

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

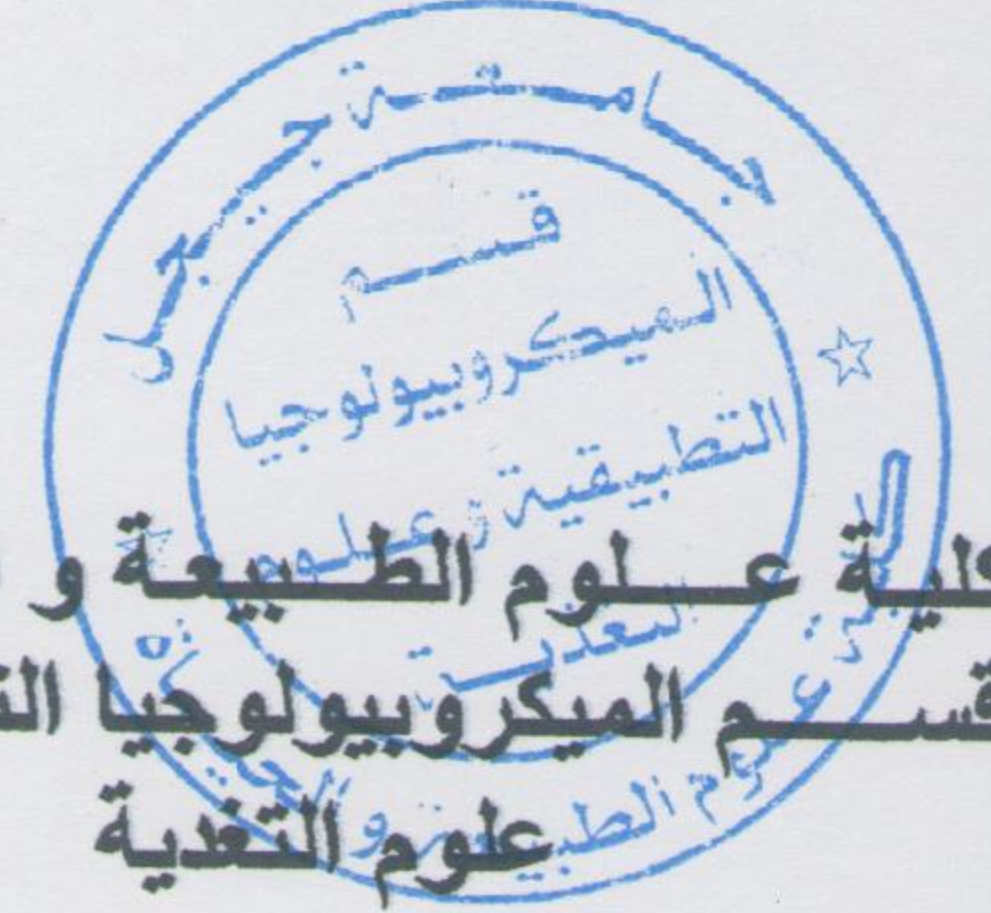
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

جامعة جيجل  
Université de Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la  
Vie  
Département : Microbiologie appliquée et  
sciences alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و  
علوم الطب و التغذية

M. CQ 01/14

## Mémoire de fin d'études

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

Option : Contrôle de qualité des produits alimentaires

$\frac{1}{2}$

Thème

**L'huile d'olive de la région de Jijel : Qualité et  
effet antiathérogène**

Membres de Jury :

Président : M<sup>me</sup> BOURZAMA G.

Encadrant : D<sup>r</sup> IDOUI T.

Examineur : M<sup>r</sup> LAIB S.

Présenté par

M<sup>elle</sup> LALOU Hasna

M<sup>elle</sup> ZIGHA Nour El Houda

Année Universitaire 2013-2014

# Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures et photos	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
<b>Partie I : Revue Bibliographique</b>	
<b>I- Olivier et l'huile d'olive.....</b>	<b>4</b>
I-1- Généralités.....	4
I-2- L'olivier et les olives.....	4
I-3- L'huile d'olive.....	5
I-3-1- Classification de l'huile d'olive.....	5
I-3-2- Technologie d'extraction de l'huile d'olive vierge.....	7
I-4- Composition et caractéristiques.....	11
I-5- Production et consommation d'huile d'olive.....	14
<b>I.6- La qualité de l'huile d'olive.....</b>	<b>15</b>
I.6.-1- Critères d'évaluation de la qualité de l'huile d'olive.....	15
I.6.2- Critères Organoleptique.....	16
I.6.3- Critères physicochimiques.....	17
<b>1.7- L'huile d'olive et santé .....</b>	<b>18</b>
I.7.1. L'huile d'olive et les maladies cardiovasculaires .....	19
I.7.2. L'huile d'olive et effets biologiques.....	19
<b>Partie II : Matériel et Méthodes</b>	
<b>II.1. Matériel .....</b>	<b>22</b>
II.1.1. Echantillonnage .....	22
II.1.2. Produits chimiques et réactifs .....	22
II.1.3. Milieux de culture .....	23
II.1.4. Animaux et régimes alimentaires .....	23
<b>II.2. Méthodes .....</b>	<b>24</b>
II.2.1. Contrôle organoleptique.....	24
II.2.2. Qualité physicochimique .....	25
II.2.2.1. pH.....	25
II.2.2.2. Indice d'acide et d'acidité.....	25
I.2.2.3. Indice de peroxyde.....	26
I.2.2.4. Indice de saponification.....	26
II.2.2.5. Indice d'iode.....	27
II.2.2.6. Indice de réfraction .....	27
II.2.2.7. Recherche du glycérol.....	28
II.2.2.8. Teneur en eau et en matières volatiles.....	28
II.2.2.9. Mesure de la teneur en impuretés insolubles.....	28
II.2.2.10. Détermination du point de solidification et de fusion.....	29
II.2.2.11. Détermination du point de fumée.....	29
II.2.2.12. Détermination de la densité relative.....	29
II.2.2.13. Détermination du coefficient d'extinction K270 et K232.....	29
II.2.2.14. Détermination de la composition en acides gras par GC-MS.....	30
II.2.2.15. Dosage des caroténoïdes totaux.....	31
II.2.2.16. Dosage de la teneur en chlorophylle.....	31
II.2.2.17. Dosage. des composés phénoliques.....	31
II.2.2.18. Dosage. des flavonoïdes.....	32

II.2.2.19. Dosahe des tanins condensés.....	32
II.2.3.1. Préparation des dilutions décimales.....	32
II.2.3.2. Dénombrement de la FTAM.....	32
II.2.3.3. Dénombrement des levures et moisissures.....	33
II.2.3.4. Dénombrement de la flore lactique.....	33
II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	33
II.2.4.1. Le test de DPPH.....	33
II.2.4.2. Le test de PPM.....	33
II.2.5. Etude <i>in vivo</i> .....	34
II.2.5.1. Les animaux.....	34
II.2.5.2. Dosage des lipides plasmiques.....	34
II.2.5.3. Dosage du glutathion.....	34
II.2.5.4. Dosage du MDA.....	35
II.2.6. Analyse statistique.....	35

### III. Résultats et Discussion

III.1. Contrôle organoleptique .....	37
III.2. Contrôle physicochimique.....	45
III.3. Contrôle microbiologique.....	72
III.4. Etude <i>in vivo</i> .....	73
<b>Conclusion</b> .....	81

#### Références bibliographiques

#### Annexes

Tableau 12 : Qualité microbiologique des six échantillons de l'huile d'olive.....	
Tableau 13 : l'évolution du poids de différents lots des rats durant l'expérimentation.....	
Tableau 14 : Teneurs de cholestérol total, de triglycérides, de HDL et de LDL, chez les différents lots expérimentaux.....	
Tableau 15 : Indice de risque des maladies cardiovasculaires .....	

---

## *Liste des tableaux*

---

<b>Tableau 1:</b> Composition en acide gras d'une huile d'olive.....	12
<b>Tableau 2 :</b> Codage et système d'extraction des six (06) échantillons de l'huile d'olive.....	22
<b>Tableau 3:</b> Résultats donnés par le dégustateur 1.....	37-38
<b>Tableau 4 :</b> Résultats donnés par le dégustateur 2.....	38-39
<b>Tableau 5 :</b> Résultats donnés par le dégustateur 3.....	39-40
<b>Tableau 6 :</b> Résultats donnés par le dégustateur 4.....	40-41
<b>Tableau 7 :</b> Résultats donnés par le dégustateur 5.....	42-43
<b>Tableau 8:</b> Résultats de l'indice de réfraction.....	52
<b>Tableau 9 :</b> Résultats de la recherche du Glycérol.....	53
<b>Tableau 10 :</b> comparaison entre la teneur en AGS, AGI et le point de fusion.....	57
<b>Tableau 11 :</b> Qualité microbiologique des six échantillons de l'huile d'olive.....	72
<b>Tableau 12 :</b> l'évolution du poids de différents lots des rats durant l'expérimentation.....	73
<b>Tableau 13 :</b> Teneurs de cholestérol total, de triglycéride, de HDL et de LDL chez les différents lots expérimentaux.....	74
<b>Tableau 14 :</b> Indice de risque des maladies cardiovasculaires .....	79

---

## *Liste des figures*

---

<b>Figure 01 :</b> Aspect visuel des six échantillons d'huile d'olive.....	43
<b>Figure 02:</b> Mise en évidence de la présence duglycérol.....	53
<b>Figure03 :</b> Indice d'acide, acidité oléique et pH des 06 échantillons d'huiles d'oliv.....	45
<b>Figure 04 :</b> L'indice de peroxyde des six échantillons de l'huile d'olive.....	47
<b>Figure 05 :</b> Indice de saponification des cis échantillons d'huiled'olive.....	49
<b>Figure 06:</b> Indices d'iode des 06 échantillons d'huiles d'olive.....	50
<b>Figure07:</b> Comparaison entre l'indice d'iode et la composition en acides gras insaturés des 06 échantillons d'huiles d'olive.....	51
<b>Figure 08:</b> Teneur en eau des six échantillons de l'huile d'olive.....	54
<b>Figure 09:</b> Teneur en impuretés des 06 échantillons d'huile d'olive.....	55
<b>Figure 010:</b> Point de solidification et de fusion des six échantillons de l'huile d'olive.....	56
<b>Figure 11 :</b> Points de fumée des 06 échantillons d'huile d'olive.....	57
<b>Figure 12:</b> Densités des six échantillons d'huile d'olive.....	58
<b>Figure 13:</b> Absorbances en UV K232 et K270 des six échantillons d'huile d'olive.....	59
<b>Figure 14:</b> Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région del'Arayache.....	60
<b>Figure 15:</b> Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région d'Ouled Si Ali.....	61
<b>Figure 16:</b> Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région de Texenna.....	61
<b>Figure 17:</b> Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région d'Al Emir Abdelkader.....	61
<b>Figure 18:</b> Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région d'Al Ancer.....	62
<b>Figure 19:</b> Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région d'Ouled Askeur.....	62
<b>Figure 20 :</b> Teneur en pigments (chlorophylles et caroténoïdes) des six échantillons de l'huile d'olive.....	63
<b>Figure 21:</b> Teneur en polyphénols des six échantillons de l'huile d'olive.....	65
<b>Figure 22:</b> Teneur en flavonoïdes des six échantillons d'huile d'olive.....	67
<b>Figure 23 :</b> Teneur en tanins des 18 échantillons d'huile d'olive.....	68
<b>Figure 24:</b> Activité antioxydant des six échantillons d'huiles d'olive par DPPH .....	69
<b>Figure 25:</b> Activité antioxydant des six échantillons d'huiles d'olive par PPM.....	70

*K<sub>232</sub>* : coefficient d'extinction à 232 nm;

---

## *Liste des abréviations*

---

- Ab** : Absorbance ;
- A%** : Acidité Oléique ;
- AG** : Acides Gras ;
- AGI** : Acides Gras Insaturé ;
- AGS** : Acides Gras Insaturé ;
- AGL** : Acides Gras Libres ;
- AGMI** : Acides Gras Mono-Insaturés ;
- AGPI** : Acides Gras Poly-Insaturés ;
- C** : Concentration de la solution en gramme par 100 millimètres ;
- Da** : Dalton ;
- DF** : Facteur de dilution ;
- DHA** : Docosahexaénoïc Acid ;
- DO** : Densité Optique ;
- DPPH** : DiPhényl Picryl-Hydrazyl ;
- EAG** : Equivalent d'acide gallique ;
- EPA** : eicosapentaenoïc Acid ;
- GC-MS** : Gas chromatography-mass spectrometry Gas ;
- HDL** : high density lipoprotein ;
- HOV** : Huile d'Olive Vierge ;
- Ia** : Indice d'acide ;
- Ii** : Indice d'iode ;
- Ip** : Indice de peroxyde ;
- Is** : Indice de saponification ;
- K<sub>232</sub>** : coefficient d'extinction à 232 nm ;
- K<sub>270</sub>** : coefficient d'extinction à 270 nm ;

**LDL** : Low Density Lipoproteine ;  
**M** : Masse molaire ;  
**MDA** : malondialdehyde ;  
**meq** : milliéquivalent ;  
**N** : Normalité ;  
**NS** : différence non significative ;  
**P** : risque d'erreur ;  
**PM** : Poids Moléculaire ;  
**PPM** : Particule Par Million ;  
**S** : épaisseur de la cuvette en centimètres ;  
**UFC** : Unité Fondamentale Colonie ;  
**UV** : Ultra Violet ;  
**V** : Volume ;  
**W** : la teneur en eau et en matière volatile ;

---

## *Introduction générale*

---



L'huile d'olive, est le jus de fruit pur le plus ancien. En raison d'éventuels bénéfices qu'elle pourrait apporter à la santé humaine, elle suscite de plus en plus l'intérêt des chercheurs et consommateurs (Haddada et al., 2006).

C'est un élément clé du régime alimentaire méditerranéen et beaucoup la considèrent comme un produit naturel très sain (Dugo et al., 2004). Des études observationnelles ont montré que les habitants des régions méditerranéennes ont une espérance de vie élevée et un faible risque des maladies chroniques que dans les autres régions du monde (Ortega, 2006). On croit que le régime alimentaire et le mode de vie de ces populations méditerranéennes ont conduit à une diminution du taux de cancer, du diabète et des maladies cardiaques (Huang et Sumpio, 2008).

L'huile d'olive vierge est l'un des ingrédients les plus importants du régime alimentaire méditerranéen, pour des raisons organoleptiques mais également pour des raisons de santé. Jusqu'à présent, on attribuait à sa teneur élevée en acides gras mono-insaturés les effets protecteurs contre les maladies associées au stress oxydatif (Dugo et al., 2004). Ces bienfaits ont été liés l'un ou l'autre à sa composition en acides gras bien-équilibrée, où l'acide oléique est le composant principal et où à la présence des biomolécules mineures, telles que les vitamines et les antioxydants naturels.

La forte demande en huile d'olive vierge de bonne qualité est due non seulement à ses vertus de santé mais également à ses propriétés organoleptiques (Luaces et al., 2003). La composition chimique de l'huile d'olive vierge est influencée par des facteurs génétiques et environnementaux, de sorte que l'olive produite dans une région soit en grande partie responsable des caractéristiques spécifiques d'huile d'olive (Issaoui et al., 2007).

En Algérie, il n'existe pas de données d'ensemble récentes sur les huiles d'olive Algériennes issues des principales régions oléicoles et extraites par des procédés différents surtout dans la région de Jijel où l'olivier représente l'une des principales filières pratiquées par les agriculteurs (Issaoui et al., 2007). En outre, la prévalence de l'hypercholestérolémie, en Algérie, n'a pas atteint les niveaux observés dans les pays industrialisés (Boukli Hacène et Meguenni, 2007).

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à caractériser la qualité de l'huile d'olive de la région de Jijel et évaluer son effet bénéfique sur la santé. Dans ce contexte, nous avons d'une part, élucidé la qualité organoleptique et physicochimique, cette dernière est fondée sur l'acidité, les peroxydes, l'extinction spécifique et la teneur en polyphénols et d'autre part, la qualité

microbiologique. Par la suite, nous avons passé à l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive in vitro. De plus, nous avons cherché à mettre en évidence la présence d'activités protectrices potentielles de la meilleure huile contre les effets toxiques de l'athérosclérose, et de comparer l'effet de cette huile avec un médicament, l'Atorvastatine qui est un hypocholestérolémiant. A l'origine d'une très forte morbi-mortalité et d'un coût socio-économique particulièrement lourd, l'athérosclérose et ses conséquences font l'objet d'une attention soutenue de la part de la communauté scientifique.

Ce manuscrit est organisé en trois parties ; une première partie qui passe en revue l'essentiel de la bibliographie sur l'olivier et l'huile d'olive, les critères de qualité de l'huile d'olive et les bienfaits de l'huile d'olive sur la santé puis, 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 la discussion des résultats obtenus.

## *Revue bibliographique*

## I. L'olivier et l'huile d'olive

### I.1. Généralités

L'huile d'olive est un élément clé du régime méditerranéen. Très présente dans l'alimentation des pays méditerranéens et préconisée par de nombreux diététiciens, elle a acquis une place importante dans la recherche sur ses propriétés médicinales et cosmétiques. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (Berthou, 1996).

De nombreuses recherches ont été faites pour en garantir sa pureté, son authenticité et sa qualité. Elle est également une de celle pour lesquelles on a observé en premier l'influence de la variété, la région de culture et les conditions climatiques sur la composition et les caractéristiques (Berthou, 1991).

### I.2. L'olivier et les olives

L'olivier (*Olea europaea L.*) est l'une des plus anciennes cultures ligneuses, elle est particulièrement répandue dans toute la région méditerranéenne et joue un rôle important dans l'économie rurale, le patrimoine et la production alimentaire (Ellis et al., 2007). Elle a été depuis le sujet de nombreux travaux de recherche.

---

# Revue bibliographique

---

fertilisant (Beckemuhl et Ghannem, 2012).

L'olivier se caractérise par un tronc bus, de couleur gris. C'est un arbre à croissance lente qui peut atteindre 15 à 20 mètres de hauteur selon les sols et les climats. On le taille entre 3 et 5 mètres pour en améliorer la productivité. Il est toujours vert mais dont les dimensions et les formes peuvent être très variables. C'est le seul arbre fruitier à feuilles persistantes. S'il n'est pas taillé, son port est pyramidal (Henry, 2003).

L'olive est le fruit de l'olivier et appartient à la famille des Oleaceae. Sa culture s'inscrit dans les dates bibliques, et la production de l'huile d'olive est devenue une des activités essentielles dans l'agriculture du pourtour méditerranéen (Owen et al., 2000). Une hypothèse commune, basée sur des ressources archéologiques, géographiques et des données biologiques, est que l'olivier cultivé (*O. europaea L.*, var. *Sativa L.*) a été dérivé de la domestication de l'olivier sauvage ou l'oléastre (*O. europaea L.*, ssp. *syriaca* (Miller) Hegl), car ils sont semblables à la forme sauvage (Green, 2002).

Le fruit de l'olivier est une drupe à mésocarpe charnu, indurécité et à noyau. La forme est ovale ou elliptique. Ses dimensions sont très variables suivant les variétés. La peau de ce fruit est constituée de l'épicarpe (épiderme ou peau) solidement attaché à la pulpe. A maturité, l'olive passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive noire) (Berthou,

## I. L'olivier et l'huile d'olive

### I.1. Généralités

L'huile d'olive est un élément clé du régime méditerranéen. Très présente dans l'alimentation des pays méditerranéens et préconisée par de nombreux diététiciens, elle a acquis une place essentielle dans la recherche sur ses propriétés médicinales et cosmétiques. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (Boskou, 1996).

De nombreuses recherches ont été faites pour en garantir sa pureté, son authenticité et sa qualité. Elle est également une de celle pour lesquelles on a observé en premier l'influence de la variété, la région de culture et les conditions climatiques sur la composition et les caractéristiques (Uzzan, 1992).

### I.2. L'olivier et les olives

L'olivier (*Olea europaea L.*) est l'une des plus anciennes cultures ligneuses, elle est particulièrement répandue dans toute la région méditerranéenne et joue un rôle important dans l'économie rurale, le patrimoine local et la protection de l'environnement (Elbir et al., 2012). Elle a été depuis la nuit des temps considérée comme symbole de la sagesse, de la paix, de la richesse et de la gloire. Cet arbre parfaitement adapté au climat tempéré, aux sols rocheux et calcaires, ne nécessite pas d'apport de fertilisant (Benlemlih et Ghanam, 2012).

L'olivier se caractérise par un tronc bas, de couleur grise. C'est un arbre à croissance lente qui peut atteindre 15 à 20 mètres de hauteur selon les sols et les climats. On le taille entre 3 et 5 mètres pour en améliorer la productivité. Il est toujours vert mais dont les dimensions et les formes peuvent être très variables. C'est le seul arbre fruitier à feuilles persistantes. S'il n'est pas taillé, son port est pyramidal (Henry, 2003).

L'olive est le fruit de l'olivier et appartient à la famille des Oleaceae. Sa culture s'inscrit dans les dates bibliques, et la production de l'huile d'olive est devenue une des activités essentielles dans l'agriculture du pourtour méditerranéen (Owen et al., 2000). Une hypothèse commune, basée sur des ressources archéologiques, géographiques et des données biologiques, est que l'olivier cultivé (*O. europaea L.* var. *Sativa* Lehr) a été dérivé de la domestication de l'olivier sauvage ou l'oléastre (*O. europaea L.* subsp. *sylvestris* (Miller) Hegi), car ils sont semblables à la forme sauvage (Green, 2002).

Le fruit de l'olivier est une drupe à mésocarpe charnu, indéhiscente et à noyau. Sa forme est ovoïde ou ellipsoïde. Ses dimensions sont très variables suivant les variétés. La paroi de ce fruit est constituée : de l'épicarpe (épiderme ou peau) solidement attaché à la pulpe. A maturation, l'épicarpe passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive tournante) puis à la

coloration noirâtre (olive noire) ; du mésocarpe (pulpe ou chair), charnu, riche en huile et de l'endocarpe (noyau), scléreux, constitué par un noyau fusiforme, très dur. A l'intérieur du noyau se trouve une seule graine contenant l'embryon et l'albumen (Henry, 2003). La composition chimique moyenne de l'olive est de 50 % de l'eau, 22 % huiles, 1,5 % polyphénols, 1,5 % protéines, 18 % sucres, 5,5 % cellulose et 1,5 % minéraux. D'autres constituants importants sont les pectines, les acides organiques, les pigments et les glycosides de phénols (Benlemlih et Ghanam, 2012).

### I.3. L'huile d'olive

Selon le Conseil Oléicole International (COI, 2013), l'huile d'olive c'est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea saliva Hoffg, Linl*) à l'exception des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

#### I.3.1. Classification de l'huile d'olive

##### I.3.1.1. L'huile d'olive vierge

C'est l'huile obtenue à partir du fruit de l'olivier, uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas l'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).

**I.3.1.1.1. L'huile d'olive vierge propre à la consommation :** La classification donnée par la C.O.I (2013) est la suivante :

- **L'huile d'olive vierge extra :** Huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente norme.
- **L'huile d'olive vierge :** Huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente norme.
- **L'huile d'olive vierge courante :** Huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente norme.

#### **I.3.1.1.2. L'huile d'olive vierge non propre à la consommation en l'état dénommée huile d'olive vierge lampante**

Huile d'olive 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 prévues pour cette catégorie. Elle est destinée au raffinage en vue de son utilisation pour la consommation humaine ou destinée à des usages techniques (C.O.I, 2013).

#### **I.3.1.2. L'huile d'olive raffinée**

Est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive 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 présente norme (C.O.I, 2013)

#### **I.3.1.3.L'huile d'olive**

Est l'huile constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'huiles 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 présente norme (C.O.I, 2013).

#### **I.3.1.4.L'huile de grignons d'olive**

Est l'huile obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. Elle est commercialisée selon les dénominations et définitions ci-après (C.O.I, 2013) :

- **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 présente norme. 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 présente norme.

- **L'huile de grignons d'olive** : Est l'huile constituée par le coupage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'huiles 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 présente norme. Ce coupage ne peut, en aucun cas, être dénommé « huile d'olive ».

### I.3.2. Technologie d'extraction de l'huile d'olive vierge

Le procédé de fabrication de l'huile d'olive est relativement simple mais nécessite de respecter avec soin ses différentes étapes : lavage, broyage, pressurage, décantation et stockage.

#### I.3.2.1. Opérations préliminaires

**a. Récolte** : La récolte doit être contrôlée de près étant donnée ses répercussions sur le coût de la production, la qualité du produit obtenu et la qualité de l'huile d'olive (**Ouaouich et Chimi, 2007**).

La cueillette des fruits est délicate, le moment de la récolte doit être bien choisi. Une récolte trop précoce donne des fruits de consistance très dure et un goût de bois. Pour déterminer la période idéale, il existe plusieurs astuces (**Polese, 2007**) :

- ✓ L'olive doit avoir une couleur vert-jaune ;
- ✓ Dans un fruit coupé transversalement, le noyau doit se détacher facilement, ou tout au moins, on doit pouvoir le faire tourner dans sa loge ;
- ✓ Pressé entre les doigts, le fruit doit laisser s'écouler un jus laiteux ; un jus vert trahit un fruit qui n'est pas assez mûr ;
- ✓ Il est déconseillé de cueillir les olives par temps de pluie. Après la cueillette, elles ne doivent être laissées ni en plein soleil, ni sous la pluie.

Il existe de nombreuses techniques de récolte des olives. La méthode traditionnelle est la récolte à la main, c'est la plus respectueuse de l'arbre mais la récolte est fastidieuse et très longue. La méthode la plus communément utilisée en Provence est la cueillette au peigne manuel. La méthode mécanique par des systèmes de peignes mécaniques équipés d'un moteur faisant tourner les peignes au bout d'un manche télescopique permet une récolte plus rapide des olives et reste peu traumatisante pour les oliviers. En Espagne ou en Italie la technique la plus utilisée sur les grandes exploitations est celle par vibration des branches (**Veillet, 2010**).

**b. Transport, réception et stockage des olives :** Pour conserver les caractéristiques de qualité des olives, il s'avère nécessaire de les acheminer immédiatement vers les moulins. Le moyen le plus approprié pour le transport des olives est représenté par les caisses à claire voie en matière plastique permettant la circulation de l'air et évitant des réchauffements préjudiciables causés par l'activité catabolique des fruits. Par contre, le transport des olives dans des sacs en jute est peu rationnel, car cette modalité provoque inévitablement des lésions aux drupes, surtout si elles sont très mûres (**Ouaouich et Chimi, 2007**).

Après la récolte, le stockage se fait dans un lieu frais, il ne faut pas les conserver dans des sacs ou dans des récipients clos et ne pas les entasser. Dans tous les cas, les olives doivent être traitées ou transformées le plus vite possible après la cueillette (**Polese, 2007**).

La seule manière de limiter l'altération des olives est de réduire la durée de stockage au minimum possible (2 à 5 jours) car un stockage prolongé représente une cause principale de détérioration de la qualité de l'huile, limiter l'épaisseur de la couche entre 20 et 30 cm d'épaisseur en cas de stockage en vrac pour permettre l'aération du tas et veiller à une rotation méthodique des stocks, alors que le stockage dans les sacs est à bannir (**Ouaouich et Chimi, 2007**).

### **I.3.2.2. Trituration des olives**

**a. Effeillage et Lavage :** L'effeuillage est une opération nécessaire pour éviter une coloration trop verdâtre de l'huile, se traduisant par un excès d'amertume et par une moindre aptitude à la conservation de l'huile. Le poids de feuilles à tolérer ne doit pas dépasser 1% du poids du lot d'olives à triturer. L'effeuillage des olives peut être effectué manuellement ou à l'aide d'un système rectangulaire en fils de fer, séparés entre eux par environ 1 cm. Cette opération peut être effectuée par des machines effeuilleuse-laveuse en même temps (**Ouaouich et Chimi, 2007**).

Le lavage est une opération fondamentale pour éviter les problèmes suivants cimentée (**Chimi, 2006 ; Ouaouich et Chimi, 2007**):

- ✓ Une interférence des terres avec la couleur et les autres propriétés organoleptiques (odeur, goût) de l'huile ;
- ✓ Une baisse du rendement d'extraction, sachant que les terres accompagnant les olives absorbent près du quart (25%) de leur poids en huile ;
- ✓ Une durée de conservation réduite de l'huile étant donné que certaines traces métalliques dans les terres sont des catalyseurs de l'oxydation de l'huile ;



- ✓ Une augmentation de la proportion des « fonds de pile » qui entravent une bonne séparation des phases liquides.

A défaut de disposer de laveuse appropriée pour le lavage des olives, ce dernier peut être effectué de manière statique, sur une aire cimentée (Chimi, 2006 ; Ouaouich et Chimi, 2007).

**b. Broyage et malaxage :** Le broyage et le malaxage permettent d'obtenir une pâte qui contient de la matière solide et du fluide (Benabid, 2009). C'est en brisant la paroi des vacuoles que l'on peut récupérer l'huile (Henry, 2003). Le broyage en industrie se fait à l'aide d'un broyeur métallique qui aboutit à la formation d'une pâte (Benyahia, 2003). Le broyage des olives ne doit être trop grossier, ni trop fin. Il doit être adapté à la condition physique des olives et à leur degré de maturité (Ouaouich et Chimi, 2007).

Le broyage ne suffit pas à briser la totalité des vacuoles contenant l'huile. Pour libérer le maximum d'huile, un malaxage est appliqué à la pâte jusqu'à l'obtention d'une pâte onctueuse pour faciliter l'extraction (Benabid, 2009). Le malaxage a pour but d'homogénéiser la pâte d'olive, mais il va également et surtout permettre la coalescence des gouttelettes d'huile (Veillet, 2010), l'opération de malaxage s'avère nécessaire et doit être réalisée pendant 60 minutes au minimum et à des températures supérieures à la température ambiante mais ne dépassant pas 25°C (Ouaouich et Chimi, 2007).

### **I.3.2.3. Extraction de l'huile**

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 constituée 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. La séparation des grignons du mélange huile/eaux de végétation fait appel à des systèmes de pression, de centrifugation et de percolation (Benlemlih et Ghanam, 2012).

**a. Système à presse :** Ce sont des systèmes classiques par pression à l'aide de broyeurs. Le broyage des olives suivi du malaxage se font sous des meules. Une pâte est obtenue au bout d'une demi-heure environ. Elle est composée de grignon et d'un moût contenant l'huile et les margines. La séparation des deux phases solide-liquide se fait par simple pression, alors que l'huile est séparée des margines par décantation naturelle. Aujourd'hui, l'extraction par pression est effectués en super-presse hydrauliques avec une pression allant jusqu'à 400 ATM. Le système super-presse fonctionne en mode simple avec une augmentation progressive de la pression jusqu'à sa valeur

maximale obtenue après 45-60 min et qui est maintenue pendant 10-20 min. Après le pressage, une petite quantité d'eau est utilisée pour rincer le matériel et transférer l'huile vers les bassins de clarification. En moyenne, le rendement de transformation obtenu s'élève à 86-90 % et l'humidité des grignons à environ 28 % (Benlemlih et Ghanam, 2012).

**b. Extraction par 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 proportionnelle à la vitesse angulaire au rayon de rotation, ainsi que de la différence de la densité des lipides 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 (Benlemlih et Ghanam, 2012).

**c. 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'olive 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'olive à une deuxième extraction par centrifugation (Hibler, 2003 ; Mahbouli, 2005).

#### **I.3.2.4. Séparation de l'huile des margines**

Le liquide obtenu à l'extraction est composé d'huile et d'eau. Il est entraîné dans un décanteur centrifuge qui va séparer l'huile, les déchets solides résiduels et la margine. Jadis, la décantation se faisait par un procédé naturel : l'huile, plus légère que l'eau, remontait à la surface des margines et était recueillie (Benabid, 2009).

#### **I.3.2.5. Conditionnement et étiquetage**

Le conditionnement de l'huile d'olive est soumis à des règles très strictes par application des contrôles relatifs aux produits chimiques de l'alimentation humaine. Les matériaux utilisés doivent répondre aux exigences suivantes (Ouaouich et Chimi, 2007):

- ✓ Ne communiquer à l'huile aucune odeur ni saveur étrangère ;
- ✓ Ne pas donner lieu à une contamination par les métaux et être résistants à la corrosion due éventuellement aux acides gras libres de l'huile ;
- ✓ Être imperméables à l'oxygène de l'air et à l'humidité ;
- ✓ Protéger l'huile contre les amplitudes thermiques et être opaques.

L'huile d'olive conservée dans des récipient en plastique ou en verre perd sa qualité organoleptique durant la période de stockage, alors que celle stockée dans des bouteilles en zinc ou en fer blanc (inox) qui présente une bonne résistance mécanique, est mieux protégée contre l'oxydation (**Mendez et Falqué, 2007**).

En ce qui concerne la tolérance de remplissage des récipients, le volume occupé par le contenu ne devra en aucun cas être inférieur à 90% de la capacité du récipient, exception faite aux récipients en fer blanc (inox) d'une capacité égale ou inférieure à 1 litre et dans lesquels le volume occupé par le contenu ne devra en aucun cas être inférieur à 80% (**Ouaouich et Chimi, 2007**).

L'étiquetage permet aux opérateurs, tout au long de la chaîne, de manipuler, présenter, entreposer, préparer et utiliser l'huile conditionnée en toute sécurité et de façon correcte. L'étiquette éditée reprend les renseignements suivants : le nom du produit, le contenu net, le nom et l'adresse du fabricant, le pays d'origine, la dénomination de l'huile, l'identification du lot, la date de fabrication et d'expiration, les conditions et les instructions d'entreposage et la date de durabilité (**Chimi, 2006**).

#### **I.4. Composition et caractéristiques de l'huile d'olive**

##### **I.4.1. La composition majeure**

La teneur en acides gras de l'huile d'olive (tableau 1) 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 acide gras mono-insaturés représentée par l'acide oléique de la famille oméga-9 (65 à 80 %), 15 % d'acides gras saturés et 10 % d'acides gras polyinsaturés représentés par l'acide linoléique (oméga-6) dominant et des traces de l'acide  $\alpha$ -linoléique (oméga-3) ; acides gras essentiels, indispensables car non synthétisables par l'organisme humain (**Mezghache et al., 2010**).

Tableau 1 : Composition en acide gras d'une huile d'olive (Ollivier et al., 2003, Codex alimentarius).

Acide gras	Formule brute	Ollivier et al. (2003) (%)	Codex alimentarius (%)
Acide myristique	C14 :0	Trace	<0.1
Acide palmitique	C 16 :0	7.5-15.6	7.5-20
Acide sapiénique	C 16 :1n-9	0.1-0.2	0.3-3.5
Acide palmitoléique	C 16 :1n-7	0.3-1.9	0.3-3.5
Acide margarique	C 17 :0	<0.3	<0.5
Acide margaroléique	C 17 :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 linoléique	C18 :2n-6	4.5-16.1	3.5-21
Acide $\alpha$ -linoléique	C18 :3n-3	0.4-1.2	<1.5
Acide arachidonique	C20 :0	0.3-0.5	<0.8
Acide gadoléique	C20 :1n-9	0.2-0.5	-
Acide béhénique	C22 :0	<0.2	<0.2
Acide lignocérique	C24 :0	<0.1	<1

#### I.4.2. La composition mineure

L'huile d'olive se caractérise par son parfum délicat et unique. Cet arôme très particulier est dû à toute une gamme de composants présents à très faibles concentrations. Les constituants mineurs de l'huile d'olive sont des indicateurs de son authenticité (Harwood et Aparicio, 2000), de même que ses caractéristiques sensorielles (Ollivier et al., 2007).

##### I.4.2.1. Les tocophérols

Ce sont des vitamines liposolubles, composés importants de l'huile d'olive en raison de leur contribution à la stabilité oxydative et aux qualités nutritionnelles de l'huile. Ce sont de puissants agents antioxydants capables de lutter contre l'attaque des radicaux libres, les  $\alpha$ - tocophérols ou vitamine E représentent 90 % des formes de tocophérols (Simopoulos et Visioli, 2000). Mais on trouve également un peu de beta et gamma tocophérols, alors que le delta tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces (Psomiadou et al., 2000).

La quantité de tocophérol dans l'huile d'olive dépend non seulement de la présence de ces composés dans l'olive mais aussi d'autres facteurs impliqués dont la variété d'olive et sa maturité (Aparicio et Luna, 2002). Ainsi que les conditions et la durée de la conservation, le transport et le procédé de traitement du fruit (Psomiadou et al., 2000; Guillard, 2003).

#### **I.4.2.2. Composés phénoliques**

La pulpe de l'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui passent dans l'huile en augmentant ainsi sa stabilité oxydative et en améliorant le goût (Owen et al., 2000), ils contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à l'amertume des huiles (Brenes et al., 2000). Présentent en assez grande quantité (20 à 500 mg pour 100 g), les composés les plus abondants sont l'oleuropéine, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, l'acide homovanillique et le verbascoside. La composition en polyphénols de l'huile d'olive dépend de la variété et de la maturité des olives mais aussi des procédés technologiques utilisés pour séparer la phase aqueuse (margines) de la phase huileuse. Le principal responsable de l'action antioxydante des polyphénols semble être l'hydroxytyrosol. C'est en partie grâce à lui que l'huile d'olive montre une aussi grande stabilité face à l'oxydation. L'hydroxytyrosol est, en effet, bien connu pour la protection «anti-peroxyde» qu'il confère à l'huile d'olive (Leger, 1999).

#### **I.4.2.3. Les composés aromatiques**

Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 300 Da) 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 ces produits de dégradation vont être associés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olive. A l'inverse, les produits d'oxydation chimique ou dus à des enzymes exogènes (activité microbiologique) seront généralement associés à des défauts sensoriels (Venkateshwarlu et al., 2004).

#### **I.4.2.4. Les pigments colorants**

La coloration de l'huile d'olive est le résultat des teintes vertes et jaunes en raison de la présence des chlorophylles et des caroténoïdes (Psomiadou et al., 2001 ; Kataja-Tuomola, 2008 ; Nieves Criado et al., 2007) :

- ✓ Les pigments caroténoïdes surtout présent dans l'huile d'olive est le  $\beta$ -carotène (provitamine A). Son taux varie de 0,3 à 3,7 mg / kg d'huile ;
- ✓ La chlorophylle, ce pigment dont la teneur peut varier en fonction de nombreux facteurs, exerce biologiquement une action d'excitation du métabolisme, de stimulation de la croissance cellulaire, l'hématopoïèse (de la formation des cellules du sang) et d'accélération des processus de cicatrisation.

Les pigments change selon la variété, la température et la durée du traitement thermique de l'olive (Garcia et al., 2001), ainsi que la culture, le sol, le climat, et le degré de maturation du fruit (Boskou, 1996 ; Criado et al., 2007).

#### **I.4.2.5. Les stérols**

Les stérols végétaux appelés phytostérols occupent la plus grande partie de la matière insaponifiable des huiles constituants non glycéridique, ils représentent en poids environ 50% de l'insaponifiable. Le patrimoine en phytostérols de l'huile d'olive est singulier. En effet, c'est la seule huile qui contient un taux particulièrement élevé de  $\beta$ -sitostérol, substance qui s'oppose à l'absorption intestinale du cholestérol (Viola, 1997 ; Osland , 2002).

La composition stérolique est spécifique pour chaque espèce végétale. Plusieurs études ont identifiés trois principaux stérols dans les huiles d'olive : le  $\beta$ - sitostérol, le campestérol et le stigmastérol (Stiti, 2002 ; Bentemime et al., 2008). La composition stérolique peut varier avec les conditions agronomiques et l'état de conservation de l'huile (Canàbate-Díaz et al., 2007).

#### **I.4.2.6. Les hydrocarbures**

Le composant majeur est le squalène qui constitue 30 à 50 % de ces composés. C'est un hydrocarbure polyénique dont la teneur est plus élevée que dans n'importe quelle autre huile végétale ou animale. Le squalène est un précurseur métabolique du cholestérol et autres stérols (Samaniego-Sanchez et al., 2010). L'huile d'olive vierge extra contient du squalène à raison d'environ 400-450 mg/100g, tandis que l'huile d'olive raffinée en contient 25% de moins (Owen et al., 2000).

### **I.5. Production et consommation d'huile d'olive**

L'oléiculture représente une des plus anciennes activités agricoles dans le bassin méditerranéen où la production d'olive a une fortune économique transmise sur plusieurs générations (Uccella, 2001).

L'huile d'olive représente environ 3% du marché mondial des huiles comestibles. Selon les estimations du Conseil Oléicole International (COI), mais elle occupe une place notable dans la consommation en lipides des pays méditerranéens.

La production mondiale d'olives a varié ces dix dernières années entre 9 et 15 millions de tonnes dont 90 à 95 % est destinée à la fabrication d'huile d'olive et d'huile de grignons d'olive, plus de 98 % de cette production est le fait de pays du pourtour méditerranéen (Espagne, Portugal, Italie, Grèce, Turquie, Tunisie, Maroc, Jordanie, Syrie, Algérie), dont près des 2/3 relèvent de l'Espagne et l'Italie (Lazzeri, 2009).

En Algérie, la filière oléicole est en grande partie à caractère familiale et localisée en zone de montagne (Kabylie, 55%) où l'autoconsommation est privilégiée (Nouad, 2004). En termes de production d'olives nationale, la moyenne annuelle est estimée à 200 000 tonnes, dont un peu plus de 68 % sont réalisés par les wilayas de Béjaia, Tizi Ouzou, Bouira, Jijel et Sétif. 88% de la production totale est destinée à l'extraction de l'huile. La production d'huile d'olive obtenue est évaluée à 265 000 hectolitres dont 82% sont réalisés par les cinq wilayas classées par ordre d'importance : Béjaia (37,2%), Tizi ousou (17%), Jijel (11,6%), Sétif (9,7%) et Bouira (6,5%). Le reste de la production (12%) est destiné à la consommation en tant que olives de table (Benabid, 2009).

Bien que la consommation de la plupart des pays producteurs ou non producteurs augmente, la part des plus importants pays producteurs diminue lentement dans la consommation mondiale d'huile d'olive. Elle est ainsi passée en 4 ans de 82 % à 80 % tandis que celle des petits pays producteurs (Etats-Unis et Australie en tête) est passée de 11,9 à 13,4 % (Afidol, 2008).

## **I.6. Qualité de l'huile d'olive**

### **I.6.1. Critères d'évaluation de la qualité de l'huile d'olive**

Le Conseil Oleicol International (COI, 1990) et le règlement de la Commission Européene (CE 2568/91, 1991) ont défini la qualité d'huile d'olive, basée sur les paramètres qui incluent le pourcentage d'acide gras libre, la teneur en indice de peroxyde, le coefficient de l'extinction spécifique  $K_{232}$  et  $K_{270}$ , ainsi que les caractéristiques sensoriels. Par ailleurs, plusieurs auteurs ont proposé d'inclure les phénols comme un bon indicateur de qualité d'huile d'olive (Blekas et al., 2002 ; Psomiadou et al., 2000).

Les normes du Codex Alimentarius (1993) ont établi des critères complémentaires de qualité des différentes catégories d'huile d'olive. Elles incluent des limites suggérées pour les substances volatiles, les impuretés insolubles, les insaponifiables, les oligo-métaux, la densité et l'indice de réfraction. Quant au règlement de la CE, il est plus spécifique au sujet de l'évaluation sensorielle.

La qualité d'huile d'olive est influencée par plusieurs facteurs ; notamment la variété de l'olivier et son environnement, les méthodes de récolte des olives et des processus d'extraction (Chimi, 2006 ; Ben Ahmed et al., 2007).

### **I.6.2. Critères Organoleptiques**

L'huile d'olive est un liquide limpide, transparent, jaune ou jaune vert, d'odeur caractéristique, pratiquement insoluble dans l'alcool, miscible à l'éther et à l'éther de pétrole (Henry, 2003).

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 COI et la Communauté Economique Européenne (CEE). Les attributs sensoriels d'une huile ont été classés en deux catégories : les attributs positifs et les défauts. Il existe 3 grands attributs positifs (COI, 2007):

- ✓ **Amer** : il est défini comme le goût élémentaire caractéristique de l'huile obtenue d'olives vertes ou au stade de la véraison, perçu par les papilles caliciformes formant le V lingual.
- ✓ **Fruité** : ensemble des sensations olfactives caractéristiques de l'huile, dépendant de la variété des olives, provenant de fruits sains et frais, perçues par voie directe ou rétro-nasale. Le fruité vert correspond aux caractéristiques rappelant les fruits verts à l'inverse du fruité mûr qui témoigne d'une récolte des olives plus tardive.
- ✓ **Piquant** : sensation tactile de picotement, caractéristique des huiles produites au début de la campagne, principalement à partir d'olives encore vertes, pouvant être perçue dans toute la cavité buccale, en particulier dans la gorge.

Toute caractéristique autre que ces trois attributs sera perçue comme un défaut de l'huile. Il est à noter que pour être classée comme « huile d'olive vierge extra », l'huile ne doit présenter aucun de ces défauts.

Les principaux défauts sont (COI, 2007):

**Chômé/lies** : flaveur caractéristique de l'huile tirée d'olives entassées ou stockées dans des conditions telles qu'elles se trouvent dans un état avancé de fermentation anaérobie, ou 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.

- ✓ **Moisi/humide** : flaveur caractéristique d'une huile obtenue d'olives attaquées par des moisissures et des levures par suite d'un stockage des fruits pendant plusieurs jours dans l'humidité.
- ✓ **Vineux/vinaigré ou acide/aigre** : flaveur caractéristique de certaines huiles rappelant le vin ou le vinaigre. Cette flaveur est due fondamentalement à un processus de fermentation aérobie des olives ou des restes de pâte d'olive dans des scourtins qui n'auraient pas été lavés correctement, qui donne lieu à la formation d'acide acétique, acétate d'éthyle et éthanol.
- ✓ **Métallique** : flaveur qui rappelle les métaux. Elle est caractéristique de l'huile qui est demeurée longtemps en contact avec des surfaces métalliques, au cours du procédé de broyage, de malaxage, de pression ou de stockage.
- ✓ **Rance** : flaveur des huiles ayant subi un processus d'oxydation intense. 28 d'autres attributs négatifs moins courants ont également été décrits par le Comité Oléicole International. Parmi ceux-ci le cuit ou brûlé (dû à un réchauffement excessif et prolongé de la pâte lors du malaxage), le « vers » (olives ayant subi une attaque de la mouche de l'olivier, *Bactrocera Oleae*) ou encore le bois humide (olive ayant subi une congélation sur l'arbre avant récolte).

### I.6.3. Critères physicochimiques

#### I.6.3. 1. Indice d'acidité

L'acidité de l'huile d'olive est évaluée par la quantité d'acides gras libres, exprimée, en gramme d'acide oléique par 100 g d'huile d'olive. Elle est apparue comme moyen simple et efficace pour l'évaluation qualitative et la classification par catégorie commerciale des huiles d'olive. Fraîchement extraite à partir d'olives saines et selon de bonnes pratiques de trituration, l'huile d'olive 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. Des huiles d'olive ayant une acidité supérieure à 3.3% ne sont pas comestibles, et doivent être raffinées (Mahjoub et al., 2006).

#### I.6.3. 2. Indice de peroxyde

L'altération chimique des corps gras provoquée par l'oxygène de l'air débute par la formation d'un peroxyde. La détermination de cet indice est basée sur l'oxydation des iodures en iode par l'oxygène actif du peroxyde (Henry, 2003).

L'indice de peroxyde quant à lui est exprimé généralement en milliéquivalent d'oxygène par kg d'huile, cet indice sert à évaluer l'état de conservation d'une matière grasse au cours du stockage, et ne doit pas dépasser 20 meq O<sub>2</sub>/Kg pour toutes les catégories d'huile d'olive. Il indique l'état de rancissement de l'huile d'olive qui pourrait être lié à l'état avancée de maturation des olives, à l'exposition des olives et/ou l'huile d'olive à l'oxydation lors des différentes étapes de trituration et lors du stockage. L'indice de peroxyde sert à évaluer la quantité de peroxydes présents dans l'huile (quantité d'acide gras à l'état rance) (Judde, 2004).

### **I.6.3. 3. Extinction spécifique**

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 (Tchiegang et al., 2005).

L'extinction à 270 nm d'un corps gras brut peut être considérée comme une image de son état d'oxydation, plus l'huile est peroxydée et plus l'extinction à 270 nm est forte, plus elle est riche en produits secondaires d'oxydation en particulier des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent la lumière vers 270 nm (Gharby et al., 2011).

### **I.6.3.4. Les composés phénoliques**

Les huiles d'olives 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'olives et lui fournissent des effets antioxydants et sont en grande partie responsables de sa durée de conservation (Meftah et al., 2013).

## **I.7. L'huile d'olive et la santé**

L'huile d'olive est la meilleure huile du point de vue diététique. Elle a fait l'objet de nombreuses études, et son action bénéfique sur l'organisme est maintenant reconnue par tous (Polese, 2007). La forte teneur de l'huile d'olive en acide oléique constitue un réel atout d'un point de vue intérêt nutritionnel (Veillet, 2010), ainsi que la forte médiatisation des bienfaits de l'huile d'olive et ses vertus pour la santé font d'elle un produit de plus en plus consommé dans le monde, ceci a créé une nouvelle dynamique de l'oléiculture (Tanouti et al., 2011).

### I.7.1. L'huile d'olive et les maladies cardiovasculaires :

Les acides gras que renferme l'huile d'olive favorisent la production du bon cholestérol, qui prévient les maladies cardiovasculaires. Elle a une action sur le système digestif, notamment sur le foie et la vésicule biliaire (Polese, 2007).

Un certain nombre d'études ont montré que les taux de décès dus à des maladies cardiovasculaires étaient plus bas dans les pays méditerranéens qu'ailleurs. Cela s'explique fondamentalement par la qualité du contenu lipidique des régimes traditionnels de la Méditerranée (Carralafuente, 2003), une étude a montré que ce régime entraînait une réduction de 70% des risques cardiovasculaires, ce qui est supérieur aux réductions observées à l'aide des médicaments utilisés pour limiter les risques de maladies cardiovasculaires (Mustad et Kris-Etherton, 2000). En effet, les habitants de cette région bénéficient d'une plus longue espérance de vie que leurs contemporains d'Europe du nord. Toutefois, il semble que les qualités de ces graisses pourraient avoir un impact sur d'autres conditions affectant l'espérance de vie, comme le cancer. Entre 30 et 40 % de l'apport en calories du régime méditerranéen provient des graisses dont plus de la moitié sont des acides gras mono-insaturés qui proviennent de la consommation d'huile d'olive (Carralafuente, 2003).

### I.7.2. L'huile d'olive et effets biologiques

De plus, les bienfaits de la consommation de l'huile d'olive sont au-delà d'une simple réduction du cholestérol et des lipoprotéines de faible densité. Les effets positifs biologiques et cliniques les plus importants liés à l'alimentation riche en acides gras mono-insaturés (notamment l'acide oléique) sur le métabolisme des lipoprotéines, les dommages oxydatifs, l'inflammation, la dysfonction endothéliale, la pression artérielle, la thrombose, et le métabolisme des glucides ont été montrés par plusieurs auteurs (Huang et Sumpio, 2008 ; Covas et al., 2009).

Certaines études indiquent également qu'elle aide les personnes atteintes de diabète à contrôler leur pression artérielle, à maintenir un poids raisonnable et à atteindre des taux de glycémie proches de ceux d'une personne non atteinte de la condition (Carralafuente, 2003).

La consommation d'acides gras mono-insaturés diminue l'environnement prothrombique en modifiant différents paramètres de l'hémostase (Pérez-Jiménez et al., 2002).

Pour autant, il semblerait que les acides gras mono-insaturés n'agissent pas seul dans les bienfaits liés au régime méditerranéen, et que les composés non lipidiques (antioxydants) contenus dans

l'huile d'olive soient aussi des acteurs majeurs. Les composés phénoliques d'huile d'olive font partie de la famille des antioxydants. Ils permettent de lutter contre les radicaux libres aux effets délétères : agressions des cellules, modification de l'ADN, oxydation des lipides. (**Benlemlih et Ghanam, 2012**). Ces composés, en particulier, l'hydroxytyrosol et le tyrosol permettent de prévenir et de traiter les maladies cardiovasculaires, les cancers du côlon, le cancer du sang, le cancer du sein, le diabète, les maladies neurodégénératives. Ils jouent aussi un rôle important dans le renforcement du système immunitaire et la protection de certains tissus et organes contre les dommages oxydatifs, ils ont un rôle dans la réduction de l'incidence des maladies cardiovasculaires, du cancer et du déclin cognitif lié à l'âge (**Trichopoulou et al., 2003 ; Trichopoulou et al., 2005**). L'hydroxytyrosol, tyrosol et l'oleuropéine, ainsi que les composés aromatiques de l'huile d'olive possèdent des propriétés antimicrobiennes (**Tuck et al., 2002**).

Actuellement, d'autres vertus des polyphénols de l'huile d'olive sont reconnues, incluant ainsi le traitement et la prévention du diabète et de maladie d'Alzheimer (**Benlemlih et Ghanam, 2012**). La forte teneur en squalène de l'huile d'olive vierge a un effet protecteur contre les cancers humains (**Smith, 2000**). De plus, la vitamine E d'huile d'olive (Les tocophérols) constitue une arme efficace contre le cancer (**Shklar et Oh, 2000**).

## II. Matériel et Méthodes

Ce présent travail a été réalisé dans le laboratoire de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Jijel. Pour évaluer la qualité de 06 échantillons d'huile d'olive, nous avons d'abord procédé à une analyse organoleptique, suivie d'un contrôle physicochimique, puis microbiologique sur l'ensemble de nos échantillons. Nous avons aussi, évalué l'activité antioxydante des échantillons fraîches, et les bienfaits santé de l'un de ces échantillons, en le testant sur des rats atteints d'athérosclérose induite par un régime hyperlipidique.

### II.1. Matériel

#### II.1.1. Echantillonnage

Les échantillons d'huile d'olive sont collectés à partir d'unités d'extraction locales dans plusieurs régions oléicoles de la wilaya de Jijel. Ces huiles sont classées selon leur provenance, leur procédé d'extraction et la nature de l'huile (fraîche). Les échantillons d'huile d'olive sont mis dans des flacons en verre opaque et scellés, et placés à l'abri de la lumière afin d'éviter toute altération.

## Matériel et méthodes

Tableau 1 : Codes et systèmes d'extraction des 06 échantillons de l'huile d'olive

Région	Nature d'échantillon	Système d'extraction	Code
Larayeche	Fraîche	Centrifugation	E1
Ouled Si Ali	Fraîche	pression	E2
Texenne	Fraîche	Centrifugation	E3
Al Bina Abdellaziz	Fraîche	Centrifugation	E4
Al Ancer	Fraîche	Centrifugation	E5
Ouled Askar	Fraîche	Centrifugation	E6

#### II.1.2. Produits chimiques et réactifs

Au cours de notre étude, on a utilisé ce qui suit :

- Solution d'isobutanol-éthanol
- Solution de la potasse 0.5 N dans l'alcool à 95°
- Solution alcoolique de phénol phtaléine à 1%
- Solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0.5 N et 2 mole/L
- Solution du mélange d'acides acétique/chloroforme
- Solution d'iodure de potassium 0.01%
- Solution d'empois d'amidon

## II. Matériel et Méthodes

Ce présent travail a été réalisé dans le laboratoire de biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Jijel. Pour évaluer la qualité de 06 échantillons d'huile d'olive, nous avons d'abord procédé à une analyse organoleptique, suivie d'un contrôle physicochimique, puis microbiologique sur l'ensemble de nos échantillons. Nous avons aussi, évalué l'activité anti-oxydante des échantillons étudiés, et les bienfaits santé de l'un de ces échantillons, en le testant sur des rats atteintes d'athérosclérose induite par un régime hyperlipidique.

### II.1. Matériel

#### II.1.1. Echantillonnage

Les échantillons d'huile d'olive sont collectés à partir d'unités d'extraction localisées dans plusieurs régions oléicoles de la wilaya de Jijel. Ces huiles sont classées selon leur provenance, leur procédé d'extraction et la nature de l'huile (fraîche). Les échantillons d'huile d'olive sont mis dans des flacons en verre opaque et secs, et placé à l'abri de la lumière afin d'éviter toute réaction d'oxydation. L'étude a porté sur 06 échantillons prélevés durant la saison 2014 et répartis comme suit (tableau2).

**Tableau 2 :** Codage et système d'extraction des 06 échantillons de l'huile d'olive

Région	Nature d'échantillon	Système d'extraction	Code
Laarayeche	Fraîche	Centrifugation	E1
Ouled Si Ali	Fraîche	pression	E2
Texenna	Fraîche	Centrifugation	E3
Al Emir Abdelkader	Fraîche	Centrifugation	E4
Al Ancer	Fraîche	Centrifugation	E5
Ouled Askeur	Fraîche	Centrifugation	E6

#### II.1.2. Produits chimiques et réactifs

Au cours de notre étude, on a utilisé ce qui suit:

- Solution d'isobutanol-éthanol ;
- Solution de la potasse 0.5 N dans l'alcool à 95° ;
- Solution alcoolique de phénol phtaléine à 1% ;
- Solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0.5 N et 2 mole/L ;
- Solution du mélange d'acides acétique/chloroforme ;
- Solution d'iodure de potassium 0.01 ;
- Solution d'empois d'amidon ;

- Solution de thiosulfate de sodium 0.1 N
- Solution de tétrachlorure de carbone ;
- L'iode en poudre pour la préparation du réactif de Hübile ;
- Alcool éthylique pur à 96° ;
- Chlorure mercurique en poudre pour la préparation du réactif de Hübile ;
- Solution d'iodure de potassium à 30% ;
- Le glycérol ;
- Solution d'hexane ;
- Solution de sulfate de cuivre saturée ;
- Solution de la soude dans l'alcool à 5% ;
- Solution du mélange méthanol-eau (6V/4V) ;
- Réactif du Folin Ciocalteu ;
- Solution de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 M ;
- Solution d'heptane ;
- Solution méthanolique 2N d'hydroxyde de sodium ;
- Solution d'éther de pétrol ;
- Solution de chlorure d'aluminium à 2% ;
- Solution de butanol-HCL (95V/5V) ;
- Solution chlorure de potassium 1.15 M ;
- Solution d'acide trichloracétique (TCA) à 20% et à 5% ;
- Solution d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0.67% ;
- n-butanol ;
- Réactif ferrique (2% de sulfate d'ammonium ferrique dans 2 M d'HCL) ;
- Réactif DTNB (acide 5, 5-dithiobis 2-nitrobenzoïque) 0.01 M ;
- Tampon phosphate 0.1 M.

### II.1.3. Milieux de culture

La partie microbiologique de notre étude a nécessité les milieux de culture suivants :

- Gélose PCA (Plate Count Agar) pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) ;
- Gélose MRS (Man-Rogosa-Sharpe) pour dénombrer des bactéries lactiques ;
- Gélose Sabouraud pour le dénombrement des levures et moisissures.

### II.1.4. Animaux et régimes alimentaires

Les animaux utilisés sont des rats femelles de race Wistar Albinos pesant environ 200g, fourni par l'institut pasteur d'Alger (Algérie). Tous les animaux de statut sanitaire EPOS (Exempts d'organismes pathogène spécifiques). La stabulation des animaux se fait dans une animalerie périphérique dédiée aux rats et dont l'ambiance est contrôlée (température 20-25°C, hygrométrie 60%, photopériode de 12 heures/24) dans des cages rectangulaires fabriqués en matière plastique opaque. Comme le protocole ne s'y oppose pas, la nourriture (croquettes provenant de la société de production des aliments des animaux Alger) et la boisson sont servies *ad libitum*.

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Contrôle organoleptique

L'évaluation descriptive de la qualité des six échantillons d'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 analyse sensorielle est effectuée par le procédé officiel. Elle 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 gout, l'odeur et la couleur) et mesure leur intensité dans une balance de 0 à 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 respect d'un maximum de conditions disponibles ; c'est-à-dire ; des conditions qui n'affectent pas les sens de nos dégustateurs où les odeurs et le bruit sont réduit au minimum avec un éclairage léger.

Les échantillons d'huile à déguster sont maintenus dans des verres transparents, contenant chacun une quantité suffisante (environ 15 ml), 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. Une



## Etude Expérimentale

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 (Pinatel 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. Qualité physicochimique

#### II.2.2.1. pH

La mesure du pH consiste à plonger l'électrode du pH mètre dans l'échantillon et lire la valeur enregistrée sur l'écran (Campaniello et al., 2005).



#### II.2.2.2. Indice d'acide et d'acidité

L'indice d'acide est estimé par la méthode de Lecoq (1965). Brièvement, 10 ml d'huile est dissout dans un mélange de 10 ml de solvant isobutanol-éthanol (v/v), puis 10 ml de potasse alcoolique est ajouté successivement. Ensuite 5 gouttes de la solution de phénol phtaléine sont ajoutées au mélange. La titration se fait sous agitation en versant goutte à goutte la solution 0,5 N d'acide chlorhydrique jusqu'à décoloration. Nous avons effectué en parallèle une réaction à blanc dans les mêmes conditions mais sans matière grasse pour titrer la potasse en jeu. L'indice d'acide est calculé selon la relation suivante :

$$I_a \text{ (mg de KOH/g)} = (\text{VHC témoin} - \text{VHC l'essai}) \times N \times \text{PM}_{\text{KOH}} / P$$

Avec :

- P : prise d'essai (g) ;
- N : normalité de l'HCl ;
- V : volume HCl utilisé pour la titration (ml) ;
- PM : poids moléculaire de KOH.

Puisque le rapport entre le poids moléculaire de l'acide oléique et celui de la potasse est, à un facteur de dix près de 0.5, le nombre donnant l'acidité oléique A est pratiquement la moitié de celui

## *Etude Expérimentale*

trouvé pour l'indice d'acide, donc l'acidité oléique peut être obtenue directement par la formule suivante (Karleskind et al., 1992) :

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

Cependant, il existe une relation plus pratique pour le calcul de l'acidité oléique (Lecoq, 1965) :

$$\text{A\% (A.G.L en g/100g)} = (V_{\text{HCl blanc}} - V_{\text{HCl essai}}) \times M / 20 P$$

Avec :

M : masse molaire de l'acide oléique=282 g/mole.

### **II.2.2.3. Indice de peroxyde (Ip)**

L'indice de peroxyde est déterminé selon la méthode décrite par Lecoq (1965). Cette méthode consiste d'abord à dissoudre 5 g d'huile dans 30 ml du mélange acide acétique/chloroforme (3v/2v), ensuite ajouter 0,5 ml de la solution d'iodure de potassium (30%), suivi d'une agitation pendant 1 min. L'échantillon est laissé à l'obscurité pendant 1 minute. La réaction est arrêtée par l'addition de 30 ml d'eau distillée.

La titration est réalisée par la solution de thiosulfate de sodium 0,1N en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon. Nous avons effectué en parallèle une réaction à blanc dans les mêmes conditions mais sans matière grasse. Les résultats s'expriment comme suit :

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

Avec :

V : volume de thiosulfate de sodium (ml)

P : prise d'essai (g).

### **II.2.2.4. Indice de saponification**

L'indice de saponification est déterminé selon la méthode décrite par Lecoq (1965). Pour cela, à 1g d'huile, 25 ml de potasse alcoolique est ajouté. Après agitation le mélange est porté à ébullition pendant 15 à 30 minutes en agitant de temps en temps. Après refroidissement nous avons additionné 5 gouttes de phénol phtaléine au mélange.

L'excès de potasse est titré par l'acide chlorhydrique 0.5 N jusqu'à décoloration.

## Etude Expérimentale

Nous avons effectué parallèlement une réaction à blanc dans les mêmes conditions que précédemment décrite mais sans matière grasse pour titrer la solution de potasse en jeu. L'indice de saponification est exprimé par la formule suivante :

$$I_s = (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) \times N_{\text{HCL}} \times P_{\text{MKOH}} / P$$

Avec :

P : prise d'essai (g) ;

V<sub>blanc</sub> : volume de l'Hcl 0,5N utilisé lors de la réaction du blanc ;

V<sub>essai</sub> : volume de l'Hcl 0,5N utilisé lors de la réaction de l'essai ;

N<sub>HCL</sub> = 0.5 N : normalité de l'Hcl ;

P<sub>MKOH</sub> = 56.1 g/mole : poids moléculaire de potasse alcoolique.

### II.2.2.5. Indice d'iode

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

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

Nous avons effectué simultanément une réaction à blanc sans matière grasse.

Après la durée citée précédemment, nous avons ajouté 20 ml de la solution d'iodure de potassium à 30 % et 300 ml d'eau distillée. La titration de l'iode libéré se fait par le thiosulfate de sodium 0.1 N en présence d'empois d'amidon. 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 :

$$I_i = 1.269 \times (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) / P$$

Avec :

P : prise d'essai (g) ;

V<sub>blanc</sub> : le nombre de millilitre de thiosulfate de sodium 0.1% versé dans le blanc ;

V<sub>essai</sub> : le nombre de millilitre de thiosulfate de sodium 0.1% nécessaire pour le dosage proprement dit.

### II.2.2.6. Indice de réfraction

## *Etude Expérimentale*

Les mesures de l'indice de réfraction sont effectuées avec un réfractomètre, la température est fixée à 20°C. On place des gouttes d'huile sur le réfractomètre, on dirige ce dernier vers la lumière et on lit la valeur comprise entre la zone sombre et celle claire (Boudour, 1998).

### **II.2.2.7. Recherche du glycérol**

Le glycérol est mis en évidence selon la technique de Lecoq (1965). Brièvement, nous avons introduit dans un tube à essai une goutte d'huile d'olive à étudier, 3 ml de la soude 5% préparé dans l'alcool et 0.5 ml de la solution de sulfate de cuivre saturé. 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.2.2.8. Teneur en eau et en matières volatiles**

L'humidité est déterminée par perte de poids pour un échantillon ayant séjourné un temps suffisant dans une étuve réglée à une température de 103 °C.

La teneur en eau et en matières volatiles est déterminée selon la méthode décrite par Aboutayeb (2007). Pour cela, 10 g d'huile d'olive sont pesés dans un creuset déjà séché et pesé, le creuset contenant l'échantillon à tester est laissé pour une heure dans l'étuve réglée à 103 °C. Après cette période, l'échantillon est laissé refroidir puis pesée, nous avons répété l'opération jusqu'à avoir un poids constant. La teneur en eau et en matières volatiles est ainsi exprimées en % en masse égale à :

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

Avec :

- W la teneur en eau et en matière volatile (%);
- m<sub>0</sub> : masse en gramme du creuset vide (g);
- m<sub>1</sub> : masse en gramme du creuset et de l'échantillon avant chauffage (g);
- m<sub>2</sub> : masse en gramme du creuset et de l'échantillon après chauffage (g).

### **II.2.2.9. Mesure de la teneur en impuretés insolubles**

Un échantillon de 10 g d'huile est pesé, puis il est traité par un excès d'hexane et filtré. Le filtre et le résidu qu'il contient sont ensuite lavés avec le même solvant pour assurer la solubilisation de la matière grasse, ce filtre est pesé. Il est porté au séchage à 103°C jusqu' à avoir un poids constant (Aboutayeb, 2007).

La teneur en impuretés insolubles est exprimée comme suit :

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

Avec :

- M<sub>0</sub> : masse en gramme de la prise d'essai ;

$M_1$  : masse en gramme du filtrat une fois séché à l'étuve ;

$M_2$  : masse en gramme du filtrat et du résidu sec.

#### **II.2.2.10. Détermination du point de solidification et de fusion**

La technique utilisée pour la détermination du point de fusion et de solidification est celle décrite par Admin (2009). Brièvement, 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 tiède pour la détermination du point de fusion au cours du réchauffement.

#### **II.2.2.11. Détermination du point de fumée**

Un volume de 20 ml 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).

#### **II.2.2.12. Détermination de la densité relative**

Une fiole de 20 ml est nettoyée, séchée puis pesée, ensuite elle est remplie par l'eau distillée jusqu'au trait de jauge et placée dans un bain 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 :

$m_0$  : masse de la fiole vide (g) ;

$m_1$  : masse de la fiole pleine d'eau (g) ;

$m_2$  : masse de la fiole pleine d'huile (g) ;

D : densité de l'huile à température de 20°C.

#### **II.2.2.13. Détermination du coefficient d'extinction $K_{270}$ et $K_{232}$**

Pour la détermination du coefficient d'extinction, nous avons opté pour le mode opératoire suivant (COI, 2001) : nous avons pesé exactement 0,25 g de d'huile d'olive ainsi préparé dans une fiole jaugée de 25 ml, puis nous avons complété avec l'éther de pétrole et homogénéiser. La solution obtenue doit être parfaitement limpide, homogène et exempte d'impuretés en suspension. Au cas où la solution présenterait une opalescence ou un trouble, nous avons filtré rapidement sur papier.

Ensuite, nous avons mesuré les extinctions de la solution obtenue, en utilisant comme référence le solvant employé, aux longueurs d'onde comprises entre 232 et 270 nm.

Nous avons rapporté les extinctions spécifiques (coefficient d'extinction) aux différentes longueurs d'onde, calculées comme suit :

$$K_{\lambda} = E_{\lambda} / C.S$$

Avec :

$K_{\lambda}$  : extinction spécifique à la longueur d'onde  $\lambda$  ;

$E_{\lambda}$  : extinction mesurée à la longueur d'onde  $\lambda$  ;

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

S : épaisseur de la cuvette en centimètres.

#### **II.2.2.14. Détermination de la composition en acides gras par GC-MS**

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) a été utilisée pour déterminer la composition en acides gras selon la méthode officielle de la réglementation de la communauté européenne (**European Community Regulation, 1991**).

Brièvement, 3 gouttes d'huile sont reprises par 1 ml d'heptane dans un tube et le contenu est agité pendant 2 secondes tout en maintenant le tube bouché. Ensuite, 0.2 ml de la solution méthanolique d'hydroxyde de sodium (2 mole/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 en continuant de maintenir le bouchon fermé. Après ce délai, le tube est agité encore une fois pendant 10 secondes puis 0,4 ml d'HCl méthanolique (1 mole/l) est ajouté suivi d'une agitation. Après décantation, la phase organique contenant les esters méthyliques est recueillie et diluée 10 fois dans de l'heptane, puis transvasée vers le flacon d'analyse de la chromatographie en phase gazeuse (**European Community Regulation, 1991**).

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 N55 dont le débit a été fixé à 0.7 ml/min. Une colonne capillaire SE 30 (25 m x 0.25 mm, épaisseur du film : 0.25  $\mu$ m) a été utilisée. L'injection se fait en mode Split. La température du four augmente de 60°C (1 min) à 180°C à raison de 20°C/min, puis de 180°C à 230°C à un débit de 4°C/min jusqu'à une température de 230°C pour y rester 15 min.

L'identification a été réalisée par comparaison des résultats (pics) avec la bibliothèque de spectres de masse NIST « *The National Institute of Standards and Technology* » comportant des références pour 147 198 molécules différentes (**European Community Regulation, 1991**).

### **II.2.2.15. Dosage des caroténoïdes totaux**

Le dosage de la teneur des caroténoïdes présents dans l'huile d'olive est réalisé selon la méthode de Déymie et al., (1981). L'échantillon est préparé par la dissolution de 1g d'huile dans 9 ml d'hexane. Le dosage des caroténoïdes est réalisé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm qui correspond au maximum d'absorbance de  $\beta$ - Carotène.

La concentration en carotène est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage authentique dressée à partir des concentrations connues de  $\beta$ - Carotène.

### **II.2.2.16. Détermination de la teneur en chlorophylle**

Le contenu de la chlorophylle est mesuré en utilisant la méthode décrite par Wolff (1968). 5ml d'huile d'olive est dissout dans 5ml de tétrachlorure de carbone, après homogénéisation nous avons mesuré les absorbances à 670, 630 et 710 nm et en utilisant comme référence le tétrachlorure de carbone. La teneur en chlorophylle exprimé en ppm est calculée selon la formule suivante :

$$T_{ch} \text{ (ppm)} = [A_{670} - (A_{630} + A_{710})] / 0.1086 * L$$

Avec :

$T_{ch}$ : Teneur en chlorophylle en ppm ;

A : Absorbance à la longueur d'onde indiquée ;

L : La largeur de la cuve en cm.

### **II.2.2.17. Dosage des composés phénoliques**

Ce dosage nécessite d'abord une extraction des polyphénols qui a été réalisée selon la méthode de Li et al. (2007). Pour cela, 5 g d'huile et 10 ml d'hexane sont bien mélangée au vortex, par la suite, 10 ml du mélange méthanol-eau (6v/4v) sont ajoutés, et l'ensemble est mélangé a son tour au vortex. Le volume total a subit une séparation par centrifugation, la phase inférieure est recueillie, tandis qu'un second mélange méthanol-eau est ajouté à la phase supérieure, tout en répétant le processus de centrifugation.

La teneur des polyphénols totaux de l'huile a été estimée par la méthode de Li et al., (2007). Dans une fiole de 25 ml, un volume de 0.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté à 0.2 ml de l'extrait en polyphénols totaux. Après 3 minutes, un volume de 4 ml de  $Na_2CO_3$  (1M) est ajouté à la solution et complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Un blanc est préparé dans les mêmes conditions. Les fioles sont maintenues à l'obscurité pendant 90 min avant de lire les densités optiques au spectrophotomètre.

La lecture de la densité optique à 765 nm 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.2.2.18. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et al., 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait déjà préparé. A 1ml d'échantillon est ajouté 1ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> à

2%. Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40µg/ml) et est exprimée en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µgEQ/mg d'extrait).

### II.2.2.19. Dosage des tanins condensés

Nous avons suivi la méthode décrite par Moksimovic et al., (2005) pour la détermination de la teneur en tanins condensés des huiles étudiées. 3ml de mélange butanol-HCl (butanol-HCl : 95V/5V) et 0.1 ml du réactif ferrique (2% de sulfate d'ammonium ferrique dans 2 M d'HCl) sont ajoutés à 0.5 ml d'extrait de l'huile d'olive. Le mélange est mis dans un bain d'eau bouillante pendant 1 h, après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 550 nm. 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.2.3. Qualité microbiologique

### II.2.3.1. Préparation des dilutions décimales

1 ml de l'huile d'olive est introduit aseptiquement dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologie stérile, le mélange est bien agité à l'aide d'un vortex pour rendre la dilution homogène. Le mélange obtenu représente la dilution de 10<sup>-1</sup>. Ensuite, 1 ml de cette dilution est transféré dans un autre tube contenant 9 ml d'eau physiologie stérile pour avoir la dilution 10<sup>-2</sup>. De la même manière, nous avons obtenu les dilutions jusqu'à 10<sup>-5</sup> (Campaniello et al., 2005).

### II.2.3.2. Dénombrement de la FTAM



## Etude Expérimentale

Après avoir coulé et solidifier la gélose PCA, 1 ml de la dilution  $10^{-4}$  est étalé en surface. Après une incubation de 24 heures à  $37^{\circ}\text{C}$ , nous avons dénombré les colonies lenticulaires. L'expérience se fait en double (Larpent, 1997).

### II.2.3.3. Dénombrement des levures et moisissures

La recherche et le dénombrement des levures et moisissures s'effectuent sur le milieu gélosé Sabouraud coulé et solidifié. 1 ml de la dilution  $10^{-4}$  est étalé en surface du milieu. Les boîtes sont incubées à température ambiante pendant 3 à 5 jours (Campaniello et al., 2005).

### II.2.3.4. Dénombrement de la flore lactique

Le dénombrement est effectué sur le milieu gélose de Man-Rogosa-Sharp (MRS). L'ensemencement s'est effectué par étalement de 1 ml de la dilution  $10^{-3}$  en surface de la gélose MRS déjà coulée et solidifiée, l'incubation s'est faite à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24-48 heures. Les colonies à dénombrer sont de petites tailles, de couleur blanchâtres et brillantes, à porteur régulier, elles peuvent apparaître en forme circulaire ou lenticulaire (Larpent, 1997).

## II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

### II.2.4.1. Le test de DPPH

Pour étudier l'activité antioxydante de l'huile d'olive nous avons opté pour la méthode décrite par Mansouri et al., (2005) qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre stable. Brièvement, la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2.4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 25  $\mu\text{l}$  de l'huile d'olive est ajouté à 975  $\mu\text{l}$  de la solution de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 515 nm. L'activité antioxydante est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = [(\text{DO}_{\text{contrôle}} - \text{DO}_{\text{échantillon}}) / \text{DO}_{\text{contrôle}}] \times 100$$

### II.2.4.2. Le test de PPM

La méthode de PPM (PhosPhoMolybdate) consiste à introduire dans un tube Eppendorf 100  $\mu\text{l}$  de l'extrait de l'huile mélangée à 900  $\mu\text{l}$  d'un réactif composé de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,6 M), de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). Le tube est ensuite bien fermé puis incubé à  $95^{\circ}\text{C}$  pendant 90 minutes. Après avoir refroidis le contenu du tube, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Le témoin est constitué de 100  $\mu\text{l}$  de méthanol mélangé avec 900  $\mu\text{l}$  du réactif mentionné ci-dessus. Les étalons, les échantillons et les témoins sont incubés dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent vitamine C par gramme de matière sèche (mg VCE/gdM) (Prieto et al., 1999).

## *Etude Expérimentale*

### **II.2.5. Etude *in vivo***

#### **II.2.5.1. Les animaux**

Les animaux ont été répartis en six lots de cinq rats selon le type de traitement.

Lot 1 : animaux témoins (non traités) ;

Lot 2: animaux recevant un aliment athérogénique pendant 50 jours ;

Lot 3: animaux recevant un aliment athérogénique pendant 50 jours, après cette période les animaux sont traités par l'Atorvastatine de 5mg/Kg par voie orale pendant huit jours ;

Lot 4: animaux recevant un aliment atherogénique pendant 50 jours, après cette période les animaux sont nourris pendant huit jours par l'aliment standard imbibé de l'huile d'olive de la région d'Ouled Si Ali;

Lot 5 : animaux recevant par gavage une dose quotidienne d'Atorvastatine de 5mg/Kg pendant huit jours ;

Lot 6 : animaux nourris pendant huit jours par l'aliment standard imbibé de l'huile d'olive de la région d'Ouled Si Ali.

Durant la première semaine, l'aliment athérogénique est constitué d'un mélange de 100g de l'aliment standard, d'un jaune d'œuf et 2 ml de l'huile de noix de coco. Dans la deuxième semaine, le mélange contient trois jaunes d'œuf. A partir de la troisième semaine le mélange contient cinq jaunes d'œuf.

A la fin de traitement, les animaux sont pesés, et nous avons prélevé le sang à partir du sinus orbital, ensuite les rats sont sacrifiés, le foie et le cœur sont immédiatement prélevés et rincés par l'eau physiologique et stocker à -30°C pour l'étude biochimique.

#### **II.6. Analyse statistique**

#### **II.2.5.2. Dosage des lipides plasmiques**

Les lipides plasmiques (TG, LDL, HDL, cholestérol total) sont évalués en utilisant des Kits enzymatiques (Kit *Biomaghreb*) selon le protocole décrit par le fabricant, au niveau de l'hôpital de Jijel.

#### **II.2.5.3. Dosage du glutathion**

Pour le dosage du glutathion (GSH) nous avons utilisé la méthode colorimétrique d'Ellman (1959) qui est basée sur le réactif DTNB (acide 5,5-Dithiobis 2-nitrobenzoïque). Il s'agit d'une réaction chimique évoluant en une seule étape suivie d'une détection colorimétrique. Le réactif d'Ellman (DTNB) est réduit par les groupes thiol (SH° pour donner une mole d'acide 2-nitro-5-mercaptobenzoïque par mole de SH). L'acide mercaptobenzoïque est un anion ayant une intense coloration jaune et par conséquent peut être utilisée pour évaluer les groupes thiols (SH).

## *Etude Expérimentale*

Pour cela, 1g de foie, et 0.5g de cœur sont coupés et homogénéisés avec 3 volumes de l'acide thiochloroacétique TCA (5%) à l'aide d'un broyeur de DOUNCE. Homogénéisé et centrifugé à 2000 rpm pendant 15 minutes. Par la suite 50 $\mu$ l de ce surnageant est prélevé, y ajouté 20 $\mu$ l de tampon phosphate 0.01M pH 8 et agiter. 3ml de ce mélange est ajouté à 20 $\mu$ l de DTNB 0.01M.

Après 15min d'incubation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA (5%).

Le taux de GSH est déduit à partir d'une gamme étalon de glutathion préparé dans les mêmes conditions que le dosage et les concentrations sont exprimés en millimoles de glutathion par gramme de tissu.

### **II.5.4. Dosage du MDA**

Le taux du malondialdéhyde (MDA) a été évalué par la méthode décrite par **Okhawa et al. (1979)**. Nous avons homogénéisé 1 g de tissu (foie ou poumon) avec 3 volumes de solution KCl (1.15 M), par un broyeur de *Dounce*. A 0.5 ml de l'homogénat nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloroacétique (TCA) 20 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.67 %. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 15 min, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol. Ensuite, le mélange obtenu est centrifugé pendant 15 min à 3000 rpm/min à l'aide d'une centrifugeuse *Bioblock Scientific 55702*, la DO de surnageant à 530 nm a été déterminée. Le taux du MDA est déduit à partir d'une droite d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions que les échantillons avec de 1, 1, 3, 3-tetraméthoxypropane. La concentration en MDA est exprimée en nmole/g de tissu.

### **II.6. Analyse statistique**

Les résultats ont été donnés sous forme de moyennes et écart-types. La différence entre les moyennes de différents échantillons a été déterminée par l'analyse de variance à un facteur ANOVA (*one-way analysis of variance*) par le logiciel Origin 6.0. 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 p tel que : différence non significative : NS ; différence significative :  $p < 0.05$ ; différence très significative :  $p < 0.01$  et différence hautement significative :  $p < 0.001$ .

### III. Résultats et Discussion

#### III.1. Contrôle organoleptique

L'analyse sensorielle est la méthode la plus répandue employée pour mesurer la qualité des produits alimentaires (Aparicio et Luna, 2002). Elle est l'un des outils les plus importants utilisés pour protéger la qualité d'huile d'olive vierge. Cette approche a été proposée en juin 1987 par le Conseil Océanique International (COI, 1987) et adoptée par la Communauté Européenne en juillet 1991 (CE, 1991).

L'évaluation de la qualité sensorielle des huiles d'olive vierges implique la perception des attributs sensoriels favorables et défavorables, de l'évaluation des défauts sensoriels étant employée pour classer les huiles dans diverses catégories (Angerosa, et al., 2000).

Les résultats de l'analyse sensorielle de chaque dégustateur sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 3: Résultats donnés par le dégustateur 1

<b>Résultats et discussion</b>	
E1 : jaune clair	
E2 : jaune brillant- légèrement intense	
E3 : jaune brillant-intense	
E4 : jaune miel-intense	
E5 : marron-intense	
E6 : marron-intense	
Goût : intensité-qualité-type	
E1 : Odeur acceptable	
E2 : Odeur des olives-légèrement intense	
E3 : Odeur des olives acceptable	
E4 : Odeur désagréable	
E5 : Odeur désagréable-très intense	
E6 : Odeur désagréable-intense	
En bouche : arôme-vertueux-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et qualité des arômes-persistance aromatique	
E1 : pas de persistance aromatique, léger, goût acceptable	
E2 : pas de persistance aromatique, léger, bon goût	

### III. Résultats et Discussion

#### III.1. Contrôle organoleptique

L'analyse sensorielle est la méthode la plus répandue employée pour mesurer la qualité des produits alimentaires (Aparicio et Luna, 2002). Elle est l'un des outils les plus importants utiles pour protéger la qualité d'huile d'olive vierge. Cette approche a été proposée en juin 1987 par le Conseil Oléicole International (COI, 1987) et identifiée par la Communauté Européenne en juillet 1991 (CE, 1991).

L'évaluation de la qualité sensorielle des huiles d'olive vierges implique la perception des attributs sensoriels favorables et défavorables, de l'évaluation des défauts sensoriels étant employés pour classer des huiles dans diverses catégories (Angerosa, et al., 2000).

Les résultats de l'analyse sensorielle de chaque dégustateur sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 3: Résultats donnés par le dégustateur 1

<b>Nom : BOUSSAYOUD</b>	<b>Prénom : Ahcen</b>	<b>Date : 28 /04/2014</b>
<b>Visuels : couleur-intensité-qualité</b>		
E1 : jaune clair		
E2 : jaune brillant- légèrement intense		
E3 : jaune brillant-intense		
E4 : jaune miel-intense		
E5 : marron-intense		
E6 : marron-intense		
<b>Olfactif : intensité-qualité-type</b>		
E1 : Odeur acceptable		
E2 : Odeur des olives-légèrement intense		
E3 : Odeur des olives acceptable		
E4 : Odeur désagréable		
E5 : Odeur désagréable- très intense		
E6 : Odeur désagréable- intense		
<b>En bouche : ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et qualité des arômes-persistance aromatique</b>		
E1 : pas de persistance aromatique, léger, goût acceptable		
E2 : pas de persistance aromatique, léger, bon goût		

### III. Résultats et Discussion

#### III.1. Contrôle organoleptique

L'analyse sensorielle est la méthode la plus répandue employée pour mesurer la qualité des produits alimentaires (Aparicio et Luna, 2002). Elle est l'un des outils les plus importants utiles pour protéger la qualité d'huile d'olive vierge. Cette approche a été proposée en juin 1987 par le Conseil Oléicole International (COI, 1987) et identifiée par la Communauté Européen en juillet 1991 (CE, 1991).

L'évaluation de la qualité sensorielle des huiles d'olive vierges implique la perception des attributs sensoriels favorables et défavorables, de l'évaluation des défauts sensoriels étant employés pour classer des huiles dans diverses catégories (Angerosa, et al., 2000).

Les résultats de l'analyse sensorielle de chaque dégustateur sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 3: Résultats donnés par le dégustateur 1

<b>Nom : BOUSSAYOUD</b>	<b>Prénom : Ahcen</b>	<b>Date : 28 /04/2014</b>
<b>Visuels : couleur-intensité-qualité</b>		
E1 : jaune clair		
E2 : jaune brillant- légèrement intense		
E3 : jaune brillant-intense		
E4 : jaune miel-intense		
E5 : marron-intense		
E6 : marron-intense		
<b>Olfactif : intensité-qualité-type</b>		
E1 : Odeur acceptable		
E2 : Odeur des olives-légèrement intense		
E3 : Odeur des olives acceptable		
E4 : Odeur désagréable		
E5 : Odeur désagréable- très intense		
E6 : Odeur désagréable- intense		
<b>En bouche : ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et qualité des arômes-persistance aromatique</b>		
E1 : pas de persistance aromatique, léger, goût acceptable		
E2 : pas de persistance aromatique, léger, bon goût		

*Etude Expérimentale*

E3 : pas de persistance aromatique, peu dense, goût acceptable
E4 : persistance aromatique, dense, goût des olives
E5 : mauvaise arôme, très dense, goût non acceptable
E6 : mauvaise arôme, dense, goût non acceptable
<b>Harmonie générale : jugement d'ensemble</b>
E1 : huile de qualité
E2 : huile de qualité moyenne
E3 : huile de qualité
E4 : huile acceptable
E5 : huile inacceptable
E6 : huile inacceptable
<b>Note générale de 0 à 5</b>
E1 : 3.5
E2 : 3
E3 : 4
E4 : 2.5
E5 : 1
E6 : 2

**Tableau 4:** Résultats donnés par le dégustateur 2

<b>Nom : ABBAD</b>	<b>Prénom : Houria</b>	<b>Date : 28</b>
<b>/04/2014</b>		
<b>Visuels : couleur-intensité-qualité</b>		
E1 : jaune doré		
E2 : jaune brillant-légèrement intense		
E3 : jaune brillant-intense		
E4 : jaune miel-intense		
E5 : marron-intense		
E6 : marron-intense		
<b>Olfactif : intensité-qualité-type</b>		
E1 : Odeur acceptable		
E2 : Odeur des olives-légèrement intense		
E3 : Odeur des olives acceptable		
E4 : Odeur désagréable		

**Etude Expérimentale**

<b>E5 : Odeur désagréable-très intense</b>
<b>E6 : Odeur désagréable- intense</b>
<b>En bouche : ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et qualité des arômes-persistance aromatique</b>
<b>E1 : pas de persistance aromatique, léger, goût acceptable</b>
<b>E2 : pas de persistance aromatique, léger, bon goût</b>
<b>E3 : pas de persistance aromatique, peu dense, goût acceptable</b>
<b>E4 : persistance aromatique, dense, goût des olives</b>
<b>E5 : mauvaise arôme, très dense, goût non acceptable</b>
<b>E6 : mauvaise arôme, dense, goût non acceptable</b>
<b>Harmonie générale : jugement d'ensemble</b>
<b>E1 : huile de qualité moyenne</b>
<b>E2 : huile de qualité moyenne</b>
<b>E3 : huile de qualité</b>
<b>E4 : huile acceptable</b>
<b>E5 : huile inacceptable</b>
<b>E6 : huile inacceptable</b>
<b>Note générale de 0 à 5</b>
<b>E1 : 3</b>
<b>E2 : 3</b>
<b>E3 : 4</b>
<b>E4 : 2</b>
<b>E5 : 1</b>
<b>E6 : 2</b>

**Tableau 5: Résultats donnés par le dégustateur 3**

<b>Nom : FEKRAOUI</b>	<b>Prénom : Ghania</b>	<b>Date : 28 /04/2014</b>
<b>Visuels : couleur-intensité-qualité</b>		
<b>E1 : jaune clair</b>		
<b>E2 : jaune brillant-légèrement intense</b>		
<b>E3 : jaune miel-intense</b>		
<b>E4 : jaune-vert-intense</b>		
<b>E5 : marron-intense</b>		
<b>E6 : marron-intense</b>		



**Etude Expérimentale**

<b>Olfactif : intensité-qualité-type</b>	
E1	Odeur acceptable
E2	Odeur des olives-légèrement intense
E3	Odeur des olives acceptable
E4	Odeur des olives
E5	Odeur désagréable-très intense
E6	Odeur désagréable-intense
<b>En bouche : ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et qualité des arômes-persistance aromatique</b>	
E1	pas de persistance aromatique, léger, goût des olives
E2	pas de persistance aromatique, léger, bon goût
E3	pas de persistance aromatique, peu dense, goût acceptable
E4	persistance aromatique, dense, goût des olives
E5	mauvaise arôme, très dense, goût non acceptable
E6	mauvaise arôme, dense, mauvais goût
<b>Harmonie générale : jugement d'ensemble</b>	
E1	huile de qualité
E2	huile de qualité moyenne
E3	huile de qualité moyenne
E4	huile acceptable
E5	huile inacceptable
E6	huile inacceptable
<b>Note générale de 0 à 5</b>	
E1	4
E2	3.5
E3	3
E4	2
E5	1
E6	2

**Tableau 6:** Résultats donnés par le dégustateur 4

<b>Nom : LALOU</b>	<b>Prénom : Amel</b>	<b>Date : 28 /04/2014</b>
<b>Visuels : couleur-intensité-qualité</b>		
E1 : jaune clair		

## Etude Expérimentale

**E2** : jaune brillant- légèrement intense

**E3** : jaune miel- légèrement intense

**E4** : jaune miel-intense

**E5** : marron-intense

**E6** : marron-intense

### Olfactif : intensité-qualité-type

**E1** : Odeur acceptable

**E2** : Odeur des olives-légèrement intense

**E3** : Odeur des olives acceptable

**E4** : Odeur des olive- intense

**E5** : Odeur désagréable- très intense

**E6** : Odeur désagréable- intense

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

**E1** : pas de persistance aromatique, léger, goût acceptable

**E2** : pas de persistance aromatique, léger, goût acceptable

**E3** : pas de persistance aromatique, peu dense, goût acceptable

**E4** : persistance aromatique, dense, goût des olives

**E5** : mauvaise arôme, très dense, goût non acceptable

**E6** : mauvaise arôme, dense, mauvais goût

### Harmonie générale : jugement d'ensemble

**E1** : huile de qualité moyenne

**E2** : huile de qualité moyenne

**E3** : huile de qualité

**E4** : huile acceptable

**E5** : huile inacceptable

**E6** : huile inacceptable

### Note générale de 0 à 5

**E1** : 3

**E2** : 3.5

**E3** : 4

**E4** : 2.5

**E5** : 1

**E6** : 1.5

Tableau 7: Résultats donnés par le dégustateur 5

<b>Nom : BOUSSAYOUD</b>	<b>Prénom : Massaouda</b>	<b>Date : 28 /04/2014</b>
<b>Visuels : couleur-intensité-qualité</b>		
E1 : jaune clair		
E2 : jaune brillant-légèrement intense		
E3 : jaune-légèrement intense		
E4 : jaune miel-vert-intense		
E5 : marron-intense		
E6 : marron-intense		
<b>Olfactif : intensité-qualité-type</b>		
E1 : Odeur des olives		
E2 : Odeur des olives-légèrement intense		
E3 : Odeur des olives acceptable		
E4 : Odeur désagréable		
E5 : Odeur désagréable-très intense		
E6 : Odeur désagréable-intense		
<b>En bouche : ardente-amertume-consistance (fluidité, onctuosité)-intensité et qualité des arômes-persistance aromatique</b>		
E1 : pas de persistance aromatique, léger, goût acceptable		
E2 : pas de persistance aromatique, léger, bon goût		
E3 : pas de persistance aromatique, peu dense, goût acceptable		
E4 : persistance aromatique, dense, goût des olives		
E5 : mauvaise arôme, très dense, goût non acceptable		
E6 : mauvaise arôme, dense, goût non acceptable		
<b>Harmonie générale : jugement d'ensemble</b>		
E1 : huile de qualité		
E2 : huile de qualité moyenne		
E3 : huile de qualité		
E4 : huile acceptable		
E5 : huile inacceptable		
E6 : huile inacceptable		
<b>Note générale de 0 à 5</b>		

## Etude Expérimentale

E1 : 3
E2 : 3.5
E3 : 3.5
E4 : 2.5
E5 : 1
E6 : 2

D'après les questionnaires remplis par les dégustateurs, et qui sont basées sur les caractères visuels, olfactifs et gustatifs, nous avons remarqué qu'il y a certaines similitude entre les cinq dégustateurs. Concernant l'analyse visuelle, nous avons observé (figure 1) que les huiles d'olive de la région de l'Arayache, d'Ouled Si Ali et de Texenna représentent une couleur jaune clair d'une intensité moyenne, tout les dégustateurs sont d'accord sur leur légèreté et leurs goûts acceptables, concernant l'analyse olfactive ces trois huiles possèdent des odeurs acceptables, se sont des huiles de qualité organoleptique avec une note qui varie de 2,5/5 à 4/5.



Figure 01 : Aspect visuel des six échantillons d'huile d'olive

L'huile de la région d'Al Emir Abdelkader, représente une couleur jaune-vert plus foncée que les huiles précédemment citées, dense, un goût des olives, et une odeur des olives peu désagréable, c'est une huile de qualité organoleptique acceptable notée de 2/5 à 2,5/5.

Cependant, les autres huiles d'Al Ancer et d'Ouled Askeur montrent une couleur marron, avec des mauvaises odeurs et arômes. Ce sont des huiles très denses et inacceptables, et tous les dégustateurs lui ont donné une note organoleptique de 1/5 à 2/5 au maximum.

## Etude Expérimentale

E1 : 3
E2 : 3.5
E3 : 3.5
E4 : 2.5
E5 : 1
E6 : 2

D'après les questionnaires remplis par les dégustateurs, et qui sont basées sur les caractères visuels, olfactifs et gustatifs, nous avons remarqué qu'il y a certaines similitude entre les cinq dégustateurs. Concernant l'analyse visuelle, nous avons observé (figure1) que les huiles d'olive de la région de l'Arayache, d'Ouled Si Ali et de Texenna représentent une couleur jaune clair d'une intensité moyenne, tout les dégustateurs sont d'accord sur leur légèreté et leurs goûts acceptables, concernant l'analyse olfactive ces trois huiles possèdent des odeurs acceptables, se sont des huiles de qualité organoleptique avec une note qui varie de 2,5/5 à 4/5.



Figure 01 : Aspect visuel des six échantillons d'huile d'olive

L'huile de la région d'Al Emir Abdelkader, représente une couleur jaune-vert plus foncée que les huiles précédemment citées, dense, un goût des olives, et une odeur des olives peu désagréable, c'est une huile de qualité organoleptique acceptable notée de 2/5 à 2,5/5.

Cependant, les autres huiles d'Al Ancer et d'Ouled Askeur montrent une couleur marron, avec des mauvaises odeurs et arômes. Ce sont des huiles très denses et inacceptables, et tous les dégustateurs lui ont donné une note organoleptique de 1/5 à 2/5 au maximum.

## Etude Expérimentale

E1 : 3
E2 : 3.5
E3 : 3.5
E4 : 2.5
E5 : 1
E6 : 2

D'après les questionnaires remplis par les dégustateurs, et qui sont basées sur les caractères visuels, olfactifs et gustatifs, nous avons remarqué qu'il y a certaines similitude entre les cinq dégustateurs. Concernant l'analyse visuelle, nous avons observé (figure1) que les huiles d'olive de la région de l'Arayache, d'Ouled Si Ali et de Texenna représentent une couleur jaune clair d'une intensité moyenne, tout les dégustateurs sont d'accord sur leur légèreté et leurs goûts acceptables, concernant l'analyse olfactive ces trois huiles possèdent des odeurs acceptables, se sont des huiles de qualité organoleptique avec une note qui varie de 2,5/5 à 4/5.



Figure 01 : Aspect visuel des six échantillons d'huile d'olive

L'huile de la région d'Al Emir Abdelkader, représente une couleur jaune-vert plus foncée que les huiles précédemment citées, dense, un goût des olives, et une odeur des olives peu désagréable, c'est une huile de qualité organoleptique acceptable notée de 2/5 à 2,5/5.

Cependant, les autres huiles d'Al Ancer et d'Ouled Askeur montrent une couleur marron, avec des mauvaises odeurs et arômes. Ce sont des huiles très denses et inacceptables, et tous les dégustateurs lui ont donné une note organoleptique de 1/5 à 2/5 au maximum.

A maturité complète (stade noir), il y a une influence négative sur le taux des composés mineurs responsables des attributs sensoriels de l'huile (composés aromatique, polyphénols). Il favorise également la chute des olives, qu'elle soit naturelle ou provoquée (pluie, vent, attaques par les ravageurs d'olivier). Les olives donnent des huiles moins aromatisées, moins riches en composés phénoliques et ont tendances à être plus acides en fonction du temps de séjour sur le sol, et absolument des odeurs étrangères dont le profil du goût et de l'arôme change (Ouaouiche et Chimi, 2007).

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).

Les composés volatils sont généralement responsables de la flaveur de l'huile d'olive, ses concentrations dépend de l'intensité des activités enzymatiques introduites dans les voies métaboliques de la lipoxygénase (Angerosa et al., 2000). L'odeur du rance est due probablement à la libération d'acides gras saturés à chaîne courte (Ait Abdelouahab, 2007).

La couleur de l'huile d'olives varie de vert foncé ou clair à jaune foncé ou clair. La couleur est déterminée par la substance de coloration dominante du fruit au moment de la cueillette. Pour une huile d'olive de couleur verte, le fruit a été cueilli très tôt, alors qu'il n'a pas eu le temps de mûrir ou bien à moitié mûr. Cette huile a d'habitude un goût amer. L'huile d'olive peut aussi avoir une couleur verte vivide si des feuilles d'oliviers ou des brindilles ont été ajoutées lors du broyage. Un fruit non-mûr ou moitié-mûr résulte en l'apparition de chlorophylle bleu-violet. Une huile d'olive jaune veut dire que le fruit a bien mûri avant d'être cueilli. Si le jaune est vivide, ceci peut être l'effet de l'oxydation. Lorsque la couleur est d'un marron foncé ou noire, alors l'huile provient des olives qui sont tombées des branches de l'arbre. Ce genre d'huile a un goût plus léger, plus doux. La technique de broyage et d'extraction de l'huile joue aussi un rôle important dans la détermination de la couleur. Ainsi, la couleur verdâtre est due selon Chimi (2001) à la présence des pigments chlorophylliens résultant de la présence de feuilles lors de la trituration des olives.

La présence d'une flore de microorganismes et, notamment de levures, peut modifier les propriétés physico-chimique et sensorielle des huiles d'olives *via* la production d'enzymes particulières. En effet, certaines souches de levures produisent l'enzyme  $\beta$ -glucosidase qui hydrolyse l'oleuropéine, responsable de l'amertume (Chimi, 2005).

### III.2. Contrôle physicochimique

Différents paramètres ont ensuite été étudiés, à commencer par les paramètres physicochimiques des huiles. Ceux-ci comprennent l'acidité libre, l'indice de peroxyde, de saponification, d'iode, de réfraction, la densité, l'humidité, les impuretés, le coefficient d'extinction, le point de solidification, de fusion, de fumée, la recherche du glycérol et la détermination de la composition en acides gras.

#### III.2.1. pH, indice d'acide et acidité oléique

L'acidité définie en pourcentage d'acide oléique est un paramètre indiquant la fraîcheur de l'huile d'olive, est un facteur de qualité de l'huile d'olives, il renseigne sur l'altération de celle-ci par hydrolyse de certains composés (Bentekaya et Hassouna, 2005).

Cet indice reflète le contenu en acide gras libre notamment à courte chaîne, c'est à dire l'état de la lipolyse. Celle-ci est favorisée par l'humidité, la chaleur, la récolte à la main et l'attaque par les ravageurs (Ben Abdel Jelil, 2003).

Selon les normes CEE 2568/91, l'huile d'olive est appelée extra vierge lorsque son acidité est inférieure à 1%. L'acidité exprimée en pourcentage d'acide oléique est utilisée pour distinguer l'huile d'olive extra-vierge des autres huiles d'olive.

Le pH, l'indice d'acide et l'acidité oléique des échantillons d'huile d'olive analysés sont illustrés par la figure 2.

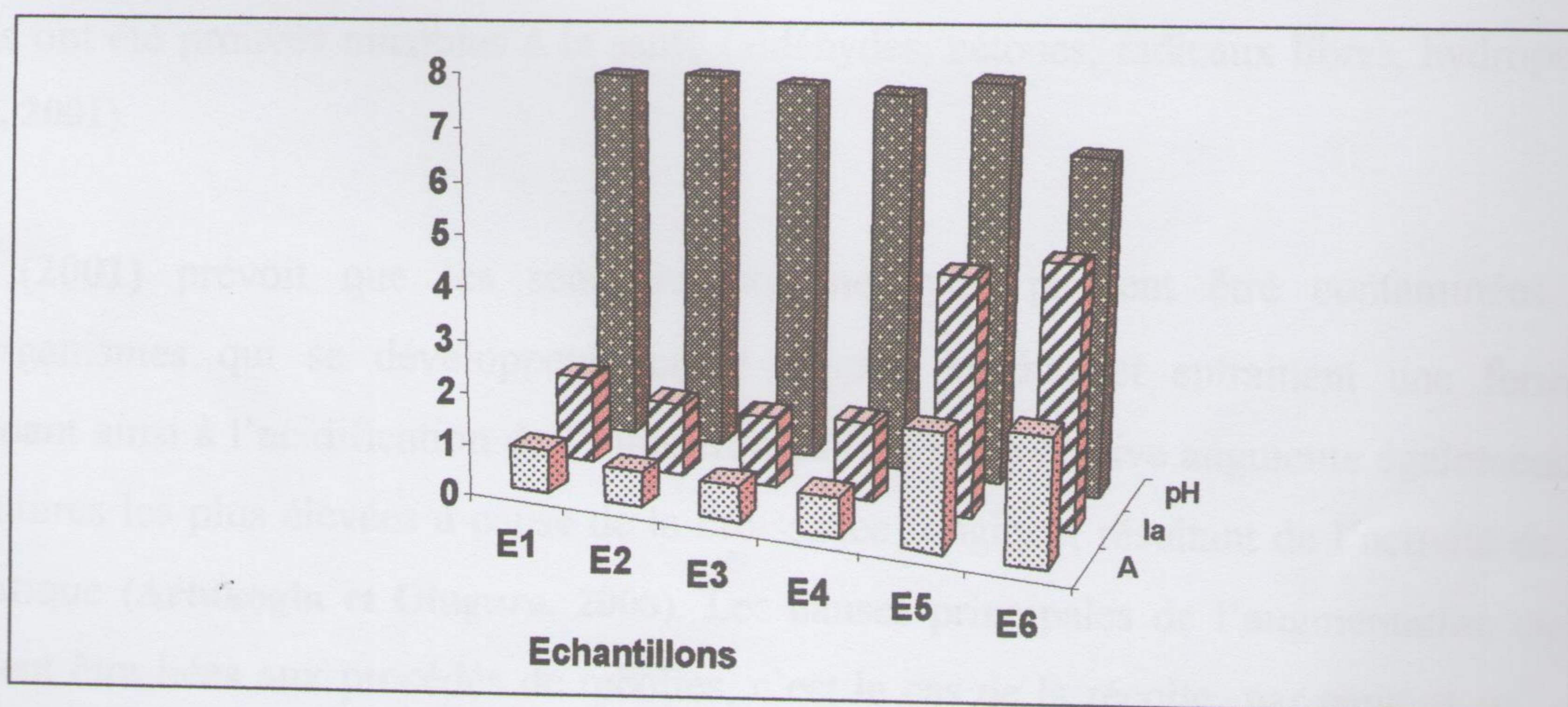


Figure 02 : Indice d'acide (mg/g), acidité oléique (%) et pH des six échantillons d'huiles d'olive.



## Etude Expérimentale

Toutes les huiles d'olive se classent dans la catégorie « Huile d'olive vierge courante » puisque les teneurs en acide gras libre de l'échantillon analysé reste en dessous de la norme fixée par le C.O.I (2003) qui est de 3,3% au maximum, dont la valeur maximale est obtenue avec l'huile d'Ouled Askeur (E6) estimé à  $2,46 \pm 0,35\%$ , suivi de celle d'Al Ancer (E5) qui est de  $2,25 \pm 0,14$ . Les autres huiles (de L'Arayache, d'Ouled Si Ali, Texenna, et d'Al Emir Abdelkader) présentent des valeurs d'acidité inférieure à 1% ( $0,84 \pm 0,14\%$  ;  $0,7\%$  ;  $0,7 \pm 0,14$  et  $0,77 \pm 0,07\%$  respectivement), ce sont des huiles d'olive Vierge Extra.

Selon la figure 2, les résultats de l'indice d'acide et d'acidité obtenus coïncident à ceux du pH. L'échantillon d'Ouled Askeur qui représente la valeur la plus faible de pH ( $6,42 \pm 0,13$ ), renferme le taux le plus élevé en acidité ( $2,46 \pm 0,35\%$ ), ensuite l'huile d'Al Ancer avec un pH de  $6,67 \pm 0,07\%$  et une acidité aussi élevée  $2,25 \pm 0,14\%$ , par contre, l'échantillon d'Ouled Si Ali qui a la valeur de pH la plus élevée, renferme l'acidité la plus faible.

Un niveau d'acidité libre élevé signifie que l'huile devient rance, donc sa qualité diminue, il peut être dû à l'état de maturité avancé du fruit, ou au stockage inadéquat des olives avant la trituration par l'action des lipases endogènes naturellement présentes dans les fruits ou à celles synthétisées par les microorganismes qui se développent dans le fruit sur les triglycérides de l'huile d'olives qui provoquent l'augmentation de sa teneur en acides gras libres. Elle 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) (Chimi, 2001).

Chimi (2001) prévoit que les courtins non nettoyés, peuvent être contaminés par des microorganismes qui se développent sur le support végétal et entraînent une fermentation, contribuant ainsi à l'acidification de l'huile. L'acidité d'huile d'olive augmente également dans les températures les plus élevées à cause de la croissance fongique, résultant de l'activité de la lipase enzymatique (Artukoglu et Olugura, 2008). Les causes principales de l'augmentation de l'acidité pourraient être liées aux procédés de récoltes, c'est le cas de la récolte par gaulage qui provoque des blessures au niveau des fruits. Ce qui peut être encore expliqué par l'état défectueux des fruits, dues au mélanges de fruits récoltés à la main et les fruits tombés spontanément sur le sol (El antari et al., 2002).

Une basse acidité indique que le processus d'extraction s'est fait rapidement après la cueillette par des méthodes naturelles et non chimiques. En outre, la séparation des olives fraîches des olives tombées, le nettoyage et l'élimination des déchets (sable, cailloux, feuilles, brindilles) sont autant d'opérations nécessaires qui contribuent, chacune, si non réalisées, à la détérioration de la qualité d'huile par l'augmentation d'acidité (Khlif et Rekik, 1996).

### III.2.2. Indice de peroxyde

La détermination de l'indice de peroxydes des huiles d'olives permet d'évaluer le niveau d'oxydation primaire de l'huile par l'oxygène. L'action directe de l'oxygène et l'action indirecte des autres facteurs qui permettent à l'oxygène de se fixer sur les acides gras entraînent l'oxydation de l'huile (Bentekaya et Hassouna, 2005). La figure 3 représente les résultats obtenus lors de la détermination de l'indice de peroxyde.

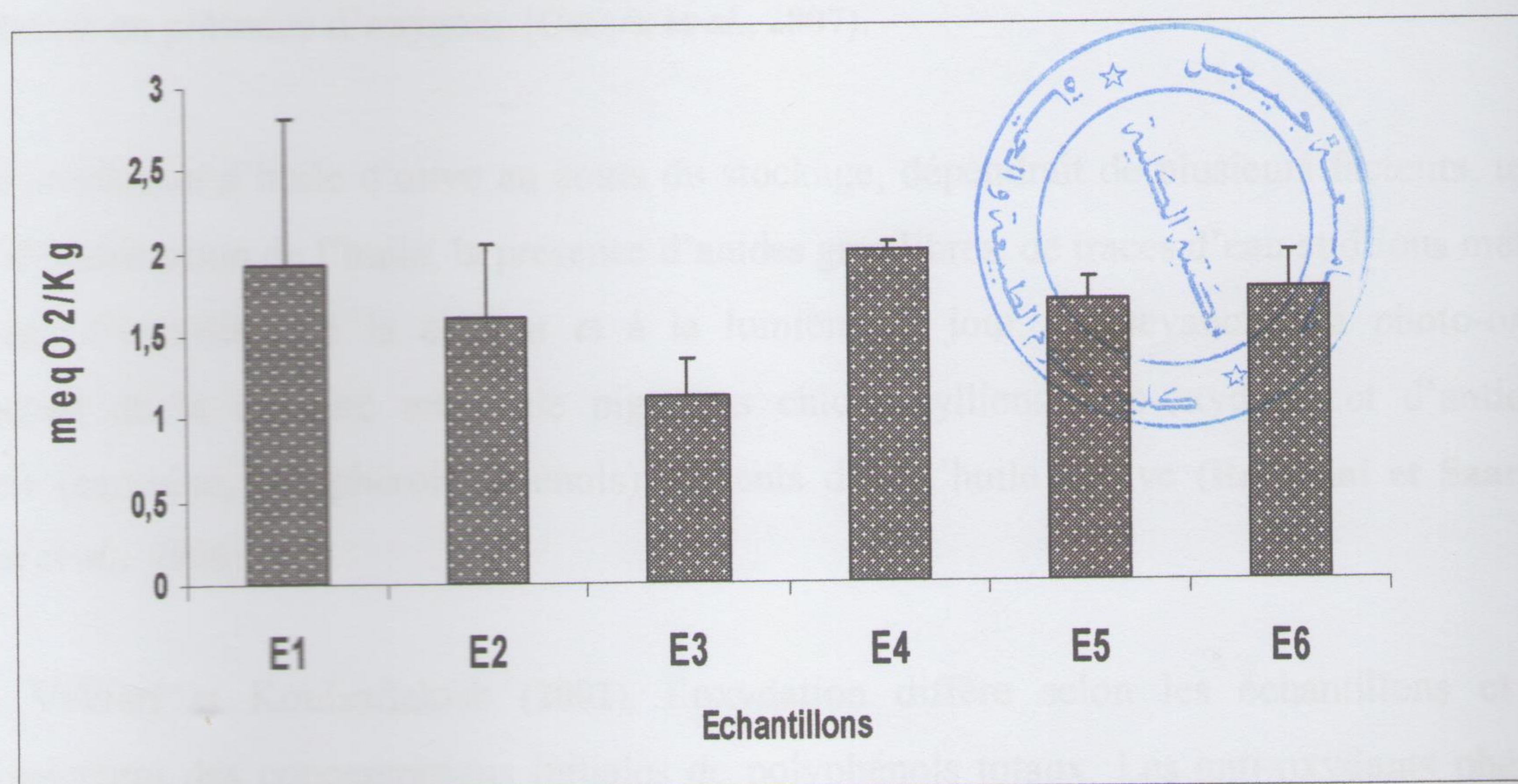


Figure 03 : L'indice de peroxyde des six échantillons de l'huile d'olive

A partir de ces résultats, nous avons trouvé que la différence entre les échantillons est significative ( $P < 0.05$ ), nous pouvons déduire que les valeurs de l'indice de peroxyde enregistrées pour les six échantillons sont trop faibles (sous forme de trace) et répondent à la norme commerciale du Conseil Oléicole International, ce dernier recommande une teneur de peroxyde de 20 meq d'O<sub>2</sub>/Kg d'huile d'olives vierges.

L'échantillon d'El Emir présente la valeur la plus élevée  $2 \pm 0,05$  meq d'O<sub>2</sub>/Kg suivi de ceux de l'Arayache (E1), Ouled Askeur (E6), El Ancer (E5) et Ouled Si Ali (E2), avec des valeurs

respectives de  $1,92 \pm 0,90$  meq d'O<sub>2</sub>/Kg,  $1,76 \pm 0,22$  meq d'O<sub>2</sub>/Kg,  $1,69 \pm 0,13$  et  $1,6 \pm 0,45$  meq d'O<sub>2</sub>/Kg. Cependant l'échantillon de Texanna (E3) avait la plus faible valeur  $1,12 \pm 0,22$  meq d'O<sub>2</sub>/Kg.

En effet la détermination de la teneur en peroxydes dans les huiles permet d'évaluer le niveau d'oxydation primaire produite au cours du stockage et/ou l'élaboration de l'huile. La formation des peroxydes est due à la présence de l'oxygène dissout dans l'huile et de certains facteurs favorisant (UV, eau, enzyme, trace de métaux, etc.). En particulier, deux types d'oxydation peuvent être distingués: l'auto-oxydation et la photo-oxydation. Dans les deux cas, un radical libre se forme à partir d'un acide gras insaturé qui réagit avec une molécule d'oxygène provoquant la formation d'un radical peroxydique, ceci réagit avec une autre molécule d'acide gras et forme par la suite un hydroperoxyde (auto-oxydation). Dans le cas de la photo-oxydation, les radiations lumineuses (U.V) excitent une molécule du pigment (par exemple la chlorophylle) qui initie le processus de l'oxydation en présence d'oxygène (Osawa et al., 2007).

L'auto-oxydation d'huile d'olive au cours du stockage, dépendrait de plusieurs facteurs, tel que le degré d'insaturation de l'huile, la présence d'acides gras libres, de traces d'eau et d'ions métalliques ainsi que l'exposition à la chaleur et à la lumière du jour. En revanche, la photo-oxydation dépendrait de la quantité totale de pigments chlorophylliens (pro-oxydant) et d'antioxydants naturels (carotène, tocophérols, phénols) présents dans l'huile d'olive (Rahmani et Saari, 2000 ; Jeantet et al., 2006).

Selon Vekiari et Koulsaftakisb (2002), l'oxydation diffère selon les échantillons et dépend principalement des concentrations initiales de polyphénols totaux. Les anti-oxydants phénoliques cèdent des atomes hydrogène aux radicaux libres lors de l'oxydation lipidique (Ranalli et al., 2003), ainsi d'autres anti-oxydants comme les chlorophylles en synergie avec le phénol, retardent la formation des peroxydes et par la suite limitent le rancissement des huiles (Richard, 1992).

Le phénomène d'oxydation des acides gras conduit à l'apparition d'une saveur caractéristique «rance», il aboutit aussi à des modifications dans les propriétés organoleptiques, chimiques et nutritionnelles, ces altérations affectent la qualité marchande du produit (Judde, 2004).

Il faut noter que l'indice de peroxyde augmente avec la maturité des olives, et surtout à la suite d'un choc thermique, consécutivement à un processus de fabrication défectueux. Le stockage inadapté ou prolongé, est également une des causes d'augmentation de ce paramètre (tanouti et al., 2011).

Par ailleurs Ben Tekaya et Hassouna (2005) a montré que l'augmentation de l'indice de peroxyde peut être attribuer à la teneur élevée en acides gras libres, qui s'oxydent en présence de l'oxygène pour donner des peroxydes, produits primaires d'oxydation, qui sont instables et se décomposent immédiatement pour former principalement un mélange de composés volatiles (aldéhydes et cétones) responsables de la saveur rance de l'huile.

L'air contenu dans l'espace de tête des bouteilles utilisées pour le conditionnement des huiles peut avoir un effet sur la stabilité oxydative des huiles, la filtration peut également altérer la qualité de l'huile d'olive du fait qu'elle engendre une exposition excessive de l'huile à l'air (Ben Tekaya et Hassouna, 2005).

Pour résoudre le problème de la lumière et de la présence d'oxygène, l'air du récipient de stockage peut être remplacé par de l'azote et des bouteilles brunes conservées dans l'obscurité peuvent être utilisées pendant le stockage pour minimiser l'effet de la lumière. Les basses valeurs de l'indice de peroxyde de nos échantillons montrent que l'huile a été extraite rapidement après la récolte des olives et qu'elle a été stockée dans de bonnes conditions. Cela nous permet de penser que l'huile ne s'oxydera pas prématurément et se conservera au cours du temps (Gharby et al., 2011).

### III.2.3. L'indice de saponification

Cet indice représente la quantité de potasse en mg nécessaire pour transformer en savon les acides gras libres liés contenus dans 1g de corps gras.

Les résultats obtenus pour l'indice de saponification des six échantillons sont représentées par la figure 4.

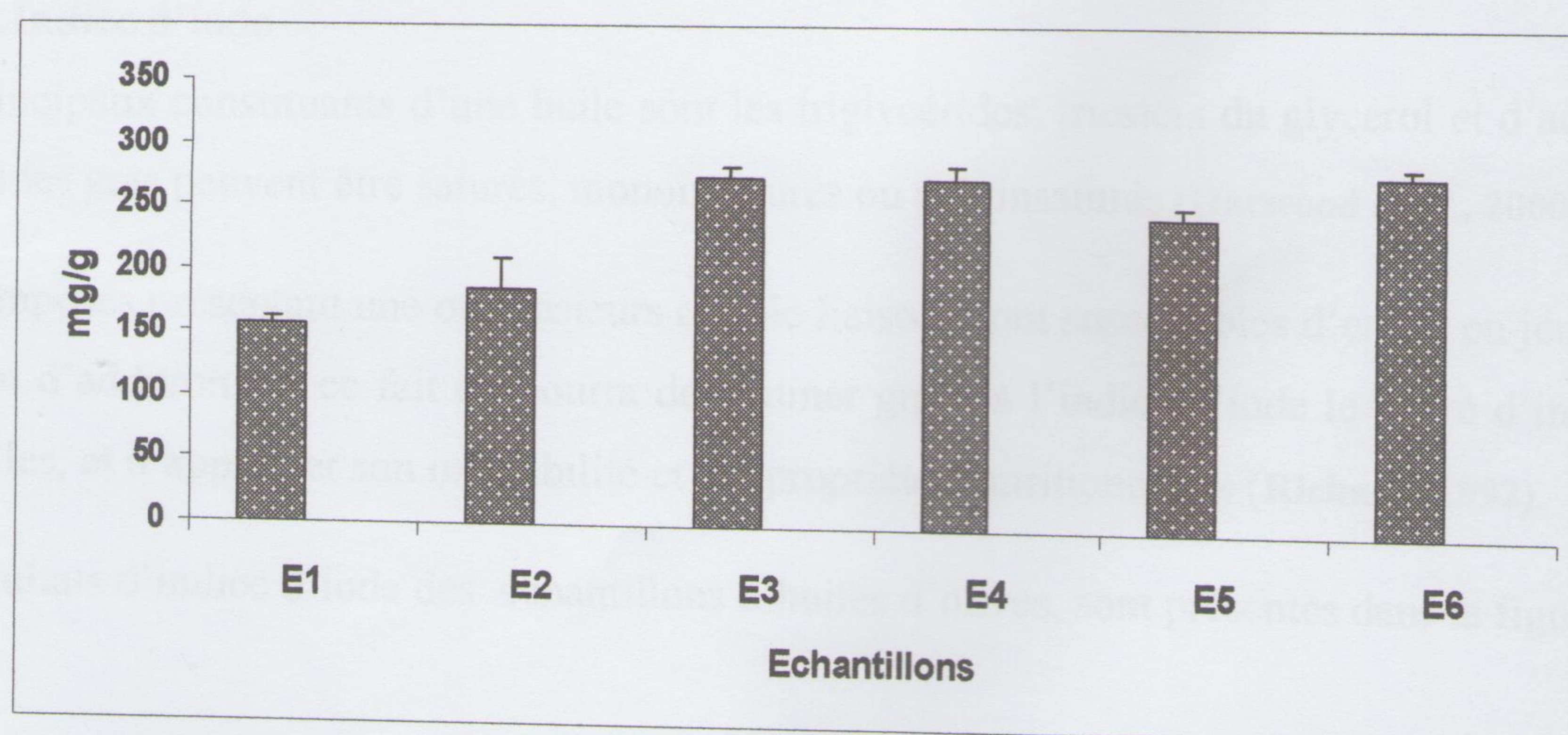


Figure 0 4: Indice de saponification des six échantillons d'huile d'olive.

Les résultats trouvés révèlent que la valeur maximale de l'indice de saponification est obtenue avec l'huile d'olive de la région d'Ouled Askeur (E6) qui est de  $280,5 \pm 7,24$  mg/g, cette valeur est très éloignée de la norme qui doit être comprise entre 184 et 196 mg/g. Alors que, la valeur la plus

faible de cet indice est celle trouvée avec l'échantillon de la région de l'Arayache (E1) qui accuse une différence de 26,92 mg/g par rapport à la limite inférieure de la norme. Nos résultats montrent aussi que parmi les échantillons restants il y a une seule valeur de l'indice de saponification conforme à la norme qui est l'huile de la région d'Ouled Si Ali (E2), avec une valeur de  $185,13 \pm 23,8$  mg/g. Les restes des échantillons ont des valeurs de l'indice de saponification supérieures à la norme avec une différence significative entre les résultats ( $P < 0.05$ ).

Figure 05: Indices d'iode des six échantillons d'huiles d'olive

L'indice de saponification, nous renseigne sur la richesse d'huile en acides gras à chaînes longues pour un poids donné de triglycérides. La quantité de potasse nécessaire pour la saponification augmente donc avec la diminution de la longueur de chaîne des acides gras. Il est le reflet de l'inverse du poids moléculaire moyen des acides gras, autrement dit, il indique l'inverse de la longueur des chaînes des acides gras. Plus la masse molaire d'un lipide est basse, plus l'indice de saponification est élevé (Debbou et Chouana, 2003).

En effet, l'indice de saponification, spécifique à chaque huile, est plus faible pour l'échantillon de la région de l'Arayache, qui est l'huile la plus riche en acide gras à longue chaîne (acide arachidique (20C), acide béhénique (22C) et l'acide gadoléique (20C)) que les autres huiles.

### III.2.4. Indice d'iode

Les principaux constituants d'une huile sont les triglycérides: triesters du glycérol et d'acides gras. Ces acides gras peuvent être saturés, monoinsaturés ou polyinsaturés (Harwood et al., 2000).

Les composés présentant une ou plusieurs double liaisons sont susceptibles d'entrer en jeu dans une réaction d'addition, de ce fait on pourra déterminer grâce à l'indice d'iode le degré d'insaturation des huiles, et d'apprécier son oxydabilité et ses propriétés nutritionnelles (Richard, 1992).

Les résultats d'indice d'iode des échantillons d'huiles d'olives, sont présentés dans la figure 5.

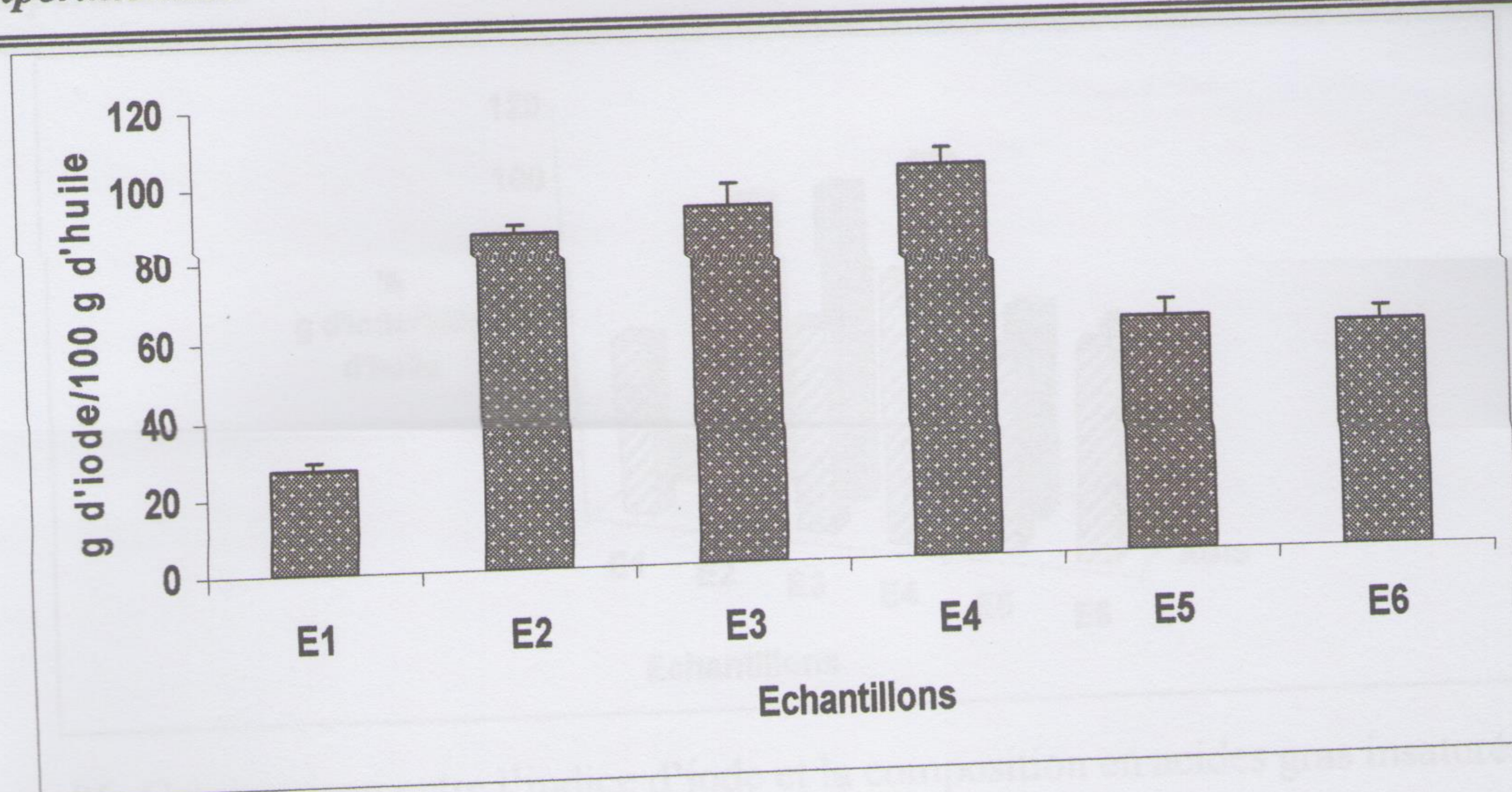


Figure 05: Indices d'iode des six échantillons d'huiles d'olive.

Pour les échantillons étudiés, il y a une différence significative entre les résultats ( $P < 0.05$ ), les valeurs de l'indice d'iode vont de 27,10 à  $102,265 \pm 4,49$  g d'iode/ 100 g d'huile. En comparant ces valeurs à ceux de la norme commerciale du COI (2003), on constate que les échantillons analysés présentent une certaine variabilité par rapport à la norme (75 – 94 g d'iode / 100 g d'huile). L'huile d'olive de l'Emir Abdelkader présente la valeur la plus élevée ( $102,265 \pm 4,49$  g d'iode/ 100 g d'huile), les huiles de Texenna et d'Ouled Si Ali sont les huiles qui représentent des valeurs conformes à la norme avec des valeurs de  $93,055 \pm 5,38$  et  $87,56 \pm 1,796$  g d'iode / 100 g d'huile. Le reste des huiles sont situés au dessous de la valeur inférieure de la norme.

Nos résultats montrent une corrélation entre l'indice d'iode et la composition en AGI des huiles étudiées (figure 6). Les huiles d'olive originaire d'Al Emir Abdelkader (E4) et d'Ouled Si Ali (E2), et qui ont les indices d'iode les plus hauts, renferment les teneurs les plus grandes en acide gras insaturés (75,6% et 69,27% respectivement), en revanche, l'échantillon de l'Arayache a la valeur d'indice d'iode la plus basse, contient la teneur en acide gras insaturés la plus faible (51,92%).

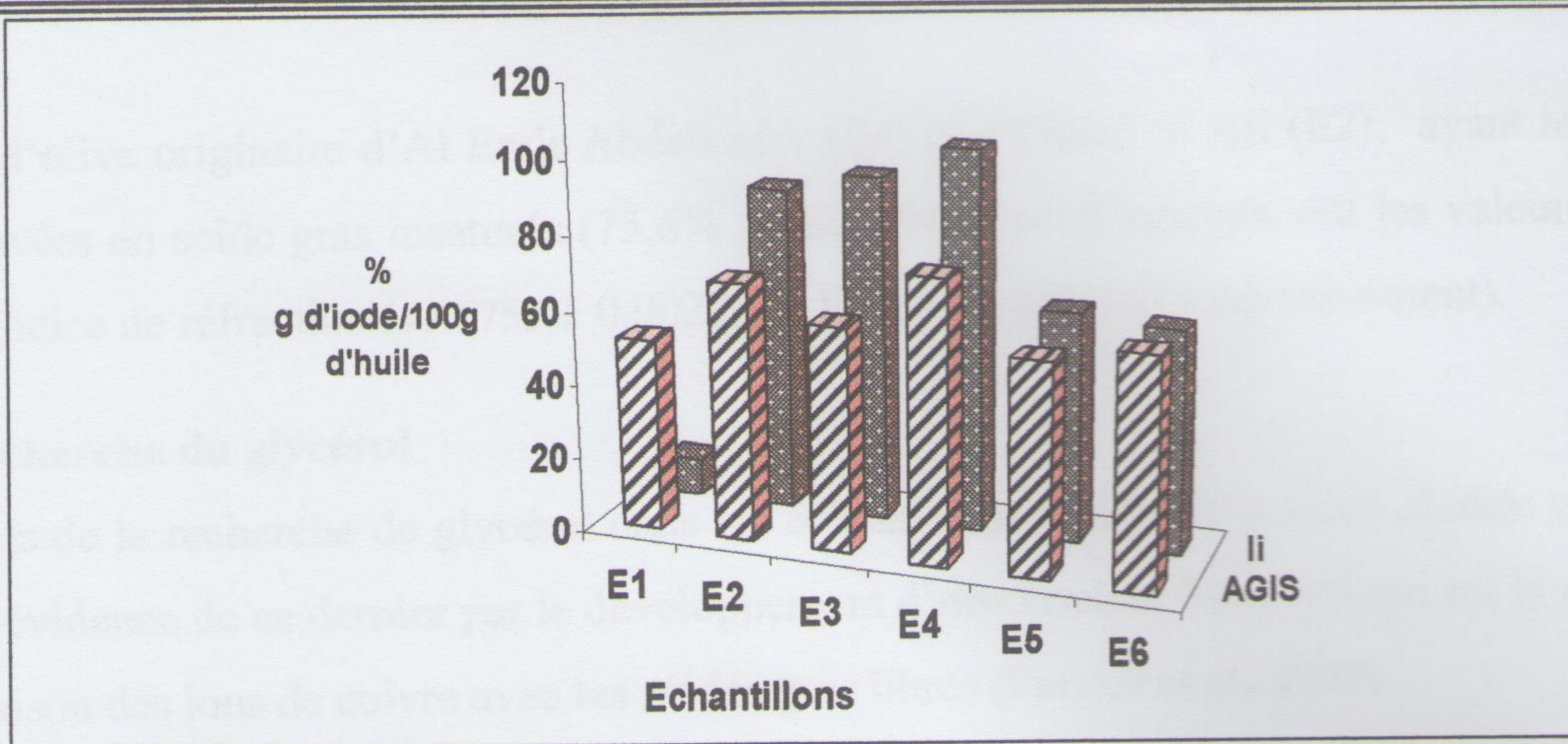


Figure 06: Comparaison entre l'indice d'iode et la composition en acides gras insaturés des six échantillons d'huiles d'olive.

III.2.5. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une matière, est un nombre qui caractérise le pouvoir qu'a cette matière, à ralentir et à dévier la lumière. L'indice de réfraction d'une matière est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et la vitesse de la lumière dans le corps (Bamouch, 2001).

Les résultats de la détermination de l'indice de réfraction sont groupés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Résultats de l'indice de réfraction

Echantillon	Valeur de l'indice de réfraction
E1	1,47275±0,00148
E2	1,46858 ± 0,00145
E3	1,4759 ± 0,00297
E4	1,46753 ± 0,00293
E5	1,4759 ± 0,00297
E6	1,4717 ± 0,00297



Nous avons constaté qu'il y a une différence significative entre les résultats ( $P < 0.05$ ), les valeurs obtenues pour les six échantillons varient de  $1,46753 \pm 0,00293$  à  $1,4759 \pm 0,00297$ . Selon Santos et ses collaborateurs (2012), l'évaluation de l'indice de réfraction d'huiles et des graisses est particulière à chaque produit, et il est lié au degré de l'insaturation. C'est une variable qui peut présenter différents modèles dus à l'influence des facteurs tels que le contenu d'acide gras libre, niveau d'oxydation, et le traitement thermique. Etant plus faible chez les huiles à haut niveau d'insaturation, une huile avec un indice de réfraction faible est donc meilleure pour la santé de nos artères ( Kiosseoglou et kouzounas, 1993).

Les huiles d'olive originaire d'Al Emir Abdelkader (E4) et d'Ouled Si Ali (E2), ayant les teneurs les plus élevées en acide gras insaturés (75,6% et 69,27% respectivement), ont les valeurs les plus faibles en indice de réfraction ( $1,46753 \pm 0,00293$  et  $1,46858 \pm 0,00145$  respectivement).

### III.2.6. Recherche du glycérol

Les résultats de la recherche de glycérol dans les échantillons de l'huile d'olive étudiés permettent la mise en évidence de ce dernier par le développement d'une couleur bleu vert qui est le résultat de la combinaison des ions de cuivre avec les acides gras libres (Perrier et al., 1997).

L'intensité de la présence du glycérol ainsi que les notes de positivité pour une présence de ce composé sont représentés par la figure 7 et le tableau 09.

Tableau 9: Résultats de la recherche du glycérol

Echantillons	Intensité de la présence de glycérol
E1	+
E2	+
E3	++
E4	++
E5	++
E6	++++

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



Figure 07 : Mise en évidence de la présence du glycérol.



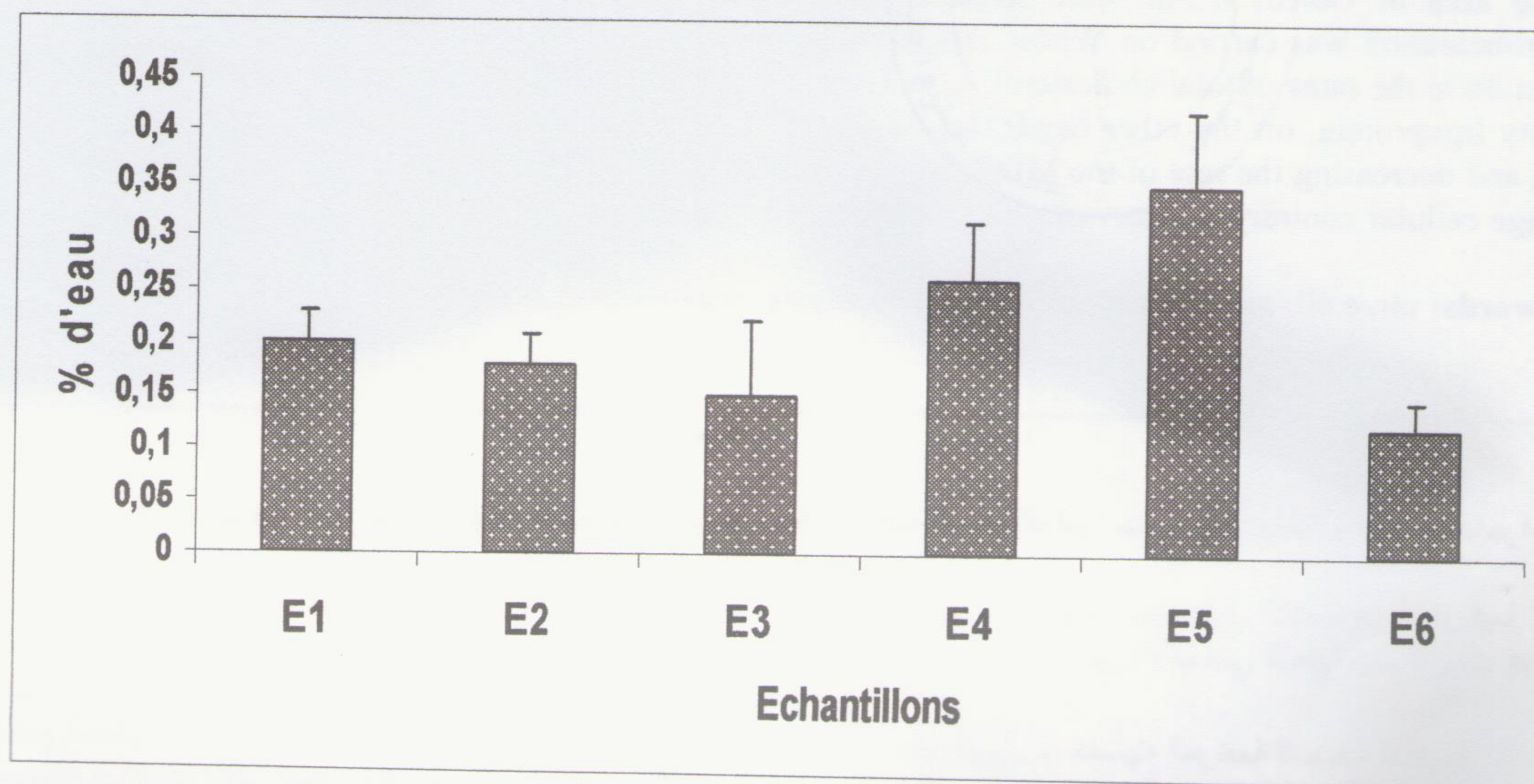
En comparaison avec le témoin, la couleur est plus apparente au niveau des échantillons d'huile originaire des régions d'Ouled Askeur (E6), des huiles originaires d'Al Ancer (E5) et moins apparentent au niveau des autres huiles.

En effet, les résultats de la détermination de l'indice d'acide des huiles étudiées confirment ce qui est obtenu avec la recherche du glycérol puisque les huiles d'Ouled Askeur, et Al Ancer ont enregistrées les taux d'acidité les plus élevée ( $4,9 \pm 0,99$  et  $4,48 \pm 0,39$  respectivement) semble contenir le taux le plus élevé en glycérol. De manière générale, toute hydrolyse de matière grasse produit du glycérol, mais ce n'est pas la seule voie possible pour obtenir du glycérol.

### III.2.7. La teneur en eau

L'eau est le constituant le plus abondant dans les fruits et légumes elle rentre dans les différentes réactions métaboliques, biochimiques et microbiologiques...etc. Sa détermination est donc importante. Les fruits d'olive contiennent 60 à 70% d'eau selon Edward et Farnworth (2008). L'eau dans l'olive est responsable de sa turgescence et sa forme régulière. Dans l'olive, plus la teneur d'humidité est moindre plus sa valeur nutritionnelle et énergétique est élevée (Kailis et Harris, 2007).

Les résultats de la teneur en eau des échantillons de l'huile d'olive sont illustrés par la figure 8.



**Figure 08 :** La teneur en eau des six échantillons de l'huile d'olive

Il ressort de la figure 8, que les six échantillons montrent une variation significative de la teneur en eau ( $P < 0,05$ ), dont la valeur maximale étant enregistrée avec l'échantillon d'El Ancer (E 5) qui est

de l'ordre de  $0,35 \pm 0,070$  % suivi par les échantillons d'El Emir (E4)  $0,26 \pm 0,056$  %. Ces valeurs sont relativement supérieures à la norme qui doit être  $\leq 0,2$  %.

Le reste des échantillons sont conformes à la norme, dont leur teneur en humidité varie de 0.12 et 0.2%, en revanche l'échantillon de l'Arayache (E1), Ouled Si Ali (E2), Texanna (E3), avec des valeurs respectives de  $0,2 \pm 0,028$  % ;  $0,18 \pm 0,028$  % et  $0,15 \pm 0,070$  %, dont l'échantillon d'Ouled Askeur (E6) présente la valeur la plus basse de la teneur en eau  $0,12 \pm 0,028$ %.

Après extraction de l'huile, le liquide obtenu est un mélange d'huile et d'eau. Pour les séparer, on avait recours à la décantation. Cette méthode n'est presque plus utilisée, en raison du temps qu'elle demande et de la difficulté à récupérer l'huile à la limite de partage des deux liquides. De plus en plus, la séparation des phases et la décantation se font dans des centrifugeuses (décanteur horizontal et centrifugeuse verticale) (Polese, 2007). De ce fait un degré très élevé en humidité peut être expliqué 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 (Moirence et Nicolas, 2006).

### III.2.8. Teneur en impuretés insolubles

Les résultats de la teneur en matière insoluble (impuretés) des échantillons analysés sont résumés dans figure 9, où nous avons constaté la présence d'une différence significative entre les résultats ( $P < 0.05$ ).

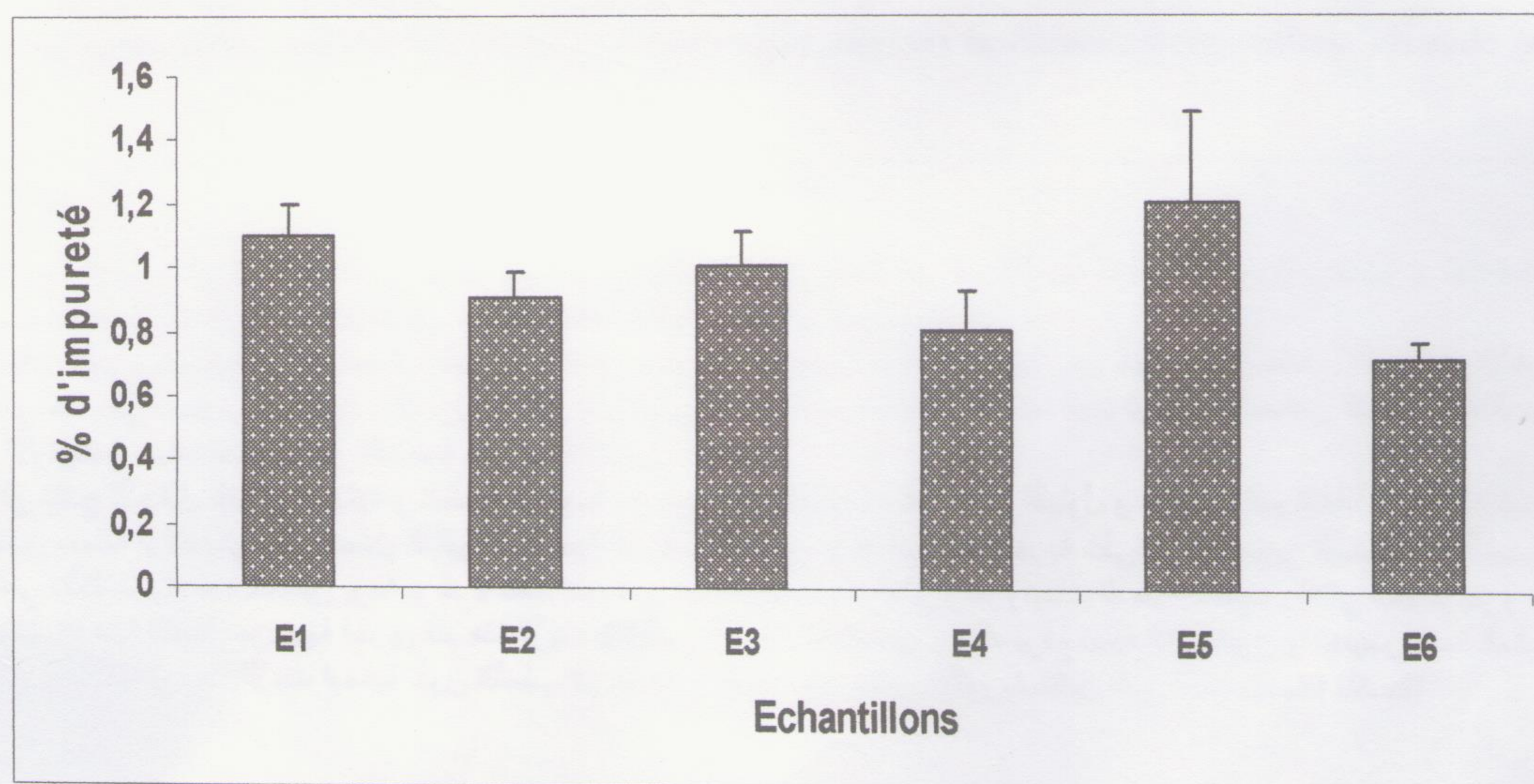


Figure 09: Teneur en impuretés des six échantillons d'huile d'olive.

Il ressort de la figure 9, que tous les échantillons analysés présentent des teneurs élevées en matière insolubles relativement élevées par rapport à la norme fixée qui est au maximum de 0.1 %.

L'échantillon d'Al Ancer (E5) enregistre la valeur la plus élevée en impuretés ( $1,2 \pm 0,28$  %), au contraire la valeur minimale est celle enregistrée pour l'échantillon d'Ouled Askeur (E6) 0,7%.

Le taux élevé des impuretés dans ces échantillons peut être due au non respect des règles d'hygiène au cours de fabrication des huiles.

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 aussi le taux des impuretés dans l'huile (Abaza et al., 2002). Vekiari et ses collaborateurs (2007) ont trouvé que le taux d'impuretés des échantillons obtenus par système classique est plus élevé que celui des échantillons obtenus par centrifugation.

### III.2.9. Point de solidification et de fusion

Les propriétés thermiques d'une matière grasse dépendent de la longueur de chaîne et l'insaturation des résidus d'acides gras ainsi que de la structure des triacylglycérols. Ces paramètres déterminent les propriétés de fusion et de solidification des matières grasses qui sont importantes dans la perception sensorielle des aliments (Cossut et al., 2002).

Les résultats de la détermination du point de fusion et de solidification sont illustrés par la figure 10

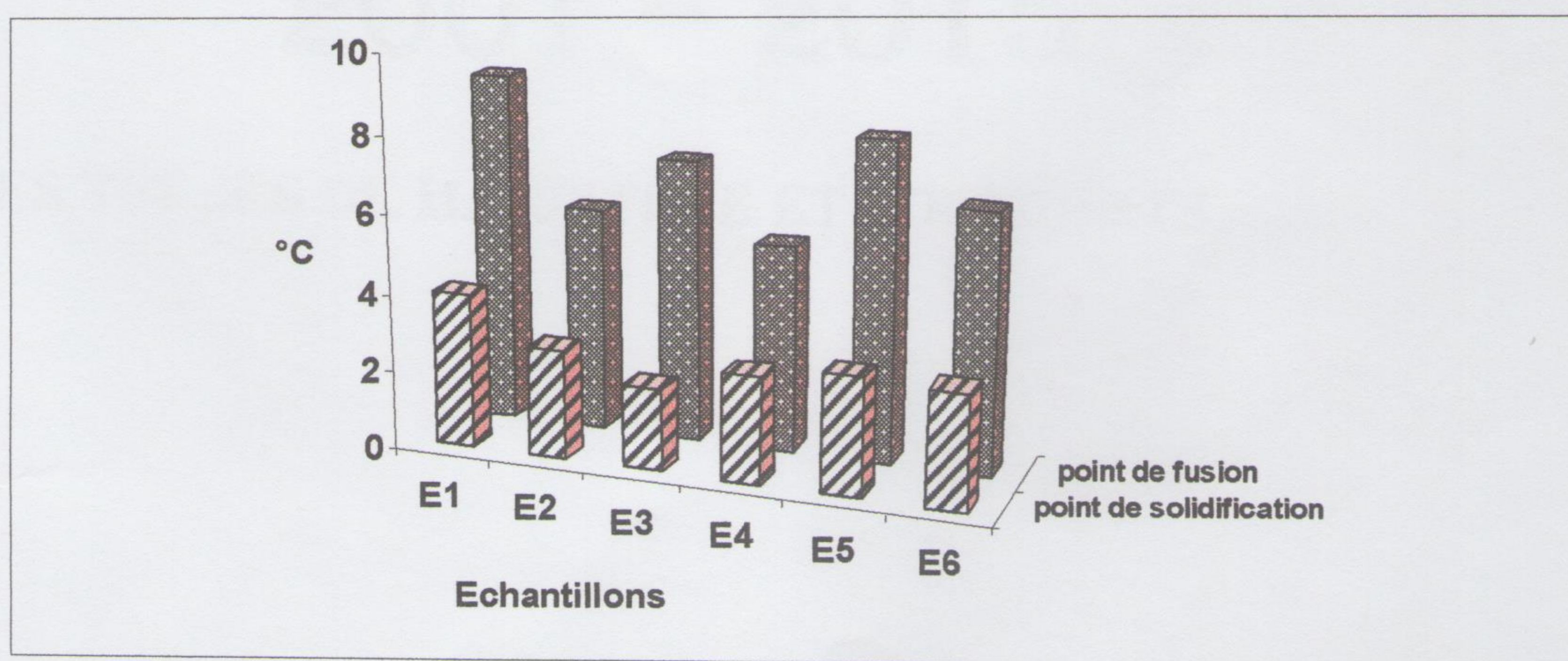


Figure 10: Point de solidification et de fusion des six échantillons de l'huile d'olive.

Nous avons constaté la présence d'une différence significative entre les résultats ( $P < 0.05$ ). 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 les échantillons d'Arayache (E1), El Ancer (E5) ont les points de fusions les plus élevés, supérieures à la norme fixée, et par conséquent ont les points de solidification les plus élevés. Alors que les autres échantillons ont des points de fusion conforme aux normes. D'autre part, tous les échantillons sont conformes aux normes du point de vue point de solidification. Lorsque l'huile d'olive est stockée en dessous de 20°C les triglycérides ayant un point de fusion relativement élevés, forment des cristaux granulaires (Tanaka et al., 2007).

Par ailleurs, nous avons remarqué que l'échantillon originaire d'Arayache (E1) a la valeur maximale du point de fusion ( $9 \pm 1,41$  °C), présente le point de solidification le plus élevé ( $3,95 \pm 0,77$ °C) tandis que l'huile d'Emir (E 4) a le point de fusion le plus faible ( $5,2 \pm 0,14$  °C), et par conséquence le point de solidification le plus bas  $2,05 \pm 0,07$ °C. Cette différence entre les six échantillons peut être liée à la composition en AG (insaturés et saturés).

Cossut et ses collaborateurs (2002), ont rapporté que l'insaturation provoque une diminution très significative du point de fusion par rapport à l'acide saturé de longueur de chaîne identique, ainsi cette donnée bibliographique justifie nos résultats (Tableau 10) l'huile d'olive vierge d' El Emir (E4) a le point de fusion le plus faible, le pourcentage en AGI le plus élevé, alors que l'huile d'olive vierge d'Arayache (E5) a le point de fusion le plus élevé , renferme le taux en acide gras insaturés le plus faible.

**Tableau 10:** Comparaison entre la teneur en AGS, AGI et le point de fusion.

Echantillon	AGI %	AGS %	Point de fusion (°C)
E 1	51,92	48,08	9
E 2	69,27	30,73	5,7
E 3	60,4	39,6	7,15
E 4	75,6	24,4	5,2
E 5	57,06	42,94	8,05
E 6	61,28	38,72	6,5

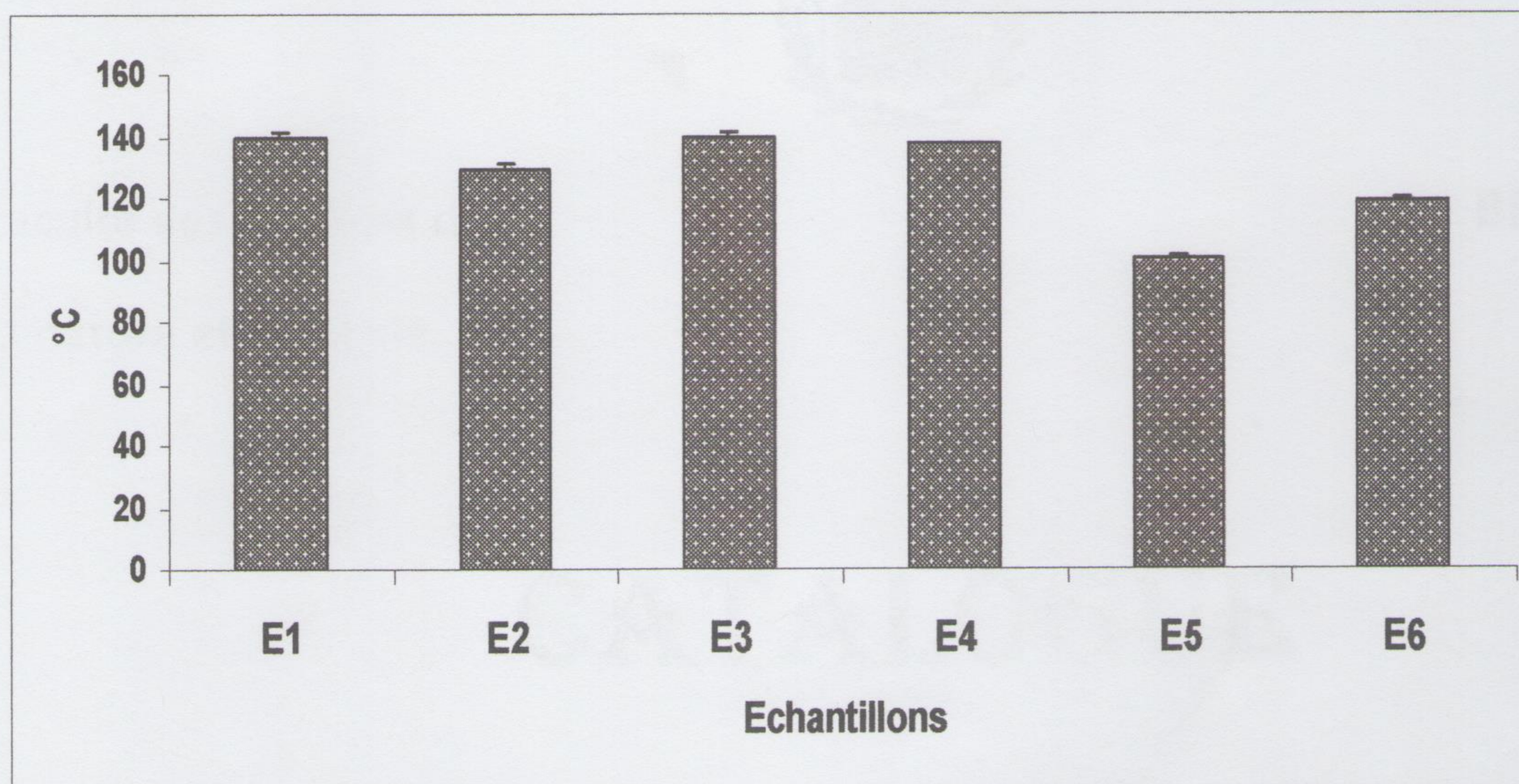
### III.2.10. Point de fumée

La nature des acides gras de l'huile détermine son point de fumée. Il s'agit du moment où elle commence à se décomposer et produit des substances toxiques. Une huile adéquate pour la friture devrait posséder un point de fumée supérieur à 218°C. À ce titre, les huiles riches en AGPI ne supportent pas bien les hautes températures ni les fritures répétées, car elles s'oxydent et se

détériorent, produisant des substances toxiques. Les huiles d'arachide et d'olive raffinées peuvent être utilisées pour la friture étant donné leur forte proportion d'AGM.

Cependant, il n'est pas recommandé d'atteindre le point de fumée qui modifie la composition chimique de l'huile. Ces transformations sont valables pour tous les corps gras. De plus, il existe à cette température un risque d'inflammation.

Les résultats des points de fumée des 06 échantillons étudiés sont illustrés par la figure 11.



**Figure 11 :** Points de fumée des 06 échantillons d'huile d'olive.

Nos échantillons présentent une différence significative entre les points de fumée ( $P < 0.05$ ), qui varient entre 105 °C et 140 °C. Les huiles de la région d'L'Arayache (E1) et de la région de Texenna présentent le point de fumée le plus élevé ( $140^{\circ}\text{C} \pm 1,41$ ), Alors que l'huile de la région de l'Ancer (E5) a le point de fumée le plus bas ( $100,5 \pm 0,70$  °C), ces valeurs de point de fumée sont très loin de la norme fixée (180-210 °C), les échantillons d'huile analysés ne sont pas bons pour la cuisson à haute température.

### **III.2.11. La densité**

Les résultats de la densité relative des échantillons d'huile d'olive sont illustrés dans la figure 12, où nous avons trouvé que la différence entre les résultats est significative ( $P < 0.05$ ).

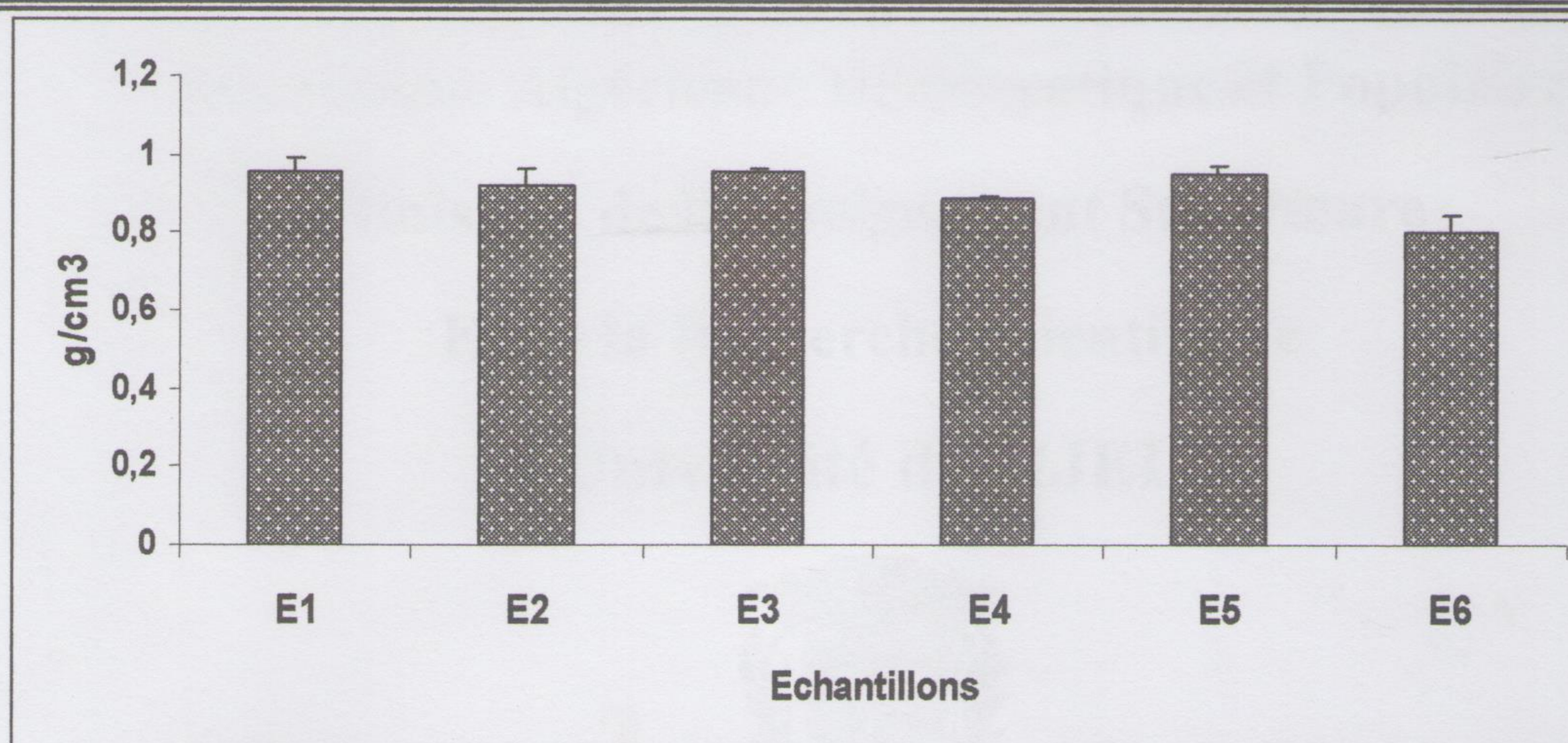


Figure 12: Densités des six échantillons d'huile d'olive.

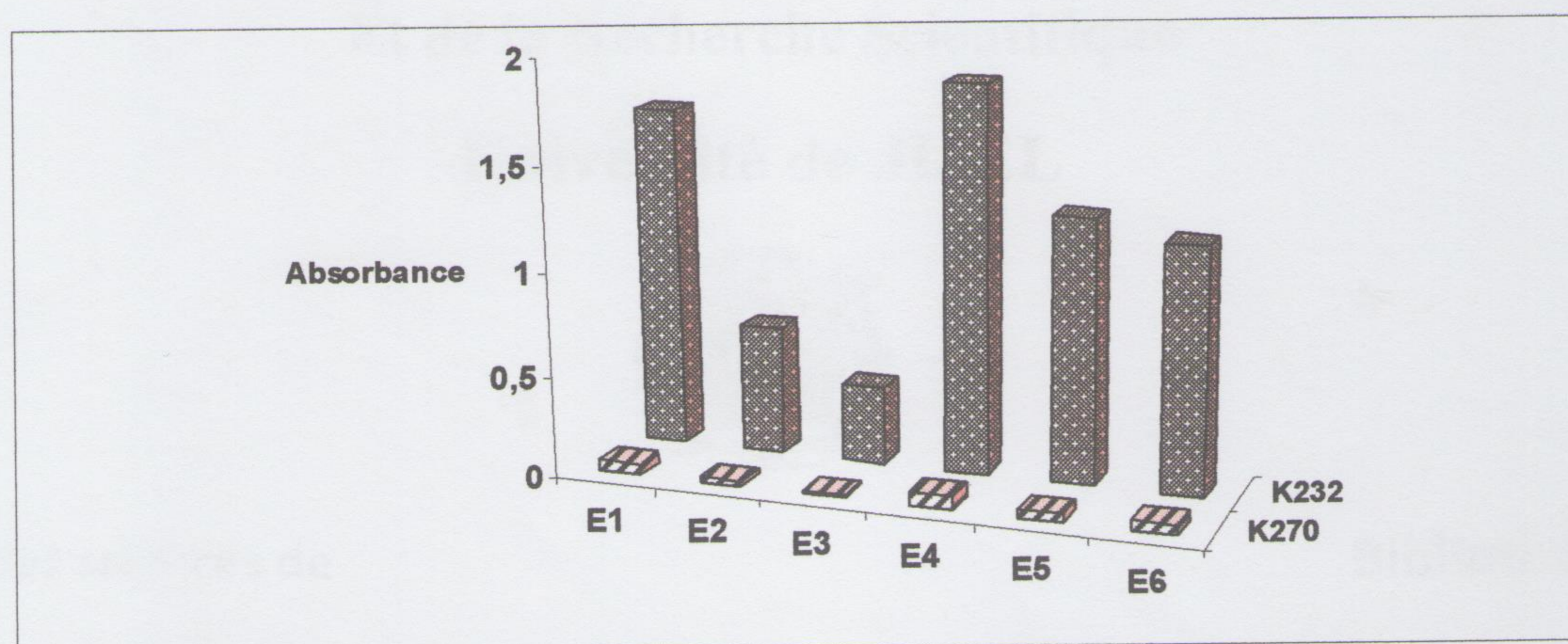
La densité de l'huile d'olive doit être comprise entre 0,910 et 0,916 g/cm<sup>3</sup>. Nous avons observé que les échantillons de l'Arayache (E1), Ouled Si Ali (E2), Texenna (E3) et Al Anser (E5) ont des valeurs de la densité supérieure à la norme (0,955 ± 0,0335 g/cm<sup>3</sup>, 0,92 ± 0,042 g/cm<sup>3</sup>, 0,955 ± 0,007 g/cm<sup>3</sup> et 0,95 ± 0,02 g/cm<sup>3</sup> respectivement), alors que le reste des échantillons (de l'Emir Abdelkader (E4) et d'Ouled Askeur (E6) ont des densités inférieures à la norme (0,885 ± 0,007 g/cm<sup>3</sup> et 0,80 ± 0,04 g/cm<sup>3</sup> respectivement).

Nous remarquons que l'huile d'olive de la région de l'Arayache (E1) qui représente la valeur la plus faible de l'indice de saponification, est l'huile qui a la densité la plus élevée. Par contre, l'huile d'olive de la région d'Ouled Askeur (E6) qui représente la valeur la plus élevée de l'indice de saponification, est l'huile qui a la densité la plus faible, parce que l'indice de saponification indique l'inverse de la longueur des chaînes des acides gras. Plus la masse molaire d'un lipide est basse, plus la densité est faible, et plus l'indice de saponification est élevé.

### III.2.12. Extinction spécifique en UV

Les valeurs de l'indice de peroxyde inférieur à 20 meq O<sub>2</sub>/Kg d'huile ne signifient pas toujours l'absence du phénomène d'oxydation. Le recours à la détermination des coefficients (K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub>) d'absorbance dans l'ultraviolet, renseigne sur la présence ou l'absence de produits d'oxydation secondaire dans l'huile. Les hydroperoxydes des premiers stades de l'oxydation absorbent à 232 nm, alors que les produits d'oxydation secondaires tels que les cétones et les dicétones absorbent au voisinage de 270 nm (Ben Temime et al., 2008 ; Jeantet et al., 2006).

La figure 13 représente un récapitulatif des valeurs d'extinctions spécifiques obtenues dans l'ultraviolet (UV).



**Figure 13:** Valeurs d'absorbances en UV K<sub>232</sub> et K<sub>270</sub> des six échantillons de l'huile d'olive

A partir des résultats obtenus Figure 13, nous avons noté que la différence entre les résultats est significative ( $P < 0.05$ ), tous les échantillons d'huiles d'olive étudiés ont des valeurs d'absorbance K<sub>232</sub> et K<sub>270</sub> qui répondent à la limite permise par la norme qui est de 3.5 pour K<sub>232</sub> et 0,25 pour K<sub>270</sub>.

L'échantillon d'El Emir a présenté la valeur la plus élevée pour le K<sub>232</sub>nm ( $1,87 \pm 0,113$ ) et pour le K<sub>270</sub>nm ( $0,068 \pm 0,016$ ). Cette huile, a présenté également une valeur de l'IP la plus élevée ( $2 \pm 0,05$  méqO<sub>2</sub>/kg). En revanche, l'huile d'olive originaire de Texanna (E3), a le coefficient d'extinction à 232 nm ainsi que à 270 nm le plus bas, estimé à  $0,018 \pm 0,002$  et  $0,375 \pm 0,035$  respectivement.

Les résultats indiquent que tous les échantillons analysés sont dans un état non oxydé ou contiennent une faible proportion de peroxydes dont l'huile de Texanna marque probablement la teneur la plus faible en ces composés. L'extinction spécifique à 232 nm et à 270 nm d'une huile peut être considérée comme une image de 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 elle est riche en produits d'oxydation secondaires ce qui traduit une faible aptitude à la conservation (Tanouti et al., 2010 ; Gharby et al., 2011).

D'après Tanouti et ses collaborateurs (2011), l'absorbance dans l'ultraviolet est un moyen d'évaluation de l'état de conservation de l'huile. C'est également un indicateur sur la douceur de la méthode d'extraction et sur l'oxydation par surexposition de l'huile à l'air lors de la trituration. Plus

l'extraction se fera à température basse ( $< 28^{\circ}$ ) et moins il y aura de contact avec l'air pendant l'extraction, et plus les valeurs de  $K_{232}$ ,  $K_{270}$ , seront faibles.

Kiristakis (2004) ont montré que lors de l'augmentation de la température le  $K_{232}$  des huiles d'olives vierges augmente en parallèle, ce qui indique la formation des hydroperoxydes conjugués, le même motif a été trouvé pour le  $K_{270}$ , probablement du à des produits secondaires qui sont des diènes conjugués.

### III.2.13. La composition en acides gras

Le principal constituant lipidique de l'huile d'olive est un acide gras mono-insaturé, l'acide oléique. Celui-ci représente 65 à 80% des acides gras de l'huile d'olive (Jacotot, 1997). La composition en acides gras des six échantillons d'huile d'olive a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CG/MS). D'après ces résultats nous avons remarqué que le taux de l'acide oléique (C18:1) est le plus élevé pour tous les échantillons.

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

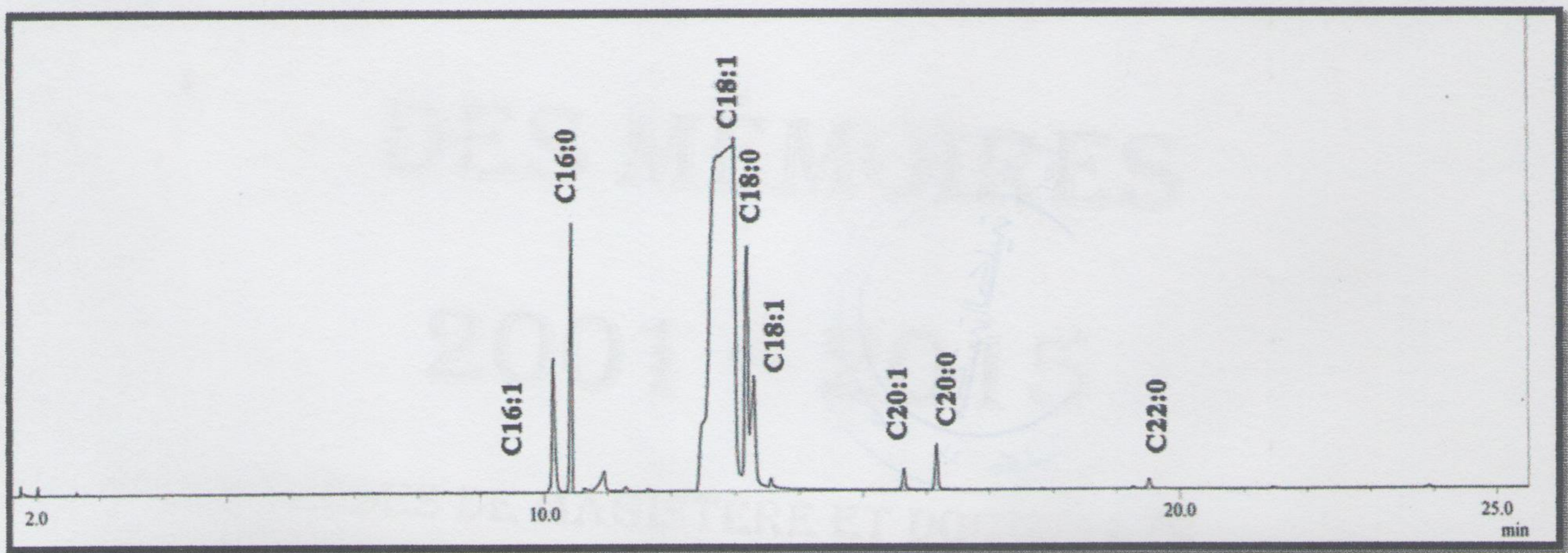


Figure 14: Résultats d'analyse de l'huile de la région de l'Arayache par CG/MS



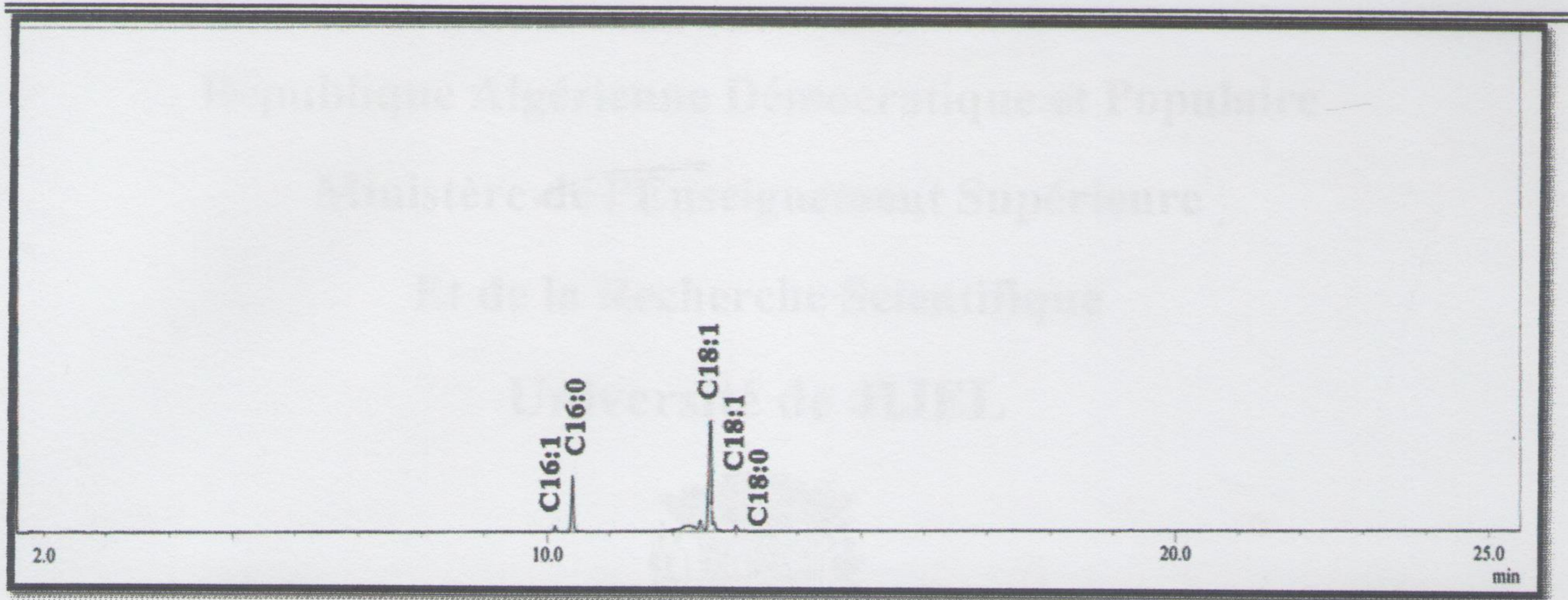


Figure 15: Résultats d'analyse de l'huile de la région d'Ouled Si Ali par CG/MS

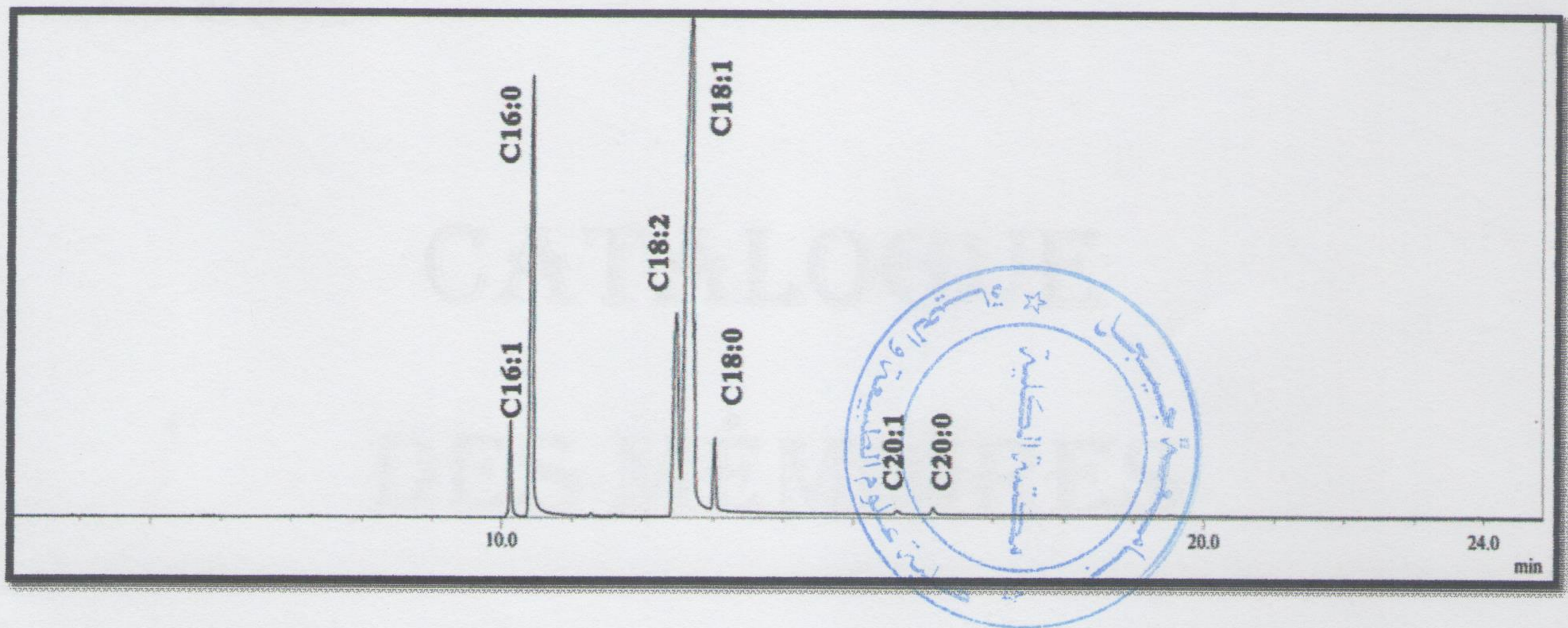


Figure 16: Résultats d'analyse de l'huile de la région de Texenna par CG/MS

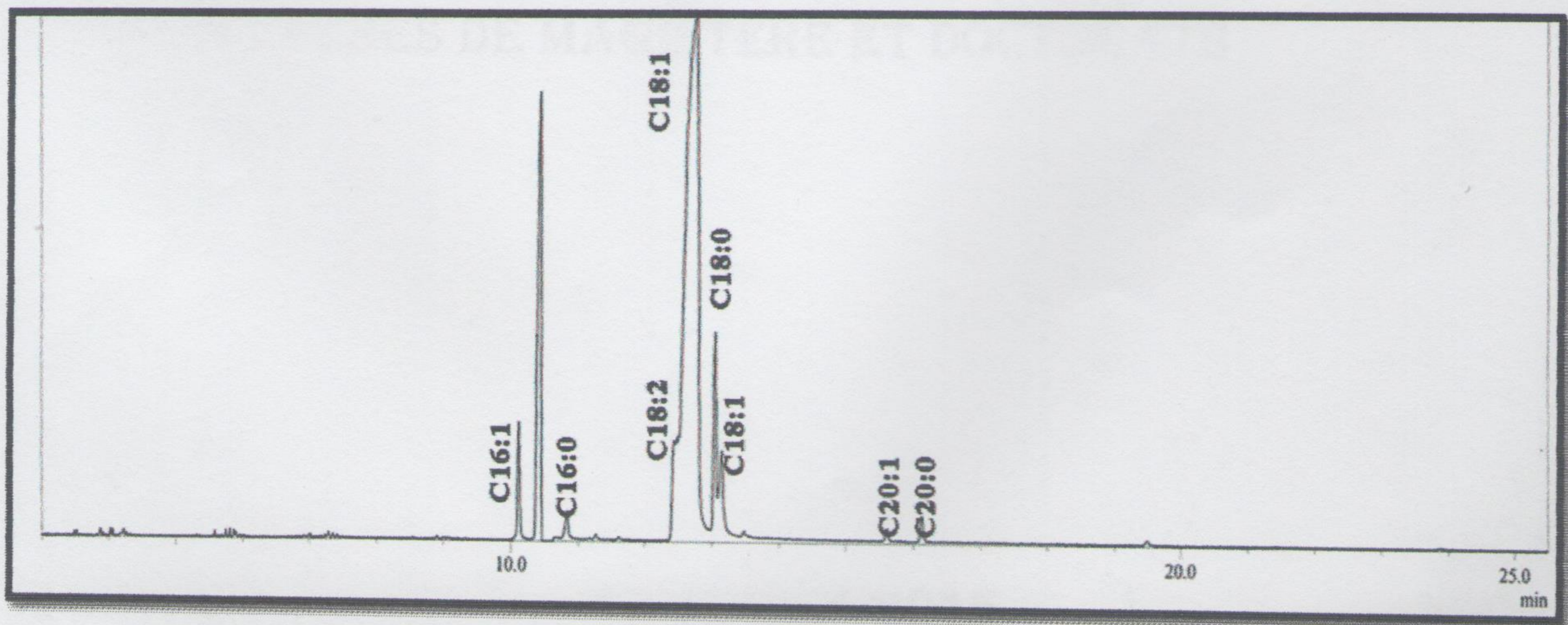


Figure 17: Résultats d'analyse de l'huile de la région d'Al Emir Abdelkader par GC/MS

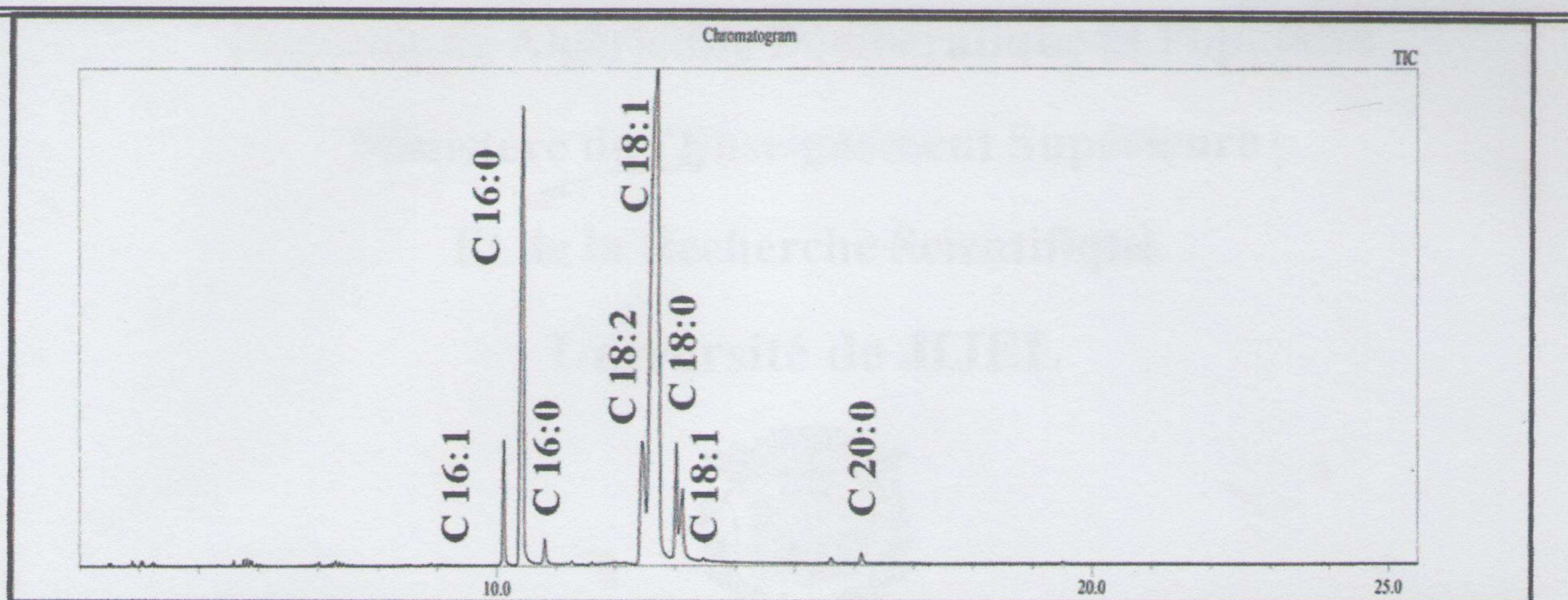


Figure 18: Résultats d'analyse de l'huile de la région d'Al Ancer par CG/MS

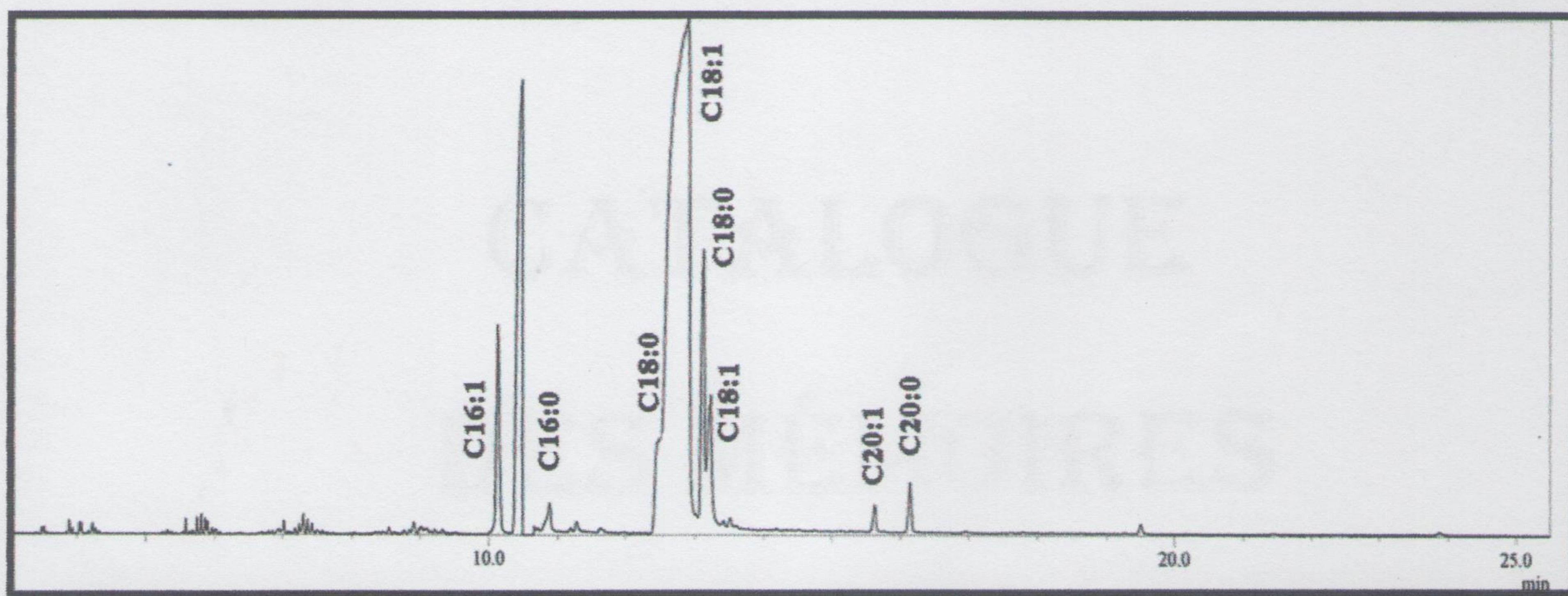


Figure 19: Résultats d'analyse de l'huile de la région d'Ouled Askeur par CG/MS

Nous avons constaté que l'huile d'olive de la région d'Ouled Si Ali est l'huile d'olive la plus riche en acide oléique (61,19%), le taux en acide palmitique, linoléique, et stéarique est de : 27,67% ; 5,09% et 2,96% respectivement, mais cette huile contient la plus faible teneur en acide palmitoléique (2.99%).

L'échantillon d'huile d'olive de la région d'Al Emir Abdelkader contient aussi un taux élevé en acide oléique (55,74%), le taux en acide oléique (C18 :1) est de 48,75%, 39,71%, 38,89% et 37,63% pour les autres échantillons d'huile d'olive de la région d'Ouled Askeur, d'Al Ancer, de l'Arayache et de Texenna respectivement.

Les huiles d'olive de la région de Texenna et d'Al Ancer représentent le taux le plus élevé en acide palmitique ; 33,29% et 32,15% respectivement. La teneur la plus faible est enregistrée pour l'huile d'olive de la région d'Al Emir Abdelkader (2,51%).

## Etude Expérimentale

Certains auteurs ont déjà observé des variations dans la composition de l'huile d'un même cultivar en fonction du milieu et des appellations géographiques (Abaza *et al.*, 2002). Cependant, Sanchez et ses collaborateurs (1999) estiment que la variété reste la variable principale qui fait la différence entre les huiles en particulier au niveau de leurs compositions. Les teneurs des différents composés sont parfois dépendantes de la variété, de la nature des sols (I.T.A.F, 2006) et des conditions climatiques pouvant aussi influencer ces teneurs (Ollivier, 2006).

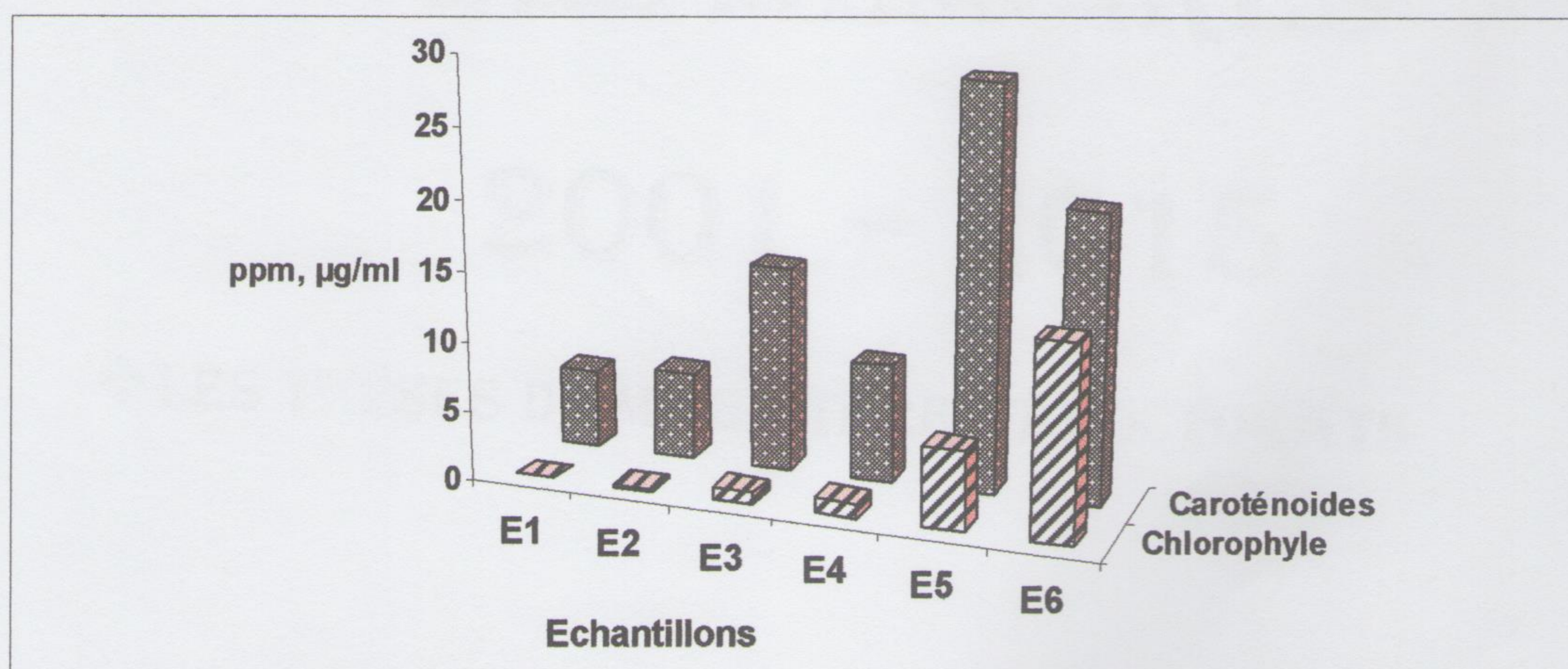
### III.2.14. Teneur en pigments

Outre sa richesse en lipides, l'huile d'olive contient des composés mineurs qui lui confèrent ses qualités organoleptiques et nutritionnelles (Jacotot, 2001 ; Calabrese, 2002).

Parmi ces composés mineurs les pigments, qui en raison de leur caractère antioxydant 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 (Ben tekaya et Hassouna, 2005).

L'analyse des pigments colorants n'est pas exigée par les normes de commercialisation de l'huile d'olive, cependant la couleur est un attribut de base pour déterminer les caractéristiques de l'huile d'olive elle est associée par la plupart des consommateurs à la notion de qualité (benrachou, 2013).

Les résultats de la mesure des pigments chlorophylliens et des caroténoïdes sont mentionnés dans la figure 20, où nous avons constaté que la différence entre les résultats est significative ( $P < 0.05$ ).



**Figure 20:** Teneur en pigments (chlorophylles et caroténoïdes) des six échantillons de l'huile d'olive.

Il ressort de cette figure que les teneurs en chlorophylles dans les échantillons analysés présentent des teneurs variables, elles varient entre  $0,022 \pm 0,006$  ppm et  $13,75 \pm 0,063$  ppm alors que les

teneurs enregistrées pour les caroténoïdes sont nettement plus importantes varient entre  $5,635 \pm 0,61 \mu\text{g/ml}$  et  $28,58 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$ .

Nous avons aussi noté, que la teneur en chlorophylles est maximale pour l'échantillon de Ouled Askeur (E6) avec une valeur de  $13,75 \pm 0,063 \text{ ppm}$  suivi de celle d'El Ancer (E5) ( $5,605 \pm 0,021 \text{ ppm}$ ), alors que les faibles valeurs des pigments chlorophylliennes sont enregistrées pour les échantillons d'El Emir ( $1,049 \pm 0,038 \text{ ppm}$ ), Texanna ( $0,82 \pm 0,155 \text{ ppm}$ ), Ouled Si Ali ( $0,087 \pm 0,007 \text{ ppm}$ ), dont la valeur la plus faible est enregistrée avec l'échantillon d'El Arayache ( $0,022 \pm 0,006 \text{ ppm}$ ).

Parallèlement, concernant les caroténoïdes, nous avons remarqué que les valeurs les plus élevées sont enregistrées pour les échantillons d'Ancer ( $28,58 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$ ) et Ouled Askeur ( $20,47 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$ ), suivi par l'échantillon de Texanna ( $14,605 \pm 0,50 \mu\text{g/ml}$ ) tandis que les autres échantillons présentent des quantités considérables en caroténoïdes : El Amir ( $8,42 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$ ) Ouled Si Ali ( $6,205 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$ ) et en fin l'échantillon d'El Arayache ( $5,635 \pm 0,61 \mu\text{g/ml}$ ).

La concentration en chlorophylles peut dépasser  $80 \text{ mg/kg}$  pour des huiles obtenues à partir d'olives en stade précoce de maturation, pour arriver à des valeurs d'environ  $2 \text{ mg/kg}$  lorsque le fruit est bien mûr (Tanouti et al., 2011). De même Méndez et Falqué (2007) ont montré que le contenu en pigments chlorophylliens diminue de plus de 30% et se dégradent au cours du stockage.

Selon Ben Tekeya et Hassouna (2007), les pigments chlorophylliens ont un rôle photo-sensibilisateur et interviennent dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive. L'action photo-catalytique des pigments chlorophylliens croît avec leur concentration, d'où l'intérêt de produire des huiles d'olive vierge à partir d'olives mûres et de procéder au défeuillage lors de l'extraction de l'huile (benrachou, 2013).

Les carotènes sont des substances chimiques naturelles impliquées dans les mécanismes d'oxydation de l'huile, leur présence en quantité suffisante dans l'huile permet de retarder le phénomène de la photo oxydation et de préserver les paramètres de qualité de l'huile au cours du stockage (Lazzer et al., 2006). Lazzer et ses collaborateurs (2006) ont démontré qu'il existe une régression très rapide de la teneur en carotènes au cours de la maturation des olives.

Dans l'huile d'olive, un caroténoïde, le bêta-carotène agit comme protecteur en désactivant l'oxygène singulier produit par les chlorophylles, et de ce fait c'est un inhibiteur de la photo-oxydation (Rahmani, 1989).

Nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus sur la variété Cornicabra espagnole qui présente des teneurs en carotènes variant de 2 à 14 mg/kg (Salvador *et al.*, 2001).

Rahmani (1989), a rapporté que la teneur en pigments dans l'huile d'olive dépend d'un certain nombre de facteurs, tels que, la variété, le degré de maturité des olives, le système utilisé pour l'extraction de l'huile ainsi que la durée et les conditions de son stockage.

### III.2.15. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes

La susceptibilité des huiles d'olives à la conservation est liée à la richesse en acides gras insaturé et à la nature chimique des antioxydants naturelles dont les plus importants ; les polyphénols qui se trouvent en quantité considérable dans les fruits et les feuilles des olives (Vekiari et koutsaftakis 2002 ; Chimi 2005). On distingue des composés phénoliques de faible poids moléculaire tels que les acides phénoliques et d'autres qui ont des poids moléculaires élevés comme les tanins, les anthocyanines et les catéchines. Les polyphénols ont montré des propriétés antimicrobiennes, hypolipidiques, hypocholestérolémiantes et anti cancérigènes (Mulinacci *et al.*, 2001).

Les polyphénols passent dans l'huile lors de son extraction. Les orthodiphénols (comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine) présents dans l'huile d'olive sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation, ils lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant (Ollivier *et al.*, 2004 ; Tanouti *et al.*, 2011).

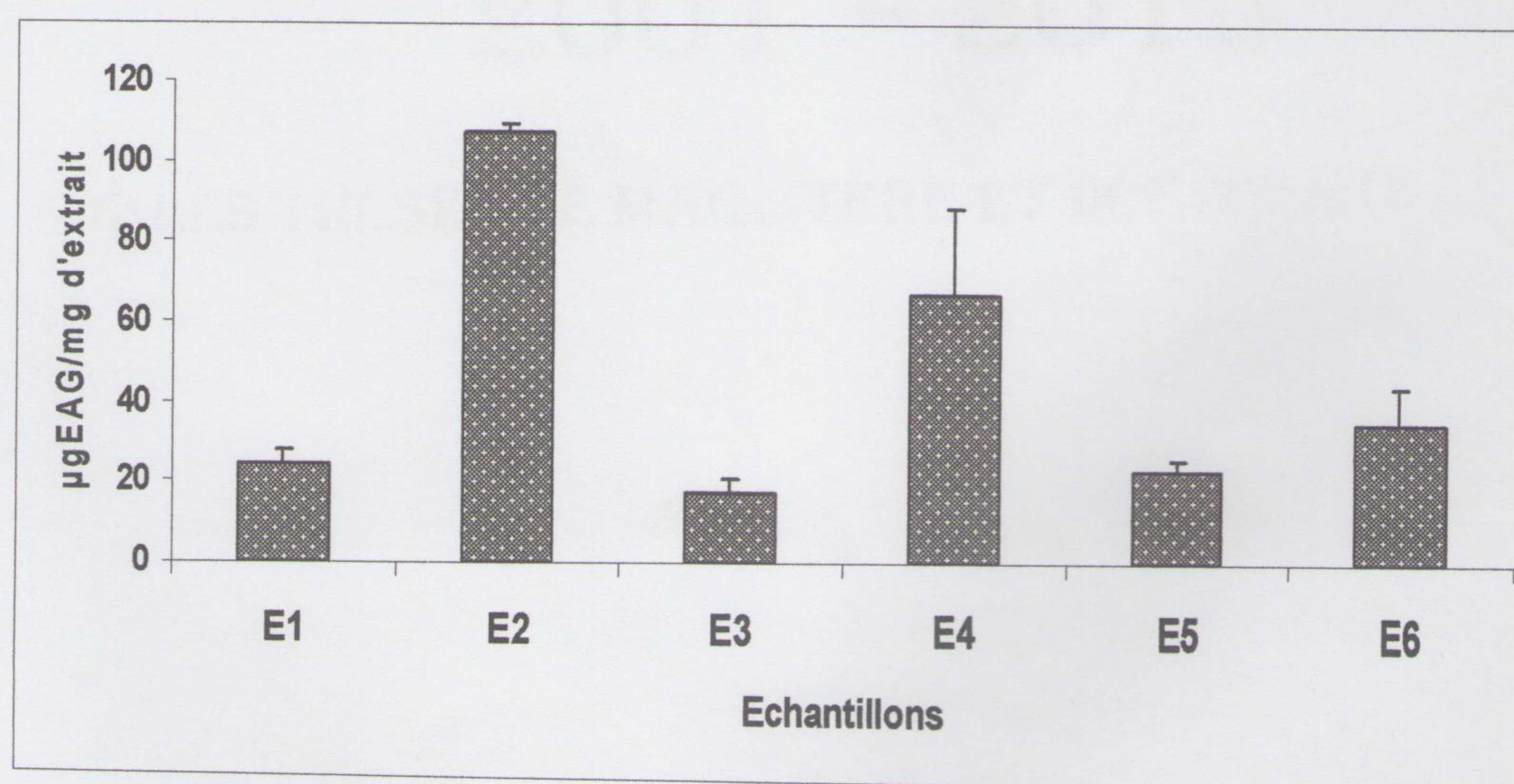


Figure 21: Teneur en polyphénols des six échantillons de l'huile d'olive

Les résultats obtenus figure 21 montrent qu'il y a une différence significative entre les échantillons ( $P < 0.05$ ). Le contenu en polyphénols totaux des huiles d'olive analysées varie fortement d'une région à une autre. D'après cette figure, nous avons noté que toutes les huiles testées contiennent des quantités appréciables de composés phénoliques. Généralement le taux le plus élevé est observé avec l'huile d'olive originaire Ouled Si Ali (E2) avec une concentration moyenne remarquable  $107,31 \pm 1,90 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait suivi de celle d'El Emir Abdelkader (E4)  $67,16 \pm 21,21 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait, Ouled Askeur (E6)  $34,995 \pm 8,95 \mu\text{gEAG/mg}$  d'extrait. Ainsi les échantillons de la région d'El'Arayache et d'El Ancer présentent des valeurs de  $24,33 \pm 3,77 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait et  $22,995 \pm 2,59 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait respectivement, ces valeurs sont considérées comme étant faibles par rapport à celles trouvées pour l'échantillon de Ouled Si Ali (E2). Alors que la plus faible est rencontrée chez l'huile d'olive originaire de Texanna (E3)  $17,41 \pm 3,18 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait.

D'après Owen et ses collaborateurs (2000), la teneur en phénols est de 232 mg/kg pour l'huile d'olives vierge extra et de 62 mg/kg pour l'huile raffinée. Selon Tanouti *et al.* (2011), les variations des teneurs en polyphénols, observées peuvent être dues à la différence de degré de maturité des olives avant trituration (récolte précoce des olives) mais dépendent également du profil variétal et de la zone géographique. Aussi la culture de l'olivier, notamment les systèmes d'entretien des arbres ou les systèmes d'irrigation (Gomez *et al.*, 2009). Un autre facteur très important est la variété. De nombreuses études ont montré que certaines variétés d'olives étaient plus riches en composés phénoliques que d'autres (Vinha *et al.*, 2005 ; Tura 2007 ; Gomez., 2008 ; Tura *et al.*, 2008).

Selon Ocakoglu (2008), les huiles d'olive située en altitude se montrent plus riches en phénols. Vekiari et Koutsaftakis (2002) ont rapporté que le taux de polyphénols dans l'huile d'olive vierge est nettement touché par le système d'extraction. Par ailleurs, l'étude menée par Jerman et Mozetič (2012) ont montré qu'une centrifugeuse à deux phases a fourni le taux de transfert le plus élevé de phénols à l'huile (1,5%), suivi d'une pression traditionnelle (1,2%) et d'une centrifugeuse à trois phases (0,5%).

Les polyphénols augmentent la résistance à l'oxydation de l'huile et agissent en tant que protecteurs de sa qualité (Gutierrez *et al.*, 2000). Ces composés phénoliques stabilisent les radicaux libres et par la suite, ils bloquent la propagation de la chaîne radicalaire durant l'oxydation lipidique (Ranalli *et al.*, 2003).

Concernant les flavonoïdes, les résultats sont illustrés par la figure 22

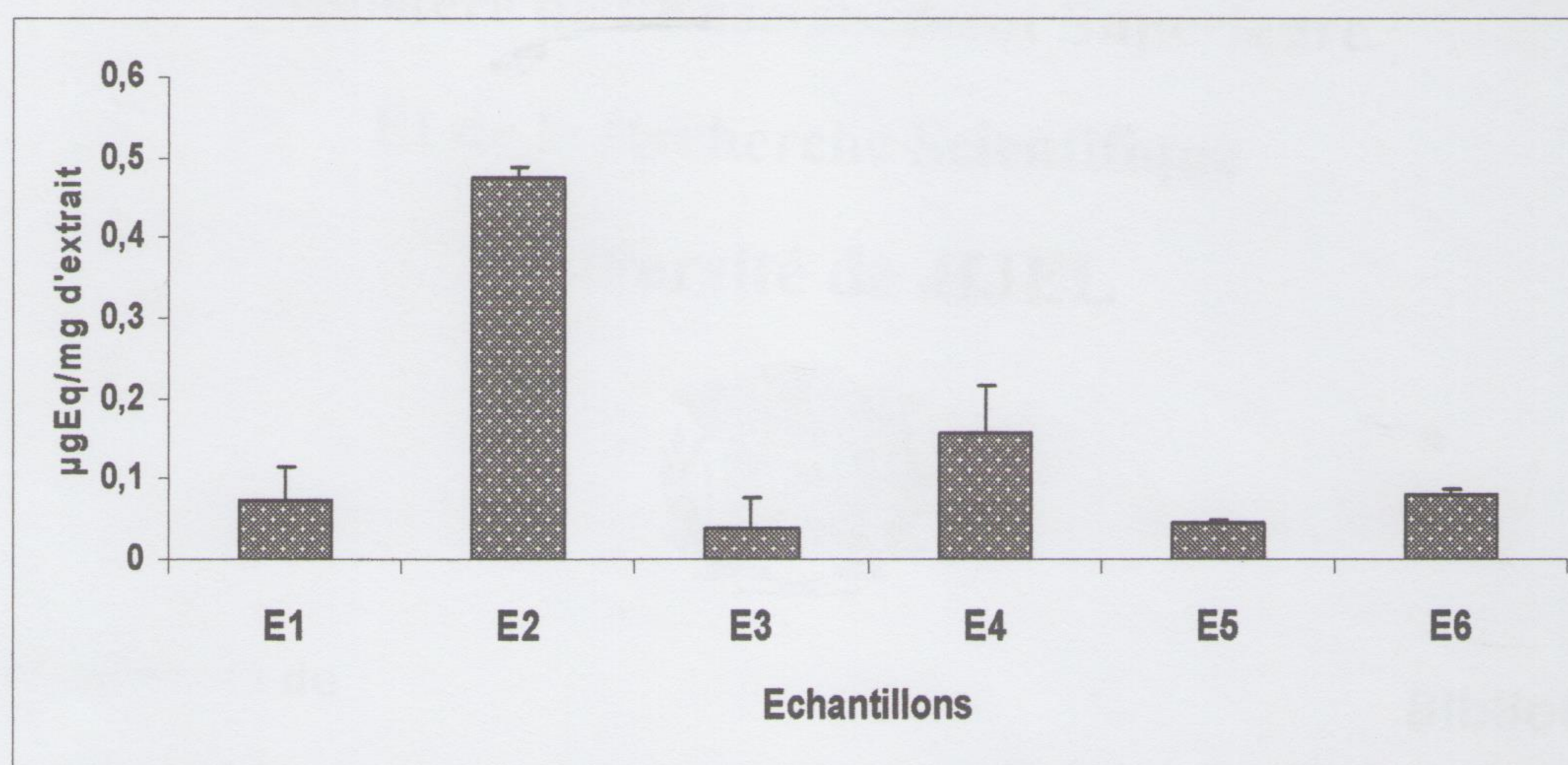


Figure 22: Teneur en flavonoïdes des six échantillons d'huile d'olive

A partir de la figure ci-dessus nous constatons qu'il y a une différence significative entre les résultats ( $P < 0.05$ ), nous avons remarqué aussi que l'huile extraite par pression : huile d'Ouled Si Ali possède la teneur la plus élevée en flavonoïdes, estimés à  $0,473 \pm 0,0014 \mu\text{gEQ/mg d'extrait}$ . Alors que les autres échantillons extraient par centrifugation contenant des teneurs en flavonoïdes relativement faibles comprises entre 0,039 et 0,044  $\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ . D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que la méthode d'extraction a un effet sur la teneur en flavonoïdes.

### III.2.16. Les tanins

Les tanins sont définis comme des polyphénols de masse moléculaire allant jusqu'à 20 000 Da. Ils ont la capacité d'inhiber les enzymes, des effets antiseptiques, certaines drogues à tanins présenteraient des effets antimicrobiens, antifongiques, et antiviraux (Hatano et al., 2005 ; Song et al., 2006). Les tanins présentent des propriétés anti-oxydantes par le piégeage des radicaux libres ou encore par l'inactivation des ions pro-oxydants (Lim et al., 2007).

La figure 23 présente les teneurs en tanins condensés pour les six échantillons de l'huile d'olive soumises à l'étude. D'après ces résultats, nous avons constaté que la différence est significative ( $P < 0.05$ ).

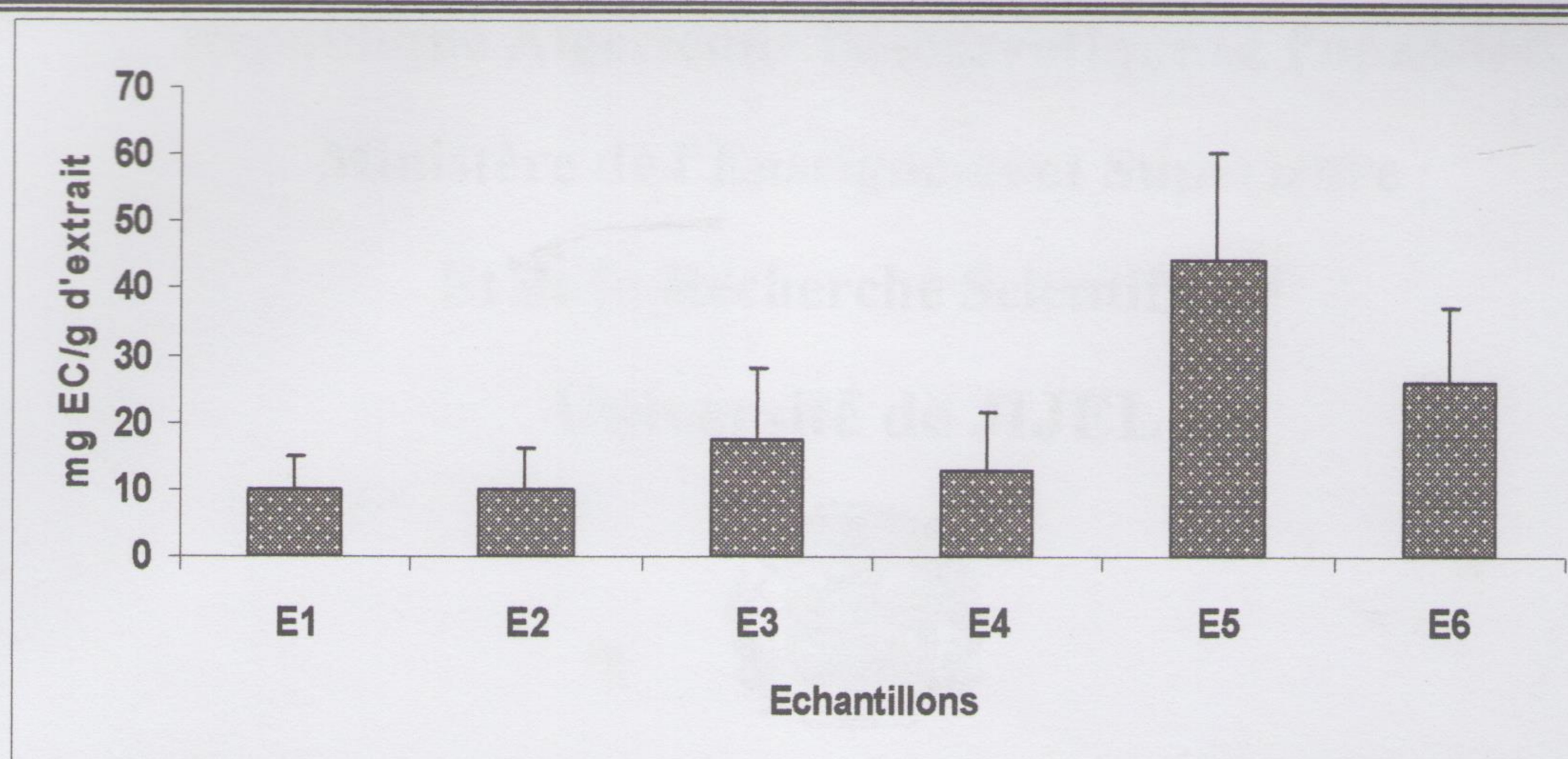


Figure 23 : Teneur en tanins des échantillons d'huile d'olive.

La teneur la plus élevée en tanins est enregistrée chez l'huile d'olive de la région d'Al Ancer (E5) qui est de  $44.37 \pm 16.05$  mg/g, en suite l'huile d'olive de la région d'Ouled Askeur (E6) ( $26.06 \pm 11.4$ ) mg/g, alors que les échantillons de l'Arayache (E1) a le taux le plus faible en tanins ( $9.86 \pm 5.23$ ).

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. Puisque la teneur en pro-anthocyanidines est plus élevée généralement dans le fruit frais que le fruit séché ou cuit.

### III.2.17.L'activité anti-oxydante

L'huile d'olive vierge, à l'encontre des autres huiles végétales, est consommée sans raffinage ; ce qui lui permet de garder toute sa composition naturelle, notamment en chlorophylles et en polyphénol. De ce fait, en présence de la lumière, l'huile d'olive vierge est la moins stable de toutes les huiles alimentaires malgré son faible degré de polyinsaturation (Ben tekaya et Hassouna, 2007).

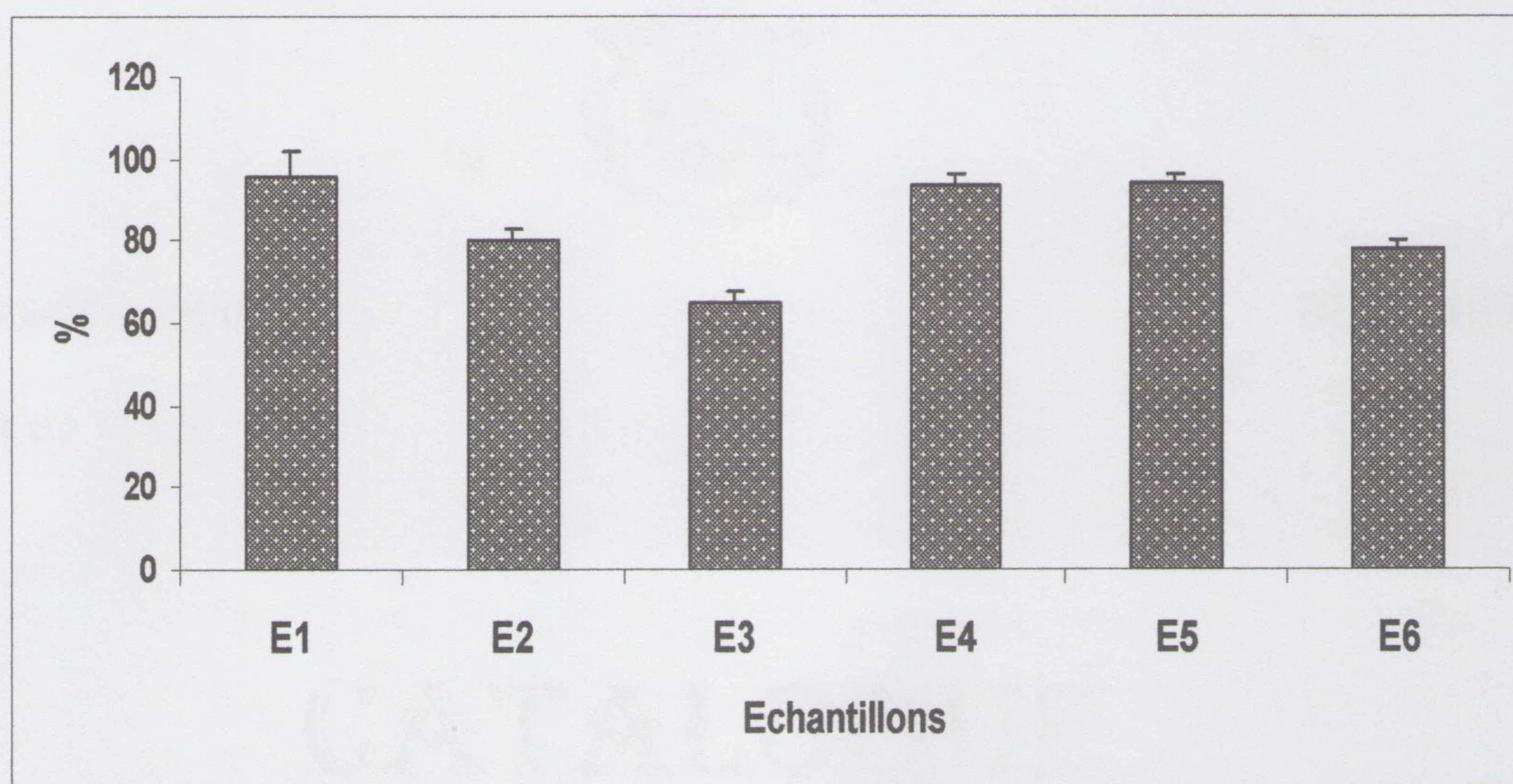
L'effet « scavenger » ou la capacité de piégeage des radicaux libres de l'huile d'olive est déterminé d'une part en utilisant la méthode au DPPH. Une méthode rapide, simple et peu coûteuse à la capacité de mesurer l'activité anti-oxydante des extraits en utilisant le radical libre stable DPPH. Le DPPH est largement utilisé pour tester la capacité des composés d'agir en tant qu'éboueurs des radicaux libres ou donneurs d'hydrogènes. La méthode de DPPH a été également ces dernières années utilisée pour mesurer les antioxydants dans les systèmes biologiques complexes. Quant il

réagit avec un composé antioxydant qui peut donner les protons hydrogènes, le DPPH est réduit (DPPH-H) et change donc de couleur, ce changement de couleur se traduit par une décroissance de



l'absorbance en fonction du temps à 517 nm, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Amič et al., 2003).

Les résultats de pourcentage de l'activité antioxydant des échantillons des l'huile d'olive sont présentés dans la figure 24.



**Figure 24:** Activité antioxydant des six échantillons de l'huile d'olive par DPPH.

La figure montre que la différence entre les échantillons est significative ( $P < 0.05$ ). Les valeurs les plus élevées de l'activité antioxydant ont été enregistrées avec les échantillons de l'Arayache (E1) ( $95,39 \pm 6,76\%$ ) et la valeur la plus faible est enregistrée chez l'échantillon de Texenna (E3) ( $64,8 \pm 3,08\%$ ). Les autres huiles d'olives possèdent des valeurs situées entre  $78,46 \pm 1,58\%$  (pour l'échantillon d'Ouled Askeur) et  $94,24 \pm 2,24\%$  (pour l'huile d'olive de la région d'Al Ancer).

D'autre part, en utilisant la méthode de PPM (PhosPhoMolybdate), ce test est une variante du test DPPH. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Le test est basé sur la réduction du molybdène. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre à un pH acide. On mesure la diminution de la coloration du complexe molybdène en présence d'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).

Les résultats de l'activité antioxydant estimées mEVC/mg de matière sont présentés dans la figure 25.

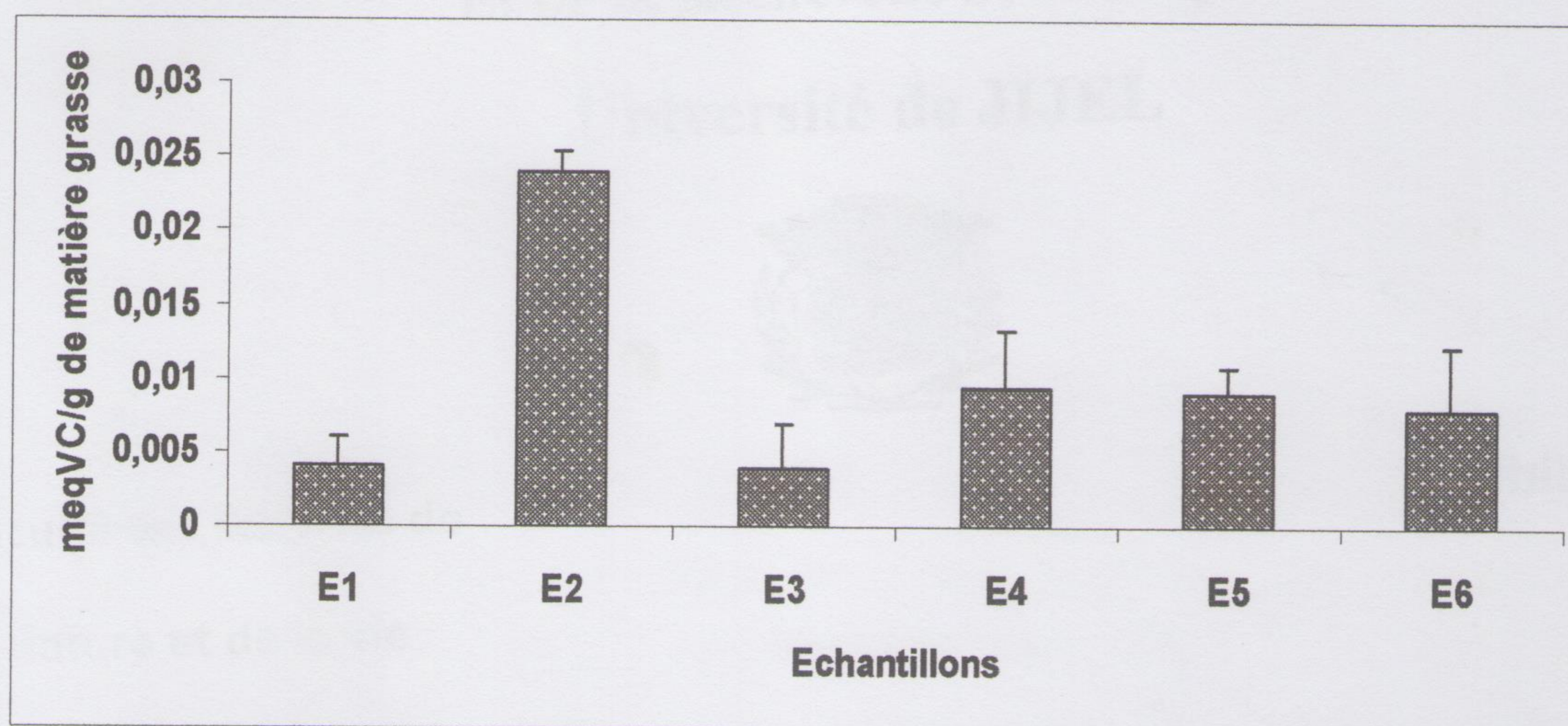


Figure 25: Activité antioxydant des échantillons d'huiles d'olive par PPM.

La figure montre clairement que la différence entre les échantillons est significative ( $P < 0.05$ ). Les valeurs les plus élevées de l'activité antioxydante ont été enregistrées avec les échantillons d'Ouled Si Ali (E2) ( $0,024 \pm 0,014$  mEVC/mg de matière) et la valeur la plus faible est enregistrée chez d'échantillon de Texenna (E3) ( $0,0039 \pm 0,003$  mEVC/mg de matière). Les autres huiles montrent des activités qui varient de  $0,004 \pm 0,002$  mEVC/g de matière à  $0,0094 \pm 0,004$  mEVC/g de matière. Cette variation en activité antioxydante indique qu'il y a une différence entre les six échantillons dans leur composition et teneur en  $\beta$ -carotène, d' $\alpha$ -tocophérol et en composés phénoliques.

Les principaux modes d'action des d'antioxydants d'huile d'olive est de réagir avec les radicaux libres pour former des radicaux moins réactifs incapables de réagir avec les biomolécules, ou pour réparer chimiquement une cible endommagée. Par conséquent, cette classe de composés est souvent nommée « piègeurs de radicaux libres ».

L'huile d'olive contient bien plus de substances protectrices à grand effet antioxydant que le thé vert et la vitamine C. les radicaux libres sont piégés d'une façon efficace par les polyphénols de l'huile d'olive ce qui explique leur grand pouvoir antioxydant (Benlemlih et Ghanam, 2012).

Bien que l'huile d'olive contienne une concentration relativement faible en tocophérol, elle est connue pour être très résistante à la dégradation oxydative. Ceci est dû, au moins en partie, à la teneur relativement faible en acides gras polyinsaturés, mais surtout, à la forte teneur en composés

phénoliques, en particulier, de l'hydroxytyrosol et de l'oleuropéine (Aruoma et al., 1998). En estimant l'activité antioxydante de ces composés polyphénoliques sur la base de leur capacité à inhiber la formation des peroxydes, il a été démontré que l'acide caféique, l'hydroxytyrosol et l'acide protocatéchique ont une plus grande activité (Speroni et al., 1998).

### III.3. Contrôle microbiologique

L'huile d'olive vierge est une matière grasse anhydre dont la composition est à la base des acides gras, difficilement fermentescibles elle est pratiquement peu altérée par les microorganismes (Joffin et joffin, 2003).

Les principaux micro-organismes recensés dans l'huile d'olive sont des bactéries tel que les *Xanthomonas*, des levures, principalement *Torulopsis* et *Candida* et à moindre mesure des champignons, principalement les *Penicillium* (Tanilgan et al., 2007).

De ce fait, il n'existe pas une réglementation indiquant le nombre maximal tolérable, cependant, les organismes nationaux de normalisation telle qu'AFNOR exigent l'absence des germes pathogènes ainsi que leurs toxines (Joffin et joffin, 2003).

Les résultats de l'analyse microbiologique de nos six échantillons sont rassemblés dans le tableau 11.

**Tableau 11 : Qualité microbiologique des six échantillons de l'huile d'olive**

Echantillon	FTAM	Levures	moisissures	Bactéries lactiques
E1 (UFC/ml)	118,10 <sup>4</sup>	4,10 <sup>4</sup>	0	178,10 <sup>3</sup>
E2 (UFC/ml)	2,10 <sup>4</sup>	0	0	175,10 <sup>3</sup>
E3 (UFC/ml)	42,10 <sup>4</sup>	0	0	0
E4 (UFC/ml)	79,10 <sup>4</sup>	0	0	98,10 <sup>3</sup>
E5 (UFC/ml)	39,10 <sup>4</sup>	31,10 <sup>4</sup>	0	0
E6 (UFC/ml)	4,10 <sup>4</sup>	1,10 <sup>4</sup>	0	140,10 <sup>3</sup>

Il ressort du tableau que la charge de la flore totale aérobie mésophile des échantillons d'huile d'olive est comprise entre 2,10<sup>4</sup> et 118,10<sup>4</sup> UFC/ml où nous avons remarqué que cette dernière était plus prononcée pour l'échantillon d'El Arayache, estimé de 118,10<sup>4</sup> UFC/ml, alors que le faible nombre étant obtenu avec l'échantillon d'Ouled Si Ali (E 2) estimé de 2,10<sup>4</sup> UFC/ml. Cela est peut être favorisé par le stockage prolongé des olives avant l'extraction d'huile et à l'exposition à des contaminants microbiens, ainsi qu'à la multiplication des microorganismes au niveau des opérations de trituration et de pressage des olives et au non respect des règles d'hygiène au cours de la fabrication d'huile.

Une étude faite par Sousa et ses collaborateurs (2000), a montré que la diminution de nombre des flores totales aérobie mésophyles est due de la teneur en composés phénoliques qui possèdent une action antimicrobienne.

D'autres part, nous avons remarqué qu'il y a une absence totale des moisissures dans tous les échantillons analysés. Par ailleurs, nos résultats montrent que certains échantillons sont chargés en bactéries lactiques, dont le nombre maximal est enregistré pour l'échantillon d'El Arayache (E1) ( $178,10^4$  UFC/ml), suivi d'Ouled Si Ali(E2) ( $175,10^4$  UFC/ml). En revanche, les huiles de Texanna (E3), El Ancer (E5) sont dépourvus des bactéries lactiques.

Concernant les levures, les résultats révèlent que certains échantillons sont dépourvus de levures y compris l'échantillon d'Ouled Si Ali (E2), de Texanna (E3) ainsi qu'El Emir (E4), par ailleurs l'échantillon d'El Ancer présente un nombre estimé à  $31,10^4$  UFC/ml suivi par les échantillons d'El Arayache et Ouled Askeur avec des valeurs estimées à  $4,10^4$  et  $1,10^4$  UFC/ml respectivement. Les levures pourraient modifier les propriétés physicochimiques et sensorielles des huiles d'olives vierges via la production d'enzymes particulières. En effet, certaines souches de levures produisent l'enzyme glucosidase qui hydrolyse l'oleuropeine, responsable de l'amertume (Ciafardini, 2004).

### III.4. Etude in vivo

#### III.4.1. Evolution du poids corporel

Les résultats relatif au gain du poids corporel des rats témoins et expérimentaux sont indiqué dans le tableau 12. Nous avons noté d'une part une augmentation significative du poids des rats athérogéniques par rapport aux rats témoins, d'autre part, nous avons remarqué une diminution significative du poids des lots des rats athérogénique recevant l'Atorvastatine ou l'huile d'olive.

**Tableau 12** : l'évolution du poids de différents lots des rats durant l'expérimentation

Lot	T	A	AS	AHO	HO	S
Au début	203,25±4,11	191,4±26,034	220,8±17,36	214±17,70	207±24,63	198,2±12,59
Après 7 semaines	221,25±8,22	223±20.33	254±23.51	244,4±23.20	214,4±28.39	208,4±18.29
Après traitement	229,75±9.81	227,4±22.35	248,2±23.70	240,2±21.52	228±30.56	204,8±15.86

A: Athérogénique; AS: Athérogénique Statine; AHO: Athérogénique Huile d'Olive; HO: Huiled'Olive S: Statine; T: Témoin.

### III.4.2. Cholestérol total, lipoprotéines et triglycérides sériques

L'effet curatif de l'huile d'olive est évalué en étudiant d'une part le taux des lipides plasmiqes. Les résultats du dosage du cholestérol total, de triglycéride, de LDL et HDL sont présentés dans le tableau 12. Des différences significatives ont été notées pour les taux de cholestérol total, de triglycéride, de HDL et de LDL chez les différents lots expérimentaux.

**Tableau 13** : Teneurs de cholestérol total, de triglycéride, de HDL et de LDL chez les différents lots expérimentaux.

	Cholestérol (mMol/L)	TG (mMol/L)	HDL (mMol/L)	LDL (mMol/L)
Témoin	2,47 ± 0,12	1,55 ± 0,96	0,75 ± 0,012	1,58 ± 0,25
Statine	2,42 ± 0,09	1,20 ± 0,41	0,49 ± 0,02	1,69 ± 0,3
Atherogénique Huile d'Olive	2,18 ± 0,22	1,23 ± 0,67	0,56 ± 0,027	1,37 ± 0,18
Atherogénique	2,81 ± 0,26	2,88 ± 0,54	0,40 ± 0,019	2,1 ± 0,96
Athérogénique Statine	1,70 ± 0,10	0,91 ± 0,12	0,60 ± 0,048	0,918 ± 0,085
Huile d'Olive	2,33 ± 0,15	0,66 ± 0,09	0,74 ± 0,039	1,46 ± 0,2

Chez les rats à régime athérogénique (riche en cholestérol), nous avons remarqué une augmentation significative du taux de cholestérol total, de LDL et de triglycérides et une diminution significative du taux du HDL par rapport aux rats témoins. Chez les rats consommant l'huile d'olive d'Ouled Si Ali, le taux du Cholestérol, des triglycérides et de LDL diminue significativement comparativement à ceux obtenus avec les rats athérogéniques. Nous avons aussi constaté une augmentation significative de HDL chez les rats consommant l'huile d'olive par rapport au rats athérogéniques.

Le taux de cholestérol plasmiqes est connu être significativement influencé par le régime alimentaire. De nombreuses études ont signalé que la consommation de l'huile d'olive améliore les profils lipidique et lipoprotéique au niveau plasmiqes, la pression artérielle ainsi que la prévention des maladies cardiovasculaires (Ferrara, 2000).

Par conséquent, un taux élevé de cholestérol alimentaire est lié à l'augmentation des taux de cholestérol total et hépatique, en particulier le taux des LDL au niveau du sérum, qui est considéré comme un facteur de risque principal des maladies cardiovasculaires (MCV). Le modèle de rat d'hypercholestérolémie est représenté pour la recherche des maladies cardio-vasculaires et cérébro-vasculaires, qui peuvent être établies par la supplémentation de l'alimentation de 0,5% -1,0% de

cholestérol alimentaire pendant plusieurs semaines. Ce taux de cholestérol alimentaire peut augmenter le sérum en LDL de façon spectaculaire chez les rats (Wang et al., 2010).

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet de l'huile d'oléastre d'Ouled Si Ali, comparé à celui de statine (Atorvastatine), sur les paramètres lipidiques sériques : le cholestérol total, les triglycérides, les LDL et les HDL; chez des rats normaux et des rats adaptés au régime athérogénique. Nous avons constaté une différence significative entre les lots athérogéniques traités par l'Atorvastatine et par l'huile d'olive d'Ouled Si Ali. Les statines, principale classe des hypolipémiants, sont des inhibiteurs de la HMG-CoA réductase, enzyme clé de la synthèse du cholestérol régulant la conversion de la HMG-CoA en acide mévalonique. L'inhibition compétitive de la HMG-CoA réductase provoque une diminution de la concentration du cholestérol libre intracellulaire. Le mécanisme de l'activation des gènes impliqués lors d'un traitement par les statines et l'effet principal est une augmentation de la transcription du gène du LDL récepteur. L'augmentation du nombre de récepteurs de LDL génère une captation plus importante des LDL plasmatiques, donc une diminution de leur concentration (Al-Shaer et al., 2004).

L'analyse des résultats a révélé une diminution du taux des LDL chez les rats consommant les régimes à base de l'huile d'olive, cette diminution est jugée significative entre les rats des lots sans cholestérol. Certaines études rapportent qu'un apport alimentaire riche en acide oléique (C18 :1) peut soit augmenter le nombre des récepteurs des LDL mais non pas leur affinité (Rumsey et al., 1995); soit diminuer la production des LDL et augmenter l'activité de leur récepteurs (Daumerie et al., 1992).

Il est connu que l'augmentation de la consommation d'AGMI au lieu d'AGPI réduit le risque de l'athérosclérose, car elle rend la lipoprotéine circulante moins sensible aux peroxydations (Moreno et Mitjavilab, 2003). En outre, l'inclusion dans l'alimentation de l'acide oléique diminue les taux plasmatiques des LDL et augmente les HDL (Owen et al., 2000).

Les travaux de Gorinstein et ses collaborateurs (2002, 2003) ont montré que l'huile d'olive influence positivement le métabolisme lipidique au niveau du plasma juste chez les rats recevant du cholestérol. Les résultats indiquent que ce sont les composés antioxydants qui sont en cause et non pas les AGMI. Cependant cette amélioration du métabolisme lipidique est observée seulement chez les rats à régime riche en cholestérol.

Dans leur étude, Krzeminski et ses collaborateurs (2003) ont montré que l'huile d'olive influence positivement le métabolisme lipidique. Son effet hypocholestérolémiant est du à l'augmentation du flux de la bile, l'augmentation du cholestérol biliaire et du taux des acides biliaires, et l'augmentation subséquente dans l'excrétion fécale de ces composés.

Nos résultats concordent avec ceux de Belarbi et ses collaborateurs (2011) qui affirment que la consommation de l'huile d'oléastre à raison de 23g/j chez 20 personnes volontaires pendant un mois, diminue significativement le cholestérol, les triglycérides et le LDL et augmentent le taux du HDL. Il a été suggéré que l'influence positive du régime méditerranéen est due à sa faible teneur en AGS et à sa richesse en AGMI (Spiller, 1991). Krzeminski et ses collaborateurs (2003) ont affirmé qu'il existe une corrélation directe entre la teneur en composés antioxydantes (polyphénols) de l'huile d'olive et son effet hypocholestérolémiant. L'hydroxytyrosol est connu pour la protection anti-péroxyde qu'il confère à l'huile d'olive. Il agit comme piègeur de radicaux libres et préserve les LDL de l'oxydation *in vitro* (Rietjens et al., 2007).

La comparaison de l'impact des AGPI et des AGMI sur la modulation des lipides du plasma a fait le siège de beaucoup d'études (Mensink, 2003). Un régime riche en AGMI favorise l'augmentation des HDL (Hausenloy et Yellon, 2008).

### III.4.3. Evolution du MDA et GSH

Le stress oxydatif produit après un régime athérogénique est aussi évalué. Nous avons mesuré les taux du MDA et de GSH cytosoliques. L'huile d'olive d'Ouled Si Ali semble apporter une protection contre les radicaux libres formés. L'effet de l'huile d'olive d'Ouled Si Ali sur les taux de MDA cytosolique après un régime athérogénique est illustré dans la figure 24, où nous avons remarqué que l'huile d'olive d'Ouled Si Ali empêche la liaison des radicaux libres avec les lipides membranaires des cellules, ce qui traduit par une diminution significative des taux de MDA tissulaire.

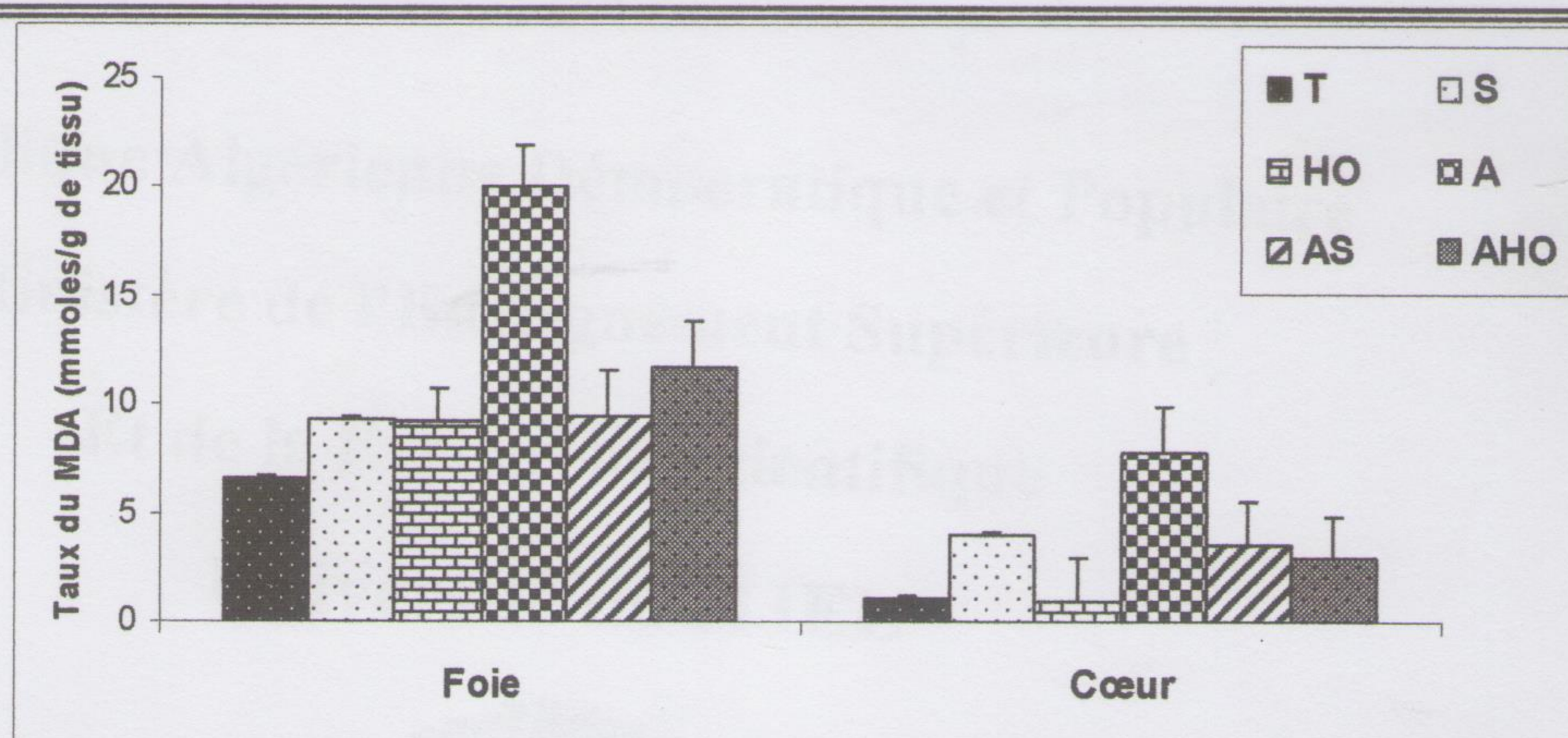


Figure 26: Evolution de taux de MDA dans le foie et le cœur

Nos résultats montrent une augmentation significative du taux de MDA chez les rats recevant un régime atherogénique pendant 50 jours par rapport aux rats témoins. Ces valeurs respectives : 20,05 et 7,77 mmoles/g de tissu et 6,61 et 1,032 mmoles/g de tissu dans le foie et le cœur. Nous avons aussi observé une diminution significative du taux de MDA chez les rats athérogénique recevant l'huile d'olive d'Ouled Si Ali. Concernant les lots traités par l'Atorvastatine, nous avons constaté une augmentation significative du taux de MDA dans le cœur par rapport aux lots recevant l'huile d'olive d'Ouled Si Ali.

Les dégâts cellulaires provoqués sur les macromolécules biologiques après un régime athérogénique ont été quantifiés à travers la mesure des lipides oxydés. Il existe de nombreux marqueurs de la peroxydation lipidique dont le dialdéhyde malonique (MDA) qui est sans doute le représentant de la peroxydation lipidique le plus connu et le plus utilisé. Ce dernier perturbe la fluidité membranaire, rend la membrane plus perméable, modifiant ainsi les hémostasies chimiques et redox cellulaires. Il résulte de la dégradation des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (Guichardant et al., 2006). La quantification du taux de ce dernier est généralement acceptée comme indicateur du stress oxydatif résultant d'une surproduction de ROS et d'une diminution des défenses antioxydantes.

Parmi les aldéhydes les plus réactifs présents dans les plaques d'athérosclérose, nous retrouvons, le malonaldéhyde (MDA). Cet aldéhyde a des propriétés cytotoxiques qui interviennent dans la toxicité des LDL (Zarkovic et al., 1993). Le MDA réagit avec les résidus lysine par la formation de bases de Schiff, et il joue un rôle majeur dans la modification des LDL et leur déviation métabolique vers les macrophages (Steinberg, 1997).



Parallèlement, le taux de GSH est resté autour de sa valeur initiale chez les groupes traités par l'huile d'olive par rapport aux témoins dans le foie comme dans le cœur, par contre nous avons observé une diminution du taux de GSH chez les rats athérogéniques figure 27.

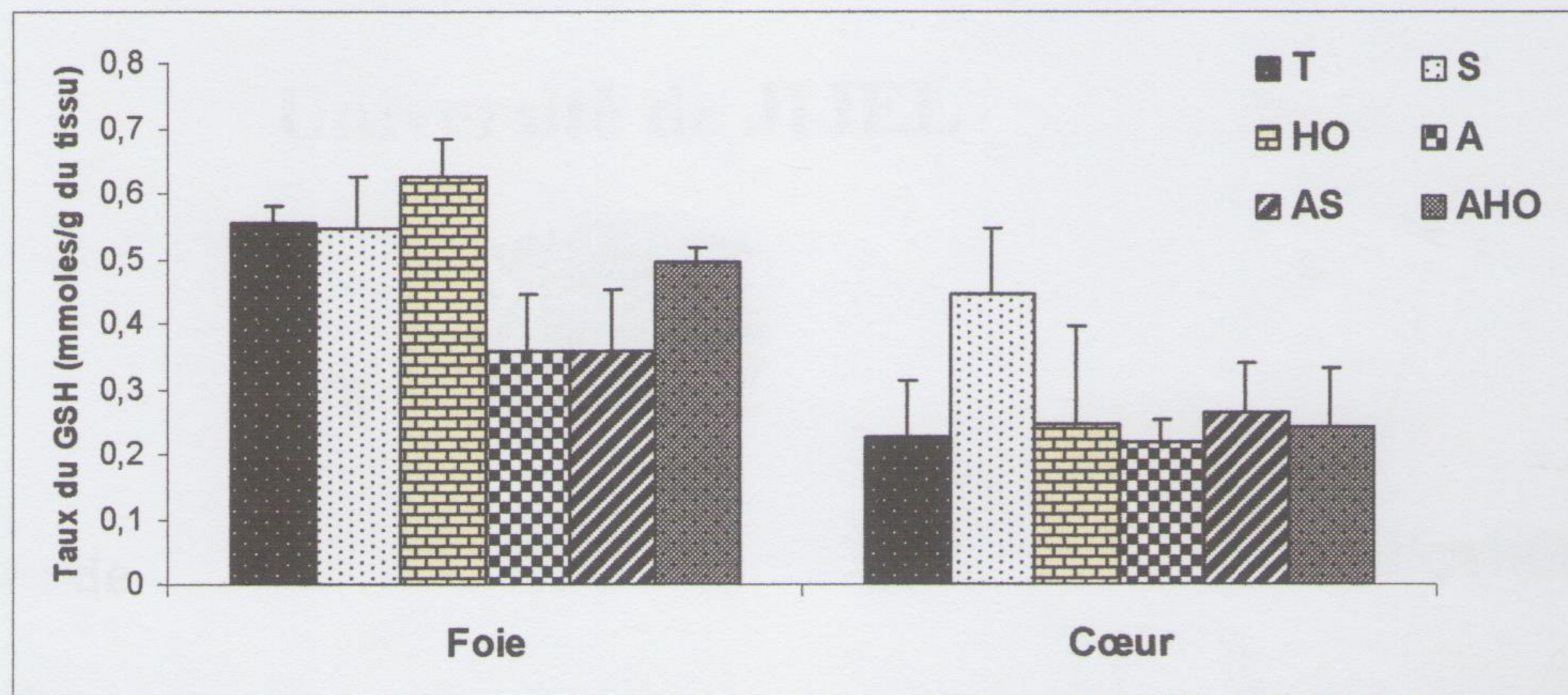


Figure 27: Evolution du taux de GSH dans le foie et le cœur

La concentration intracellulaire en GSH est considérée par certains auteurs comme un véritable marqueur de l'état de santé d'un individu; il est le système biologique antioxydant le plus important contre les ROS. Ce peptide est l'un des systèmes les plus puissants intervenant dans la détoxification des ROS, en réduisant à la fois le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidique (Boutolleau et al., 1997). Le glutathion (L-glutamyl-L-cystéinyglycine), thiol libre de bas poids moléculaire le plus abondant dans les cellules eucaryotes, est un tripeptide synthétisé par toutes les cellules de l'organisme ; le foie reste la source principale (Halliwell et Gutteridge, 2007). Le glutathion existe sous deux formes chimiques, la forme oxydée (GSSG) et la forme réduite (GSH) qui représente 98 à 99% du glutathion total. La fonction sulfhydryle (-SH) est à l'origine de la grande réactivité et du pouvoir puissant réducteur de ce mercaptan. La cellule dispose pour sa protection au GSH porteur d'une fonction thiol qui constitue un système antioxydant de la première défense en se liant par sa fonction SH aux métabolites toxiques. Il joue son rôle antioxydant également en synergie avec les enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, la catalase et la superoxyde dismutase (Morin et al., 2001).

L'effet protecteur de l'huile d'olive est dû à sa richesse en acides gras. Wang et ses collaborateurs (2009) ont montré que l'acide linoléique induit l'expression de l'ARE (*antioxidant response element*) par l'activation du facteur Nrf2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor 2*).

### III.4.4. Indice de risque des maladies cardiovasculaires

L'indice de risque des maladies cardiovasculaires (Icvd) est représenté dans le tableau 13.

**Tableau 14 : Indice de risque des maladies cardiovasculaires (Icvd)**

	<b>Cholestérol /HDL</b>
<b>Témoin</b>	3.29
<b>Statine</b>	4.93
<b>Athérogénique- huile d'olive</b>	3.89
<b>Athérogénique</b>	7.025
<b>Athérogénique- statine</b>	2.83
<b>Huile d'olive</b>	3.14

Nos résultats montrent une augmentation de cet indice chez les rats athérogénique par rapport aux rats témoins, nous avons aussi remarqué que l'huile d'olive et l'Atorvastatine ont diminué l'indice. Les résultats de l'indice de risque des maladies cardiovasculaires (Icvd) coïncident avec ceux de Rawashdeh (2002), qui a remarqué aussi dans ses études une diminution du rapport cholestérol/HDL chez des rats nourris de l'huile d'olive par rapport aux animaux témoins. Il a indiqué que cette diminution est due à une augmentation du taux des HDL avec une diminution du taux de cholestérol.

Il a été rapporté que le plasma sanguin contient un taux important des carotènes qui entre dans l'absorption des graisses, et par conséquence induit une réduction des risques des maladies coronariennes (athérosclérose) et cardiaques (Gey et al., 1993 ; Kohlmeier et al., 1997).

Lorsque les régimes riches en AGPI et AGMI ont été comparés pour remplacer les AGS, chez des sujets sains, ceux qui ont consommé le régime riche en AGMI démontrent une préservation du HDL d'une grande mesure par rapport à ceux qui ont consommé le régime riche en AGPI tout en gardant un ratio comparable du cholestérol/HDL entre les deux régimes. Ce rapport (cholestérol/HDL) est considéré comme un indice d'athérogénicité, il représente également un excellent facteur prédictif de risque cardiovasculaire. En effet, l'élévation ce rapport (cholestérol/HDL > 5) aggrave ce risque (Thissen, 1999). Ainsi, toute élévation des TG de 1 mmole/L augmente le risque cardiovasculaire de 10% chez l'homme et 30% chez la femme. L'hypertriglyceridémie favorise la diminution de HDL et augmentation de taux d'LDL (Bernard, 2001).

Pour les personnes qui ne présentent pas un risque cardiovasculaire, cela est dû en raison du (Benlian, 1998) :

- Rôle protecteur des HDL (la propriété de protéger les LDL de l'oxydation) ;
- L'intervention des HDL dans le transport inverse du cholestérol ;
- Le rôle alimentaire : il y a plus de consommation de l'huile d'olive qui a un rôle protecteur en diminuant les LDL.