiques différentes. Ainsi, la qualité de l'huile d'olive est affectée par l'altitude, notamment sa composition en acides gras (acide oléique), de même, elle présente un effet sur l'acidité, l'indice de peroxyde et la teneur en polyphénols (Demnati, 2008).

II.2.1.3. Les facteurs pédologiques : L'olivier pousse mal sur les sols argileux à cause de l'asphyxie que subissent les racines durant les saisons pluvieuses. Les conséquences néfastes d'un tel sol se résument en une chute importante des fruits et en un calibre réduit des olives, ce qui affecte la qualité et le rendement de l'huile extraite (Montedro et al., 1995).

Les besoins de l'olivier en eau varient suivant la nature du sol, par sa perméabilité et sa capacité de rétention d'eau, la pluviométrie et la température. La période d'irrigation influe beaucoup sur la floraison. En effet, c'est au printemps qu'il faut éviter les déficits hydriques, parce que c'est la période de production des fleurs (Di Giovacchino, 2000).

II.2.2. Les facteurs propres au fruit

II.2.2.2. La maturation des olives : La production d'olives et la qualité d'huile extraite dépendent très fortement du cultivar. En effet, l'huile tirée des olives varie aussi en fonction du stade de maturation auquel les fruits ont été récoltés. Des changements importants sont relevés notamment en ce qui concerne la composition acide de l'huile. En même temps, le degré de maturité affecte la teneur en composés volatils qui confèrent à l'huile ses caractéristiques sensorielles particulières et sa stabilité (**Tombelli et al., 2000**).

II.2.2.3. Stockage des olives : Il serait souhaitable pour l'industrie oléicole de réaliser l'extraction de l'huile au fur et à mesure des apports de fruits à l'huilerie, afin que toutes les caractéristiques intrinsèques de l'olive puissent demeurer intactes. Dans tous les pays méditerranéens, le stockage des olives avant la mouture est plus ou moins prolongée en fonction des conditions de travail des oléiculteurs ou des moulins (**Kalua et al., 2007**).

Chapitre III. Présentation de l'huilerie Koutama

III.1. Données sur l'oliveraie Koutama

L'oliveraie Bensegheir est spécialisée dans l'olivier, elle compte 4000 oliviers implantés sur 27 hectares, dans le village Fardjiwa, commune Sidi Merouane, Wilaya de Mila (**Photo 1**). Elle cultive deux variétés d'oliviers, *Chemlal* et *la Rougette*, plantées depuis l'année 2010. Le choix des deux variétés est voulu et ce afin de répondre à une demande plus spécifique.



Photo 1: Vue d'une parcelle de l'oliveraie

Dans cette oliveraie, la distance entre les oliviers a été fixée de 7 à 8 mètres pour faciliter le processus d'irrigation. Les caractéristiques les plus originales de toute la région sont réunies dans le barrage de Beni Haroun. Le Nord s'avère être une zone humide et pluvieuse et le Sud avec un climat semi-aride à aride.

III .2. Extraction de l'huile d'olives

L'objectif du responsable de cette huilerie est d'intensifier la production d'huile d'olive pour une exportation future. D'après les données recueillies, OLIMIO est un système d'extraction continu d'huile d'olives compact et automatique basé sur le procédé de centrifugation à froid. Cette unité de trituration des olives permettra aux petits oléiculteurs ou à leurs associations de produire de l'huile d'olives extra-vierge de bonne qualité.

Les olives entières propres et fraîchement cueillies, effeuillées et lavées sont versées dans la trémie de réception de l'appareil, une vis sans fin, les transporte dans le broyeur à marteaux, le malaxeur homogénéise la pâte et le système permet d'ajouter de l'eau suivant la consistance de la pâte pour une parfaite homogénéisation, la température optimale de la pâte doit être de 22 à 29°C. Le décanteur sépare par densité les parties solides, liquides et substances grasses, l'huile sort par le tube placé sur la face avant de la machine.

Selon le modèle, la capacité de la machine va de 20 à 200 kg d'olives/heure.

Pour l'obtention d'huile d'olives, l'unité comporte trois ateliers :

Atelier 1 : Il est destiné pour l'extraction de l'huile et comporte les éléments suivants (**Photo 2**):

- ✓ Défoliatrice, laveuse et élévateur ;
- ✓ Moulin avec 2 cuves de pétrissage ;
- ✓ Centrifugeuse horizontale avec Système d'évacuation des déchets avec les caractéristiques suivantes :
 - Puissance 42 / 50 / 65 kw ;
 - Tension de service 380v ;
 - Capacité 1000 / 1500 / 2000 kg d'olives/heure.



Photo 2 : Les éléments de l'unité d'extraction d'huile d'olive.

(a) : Défoliatrice, laveuse et élévateur (b) : cuves de pétrissage (c) : Centrifugeuse

Atelier 2 : Il est destiné pour la filtration et remplissage de l'huile d'olives et comporte les éléments suivants (**Photo 3**):

- ✓ Un bac de décantation avec pompe aspirante refoulante ;
- ✓ Filtre EUR : des Filtres à plaques avec pompe aspirante refoulante;
- ✓ Speedy Oil, c'est le remplisseur, sert à remplir les bouteilles en verre et aussi en plastique ;
- ✓ Etiqueteuse.

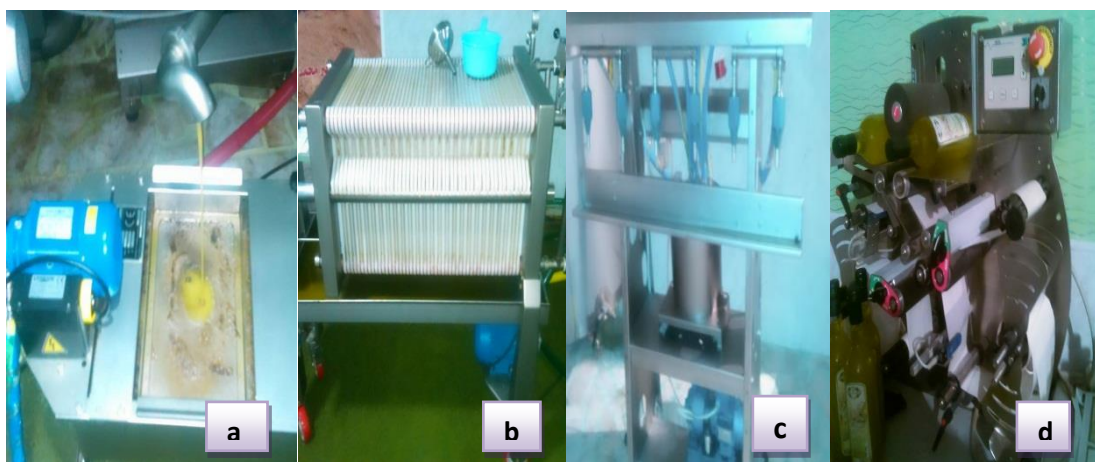


Photo 3 : Les éléments de l'unité de filtration et remplissage.

(^a) : bac de décantation (^b) : Filtres à plaques (^c) : remplisseur (^d) : étiqueteuse

Atelier 3 : Il est destiné pour le sertissage électrique automatique avec une tête descendante
(Photo 4):



Photo 4 : Appareil de sertissage.

III .3. Identification du produit Koutama

Le produit Koutama est caractérisé de ce qui suit :

- ✓ L'appellation est « Huile Koutama » ;
- ✓ La description : Huile d'Olive Vierge, sans additifs et sans adjonction d'autre huiles, et de catégorie supérieure « extraite à froid » par procédé mécanique, elle ne subit ni traitement chimique, ni raffinage ;
- ✓ Origine: 100% olives de variétés *Chemlal* et la *Rougette* ;
- ✓ Ages des oliviers : oliviers plantés vers 2010 ;
- ✓ Cueillette manuelle courant Novembre, Décembre, Janvier.

L'étiquette du produit comporte les mentions obligatoires à un endroit apparent, écrites de manière claire, lisible, visible, clair et compréhensible afin d'aider le consommateur dans ses choix **(Photo 5)** :

- ✓ La dénomination commerciale : huile Koutama ;
- ✓ La quantité nette exprimée en litres, centilitres ou millilitres : Une gamme des produits (0.25 L - 0.37 L - 0.5 L - 0.75 L - 1L) ;
- ✓ L'origine de l'huile d'olives : huile d'olive de la région de Jijel (produit algérien) ;
- ✓ Les conditions particulières de conservation des huiles d'olive à l'abri de la lumière et de la chaleur ;
- ✓ Le nom ou la raison sociale et l'adresse du responsable de la commercialisation : Zone industrielle lot N°17 Ouled Salah El Emir Abdelkader-JIJEL- Jijelli, Jijel, Algeria ;

- ✓ Le numéro d'agrément de l'opérateur : 034 49 78 73 / 034 55 38 10.



Photo 5 : Type d'emballage et étiquetage du produit.

En ce qui concerne la commercialisation, actuellement la production d'huile d'olive est destinée principalement au marché intérieur. Elle est instable d'une année à l'autre à cause de l'alternance de production des vergers.

III.4. Les sous-produits de l'huilerie Koutama

Il est intéressant de noter que pour 1 tonne d'huile récupérée environ 3 tonnes de déchets sont produites, parmi les déchets valorisés dans la huilerie Koutama on a les grignons qui sont les résidus solides issus de la première pression, ils sont formés de la pulpe et noyaux d'olives. Ces déchets contiennent en moyenne 28,5% d'eau, 41,5% de coque, 21,5% de pulpe et 8,5% d'huile, les *grignons* sont transformés en *charbon actif* par carbonisation.

Matériel et méthodes

II. Matériel et Méthodes

L'ensemble du travail a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Jijel.

II. 1. Matériel

II.1.1. Echantillons de l'huile d'olive : Les échantillons d'huile d'olive sont collectés de l'huilerie moderne dite « Koutama », sise à Jijel. Les échantillons d'huile d'olive ont été extraits par force centrifuge à froid, le même jour 10.12.2016 à partir des olives noires collectées à maturité et stockées à l'abri de la lumière afin d'éviter toute réaction d'oxydation. Le tableau ci-dessous regroupe les données sur les échantillons utilisés au cours de cette étude expérimentale.

Tableau 2 : Codage et système d'extraction des 03 échantillons de l'huile d'olive.

Région	T° de concassage	T° de malaxage	T° de d'extraction	Durée de stockage des olives	Code
Olives collectées d'une région					
Poche du barrage Bni Haroun	23°C	27°C	17°C	36 heures	E ₁
Olives collectées de différents endroits de l'olivieraie					
	24°C	27°C	17°C	21 heures	E ₂
Olives collectées à partir de la 2 ^{ème} partie de l'olivieraie					
	23°C	27°C	18°C	13 heures	E ₃

II.1.2. Milieux de culture : La partie microbiologique de notre étude a nécessité les milieux de culture suivants :

- ✓ Gélose PCA pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) ;
- ✓ Gélose OGA pour le dénombrement des levures et moisissures et pour l'évaluation de l'activité antifongique ;

II. Matériel et Méthodes

- ✓ Gélose MRS pour dénombrer les bactéries lactiques ;
- ✓ Gélose VRBG pour le dénombrement des coliformes totaux et coliforme thermotolérante ;
- ✓ Gélose Mueller-Hinton pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

II.1.3. Souches microbiennes : Pour l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des échantillons d'huile d'olive, nous avons utilisé deux souches, *Staphylococcus aureus* et *E.coli*. Ces souches sont fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel.

Pour la détermination de l'activité antifongique des extraits des échantillons d'huile d'olive, nous avons utilisé deux souches fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel qui sont *Aspergillus syolow* et *Penicillium notatum*.

II.2. Méthodes

II.2.1. Contrôle organoleptique : L'évaluation descriptive de la qualité des 3 échantillons de l'huile d'olive a été exécutée par un groupe de 5 dégustateurs, nous avons donné pour chaque personne une quantité suffisante des huiles étudiées, cette évaluation organoleptique a été réalisée selon les directives du Conseil Oléicole International (**C.O.I, 2015**) :

Cette analyse sensorielle comprend trois étapes principales à savoir l'analyse visuelle, olfactive et gustative. Le groupe des membres du jury détecte la présence des différents attributs dans les échantillons d'huile d'olive (prononce sur le goût, l'odeur et la couleur) et mesure leur intensité dans une balance de 0 – 5 et doit remplir le questionnaire de dégustation tel décrit par le règlement du **CE N°2568/91**. Etant donnée l'impossibilité de faire le test organoleptique dans un endroit équipé, nous avons réalisé des séances de dégustation avec un éclairage léger.

Les échantillons de l'huile d'olive à analyser sont présentés dans les verres, chaque verre doit contenir une quantité suffisante d'huile, ceux-ci doivent être tenu à la lumière de jour, afin de déterminer la couleur et la clarté. Le dégustateur doit prendre le verre est l'incliner légèrement et dans cette position il le fera tourner entièrement afin d'en mouiller le plus possible la surface intérieure. Après cette opération, il doit flaire l'échantillon par des inspirations suaves, lentes et intenses, pour pouvoir se faire un critère sur l'échantillon soumis à son appréciation. La durée de l'olfaction ne doit pas dépasser 30 secondes, si pendant le temps le dégustateur n'est parvenu à aucune conclusion, il doit faire une pause avant de procéder à une nouvelle tentative.

II. Matériel et Méthodes

Une fois conclu l'essai olfactif, il est procédé au jugement de la flaveur. Pour ce faire, il prend une petite gorgée d'huile de 3 ml environ. Il est très important de distribuer l'huile sur toute la cavité buccale. Il est aussi recommandé de rincer la bouche avec un peu d'eau et laisser au moins 15 minutes avant de procéder à la dégustation suivante.

Chaque personne doit établir à la fin de chaque jugement une note organoleptique qui allait de 0 à 5 (**Pinat et al., 2004**) :

- 0 : Convient à une huile éliminée avec défaut ;
- 1 : Éliminée qualité moyenne ;
- 2 : Correcte ;
- 3 : Huile de qualité ;
- 4 : Huile remarquable, typique ;
- 5 : Huile exceptionnelle.

II.2.2. Contrôle microbiologique : Les analyses microbiologiques ont portés sur le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), des coliformes totaux et thermotolérants (CT et CTT), des levures et moisissures (L et M), et des bactéries lactiques (BL) :

II.2.2.1. Préparation des dilutions décimales : Avant tout, nous avons essayé de récupérer l'ensemble de la microflore de chaque échantillon sur de lait stérilisé. Pour se faire, nous avonsensemencé chaque tube de lait stérilisé par un ml d'huile d'olives de l'échantillon correspondant. Après incubation à 37°C/24h, la présence d'une microflore se manifeste par la coagulation ou un début de coagulation du lait.

Après lecture et confirmation de la coagulation du lait de chaque échantillon, une série de dilutions en cascade dans de l'eau physiologique (NaCl à 0.9%) stérile a été réalisée depuis la dilution 10^{-1} jusqu'à la dilution 10^{-6} . Les dilutions sont obtenues dans des tubes à essais de 16/160 mm à partir de 1 ml de solution et 9 ml d'eau physiologique stérile (**Esmail et al., 2014**).

II.2.2.2. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile : Les colonies des FMAT se présentent sous forme lenticulaire en masse. La flore totale aérobie mésophile renseigne sur la charge bactérienne globale, a été estimée sur milieu PCA (Plate Count Agar) incubée 24 h à

37°C et est exprimée en UFC [unités formant colonies]. 1ml de la dilution décimale 10^{-3} a été étalée en surface du milieu de culture PCA, ensuite, les boîtes ont été incubées à 37° C pendant 24 heures (**Larpen, 1997**).

II.2.2.3. Dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants : Les coliformes totaux et thermotolérants du tube digestif de l'homme et des animaux sont des indicateurs de qualité hygiénique (contamination fécale). Le dénombrement est effectué sur milieu VRBG (Violet Red Bile Glucose) après 48 h d'incubation à 37°C pour les coliformes totaux et 44°C pour les coliformes fécaux (**Esmail et al., 2014**).

L'ensemencement s'est fait en masse, en faisant déposer dans une boîte de Pétri 1ml de la dilution 10^{-3} , puis coulée la gélose VRBG chauffée et refroidie à 45°C. Les boîtes ont été laissées solidifier, et l'incubation a été faite à 37°C pendant 48 heures. La même technique a été appliquée pour le dénombrement des coliformes thermotolérants, mais l'incubation a été faite à 44° C pendant 48heures (**Guiraud, 1998**).

Après incubation, les colonies à considérer comme coliformes sont violettes, d'un diamètre voisin de 0.5 à 1mm, et entourées d'un halo de précipité des sels biliaires.

II.2.2.4. Recherche et dénombrement des levures et moisissures : L'évaluation de l'abondance des levures et moisissures s'est faite sur le milieu gélosé OGA (Gélose glucosée à l'oxytétracycline) après incubation 48 h à 30°C pour les levures et 3 à 5 jours pour les moisissures à la température ambiante. 1ml de la dilution décimale 10^{-3} a été étalé en surface du milieu OGA. Après incubation, e nous avons dénombré toute colonie blanche sphérique et filamenteuse (**Campaniello et al., 2005**).

II.2.2.5. Dénombrement de la flore lactique : Le milieu le plus connu pour la numération est le MRS (Man- Rogosa -Sharpe). Les colonies sont dénombrées après 24 h d'incubation à 30°C. 1ml de la dilution décimale 10^{-3} a été étalé en surface du milieu MRS déjà coulée et solidifié. Les boîtes sont incubées à 37° C pendant 24h. Les colonies de bactéries lactiques se présentent sous formes lenticulaire, blanchâtre, transparente et de petite taille (**Larpen, 1997**).

II.2.3. Qualité physicochimique

II.2.3.1. Qualité chimique

a. Détermination du pH : Il a été mesuré par un pH mètre préalablement étalonné avec des solutions tampon, la méthode consiste à plonger l'électrode du pH mètre dans l'échantillon et lire la valeur enregistrée sur écran (**Campaniello et al., 2005**).

b. Indice d'acide et l'acidité oléique : L'indice d'acide est déterminé par mise en solution d'une prise d'essai de 1g dans 50 ml d'éthanol en présence de phénophtaléine, comme indicateur coloré, suivi d'un titrage des acides gras libres présents avec une solution d'hydroxyde de potassium 0.1N. Un essai à blanc est effectué en parallèle dans les mêmes conditions mais sans matières grasses pour titrer la potasse mise en jeu (**C.O.I, 2009 ; Chimi, 2001**). L'indice d'acide est déterminé suivant la formule suivante :

$$Ia = (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) \times 56.1 \times N / P$$

Avec :

- V_{blanc} : volume de KOH utilisé lors de la réaction du blanc ;
- V_{essai} : volume de KOH utilisé lors de la réaction de l'essai ;
- **56.1** : masse molaire de **KOH** ;
- **N** : la normalité de **KOH = 0.1N** ;
- **P** : prise d'essai **1g**.

L'acidité oléique est obtenue directement par la formule suivante (**Lecheb et al., 2015**) :

$$\text{L'acidité oléique\% (A)} = \frac{1}{2} \times Ia$$

c. Indice de peroxyde : L'indice de peroxydes, exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'huile ($\text{meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ d'huile), est déterminé par la mise d'une solution de 1g d'huile d'olive dans 12,2 ml d'une solution d'acide acétique /chloroforme (3:2, V/V) à laquelle est ajouté 15 ml d'une solution saturée de KI. Le mélange est placé par la suite pendant 15min à l'obscurité, puis 60 ml d'eau distillée et 1ml d'une solution d'empois d'amidon (une couleur violette apparaît) sont additionnés. A la fin, la solution est titrée avec du thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ à 0,001N) jusqu'à la disparition de la couleur violette. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions en remplaçant l'huile d'olives par de l'eau distillée (**Salvador et al., 2003**). Les résultats s'expriment comme suit :

$$I_p (\mu\text{g d'O}_2/\text{g}) = (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) \times 80 / 5P$$

Avec :

- V_{blanc} : le nombre de millilitre de thiosulfate de sodium versé dans le blanc ;
- V_{essai} : le nombre de millilitre de thiosulfate de sodium nécessaire pour le dosage proprement dit ;
- P : prise d'essai (g).

d. Indice de saponification : L'indice de saponification est déterminé selon la méthode décrit par **Lecoq (1965)**. Pour cela, 1g d'huile d'olive est ajouté a 25ml de potasse alcoolique, après agitation, le mélange est porté à l'ébullition pendant 15min en agitant de temps en temps, après refroidissement, 5 gouttes de phénol phtaléine sont additionnés au mélange. L'excès de potasse est titré par l'acide chlorhydrique 0.5N jusqu'à décoloration.

Un essai à blanc est effectué en parallèle dans les mêmes conditions mais sans matière grasse pour titrer la solution de potasse mise en jeu. L'indice de saponification est exprimé par la formule suivante :

$$I_s = (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) \times N_{\text{HCl}} \times PM_{\text{KOH}} / P$$

Avec :

- V_{blanc} : volume de l'HCl 0.5N utilisé lors de la réaction du blanc;
- V_{essai} : volume de l'HCl 0.5N utilisé lors de la réaction de l'essai;
- $N_{\text{HCl}} = 0.5N$: normalité de la solution d'acide chlorhydrique;
- $PM_{\text{KOH}} = 56.1 \text{ g/mol}$: poids moléculaire de potasse alcoolique;
- P : prise d'essai (g).

e. Indice d'iode : La détermination de cet indice nécessite la préparation du réactif de *Hübl* 24heures à l'avance et le conserver à l'abri de la lumière. Sa préparation nécessite la dissolution d'une part 25g d'iode dans 500 ml d'alcool éthylique pur à 96° ; et d'autre part 20g de chlorure de mercure (bichlorure de mercure) dans la même quantité d'alcool. Le réactif est obtenu par mélange à volume égale des deux solutions précédentes (**Lecoq, 1965**).

L'indice d'iode est évalué par la méthode de **Lecoq (1965)**. 0.3g d'huile est dissout dans 10ml de tétrachlorure de carbone, ensuite 25 ml du réactif de *Hüb* sont ajoutés. Cette préparation est abandonnée à l'obscurité pendant 12 à 24 heures.

II. Matériel et Méthodes

Un essai à blanc est effectué en parallèle dans les mêmes conditions mais sans matière grasse. Après la durée citée précédemment, 20 ml de la solution d'iodure de potassium à 30% et 300 ml d'eau distillée sont ajoutés au mélange. A noter qu'il faut agiter énergiquement à la fin du dosage pour permettre à l'iode dissous dans le tétrachlorure de carbone de repasser en solution aqueuse. L'indice d'iode est exprimé par la formule suivante :

$$Ii = 1.269 \times (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) / p$$

Avec :

- **P** : prise d'essai (g) ;
- **V_{blanc}** : le nombre de millilitre de thiosulfate de sodium 0.1% versé dans le blanc ;
- **V_{essai}** : le nombre de millilitre de thiosulfate de sodium 0.1% nécessaire pour le dosage proprement dit.

f. Indice d'ester : L'Indice d'ester est la masse en milligramme de potasse requise pour la saponification à chaud des esters contenus dans un gramme de corps gras. Il est calculé à partir de l'Indice d'Acide (Ia) et l'Indice de Saponification (Is). Il permet d'évaluer une éventuelle hydrolyse des triglycérides (**FAO, 1979**). L'Indice d'Ester est calculé selon l'équation suivante :

$$Ie = Is - Ia$$

Avec :

- **Is** : indice de saponification ;
- **Ia** : indice d'acide.

i. Recherche du glycérol : Le glycérol est mis en évidence selon la technique de **Lecoq (1965)**. Brièvement, dans un tube à essai une goutte d'huile d'olives à étudier est ajoutée à 3ml de la soude 5% préparée dans l'alcool et 0.5ml de la solution de sulfate de cuivre saturée. Une réaction à blanc est préparée dans les mêmes conditions en mettant à la place d'huile du glycérol. Par la suite l'intensité de la couleur obtenue pour chaque échantillon est comparée par rapport à celle du témoin.

II.2.3.2. Qualité physique

a. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles : La détermination de la teneur en eau et en matières volatiles est réalisée selon la méthode **ISO 662 : 1998**. Elle est faite par un chauffage d'une partie d'essai à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ jusqu'à élimination complète de l'humidité et des substances volatiles et détermination de la perte de masse.

Pour cela, 10 g de l'huile d'olive sont pesés dans un creuset déjà séché et pesé, le creuset contenant l'échantillon à testé est laissé pour une heure dans l'étuve réglé a 103°C . Après cette période, l'échantillon est laissé refroidir puis pesée, nous avons répétée l'opération jusqu' avoir un poids constant. La teneur en eau et matière volatiles est ainsi exprimé en % en masse égale à :

$$W = (m_1 - m_2) \times 100 / (m_1 - m_0)$$

Avec :

- **W** : la teneur en eau et en matières volatiles (%) ;
- **m₀** : masse en gramme du creuset vide (g) ;
- **m₁** : masse en gramme du creuset et de l'échantillon avant chauffage (g) ;
- **m₂** : masse en gramme du creuset et de l'échantillon après chauffage (g).

b. Mesure de la teneur en impuretés insolubles : Selon la norme **ISO 663, 2000**, les impuretés sont des substances autres que l'eau et les solvants et qui ne correspondent pas aux glycérides, aux acides gras et aux saponifiables constitutifs des huiles. Ce sont des matières insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants tels que l'hexane. Le principe se résume en un traitement du produit par un excès de solvant, puis une filtration de la solution, un lavage des résidus avec le même solvant (hexane) avant de le sécher à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ jusqu'à avoir une masse constante.

Pour la détermination de ce paramètre, nous avons appliqué la méthode décrite par **Aboutayeb (2007)**. Dans un premier temps, 10g (m) d'huile d'olive sont pesés dans une fiole de 250ml, puis additionné de 200 ml de l'hexane. La fiole est bien bouchée, agitée vigoureusement puis laissée reposer pendant 30 minutes à une température ambiante. Dans un deuxième temps, un papier filtre a été séché dans une étuve à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, puis refroidi, par la suite il a été pesé (m_0) et placé dans un entonnoir. Le contenu de la fiole a été versé dans l'entonnoir pour une filtration, suivi d'une application de lavage avec de l'hexane, jusqu'à disparition complète de l'huile. Le papier filtre a été égoutté, séché à l'étuve puis pesé (m_1). Le taux d'impuretés est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Impuretés(\%)} = (m_2 - m_1) \times 100 / m_0$$

Avec :

- **m₀** : masse en gramme de prise d'essai (g) ;
- **m₁** : masse en gramme du filtrat une fois séché à l'étuve (g) ;
- **m₂** : masse en gramme du filtrat et du résidu sec (g).

c. Détermination du point de solidification et de fusion : Pour la détermination du point de fusion et de solidification, nous avons introduit dans un tube à essai un volume d'huile d'olive, ce dernier est placé au réfrigérateur en vérifiant l'évolution de l'abaissement de la température jusqu'à l'obtention d'un solide. A l'aide d'un thermomètre, nous avons déterminé la température de solidification. Ensuite, le même tube à essai est porté au bain Marie à 30°C pour la détermination du point de fusion au cours du réchauffement (**Admin, 2009**).

d. Détermination du point de fumée : Un volume de 20ml de l'huile étudiée est transféré dans un creuset, celui-ci est placé sur une plaque chauffante pour être chauffé jusqu'à ce que la fumée devienne visible. A ce moment, nous avons enlevé le creuset et mesurer par un thermomètre la température de l'huile qui sera approximativement le point de fumée (**Lecoq, 1965**).

e. Détermination de la densité relative : Une fiole de 20ml est nettoyée, séchée puis pesée, ensuite, elle est remplie par l'eau distillée jusqu'au trait de jauge et placée dans le bain Marie à 20°C pendant 20 minutes. Après cette période, la fiole est retirée et bien essuyée puis pesée, la masse est notée. Nous avons réalisé le même essai avec l'huile d'olive (**Lecoq, 1965**). La densité relative est exprimée comme suit :

$$D \text{ (g/cm}^3\text{)} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

Avec :

- **m₀** : masse de la fiole vide (g) ;
- **m₁** : masse de la fiole pleine d'eau (g) ;
- **m₂** : masse de la fiole pleine d'huile (g) ;
- **D** : densité de l'huile à température de 20°C.

f. Détermination des coefficients d'extinction K₂₇₀ et K₂₃₂ : Les extinctions spécifiques K₂₃₂ et K₂₇₀ sont calculés comme suit : une prise d'essai de 0,1g de l'huile d'olive est ajoutée à 10ml de

cyclohexane. Après homogénéisation, les extinctions ont été mesurées aux longueurs d'onde 232 et 270nm. Pour la variation de l'extinction spécifique (ΔK), l'absorbance de l'échantillon d'huile d'olive a été mesurée aux longueurs d'onde 266 nm et 274 nm.

Les valeurs d'extinctions spécifiques à 232 nm et 270 nm sont calculées selon la formule suivante (Pinatel et al., 2004):

$$K = A_k / C \times S$$

Avec :

- A_k : absorbance à la longueur d'onde k ;
- C : concentration de la solution en g/100 ml ;
- S : Chemin optique (1 cm).

i. Indice de réfraction : Les mesures de l'indice de réfraction sont effectuées avec un réfractomètre, la température est fixées à 20°C, on place des gouttes d'huile sur le réfractomètre, on dirigé se dernier vers la lumière et on li la valeur comprise entre la zone sombre et celle claire (Santos, 2012).

II.2.4. Analyse de la composition

II.2.4.1. Détermination de la composition en acide gras : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) a été utilisée pour déterminer la composition en acide gras selon la méthode officielle de la Réglementation de la Communauté Européenne (European Community Regulation, 1991).

Brièvement, 3gouttes d'huile sont reprise par 5ml d'heptane dans un tube est le contenue est agité pendant 2 secondes toute en maintenant le tube bouché. Ensuite, 0.2ml de la solution méthanolique d'hydroxyde de sodium (2mol/l) est ajouté et le tube est agité vigoureusement pendant 10 secondes, ensuite placé dans un bain marie à 50°C pendant 20 secondes tout on continuant de maintenir le bouchon fermé. Après se délai, te tube est agité encore une fois pendant 10 seconde puis 0.4ml d'HCl methanolique (1 mole/l) est additionné suivi d'une agitation. Apres décantation, la phase organique contenant les esters méthylique est recueillie et diluée 10 fois dans de l'heptane, puis transverses vers le flacon d'analyse de la chromatographie de la phase gazeuse (European Community Regulation, 1991).

II. Matériel et Méthodes

Nous avons utilisé un chromatographe QP 210 de SHIMADZU avec un détecteur de type spectromètre de masse. Le gaz vecteur choisi a été l'hélium N 55 dans le débit a été fixé a 0.7 ml/min. une colonne capillaire SE 30 (25m 0.25 mm, épaisseur du filme : 0.25 µm) a été utilisé. L'injection se fait en mode Split. La température du four augmente de 60°C (1min) a 180°C a raison de 20°C/min, puis de 180°C a 230°C a un débit de 4°C/min jusqu'à une température de 230°C pour y rester 15 min.

L'identification a été réalisé par comparaison des résultats (pics) avec la bibliothèque de spectre de masse (NIST) comportant des références pour 147 198 molécules différentes (**European Community Regulation, 1991**). Cette banque de donnée fournit pour chaque spectre une liste de substances avec leur poids moléculaire, leur pic de base, leur pureté et leur fit (ajustement) pour le spectre. Nous avons choisi les fîtes les plus élevés révélateurs que la substance correspond le mieux au spectre de masse.

II.2.4.2. Dosage des caroténoïdes totaux : L'échantillon est préparé par la dissolution de 1g d'huile dans 9ml d'hexane. Après agitation, le dosage des caroténoïdes est réalisé par le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm qui correspond au maximum d'absorbance de β- Carotène. La cuve témoin étant remplie d'hexane. Si l'absorbance est supérieure à 0.80, nous procédons à des dilutions pour obtenir une valeur comprise entre 0.20 et 0.80. L'extinction spécifique **E** de l'huile étudiée est calculée à la longueur d'onde de son maximum d'absorption (450nm) (**Wolf., 1968**).La teneur en caroténoïdes est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en caroténoïdes} = E \times 10^5 / 2650 \text{ ppm.}$$

II.2.4.3. Dosage de la teneur en chlorophylles : La méthode de **Wolff (1968)** a été utilisée pour déterminer la teneur en chlorophylles. 5 ml d'huile d'olives sont dissout dans 5 ml de tétrachlorure de carbone. Après homogénéisation, les absorbances sont mesurées à 670, 630 et 710 nm. La teneur en chlorophylles est calculée selon la formule suivante :

$$T_{\text{ch}}(\text{ppm}) = \frac{A_{670} - (A_{630} + A_{710}) / 2}{0.1086. L}$$

Avec:

- **T_{ch}** : teneur en chlorophylle en ppm ;
- **A** : absorbance à la longueur d'onde indiqué ;

- **L** : la largeur de la cuve en cm.

II.2.4.4. Détermination de la teneur en polyphénols

a. Préparation des extraits méthanoliques : Une prise d'essai de 5 g d'huile d'olive et 10 ml d'hexane ont été bien mélangés au vortex, 10 ml du mélange méthanol/eau (6v/4v) a été ajouté puis l'ensemble a été agité au vortex. Le volume total a subi une séparation par centrifugation ou la phase supérieure est récupérée et cela toute en répétant le processus de centrifugation (**Li et al., 2007**).

b. Dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu : La teneur en polyphénols totaux de l'huile a été estimée par la méthode de **Li et al. (2007)**. Dans des fioles de 25ml, un volume de 0.5ml du réactif Folin-Ciocalteu est ajouté à 0.2ml de l'extrait de polyphénols totaux. Après 3minutes, un volume de 4ml de Na₂CO₃ (1M) est ajouté à la solution et complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de la jauge. Un blanc est préparé dans les mêmes conditions. Les fioles sont maintenues à l'obscurité pendant 90min et l'absorbance est mesurée à 765nm.

La lecture de la densité optique à 765nm permet de déterminer la concentration des polyphénols en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g d'extrait).

II.2.4.5. Dosage des ortho-diphénols : Les orthodiphénols ont été extraits selon la méthode décrite par **Tsimidou et al., (1992)**, elle est basée sur la formation de complexe jaune, entre les ortho-diphénols et les ions molybdate, qui absorbent au voisinage de 370 nm.

Dans un premier temps, un volume de 5 ml du mélange méthanol/eau (1 :1) est ajouté à 0,5 ml d'extrait méthanolique, par la suite, 4 ml du mélange est additionné à une solution de molybdate de sodium dihydratée à 5% dans l'éthanol-eau (V/V), le mélange est agité vigoureusement au vortex pendant 1min, puis mis à l'obscurité pendant 15min. L'absorbance est mesuré à 370 nm.

Les teneurs en ortho-diphénols des échantillons sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage (annexe 06) réalisée avec de l'acide caféique comme standard. Les résultats sont exprimés en mg d'E.A.C./Kg d'huile d'olive.

II.2.4.6. Analyse qualitative des polyphénols par HPLC : Ce dosage nécessite d'abord une extraction des polyphénols qui a été réalisée selon la méthode d'**Amarowicz et al. (2005)**. 20µl

II. Matériel et Méthodes

de chaque extrait a été injecté sur une colonne de type phase inverse C18, de dimensions égales à 125x406 nm. La phase mobile est constituée de trois éluant, Méthanol/ Eau distillée/ Acide Acétique (50 :47 :3). Le gradient d'éluion appliqué est de type isocratique étalé sur 10min. Le débit est de 0.4ml/min.

La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde égale à 254nm.

II.2.4.7. Dosage des flavonoïdes : La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour le dosage des flavonoïdes totaux (**Bahorun et al., 1996**).

Un volume de 1ml de chaque extrait est mélangé avec 1 ml de la solution AlCl₃ (2 %). Après agitation et homogénéisation, le mélange est incubé à l'abri de la lumière, à la température ambiante pendant 1h. Au bout de ce temps, l'absorbance maximale est mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

La détermination de la teneur en flavonoïdes a été réalisée par référence à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

II.2.4.8. Dosage des tanins condensés : Pour la détermination de la teneur en tanins condensés, 3ml de mélange butabol-HCl (95V/5V) et 0.1 ml du réactif ferrique (2% de sulfate d'ammonium ferrique dans 2M d'HCl) sont ajoutés à 0.5 ml d'extrait de l'huile d'olive. Le mélange est mis dans le bain Marie à 90°C pendant 1h, après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 550 nm (**Moksimovic et al., 2005**). La teneur en tanins condensés est calculée par la formule suivante :

$$C \text{ (mg/100g)} = AB \times 78.26 \times DF$$

Avec :

- **AB** : Absorbance ;
- **DF** : Facteur de dilution.

II.2.4.9. Dosage de potassium, calcium et de sodium par spectrophotométrie à flamme

Après calcination de l'huile à 450°C et dissolution des cendres dans l'acide nitrique, la détermination de la teneur en potassium, en sodium et calcium obtenus dans l'extrait minéralisé s'est effectuée par spectrophotométrie à flamme (**Pauwels et al., 1992**).

Les taux de potassium, calcium et de sodium des trois échantillons sont déterminés à partir des courbes étalons.

II.2.4.10. Dosage des métaux lourds : Dans un tube contenant 1 ml d'acide chlorhydrique, on dissout les cendres obtenues et on ajoute avec précaution 10 ml d'eau distillée, la solution obtenue est chauffée pendant quelques minutes au bain-Marie bouillant jusqu'à dissolution complète des cendres. Enfin, dans une fiole jaugée de 100 ml, nous versons quantitativement la solution, puis on complète à 100 ml avec de l'eau distillée (NF V 05-113, 1972).

A partir de cette solution, nous avons effectué le dosage des éléments minéraux suivant : le plomb, le cadmium, le zinc et le cuivre par spectrophotométrie d'absorption atomique.

II.2.5. Evaluation de l'activité anti oxydante

II.2.5.1. Piégeage du radical libre DPPH : 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.

Un volume de 50 µl de chaque extrait est ajouté à 05 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,004%). Après une période d'incubation à l'obscurité pendant 30 min à 25°C, la lecture des absorbances est effectuée à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Laincera et al., 2014).

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

$$I \% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100$$

II.2.5.2. Réduction du fer (FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power) : Dans cette analyse, la capacité anti-oxydante est déterminée par la mesure du pouvoir réducteur du fer ferrique (Fe^{3+}) des extraits selon le protocole décrit par Benzie et Straine (1996).

Dans des tubes à essai, un volume de 1 ml de l'extrait de chaque échantillon est mélangé avec 2.5 ml de Ferricyanure de Potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1% (m/v) et 2.5 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 mol/L (pH = 6.6). Après agitation, les tubes sont incubés au bain-

II. Matériel et Méthodes

Marie à 50°C pendant 20 min. Après, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (C₂HCl₃O₂,) à 10% sont additionnés pour stopper la réaction. Le tous est centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min.

A la fin, 2.5 ml du surnageant de chaque extrait est mélangé avec 2.5 ml de l'eau distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique (FeCl₃, 6H₂O) à 0.1% (m/v).

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 700 nm contre un blanc contenant les mêmes quantités de réactifs en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. Une augmentation de cet absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires (**annexe...**)

II.2.5.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity) : La capacité des extraits méthanoliques d'huiles à piéger le peroxyde d'hydrogène est mesuré selon le protocole décrit par **Benkeblia (2005)**, basé sur la méthode de **Rush et al. (1989)** dont le principe consiste en un suivi de la décroissance de la concentration de l'H₂O₂ par spectrophotométrie.

Un volume de 2 ml d'extrait méthanolique est ajouté à 1,2 ml d'une solution de peroxyde d'hydrogène (40 mM) préparée dans un tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4). La concentration d'H₂O₂ est déterminée spectrophotométriquement par la mesure de son absorbance à 230 nm (Coefficient d'extinction molaire = 81 (M.L⁻¹.cm⁻¹).

L'absorbance des échantillons est mesurée à 230 nm après un temps de réaction de 10 min. Le pouvoir antioxydant est exprimé en % d'inhibition du peroxyde d'hydrogène selon la formule suivante :

$$\% \text{ Piégeage H}_2\text{O}_2 = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

Avec :

- **A₀** : Absorbance de H₂O₂ ;
- **A₁** : Absorbance de l'échantillon.

II.2.5.4. Activité antioxydante totale (TAC) : La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO₄²⁻ à

II. Matériel et Méthodes

molybdène Mo (V) MoO_2^+ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (Prieto et al., 1999).

Un volume de 0.2 ml de chaque extrait méthanolique est mélangé avec 2 ml de solution du réactif suivante : 0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium. Les tubes sont vissés et incubés à 95 °C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 2 ml de la solution du réactif et 0.2 ml du méthanol, puis il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). Les expériences sont répétées 2 fois (Prieto et al., 1999).

II.2.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

II.2.6.1. Activité antibactérienne : Nous avons utilisée deux souches pour testées l'activité antibactérienne des extraits, il s'agit de *Staphylococcus aureus* et *E.coli*.

Le protocole utilisé pour ce test est celui décrit par **Canadanovic-Brunet et al. (2008)** et **Kappel et al. (2008)**. A partir d'une culture pure et fraîche de 24 heures, des colonies d'*Ecoli* et *Staphylococcus aureus* sont raclées et mises dans 9 ml d'eau physiologique. Après homogénéisation, chaque inoculum est standardisé à 625nm de manière à avoir une densité optique entre 0.08 et 0.1, soit environ 10^8 UFC/ml.

Un écouvillon stérile trempé dans chaque suspension bactérienne a servi pour ensemercer les géloses Mueller-Hinton coulées dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre avec une épaisseur d'au moins 4 mm. Des disques de papier stérile de 6 mm de diamètre sont disposés à distance égale les uns des autres et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose. Une légère pression a été exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence. Chaque disque est imprégné d'un volume de 20µl d'une solution d'extrait préparé dans du méthanol/eau (80/20).

Les boîtes sont mises à 4°C pendant 2 h afin de permettre la diffusion des substances actives tout en arrêtant momentanément la croissance des germes cibles, les boîtes sont par la suite mises à incuber pendant 24 h à la température de croissance du germe cible.

II.2.6.2. Evaluation de l'activité antifongique : L'activité antifongique des différents extraits méthanoliques a été évaluée sur deux souches (espèces) fongiques, *Aspergillus sydowii* et *Penicillium notatum*.

Des boîtes contenant des cultures pure sont lavées par 10 ml d'eau distillé stérile afin de récupérer les spores fongiques, la suspension est standardisée par la suite à la concentration de 10^5 spores/ ml par dilution et en utilisant la cellule de Malassez.

Un volume de 1ml de chaque suspension fongique est ajouté à 9 ml d'un milieu OGA tiède. Après homogénéisation, le mélange est versé dans des boîtes de Pétri et laisser prendre en masse. Les extraits méthanoliques (15 μ l par puit) sont déposés. Les boîtes de Pétri (témoins et essais) sont incubées pendant 5 jours à 27° C. La croissance de filaments est relevée quotidiennement (**Kordali et al., 2003**).

II.3. Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été donnés sous forme de moyennes et écart-types. La différence entre les moyennes et de différents échantillons a été déterminée par l'analyse de variance à un facteur ANOVA (*one-way analysis of variance*) par le logiciel Origin6.0. Toutes les analyses ont été réalisées au seuil de signification de 5%. La valeur trouvée par le calcul peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur trouvée par le calcul peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que : différence non significatif : NS ; différence significatif : $p < 0.05$ (*) ; différence significatif : $p < 0.01$ (**) et différence hautement significatif : $p < 0.001$ (***) .

Résultats et Discussions

III.1. Contrôle organoleptique de l'huile d'olive

Une simple analyse chimique ne peut suffire pour déterminer la qualité d'une huile. En effet, les composés volatiles qui se développent au cours du procédé de fabrication de l'huile puis pendant son stockage sont capables de modifier l'odeur et la saveur de l'huile. Pour cela, une analyse sensorielle codifiée et détaillée a été développée par le **C.O.I** et la Communauté Economique Européenne (**CEE**). Les attributs sensoriels d'une huile ont été classés en deux catégories, les attributs positifs et les défauts.

L'analyse organoleptique permet une sélection plus rigoureuse et donc, potentiellement, une amélioration de la qualité si le producteur utilise cette méthode comme moyen de contrôle de sa production. Cette méthode est basée sur la perception de défauts (**Pinatel et al., 2004**).

Les résultats de l'analyse sensorielle de chaque dégustateur sont résumés dans les tableaux ci-dessous. Les résultats de l'analyse sensorielle ont montré que les trois échantillons d'huile d'olive étudiées possèdent des caractéristiques sensorielles d'une huile d'olives extra vierge dont aucun attribut négatif n'a été enregistré.

D'après les questionnaires remplis par les dégustateurs, et qui sont basées sur les caractères visuels, olfactifs et gustatif, nous avons remarqué qu'il y a une certaine similitude entre les 5 dégustateurs et surtout à l'égard des caractères visuels. Il a été rapporté que les caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive sont liées à la variété, au degré de maturité des fruits au moment de la récolte, aux facteurs écologiques, aux variations dans les opérations de récolte et de stockage et également à la variabilité des processus d'extraction et de stockage de l'huile d'olives (**C.O.I, 2015**).

Tableau 3 : Résultats donnés par le dégustateur 1

Nom : Bouraoui	Prénom : kamel	Date : 06/05/ 2017
Dégustation		
Visuels : couleur-intensité		
E1 : Jaune brillant - intense.		
E2 : Jaune brillant - légèrement intense.		
E3 : Jaune brillant - intense.		
Olfactif : intensité-qualité		
E1 : Odeur des olives.		
E2 : Odeur des olives - acceptable.		
E3 : Odeur des olives		
En bouche: ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et		

qualité des arômes-persistance aromatique

E1 : Pas de persistance aromatique, léger, bon gout.

E2 : Pas de persistance aromatique, léger, bon gout.

E3 : Pas de persistance aromatique, peu dance, gout acceptable.

Harmonie générale : jugement d'ensemble

E1 : Huile de bonne qualité.

E2 : Huile de qualité

E3 : Huile de qualité

Note générale de 0 à 5

E1 : 4.

E2 : 3.

E3 : 3.

Tableau 4: Résultats donnés par le dégustateur 2

Nom : Bouchireb

Prénom : Mohammed

Date : 08/05/ 2017

Dégustation

Visuels : couleur-intensité

E1 : Jaune brillant - légèrement intense.

E2 : Jaune brillant - claire.

E3 : Jaune brillant - intense.

Olfactif : intensité-qualité

E1 : Odeur des olives

E2 : Odeur des olives.

E3 : Odeur des olives - acceptable.

**En bouche: ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et
qualité des arômes-persistance aromatique**

E1 : Pas de persistance aromatique, léger, gout des olives.

E2 : Pas de persistance aromatique, léger, bon gout.

E3 : Pas de persistance aromatique, peu dance, gout acceptable.

Harmonie générale : jugement d'ensemble

E1 : Huile de qualité.

E2 : Huile de qualité

E3 : Huile de qualité moyenne.

Note générale de 0 à 5

E1 : 3

E2 : 3.

E3 : 2,5.

Tableau 5 : Résultats donnés par le dégustateur 3

Nom : Rechoui

Prénom : Samia

Date : 08/05/2017

Dégustation

Visuels : couleur-intensité

E1 : Jaune brillant – légèrement intense.

E2 : Jaune - légèrement intense.

E3 : Jaune claire.

Olfactif : intensité-qualité

E1 : Odeur des olives acceptable.

E2 : Odeur des olives - intense

E3 : Odeur des olives.

**En bouche: ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et
qualité des arômes-persistance aromatique**

E1 : Pas de persistance aromatique, gout des olives.

E2 : Pas de persistance aromatique, gout acceptable.

E3 : Pas de persistance aromatique, gout acceptable.

Harmonie générale : jugement d'ensemble

E1 : Huile de qualité.

E2 : Huile de qualité moyenne.

E3 : Huile de qualité moyenne.

Note générale de 0 à 5

E1 : 3.

E2 : 2,5.

E3 : 2,5.

Tableau 6: Résultats donnés par le dégustateur 4

Nom : Khebbache

Prénom : Naima

Date : 06/05/2017

Dégustation

Visuels : couleur-intensité

- E1** : Jaune brillant - intense.
E2 : Jaune brillant - légèrement intense.
E3 : Jaune brillant.

Olfactif : intensité-qualité

- E1** : Odeur des olives – légèrement intense
E2 : Odeur des olives.
E3 : Odeur des olives - acceptable.

En bouche: ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et qualité des arômes-persistance aromatique

- E1** : Pas de persistance aromatique, gout des olives.
E2 : Pas de persistance aromatique, léger, bon gout.
E3 : Pas de persistance aromatique, gout acceptable.

Harmonie générale : jugement d'ensemble

- E1** : Huile de qualité.
E2 : Huile de qualité acceptable.
E3 : Huile de qualité moyenne.

Note générale de 0 à 5

- E1** : 3
E2 : 2.
E3 : 2.5.
-

Tableau 7 : Résultats donnés par le dégustateur 5

Nom : Chamchem

Prénom : karima

Date : 06/05/2017

Dégustation

Visuels : couleur-intensité

- E1** : Jaune brillant - intense.
E2 : Jaune claire.
E3 : Jaune brillant - légèrement intense.

Olfactif : intensité-qualité

- E1** : Odeur des olives - intense.
E2 : Odeur des olives - légèrement intense
E3 : Odeur des olives acceptable.

En bouche: ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et qualité des arômes-persistance aromatique

- E1** : Pas de persistance aromatique, gout des olives.
-

E2 : Pas de persistance aromatique, léger, bon gout.

E3 : Pas de persistance aromatique, gout acceptable.

Harmonie générale : jugement d'ensemble

E1 : Huile de qualité.

E2 : Huile de qualité moyenne.

E3 : Huile de qualité acceptable.

Note générale de 0 à 5

E1 : 3.

E2 : 2,5.

E3 : 2.

Concernant l'analyse visuelle, tous les dégustateurs sont d'accord sur l'attribut couleur jaune (photo 6), mais il ya une variabilité sur l'intensité de la couleur, sur cette base les huiles les plus foncée sont celles codée E1 et E3, l'échantillon E2 est plus claire par rapport aux autres huiles.

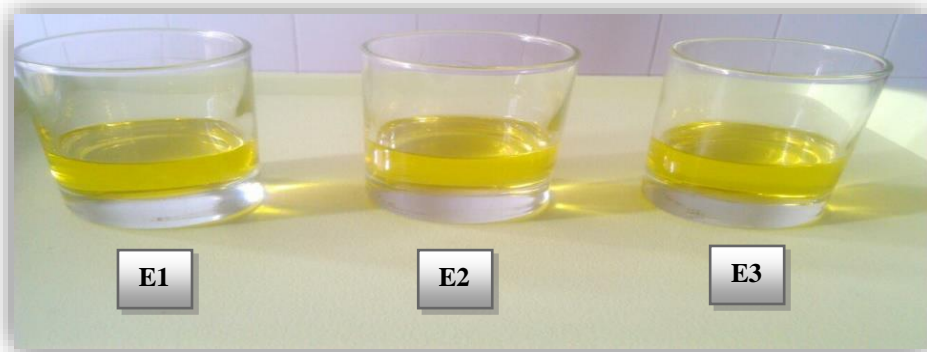


Photo 6: Aspect visuel des 03 échantillons de l'huile d'olive.

Le conseil oléicole international (**C.O.I, 2011**), a montré que la différence dans la couleur entre les échantillons d'huiles peut être due au degré de maturité des fruits, à la teneur en pigments chlorophylles et caroténoïdes, et au traitement thermique des olives avant l'extraction d'huile. Par ailleurs, selon **Fuentes (2015)**, les fruits cueillis précocement donnent une couleur plus verte, alors que la récolte effectuée plus tardivement donne une couleur jaune. De même **Haddam et al. (2014)**, ont rapporté que certaines huiles sont claires puisqu'elles ont été filtrées alors que d'autres sont opaques avec des matières en suspension. Ces huiles non filtrées sont appréciées de certains consommateurs qui sont à la recherche de produits ayant subi un minimum d'intervention.

A propos d'analyse olfactif et gustatif, chaque dégustateur a donné un avis différent pour les 3 échantillons, mais, nous avons constaté qu'il ya une unanimité entre les dégustateurs sur

l'odeur et le goût acceptable des trois échantillons. D'après **Demnati (2008)**, l'huile d'olive absorbe des substances odorantes, volatiles et liposolubles, en assumant donc des caractéristiques organoleptiques désagréables, de ce fait, cet auteur a signalé qu'il est important de s'assurer que les locaux où l'huile est stockée soient exempts de toute source d'odeurs agréables ou désagréables. De même, la concentration phénolique des huiles d'olive influence la perception des dégustateurs, étant donné que la sensation d'amertume et de piquant a été démontrée fortement en corrélation avec la concentration des polyphénols totaux (**Gawel et Rogers, 2009**).

La présence d'une flore microbienne, notamment les levures, peut modifier les propriétés physico-chimiques et sensorielles des huiles d'olive via la production d'enzymes particulières. En effet, certaines souches de levures produisent l'enzyme β -glycosidase qui hydrolyse l'oleuropéine, responsable de l'amertume (**Chimi, 2005**).

Enfin, l'analyse organoleptique est l'analyse déclassant complémentaire aux analyses physico-chimiques, et qui ne concerne que le domaine des huiles vierges. Cette analyse permet de juger à la fois de l'état des olives avant trituration (olives gelées, olives chômées par dégradation anaérobie, olives moisies) et du vieillissement de l'huile (huile oxydée à caractère rance, huile à défaut de lies par fermentation des dépôts) (**Pouyet et Ollivier, 2014**).

III.2. Qualité microbiologique de l'huile d'olive

Il est utile de signaler qu'il n'existe pas une réglementation indiquant le nombre maximal tolérable dans une huile d'olive, cependant, les organismes nationaux de normalisation tel que **AFNOR** exige l'absence des germes pathogènes ainsi que leurs toxines (**Joffin et Joffin, 2003**).

Les résultats de l'analyse microbiologique de nos 3 échantillons sont rassemblés dans le tableau 8. Il ressort du tableau que le nombre de la flore aérobie mésophile dans les échantillons d'huile d'olive est compris entre 20.10^3 et 136.10^3 UFC/ml, ou nous avons remarqué que cette dernière était plus prononcée pour l'échantillon E1, estimée de 136.10^3 UFC/ml, alors que le faible nombre étant obtenu avec l'échantillon E3 estimé de 20.10^3 UFC/ml.

Il a été rapporté que la contamination microbienne de l'huile d'olive dépend essentiellement du procédé d'extraction, des conditions opératoires adoptées, de la région et également des

III. Résultats et discussion

conditions de stockage des huiles et des caractéristiques physico-chimiques (pH, les composés phénoliques, les sels minéraux les métaux lourds les acides gras...) (Esmail et al., 2014).

Tableau 8 : Qualité microbiologique des 03 échantillons d'huile d'olive.

Echantillon	FTAM	CT	CTT	Levures	Moisissures	Bactéries lactiques
E1 (UFC/ml)	136.10 ³	00	00	198.10 ³	00	00
E2 (UFC/ml)	45.10 ³	00	00	180.10 ³	00	48.10 ³
E3 (UFC/ml)	20.10 ³	00	00	14.10 ³	00	52.10 ³

D'autre part, les coliformes totaux et thermotolérants qui sont considérés comme indicateurs de contamination fécale, sont absents dans les trois échantillons, ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Aissam (2003). Ceci est dû essentiellement à leur sensibilité aux faibles valeurs de pH, ainsi qu'à l'action antimicrobienne exercée par les composés phénoliques (Esmail et al., 2014).

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que les huiles étudiées ne présentent probablement pas de problème sanitaire et hygiénique

Par ailleurs, les résultats obtenus pour le comptage des moisissures dans nos échantillons indiquent l'absence de ces derniers dans la totalité des échantillons. Concernant les levures, nos résultats révèlent que les échantillons E1 et E2 sont les plus chargés en levures avec un nombre de 198.10³ UFC/ml et 180.10³ UFC/ml respectivement, alors que le faible nombre est obtenu avec l'échantillon E3 estimé de 14.10³ UFC/ml.

Il est bien établi que les levures pourraient modifier les propriétés physicochimiques et sensorielles des huiles d'olive vierges via la production d'enzymes particulières. En effet, certaines souches de levures produisent l'enzyme glycosidase qui hydrolyse l'oleuropeine, responsable de l'amertume (Ciafardini, 2004).

Concernant les bactéries lactiques, nos résultats ont montré que les échantillons E2 et E3 sont chargés en ces dernières avec un nombre de 52.10³ UFC/ml et 48.10³ UFC/ml respectivement, et une absence totale pour l'échantillon E1. Leur présence est un témoin de leur résistance aux milieux acides. En effet, les bactéries lactiques peuvent se développer

même à des pH inférieurs à 4. Cette résistance diminue en fonction du temps, et par conséquent leur disparition devient normale avec le temps. Le facteur de disparition est probablement lié à la présence des composés phénoliques (Esmail et al., 2014).

III.3. Contrôle physicochimique de l'huile d'olive

III.3.1. pH, indice d'acidité et acidité oléique

L'acidité est un indicateur qui permet d'évaluer l'altération de la matière grasse, consécutive à de mauvaise conservation. Elle constitue un moyen simple et efficace pour l'évaluation qualitative et la classification par catégorie commerciale des huiles d'olive. Elle est exprimée en pourcentage (%) d'acide oléique et mesurée par la quantité de potasse nécessaire à la neutralisation des acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras (Essiari et al., 2014). Le pH, l'indice d'acide et l'acidité oléique des trois échantillons d'huile analysés sont illustrés par la figure 1, ou nous avons constaté que la différence entre les résultats est significative ($p < 0.05$).

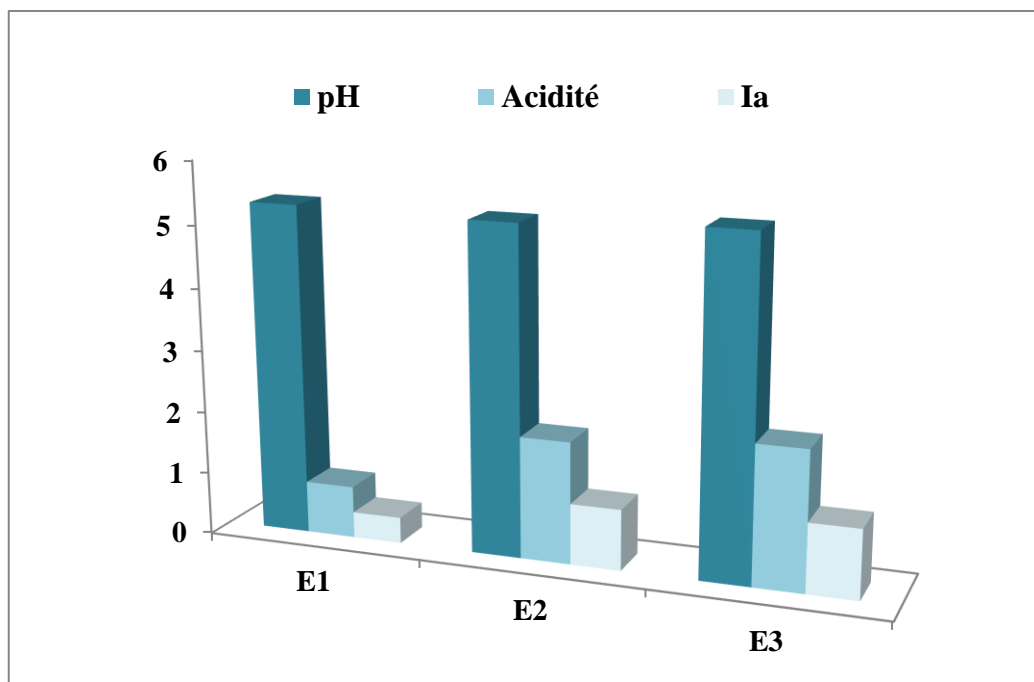


Figure 01: Indice d'acide, acidité et pH des 03 échantillons d'huile d'olive.

A partir des résultats obtenus, et sur la base de cet indice, nous avons remarqué que l'échantillon E1 et E2 ($0.84 \pm 0.39\%$, $1.96 \pm 0.39\%$ respectivement) se classe dans la catégorie « *Huile d'olive vierge* » puisque la teneur en acide gras libre des échantillons analysés reste en dessous de la norme fixée par le **C.O.I (2015)** qui est $\leq 2\%$. L'échantillon

E3 possède un indice d'acide plus élevé ($2.24 \pm 0 \%$), il se classe dans la catégorie « *Huile d'olive vierge courante* » puisque la teneur en acide gras libre de l'échantillon analysé est inférieure à la norme fixée par le **C.O.I (2015)** qui est $< 3,3\%$.

Il ressort de la figure, que les résultats de l'indice d'acide et d'acidité obtenus coïncident à ceux du pH. En effet, le pH varie entre 5.36 et 5.24 pour les trois échantillons en comparant ces valeurs à celle de la norme commerciale **C.O.I(2003)**, on constate que tous les échantillons analysés sont conformes à la norme (pH : 3.9 – 5.4). L'échantillon E3 présente la valeur la plus élevée (5.36 ± 0.007) suivi de l'échantillon E1 et E2 qui présentent un pH de 5.3 ± 0.07 et 5.25 ± 0.1 respectivement.

Ces valeurs sont plus élevées à celles rapportées par **Tanouti et al. (2010)** qui ont obtenu des valeurs d'acidité libre en dessous de 0,8%.

Le pH intervient dans le mécanisme d'oxydation des lipides, principalement en modifiant la solubilité de l'activité des catalyseurs et des inhibiteurs de l'oxydation. Une augmentation de l'acidité des huiles avec la durée de leur stockage, peut être expliquée par des réactions d'auto-oxydation et de polymérisation qui transforment les alcools phénoliques en acides phénoliques (**Esmail et al., 2014**).

Selon **Tanouti et al. (2010)**, une huile d'olive fraîchement extraite à partir d'olives saines et selon de bonnes pratiques de trituration, présente une très faible acidité. Dans le cas contraire et au cours du stockage, l'huile d'olive peut s'altérer et son acidité augmente suite à la libération d'acides gras par hydrolyse des triglycérides. De même et d'après **Ben Tekaya et Hassouna(2007)**, une huile dégradée contient de plus en plus des acides gras libres, ce qui fait croître son acidité.

Un niveau d'acidité libre élevé peut être dû à l'état de maturité très avancé des fruits, à l'insuffisance de précautions prises lors de la récolte ou du stockage des olives ce qui entraîne la détérioration des fruits et par conséquent l'augmentation élevée de l'acidité libre peut être due à la teneur en acides gras libres, sous l'action des lipases (**Boulfane et al., 2015**). Les olives peuvent subir dans ce cas des lésions qui peuvent engendrer des contaminations de l'huile et donner des huiles avec une forte acidité et des caractères organoleptiques altérés (**Tanouti et al., 2010**). Par ailleurs, **Meftah et al. (2014)**, ont rapporté qu'une acidité élevée est le résultat d'une oxydation poussée, qui se traduit par un rancissement de l'huile et qui est

due à la dégradation des acides gras insaturés (acide oléique et linoléique) et à la production de composés secondaires d'oxydation dont certains ont été prouvés nuisibles à la santé (aldéhydes, cétones, radicaux libres, hydroperoxydes). De ce fait, **Tanouti et al. (2010)**, ont rapporté que les huiles d'olive ayant une acidité supérieure à 3.3% ne sont pas comestibles, et doivent être raffinées.

III.3.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde s'intéresse au nombre d'oxygènes actifs dans les chaînes organiques d'un corps gras. Cet indice permet d'évaluer le degré d'oxydation des acides gras insaturés de la matière grasse (rancissement). Plus celui-ci est élevé, plus la matière grasse est oxydée. Cependant, cet indice n'est qu'un indicateur de début d'oxydation. Ces phénomènes sont favorisés généralement par des teneurs importantes en acides gras insaturés qui peuvent constituer dans certaines huiles plus de 80 % de leurs masses (**M'baye et al., 2011**). Il renseigne sur l'état d'oxydation d'une huile. La figure 2 représente les résultats obtenus lors de la détermination de l'indice de peroxyde.

Nous avons constaté, qu'il y a une différence très significative entre les résultats ($P < 0.01$), les valeurs illustrées par la figure 2 montrent que les teneurs en peroxydes oscillent entre 2.4 et 0,8 meq O₂/kg d'huile pour les trois échantillons. En comparant ces valeurs à celles de la norme commerciale du **C.O.I (2003)**, on constate que tous les échantillons analysés sont conformes à la norme, ce qui permet ainsi de classer ces huiles dans la catégorie *vierge extra* ($I_P \leq 20$). L'échantillon E1 présente la valeur la plus élevée (2.4 ± 0.070 meq d'O₂ / Kg) suivi de l'échantillon E3 et celui de E2 qui ont des indices comparables (0.8 ± 0.0707 meq d'O₂ / Kg).

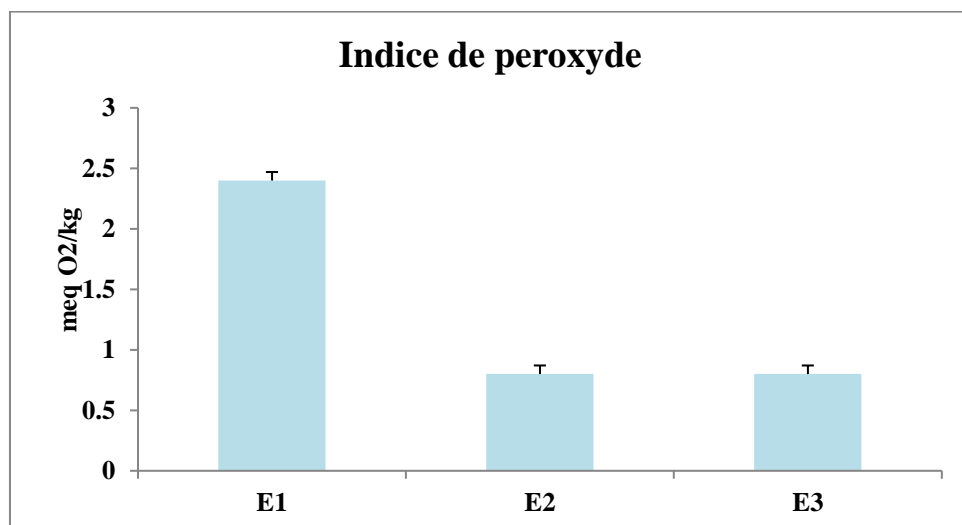


Figure 02 : Indices de peroxyde des 03 échantillons d'huile d'olive.

Ces basses valeurs de l' I_P montrent que l'huile a été extraite rapidement après la récolte des olives et qu'elle a été stockée dans des bonnes conditions. Ces résultats permettent de croire que l'huile ne s'oxydera pas prématurément et se conservera bien au cours du temps. Il faut noter que l' I_P augmente avec la maturité des olives, et surtout à la suite d'un choc thermique, consécutivement à un gel ou à un processus de fabrication défectueux. Le stockage inadapté ou prolongé, est également une des causes d'augmentation de ce paramètre I_P (**Tanouti et al., 2011**).

Ces résultats sont inférieurs de ceux trouvés par **Salvador et al. (2003)** qui ont obtenu des valeurs entre 7,8 et 12,9% dans des huiles d'olive de différentes régions oléicoles au centre de l'Espagne. De plus, ils sont moins élevés que ceux rapportés par **Bentakaya et Mnasser (2007)** sur les huiles d'olive Tunisienne où les valeurs de l'indice de peroxyde oscillent entre 6,6 et 11,5 meq O_2/kg . De plus, ils sont moins élevés que ceux rapportés par **Benabid et al. (2008)** qui ont obtenu des valeurs entre 1 et 3,3 meq O_2/kg des huiles d'olive de différentes régions oléicoles Algériennes.

L'indice de peroxyde estime l'état d'autoxydation 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 favorisant cette réaction (température élevée, eau, enzyme,...). Cette autoxydation ou rancissement aldéhydrique est due à la dégradation des acides gras insaturés (acide oléique et linoléique) et à la production de composés secondaires d'oxydation dont certains ont été prouvés nuisibles à la santé (aldéhydes, cétones, radicaux libres, hydroperoxydes) (**Chimi, 2001**). Ceci 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**).

Enfin, le phénomène d'oxydation des acides gras abouti à des modifications dans les propriétés organoleptiques, chimiques et nutritionnelles. Ces altérations affectent la qualité marchande des produits (**Judde, 2004**).

III.3.3. Indice de saponification

L'indice de saponification est par définition, la quantité de potasse exprimée en mg nécessaire pour transformer en savons les acides gras libres et liés contenus dans 1g de corps gras. La détermination de cet indice est importante, car il permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses auxquelles il est inversement proportionnel (plus le poids

moléculaire PM de la longueur moyenne d'acides gras est élevé, plus l'indice de saponification est faible) (ISO : 3657 - 2002).

Donc l'indice de saponification (I_s) est une mesure indirecte de la masse molaire des acides gras. Il permet de classer les huiles en fonction de la longueur des chaînes d'acides gras qui les composent. Les résultats obtenus pour l'indice de saponification des trois échantillons sont représentées par la figure 3.

A partir de ces résultats, nous avons trouvé que la différence entre les échantillons est non significative ($P > 0.05$). Les valeurs de l'échantillon E1 ($190,74 \pm 3.97$ mg KOH/ g d'huile), E2 ($189,335 \pm 1.98$ mg KOH/ g d'huile) et celle de E3 ($186,53 \pm 1.97$ mg KOH/ g d'huile) sont conformes à celle de la norme de **C.O.I (2015)** pour les huiles d'olive vierges, elle est fixée entre 185 et 196 mg KOH/ g d'huile. Ceci montre aussi que notre échantillon codé E1 est moins riche en acide gras à longue chaîne que les deux autres huiles, par contre les échantillons E2 et E3 présentent un indice de saponification plus faible, ce qui s'est traduit par la richesse de ces huiles en acide gras à longues chaînes et leur pauvreté en acides gras à courte chaîne.

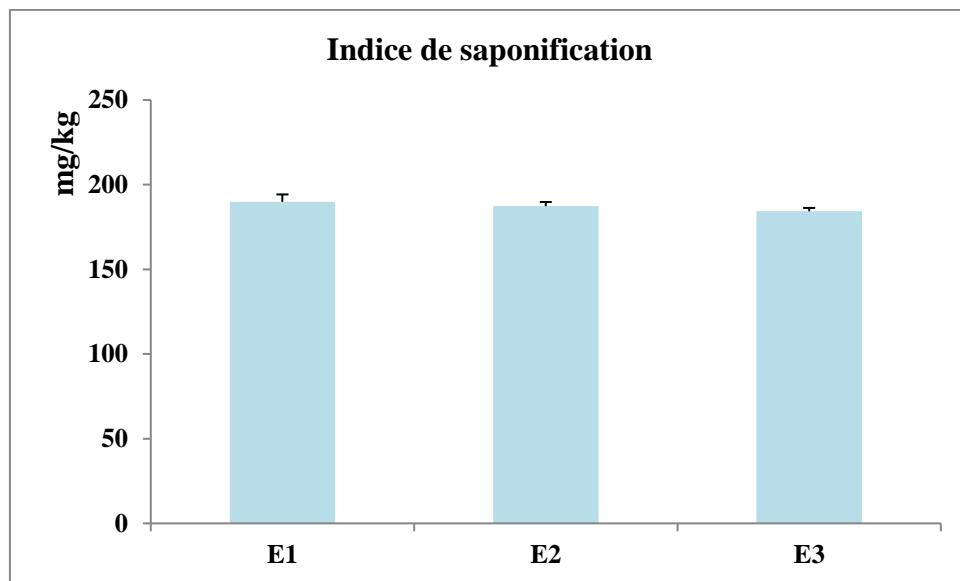


Figure 03 : Indice de saponification des 03 échantillons d'huile d'olive.

Nos résultats de la détermination de l'indice de saponification des échantillons ont donné des valeurs proches de ceux de l'indice de saponification obtenus par **Benabid (2009)** qui a fait des études sur l'huile d'olive de la région d'El Milia, cet indice s'est situé entre 182,36 - 201,05.

Enfin, d'après **Bentekaya et Hassouna, (2005)**, plus le poids moléculaire (PM) est élevé, plus l'indice de saponification est faible. En effet, plus le PM est élevé plus les chaînes carbonées des

acides gras sont longues et moins hydrolysables. Ceci rend compte que l' I_s varie inversement avec le PM des lipides.

III.3.4. Indice d'iode

L'indice d'iode, un des paramètres les plus utilisés pour la caractérisation des huiles et des graisses, permet de caractériser et de connaître le degré d'insaturation d'un corps gras. Cet indice mesure globalement le degré d'insaturation d'une matière grasse en déterminant le nombre de grammes d'iode se fixant sur les doubles liaisons présentes dans 100 g de lipides (**Ben tammime et al., 2006**).

Les résultats de l'indice d'iode des 3 échantillons étudiés sont illustrés dans la figure 04. Nous avons constaté qu'il y a une différence non significative entre les résultats ($p > 0.05$), les valeurs obtenues pour les 3 échantillons varient de 50 à 85.5 g d'iode / 100g d'huile. En comparant ces valeurs à ceux de la norme commerciale du **C.O.I (2015)**, on constate que les trois échantillons analysés sont conformes à la norme (75 – 95g d'iode / 100g d'huile).

L'échantillon E3 présente la valeur la plus élevée, évaluée à 85.5 ± 3.53 g d'iode / 100g d'huile, suivie des échantillons E2 et E1 qui ont enregistré des valeurs estimées respectivement de $80\% \pm 2.82$ et 50 ± 12.72 g d'iode / 100g d'huile. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Tchiégang et al. (2004)** qui ont trouvé que le temps de conservation n'a pas d'influence sur l'indice d'iode.

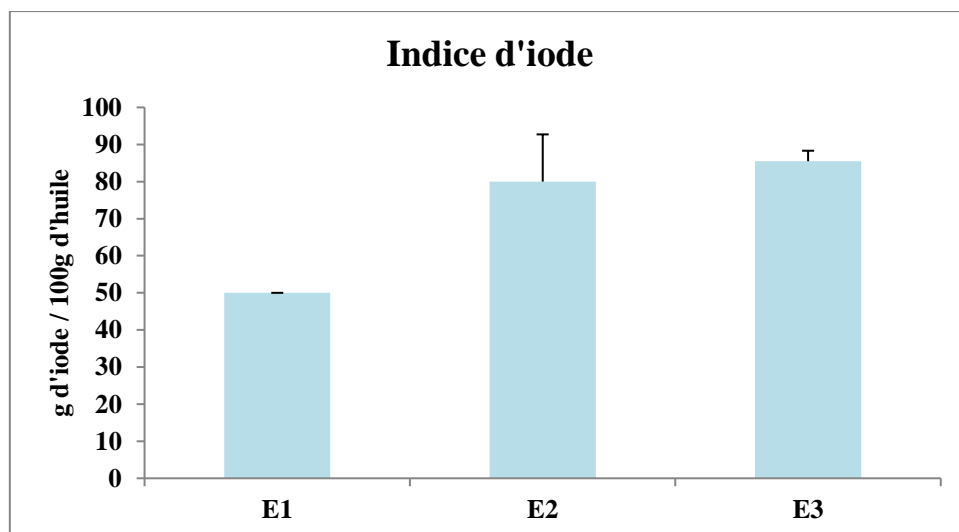


Figure 04 : Indice d'iode des 03 échantillons d'huile d'olive.

L'indice d'iode, est en rapport directe avec le degré d'oxydation d'une huile, plus une huile est insaturée plus son indice d'iode est élevé. Nos résultats montrent une corrélation proportionnelle entre l'indice d'iode et la composition en AGI des huiles étudiées (figure 05). En effet, l'échantillon E3 qui présente l'indice d'iode le plus haut, renferme la teneur la plus importante en acide gras insaturés (70.01%), en revanche, l'échantillon E1 qui a donné la valeur de l'indice d'iode la plus basse contient la teneur en acide gras insaturés la plus faible (E1=50.03%).

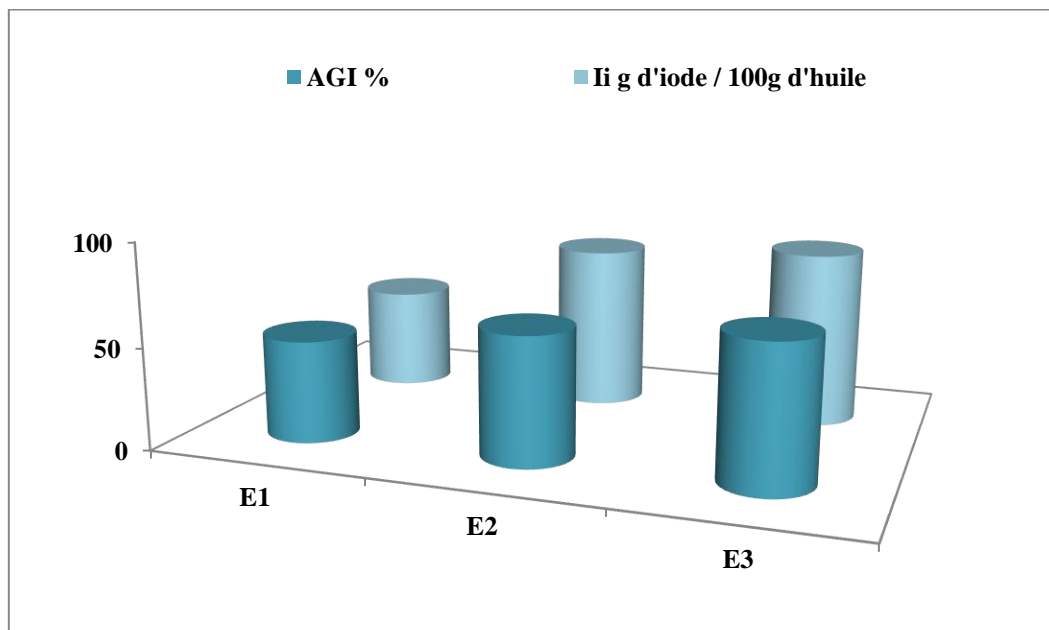


Figure 05 : Comparaison entre l'indice d'iode et la composition en acide gras insaturés des 03 échantillons d'huile d'olive.

III.3.5. Indice d'ester

L'Indice d'Ester est la masse en milligramme de potasse requise pour la saponification à chaud des esters contenus dans un gramme de corps gras (F.A.O, 1979). A partir d'indice d'acide (I_A) et d'indice de saponification (I_S) des trois échantillons d'huile d'olive, nous avons calculé l'indice d'ester (I_E) qui représente la différence entre les deux indices ($I_E = I_S - I_A$).

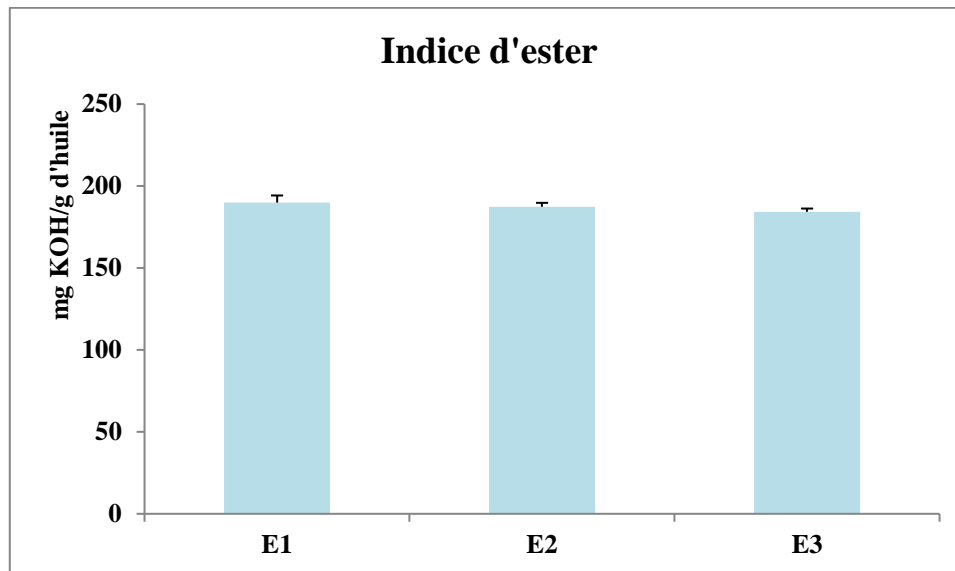


Figure 06: Indice d'ester des 03 échantillons d'huile d'olive.

Les résultats calculés ont montré que la valeur la plus élevée est celle de l'échantillon E1 ($189.899 \pm 4,36$ mg KOH/g huile) suivie par celles de E2 ($187.3755 \pm 2,38$ mg KOH/g huile) et E3 ($184.29 \pm 1,98$ mg KOH/g huile). Sachant que le taux d'hydrolyse de la matière grasse est exprimé par l'indice d'ester, une huile qui présente un indice d'ester élevé est une huile dont le nombre de moles d'acides gras libres est élevé par rapport aux nombre de moles de triglycérides. Cependant, l'indice d'Ester est un indice qui nous donne une idée sur la structure de l'huile (Selka et Tchouar, 2014).

III.3.6. Recherche du glycérol

Le glycérol se présente sous la forme d'un liquide transparent, visqueux, incolore, inodore, faiblement toxique (mais laxatif à haute dose), au goût sucré. Le glycérol peut se dissoudre dans les solvants polaires grâce à ses trois groupes hydroxyles. Il est miscible dans l'eau et l'éthanol ; et insoluble dans le benzène, le chloroforme et le tétrachlorométhane (Pete, 2005).

En 1823, le chimiste français Eugène Chevreul a démontré que les corps gras et les huiles végétales sont formés de combinaisons de glycérol et d'acides gras. Le glycérol constitue en fait l'épine dorsale des triglycérides. Le glycérol est un sous-produit de la transestérification d'huiles végétales lors de la production d'esters méthyliques d'huiles végétales (Lowen et al., 1991).

L'intensité ainsi que les notes de positivité pour une présence de glycérol dans les trois échantillons est représentées par le tableau et illustrées par la photo 7.

Tableau 9 : Résultats de la recherche du glycérol.

Echantillon	intensité de la présence de glycérol
E1	+
E2	+++
E3	++

+ : couleur peu intense ; ++ : couleur intense ; +++ : couleur très intense



Echantillon1 Echantillon2 Echantillon3 Le blanc

Photo 7 : Mise en évidence de la présence du glycérol.

En comparaison avec le témoin, on trouve que la couleur la plus intense est au niveau de l'échantillon E2 et la moins intense est au niveau de l'échantillon E1.

En effet, selon **Loussert et brousse (1978)**, les résultats de la recherche du glycérol indiquent que l'échantillon E2 peut être dû à une hydrolyse de la matière grasse, une lipolyse enzymatique qui est la conséquence de l'action des enzymes propres du fruit contenus dans sa pulpe et dans sa matière grasse ou d'une lipolyse microbienne qui est une conséquence de la flore accompagnant les olives.

III.3.7. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles

L'eau et les substances volatiles sont déterminées par les pertes de poids de l'échantillon chauffé à 103°C pendant un temps suffisant pour permettre l'élimination totale de l'eau et des produits volatiles (**C.O.I, 2011**). Les résultats de la teneur en eau des échantillons de l'huile d'olive sont illustrés dans la figure ci-dessous. Il ressort de la figure 07, que les 3 échantillons montrent une variation non significative de la teneur en eau ($p > 0.05$). Pour les trois échantillons analysés, les valeurs de la teneur en eau varient entre 0.299% et 0.19%. Les échantillons E1 et E2 possèdent la

teneur la plus élevée en eau qui est successivement de $0.299 \pm 0.001\%$ et $0.298 \pm 0.014\%$, ces valeurs sont relativement supérieures à la norme fixée par le **C.O.I (2003)** qui doit être <0.2 , alors que l'échantillon E1 à la teneur la plus faible $0.19 \pm 0.013\%$, cette valeur est conforme à la norme, dont la teneur en humidité de l'huile d'olive doit être comprise entre 0.11% et 0.2% . Nos résultats sont totalement inférieurs à celles trouvés par **Idoui (2013)**.

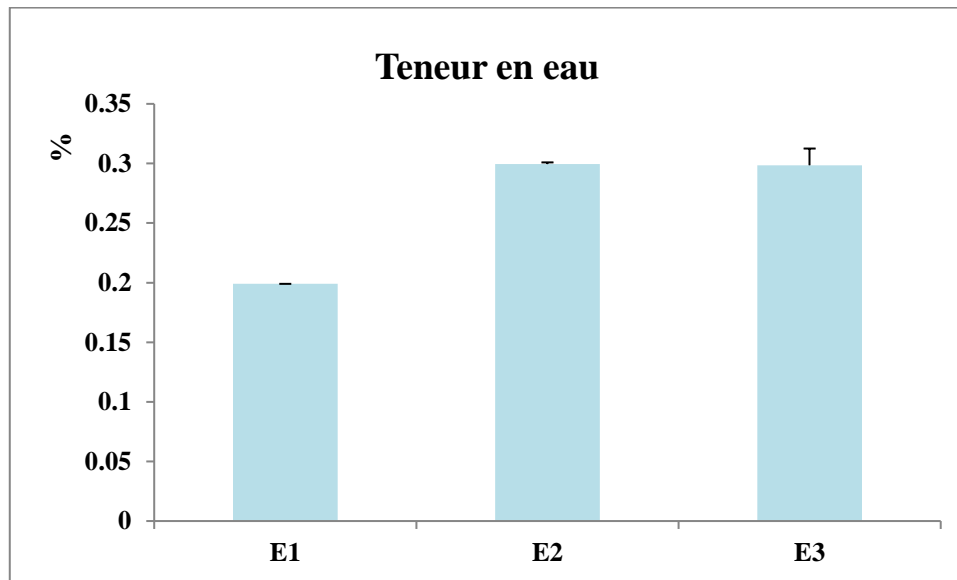


Figure 07: Teneur en eau des 03 échantillons de l'huile d'olive.

D'après **Moirence et Nicolas (2006)**, l'augmentation en humidité peut être expliquée par des problèmes techniques lors de l'extraction, plus exactement la quantité d'eau ajoutée au cours de malaxage, sinon un problème lors de la culture elle-même, ceci peut être également lié à la fréquence d'irrigation.

L'augmentation de la teneur en matière volatile peut être expliquée par l'oxydation des acides gras (**Klua et al., 2007**). Toutefois, le cultivar, la région géographique, la maturation du fruit, les méthodes de transformation sont les paramètres qui influencent la composition volatile de l'huile d'olive (**Benin casa et al., 2003**).

III.3.8. La teneur en impuretés insolubles

Les impuretés sont des substances autres que l'eau et les solvants et qui ne correspondent pas aux glycérides, aux acides gras et aux saponifiables constitutifs des huiles. Ce sont des matières insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants tels que l'hexane (**ISO 663, 2000**). Les résultats obtenus sont illustrés par la figure 08. Nous avons constaté la présence d'une différence significative ($p < 0.05$), les teneurs en impuretés oscillent entre 0.01% et 0.022% d'huile pour

les trois échantillons. En comparant ces valeurs à celles de la norme commerciale du **C.O.I (2003)**, on constate que les échantillons analysés sont conformes à la norme qui est au maximum de 0.1%. Par ailleurs, il apparait que l'échantillon E2 renferme la teneur la plus élevée (0.022 ± 0.002 %) suivi de l'échantillon E3 avec une teneur de $0.012 \pm 0.0282\%$ et enfin l'échantillon E1 avait la plus faible teneur, $0.01 \pm 0.002\%$.

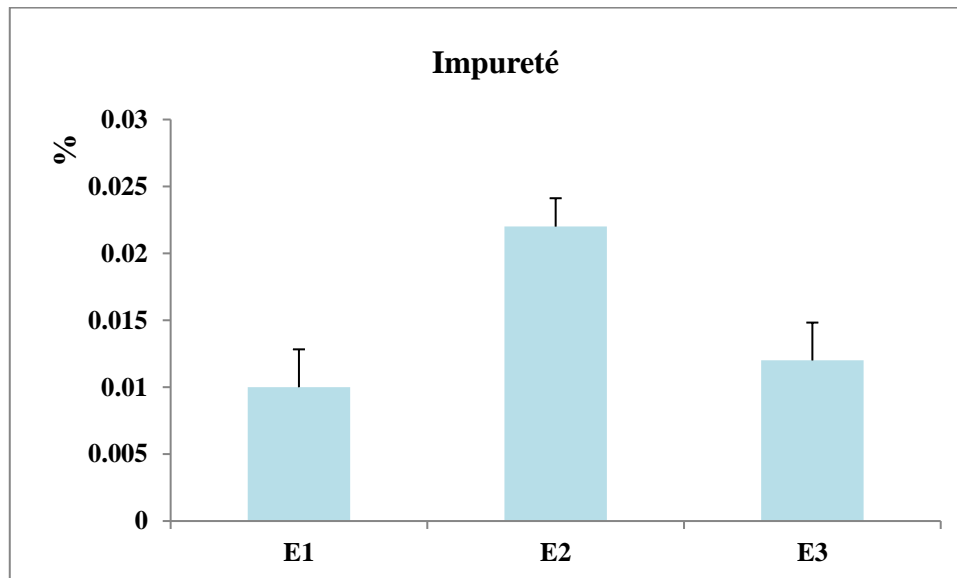


Figure 08: Teneur en impuretés des 03 échantillons d'huile d'olive.

Les résultats obtenus par **Bouteldj et Kadjoudj (2013)** sont plus élevées (0.27, 0.47, 0.60 et 2.09) que nos résultats dont les procédés d'extraction sont les mêmes, on peut alors dire qu'il n'y a pas de corrélation entre la méthode d'extraction et le taux d'impureté.

La récolte, la réception et le stockage des olives peuvent être effectués dans des conditions non favorables, un lavage insuffisant des olives, l'utilisation des matériaux non propres, tels que les machines employées pendant la fabrication des huiles, ainsi que les bouteilles utilisées pour le conditionnement augmentent le taux des impuretés dans l'huile (**Abaza et al., 2002**).

Ces résultats témoignent que l'huile a été extraite dans des bonnes conditions d'hygiène et que le système de filtration est efficace. Cela dit, **Vekiari et al. (2007)** confirment nos résultats, car d'après les résultats de leur étude le taux des impuretés des échantillons obtenus par le système de centrifugation est plus faible que celui obtenu par le système classique.

III.3.9. Détermination du point de solidification et de fusion

La figure ci-dessous représente les résultats de la détermination des points de solidification et de fusion des 3 échantillons d'huile, ou nous avons constaté qu'il y a une différence significative ($p < 0.05$). Selon les normes, les points de fusion et de solidification sont de 2 à 4 °C et 5 à 7 °C respectivement. Il ressort de cette figure que l'échantillon E2 et E3 ont les points de fusion de 3.6 ± 0.42 °C et 4 ± 0.42 °C respectivement, ceux de solidification étaient respectivement de 6.4 ± 1.97 °C et 7 ± 0 °C. Ces résultats sont conformes à la norme. Alors que l'échantillon E1 possède un point de fusion le plus faible (1.75 ± 0.35 °C), et par conséquent le point de solidification le plus bas (4.7 ± 0.70 °C). Cette différence entre les 3 échantillons peut être liée à la composition en acides gras.

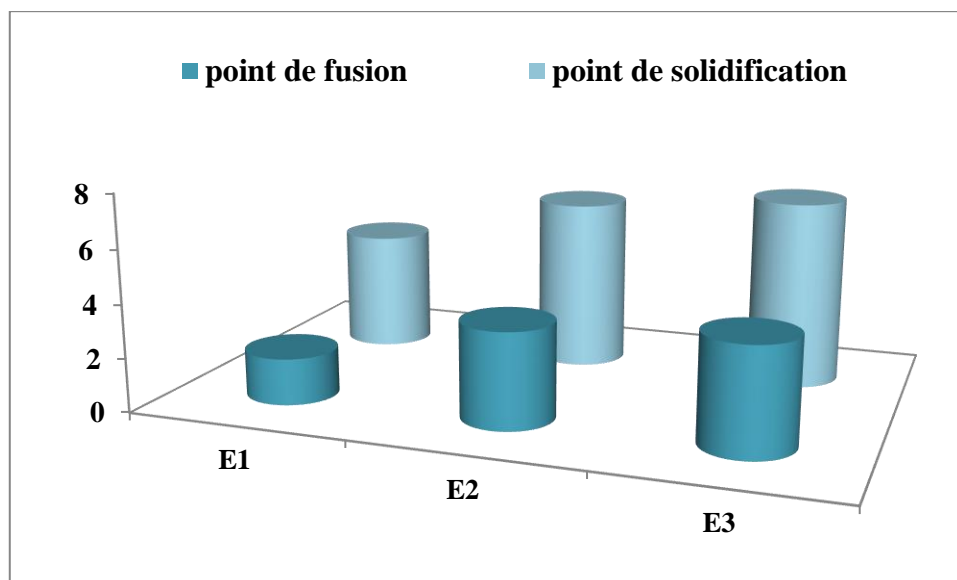


Figure 09: Point de solidification et de fusion des 03 échantillons de l'huile d'olive.

La valeur de point de fusion d'un acide gras diminue avec le degré d'insaturation et augmente avec la longueur de la chaîne carbonée. Les graisses et les huiles naturelles ne présentent jamais un point de fusion, mais une zone de fusion à cause de la diversité de triglycérides qu'elles contiennent (Morin et al., 2012). D'après Ghotra et al. (2002), les graisses et les huiles contenant des acides gras saturés à longues chaînes ont des points de fusions plus élevés que les acides gras polyinsaturés ou à courte chaînes.

Zhang et al. (2005), ont rapporté que l'estimation du point de fusion donne une idée sur le comportement rhéologique et il n'est pas fonction de la cristallinité, car celle-ci peut être

influencée par les additifs. Il est toutefois fortement dépendant de la composition du corps gras en acides gras et triglycérides.

III.3.10. Détermination du point de fumée

Les huiles chauffées au-dessus de leurs températures de fumée (point de craquage), subissent des oxydations et forment des radicaux libres nuisibles à la santé humaine. Il est nécessaire donc, de déterminer la température de fumée de chaque échantillon pour laquelle chaque huile commence à subir des transformations oxydatives (M'Bay *et al.*, 2012).

Dans le but de déterminer le point de fumée de nos huiles, nous avons procédé à un chauffage et nous avons mesuré les températures pour lesquelles, nous avons observé la fumée pour chaque échantillon. Les résultats des points de fumée des 3 échantillons étudiés sont illustrés dans la figure 10. Nous avons constaté qu'il y a une différence non significative entre les résultats ($p > 0.05$), les valeurs obtenues pour les 3 échantillons varient de 173°C à 181°C . En comparant ces valeurs à ceux de la norme commerciale du **C.O.I** ($180 - 210^{\circ}\text{C}$), on constate que l'échantillon E3 présente le point de fumée le plus élevé ($181 \pm 1.41^{\circ}\text{C}$) mais qui reste conforme à la norme, alors que les échantillons E1 et E2 présentent des points de fumée de $173 \pm 2.82^{\circ}\text{C}$ et $175 \pm 7.07^{\circ}\text{C}$ respectivement, valeurs inférieures à la norme.

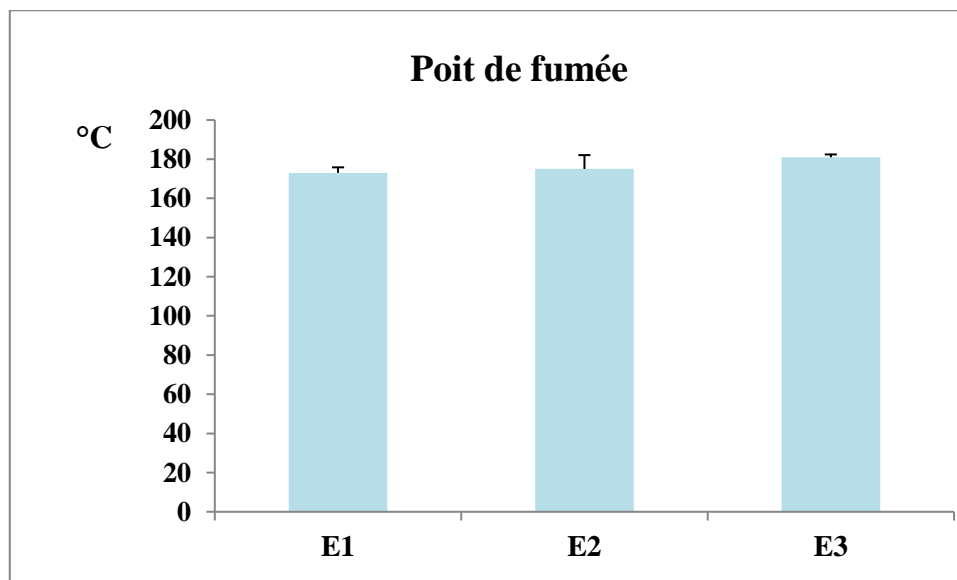


Figure 10 : Point de fumée des 03 échantillons d'huile d'olive.

Pour chaque huile, il existe une température critique appelée point de fumée ou point de craquage au-dessus de laquelle il ne faut pas chauffer l'huile. Quand l'huile atteint sa

température critique, ses composants se dégradent, forment des composés toxiques et l'huile fume toute en dégageant une odeur âcre. Il est alors préférable de jeter une huile qui a fumé ou même moussé (M'Bay *et al.*, 2012).

D'après ces résultats, on constate que l'huile d'olive E1 qui a le point de fumée le plus élevé, elle est bonne pour la cuisson à haute température (jusqu'à 181°C), au contraire le reste des échantillons d'huile analysées ne sont pas forcément bons pour la cuisson à haute température.

III.3.11. Détermination de la densité relative

La densité ou masse volumique dépend de la température et de la composition chimique de l'huile. Elle nous renseigne sur la nature de la composante en acides gras, notamment de la longueur de la chaîne, de la présence d'insaturation et de fonctionnalité sur la chaîne carbonée (Karleskind, 1992).

Les résultats de la densité relative des échantillons d'huile d'olive sont illustrés par la figure 11 ou nous avons trouvé que la différence entre les résultats est significative ($p < 0.05$).

Les valeurs obtenues pour les 3 échantillons varient de 0.834 à 0.916 g/cm³. En comparant ces valeurs à ceux de la norme commerciale **C.O.I** (0.910 - 0.916 g/cm³), on remarque que l'échantillon E3 présente la valeur de la densité la plus élevée estimée à 0.916 ± 0.088 g/cm³, qui est conforme à la norme, alors que les échantillons E1 et E2 présentent des valeurs de densité respectives de 0.834 ± 0.118 g/cm³ et 0.881 ± 0.133 g/cm³, valeurs inférieures à la norme. Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Boukeloua (2009)** qui a trouvé des valeurs entre 0,918 à 0,920 g/cm³.

Selon **Baaziz et al. (2005)**, la densité est liée directement à l'indice de saponification, si la densité de l'huile est plus grande, l'indice de saponification s'avère être faible. Nos résultats se concordent et ceux de l'indice de saponification, car nous avons constaté que l'échantillon E1 qui à la valeur de la densité la plus faible (0.834 ± 0.118 g/cm³) présente l'indice de saponification le plus élevé, tandis que l'échantillon E3 qui à la valeur de densité, la plus élevée (0.916 ± 0.088 g/cm³) présente l'indice de saponification le plus faible.

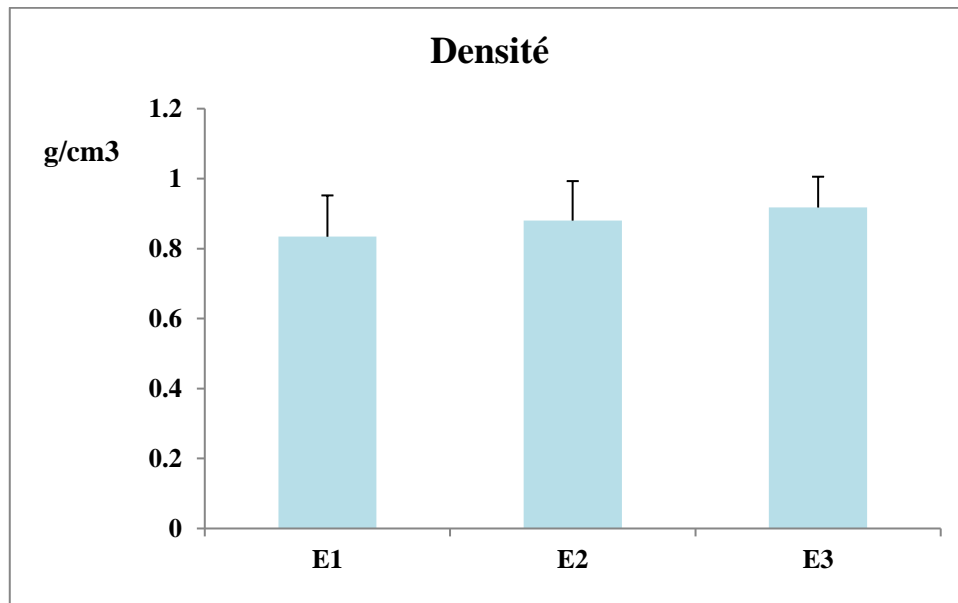


Figure 11 : Densité des 03 échantillons d'huile d'olive.

La densité des huiles est fonction non seulement de l'insaturation, mais aussi de l'état d'oxydation ou de polymérisation. Les huiles fortement acides ont une densité inférieure à celle des huiles neutres correspondantes et les acides gras ont une densité inférieure à celle de leurs glycérides (**Landrier, 2011**).

III.3.12. Détermination du coefficient d'extinction K_{270} et K_{232}

L'extinction spécifique des huiles dans l'ultraviolet constitue un paramètre important de leur qualité. En effet, à 232 nm, elle permet d'évaluer la présence de produits primaires d'oxydation des acides gras (hydroperoxydes linoléiques...), alors qu'à 270 nm les produits secondaires d'oxydation des acides gras (alcools, cétones,...) sont détectés. De nombreuses recherches ont montré que l'origine géographique n'a aucune influence significative sur ce paramètre analytique qui est fondamentalement affecté par des facteurs endommageant les fruits tels que l'attaque par les mouches, le matériel de la récolte, le transport et le stockage des olives (**Meftah et al., 2014**).

Les résultats de ce paramètre, pour les deux longueurs d'onde 232 et 270 nm, sont présentés par la figure 12. A partir des résultats obtenus, nous avons obtenu une différence significative ($p < 0.05$), tous les échantillons contrôlés présentent un coefficient d'extinction spécifique K_{232} inférieur à la limite supérieure fixée par la norme **C.O.I (2003)** ($K_{232} \leq 2.5$). Pour pratiquement l'ensemble des échantillons étudiés, nous avons noté que les valeurs des absorbances à 270 nm sont inférieures aux limites supérieures fixées par le **C.O.I (2003)** ($K_{270} \leq 0,25$).

La comparaison des valeurs moyennes des absorbances en UV des 3 échantillons, montre que l'échantillon E1, E2 et E3 possèdent des valeurs les plus faibles pour le K_{232} ($0,267 \pm 0.012$; $0,419 \pm 0.022$; 0.329 ± 0.022) respectivement et le K_{270} nm (0.137 ; 0.243 ; 0.187) respectivement.

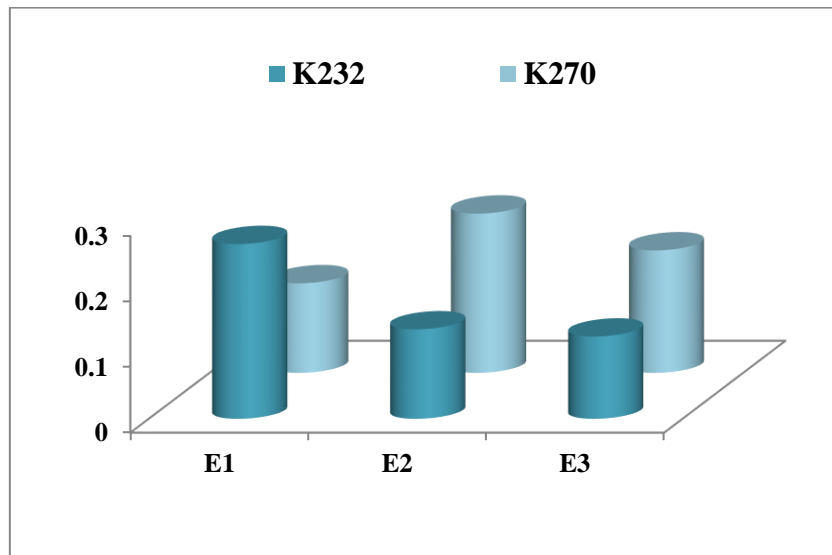


Figure 12: Absorbances en UV K_{232} et K_{270} des 03 échantillons d'huile d'olive.

Les résultats obtenus pour l'extinction spécifique à 270 pour les trois huiles sont comparables à ceux obtenus pour les huiles du Nord de la Tunisie (**Sellamiet *al.*, 1997**) ainsi que pour certaines huiles Italiennes (**Procida et Cichelli, 1996**).

L'extinction spécifique à 232 nm et à 270 nm d'une huile reflète son état d'oxydation. Plus son extinction à 232 nm est forte, plus elle est peroxydée. De même, plus l'extinction à 270 nm est forte, plus l'huile est riche en produits d'oxydation secondaires et traduit sa faible aptitude à la conservation. Quant à la variation de l'extinction spécifique, elle varie d'un échantillon à l'autre mais sa valeur reste comparable à celle établie par le Conseil Oléicole International ($\Delta K < 0,01$) (**Boughrara *et al.*, 2015**)

Selon **Boulfane *et al.* (2015)**, des valeurs élevées de l'extinction spécifique peuvent être expliquées par la récolte tardive des olives, une exposition excessive des olives et de l'huile extraite à l'oxygène de l'air et à la lumière, voir aussi à un réchauffement de la pâte lors de la trituration. À partir des résultats obtenus, on retient que les échantillons d'huile d'olives étudiés sont dans un état non oxydé.

III.3.13. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est considéré comme étant un paramètre de pureté d'un corps gras, il dépend de la composition chimique des huiles et de la température. Généralement, l'indice augmente avec l'instauration ou la présence de produit secondaire (Karleskind, 1992). Les résultats sont déterminés après la conversion de Brix vers indice de réfraction (Annexe 02), ses derniers sont illustrés dans la figure 13 :

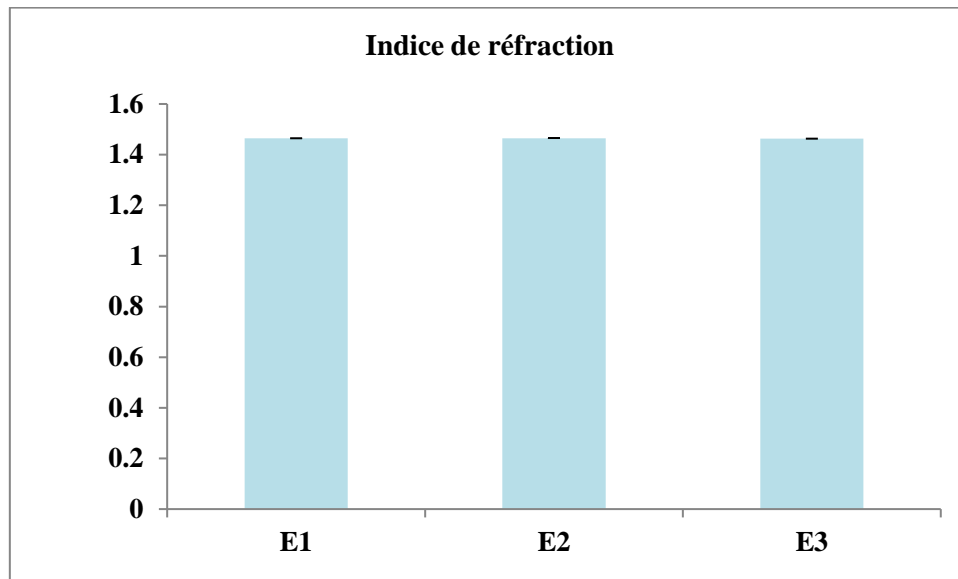


Figure 13 : Indice de réfraction des 03 échantillons d'huile d'olive.

Nous avons constaté qu'il y a une différence significative entre les résultats ($p < 0.05$), les valeurs obtenues pour les 3 échantillons varient de 1,4654 à 1.463. En comparant ces valeurs à ceux de la norme commerciale du C.O.I (1,4677-1,4705), on constate que nos huiles sont conformes à la norme.

L'évaluation de l'indice de réfraction des huiles et graisses est particulière à chaque matière, et elle est liée aux niveaux de saturation de la liaison. C'est une variable qui peut présenter différents modèles en raison de l'influence de facteurs tels que la teneur en acide gras libre, le niveau d'oxydation et le traitement thermique (Santos et al., 2012). De même, l'auto oxydation est une réaction entre les acides gras et une molécule d'oxygène. Ce processus est extrêmement complexe impliquant le mécanisme d'une réaction radicalaire en chaîne. La conséquence de l'auto oxydation est essentiellement la production d'hydro peroxydes instables qui se décomposent spontanément en une série de produits, notamment de mélanges d'aldéhydes volatils (Del Carlo et al., 2004).

III.4. Analyse de la composition

III.4.1. Composition en acide gras

La structure triglycéridique de l'huile d'olive varie selon le pourcentage des différents types d'acides gras dans chaque cultivar. L'acide gras principal est l'acide oléique, lequel constitue le plus fort pourcentage d'acide gras dans l'huile d'olive. Il est suivi en degré d'importance par l'acide linoléique puis par l'acide palmitique. Ces acides gras constituent un paramètre important dans la détermination de la qualité et de l'authenticité de l'huile d'olive (Ollé, 2002 ; Judde, 2004).

Les figures ci- après représentent les chromatogrammes des huiles d'olive analysées.

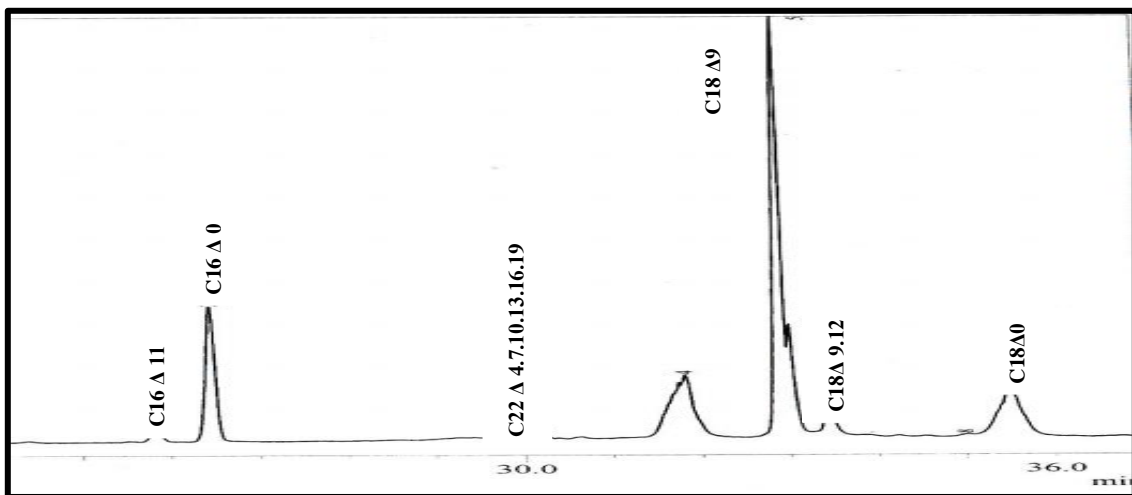


Figure 14 : Chromatogramme des acides gras de l'échantillon E1.

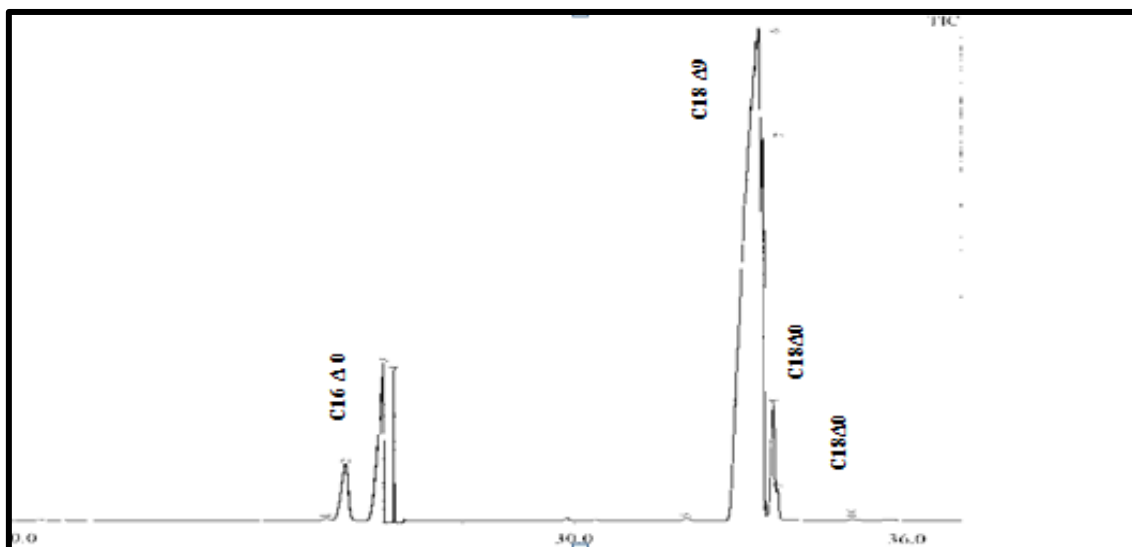


Figure 15 : Chromatogramme des acides gras de l'échantillon E2.

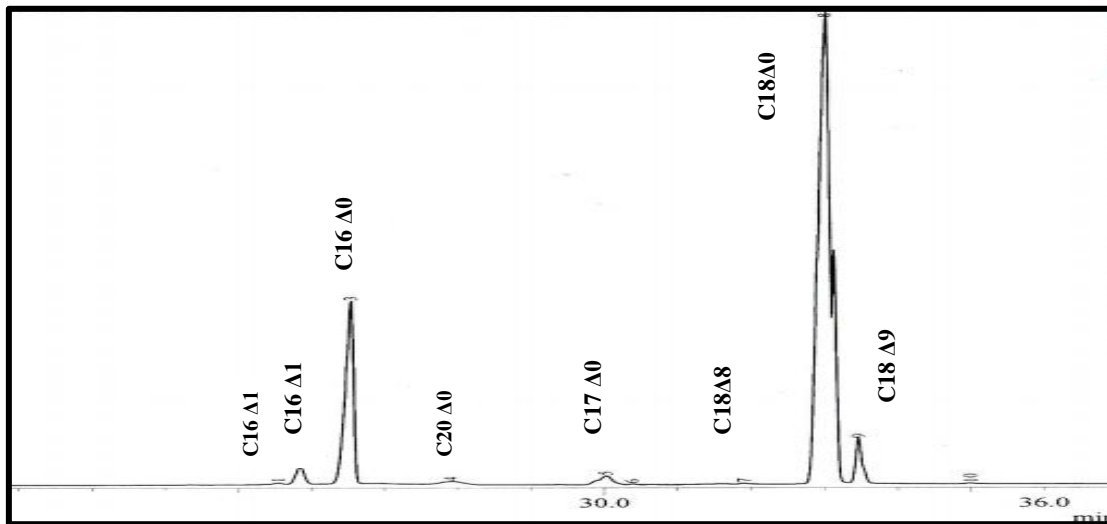


Figure 16 : Chromatogramme des acides gras de l'échantillon E3.

Nous avons constaté que l'échantillon E3 est l'huile d'olive la plus riche en acide oléique (70.01%), le taux d'acide palmitique, stéarique est de 25.57% et 6.37% respectivement, cette huile contient aussi des faibles teneurs en acide arachidique (1.23%) et en acide margarique (0.10%). L'échantillon E2 d'huile d'olive contient aussi un taux élevé en acide oléique (62.71%) et des faibles teneurs en acide palmitique et en acide stéarique et ils représentent 10.91% et 8.31% de la composition respectivement.

L'échantillon E1 d'huile d'olive représente un taux élevé en acide oléique (50.03%), aussi il contient des taux appréciables en acide palmitique, linoléique et stéarique qui sont de l'ordre de 16.04%, 13.35% et 4.48% respectivement, alors qu'il contient un faible taux en acide docosahéxaéonique, qui est un acide gras polyinsaturé ($C_{22}H_{32}O_2$) oméga-3, indispensable.

La composition en acides gras totaux est un paramètre de qualité et d'authenticité des huiles d'olive. Cette composition est très variable et dépend de la variété, du climat et de la région de production, de l'année et la période de récolte ainsi que des techniques d'extraction et des conditions de stockage (Zarrouk et al., 1996; Ait Yacine et al., 2002). Comparée à d'autres huiles végétales, l'huile d'olive est caractérisée par sa richesse en acides gras monoinsaturés et présente de faibles teneurs en acides gras saturés (Ajana et al., 1998; Salas et al., 2000; Keceli et Gordon, 2001).

De toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est celle qui présente le plus fort rapport acides gras monoinsaturés/acides gras polyinsaturés. Cette particularité confère à l'huile d'olive une plus grande stabilité à l'auto-oxydation (Perrin, 1992; Baccouri et al., 2008).

Nos résultats sont proches de ceux trouvés par **Ryan et al. (1998)**, dont le profil en acides gras a montré une dominance de l'acide oléique qui représente un pourcentage entre 55 et 83 %, ils ont également noté la présence de l'acide linoléique, l'acide palmitique et l'acide stéarique.

III.4.2. Teneur en pigments (Chlorophylles et Caroténoïdes)

L'huile d'olive contient des composés mineurs qui lui confèrent ses qualités organoleptiques et nutritionnelles. Parmi ces composés mineurs les pigments, qui en raison de leur caractère anti-oxydant dans l'obscurité et pro-oxydant dans la lumière, semblent jouer un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile au cours de son stockage et dans la préservation de sa qualité (**Calabrese, 2002**). Les teneurs obtenues pour les pigments, des échantillons étudiés, exprimée en ppm, sont représentées sur la figure 17.

Les teneurs en chlorophylles, pour les échantillons étudiés, sont strictement inférieures à 1 ppm dont la teneur est maximale pour l'échantillon E1 avec une valeur de $0.86 \pm 0,07$ ppm, suivi de celle d'échantillon E3 avec une valeur de $0.48 \pm 0,028$, alors que la faible teneur est enregistrée avec l'échantillon E2 (0.17 ± 0.077).

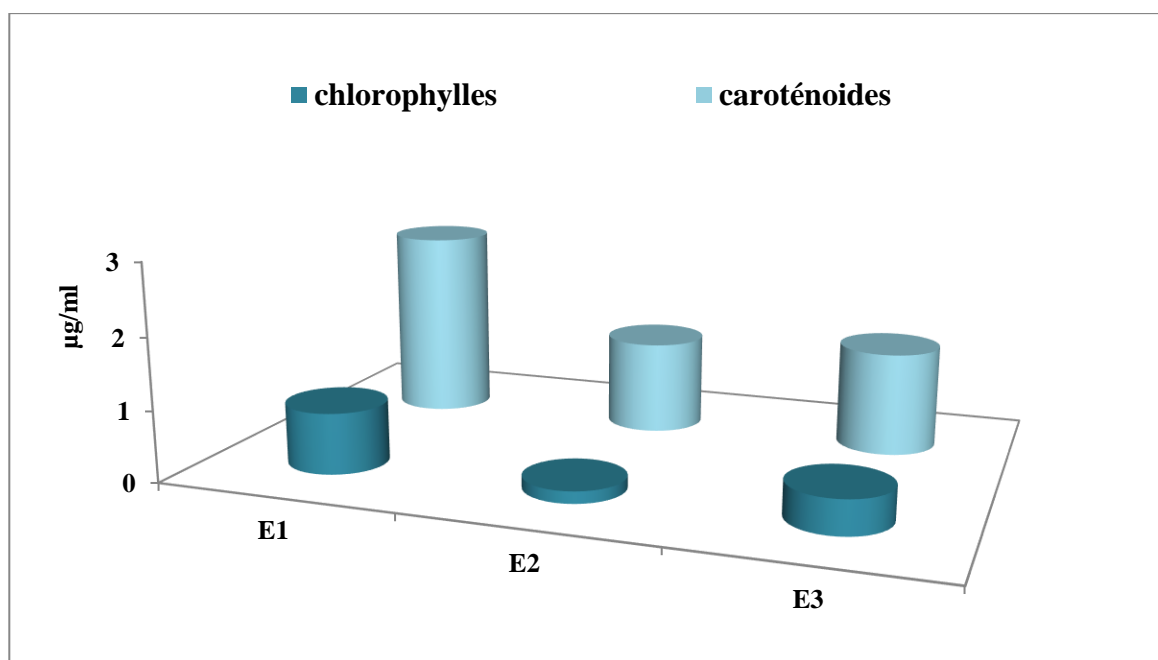


Figure 17 : Teneur en pigments des 03 échantillons d'huile d'olive.

Ces faibles teneurs sont souhaitées pour éviter l'action pro-oxydante des pigments chlorophylliens et pour assurer ainsi une bonne conservation des huiles ; 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 olive. Cette diminution est due à la dégradation de la chlorophylle en phéophytines qui confèrent à l'huile sa couleur jaune (**Tanouti et al., 2011**). Par ailleurs, selon **Ben Tekeya et Hassouna (2007)**, les chlorophylles sont les pigments majoritaires dans les olives, se dégradent rapidement au cours de leur maturation, aussi les pigments chlorophylliens ont un rôle photosensibilisateur et interviennent dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive.

Concernant les caroténoïdes, nous avons remarqué que la teneur la plus élevée est obtenue avec l'échantillon E1, estimée à $2.67 \pm 0,509$ ppm suivi de celle de l'échantillon E 3 ($1.45 \pm 0,091$ ppm) alors que la faible teneur est enregistrée avec l'échantillon E2 (1.31 ± 0.240 ppm). Il est bien établi que ces substances naturelles sont impliquées dans le retardement du phénomène de la photo oxydation et dans la préservation des paramètres de qualité de l'huile au cours du stockage.

Les teneurs en ces substances obtenues avec nos échantillons, peuvent sûrement sous l'influence de plusieurs paramètres dont **NievesCriado et al. (2008)**, ont rapporté que les facteurs biologiques et technologiques, le système d'extraction, le mode et la durée de conservation et particulièrement la maturation du fruit influent sur la composition en pigments caroténoïdes de l'huile d'olives.

III.4.3. Teneur en polyphénols

D'après les résultats illustrés par la figure 18, nous constatons que les teneurs en polyphénols, pour les échantillons étudiés, sont inférieures à la norme. Le dosage a montré que l'échantillon E1 renferme 53 ± 0.025 mg EAG/g d'extrait, correspondant à la quantité maximale, cependant, l'échantillon E2 a montré une teneur de $42.23 \pm 0,019$ mg EAG/g d'extrait, alors que la faible teneur est enregistrée avec l'échantillon E 3, estimée à 27.11 ± 0.018 mg EAG/g d'extrait.

Il est bien documenté que les huiles d'olive sont connues pour leur teneur élevée en composés phénoliques par rapport aux autres huiles végétales raffinées. Ces composés contribuent à la saveur globale complexe de l'huile d'olive et lui fournissent des effets antioxydants et sont en grande partie responsables de sa durée de conservation (**Del Carlo et al., 2004**).

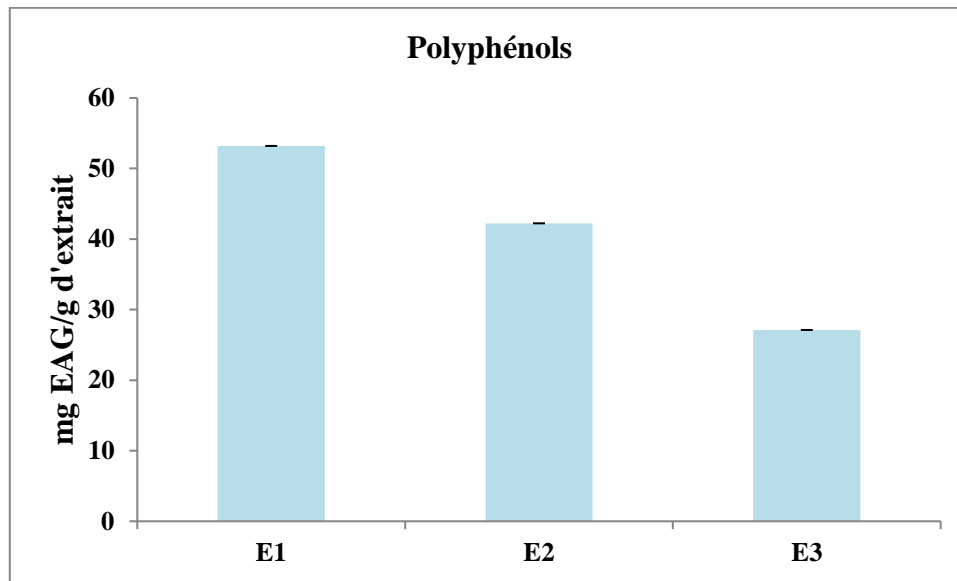


Figure 18 : Teneur en polyphénols des 03 échantillons d'huile d'olive.

Les teneurs en polyphénols totaux enregistrées pour nos échantillons d'huiles sont relativement proches de celles des huiles d'olive Turques (75,46 et 333,37 mg/g) Espagnoles (37,2 et 93,2 mg/g) (Dhifi *et al.*, 2006 ;Carelli, 2007).

Ces faibles teneurs sont probablement liés à la couleur noire des olives qui exprime une forte maturation. Il est bien connu que la teneur en composés phénoliques n'est pas seulement liée à la variété, mais c'est le résultat d'une interaction complexe entre plusieurs facteurs, à savoir l'indice de maturité des olives (Rovellini et Cortesi, 2003) la saison, la région, les conditions climatiques (Salvador *et al.*, 2003), l'état sanitaire des olives (Tamendjari *et al.*, 2004), le système d'extraction de l'huile (De Stefano *et al.*, 1999) et les conditions d'extraction (Vekiari et Koutsaftakis, 2002). Par ailleurs, Ranalliet *al.* (2001) ont montré que l'augmentation de la concentration en phénols était plus significative lorsque la température de la pâte d'olives augmente de 25 à 30°C, c'est le cas de nos olives qui ont été malaxées à 27°C.

Cependant, l'application de différentes températures durant le malaxage engendre une augmentation des polyphénols de l'huile d'olive (Angerosa *et al.*, 2001; Velasco et Dobarganes, 2002; Ranalli *et al.*, 2005). En effet, l'utilisation des échangeurs de chaleur pendant le malaxage de la pâte d'olives améliore la quantité de composés phénoliques dans les huiles (Amirante*et al.*, 2006).

Selon Boskou *et al.* (2006), les olives saines récoltés, lorsque la couleur de l'épiderme change du vert pale au marron foncé, rapidement transportées au moulin, broyées et pressées

immédiatement avec un matériel propre à une température inférieure à 30°C conduisent à une huile d'olive de haute qualité, riche en composés phénoliques.

III.4.4. Teneur en orthodiphénols

Les composés phénoliques de l'huile d'olive ont des propriétés antioxydantes qui réduisent les risques de maladies cardiovasculaires. Ceci est surtout vrai pour les ortho-diphénols comme l'hydroxytyrosol et l'oléuropéine aglycone (**Visioli et al., 2002**).

La figure 19 regroupe les teneurs en ortho-diphénols pour les trois échantillons de l'huile d'olive soumises à l'étude. D'après ces résultats, nous avons constaté que la différence est très significative ($p < 0.01$). Les résultats du dosage révèlent que l'échantillon E3 est le plus riche en orthodiphénols ($2.19 \pm 0,097$ mg EQ/kg d'huile d'olive), suivi par celui de l'échantillon E2 ($1.474 \pm 0,016$ mg EQ/kg d'huile d'olive), en revanche, l'échantillon E1 renferme la quantité la plus faible qui est de l'ordre de $1.309 \pm 0,097$ mg EQ /kg d'huile d'olive. Ces résultats sont totalement le contraire de ce que nous avons trouvé précédemment concernant les flavonoïdes et tanins dont l'échantillon E3 était le plus pauvre en ces derniers.

Les teneurs en orthodiphénols enregistrées pour nos échantillons d'huiles sont relativement proches à celles trouvées par **Salvador et al. (2003)** qui ont obtenu des teneurs faibles (1,5 et 10,4 mg/Kg), en étudiant des échantillons Espagnols sur 5 saisons de récolte.

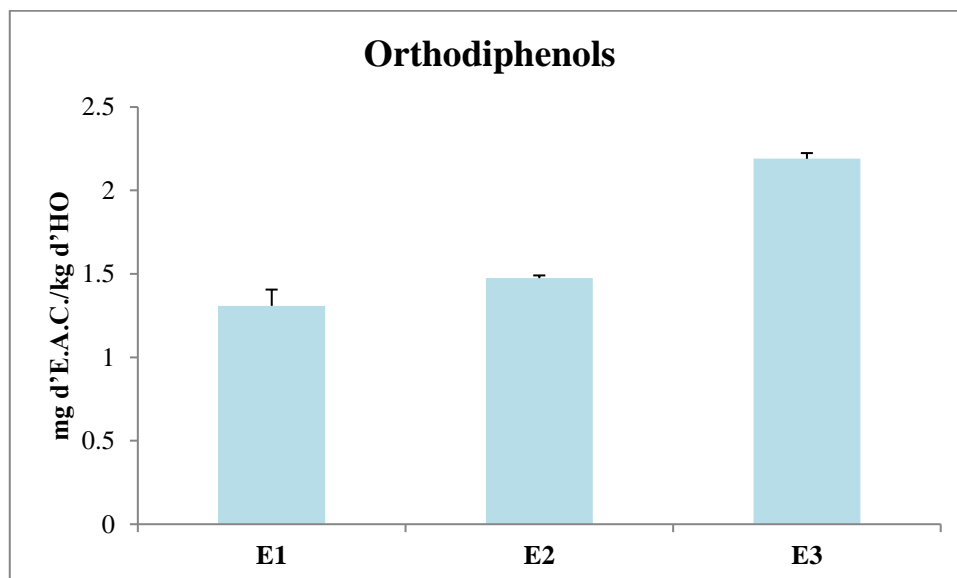


Figure 19 : Teneur en orthodiphénols des 03 échantillons d'huile d'olive.

Les orthodiphénols, comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine, sont considérés comme les antioxydants les plus puissants qui protègent l'huile contre l'oxydation et lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage (Boskou, 1996), une saveur amère et une sensation de piquant (Gutiérrez *et al.*, 2001 ; Ben Temime *et al.*, 2006). Leur teneur dans l'huile dépend également de plusieurs facteurs, à savoir, la variété et la maturité des olives (Ucella *et al.*, 1994) , les conditions d'extraction (Ranalli *et al.*, 2003) et de stockage (Fielding *et al.*, 2003).

III.4.5. Analyse qualitative des polyphénols par HPLC

Les composés phénoliques prennent de plus en plus un grand intérêt vu leurs effets fonctionnels et alimentaires bénéfiques (Cicerale *et al.*, 2009). Ils jouent un rôle très important dans la caractérisation et la valeur nutritionnelle des huiles (Brenes, 2002). Ils peuvent agir comme antioxydants en aidant le corps à renforcer son système de défense contre les anomalies liées au stress oxydatif telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et le processus inflammatoire (Garcia-Martinez *et al.*, 2014).

L'identification des différents pics a été réalisée par comparaison aux étalons de référence. Certains composés n'ont pas été identifiés tandis que d'autres n'ont pas une identification certaine en raison de l'absence de composés de référence.

Les résultats de l'analyse, révèlent que les trois échantillons de l'huile d'olive E1, E2 et E3 sont riches en polyphénols. L'échantillon E1 comporte l'acide caféique, alors que l'échantillon E2 comporte l'acide caféique et l'acide tannique dont, par ailleurs l'échantillon E3 renferme l'acide tannique et l'acide gallique.

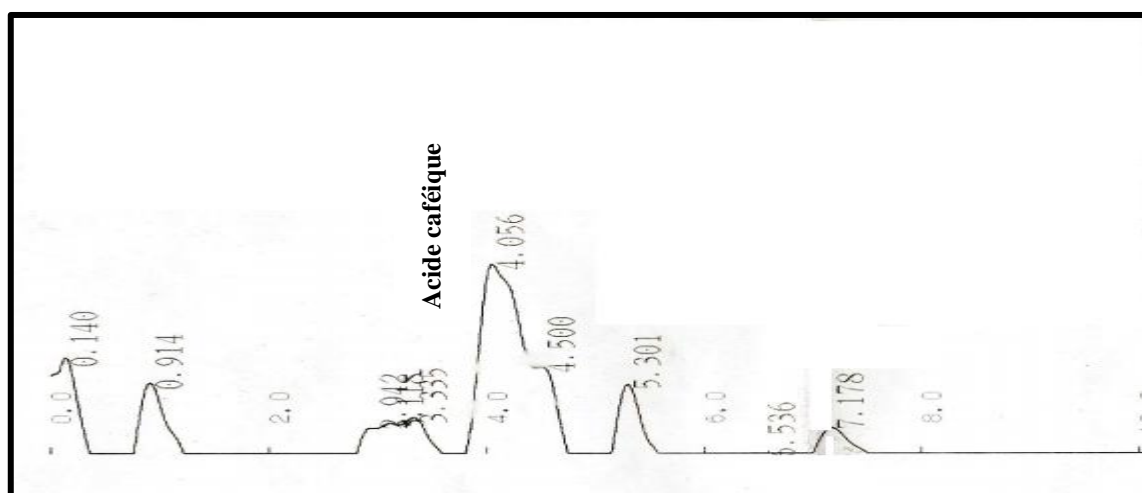


Figure 20 : Analyse qualitative des polyphénols par HPLC d'huile d'olive E1.

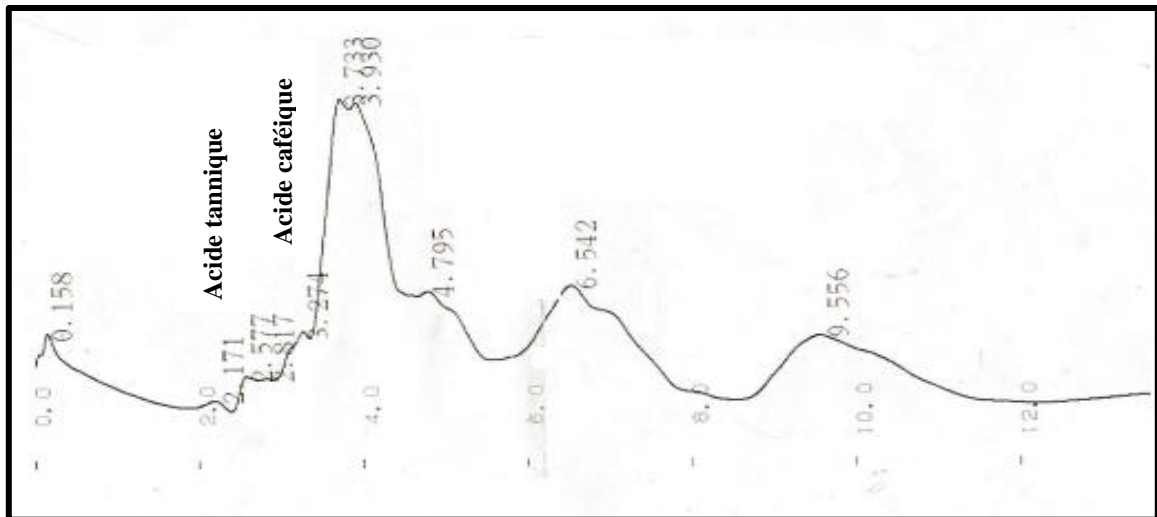


Figure 21 : Analyse qualitative des polyphénols par HPLC d'huile d'olive E2.

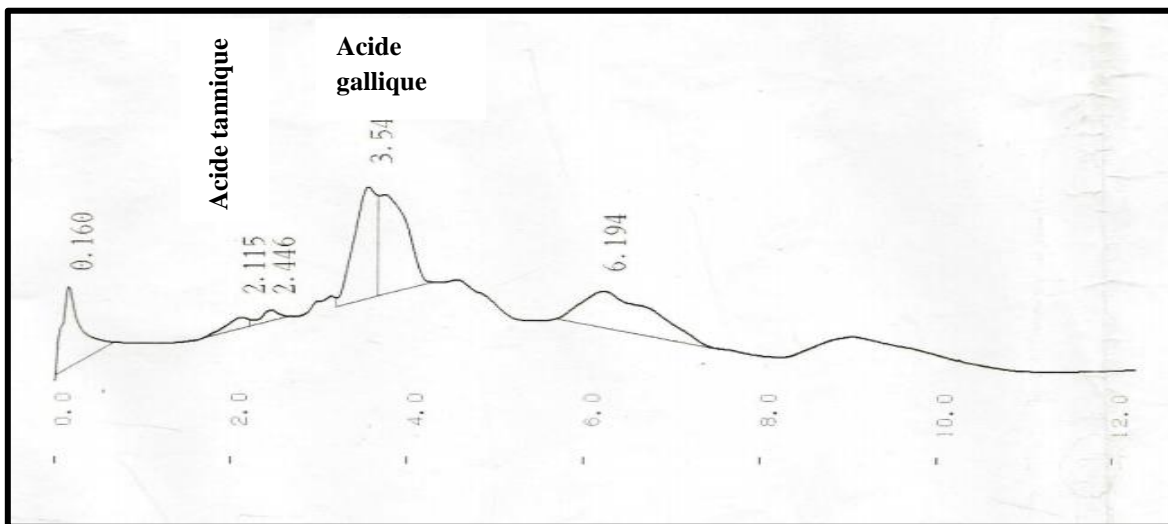


Figure 22 : Analyse qualitative des polyphénols par HPLC d'huile d'olive E3.

Tableau 10 : Résultats de l'analyse qualitative des polyphénols des 03 échantillons d'huile d'olive par HPLC.

Echantillon	polyphénols
E1	Acide caféique.
E2	Acide caféique ; Acide tannique.
E3	Acide tannique ; Acide gallique.

III.4.6. Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes font partie des composés majoritaires des polyphénols trouvés dans l'huile d'olive, ils ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ et la quantité des a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme de l'extrait (mg EQ/g d'extrait). Les résultats du dosage (figure 23) ont révélé que l'échantillon E1 est le plus riche en flavonoïdes, sa teneur est de $0,037 \pm 0,021$ mg EQ/g huile d'olive, celui de l'échantillon E2 était de $0,024 \pm 0,007$ mg EQ/g huile d'olive, enfin l'échantillon E3 est le plus pauvre en ces métabolites, la quantité trouvée était de $0,016 \pm 0,0098$ mg EQ /g huile d'olive. Ces résultats sont inférieure à ceux obtenus par **Criado et al. (2004)** et **Ilyasoglu et al. (2010)**.

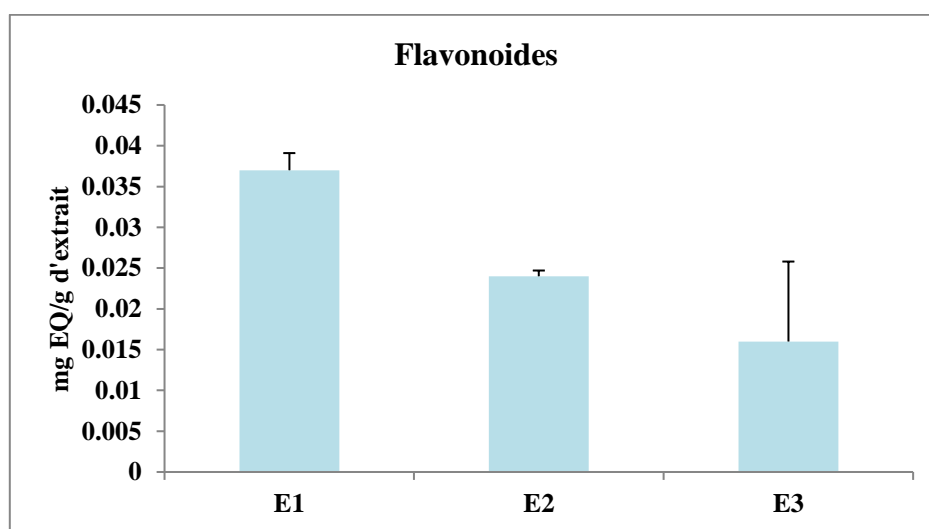


Figure 23: Teneur en flavonoïdes des 03 échantillons d'huile d'olive.

Nos résultats témoignent un faible taux de flavonoïdes, ceci confirme que cette classe de métabolites présente des constituants mineurs de la fraction phénolique de l'huile d'olive.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en flavonoïdes. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, ainsi que le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en ces composés (**Aganga et Mosase, 2001** ; **Pedneault et al., 2001**).

III.4.7. Teneur en tanins condensés

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (**Aguilera-Carbo et al., 2008**). Ils sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (**Paris et Hurabielle, 1981**). La figure 24 représente les teneurs en tanins

condensés pour les trois échantillons de l'huile d'olive soumises à l'étude. D'après ces résultats, nous avons constaté que la différence est significative ($p > 0.05$).

La teneur en tanins la plus élevée est enregistrée avec l'échantillon E1 de l'huile d'olive qui est de $14,8 \pm 3.047$ mg/g, ensuite l'échantillon E2 (11.04 ± 0.115 mg/g), alors que l'échantillon E3 a le taux le plus faible en tanins, estimé à 10.885 ± 0.332 mg/g.

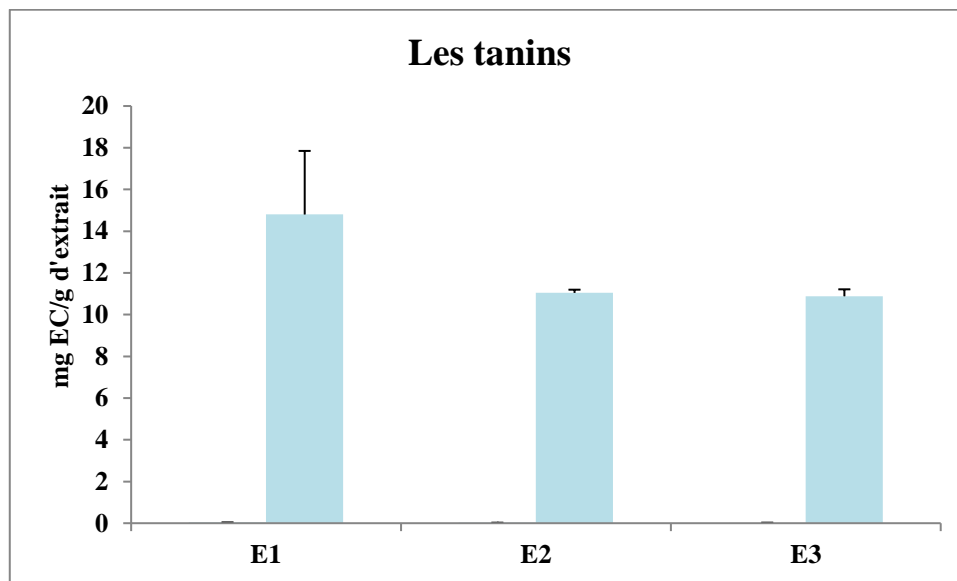


Figure 24: Teneur en tanins des 03 échantillons d'huile d'olive.

Selon José et ses collaborateurs (2008), le contenu des aliments en pro-anthocyanidines (tanins condensés) peut être affecté par plusieurs facteurs, tels que le stockage et la cuisson. Cependant, plusieurs observations suggèrent que les tannins exhibent un large spectre de propriétés pharmaceutiques, thérapeutiques et chimioprotectrices dues à leur propriété antiradicalaire (Tohge et al., 2005).

III.4.9. Dosage des sels minéraux par spectrophotomètre à flamme

Les sels minéraux, sodium, potassium et calcium sont dosés par spectrophotométrie à flamme selon la méthode de Pauwels et al. (1992), et les teneurs en ces différents sels minéraux sont exprimées en mg/100g d'huiles d'olive.

La spectrophotométrie de flamme offre, par rapport aux méthodes chimiques courantes, des possibilités intéressantes pour l'étude de la composition minérale de produits très variés. Elle permet en particulier de doser le sodium, le potassium, le calcium, avec une bonne précision,

III. Résultats et discussion

à des concentrations très faibles, par sa rapidité, elle se prête parfaitement aux dosages en série.

Les résultats du dosage (Tableau 11) révèlent que les trois échantillons de l'huile d'olive E1, E2 et E3 ont la même teneur en sodium (2mg/100g d'huile d'olives), aussi en calcium (2.5 mg/100g l'huile d'olives), alors qu'il y a une différence pour le potassium dont l'échantillon E2 renferme la teneur la plus élevée (0.8 mg/100g d'huile d'olive), suivi de celle de l'échantillon E3 avec une teneur de 0.5mg/100g d'huile d'olive, enfin l'échantillon E1, avait la plus faible teneur, 0.4mg/100 g d'huile d'olive.

Tableau 11: Teneurs en Sodium (Na), Potassium (K) et Calcium (Ca) dans les 03 échantillons d'huile d'olive.

Sels minéraux	mg / 100g d'huile d'olive		
	E1	E2	E3
Sodium	2.0	2.0	2.0
Potassium	2.5	2.5	2.5
Calcium	0.4	0.8	0.5

Il est à signalé que les valeurs trouvées sont proches de celles signalées rapportées par la table de composition nutritionnelle (**annexe 05**) : (2.79 pour le sodium, 2.57 pour le calcium et 0.81 pour le potassium).

L'huile d'olives est recommandée aux personnes âgées car facilement digérée et via les minéraux qu'elle contient, aide à l'utilisation des vitamines par l'organisme. Elle empêche aussi la perte en calcium en stimulant la minéralisation des os. L'huile d'olive est, à cet égard, une source de bienfaits pour le squelette (**Diane et al., 1998**).

III.4.10. Métaux lourds

Le dosage des métaux lourds dans les huiles végétales est le plus souvent réalisé par absorption atomique, après une simple dilution des cendres obtenues dans l'acide chlorhydrique. Les métaux lourds tels que le plomb et le cadmium, parfois retrouvés en quantité très faible dans les corps gras, sont le plus souvent liés à la contamination de l'environnement : rejets industriels, gaz d'échappement des automobiles, épandage de boues industrielles (**Lacoste et al., 2005**), ils sont essentiellement retrouvés au niveau de la partie protéinique des graines oléagineuses et très peu dans l'huile d'olive.

Les résultats des analyses sont groupés dans le tableau 12. Les résultats du dosage, révèlent que les trois échantillons de l'huile d'olive E1, E2 et E3 ont la même teneur en Cuivre (0.029 mg/kg). Concernant le Plomb, l'échantillon E1 présente la teneur la plus faible (0.03 mg/kg), qui est conforme à la norme fixé par le **C.O.I (2015)** (0.1mg/kg), suivie par l'échantillon E2 qui est légèrement supérieure a la norme avec une teneur de 0.17 mg/kg, alors que l'échantillon E3 renferme lateneur la plus élevée (0.30 mg /kg), cette valeur est relativement supérieures à la norme.

Par ailleurs, l'échantillon E1 et E2 présentent les teneurs les plus élevés en Zinc (0.55 mg/kg), alors que l'échantillon E2 présente la teneur la plus faible (0.13 mg/kg). Enfin dans le cas de Cadmium, l'échantillon E2 présente la teneur la plus élevée (0.04mg/kg), suivi de l'échantillon E1 avec une valeur de 0.02 mg/kg, enfin l'échantillon E3 avait la plus faible teneur, 0.01mg/kg. Ces valeurs sont relativement supérieures à la norme (0.002 mg/kg).

Tableau 12: Teneurs en Plomb (Pb), Cuivre (Cu), Cadmium (Cd) et Zinc (Zn) dans les 03 échantillons d'huile d'olive.

Métaux lourds	Quantité (ppm)		
	E1	E2	E3
Cadmium (Cd)	0.0297	0.0490	0.0122
Cuivre (Cu)	0.0296	0.0296	0.0298
Plomb (Pb)	0.03019	0.1784	0.3019
Zinc (Zn)	0.5583	0.5544	0.1351

Selon **Bernard- Bitaud et al. (2002)**, l'oxydation des huiles est influencée par la présence des pro-oxydants (trace demétaux) qui sont connues par leurs effets indésirables sur la stabilité oxydative des huiles et surleur saveur. Les traces de métaux, provenant généralement des procédés industriels d'extraction et de raffinage, doivent être éliminées au maximum. De même, **Lacoste et al. (2004)**, ont rapporté que le procédé par pression augmente le transfert du plomb de l'olive vers l'huile, comparativement au procédé par centrifugation.

III.5. Activité antioxydante des extraits des échantillons

III.5.1. Piégeage du radical libre DPPH

Le test DPPH est souvent utilisé pour la rapidité de ses résultats, comme il est employé pour le ciblage des molécules dotées d'activité antioxydante présentes dans les extraits végétaux. Cette activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres (Ebrahimzadeh et al., 2010).

Les résultats de l'activité antioxydante des trois échantillons étudiés sont illustrés dans la figure 27. Nous avons constaté qu'il y a une différence significative entre les résultats ($p < 0.05$), chaque échantillon présente un pourcentage d'activité antioxydante spécifique dont la valeur la plus élevée est enregistrée avec l'échantillon E3 (70.89 ± 0.04 %), les échantillons E1 et E2 ont enregistré les pourcentages les plus faibles, 51.69 ± 0.43 % et 50.37 ± 0.09 % respectivement. Cette activité antioxydante de l'huile d'olive est liée à la composition de notre produit, notamment en composés phénoliques qui peuvent exercer un effet antioxydant important même *in vivo*. L'ensemble des résultats obtenus sont proches de ceux trouvés par Nakbi et al. (2010) pour les huiles d'olive des variétés Tunisiennes ou ils avaient enregistré des valeurs entre 37,23% et 78,56%.

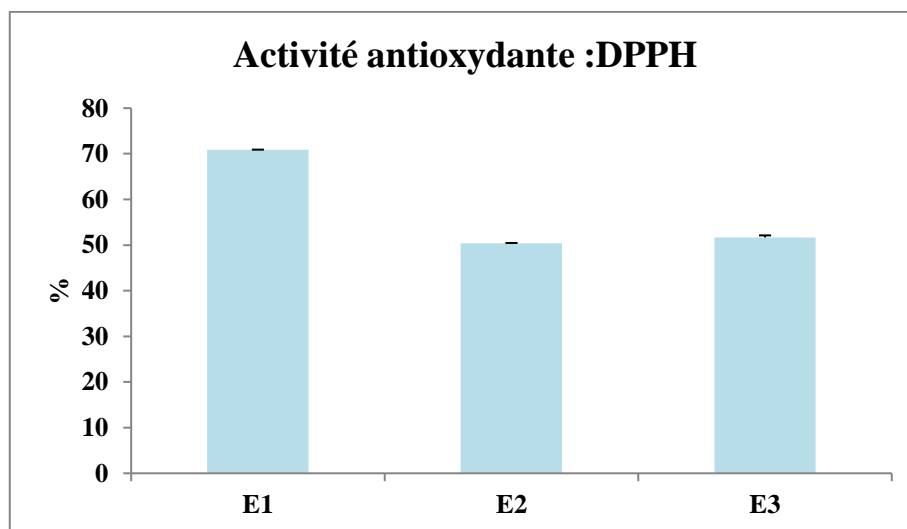


Figure 25: Activité antioxydante des extraits des trois échantillons d'huile d'olive (DPPH).

Les travaux de Galvano et al. (2007) ont montré une corrélation positive entre l'activité antioxydante de l'huile d'olive et sa teneur en composés phénoliques, cette activité n'est pas attribuée seulement au facteur quantitatif, mais également à la qualité du contenu phénolique qui joue un rôle déterminant pour cette activité biologique.

La part de la fraction phénolique dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive est de 30%, cette contribution est la plus importante comparativement aux autres fractions, notamment la

composition en acide gras et en caroténoïdes qui participent à environ 27% et 6% respectivement (**Apparicio et al., 1999**).

Malgré son pouvoir antioxydant inférieur à celui des antioxydants synthétiques, l'huile d'olive reste très avantageuse par sa capacité de continuer à piéger les radicaux libres pour une durée allongée qui peut s'étendre jusqu'au sixième jour (**Keceli et Gordon, 2001**). Ce potentiel antioxydant confère à l'huile d'olive un grand intérêt de la prévention contre les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le vieillissement (**Benmlih et Ganam, 2012**).

Ces résultats sont inférieures que ceux rapportés par **Salvador et al. (2003)** qui ont obtenu des valeurs entre 7,8 et 12,9% dans des huiles d'olive de différentes régions oléicoles au centre de l'Espagne. De plus, ils sont moins élevés que ceux rapportés par (**Bentakiaet Hassouna, (2005); Mnasser, 2007**) sur les huiles d'olive tunisienne où les valeurs de l'indice de peroxyde oscillent entre 6,6 à 11,5 meq O₂/kg.

III.5.2. Réduction de fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Les résultats du pouvoir réducteur des 3 échantillons étudiés sont illustrés dans la figure 28.

Nous avons constaté qu'il ya une différence non significative entre les résultats ($P > 0.05$), chaque échantillon présente un pourcentage d'activité antioxydante spécifique dont la valeur la plus élevée est enregistrées avec l'échantillon E3 (397.435 ± 4.504 meq VC/g de MG) les échantillons E1 et E2 ont enregistré les pourcentages les plus faibles avec 172.37 ± 66.736 meq VC/g de MG ; 399.805 ± 40.835 meq VC/g de MG respectivement.

Globalement, les résultats indiquent que l'huile possède une bonne activité antiradicalaire. Cette activité pourrait être expliqué par la richesse naturelle de l'huile d'olive en lipides bioactifs tels que les phétostérols, les vitamines liposolubles notamment, les α - tocophérols et les β -carotènes, les acides gras insaturés notamment les ω -3 et ω -6 (**Ramadan et Morsel, 2003**).

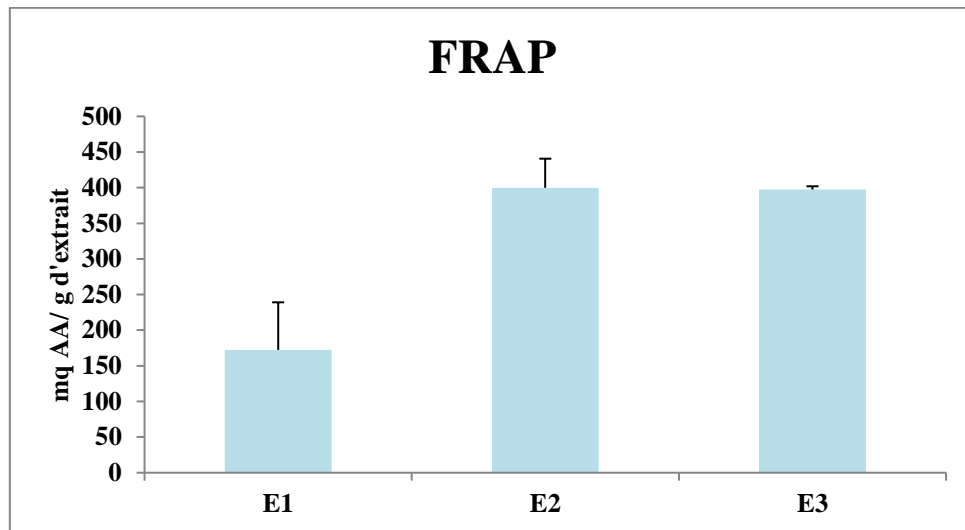


Figure 26:Activité antioxydante des extraits des 03 échantillons d'huile d'olive (FRAP).

Le pouvoir réducteur de l'huile d'olive pourrait être expliqué par la présence de lipides polaires notamment les phospholipides caractérisés par la présence de groupements amines. Tous ces groupes peuvent faciliter le transfert d'électrons (**Hudson et Lewis, 1983 ; Hildebrand et al., 1984**).

III.5.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogene (H_2O_2 scavenging activity)

Le peroxyde d'hydrogène est un dérivé non-radicalaire d'oxygène et considéré comme toxique pour les cellules car il permet la formation des radicaux hydroxyles à l'intérieur de la cellule (**Shrinivas et al., 2011**). Les résultats de taux d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des 3 échantillons étudiés sont illustrés dans la figure 24.

D'après les résultats trouvés, nous constatons qu'il y a une différence non significative entre les cette activité des trois extraits ($P > 0.05$), chaque échantillon présente un pourcentage d'activité antioxydante spécifique dont la valeur la plus élevée est enregistrées avec l'échantillon E1 ($34.37 \pm 4.65\%$), les échantillons E2 et E3 ont enregistré les pourcentages les plus faibles ($32.70 \pm 1.01\%$ et 32.22 ± 5.60 respectivement).

Les 3 échantillons ayant un taux de polyphénols totaux supérieur à $27 \mu\text{g}/\text{mg}$ ont toutes enregistré des pourcentages d'inhibition de H_2O_2 dépassant 30%.

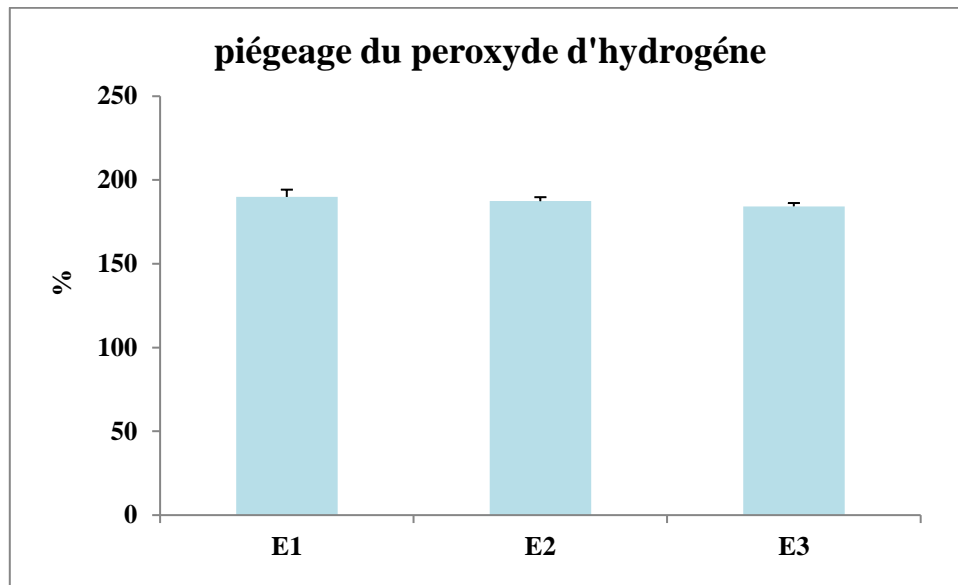


Figure 27: Activité antioxydante des extraits des 03 échantillons d'huile d'olive (catalase).

III.5.4. Capacité antioxydante totale (CAT)

Le test du PhosPhoMolybdate (PPM) est une variante du test au DPPH. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant.

A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C, E...) (Prieto et al., 1999).

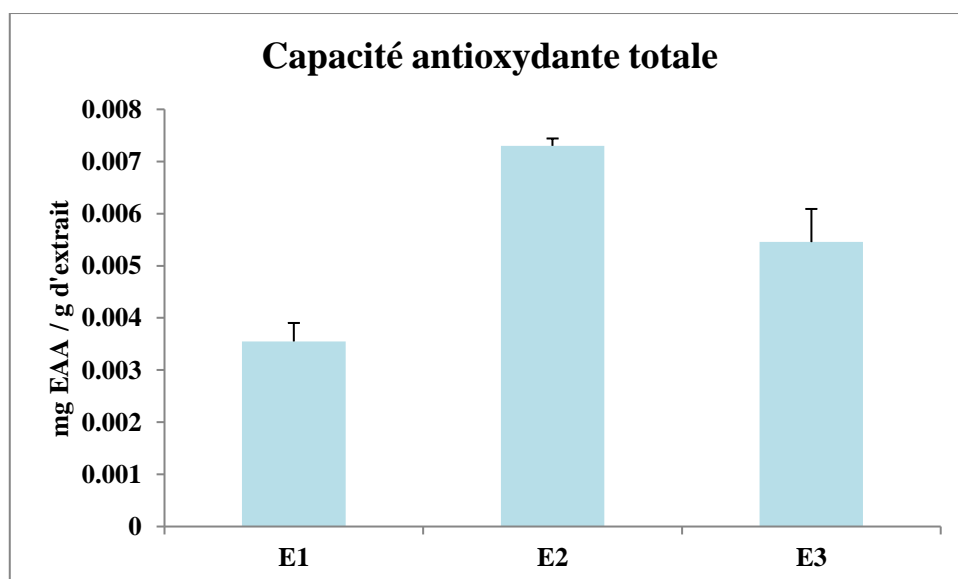


Figure 28: Activité antioxydante des extraits des 03 échantillons d'huile d'olive (CAT).

La figure montre que tous les échantillons étudiés présentent des capacités antioxydantes différentes dont, la capacité la plus élevée a été trouvée avec l'extrait de l'échantillon E2 avec un taux de 0.0073 ± 0.00014 mEVC /mg de matière grasse, suivi par l'extrait de l'échantillon E3 avec une valeur de 0.00545 ± 0.006347 mEVC /mg de matière grasse, alors qu'elle est très faible chez l'extrait de l'échantillon E1 (0.00355 ± 0.00035 mEVC /mg de matière grasse), cette variation en activité antioxydante indique qu'il y a une différence entre les trois échantillons dans leur composition et en leur teneur en flavonoïdes et en polyphénols dont l'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement attribuable à leurs propriétés redox, (Gülçin et al., 2010).

D'autre part, d'après les résultats de composition, le taux de flavonoïdes trouvé, nous semble suffisant pour exercer une telle activité. Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus prooxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique, donc les effets protecteurs des flavonoïdes contenus dans le système biologique sont attribués à leur capacité à activer les enzymes antioxydantes et inhiber les oxydases (Heim et al., 2002).

III.6. Activité antimicrobienne

III.6.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque contenant l'extrait à tester, cette activité est exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition (mm). Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau 13. Ces résultats montrent que les extraits ont une activité faible, voire même une activité nulle.

Selon Pereira et al. (2006), on distingue différents niveaux d'activité des extraits en se basant sur le diamètre (D) des zones d'inhibitions : aucune activité pour un $D = 0$ mm, faible activité pour $2 \text{ mm} \leq D \leq 3 \text{ mm}$, activité intermédiaire pour $4 \text{ mm} \leq D \leq 5 \text{ mm}$, forte activité pour $6 \text{ mm} \leq D \leq 9 \text{ mm}$ et très forte activité pour un $D > 9$.

D'après ses données et en se référant aux résultats trouvés, nous constatons que nos extraits ont une faible activité sur *Escherichia coli*, où les diamètres des zones d'inhibition varient de 1 mm à 3 mm. Au contraire, aucune activité n'a été obtenue à l'égard de la bactérie à Gram⁺, *Staphylococcus aureus*. D'après ces résultats, on remarque que *Staphylococcus aureus*

possède une forte résistance, qui est probablement liée à la composition de sa paroi, ou encore à la présence de gènes de résistance.

Tableau 13: Résultats de l'activité antibactérienne des extraits des 03 échantillons d'huiles d'olive.

Souches bactériennes	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Extraits Méthanoliques	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
E1	1	0
E2	1	0
E3	3	0

D'après **Nychas et al. (1990)** et **Sousa et al. (2006)**, les résultats négatifs (absence de zone d'inhibition) n'indiquent pas automatiquement l'absence de l'activité, mais ceci pourrait être due aux faibles concentrations de l'extrait. De même, **Rey (2010)** a rapporté que la mesure des disques ne fournit que des informations qualitatives sur la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes vis-à-vis du produit à tester. Dans le même contexte, **Basli (2012)**, a montré que l'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout de la nature des bactéries Gram⁺ ou Gram⁻ et aussi de la méthode d'extraction réalisée.

Par ailleurs et dans le même ordre d'idée, **Ciceralet al. (2012)**, ont rapporté que la toxicité des extraits envers les microorganismes est due aux différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes. Cette toxicité est en fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité.

III.6.2. Activité antifongique

Les résultats obtenus ont montré que les extraits méthanoliques des huiles d'olive n'ont aucune activité antifongique sur l'espèce *Aspergillus sydowii* et *Penicillium notatum*. Plusieurs chercheurs révèlent que l'activité antifongique est due aux acides gras majoritaires de l'huile tels l'acide linoléique, oléique et linolénique (**Kesari et al., 2010**).

A travers les résultats obtenus, ceux relatifs à la composition de l'huile et ceux de l'activité antimicrobienne, nous constatons une contradiction flagrante. La composition montre une

III. Résultats et discussion

présence de composés antimicrobienne, or les résultats sont pour la majorité négatifs, cela nous laisse supposer qu'il y a soit une mauvaise préparation des extraits ou encore une mauvaise application de la technique.

Conclusion

L'huile d'olives est la principale source de matière grasse du régime méditerranéen qui est bien connue pour les effets bénéfiques sur la santé humaine. Il est un produit intéressant d'un point de vue nutritionnel. Pour la réalisation de ce travail, nous avons essayé de toucher à tous les paramètres qui permettent de déterminer la qualité de trois échantillons d'huile d'olives, pour cela, nous avons procédé à une analyse organoleptique, microbiologiques suivi d'un contrôle des différents paramètres physicochimiques et enfin nous avons terminé notre travail par une évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne.

Le test de dégustation, a permis de donner une classification sensorielle des trois échantillons d'huile d'olives. Les réponses des dégustateurs ont permis de déterminer les attributs intrinsèques qui concourent à la qualité de l'huile d'olives. En ce qui concerne l'analyse visuelle, les réponses des dégustateurs ont montré que les trois échantillons présentent une couleur jaune, tandis que l'analyse olfactive et gustative a montré une variabilité des attributs entre les échantillons. Enfin une harmonie générale entre les dégustateurs a permis de déduire que l'échantillon E1 est la meilleure huile avec une note globale de 3,2.

Concernant l'analyse physicochimique, l'acidité des huiles étudiées a montré que ces dernières appartiennent à la catégorie des « *Huile d'olives vierge* » à l'exception de l'échantillon E3 qui se classe dans la catégorie « *Huile d'olives vierge courante* », puisque la teneur en acide gras libre de l'échantillon analysé est inférieure à la norme fixée par le **C.O.I (2015)**. La valeur de l'indice de peroxyde est fortement faible par rapport à la valeur donnée par le **C.O.I**, ce qui serait due à l'absence de composés peroxydés, ces basses valeurs de l' I_P sont des preuves de la bonne conduite des opérations d'extraction de l'huile, et cela de la cueillette jusqu'à son obtention.

Par ailleurs, l'étude de la composition en acide gras a montré que les trois échantillons d'huile d'olives sont très riches en acides oléique et que le taux des acides gras saturés est faible par rapport à ceux insaturés. Nous avons observé également, une différence de richesse des huiles en polyphénols dont l'échantillon E1 contient un taux plus élevé par rapport aux autres échantillons.

Nous avons aussi évalué l'activité antioxydante des huiles étudiées *in vitro* par le test du DPPH[•], qui affirme que ces polyphénols ont une capacité de piéger le radical DPPH[•]. Cette capacité antioxydante est confirmée par leur pouvoir réducteur, le piégeage du peroxyde d'hydrogène et la capacité antioxydante totale. Les huiles étudiées possèdent une activité antioxydante

Conclusion

remarquable qui peut servir pour limiter les maladies cardiovasculaires et autres maladies humaines.

Une dernière partie a été dédiée à l'étude du pouvoir antimicrobien des extraits de nos huiles d'olives et les résultats ont montré qu'il n'y a aucune activité fongique, et que l'activité antibactérienne est faible à l'égard d'une souche à Gram⁻ mais totalement absente contre la seule souche testée à Gram⁺, *Staphylococcus aureus*.

Enfin, de point de vue physicochimique et organoleptique, nous pouvons classer l'huile d'olives E1, comme étant la meilleure huile puisqu'elle possède une valeur d'acidité conforme à la norme, de plus cette huile est la plus riche en polyphénols qui présentent un effet bénéfique sur la santé.

Dans les perspectives, nous souhaitons que notre étude soit reprise par d'autres étudiants, et nous proposons ce qui suit :

- ✓ Travailler sur un nombre d'échantillons plus important de la même huilerie ;
- ✓ Faire des essais *in vivo*, en se focalisant sur les maladies cardiovasculaires.

Références

A

Abaza L., Msallem M. et Daoud D., (2002). Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier Tunisienne. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 9, 174-179.

Abdulgani C. Et Aysun O., (1994). Les effets des facteurs agronomiques et des conditions de stockage avant la mouture sur la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 52, 18-24.

Aboutayeb R., (2007). Science et technique des aliments : Technologie des huiles et graisses. Industrie des corps gras : 4-10.

Admin A., (2009). Etude des propriétés physico-chimiques des composés organiques. *The obnominéebloy*, 9, 13-14.

Aganga A.A. et Mosase K.W., (2001). Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphium mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 107-113.

Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L.A., Favela-Torres E. et Aguilar C N., (2008). Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78, 189-199.

Aissam, H., (2003). thèse de doctorat, Faculté des sciences, Dhar El Mehraz , Fes

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

Ajana H., El Antari A. et Hafidi A., (1998). Fatty acids and sterols evolution during the ripening of olives from the Moroccan Picholine cultivar. *Grasas y Aceites*, 49, 405-410.

Allalout A., Krichène D., Methenni K., Taamalli A., Oueslati I., Daoud D. et Zarrouk M., (2009). Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 120, 77-83.

Amarowicz R., Troszyńska A. et Shahidi F., (2005). Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions. *Journal of Food Lipids*, 12, 344-358.

Amirante P., Maria Lisa Clodoveo M.L., Dugo G., Leone A. et Tamborrino A., (2006). Advance technology in virgin olive oil production from traditional and de-stoned pastes: Influence of the introduction of a heat exchanger on oil quality. *Food Chemistry*, 98, 797-805.

Angerosa F., (2002). Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of lipid Science and Technology*, 14, 639-660.

Angerosa F., Mostallino R., Basti C. et Vito R., (2001). Influence of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. *Food Chemistry*, 72, 19-28.

Argyri K., Proestos C., Komaitis M. et Kapsokefalou M., (2005). Phenolic compounds in red wine digested in vitro in the presence of iron and other dietary factors. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56, 213-222.

B

Baccouri O., Guerfel M., Baccouri B., Cerrtani L., Bendini A., Lercher G., Zarrouk M. et Ben Miled D.D., (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, 109, 742-754.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M. et Gazin M., (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn plant organs and pharmaceutical preparations. *Drug Resusc*, 46, 1089- 1092.

Bazziz C., Baghouli N., Guffens N., Geerts J., Sternotte V., Stassin M. et Theys A., (2005). Les matières grasses : Anges ou démons. Agrégation en science naturelles. Univ. Catholique de Louvain, 5-9.

Ben Sassi A., Boularbah A., Jaouad A., Walker G. et Boussaid A., (2006). A comparison of Olive oil Mill Wastewaters (OMW) from three different processes in Morocco. *Process Biochem*, 41, 74-78.

Ben Tekaya I. et 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, 447-453.

Ben Tekaya I. et Hassouna M., (2007). Effets des chlorophylles, du bêta-carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne. *Oléagineux Corps Lipides*, 14, 60-67.

Ben Temime S., Manai H., Methenni K., Baccouri B., Abaza L., Daoud D., Sanchez Casas J., Bueno E.O. et Zarrouk M., (2008). Sterolic composition of Chetoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chemistry*, 110, 368-374.

Ben Temime S., Taamalli W., Bacourri B., Abaza L., Daoud D. et Zarrouk M., (2006). Changes in olive oil quality of Chétoui variety according to origin of plantation. *Journal of Food Lipids*, 13, 88-99.

Benabid H., (2009). Caractérisation de l'huile d'olive algérienne Apports des méthodes chimométriques. Thèse de doctorat (Sciences Alimentaires) université de *constantine*, institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires.

Benin casa C., De Nino A., Lombardo N., Perri E., Sindona G. et Tagarelli A., (2003). Assay of aroma active components of virgin olive oils from southern Italian regions by SPME-GC/ion trap mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 733-741.

Benkeblia N., (2005). Free-Radical scavenging capacity and antioxidant properties of some selected onions (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts. *Brazilian Archive of Biology and Technology*, 48, 753-759.

Benlemlih M. et Ghanem J., (2012). Polyphénols d'huile d'olive, trésors santé ! Imprimé en France (Nouvelle Imprimerie Laballery) © marcopietteur, éditeur ISBN 978-2-87211-159-6.

Benzie IFF. et Strain JJ., (1996) .The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal Biochemistry*, 239, 70-76.

Bernard-bitaud C., Bourrie B., Burghart P., Evrard J., Lacoste F. et Pages X., (2002). Heavy metal transfer from soil to rapeseed oil, *Elsevier SAA*. Paris: 6-7.

Boskou D., (1996). Olive Oil: Chemistry and Technology. American Oil Chemist's Society Press. Champaign, IL, USA, pp. 52-83 & 115-117.

Boskou D., Blekas G. et Tsimidou M., (2006). Olive oil composition In olive oil: Chemistry and Technology, *The American Oil Chemists Society Press*, pp 41-72.

Boukeloua A., (2009). Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. Mémoire de magister en biologie. Université Constantine 1, 2009, p50.

Boulfane S., Maata N., Anouari A. et Hilali S., (2014). Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 87, 8022– 8029.

Bouteldj F. et Kadjoudj Z (2013). Etude des paramètres physico-chimiques de l'huile de fruits de pistachier lentisque : *Pistacia lentiscus* L. (Drou) de Mila et de Jijel. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Etat en Nutrition et en Technologies Agro-Alimentaires, I.N.A.T.A.A. Université Constantine1, 68 p.

Brenes M., Garcia A., Dobarganes M.C., Velasco J. et Romero C., (2002). Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5962-5967.

Brown J.E., Khodr H., Hider R.C. et Rice-Evans C., (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemistry Journal*, 330, 1173-1178.

C

Calabrese G., (2002). Effets de l'huile d'olive vierge extra sur la santé. *Olivae*, 93, 19-20.

Campaniello D., Bevelacqua A., D'Amto D., Rosario Corbo M., Alteiri C. et Singaglia M., (2005). Microbial characterization of table olives processed according styles. *Grasas Y Aceites*, 43, 289-294.

Canadanovic-Brunet J., Cetkovic G., Djilas S., Tumbas V., Bogdanovic G., Mandic A., Markov S., Cvetkovic D. et Canadanovic V., (2008). Radical scavenging antibacterial and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* L Extracts. *Journal of Medicinal Food*, 11, 133-143.

Cardinal P., Barthe C. et Desrochers F. P., (2003). Lignes directrices pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire, Comité provincial sur l'uniformisation et l'interprétation des critères microbiologiques des aliments, Québec (Canada), version électronique, 44 p.

Chevreul E., (1823). Recherches chimiques sur les corps gras d'origine animal, chez F.G. Levrault, Libraire-Editeur, p : 33.

Chimi H., (2001).Qualité des huiles d'olive au Maroc, enquête national et analyses au laboratoire, Transfert de technologie en agriculture-bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, 79 1-4.

Chimi H., (2005). Conservations comparées de l'huile d'argan et de l'huile d'olive. *Cahier d'Etude et de Recherche Francophone/ Agriculture*, 14, 1-4.

Chimi H., (2007).Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. *Ministère de l'Agriculture, du développement Rural et des Pêches Maritimes*. ISSN : 1114-0852.

Ciafardini H., (2004). Vaporisation des levures sur des olives avant extraction de l'huile d'olives. *ItalianJ.food.Sc.* 16(1) : 161-168.

Cicerale S., Lucas L. et Keast R., (2009).Chemistry and Health of Olive Oil Phenolics. *Food Science and Nutrition*,49 , 218-236.

Cicerale S., Lucas L. J. et Keast R. S. J., (2012).Antimicrobial, antioxidant and antiinflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 129-135.

Cotelle N., (2001). Role of flavonoids in oxidative stress.*Current TropicalMediterranean Chemistry*,1,569-590.

Criado-Fornelio A., González-del-Río M.A., Buling-Saraña A., Barba-Carretero J.C.(2004). The “expanding universe” of piroplasms. *Vet. Parasitol.*, 119,337–345.

D

Dacosta Y., (2003). Les phytonutrimentsbioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p.

De Stefano G., Piacquadio P., Servili M., Di Giovacchino L. etSciancalepore V., (1999).Effect of extraction systems on the phenolic composition of virgin olive oils.*Fett/Lipid*, 101, 328-332.

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

Demnati D., (2008). Technologie Alimentaire, Analyse Sensorielle et Gestion de la Qualité.

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

Di Giovacchino L., (2000). Technological aspects, *In: J. Hardwood, R. Aparicio (Eds), Handwod of olive oil. Analysis and properties, Aspen Publication, Gaithenburg, Maryland.*

Di Giovacchino L., Costantini N., Serraiocco A., Surricchio G. etBasti C., (2002). Natural antioxidants and volatile compounds of virgin olive oils obtained by two or three-phases centrifugal decanters. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103, 279- 285.

Di Giovacchino L., Solinas M. etMiccoli M., (1996). Effect of extraction systems on the quality of virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 71, 1189-119.

Diane H., Morris P.H.D. et RD., (1998). "Importance of Omega-3 Fatty Acids for Adults and Infants". *A Health and Nutrition Primer*, 5, 28-34.

Djeziri M., Belfadel O., Tir R., Amirouche A. et Mebarki N., (2015). Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive vierge algérienne de la région « vallée de la soummam ». *JEHOM*, 15, 127-134.

E

Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.F., Nabavi S.M., Mahmoudi M., Eslami B. et Dehpour A.A., (2010). Biological and pharmacological effects of Delphinium elbursense. *AFR. J. of Biotechnol*, 9(34) : 5542-5549.

Esmail A., Abed H., Firdaous M., Chahboun N., Mennane Z., Berny. etOuhssine E.M., (2014). Physico-chemical and microbiological study of oil mill wastewater (OMW) from three different regions of Morocco (Ouazzane, Fes Boulman and BéniMellal). *Journal MaterEnvironment Science*, 5, 641-646.

Essiari M., ZouhairR. etChimi H., (2014). Contribution à l'étude de la typicité des huiles d'olive vierges produites dans la région de Sais (Maroc). *Journal Officiel du Conseil Oléicole International*, N° 119.

F

Fedeli E., (1997). Qualité (stockage, conservation et conditionnement de l'huile), réglementation et contrôle. Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oléo technique. Florence, 10, 11 et 12 mars 1999. Conseil Oléicole International, 1- 20.

Fielding J.M., Sinclair A.J., Di Gregorio G., Joveski M. et Stockmann R., (2003). Relationship between colour and aroma of olive oil and nutritional content. *Asian Pac. Journal Clinical and Nutrition*, 12,36-58.

Fuhrman B., LavyA. etAviram M., (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *American Journal Clinical and Nutrition*, 61, 549-554.

G

Garcia-Martinez O., Mazzagliaa G., Sanchez-Ortizc A., Ocana-PeinadodF.M. etRivase A., (2014). Phenolic content of Sicilian virgin olive oils and their effect on MG-63 human osteoblastic cell proliferation.*Grasas y Aceites*, 65, 0017–3495.

Gawel R. et Rogers D., (2009). The relationship between total phenol concentration and the perceived style of extra virgin olive oil.*Grasas y Aceites*, 60, 0017-3495.

Ghotra B.S., Dyal S.D.et Narine S.S., (2002). Lipid shortenings: a review. *Food Research International*, 35, 1015-1048.

Gimeno E., Castellote A.I., Lamuela-Raventos R.M., De la Torre M.C. et Lopez- Sabater M.C., (2002).The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78, 207- 211.

Gueguen T. et Rombaut P., (1961). Dosage du sodium, du potassium, du calcium et du magnésium par spectrophotométrie de flamme dans les aliments, le lait et les excreta.*Annal Biology Animal Biochimistry*, (Ed) Netheler et FLinz Hambourg.

Guiraud J.P., (1998).Microbiologie alimentaire, collection sciences et techniques agroalimentaires. DUNOD, Paris, 223-399.

Gülçin İ., Zübeyr H., Elmastaş M. et Aboul-Enein H., (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 43–53.

Gutiérrez F., Arnaut T. et Garrido A., (2001). Contribution of polyphenols to the oxydative stability of virgin olive oil. *Journal Sciences Food Agriculture*, 81, 1-8.

H

Haddam M., Chimi H., El-Antari A., Zahouily M., Mouhibi R., Zaz A., Ibrahimi M. et Amine A., (2014). Caractérisation physico-chimique et stabilité oxydative des huiles d'olive des variétés Picholine marocaine, Haouzia, Koroneiki et Arbéquine de la région oléicole centrale du Maroc (Chaouia-Ouardigha). *OLIVÆ*, 119 : 23-35.

Hammadi C., (2006). Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. Transfert de technologie en agriculture (*PNTTA*), DERD, DL 61/91, ISSN : 1114-0852.

Hart T. et Shears P., (1999). Atlas de poche de Microbiologie. Médecine –Sciences, Ed: Flammarion. 212-218.

Heim K., Tagliaferro A. et Bobilya D., (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal Nutrition and Biochemistry*, 13, 572-584.

I

Idoui T., (2013). Physico-Chemical Properties, Fatty Acid Composition and Total Phenol Contents of Olive Oil Extracts by Traditional Method in East Algeria. *The online Journal of science and Technology*, 3 (3). 158-163.

Ilyasoglu H., Ozcelik B., Hoed V. V. and Verhe R., (2010). Characterization of Aegean olive

J

José A., Garcia-Mesa N., Pereira-Caro G., Fernandez-Hernandez A., Civantos C.G.O. et Manteos R., (2008). Influence of lipid matrix in the bitterness perception of vergin olive oil. *Food Quality and Preference*, 19, 421-430.

Judde A., (2004). Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : Mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications. *OCl*, 11, 414-418.

K

Kalua C.M., Allen M.S., Bedgood D.R., Bishop A.G., Penzler P.D. et Robards K., (2007). Olive oil volatile compounds, flavor development and quality: a critical review. *Food chemistry*, 100, 273-286.

Kappel V.D., Costa G.M., Scola G., Silva F.A., Landell M.F., Valente P., Souza D., Vanz D., Reginatto F. et Moreira C.F.G., (2008). Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. *pendulum* at different maturity stages. *Journal of Medicinal Food*, 11, 267-274.

Karleskind A., (1992). Manuel de corps gras, Tome II, Ed. Tec et Doc. Paris.

Kataja-Tuomola M. et Sundell J.R., (2008). Effect of alpha-Tocopherol and beta-carotene supplementation on the incidence of type 2 diabetes. *Diabetologia Journal*, 51, 47-53.

Keceli T. et Gordon M.H., (2001). The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of Science and Food Agriculture*, 81, 1391-1396.

Kesari V., Das A. et Rangan L., (2010). Physico-chemical characterization and antimicrobial activity from seed oil of *Pongamia pinnata*, a potential biofuel crop. *Biomass and Bioenergy*, 34, 108-115.

Khady B., Emmanuel T., Jacqueline D., Ndiaga C. et Philippe T., (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environnement*, 14, 131-139.

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

L

Lacoste F., Lechat H., Pages X., Arnaud J.N., Brenne E., Soulet B., Camisuli B., Birot C., Fazeuilh S. et Escabasse J., (2007). Contrôle des composés indésirables dans les huiles végétales et mise en place d'observatoires. *OCL*, 12, 372-377.

Lacoste F., Soulet., Arnaud J., Brenne E. et Lechat H., (2004). Contrôle de la sécurité sanitaire de l'huile d'olive vierge. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 11, 210-216.

Lanzon A., Albi T. et Cert A., (1994). The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining. *JAOCS*, 71, 285-291.

Larpent J.P., (1997). Microbiologie alimentaire : technique de laboratoire, 3^{ème} édition, Tec et Doc. Lavoisier.

Lazzez A., Cossentini M., Khlif M. et Karray B., (2006). Etude de l'évolution des stérols, des alcools aliphatiques et des pigments de l'huile d'olive au cours du processus de maturation. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 8, 21-32.

Le Grusse J., (2003). Structure chimique et propriétés physicochimiques. In : Les vitamines dans les Industries Agroalimentaires. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

Lecheb f., Chebrouk f. et Boudriche I., (2015). Caractérisation physico-chimiques de trois variétés d'huiles d'olives (NebDjmel et mélanges variétaux) d'Algérie. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 8, 64-69.

Lecoq R., (1965). Manuel d'analyse alimentaires et d'expertises usuelles. *Doin*, Paris.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. et Jiang Y., (2007). Evolution of antioxydant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102, 771-776.

Loussert R. et Brousse G., (1978). L'Olivier. Collection des techniques agricoles et productions méditerranéennes. Maisonneuve et Larose, Paris.

Lowen R., (1991). *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology, 4th ed: Glycerol*, 12, 34-40.

M

M'baye B., Alouemine S., Lô B. et Bassen E., (2011). Etude physico-chimique des huiles consommées en Mauritanie. *Science Lib Editions Mersenne*, 4, 2111-4706

M'baye B., Diop A., Lô A. et Bassene E., (2012). Étude de l'effet de la température sur les huiles alimentaires en Mauritanie : dosage des indices de peroxyde. *Revue Ivoirienne Sciences et Technology*, 19, 26 – 33.

Mahbouli A., (2005). L'économie oléicole dans le bassin méditerranéen en oliveraie. *Environment Science*, 45, 45-89.

Manzi P., Panfili G. et Esti M., (1998). Natural Antioxidants in the Unsaponifiable Fraction of Virgin Olive Oils From Different Cultivars. *Journal Science Food Agriculture*, 77, 115-120.

Mataix J. et Barbancho F.J., (2006). Olive oil in Mediterranean food. *In: olive oil and Health.* Quiles J.L, Raminez- tortasa M.c., Yaqoob P . CAB international.

Matos L.C., Cunha S.C., Amaral J.S., Pereira J.A., Andrade P.B., Seabra R.M. et 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.

Meftah H., Latrache H., Hamadi F., Hanine H., Zahir H. et El louali M., (2014). Comparison of the physico-chemical characteristics of the olive oil coming from different zones in Tadla Azilal area (Morocco). *Journal Mater. Environment Science*, 5, 641-646.

Mezghache M., Henchiri CH., Martine L., Berdeaux O., Aouf N. et Juanda P., (2010). Contribution à l'étude de la fraction insaponifiable de trois huiles d'olive issues des variétés Guasto, Rougette et Blanquette plantés dans l'est algérien. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 17, 337-44.

Mili S., (2006). Olive oil marketing on non-traditional markets: prospects and strategies. *New Medit*, 5, 27-37.

Minguez-Mosquera M.I., Rejano L., Gandul B., Higinio A. et Carido J., (1991). Color pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 68, 332-336.

Maksimovic Z., Malencic D. et Kovacevic N., (2005). Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. *Bioresource Technology*, 96, 873-877.

Montedero, G.F., Servili, M., Baldioli, Selvaggini, R., Peretti, G., Maganarini C., Cossignani, L. et Damiani P., (1995). The use of biotechnology means during oil mechanical extraction process: Relationship with sensory and nutritional parameters of virgin olive oil quality. *Rivista Italiana Sost Grasse*, 72, 403-425.

N

Nakbi, A., Tayeb, W., Grissa, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Chargui, I. & Hammami M., (2010). Effects of olive oil and its fractions on oxidative stress and the liver's fatty acid composition in 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats. *Nutrition & metabolism*, 7(1), 80.

Nieves Criado M., Paz Romero M., Casanovas M. et 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.

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

Q

Ocakoglu D., (2008). Classification of Turkish virgin olive oils based on their phenolic profiles Thesis Master of Science in Food Engineering Graduate School of Engineering and Science, Izmir institute of technology Turkish July, 139p.

Ocakoglu D., Tokatli F., Ozen B. et Korel F., (2009). Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry*, 15, 401-410.

Ollé M., (2002). Analyse des corps gras, DGCCRF, Laboratoire interrégional de Montpellier, France, Techniques de l'ingénieur.

Ollivier D., Artaud J., Pinatel C., Durbec J. P. et Guérère M., (2003). Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5723-5731.

Ollivier D., Boubault E., Pinatel C. et Artaud J., (2016). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des Falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologique*, 965, 169-196.

Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guérère 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

Ouaaziz M., Zaaraoua M., Aboudia A., Mouabad A. et El Antari A., (2016). Corrélation entre respect des bonnes pratiques d'hygiène et la qualité des huiles d'olives produites dans le site d'AMIZMIZ, terroir à notoriété dans la région montagnaise d'Al Haouz. *Journal of Mater Environment Science*, 7, 4151-4157

Ouaouich A. et Chimi H., (2007). Guide du producteur de l'huile d'olive ; organisation des nations unies pour le développement industriel. *ONU DI*, Vienne, 7-37.

P

Pardo J.E., Cuesta M.A. et Alvarruiz A., (2007). Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin “Aceite Campo de Montiel”(Ciudad Real, Spain). *Food Chemistry*, 100, 977-984.

Paris M. et Hurabielle A., (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome 1. Masson, Paris.

Pauwels J. M., Van Ranst E., Verloo M. et Mvondo Z. A., (1992). Manuel de laboratoire de pédologie. Publications Agricoles 28, AGCD, Brussels.

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.

Pereira J.A., Pereira A.P.G., Ferreira I.C.F.R., Valentao P., Andrade B.P., Seabra R., Estevinho L. et Bento A., (2006).Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 ,8425-8431.

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

Peter M., (2005). Collins, *Dictionary of carbohydrates*, CRC Press, 1282 p. ISBN 0-8493-3829-8, 584-986

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

Pinate C., Petit C., Ollivier D. et Artaud J., (2004).Outil pour l’amélioration organoleptique des huiles d’olives vierges. *Oléagineux, corps gras, lipides*, 11, (3), 217-222.

Pinatel C., Petit C., Ollivier D. et Artaud J., (2004). Outil pour l’amélioration organoleptique des huiles d’olive vierges. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 11, 217-222

Prieto P., Pineda M., Aguillar M., (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to determination of vitamin E. *analytical biochemistry.*, 269: 337-341.

Procida G., Cichelli A.,(1996). "Contribution à la caractérisation des huiles d'olives produites en Istrie", *Rev. Olivæ.*, 62 ,33-37.

Psomiadou E.etTsimidou M., (2002).Stability of Virgin Olive Oil. 1. Autoxidation Studies.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 716-721.

Psomiadou E., Tsimidou M. etBoskou D., (2000).Atocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1770- 1775.

R

Rahmani M., (2007). Les technologies de laboratoire « Méthodes d'évaluation de stabilité oxydative des lipides.

Ranalli A., Contento S., Schiavone C. et Simone N., (2001).Malaxing temperature affects volatile and phenol composition as well as other analytical features of virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103, 228-238.

Ranalli A., Lucera L. etContento S., (2003). Antioxidizing potency of phenol compounds in olive oil mill wastewater. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 51, 7636-41.

Ranalli A., Malfatti A., Lucera L., Contento S. et Sotiriou E., (2005).Effects of processing techniques on the natural colourings and the other functional constituents in virgin olive oil.*Food Research International*, 38, 873-878.

Rao C., Newmark H. et Reddy B., (1998). Chemopreventive Effect of Squalene on Colon Cancer.*Carcinogenesis*, 19, 287-290.

Rey J.F.G.S., (2010). Détermination des valeurs critiques pour l'antibiogramme vétérinaire par une approche de type Monte Carlo. *Thèse (pour l'obtention du diplôme docteur vétérinaire)*. Université de Toulouse, France, p, 16.

Roehilly J. etVanick L, (2000). La fabrication de l'huile d'olive: une étude bibliographique. CBEARC de Montpellier, pp, 6-22.

Rovellini P. et 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.

Ruch R J., Cheng S.J. et Klaunig J.E., (1989).Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea.*Carcinogenesis*,10, 1003–1008.

Ryan D., Prenzler P.D., Lavee S., Antolovich M. et Robards K., (2003). Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's mammoth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2532-2538.

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

S

Sacchi R., (2007). Extraction technology *In*L'Extravergine, a guide to the best certified quality olive oil in the world.CucinaVini,Pp, 82-103.

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

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

Salvador M.D., ArandaF., Gomez-Alonso S. et Fregapane G., (2001). Cornicadra virgin olive oil: a study of five crop seasons. Composition, qualityand oxidative stability.*Food Chemistry*, 74, 267-274.

Samaniego-Sanchez C., Troncoso Gonzalez A.M., Garcia-Parrilla M.C., Quesada Granados J.J., Lopez Garcia de la Serrana H. et Lopez Martinez M.C.,(2010).Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *AnalyticaChimicaActa*, 593,103-107.

Sanchez-Alonso I., Jimenez-Escrig A., Saura-Calixto F. et Borderias A. J., (2007). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chemistry*, 101, 372-378.

Santos O.V., Corrêa N.C.F., Soares F.A.S.M., Gioielli L.A., Costa C.E.F. et Lannes S.C.S., (2012). Chemical evaluation and thermal behavior of Brazil nut oil obtained by different extraction processes. *Food Research International*, 47, 253-258.

Selka S. et Tchouar A. K., (2014). Contribution à l'étude physico-chimique et organoleptique de deux huiles d'olive d'extraction traditionnelle et industrielle de la wilaya de Tlemcen. Mémoire de Master en Agronomie, option : Amélioration de la Production Végétal et Biodiversité. Université Abou-Bekr Belkaid, Tlemcen.

Smith T., Yang G. et Seril D., (1998). Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced Lung Tumorigenesis by Dietary Olive Oil and Squalene. *Carcinogenesis*, 19, 703-706.

Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Calhêla R., Andrade P.B., Valentao P., Seabra R., Estevinho L., Bento A. et Pereira J.A., (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'Alcaparra'. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14, 8533-8538.

T

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

Tanouti K., Elamrani A., Serghini-Caid H., Khalid A., Bahtta Y., Benali A., Harkous M. et Khiar M., (2010). Caractérisation de l'huile d'olive produites dans des coopérative pilote (Lakamara et Kenine) au niveau du Maroc oriental. *Technologie de laboratoire*, 5, 18-26.

Tanouti K., Serghini-Caid H., Chaieb E., Benali A., Harkous M. et Elamrani A., (2011). Amélioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le Maroc oriental. *Les technologies de Laboratoire*, 6, 58-63.

Tchiégang C., Ngo Oum M., Dandjouma A.A. et Kapseu C., (2004). Qualité et stabilité de l'huile extraite par pressage des amandes de Ricinodendron heudelotii (Bail.) Pierre ex Pax pendant la conservation à température ambiante. *Technologie de laboratoire*, 62, 69-77.

Tohge T., Matsui K. et Ohme-Takagi M., (2005). Yamazaki M. and Saito K. Enhanced radical scavenging activity of genetically modified Arabidopsis seeds. *Biotechnol Letter*, 27, 297-303.

Tombelli S., Mascini M., Sacco C., Anthony P.H. et Turner A.P.F., (2000). A DNA piezoelectric biosensor assay coupled with a polymerase chain reaction for bacterial oxidicid etermination in envirommental samples. *AnalyticachimicaActa*, 418, 1-9.

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

U

Ucella N., Casuscelli F., De Nino A., Gallo F.R., Procopio A. et Romeo G., (1994). Olea Europea L. Biophenols. Applications of Modern Analytical Methodologies. *Research and innovation in Agrifood Industry*, 1, 178-91.

V

Veillet S., (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Thèse/ Académie d'Aix-Marseille Université d'Avignon et des pays de Vaucluse– sciences des procédés – sciences des aliments.

Vekiari S. A. et Koutsaftakis A., (2002). The effect of different processing stages of olive fruit on the extracted olive oil polyphenol content. *Grasas y Aceites*, 53, 304-308.

Vekiari S.A., Papadopoulou P. et Kiritsakis A., (2007). Effects of processing methods and commercial storage conditions on the extra virgin olive oil quality. *Grasas y aceites*, 58, 237-242.

Velasco J. et Dobarganes C., (2002). Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 661-676

Venkateswarlu G., Let M.B., Meyer A.S. et Jacobsen C., (2004). Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1635-1641.

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

W

Wolf J.P.,(1968).Manuel d'analyse des corps gras.AZOULA Y, Paris..

Y

Yang D. P., Kong D. X. et Zhang H. Y., (2007). Multiple pharmacological effects of olive oil phenols. *Food Chemistry*,104 , 1269-1271.

Z

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.

Zhang H., Jacobsen C. et Adler-Nisen J., (2005). Storage stability study of margarines produced from enzymatic ally interesterified fats compared to margarines produced by conventional methods. I. Physical properties. *European Journal Lipid Sciences and Technology*,107, 530-539.

Textes réglementaires

COI. (2013). Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.

COI (2009). Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons.T. 15/NC N° 3 Rev. 47.

COI (2011).méthode pour l'évaluation organoleptique des olives de table.

COI. (2015). Conseil oléicole international : analyse sensorielle de l'huile d'olive – Méthode Evaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge. COI/T.20/ Doc. n° 15 /Rév. 8

FAO, (1979): Manuel of food quality control. ED: 3 commodities. Food and Agriculture organization of the United Nations. Rome. 409p.

ONFAA : l'Observatoire national des filières agricoles et agroalimentaires.

ISO 660 : 2009 : Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité.

ISO 3656:2011: Animal and vegetable fats and oils -- Determination of ultraviolet absorbance expressed as specific UV extinction.

ISO 663 : (2000). Corps gras d'origines animale et végétale -- Détermination de la teneur en impuretés insolubles.

ISO 5508:1990 : ISO 5508 juin 1995. Corps gras d'origines animale et végétale .Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras.

ISO 3657 : (2002). Corps gras d'origines animale et végétale -- Détermination de l'indice de saponification.

NFV 05 113:1972 : Association Française de Normalisation. Fruits, Vegetables And Derived Products - Mineralization Of Organic Substances By Incineration

Annexe 01 : Fiche de dégustation de l'huile d'olive selon COI, (2003).

Nom : Prénom : Date :

Dégustation

Visuels : couleur-intensité

E1 :

E2 :

E3 :

Olfactif : intensité-qualité

E1 :

E2 :

E3 :

**En bouche: ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et
qualité des arômes-persistance aromatique**

E1 :

E2 :

E3 :

Harmonie générale : jugement d'ensemble

E1 :

E2 :

E3 :

Note générale de 0 à 5

E1 :

E2 :

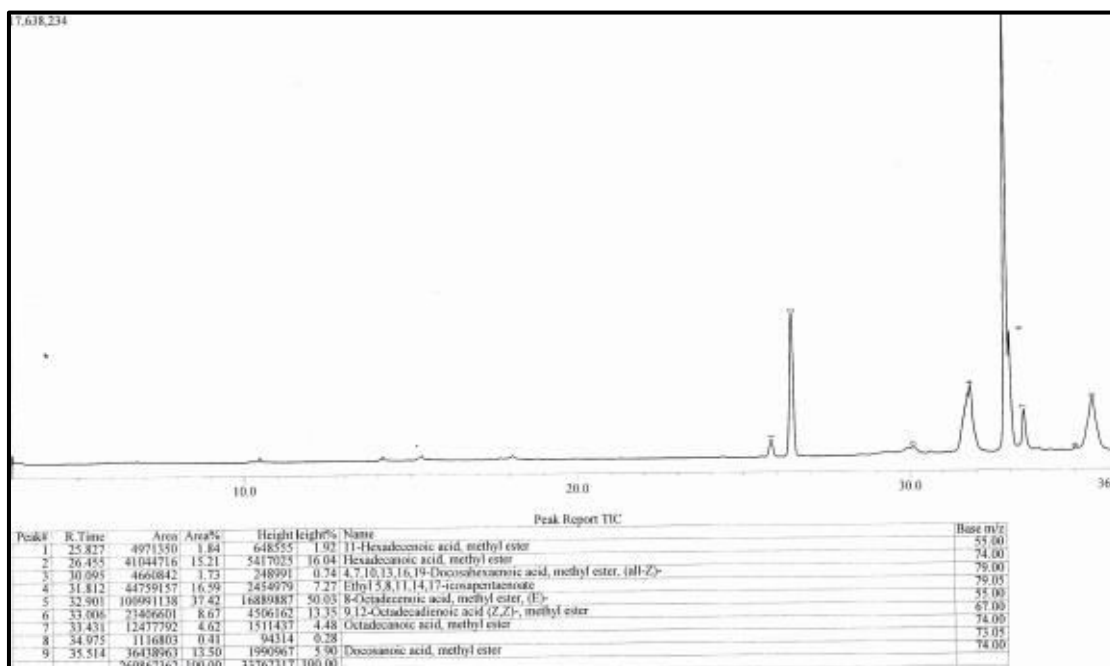
E3 :

Annexes 02 : Tableau de conversion de Brix vers indice de Réfraction.

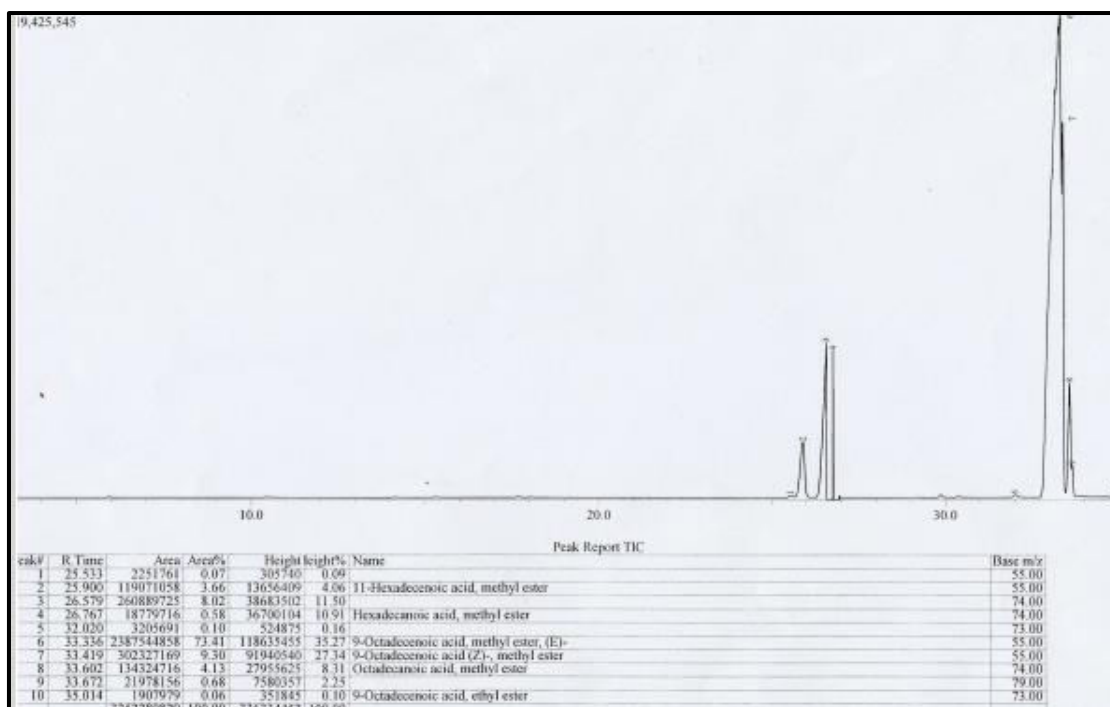
Echelle Internationale Brix%
Tableau de Conversion de Brix vers Indice de Réfraction (nD)

%	nD	%	nD	%	nD	%	nD	%	nD	%	nD
0	1.333	15	1.3557	30	1.3811	45	1.4097	60	1.4419	75	1.4778
1	1.3344	16	1.3573	31	1.3829	46	1.4118	61	1.4442	76	1.4804
2	1.3359	17	1.3589	32	1.3847	47	1.4138	62	1.4464	77	1.4829
3	1.3373	18	1.3605	33	1.3866	48	1.4159	63	1.4488	78	1.4855
4	1.3388	19	1.3622	34	1.3884	49	1.418	64	1.4511	79	1.4881
5	1.3403	20	1.3638	35	1.3903	50	1.42	65	1.4534	80	1.4907
6	1.3418	21	1.3655	36	1.3922	51	1.4222	66	1.4558	81	1.4933
7	1.3433	22	1.3672	37	1.3941	52	1.4243	67	1.4582	82	1.496
8	1.3448	23	1.3689	38	1.396	53	1.4264	68	1.4606	83	1.4987
9	1.3463	24	1.3706	39	1.3979	54	1.4286	69	1.463	84	1.5014
10	1.3478	25	1.3723	40	1.3998	55	1.4308	70	1.4654	85	1.5041
11	1.3494	26	1.374	41	1.4018	56	1.4329	71	1.4678	86	1.5068
12	1.3509	27	1.3758	42	1.4037	57	1.4352	72	1.4703	87	1.5096
13	1.3525	28	1.3776	43	1.4057	58	1.4374	73	1.4728	88	1.5123
14	1.3541	29	1.3793	44	1.4077	59	1.4396	74	1.4753	89	1.5151

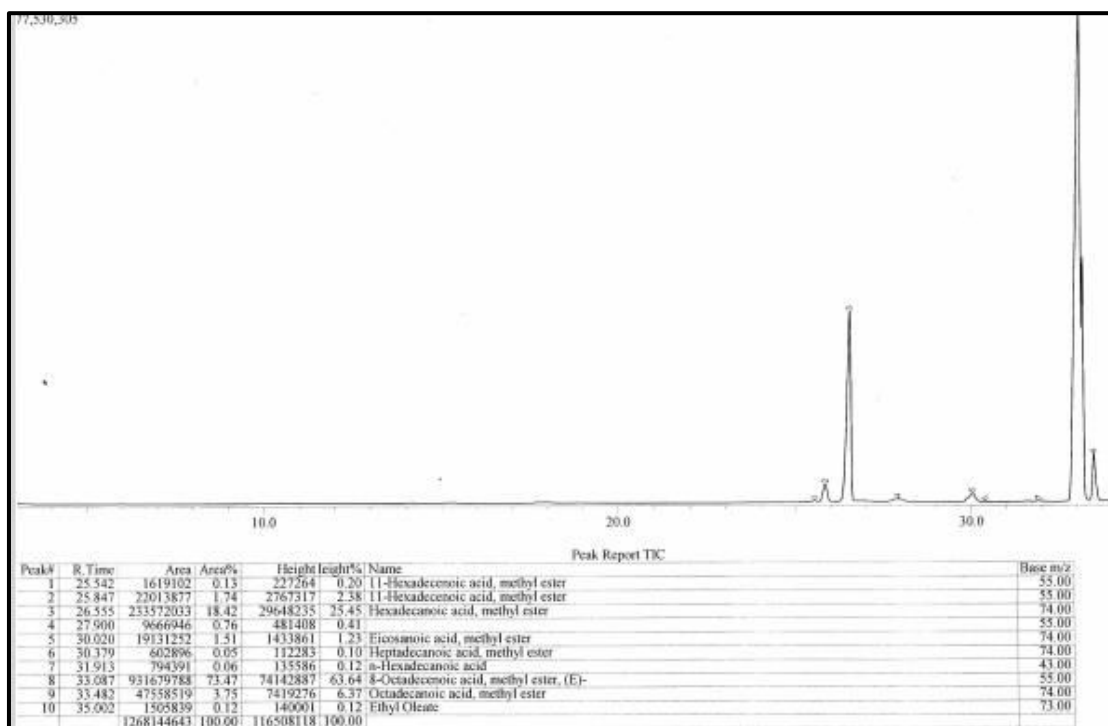
Annexe 03 : Chromatogramme des acides gras des 03 échantillons d'huile d'olive étudiées.



Chromatogramme des acides gras de l'huile d'olive E1.

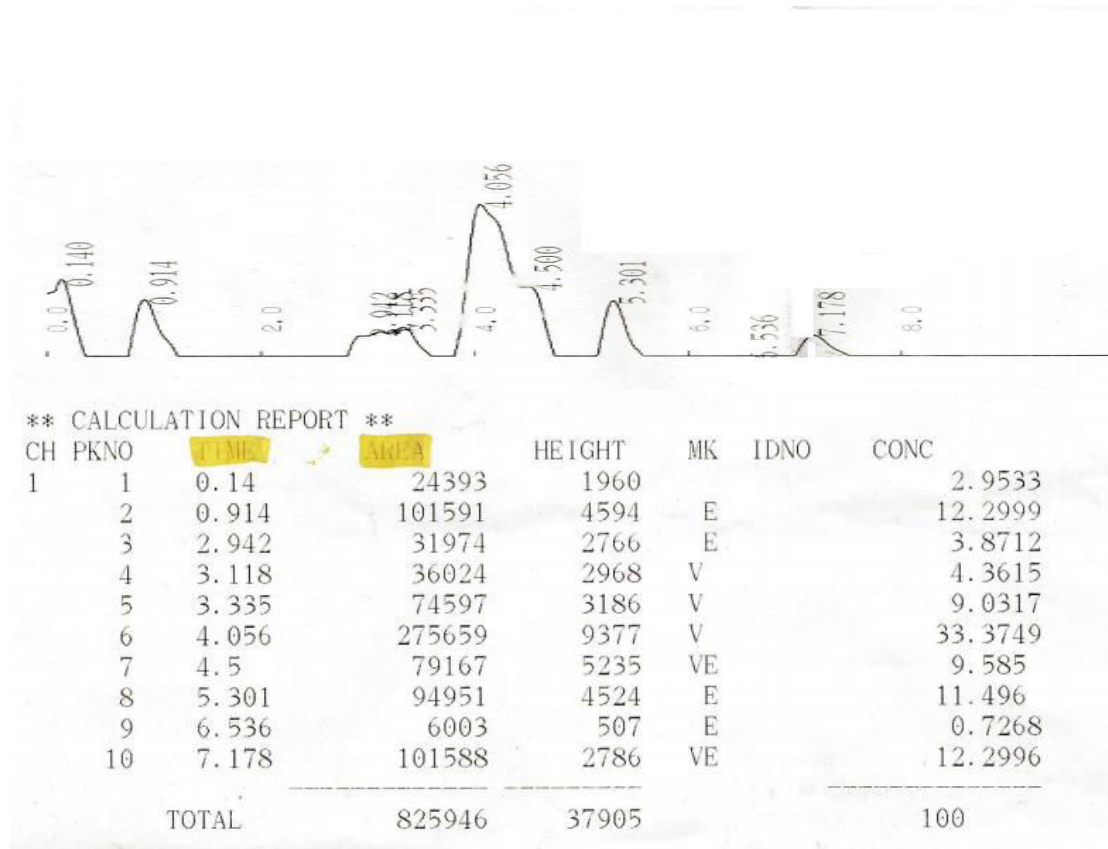


Chromatogramme des acides gras de l'huile d'olive E2.

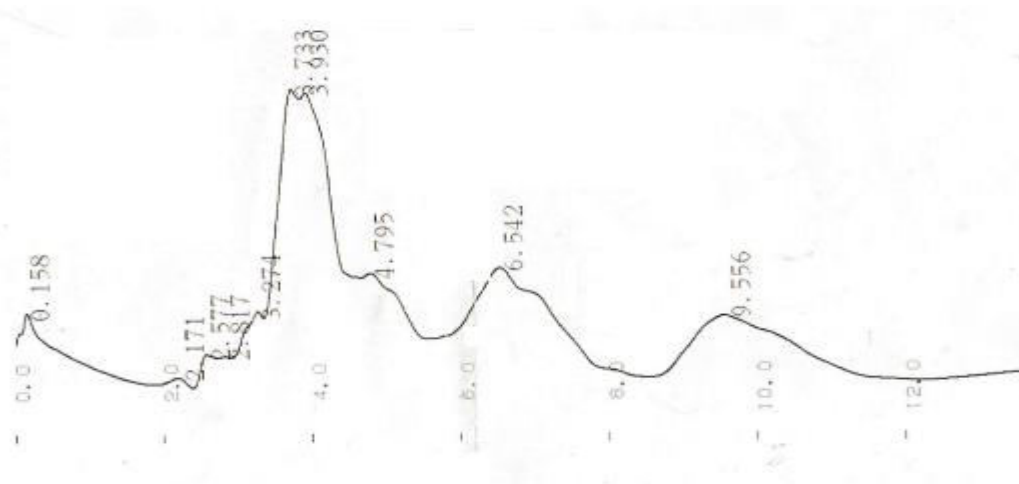


Chromatogramme des acides gras de l'huile d'olive E3.

Annexe 04 : Analyse qualitative des extraits phénoliques par HPLC



Echantillon 1

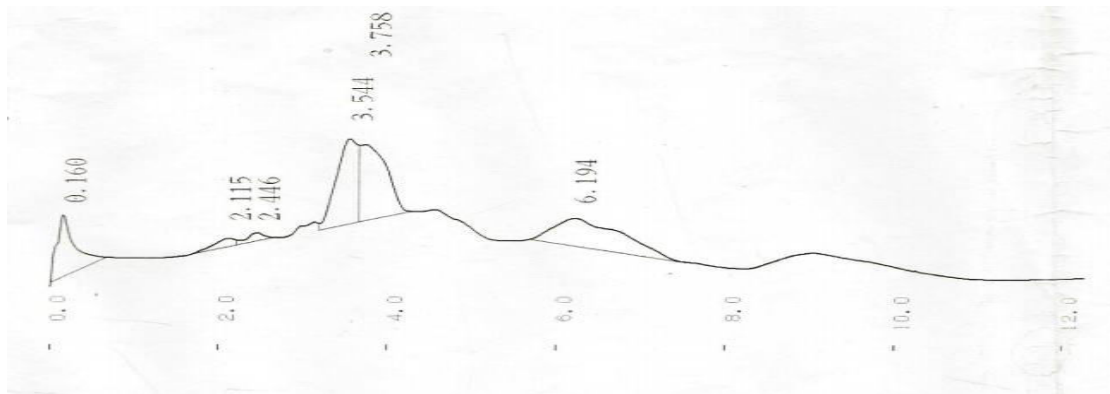


C-RSA CHROMATOPAC CH=1 Report No.=9 DATA=1:@CHRM1.C00 17/05/18

**** CALCULATION REPORT ****

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC
1	1	0.158	8335	527			1.6683
	2	2.171	1983	136			0.397
	3	2.577	7223	520			1.4457
	4	2.817	4098	419	V		0.8202
	5	3.274	21207	1070	V		4.2447
	6	3.733	95481	4699	V		19.1107
	7	3.93	137509	4587	V		27.5227
	8	4.795	41078	1306	V		8.2219
	9	6.542	90260	1393			18.0657
	10	9.556	92446	1058			18.5032
TOTAL			499620	15715			100

Echantillon 2



**** CALCULATION REPORT ****

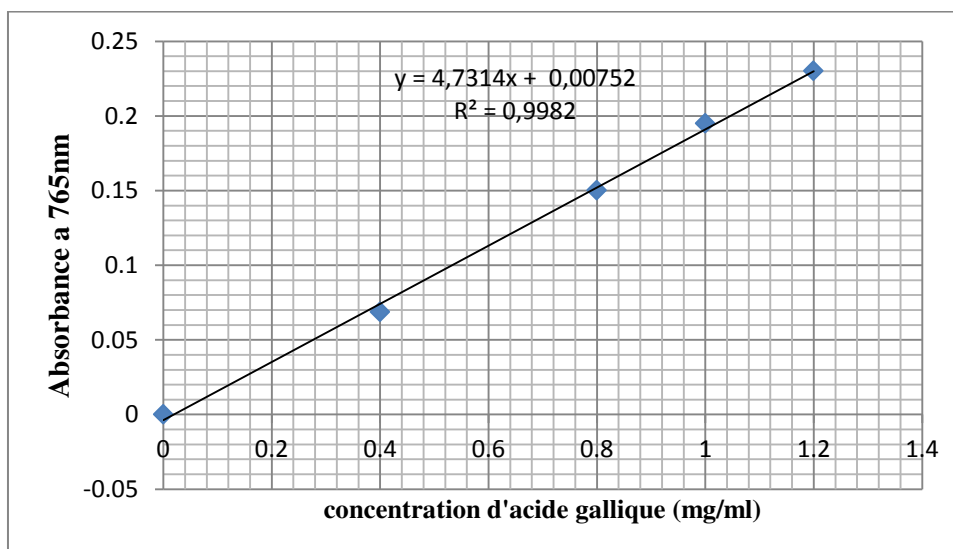
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	I
1	1	0.16	11404	781		
	2	2.115	1956	105		
	3	2.446	1465	103	V	
	6	3.544	19470	1074	V	
	7	3.758	20008	951	V	
	8	6.194	20134	339		
TOTAL			74437	3354		

Echantillon 3

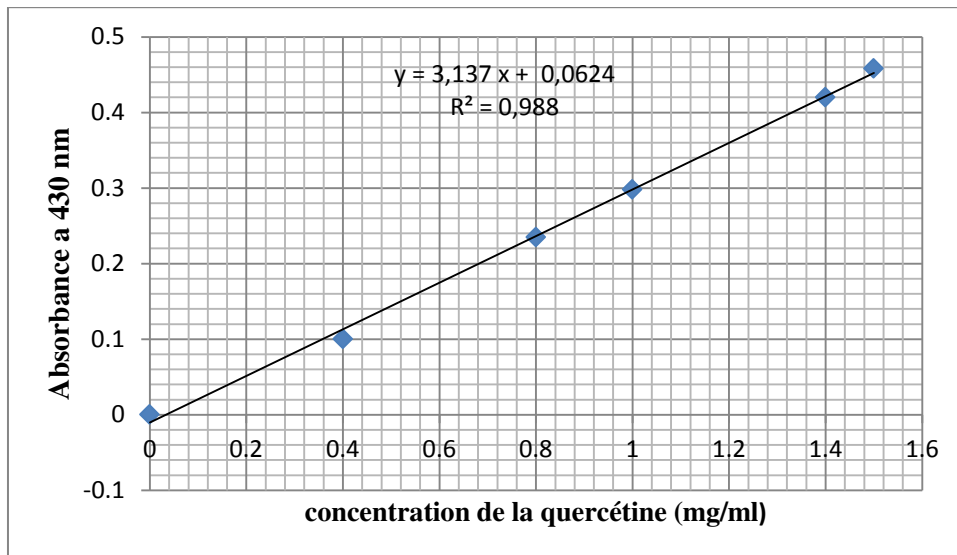
Annexe 05 : Composition nutritionnelle d'huile d'olive vierge.

Composition	Quantité	% AJR	Différence moyenne cat.
Sodium	1.11 mg	0%	+13%
soit équivalence en Sel	2.7972 mg		
Alcool	0 g		
Eau	0 g		-100%
Fibres	0 g	0%	
Minéraux			
Magnésium	0.583 mg	0%	+112%
Phosphore	0 mg	0%	
Potassium	0.81 mg	0%	-48%
Calcium	2.57 mg	0%	+57%
Manganèse	0.00334 mg	0%	+101%
Fer	0.0442 mg	0%	+173%
Cuivre	0.00489 mg	0%	+203%
Zinc	0.0176 mg	0%	-1%
Sélénium	21.2 µg	39%	+214%
Iode	0.267 µg	0%	-9%

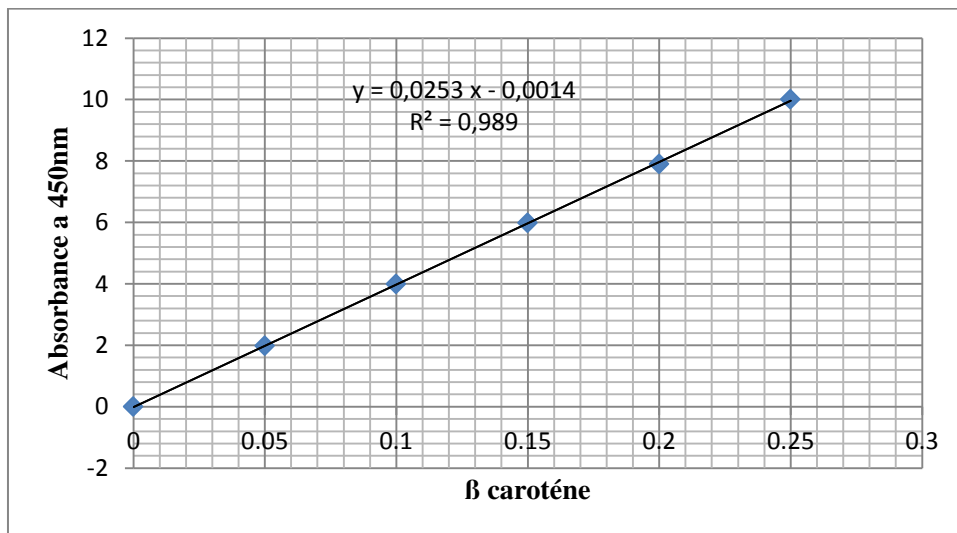
Annexe 06 : Différents courbes d'étalonnages utilisées



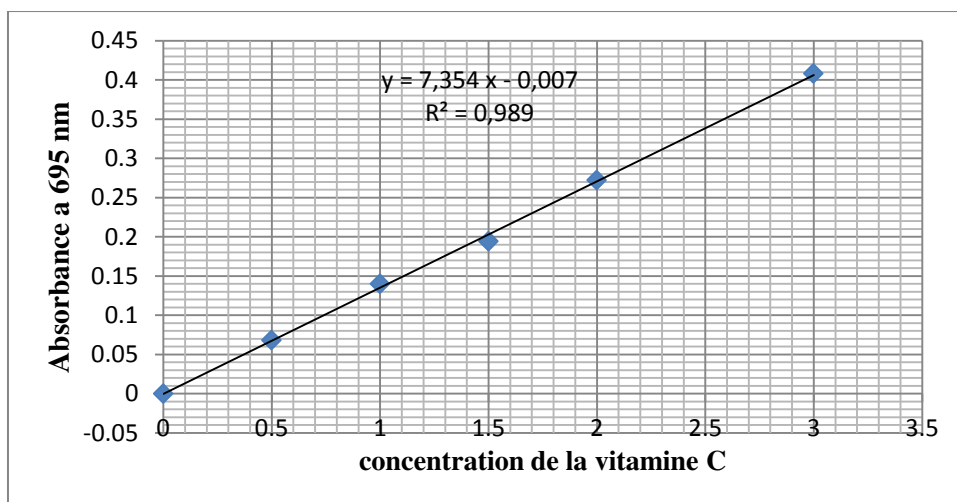
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



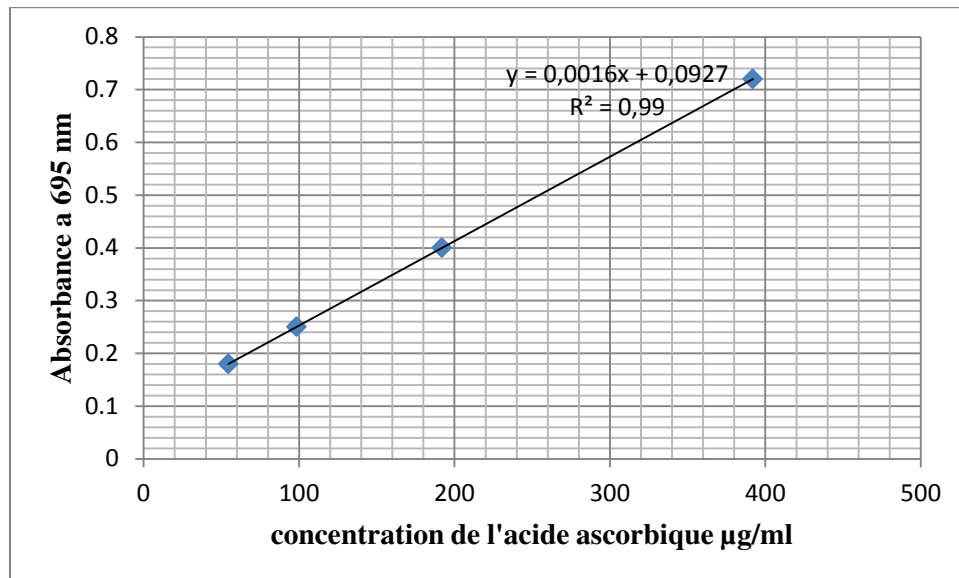
Courbe d'étalonnage de la quercétine



Courbe d'étalonnage de la β-carotène



Courbe d'étalonnage de la Vitamine C



Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

Annexe 07 : l'activité antibactérienne.



L'activité antibactérienne.

Résumé

L'huile d'olives est un produit ancestral largement reconnu pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine. Le but de cette étude est la détermination de la qualité des huiles d'olives issues d'une huilerie moderne « Kotama » de la région de Jijel par une caractérisation physicochimique, Microbiologique et organoleptique, ainsi qu'une évaluation de l'activité oxydante et antimicrobienne de leurs extraits.

L'analyse physico-chimique a montré que tous les échantillons présentent une acidité conforme à la norme, avec des indices de peroxydes assez faibles et une bonne activité antioxydante. L'analyse de la composition en acides gras a également démontré que ces huiles sont riches en acide oléique, et le pourcentage des acides gras insaturés est plus élevé à celui des acides gras saturés.

Vue son acidité, sa richesse en polyphénols, et sa note organoleptique, l'huile d'olives E1 est considérée comme étant de bonne qualité et classée la meilleure huile parmi les 03 échantillons analysés.

Mots clés : huile d'olives, Qualité, Activité antioxydante, Activité antimicrobienne, GC-MS.

Abstract

The olive oil is an ancestral product widely recognized for its beneficial effects on human health. The aims of this study is the determination of the quality of olive oils produced in modern mills « Kotama », in region of Jijel by physicochemical, microbiological and organoleptic characterization, also the evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of their extracts.

The physicochemical analysis showed that all samples have acidity in conformity with standard; very low values of peroxide index and a good antioxidant activity. The fatty acids composition showed that these oils are rich in oleic acid, and the percentage of the unsaturated fatty acids is higher than of those saturated.

For its adequate acidity, its high content in polyphenols, and its organoleptic note, the olive oil coded E1 demonstrates the best quality and it is classified the best olives oil.

Key words: olive oil, Quality, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, GC- MS.

ملخص

زيت الزيتون هو منتج موروث معترف به على نطاق واسع لأثاره المفيدة على صحة الإنسان. الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على جودة زيوت الزيتون منتجة من طرف مزيتة عصرية « كاتامة » في منطقة جيجل و ذلك من خلال التعرف على خصائصه الفيزيوكيميائية، الميكروبيولوجية و الحسية ايضا قيمة عامل اكسدته و نشاطه ضد المكروبات. بينت التحاليل الفيزيوكيميائية ان كل العينات المدروسة تتميز بموضه منخفضة موافقة للمعايير, قيما منخفضة جدا لعامل الاكسدة و بخاصيتها المضادة للأكسدة. كما اثبت تركيب الاحماض الدهنية لهذه الزيوت غناها بحمض الاوليك و سيادة الدهون غير المشبعة على نسبة الدهون المشبعة.

نظرا لموضته المناسبة, غناه بعديد الفينول, و علامته الحسية, اعتبر زيت الزيتون ' العينة الاولى ' ذو نوعية جيدة و صنف كأحسن زيت بين العينات الثلاثة.

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون, النوعية, القدرة المضادة للأكسدة, التثبيط الميكروبي GC-MS.