

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel -

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Microbiologie Appliquée et
Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

Mémoire de Fin de Cycle

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

Option : Contrôle de Qualité et Agro-alimentaire

Thème

**Etude des propriétés physico-chimiques et de la stabilité
oxydative d'une huile d'olive additionnée de quelques extraits
naturels.**

Membres du Jury :

Président : M^r KHENNOUF T.

Examinatrice : M^{me} BOUCHEFRA A.

Promotrice : D^r BEKKA-HADJI F.

Présenté par :

M^{elle} BENBEKHMA Fatma

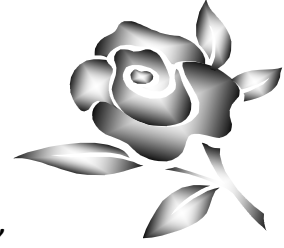
M^{elle} GUESSOUM Meriem

Année Universitaire 2018 – 2019

Numéro d'ordre :



Dédicaces



Aux êtres les plus chers : Mes parents,

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours à l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son Enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A ma mère,

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers parents que je le dois, que Dieu vous garde.

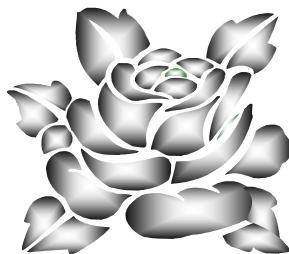
A mes chers frères : Amine et Abderraouf.

A mes chères sœurs : Hayet, Roumaïssa et Nesrine.

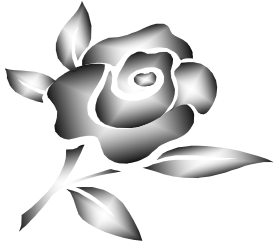
*À mon binôme « **Meriem** » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.*

*À mes chères amis (es) et particulièrement : **Asma, Imane, Hajira et Meriem***

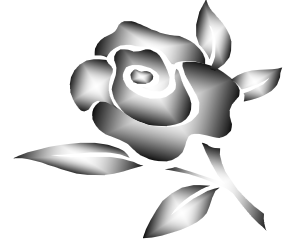
A tous mes amis qui me connaît de près ou de loin.



Fatma



Dédicaces



*Je dédie ce modeste travail à **mes chers parents** pour me soutenir tout au long de ma carrière et je demande au Dieu de les guérir, de les ravir et de prolonger leur vie.*

*À mes frères : **Houssam, Masbah et Sliman.***

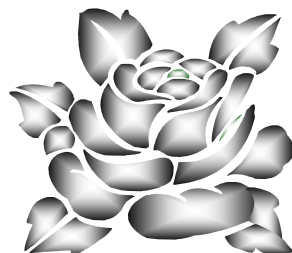
*À mes sœurs : **Amel, Akila et ses filles Anfalle, Rima et Marya.***

*À mon binôme « **Fatima** » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.*

*À mes chères amis (es) et particulièrement: **Yosra, Hajira, Asma, Sief El-Eslam, Bilal et Mohammed.***

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

A vous tous merci.



Meriem



Remerciements



Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant, qui nous a donné la volonté et la patience pour réaliser ce modeste travail.

*Nos plus vifs remerciements s'adressent à notre encadreur **Dr BEKKA-HADJI Fahima** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils, sa patience, sa disponibilité et sa gentillesse. Ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.*

*Nos sincères remerciements vont également à **Mr KHENNOUF Tarek** d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous remercions également **Mme BOUCHEFRA Amina** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous voulions aussi remercier vivement **Dr DAIRI Soufiane** pour les conseils et les orientations qu'il nous a prodigué.*

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

Tous nous gratitude vont aussi à nos parents, nos frères et sœurs pour le soutiens toute au long de nos études et durant ce mémoire.

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous.

Table des matières

Dédicaces.....	i
Remerciements	iii
Liste des abréviations.....	vi
Liste des figures.....	vii
Liste des tableaux.....	viii

Introduction.....	01
-------------------	----

Etude bibliographique

I. Olivier et huile d'olive	03
I.1. Généralité sur l'olivier et les olives	03
I.2. Production d'huile d'olive	04
I.2.1. Huile d'olive dans le monde.....	04
I.2.2. Huile d'olive en Algérie	04
I.2.3. Huile d'olive à Jijel	04
I.3. Techniques de transformation de l'olive à l'huile	05
I.3.1. Récolte, transport, effeuillage et lavage des olives	05
I.3.2. Broyage et malaxage des olives	05
I.3.3. Séparation des phases.....	05
I.3.4. Procédés d'extraction d'huile d'olive	06
I.4. Classification de l'huile d'olive	07
I.5. Composition d'huile d'olive	09
I.5.1. Fractions saponifiables	09
I.5.2. Fraction insaponifiables	10
I.6. Conditionnement.....	12
I.7. Tolérance de remplissage des récipients	12
II. Oxydation des lipides.....	13
II.1. Définition.....	13
II.2. Mécanismes réactionnels d'oxydation.....	13
II.3. Oxydation de l'huile d'olive	15
II.4. Les méthodes de mesures de l'oxydation	15
III. Antioxydants	17
III.1. Type d'antioxydants	17
III.2. Catégories des Antioxydants	17
III.2.1. Antioxydants synthétiques.....	17
III.2.2. Antioxydants naturels	18
III.2.2.1. Tocophérol ou vitamine E.....	18
III.2.2.2. Huiles essentielles.....	19
a) Activité anti-oxydante des huiles essentielles.....	19
b) Activité anti-oxydante Huiles essentielles de quelques plantes aromatiques	20
III.2.2.3. Polyphénols.....	22
a) Activité anti-oxydante des polyphénols	23
b) Activité antioxydante des extraits Licheniques « <i>Everniaprunastris</i> »	23

Etude expérimentale

I. Matériel et Méthodes	25
I.1. Traitement et préparation des échantillons de l'huile d'olive et ajout des additifs.....	25
I.2. Analyses physico-chimique de l'huile d'olive.....	26
I.2.1. Analyses physique.....	26
I.2.1.1. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles.....	26
I.2.1.2. Détermination de la densité relative	26
I.2.2. Analyses chimiques.....	27
I.2.2.1. Détermination du pH	27
I.2.2.2. Détermination de l'acidité libre (A).....	27
I.2.2.3. Détermination de l'indice de peroxyde	28
I.2.2.4. Indice de saponification	29
I.2.2.5. Recherche du glycérol.....	30
I.2.3. Analyse spectrophotométrie dans l'ultra-violet	31
I.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols des huiles d'olive et des additifs	32
I.2.4.1. Extraction des polyphénols totaux de l'huile d'olive	32
I.2.4.2. Dosage des composés phénoliques.....	32
I.2.5. Détermination des pro-anthocyanidines.....	33
I.2.6. Analyse de la composition de l'huile d'olive en acides gras et des additifs en polyphénols par CPG-MS.....	34
I.2.6.1. Préparation des esters méthyliques pour l'huile d'olive.....	34
I.2.6.2. Détermination du profil composant des échantillons par CPG/SM.....	35
I.3. Evaluation de l'activité anti-oxydante et des additifs	35
I.3.1. Activité anti-oxydante totale	35
I.3.2. Pouvoir réducteur du fer des extraits de l'huile d'olive et des additifs	36
I.3.3. Activité anti-radicalaire.....	37
I.4. Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des huiles d'olive par le test de vieillissement	37
I.5. Etude statistique.....	38
II. Résultats et Discussion	39
II.1. Caractères physico-chimique de l'huile d'olive vierge	39
II.2. Caractères physico-chimiques des huiles d'olive vierges conservées avec des additifs naturels	40
II.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des échantillons d'huile d'olive vierge conservés avec de additifs naturels	52
II.4. Résultats de test de vieillissement	57
III. Etude statistique	59
Conclusion	63
Références bibliographiques	I
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

A: Acidité
A.F.N.O.R. : Association Française de la Normalisation
AG : Acide Gras
AGPI : Acide Gras Polyinsaturé
AOM : ActiveOxygène Méthode
BHA : Butylhydroxyanisole
BHT : Butylhydroxytoluène
CA : Codex Alimentarius
CAT : Capacité Antioxydante Totale
CPG : Chromatographie Phase Gazeuse
CG : Corps Gras
COI : Conseil Oléicole International
Desf : Desfontaines
DO : Densité Optique
DPPH: DiPhénylPicrylHydrazyl
E : Echantillon
FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power
H : Humidité
HE : Huile Essentielle
HOV : Huile d'Olive Vierge
IP: Indice de Peroxyde
IS : Indicede Saponification
K₂₃₂ : Coefficient d'extinction à 232 nm
K₂₇₀ : Coefficient d'extinction à 270 nm
LOOH : Hydroperoxyde
M : Masse molaire
mgEAA : milligramme équivalent d'acide ascorbique
mg EAG : milligramme équivalent d'acide gallique
méqO₂ : milliéquivalent d'Oxygène
MG : Matière Grasse
N : Normalité
nm : Nano-mètre
O¹₂ : Oxygène singulet
O³₂ : Oxygène à l'état fondamental (atmosphérique)
OH°: Radicale hydroxyle
pH : Potentiel Hydrogène
PG : Gallates de Propyle, octyle et de dodécyle
ppm : partie par million
R°: Radical alkyle
RO°: Radical alkoxyle
ROO°: Radical hydroperoxyde
ROOH: Radical hydroperoxyde
SM: Spectrophotomètre de Masse
TBHQ: Tertiobutylhydroquinone
UV: Ultra-Violet

Liste des figures

Fig.01 : Drupe.....	03
Fig.02 : Principaux processus d'extraction de l'huile d'olive.....	07
Fig.03 : Structures des acides gras majeurs de l'huile d'olive, (1) acide oléique, (2) acide linoléique	10
Fig.04 : Structure générale d'un tocophérol.....	11
Fig.05 : Mécanisme en chaine de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.....	14
Fig.06 : a, b et c représentent les structures chimiques de BHA, BHT et gallates respectivement.....	18
Fig.07 : Photo de <i>Thymus numidicus</i> Poiret, A : fleures, B : feuilles).....	21
Fig.08 : Photo d' <i>Origanum glandulosum</i> Desf.....	22
Fig.09 : Structure du noyau phénol.....	22
Fig.10 : Propriétés réductrices des polyphénols.....	23
Fig.11 : Photo d' <i>Evernia prunastri</i> et la forme de thalle.....	24
Fig.12 : Histogramme présentant la teneur en eau et en matières volatiles des échantillons étudiés....	40
Fig.13 : Histogramme présentant, le pourcentage d'acidité et le pH des échantillons étudiés.....	41
Fig.14 : Histogramme présentant l'indice de peroxyde des échantillons étudiés.....	43
Fig.15 : Mise en évidence de la présence du glycérol.....	45
Fig.16 : Histogramme présentant les extinctions spécifiques en UV des échantillons étudiés.....	46
Fig.17 : Histogramme présentant les rendements en polyphénols des extraits méthanoliques des échantillons étudiés.....	47
Fig.18 : Histogramme présentant les teneurs en polyphénols des extraits méthanoliques des échantillons étudiés.....	48
Fig.19 : Histogramme présentant les teneurs en polyphénols des extraits d' <i>Evernia prunastri</i>	49
Fig.20 : Histogramme présentant les teneurs en pro-anthocyanidines des extraits methanoliques des échantillons étudiés.....	50
Fig.21 : Chromatogramme présentant la composition en acides gras de l'huile d'olive vierge.....	51
Fig.22 : Histogramme présentant la capacité anti-oxydante totale des huiles d'olive vierges et les extraits méthanoliques des différents échantillons étudiés.....	52
Fig.23 : Histogramme présentant le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique des extraits méthanoliques des différents échantillons étudiés.....	54
Fig.24 : Histogramme présentant l'activité anti-radicalaire en % DPPH des extraits méthanoliques des différents échantillons étudiés.....	55
Fig.25 : Histogramme présentant l'activité anti-radicalaire mg EAA/kg des extraits méthanoliques des différents échantillons étudiés.....	55
Fig.26 : Comparaison entre les indices de peroxyde des huiles d'olive étudiées avant et après vieillissement.....	57
Fig.27 : Extinctions spécifiques en UV des différents échantillons étudiés après vieillissement.....	57

Liste des tableaux

Tableau I : Critères de qualité des différentes catégories d'huile d'olive selon les normes du codex Alimentarius	09
Tableau II : Quelques exemples d'utilisation réglementée des antioxydants de synthèse.....	18
Tableau III : Préparation des échantillons.....	25
Tableau IV : Les caractères physicochimique de l'huile d'olive vierge	39
Tableau V : Résultats de la recherche du glycérol	44
Tableau VI : Valeurs de ΔK des échantillons étudiées.	46
Tableau VII : Pourcentages de l'inhibition du DPPH par les additifs naturels.....	56



Introduction

L'oléiculture nationale algérienne représente environ 33 % de la production arboricole. Le climat favorable et les traditions oléicoles ancestrales constituent des avantages compétitifs pour le développement de la filière oléicole et pour contribuer à l'autosuffisance en huiles végétales. L'Algérie est le 11ème producteur mondial des huiles d'olives avec une production de 56.000 tonnes (**Hadj Sadok et al., 2018**). L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute la production de l'huile d'olive qui est utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques (**Boudhioua et al., 2008**).

Cependant, à l'instar d'autres huiles végétales, les huiles d'olive vierges subissent une oxydation pendant leur stockage, résultant de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation. L'auto-oxydation dépend de plusieurs facteurs qui sont, entre autres, le degré d'insaturation de l'huile, les acides gras libres, la présence de traces métalliques et d'eau, l'emballage utilisé, la température ambiante, l'oxygène de l'atmosphère et l'exposition à la lumière du jour pour les emballages transparents (**Ben Tekaya et Hassouna, 2005**).

Les deux gros problèmes que pose le stockage de l'huile sont : l'hydrolyse et le rancissement oxydatif. Ces altérations entraînent des modifications de l'odeur et la saveur propres de cette huile. Le premier de ces phénomènes est caractérisé par l'augmentation de la teneur de l'huile en acides libres, due à l'action des lipases, de l'humidité et de la chaleur. Le rancissement par oxydation résulte de l'action de l'oxygène atmosphérique sur les glycérides, ou acides gras, qui donnent finalement naissance à des produits de décomposition à odeur désagréable et typique de « rance ». Il faut donc emmagasiner les huiles dans des lieux les plus secs et propres possibles (**Ben Rhouma, 2008**).

Cependant, c'est la présence de composés phénoliques et d'autres antioxydants particuliers qui confèrent à l'huile d'olive une haute stabilité contre l'oxydation avec une couleur et une saveur unique la distinguant des autres huiles. Les principaux antioxydants de l'huile d'olive sont les tocophérols, les carotènes et les composés phénoliques, y compris, les phénols lipophiles et hydrophiles (**Marouane et al., 2014**).

Notre étude consiste à trouver un moyen pour retarder la vitesse de l'oxydation de l'huile d'olive et prolonger sa durabilité. Ceci peut être réalisé par l'incorporation dans l'huile d'olive des substances contenant des molécules naturelles douées d'activité antioxydante.

Pour se faire, un même échantillon d'huile d'olive vierge produite dans la région de Taher (Wilaya de Jijel) a été additionné par différents extraits naturels (acide gallique, huiles essentielles de deux plantes aromatiques d'*Origanum glandulosum* et *Thymus numidicus*, extraits chloroformique et d'acétate d'éthyle d'un Lichen *Evernia prunastri*).

Pour développer cet aspect nous avons subdivisé notre travail en deux parties :

- Une synthèse bibliographique incluant des généralités sur l'olivier et l'huile d'olive ainsi que l'oxydation des lipides et son mécanisme réactionnel. Enfin nous avons évoqué les différents types d'antioxydants et l'activité antioxydante.
- Une partie expérimentale présentant le matériel et les méthodes utilisés pour effectuer les différents paramètres physicochimiques qui sont le pH, l'acidité libre, l'indice de peroxyde, les coefficients d'extinctions spécifiques K232, K270, la teneur en composés phénoliques et la composition en acides gras.

Pour évaluer l'activité antioxydante nous avons préconisé la méthode de phosphomolybdène, réduction du Fer et DPPH et pour déterminer la stabilité oxydative des huiles d'olive étudiées au cours du temps, nous avons fait appel au test de vieillissement.

La dernière partie est consacrée aux résultats obtenus et aux différentes interprétations.



Partie bibliographique

I. Olivier et huile d'olive

I.1. Généralités sur 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.*, 2014). 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, 2016).

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen, de 6 à 8 m de hauteur, à tronc tortueux et à écorce grisâtre et crevassée (Benlemlih et Ghanam, 2016).

L'olive est une drupe de forme ovale constituée d'un péricarpe et d'un endocarpe (fig. 01). Elle pèse de 2 à 12 g, bien que certaines variétés puissent peser jusqu'à 20 g. Le péricarpe comprend deux parties : l'épicarpe (la peau) et le mésocarpe (la pulpe) qui représente environ 65-83 % du poids total. L'endocarpe (noyau) représente 13 % à 30 % du poids total. L'épicarpe est couvert de cire et passe du vert clair au noir quand le fruit mûrit.

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, 2016).

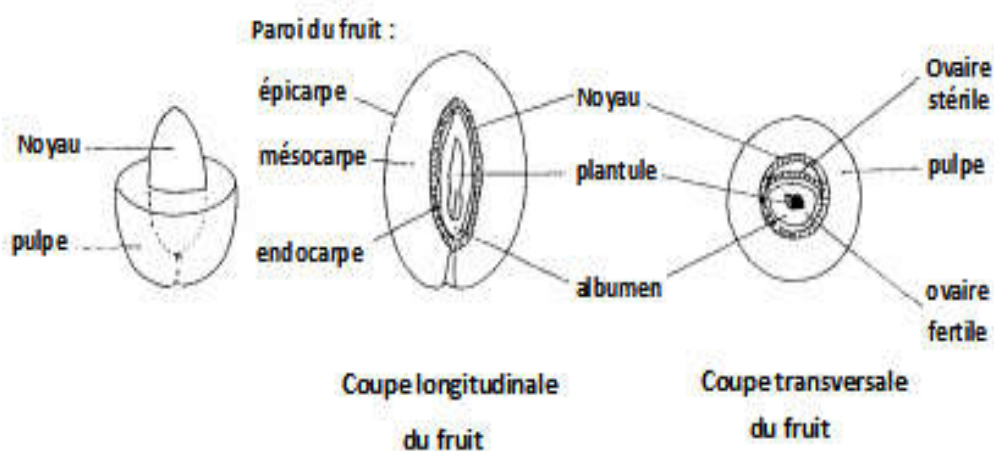


Fig. 01 : Drupe (Henry, 2003).

I.2. Production de l'huile d'olive

I.2.1. Huile d'olive dans le monde

La production de l'huile d'olive se concentre principalement dans les pays du pourtour méditerranéen. Elle représente 94% de la production mondiale (**Benyahia et Zein, 2003**). Selon les données présentées par les pays membres de l'accord international sur l'huile d'olive (l'Algérie, l'Égypte, le Maroc, la Tunisie, la Turquie, la Yougoslavie et la communauté économique européenne) en novembre 2017, la production mondiale atteindrait 2953500 tonnes (**COI, 2017**). Les principaux pays producteurs de l'huile d'olive dans le bassin méditerranéen sont : Espagne, Italie, Grèce, Turquie, Syrie, Maroc, Algérie. Comme toujours, la production européenne arrive en tête avec l'Espagne, l'Italie, la Grèce et le Portugal (**COI, 2017**).

I.2.2. Huile d'olive en Algérie

L'olivier est l'arbre fruitier le plus cultivé en Algérie, cette culture occupe une place très importante avec plus d'un tiers du verger arboricole algérien. Une diversité très importante caractérise cette espèce (**Boukharriet al., 2017**).

Le potentiel oléicole est concentré dans les régions montagneuses et se répartit principalement dans trois régions : le Centre Nord, principalement Tizi-ouzou, Bouira et Bejaia avec 54,3 % de la surface totale, l'Est (Jijel, Guelma, Skikda, et Mila) avec 28,3 % et l'Ouest qui occupe à peine 17% (Tlemcen, Sig et Mascara) (**Aggoun-Arhab, 2016**).

I.2.3. Huile d'olive à Jijel

La production d'huile d'olive a atteint plus de 24.000 hectolitres au titre de la campagne 2013-2014 dans la wilaya de Jijel où deux associations professionnelles agréées activent dans le domaine oléicole qui dispose d'une superficie de 14.300 hectares d'oliviers (**Hamid, 2015**).

La région compte 134 huileries (47 modernes et 87 traditionnelles) et un effectif de plus de 1.400 oléiculteurs, selon la Chambre locale de l'agriculture (**Zouad, 2015**).

Durant l'année 2013, la production atteint les 7 quintaux d'olives par jour, ce qui fait une production de 4,4 millions de litres à la fin de la campagne oléicole. Il est à signaler que la wilaya de Jijel dispose de 15 000 oliviers mais, malgré ça, les propriétaires des huileries achètent les olives d'El-Harrouch (Skikda) et de Berrahal (Annaba) (**Saou, 2013**).

I.3. Techniques de transformation de l'olive à l'huile

I.3.1. Récolte, transport, effeuillage et lavage des olives

La récolte des olives s'effectue dès qu'elles atteignent le degré de maturité approprié. Il est nécessaire d'acheminer les fruits vers les unités de trituration juste après la récolte (au maximum 3 jours entre la récolte et l'extraction) dans des caisses appropriées, permettant la circulation de l'air tout en évitant des réchauffements causés par l'activité catabolique des fruits (**Ouaouichi et Chimi, 2007**).

Lors de leur arrivée chez un moulinier, les olives sont pesées puis passe généralement dans un système de laveuse-effeuilleuse qui va les nettoyer et permettre d'en retirer les impuretés (terre, cailloux, feuilles ...) (**Aggoun-Arhab, 2016**).

I.3.2. Broyage et malaxage des olives

Le broyage (ou trituration) des olives a pour but de détruire les cellules des olives afin que celles-ci puissent libérer leur contenu. A ce stade du procédé, les olives sont réduites en une pâte plus ou moins homogène qui devra être malaxée (**Aggoun-Arhab, 2016**).

Outre le rôle d'homogénéisation de la pâte, le malaxage permet la coalescence des gouttes d'huile : les microgouttelettes d'huile qui viennent d'être libérées de leurs vacuoles cellulaires vont se regrouper afin de former des gouttes de plus grande taille qui seront plus faciles à extraire de la pâte (**Aggoun-Arhab, 2016**).

I.3.3. Séparation des phases

Il existe deux types de séparation :

- **Séparation des phases liquides-solides**

Le broyage et le malaxage aboutissent à la formation d'une pâte qui contient de la matière solide et des fluides. La matière solide appelée grignon est 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/eau de végétation fait appel à des systèmes de pression, de centrifugation et de percolation (**Caputo et al., 2013**).

- **Séparation des phases liquides-liquides**

La phase liquide est un mélange d'eau et d'huile qu'il faut séparer. Cela se fait soit par simple décantation gravitationnelle, soit par centrifugation. Dans les deux cas, la phase aqueuse

appelée margines et séparée de l'huile et constitue le second coproduit de la fabrication de l'huile d'olive (Aggoun-Arhab, 2016).

I.3.4. Procédés d'extraction d'huile d'olive

➤ Procédés en discontinu ou système à presse

Le système de presse correspond à la production traditionnelle de l'huile d'olive selon un procédé discontinu. En effet, dans un premier temps, les olives sont broyées : le poids de la pierre et sa rotation sur les olives vont détruire les olives et ainsi libérer le contenu cellulaire des drupes. Une pâte est obtenue au bout d'une demi-heure environ, composée de grignons et d'un moût contenant l'huile et les margines. Elle est transférée ensuite dans des scourtins (disques en fibre coco ou de nylon) placés dans la presse hydraulique qui va permettre la séparation des phases liquide ou solide. Alors que les grignons demeurent dans les scourtins, la phase liquide est collectée dans une cuve à décantation ou une centrifugeuse pour séparer la phase aqueuse (margines) et la phase organique (huiles) (Veillet, 2010).

➤ Procédés en continu ou système à centrifugation

Il existe deux procédés (fig. 02) :

• Système d'extraction par centrifugation à trois phases

Une fois la pâte d'olive est homogénéisée et la coalescence est effectuée. Elle est donc injectée par une pompe dans une centrifugeuse dont l'axe est horizontal appelée décanteur. Il permet la séparation de la pâte en trois phases : Les grignons; L'huile avec un peu d'eau; Les margines avec un peu d'huile.

Les deux phases liquides n'étant pas bien séparées, elles sont regroupées et envoyées dans une centrifugeuse verticale. A la sortie de la centrifugeuse, on retrouve d'un côté des grignons très humides et de l'autre une émulsion huile/eau. Le principal inconvénient de ce type de système est qu'il requiert un grand ajout d'eau pour fonctionner (Aggoun-Arhab, 2016).

• Système d'extraction par centrifugation à deux phases

Le procédé à deux phases correspond à une optimisation du système à trois phases. Le principe reste le même sauf que très peu d'eau (ou pas d'eau) est ajouté au système. Ce décanteur à deux phases permet l'obtention de rendements en huile légèrement plus élevés que ceux obtenus par le décanteur conventionnel à trois phases et le système de presse (Veillet, 2010).

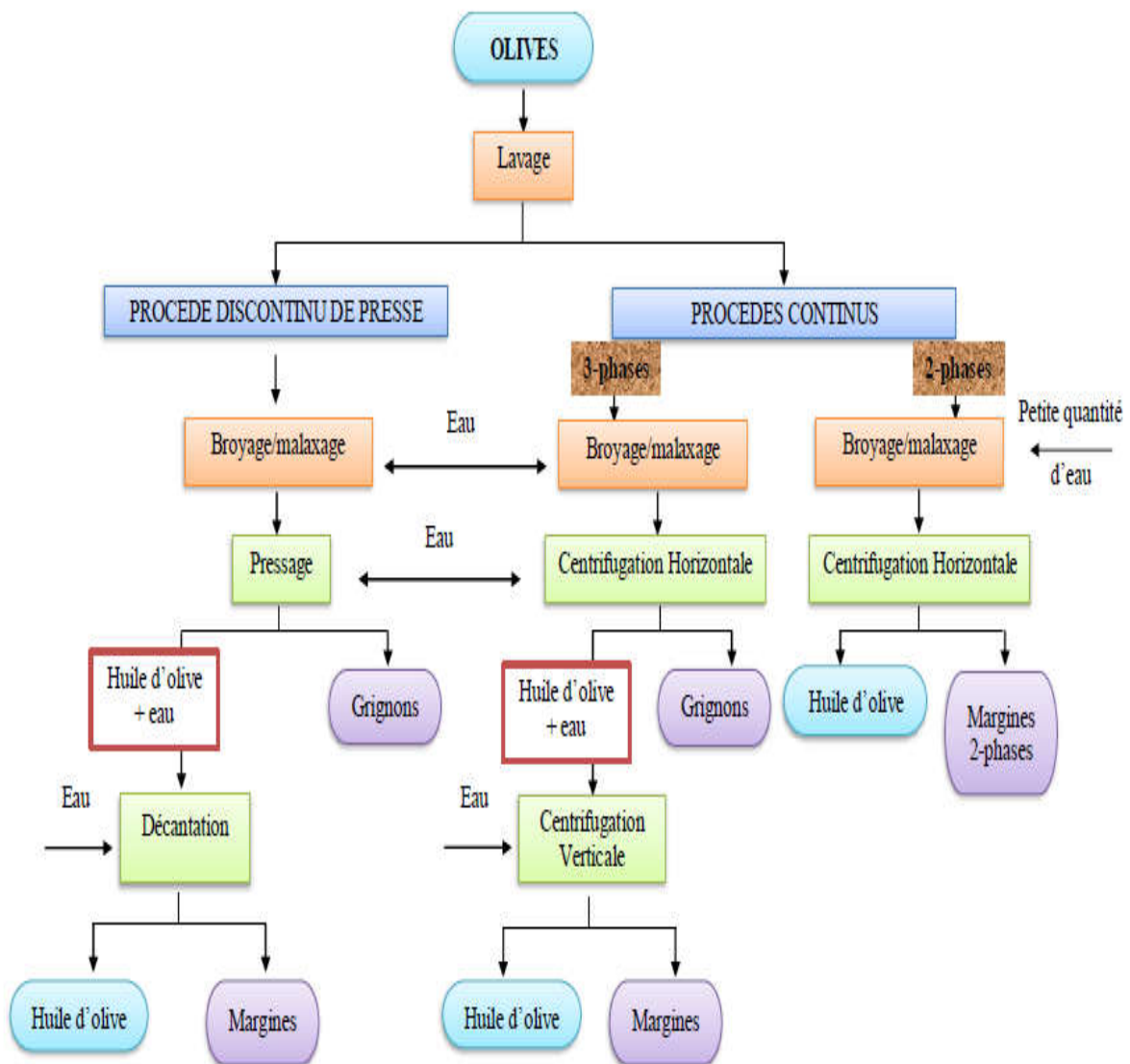


Fig. 02 :Principaux processus d'extraction de l'huile d'olive (Aggoun-Arhab, 2016).

I.4. Classification de l'huile d'olive

Selon le **Conseil Oléicole International (2015)**, l'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (Tableau I).

I.4.1. Huiles d'olive vierges

Sont les huiles obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (COI, 2015).

a) **Les huiles d'olives vierges propres à la consommation en l'état** comportent :

- **Huile d'olive vierge extra**

C'est une huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes (COI, 2015).

- **Huile d'olive vierge**

C'est une huile d'olive dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes (COI, 2015).

- **Huile d'olive vierge courante**

C'est une huile d'olive dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes (COI, 2015).

b) **L'huile d'olive vierge non propre à la consommation en l'état** dénommée huile d'olive vierge lampante est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieure à 3,3 grammes pour 100 (COI, 2015).

I.4.2. Huile d'olive raffinée

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 (COI, 2015).

I.4.3. Huile d'olive

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 (COI, 2015).

I.4.4. Huile de grignons d'olive

C'est une huile obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olives, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (COI, 2015). Elle est commercialisée selon les dénominations et définitions ci-après:

- **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 (COI, 2015).

- **Huile de grignons d'olive raffinée**

C'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 (COI, 2015).

- **Huile de grignons d'olive**

C'est l'huile constituée par le coupage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'huile d'olives vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes (COI, 2015).

Tableau I : Critères de qualité des différentes catégories d'huile d'olive selon les normes du codex Alimentarius : CODEX STAN 33-1981. Rev 1989, 2003, 2015.

Types De L'huile d'olive	Acidité %	indice de Peroxyde méquiv.O2/Kg max	Matières volatiles (% m/m) max	Impuretés insolubles (% m/m) max	Absorbance UV K270 (K1%1cm)	Fer (mg/kg)	cuivre (mg/kg)
Extra vierge	≤ 0.8	≤ 20	0.2 %	0.1%	≤ 0.25	5	0.4
Vierge	≤ 2	≤ 20	0.2 %	0.1%	≤ 0.25	5	0.4
Vierge Courante	≤ 3.3	≤ 20	0.2 %	0.1%	≤ 0.3	5	0.4
Raffinée	≤ 0.3	≤ 5	0.1%	0.05%	≤ 1.10	5	0.4
Huile de grignon d'olive	≤ 1.5	≤ 15	0.1%	0.05%	≤ 1.70	5	0.4

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

Les composés chimiques de l'huile d'olive peuvent être divisés en deux groupes:

-La fraction saponifiable, qui représente presque le poids total de l'huile (98 à 99% du poids total).

-La fraction non saponifiable, ce qui représente 0,5 à 2,0% du poids total

et elle est constituée de divers composants qui sont d'une grande importance en termes de valeur biologique, ainsi que certains constituants caractérisés par leurs activités anti-oxydantes (Samaniego-Sanchez et al., 2010).

I.5.1. Fractions saponifiables

Cette fraction représente 98 % de l'huile d'olive. Elle est constituée principalement de triacylglycérols et d'acides gras libres (Lazzez et al., 2006).

I.5.1.1. Triglycérides

Ce sont des esters d'acides gras et du glycérol. Les triglycérides constituent le principal (environ 98%) composant de l'huile d'olive (**Ollivieret *al.*, 2004**). Cinq sont majoritaires : OOO (trioléine ; 27.53-59.34%), POO (palmityl-dioléine ; 12.42-30.57%), LOO (linoléyl-dioléine ; 4.14-17.46%), POL (palmityl-2-oléo-3-linoléine ; 2.69-12.31%) et SOO (stéaryl-dioléine ; 3.17-8.39%) (**Garcia-Gonzalez *et al.*, 2008**).

(Avec : O=Acide oléique ; P = Acide palmitique ; L =Acide linoléique ; S = Acide stéarique).

I.5.1.2. Acides gras

L'huile d'olive 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 α -linoléique oméga-3, acides gras essentiels, indispensables pour l'organisme humain (fig. 03) (**Mezghache*et al.*, 2010**).

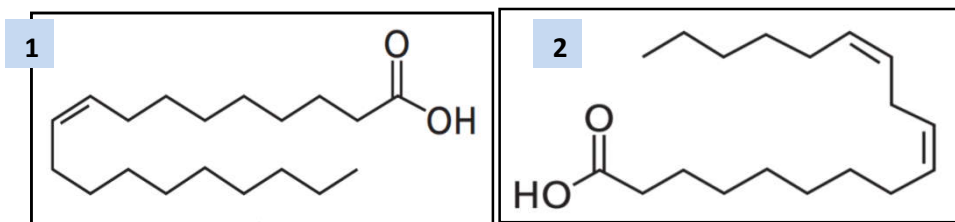


Fig.03 : Structures des acides gras majeurs de l'huile d'olive, (1) acide oléique, (2) acide linoléique (**Benlemlih et Ghanam, 2016**).

I.5.1.3. Fractions insaponifiables

Les composants mineurs, représentent environ 2 % du poids total de l'huile, notamment, plus de 230 composés chimiques, tels que les alcools aliphatiques et triterpéniques, les stérols, les hydrocarbures, les composés volatils et les polyphénols (**Servili et Montedoro, 2002**).

Les constituants principaux de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive sont :

a) Tocophérols

Les tocophérols sont des molécules importantes à analyser en raison de leurs propriétés vitaminiques, nutritionnelles et de leur rôle de préservation des radicaux libres. L'huile d'olive contient principalement l' α -tocophérol qui représente à elle seule 95 % des tocophérols totaux. On trouve également une faible teneur en β et γ tocophérols, alors que le δ tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces (**Haddamet *al.*, 2014**).

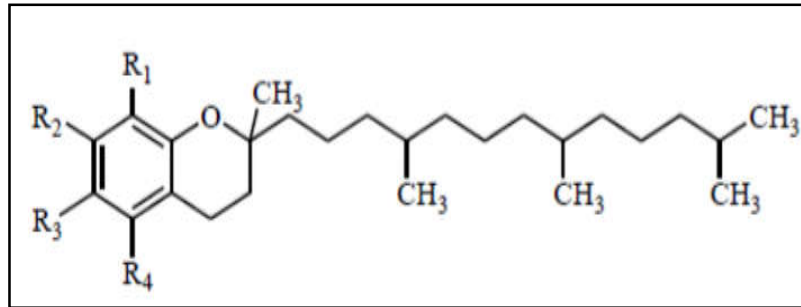


Fig. 04 : Structure générale d'un tocophérol (Graille, 2003).

b) Hydrocarbures

Le squalène, qui est présent dans toutes les huiles et graisses végétales. C'est un hydrocarbure saturé triterpénique avec six doubles liaisons, ce qui peut constituer jusqu'à 90% de la fraction d'hydrocarbures de l'huile d'olive (Samaniego-Sanchez et al., 2010).

c) Stérols

Les stérols correspondent à 20% de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive et sont présents sous forme libres et estérifiés aux acides gras (Phillips et al., 2002).

Le β -sitostérol est le principal stérol de l'huile d'olive et représente plus de 75% des stérols totaux dont les propriétés thérapeutiques sont bien discutées (Gorinstein et al., 2003).

d) Composés aromatiques

Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire, possédant une volatilité à température ambiante. L'odeur de l'huile est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez (Angerosa, 2002).

Ces composés volatiles sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras, d'une manière générale, les enzymes endogènes présentes dans l'olive, vont dégrader les acides gras par des voies de lipoxygénases et les produits de dégradation vont être associés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olives (Venkateshwarlu et al., 2004).

e) Composés phénoliques

L'huile d'olive contient une quantité appréciable de composés phénoliques qui passent dans l'huile lors de son extraction. Ces composés nobles sont des antioxydants naturels. Les orthodiphénols, comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine, sont considérés comme des antioxydants les plus puissants qui protègent l'huile contre l'oxydation et lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage (Haddam et al., 2014).

f) Pigments

Les pigments dans les huiles d'olive peuvent être divisés en deux classes principales: caroténoïdes et dérivés de la chlorophylle; ils sont responsables de la couleur des huiles d'olive, qui est une caractéristique importante pour la qualité de l'HOV.

Leur composition relative dans l'huile d'olive provient de la composition pigmentaire initiale des fruits de l'olive et de toutes les transformations chimiques, telles que celles qui sont provoquées par voie enzymatique, se produisant à différents stades de la production d'huile d'olive. Les principaux facteurs affectant le profil pigmentaire des olives sont la variété (ou le cultivar), le degré de maturation (**Lazzerini et Domenici, 2017**).

I.6. Conditionnement

Les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive destinées au commerce international doivent faire l'objet de conditionnement dans des récipients conformes aux principes généraux d'hygiène alimentaire recommandés par la Commission du Codex Alimentarius.

Ces récipients peuvent être :

- des citernes, containers, cuves, permettant le transport en vrac des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ;
- des fûts métalliques, en bon état, étanches, dont les parois intérieures devraient être recouvertes d'un vernis adéquat ;
- des bidons et des boîtes métalliques lithographiés, neufs, étanches, dont les parois intérieures devraient être recouvertes d'un vernis adéquat ;
- des bonbonnes, des bouteilles de verre ou de matériau macromoléculaire adéquat (**COI, 2015**).

I.7. Tolérance de remplissage des récipients

Dans le récipient, le volume occupé par le contenu ne doit en aucun cas être inférieur à 90 pour cent de la capacité du récipient, sauf dans le cas des récipients en fer-blanc d'une capacité égale ou inférieure à 1 litre dans lesquels le volume occupé par le contenu ne doit en aucun cas être inférieur à 80 pour cent de la capacité du récipient (**COI, 2015**).

II. Oxydation des lipides

Les matières grasses (MG) s'altèrent essentiellement par oxydation, les altérations microbiologiques de ces produits sont exclues dans la mesure où leur activité d'eau est pratiquement nulle. Il existe plusieurs types d'oxydations qui mettent en œuvre des mécanismes réactionnels très différents, aboutissant au rancissement oxydatif ou hydrolytique (**Rahmani, 2007**).

Les altérations conduisant au rancissement oxydatif sont l'auto-oxydation, la photo-oxydation et l'oxydation enzymatique catalysée par la lipo-oxygénase. Les produits primaires de ces oxydations sont des hydro-péroxydes qui peuvent générer, après leur dégradation, des composés de faible poids moléculaire (carbonyles, alcools, acides, ...), dont certains sont très olfactifs. A ce stade, la flaveur de « rance » se développe dans le lipide altéré; ce qui réduit sa qualité marchande et conditionne directement sa durée de vie (**Rahmani, 2007**).

II.1. Définition

L'auto-oxydation de la matière grasse abandonnée au contact de l'oxygène constitue un ensemble complexe de réactions non encore complètement élucidées. Elles conduisent à la rupture des chaînes carbonées avec le développement de produits pour la plupart volatils, à structure carbonylée. Les propriétés organoleptiques de la matière grasse sont altérées : **c'est le rancissement** (**Rahmani, 2007**).

II.2. Mécanisme réactionnel de l'oxydation

Cette réaction radicalaire se déroule en trois phases consécutives qui commencent par la phase d'**initiation**, qui consiste en la rupture homolytique, occasionnée par un initiateur radicalaire, d'une liaison d'un acide gras, ce qui en fait un composé radicalaire très réactif vis-à-vis de l'oxygène et qui va donc se transformer en radical peroxy, suivie par la phase de **propagation**, au cours de laquelle le radical peroxy va arracher un atome d'hydrogène à un autre acide gras, créant un nouveau radical et entretenant ainsi une réaction en chaîne, pour se transformer en hydroperoxyde.

Ce dernier finira par se dégrader en aldéhydes volatils expliquant l'odeur nauséabonde, et enfin, par la phase **terminale**, entraînée par la réaction de deux radicaux pour donner une espèce moléculaire ou par l'intervention d'un composé antioxydant dit « briseur de chaîne » (**Hennebelle et al., 2004**).

La peroxydation lipidique est la détérioration oxydative des acides gras polyinsaturés (supérieurs ou égale à 2 double liaisons) tels que les acides linoléique (C18 :2), linoléique (C18 :3), et arachidonique (C20 :4).

Elle comporte trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (fig. 5)(Delattre et al., 2003).

- Phase d'initiation

Un acide gras polyinsaturé est attaqué au niveau d'un carbone situé entre 2 double liaisons par un radical hydroxyle avec arrachement d'un atome d'hydrogène qui laisse un radical non apparié, l'acide gras ainsi formé subira un réarrangement des doubles liaisons (Borg et Reeber, 2004).

- Phase de propagation

Formation d'un diène conjugué RO₂ par coordination avec une molécule d'oxygène (Borg et Reeber, 2004), pour donner un radical peroxyde (ROO[•]) qui est capable d'arracher un atome d'hydrogène d'un autre acide gras polyinsaturé en donnant un hydroperoxyde (ROOH) et un nouveau radical (R[•]), qui à son tour peut réagir avec un O₂ pour former un autre radical peroxyde (ROO[•]) (Delattre et al., 2003).

L'hydroperoxyde formé finira par se dégrader en aldéhydes volatiles expliquant l'odeur nauséabonde (Hennebelle et al., 2004).

- Phase de terminaison

La phase de terminaison peut survenir par recombinaison de deux radicaux libres pour donner une espèce moléculaire ou par intervention d'un composé antioxydant dit « briseur de chaîne (Delattre et al., 2003; Hennebelle et al., 2004).

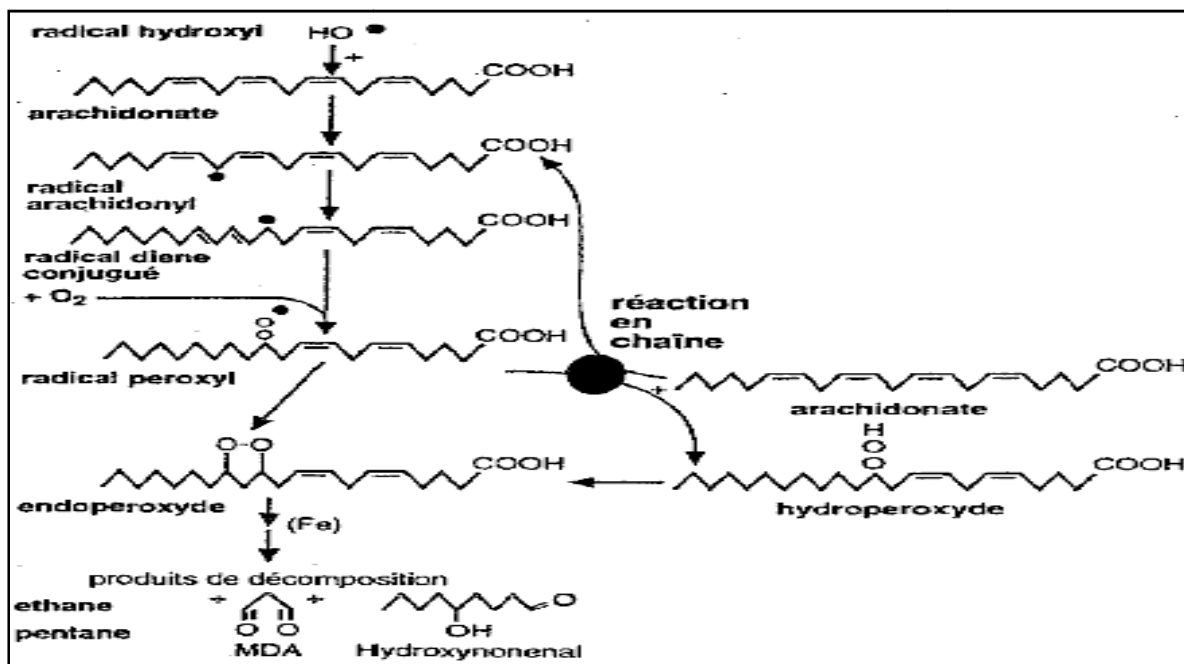


Fig. 05 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

II.3. Oxydation de l'huile d'olive

Outre sa richesse en lipides, l'huile d'olive contient des composés mineurs qui lui confèrent ses qualités organoleptiques et nutritionnelles. Par ailleurs, ces composés ont des effets notables sur la stabilité de ce produit au cours de son stockage (BenTekaya et Hassouna, 2007).

Les chlorophylles *a* et *b* et leurs produits immédiats de dégradation, phéophytines *a* et *b*, sont des photo-sensibilisateurs. En présence de lumière, ces pigments passent de leur état singulet fondamental à un état singulet excité puis à un état triplet excité métastable. Les pigments ont alors tendance à revenir à l'état singulet fondamental en transformant l'oxygène atmosphérique ($^3\text{O}_2$) en oxygène singulet très réactif ($^1\text{O}_2$). Ce dernier réagit directement sur les acides gras insaturés de l'huile en donnant des hydroperoxydes très instables qui peuvent se décomposer pour donner des composés volatils à faible poids moléculaire qui sont à l'origine du rancissement de l'huile d'olive (BenTekaya et Hassouna, 2007).

II.4. Méthodes de mesure de l'oxydation

Si les mécanismes de l'oxydation bien sont décryptés et admis par tous, il n'en est pas de même pour les méthodes de mesure de l'oxydation ou du pouvoir antioxydant des principes actifs.

Principale variation, la nature du milieu de l'étude. En effet, certains composés actifs sont solubles en milieu aqueux (vitamine C, polyphénols, etc.), d'autres en milieu lipidique (vitamine E). De même, certaines molécules cibles de l'oxydation sont solubles en milieu aqueux et d'autres en milieux lipidiques.

- **Mesure en milieu lipidique**

- **Mesure de l'oxydation en temps réel** : La mesure de l'oxydation d'un corps gras en temps réel se fait par la mesure de l'indice de peroxydes. Par définition, l'indice de peroxyde est le nombre de lg d'oxygène actif du peroxyde contenus dans un gramme de corps gras susceptible d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode. Cette méthode est normalisée et représente un critère très utile et très sensible pour apprécier les premières étapes de la détérioration oxydative d'une huile.

Par contre, un résultat faible ne précise pas si le corps gras est de bonne qualité ou s'il est déjà complètement oxydé. Il convient de s'assurer de la qualité de la matrice initiale. L'efficacité de l'antioxydant liposoluble est mesurée par une augmentation plus lente de l'IP par rapport à un témoin sans protection (Rolland, 2004).

- **Mesure de l'oxydation par des tests de vieillissements accélérés :**

- Test de Swift ou AOM (*Active Oxygen Method*).

Ce test consiste à faire passer un courant d'air purifié dans un échantillon d'huile à 97,8 °C. À des intervalles réguliers, on mesure l'IP, et on détermine le temps nécessaire à un indice de peroxyde de 100 meq d'oxygène actif/kg de matière grasse (Rolland, 2004).

– Utilisation de l'appareil « Oxypress ». L'échantillon est placé dans une étuve hermétiquement close, sous une pression d'oxygène de 3 à 5 bars, à une température de 105 °C. On suit l'évolution de l'oxydation en mesurant la diminution de la pression d'oxygène, correspondant à l'incorporation du gaz dans la matière oxydée (formation d'hydroperoxydes). On enregistre la pression en fonction du temps et on détermine le temps de résistance de l'échantillon préservé par des antioxydants ou non à l'oxydation (Rolland, 2004).

– Utilisation de l'appareil « Rancimat ». C'est une version automatique du test de Swift, qui permet de déterminer le temps de résistance d'un échantillon à l'oxydation par une mesure conductimétrique. Un flux d'air fixé à 20 L/h traverse un échantillon chauffé à 105 °C. Les composés volatils générés par l'oxydation sont recueillis dans un récipient contenant de l'eau distillée. L'augmentation de la conductivité de l'eau est mesurée et représente la résistance de l'échantillon à l'oxydation (Rolland, 2004).

• **Mesure en milieu aqueux**

Il existe plusieurs tests parmi lesquels y a :

– Le test au DPPH. Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical de couleur violette intense. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH.



III. Antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui, lorsqu'elles sont présentes dans les aliments à de faibles concentrations comparées à celles d'un substrat oxydable, nettement retarder ou empêcher l'oxydation du substrat (**Shahidi et Zhong, 2005**).

III.1. Type d'antioxydants

Il existe deux types d'antioxydants :

– Les antioxydants primaires ou radicalaires ouvraient, qui permettent l'interruption de la chaîne autocatalytique : $AH + R\bullet \rightarrow A\bullet + RH$.

La molécule AH est antioxydant si le radical formé A• est plus stable. La stabilité du radical A• peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires.

– Les antioxydants secondaires ou préventifs qui assurent l'inhibition de la production de radicaux libres. Ce sont des substances décomposant les hydroperoxydes en alcool, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV, comme les carotènes, des chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, comme l'acide citrique et les lécithines ou enfin des séquestrants d'oxygène comme l'acide ascorbique (**Rolland, 2004**).

III.2. Catégories des Antioxydants

Bien que l'utilisation des antioxydants remonte à l'antiquité, lorsque les herbes et les épices ont été utilisées dans la conservation des aliments, la technologie anti-oxydante moderne ne concerne que 60 ans. Comme les radicaux libres se sont avérés responsables de l'oxydation des lipides, des centaines de composés naturels et synthétiques ont été évalués pour leur efficacité comme piègeurs de radicaux ou pour leurs autres effets inhibiteurs (**Shahidi et Zhong, 2005**).

Ils sont largement utilisés comme additifs alimentaires pour fournir de la protection contre la dégradation oxydative des aliments par les radicaux libres. Ainsi, il existe deux catégories fondamentales d'antioxydants, à savoir les synthétiques et les naturels (**Ali et al., 2015**).

III.2.1. Antioxydants synthétiques

Il peut s'avérer très intéressant de travailler avec des antioxydants synthétiques au lieu de naturels, car ces derniers sont souvent moins stables. En effet, les antioxydants synthétiques résistent mieux aux températures atteintes lors de la cuisson ou de la friture. Parmi ceux phénoliques utilisés en industrie, il y a le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole

(BHA), Les gallates de propyle, octyle et de dodécyle ainsi que le butylhydroquinone tertiaire (TBHQ) (tableau II, fig. 06) (Shahidi et Zhong, 2005).

Tableau II : Quelques exemples d'utilisation réglementée des antioxydants de synthèse (Shahidi et Zhong, 2005).

Antioxydants	Concentration maximale (ppm)
Gallates (PG) seul ou en combinaison avec BHT ou BHA	100 - 200
BHT seul ou en combinaison avec BHA	200
TBHQ seul	Moins de 200

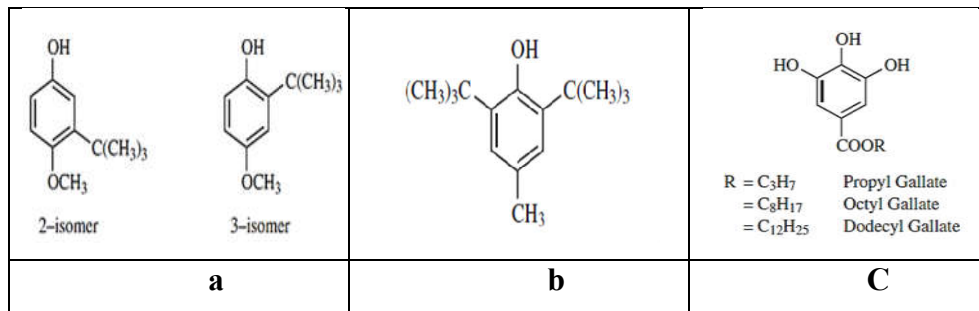


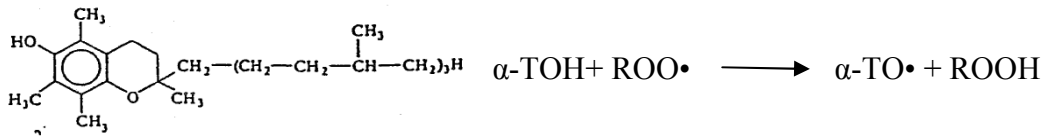
Fig.06 : a, b et c représentent les structures chimiques de BHA, BHT et gallates respectivement (Shahidi et Zhong, 2005).

III.2.2. Antioxydants naturels

L'acide ascorbique et les tocophérols sont les principaux antioxydants naturels du commerce. En outre, de nombreux antioxydants phénoliques naturels ont été identifiés dans des sources végétales et des extraits de légumes (Shahidi et Zhong, 2005).

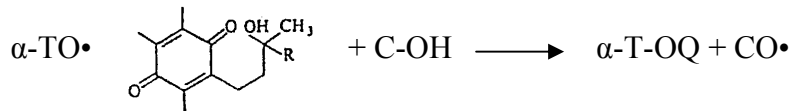
III.2.2.1. Tocophérol ou vitamine E

La vitamine E possède une activité anti radicalaire très puissante: 1 molécule d' α -tocophérol (α TH) peut protéger 3000 molécules d'acides gras polyinsaturés (AGPI) contre l'atteinte des radicaux libres. L' α -tocophérol réagit avec les radicaux peroxydes, formés à partir des AGPI à l'intérieur des membranes, en donnant un hydrogène par le groupement hydroxyle du noyau chromane, et bloque ainsi la phase de propagation. Cette propriété est due à une grande rapidité de réaction entre peroxydes et vitamine E qui concurrence et stoppe la réaction de propagation. Le radical tocophéryl formé (α -TO \bullet) est rapidement transformé en quinone α -tocophéryl :



C'est le groupement hydroxyl fixé sur le cycle benzénique qui agit comme réducteur lors d'une agression radicalaire. Le radical tocophéryl ($\alpha\text{-TO}\cdot$) ainsi formé étant de faible réactivité, la réaction en chaîne s'arrête d'elle-même.

La régénération de la vitamine E met en jeu l'ascorbate. Il existe donc des interactions étroites avec la vitamine C. Le radical tocophéryl ($\text{TO}\cdot$) est pris en charge par la vitamine C (C-OH) qui le transforme en α -tocophérylquinone ($\alpha\text{-T-OQ}$):



L' α -tocophérylquinone pourra ensuite régénérer l' α -tocophérol en passant par l' α -tocophérylhydroquinone (**Hiltenbrand, 1999**).

III.2.2.2. Huiles essentielles

Une HE est une substance odorante et volatile, non grasse, extraite d'un végétal sous forme liquide. Elle provient d'une sécrétion élaborée par certains végétaux et contenue dans des structures spécialisées (poils, poches et canaux sécréteurs). Selon l'HE, la totalité de la plante aromatique, voire plus spécifiquement certains de ses organes (racine, écorce, feuille, fleur, fruit, graine...) seront sélectionnés pour en extraire les composés aromatiques (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

Le chémo-type, indique le composant biochimique majoritaire et distinctif présent dans l'HE. Cet élément permet de distinguer les HE extraites d'une même espèce ou variété botanique mais de composition biochimique différente. Cette classification est indispensable car elle permet de sélectionner les HEs pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

a) Activité anti-oxydante des huiles essentielles

Le développement et l'utilisation de plus des antioxydants d'origine naturelle efficaces, obtenus à partir de sources botaniques, en particulier des plantes médicinales, sont souhaitables. Au cours des dernières décennies, les huiles essentielles de plantes ont été d'un grand intérêt en tant que sources de produits naturels et de composés biologiquement actifs. En outre, la propriété anti-

oxydante des huiles essentielles a également été vérifiée *in vitro* pour promouvoir leur utilisation comme additif alimentaire naturel (Ali et al., 2015).

De nombreuses huiles essentielles, comme les huiles de cannelle, de piment, de laurier et d'origan, présentent un pouvoir antioxydant (Karioti et al., 2006). Cette activité est attribuée à certains groupes fonctionnels en l'occurrence, les alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques, tels que : le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/nérol, le citronellal, et quelques monoterpènes dont le γ -terpinène et l' α -terpinolène (Edris, 2007). Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est utilisé comme substitut dans la conservation alimentaire (Karioti et al., 2006).

b) Activité antioxydante des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques

- *Thymus numidicus*

Le mot «*Thym* » provient du terme grec «*Thymos*» qui signifie «*odeur* ». Son parfum est agréable, fort, frais et balsamique (Hazzit et al., 2009).

Le genre *Thymus* L.(Tourn.) L. (Thym) est originaire de la région méditerranéenne, environ 110 espèces ont été identifiées (Georgiou et al., 2015). En Algérie, il existe 12 espèces (Quezel et Santa, 1963).

Ce genre appartient à la famille des *Labiées*, qui renferme des plantes aromatiques et médicinales d'une importance économique en Amérique du Nord, en Europe, en Afrique du Nord et en Asie (Golmakani et Rezaei, 2008). *Thymus numidicus* Poiret. est l'espèce choisie dans notre étude (fig.07). Cette espèce est endémique de l'Ouest de l'Algérie et de la Tunisie (Quezel et Santa, 1963).

Elle est utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ses propriétés expectorantes, antitussives, antiseptiques, antispasmodiques et vermifuges (Georgiou et al., 2015).

Pour *T. numidicus*, différents chemotypes ont été rapportés en Algérie et qui dépendent de l'origine géographique (chemotype à thymol (Kabouche et al., 2005a ; Kabouche et al., 2005b ; Giordani et al., 2008) ; carvacrol et p-cymène comme composants prédominants (Hazzit et Baaliouamer, 2007).



Fig.07 : Photo de *Thymus numidicus* Poiret, A : fleures, B : feuilles) (Messara et al., 2018).

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus numidicus* sont très riches en plusieurs constituants ayant des propriétés anti-oxydantes (Balladin et Headley, 1999).

- ***Origanum glandulosum***

Le genre *Origanum* (famille Lamiaceae) comporte environ 38 espèces qui sont répandues dans la région Méditerranéenne, Euro sibérienne et Irano Sibérienne. Cependant, la plupart des espèces, environ 75%, sont concentrées dans le pourtour méditerranéen, en particulier dans les régions méditerranéenne de l'Est (Şahin et al., 2004). Le terme origan provient de deux mots grecs "oros" et "genos", c'est-à-dire " éclat des montagnes" (Kintzios, 2002).

En Algérie, il existe 3 espèces qui sont : *Origanum majorana* L., *Origanum glandulosum* Desf. et *Origanum floribundum* Munby (Quezel et Santa, 1963). *Origanum glandulosum* est l'espèce choisie dans notre étude (fig.08). C'est une plante spontanée endémique, développant en Afrique du Nord (Algérie et Tunisie) (Quezel et Santa, 1963 ; Bendahou et al., 2008).

Cette plantes présente des propriétés sédative, apéritive, antispasmodique, ... (Dellile, 2007). Les espèces d'*Origanum* sont largement connues comme herbe culinaire, pour assaisonner les produits alimentaires (Bendahou et al., 2008).

Pour la composition chimique, les huiles essentielles d'*O. glandulosum* collecté dans différentes régions de l'Est de l'Algérie ont montré la présence de trois chemotypes : chemotype à thymol, chemotype à carvacrol et chemotype à carvacrol/thymol (Ruberto et al., 2002 ; Sari et al., 2006 ; Khalfi et al., 2008).



Fig. 08 : Photo d'*Origanum glandulosum* Desf. (Bekka-Hadji, 2017)

Au cours des dernières années, les huiles essentielles des espèces d'*Origanum* ont été intensivement étudiées pour leur composition chimique et leur utilisation potentielle comme agents antimicrobien naturel et antioxydants dans le monde entier: France, Autriche, Italie du Sud, Chine et Pakistan, Bosnie, Bulgarie, Lituanie, Tunisia et différentes populations méditerranéennes (Bouhaddouda *et al.*, 2016).

III.2.2.3. Les polyphénols

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Alam *et al.*, 2013 ; Brand-Williams *et al.*, 1995). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Bondet *et al.*, 1997). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig. 09), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Liu *et al.*, 2008 ; Molyneux, 2004).

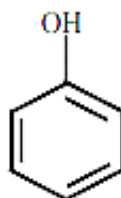


Fig. 09 : Structure du noyau phénol (Katalinic *et al.*, 2006).

a) Activité anti-oxydante des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent agir comme des antioxydants de différentes manières. Dans les systèmes utilisant l'oxydation des métaux de transition tels que le cuivre et le fer, ils peuvent chélater ces ions métalliques, qui sont des initiateurs des réactions de Fenton pouvant générer de fortes concentrations de radical hydroxyle.

Toutefois, l'activité anti-oxydante la plus importante est liée à la capacité anti-radicalaire, en brisant la chaîne des réactions déclenchées par les radicaux libres (fig.10). La propriété anti-oxydante des polyphénols est associée à leur capacité à former des liaisons hydrogène intramoléculaires entre le groupe hydroxyle et les radicaux phénoliques. Des études similaires sur les flavonoïdes ont montré que le degré de l'activité anti-oxydante est corrélé au nombre de groupes hydroxyles. Le nombre de groupes hydroxyles et leurs positions sur le cycle aromatique sont déterminants pour l'activité des flavonoïdes et des polyphénols (Benlemlih et Ghanam, 2016).

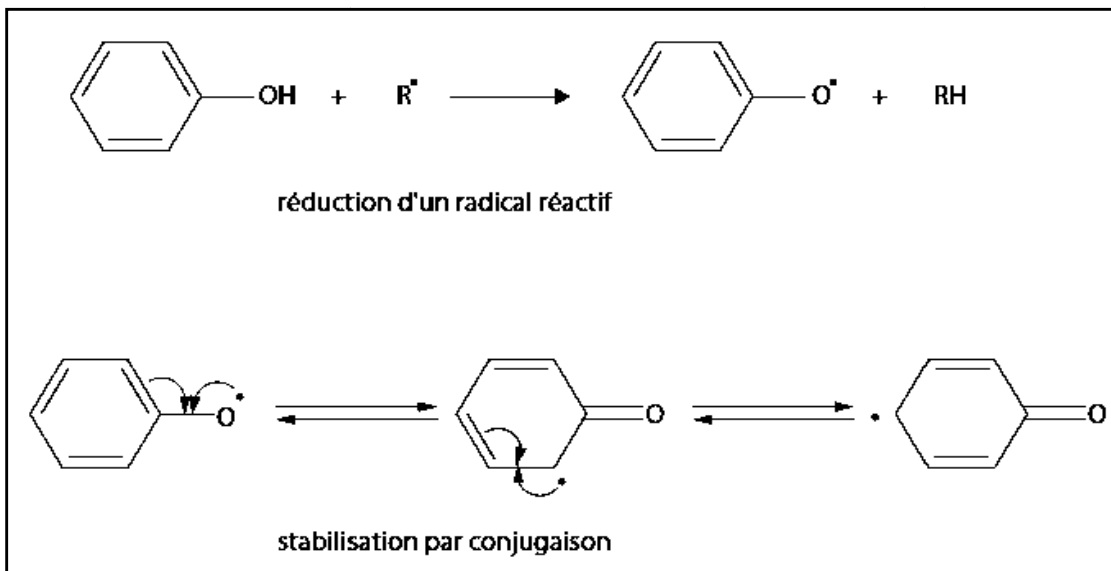


Fig. 10 : Propriétés réductrices des polyphénols (Rolland, 2004)

b) Activité antioxydante des extraits Licheniques « *Evernia prunastri* »

- Généralité sur les lichens

Les lichens sont des organismes symbiotiques composés d'un champignon (mycobionte) et d'un partenaire photosynthétique (photobionte), qui peut être une algue ou une cyanobactérie (Kosanic et al., 2013).

Ces organismes à croissance lente sont des ressources végétales importantes et sont utilisés à de nombreuses fins (Alpsoy et al., 2013). Ils sont présents sur les écorces, les tiges, les feuilles et dans le sol, mais sur des habitats moins favorables aux plantes (Kosanic et al., 2013).

Environ de 300 genres et 18 000 espèces de lichens sont reconnus. Plus de 800 métabolites

secondaires ont été identifiés dans ces derniers. Certains de ces métabolites sont spécifiques aux lichens et sont produits pour protéger et maintenir l'association symbiotique de divers facteurs biotiques et abiotiques. L'utilisation médicinale des lichens est due à leurs métabolites secondaires, qui ont un large éventail d'actions biologiques possibles, dont la photo-protection contre les radiations intenses, antimicrobiennes, anti-inflammatoire, antivirale, anticancéreuse, anti-herbivore et anti-oxydante (Molnár et Farkas, 2010 ; Alpsy et al., 2013). Parmi ces lichens nous avons une espèce qui est très commune et très répandue dans la région de Jijel qui est *Evernia prunastri* (Elrhzoui et al., 2015).

- *Evernia prunastri*

Evernia prunastri est une espèce acidophytique fruticuleux disparaissant facilement dans des conditions de pollution atmosphérique (fig. 11) (Munzi et al., 2013). Il vit sur toutes les espèces d'arbres et se développe principalement sur l'écorce des arbres de chêne, mais également dans une certaine mesure sur des sapins et des arbres de pin dans des atmosphères humides à très humides (Loppi et Frati, 2006). Il pousse plus rarement sur les rochers, à l'ombre ou au soleil (Karabulut et Ozturk, 2015). Cette espèce *E. prunastri* peut être altérée lorsqu'elle est exposée à des conditions sèches et à la pleine lumière du soleil (Munzi et al., 2013).

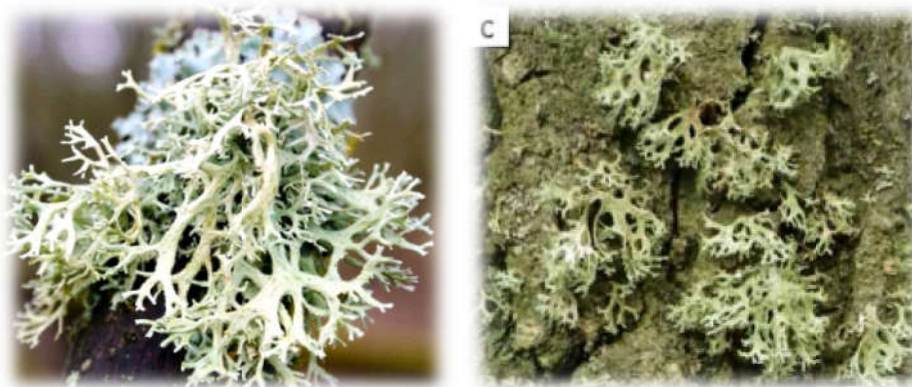


Fig. 11 : Photo d'*Evernia prunastri* et la forme de thalle (Douibi et al., 2016; Maslac et al., 2016).

Une autre particularité des lichens est la présence de métabolites secondaires tels que le depsides et le dibenzofurane. Selon leurs structures chimiques, la plupart des substances lichéniques sont des composés phénoliques (dérivés de l'orcinol et du b-orcinol), des dibenzofuranes (par exemple l'acide usnique), des depsides (par exemple l'acide barbatique), des dépsidones (par exemple l'acide salazinique) (Shukla et al., 2010).



Partie expérimentale

I. Matériel et Méthodes

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

I.1. Traitement et préparation des échantillons de l'huile d'olive et ajout des additifs

L'étude a porté sur 5 L d'une huile d'olive vierge de la campagne oléicole 2018/2019 de la région Taher (Wilaya de Jijel). Cette huile a été obtenue par un système continu et collectée dans une huilerie située dans la même région.

Cet huile a été mise en bouteilles dès leurs obtentions : récipient en inox de 7500 ml rempli à plein (témoin positif) (E1), bouteille en verre de 250 ml de contenance rempli à 50%(E2), bouteille en plastique 330 ml rempli à 50% (témoin négatif) (E8) (tableau III).

D'autres échantillons ont été préparés par ajout de différents additifs naturels qui sont :

- Huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la région de Bejaia (*Origanum glandulosum*(OG) (E4) et *Thymus numidicus* (TYTO) (E7));
- Extraits phénoliques d'un Lichen collecté dans la région de Jijel (*Evernia prunastri*) (fraction d'acétate d'éthyle (ETH) (E6) et fraction chloroformique (CL) (E7)) ;
- Acide gallique (E3).

Tableau III : Préparation des échantillons

Huiles d'olives	Volume	Additifs	
Huiles témoin conservée dans un récipient en inox et a plein	750 ml	/	E1
Huile conservée dans un flacon en verre rempli à 50%	100 ml	/	E2
Huile conservée dans un flacon en plastique rempli à 50%	100 ml	/	E8
Huile conservée dans un flacon en verre rempli à 50%	100 ml	20 µl de l'huile essentielle d' <i>Origanum glandulosum</i> (OG) (200 ppm)	E4
Huile conservée dans un flacon en verre rempli à 50%	100 ml	20 µl de l'huile essentielle de <i>Thymus numidicus</i> (TYTO) (200 ppm)	E7
Huile conservée dans un flacon en verre rempli à 50%	100 ml	20 mg d'extrait chloroformique d' <i>Evernia prunastri</i> (CL) (200 ppm)	E5
Huile conservée dans un flacon en verre rempli à 50%	100 ml	20 mg d'extrait d'acétate d'éthyle d' <i>Evernia prunastri</i> (ET) (200 ppm)	E6
Huile conservée dans un flacon en verre rempli à 50%	100 ml	20 mg d'acide gallique (AG) (200 ppm)	E3

Ces échantillons ont été conservés à température ambiante sous différentes conditions pendant 4 mois. Toutes les déterminations ont été effectuées pendant le mois de Mai et Juin 2019.

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

I.2.1. Analyses physiques

I.2.1.1. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles

❖ Principe

Il consiste à provoquer le départ d'eau par chauffage d'une quantité connue d'huile jusqu'à élimination complète de l'eau.

❖ Matériel

- Balance analytique
- Dessiccateur
- Béchers
- Plaque chauffant

❖ Mode opératoire

Chauffage d'une prise d'essai à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à l'élimination complète de l'eau et des matières volatiles et détermination de la perte de masse (COI, 2011).

❖ Expression des résultats

$$\text{H}\% = \frac{M_1 M_2}{M_1 - M_0} \times 100$$

Avec :

M_0 : Masse (g) du bécher vide ;

M_1 : Masse (g) du bécher avec la prise d'essai avant le chauffage ;

M_2 : Masse (g) du bécher avec la prise d'essai après le chauffage.

I.2.1.2. Détermination de la densité relative

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C , et la masse d'un volume égale d'eau distillée à la même température.

❖ Principe

Effectuer des pesés successives de volume égal d'huile et d'eau.

❖ Matériel

- Balance
- Fiole jugée
- Bain marrie

➤ Thermomètre

❖ **Mode opératoire**

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

❖ **Expression des résultats**

$$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

Avec :

m₀ : masse de la fiole vide (g) ;

m₁ : masse de la fiole pleine d'eau (g) ;

m₂ : masse de la fiole pleine d'huile (g) ;

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

I.2.2. Analyses chimiques

I.2.2.1. Détermination du pH

❖ **Principe**

Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres contenue dans l'huile d'olive (**Audigie et al., 1984**).

❖ **Mode opératoire**

La mesure du pH consiste à plonger l'électrode du pH mètre dans l'échantillon, le pH mètre est étalonné avec des solutions tampon pH= 4.00 et pH= 7.02 (**Campaniello et al., 2005**).

I.2.2.2. Détermination de l'acidité libre (A)

❖ **Principe**

Mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvants, puis titrage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution de soude (NaOH 0,1 N) ou d'hydroxyde de potassium (KOH).

❖ **Matérielset réactifs utilisés**

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance • Erlenmeyer • Pipettes • Burette 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Solution d'éthanol • Solution d'Hydroxyde de potassium 0,1 N • Solution d'Phénolphtaléine à 1%

❖ **Mode opératoire**

L'acidité libre, exprimée en pourcentage d'acide oléique, a été déterminée sur une prise d'essai de 1g d'huile d'olive dissoute dans 50 ml d'éthanol. Le mélange a été titré par une solution d'hydroxyde de potassium 0,1 N en présence de phénolphtaléine (**Boulfane et al., 2015**).

❖ **Expression des résultats**

Selon le règlement (C.E.E. N° 2568/91) l'acidité est déterminée comme suit :

$$\text{Acidité (A\%)} = \frac{V.N. 56.1}{10. m}$$

Avec :

56.11 :Masse molaire, exprimée en grammes par mole de (KOH) ;

N : Normalité de la solution d'hydroxyde de potassium (0.1 N) ;

V :Volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour titrer l'échantillon ;

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

I.2.2.3. Détermination de l'indice de peroxyde❖ **Principe**

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 (**Tanouti et al., 2010**).

❖ **Matériel et réactifs**

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance • Erlenmeyer • Pipettes • Burette 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Acide acétique / chloroforme (3V/2V) • Empois d'amidon • Solution d'iodure de potassium saturée • Solution de thiosulfate de sodium à 0,01N

❖ Mode opératoire

1g d'huile d'olive est dissout dans 12,2 ml du mélange acide acétique / chloroforme (3V/2V). 15 ml d'une solution d'iodure de potassium saturée sont additionnés au mélange. Ce dernier est placé à l'obscurité pendant 5 min. Ensuite 60 ml d'eau distillée et 1 ml d'une solution d'empois d'amidon sont ajoutés (une couleur violette apparaît), puis agiter énergiquement pendant environ une minute. Le mélange obtenu a été titré par une solution de thiosulfate de sodium à 0,01N (Boulfane et *al.*, 2015).

❖ Expression des résultats

Le résultat est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par 1000g d'échantillon :

$$\text{Indice de peroxyde} = \frac{(V_1 - V_0) \cdot N}{M} \cdot 1000$$

Avec

V_0 : Volume de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en ml ;

V_1 : Volume de thiosulfate de sodium utilisé pour la détermination en ml ;

N : Normalité de la solution de thiosulfate utilisée (0,01N) ;

M : Masse de la prise d'essai en g.

I.2.2.4. Indice de saponification

❖ Principe

L'indice de saponification correspond au nombre de milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier les acides gras contenus dans un gramme de matière grasse. Cette valeur est d'autant plus élevée que les acides gras sont de faible poids moléculaire (AFNOR, 1978).

❖ Matériel et réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance • Erlenmeyer • Pipettes • Burette 	<ul style="list-style-type: none"> • Potasse alcoolique • Phénolphtaléine • Acide chlorhydrique 0.5N

❖ Mode opératoire

Il est déterminé selon la méthode décrit par **Lecoq (1965)**. Pour cela, 1g d'huile d'olive est ajouté à 25ml de potasse alcoolique, après agitation, le mélange est porté à l'ébullition pendant 15min en agitant de temps en temps, après refroidissement, 5 gouttes de phénol phtaléine sont additionnés au mélange. L'excès de potasse est titré par l'acide chlorhydrique 0.5N jusqu'à décoloration. Un essai à blanc est effectué en parallèle dans les mêmes conditions mais sans matière grasse pour titrer la solution de potasse mise en jeu.

❖ Expression des résultats

L'indice de saponification est exprimé par la formule suivante :

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

Avec :

V_{blanc} : Volume du HCl(0.5N) utilisé lors de la réaction du blanc ;

V_{essai} : Volume du HCl(0.5N) utilisé lors de la réaction de l'essai ;

N_{HCl} : Normalité de la solution d'acide chlorhydrique (0.5N) ;

PM_{KOH} : 56.1 g/mol : poids moléculaire de potasse alcoolique ;

P : prise d'essai (g).

1.2.2.5. Recherche du glycérol

❖ Principe

Pour visualiser l'hydrolyse des triglycérides en acide gras nous utilisons la capacité des acides gras à former les sels en présence de soude. Cette réaction est appelée réaction de saponification, mais pour l'observation nous avons utilisé une solution de cuivre saturée qui joue le même rôle que la soude mais elle forme un complexe coloré vert qui permettra de déterminer la zone d'hydrolyse.

❖ Matériel et réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Tubes à essai • Pipette 	<ul style="list-style-type: none"> • Soude à 5% préparée dans l'alcool • Solution de sulfate de cuivre saturée

❖ Mode opératoire

Le glycérol est mis en évidence selon la technique de **Lecoq (1965)**. Brièvement, dans un tube à essai une goutte d'huile d'olives à étudier est ajoutée à 3ml de la soude 5% préparée dans

l'alcool et 0.5ml de la solution de sulfate de cuivre saturée. Une réaction à blanc est préparée dans les mêmes conditions en mettant à la place de l'huile du glycérol. Par la suite l'intensité de la couleur obtenue pour chaque échantillon est comparée par rapport à celle du témoin.

I.2.3. Analyse spectrophotométrie dans l'Ultra-Violet

❖ Principe

Cette méthode consiste à déterminer les absorbances à 232 nm et à 270 nm qui correspondent au maximum d'absorbance des hydro peroxydes et des produits secondaires d'oxydation.

❖ Matériel et Réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance • Pipettes • Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Ether de pétrole

❖ Mode opératoire

0,1 g de l'échantillon est dissout dans 10 ml de l'éther de pétrole. Après homogénéisation, on mesure les extinctions aux longueurs d'onde 232 nm et 270 nm. Egalement à 266 nm et 274 nm (Boulfane et *al.*,2015).

❖ Expression des résultats

Les valeurs d'extinctions spécifiques à 232 nm et 270 nm sont calculées selon la formule suivante :

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

Avec :

A_k : Absorbance à la longueur d'onde k ;

C : Concentration de la solution en g/100 ml ;

S : Chemin optique (1 cm).

$$\Delta K = K_m - (K_{m-4} + K_{m+4}) / 2$$

Où :

K_m est l'extinction spécifique à la longueur d'onde d'absorbance maximale m , aux environs de 270 nm.

I.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols des huiles d'olive et des additifs

I.2.4.1. Extraction des polyphénols totaux de l'huile d'olive

❖ Principe

Il s'agit d'une extraction liquide/ liquide qui consiste à dissoudre l'huile dans un solvant organique et mélangé avec un solvant polaire pour la récupération des composés phénoliques.

❖ Matériel et Réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance • Centrifugeuse • Pipettes • Tubes à essais 	<ul style="list-style-type: none"> • Hexane • Méthanol / eau (60: 40, V/ V).

❖ Mode opératoire

2,5 g de l'huile d'olive ont été dissous dans 5 ml de l'hexane, puis additionnés de 5 ml d'un mélange méthanol / eau (60: 40, V/ V). Le mélange résultant a été secoué vigoureusement au moyen d'un agitateur mécanique (vortex), puis centrifugé à 3500 tr/min pendant 10 min (la phase méthanolique correspond à la phase inférieure et l'hexane correspond à la phase supérieure). La fraction méthanolique polaire est récupérée et qui va servir pour le dosage des polyphénols totaux (Kalantzakis et al., 2006).

I.2.4.2. Dosage des composés phénoliques

❖ Principe

Les polyphénols totaux sont dosés par le suivi de leur capacité à réduire les acides phosphotungstiques et phosphomolybdiques, contenus dans le réactif de Folin-Ciocalteu en oxydes de tungstène et molybdène (W₈O₂₃ et Mo₈O₂₃). Ces derniers présentent une coloration bleutée mesurée à 760 nm proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les échantillons (Singleton et al., 1999).

❖ Matériels et Réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Pipettes • Tubes à essais • Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> • L'eau distillée • Folin-Ciocalteu • Carbonate de sodium à 35%

❖ Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques totaux des échantillons de l'huile d'olive ainsi que les additifs est estimée par la méthode décrite par **Turkmen et al. (2006)**.

1 ml de l'échantillon dilué 10–75 fois avec de l'eau distillée a été mélangé à 1 ml de Réactif Folin-Ciocalteu dilué 3 fois. Deux millilitres de la solution de carbonate de sodium à 35% est ajoutés au mélange, bien agiter et diluer à 6 ml en ajoutant 2 ml d'eau distillée. Laisser le mélange reposé pendant 30 min, la couleur bleue formée est mesurée à 700 nm en utilisant un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (allant de 0,005 à 0,05 mg / ml) a été préparée (**Turkmen et al., 2006**).

❖ Expression des résultats

Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, et qui sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par 100 gramme de l'huile d'olive (**Turkmen et al., 2006**)(Annexe I).

I.2.5. Détermination des pro-anthocyanidines

❖ Matériel et Réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Pipettes • Tubes à essais • Vortex • bain-marie • Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> • butanol-HCl (butanol: HCl, 95: 5; V / V) • ferrique à 2% (2% de sulfate d'ammonium ferrique dans 2M HCl)

❖ Mode opératoire

La méthode suivie est celle décrite par **Maksimovic et al. (2005)**. Des aliquotes de 0,5 ml des échantillons préparés (huiles d'olives et additifs) ont été transférés dans des éprouvettes. Après addition de 3,0 ml de réactif butanol-HCl (butanol: HCl, 95: 5; V / V) et 0,1 ml de réactif ferrique à 2% (2% de sulfate d'ammonium ferrique dans 2M HCl), les tubes à essai ont été mélangés à l'aide d'un vortex et mis au bain-marie bouillant pendant 60 min. Après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 550 nm en utilisant un blanc contenant 0,5 ml de solvant au lieu de l'échantillon.

❖ Expression des résultats

Les concentrations en pro-anthocyanidines sont exprimées en mg/100 g de l'huile d'olive en appliquant la formule suivante (**Hatipoglu et al., 2013**) :

$$\text{Quantité de Pro-anthocyanidine} = \frac{(\text{A550 nm}) \text{ E} - (\text{A550 nm}) \text{ B}}{\epsilon \times \text{L}} \times (\text{MW}) \times (\text{DF}) \times 1000$$

Avec :

(A550) E = absorbance de l'échantillon à 550 nm ;

(A550) B = absorbance du blanc 550 nm ;

ϵ = Coefficient d'extinction molaire de cyanidine ($17,360 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ;

L = Trajet de la cuve (1 cm)

MW = Poids moléculaire de cyanidine (287 g mol^{-1}) ;

DF = Facteur de dilution (g l^{-1}) ;

1000 = Facteur de conversion du gramme en milligramme.

1.2.6. Analyse de la composition de l'huile d'olive en acides gras et des additifs par CPG-SM

1.2.6.1. Préparation des esters méthyliques pour l'huile d'olive

❖ Principe

La Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM) a été utilisée pour déterminer la composition en acide gras.

❖ Matériel et Réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance • Bain marie (45°C) • Centrifugeuse • Pipettes et Tubes à essais 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Heptane • HCl à 2 mol/l • NaOH à 2 mol/l

❖ Mode opératoire

20 mg d'un échantillon de l'huile d'olive a été placée dans un tube avec un bouchon à vis, additionner de 0,5 ml d'heptane. Après agitation, un volume correspondant à 0,2 ml de NaOH à 2 mol/l dans du méthanol a été ajouté au contenu du tube, porter au bain marie, agiter puis additionner 0,2 ml de HCl à 2 mol/l. Après une nouvelle agitation, ce mélange a été transvasé dans un petit tube en verre et laissé dans un endroit pour décanter. Un volume de 100 μl de la phase supérieure a été relevé, placé dans un tube en verre et évaporé en milieu ventilé. Le contenu du tube a été repris dans 50 μl d'heptane (Karleskind, 1992). Après extraction à l'heptane, les esters méthyliques ont été ensuite analysés par CPG sur des colonnes polaires pour obtenir le profil en acide gras (AG).

I.2.6.2. Détermination du profil composant des échantillons par CPG/SM

Les analyses CPG/SM ont été réalisées à l'aide d'un Chromatogramme associé à un Spectrophotomètre de Masse (Appareil: GC/MS Shimadzo QP 2010). La température de l'injecteur est de 250°C, la température de four a été programmée de 100°C (2 min) à 165°C, avec une augmentation 1°C/5min, suivi d'une stabilisation à cette même température pendant 15min, puis une augmentation de 5°C/min jusqu'à une température de 210°C (le temps nécessaire pour le chromatogramme est d'environ (44 min). L'Hélium est le gaz de combustion avec un flux de 1,4 ml/min. L'injection de 1 µl de l'échantillon est opérée à travers un injecteur diviseur. Les spectres de la masse ont été enregistrés à 70 eV d'énergie électronique.

Les composés sont identifiés en outre, par comparaison des temps de rétentions relatifs du CPG et les spectres de masse avec ceux des substances authentiques analysées sous les mêmes conditions. Le pourcentage de chaque composé au sein de l'échantillon est déterminé à partir des aires des pics.

I.3. Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits de l'huile d'olive et des additifs

I.3.1. Activité antioxydante totale (TAC)

❖ Principe

La capacité antioxydant totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{-2} à molybdène Mo (V) MoO^{+2} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (Prieto et al., 1999).

❖ Matériel et Réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Pipettes • Tubes à essais • Vortex • bain-marie • Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol • réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium).

❖ Mode opératoire

Un volume de 0.5 ml de chaque échantillon (l'huile est diluée dans du méthanol : 0,1 ml huile + 0,4 ml méthanol) est mélangé avec 5 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm

contre un blanc qui contient 5 ml de la solution du réactif et 0.5 ml du méthanol et qui est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

❖ Expression des résultats

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par cent gramme d'huile d'olive (mg EAA/100g) (Annexe I).

I.3.2. Pouvoir réducteur du fer des extraits de l'huile d'olive et des additifs (FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power)

❖ Principe

Ce pouvoir mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique Fe^{3+} ($FeCl_3$) en fer ferreux Fe^{2+} ($FeCl_2$) en présence d'un agent chromogène ferricyanure de potassium $K_3[Fe(CN)_6]$. Ceci se traduit par le virage de la couleur de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant (Chou *et al.*, 2003).

❖ Matériel et Réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Pipettes • Tubes à essais • Centrifugeuse • Bain-marie • Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) • Ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%). • Acide trichloracétique (10%) • $FeCl_3, 6 H_2O$ (0.1%)

❖ Mode opératoire

La méthode appliquée est celle préconisée par **Gülçin et al. (2002)**. 1 ml d'extrait méthanolique est mélangées avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min puis additionnés de 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%). Le tout est centrifugé à 3000 tr/10min. Enfin, 2.5 ml du surnageant de chaque extrait est mélangé avec 2.5 ml de l'eau distillée et 0.5 ml de $FeCl_3, 6 H_2O$ (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

❖ Expression des résultats

La concentration des composés réducteurs (antioxydants) dans l'extrait est exprimée en milligramme Equivalent Acide Ascorbique par cent gramme d'huile d'olive (mg EAA/100g de l'huile d'olive en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe I).

I.3.3. Activité anti-radicalaire (DPPH Scavenging Activity)

❖ Principe

Le principe de ce test se résume dans la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) qui se traduit par la transformation de la couleur violette foncée à une couleur jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurée par spectrophotométrie (Marouane et al., 2014).

❖ Matériel et Réactifs

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Micropipette • Tubes à essais • bain-marie • Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> • Solution méthanolique du DPPH (0,004%).

❖ Mode opératoire

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

❖ Expression des résultats

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

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

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par 100 gramme d'huile d'olive (mg EAA/ 100g) (Annexe I).

I. 4. Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des huiles d'olive par le test de vieillissement

❖ Principe

Le principe de ce test est de mettre un maximum d'échange entre l'oxygène de l'air et l'huile d'olive à température élevée.

❖ **Matériel et Réactifs**

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance • Boîtes de Pétri en verre • Erlenmeyer • Pipettes • Burette • Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Acide acétique / chloroforme (3V/2V) • Empois d'amidon • Solution d'iodure de potassium saturée • Solution de thiosulfate de sodium à 0,01N • Ether de pétrole

❖ **Mode opératoire**

5 g de l'huile d'olive sont placés dans une boîte de Pétri afin d'obtenir un rapport : masse huile d'olive/ surface équivalent à 5 g / 70 cm².

L'ensemble des échantillons sont placés dans une étuve thermo- statée à 50+/- 2°C avec renouvellement d'air. Le suivi analytique de l'évolution de l'état d'oxydation des échantillons est déterminé par la mesure de l'indice de peroxyde ainsi que K232 et K270 après 10 jours puis 15 jours. En parallèle, le même travail a été refait mais cette fois ci les échantillons sont placés à température ambiante (**Rolland, 2004 ; Sekour, 2012**).

I.5. Etude statistique

Les méthodes classiques de statistiques ont été utilisées pour calculer les moyennes et les écarts-types. Toutes les mesures ont été reproduites deux fois et les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type.

La différence entre les caractéristiques physico-chimiques et la stabilité oxydative des huiles d'olives étudiées et la détermination des taux de signification sont effectués par le test ANOVA pour les comparaisons multiples. Une probabilité de p inférieur à 0.05 a été adoptée comme critère de différences significatives.

II. Résultats et Discussion

II.1. Caractères physico-chimique de l'huile d'olive vierge

Le tableau ci-dessous représente l'ensemble des caractères physico-chimiques de l'huile d'olive vierge.

Tableau IV : Les caractères physicochimique de l'huile d'olive vierge.

	pH	A %	IP	IS	K232	K270	Densité	Teneur en eau %
HOV	6,82 ±0,01	1,4586 ±0,07	10,5 ±0,7	195,5 4	1,2635 ±0,01	0,0224 ±0,001	0,9102	0,095 ±0,007
COI (2015)		≤ 2%	≤ 20	184- 196	≤ 2,60	≤ 0.25	0,910- 0,916	0.2 %

Les résultats obtenus sont tous conformes aux normes données par le Conseil Oléicole International (COI, 2015), ce qui signifie que cette huile d'olive est de bonne qualité.

Les résultats obtenus montrent que l'huile d'olive vierge présente une densité de 0,9102 et qui est conforme à la norme établie par le **C.O.I (2015)** (0.910-0.916 ; 20° C/eau à 20° C), ce qui nous permet de dire que cette huile est totalement pure ou à faible impuretés.

L'indice de saponification d'un corps gras est d'autant plus élevé que la chaîne carbonée des acides gras est courte. La valeur de l'indice de saponification obtenue dans notre cas est de 193,54 mg KOH/ g d'huile et qui est située dans l'intervalle donné par **C.O.I (2015)** ce qui explique la richesse notre huileen acide gras de courtes chaines.

Nos résultats sont proches de ceux obtenus par **Benabid (2009)** qui a fait des études sur l'huile d'olive de la région d'El Milia et qui a obtenu un indice de saponifications et qui est situé entre 182,36 - 201,05.

D'après **Benrachou et al. (2010)**, la détermination de l'indice de saponification est importante car il permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses auxquelles il est inversement proportionnel (plus le poids moléculaire d'acide gras est élevée, plus leur indice de saponification est faible).

II.2. Caractères physico-chimiques des huiles d'olive vierges conservées avec des additifs naturels

II.2.1. Résultats de la teneur en eau et en matières volatiles

L'eau et les substances volatiles sont déterminées par la perte de poids de l'échantillon chauffé à 105°C pendant un temps suffisant pour permettre l'élimination totale de l'eau et des produits volatiles (COI, 2011). Les résultats sont présentés dans la figure suivante :

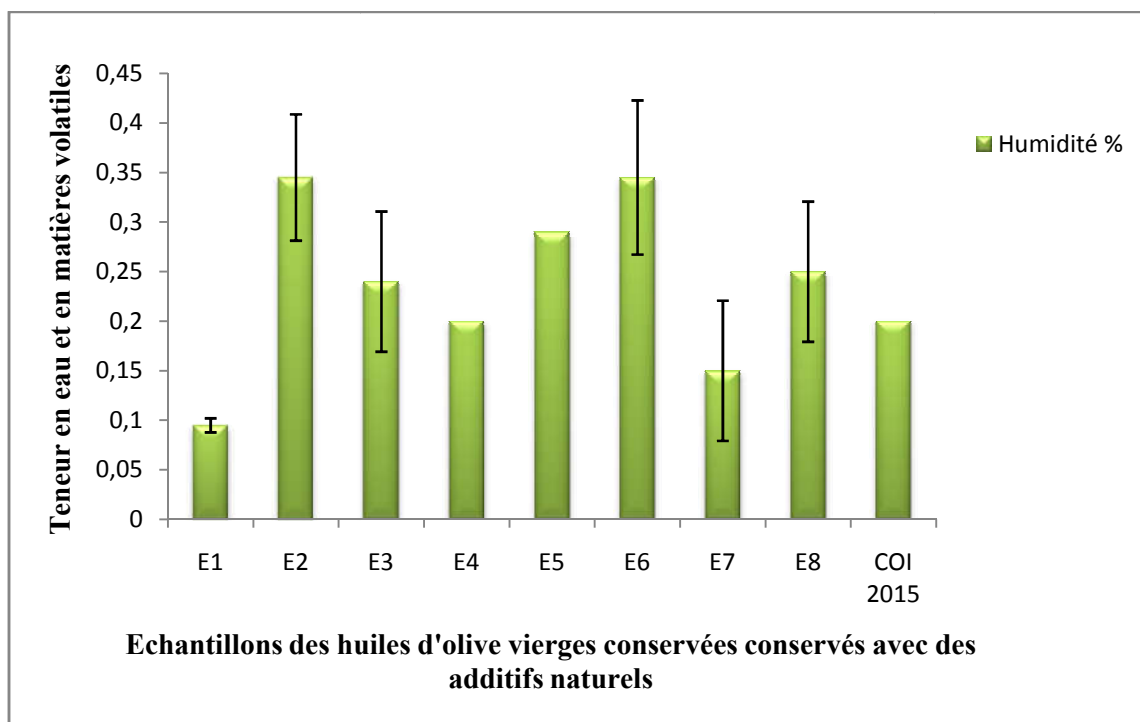


Fig. 12 : Histogramme présentant la teneur en eau et en matières volatiles des échantillons étudiés.

E1 : Huile d'olive témoin sans O₂

E5 : Huile d'olive avec O₂+CL

E2 : Huile d'olive (récipient en verre +O₂)

E6 : Huile d'olive avec O₂+ETH

E3 : Huile d'olive avec O₂+AG

E7 : Huile d'olive avec O₂+TYTO

E4 : Huile d'olive avec O₂+OG

E8 : Huile d'olive mal conservé (récipient en plastique + O₂)

Les valeurs de la teneur en eau varient entre 0,10% et 0,345%. Les échantillons E2, E3, E5, E6 et E8 possèdent la teneur la plus élevée en eau qui est successivement de 0,345± 0,06% ; 0,24 ± 0,07% ; 0,29 ± 0% ; 0,29 ± 0% ; 0,25 ± 0,07%. Ces valeurs sont relativement supérieures aux normes établies par le C.A (2015) et C.O.I (2015) qui doit être (≤ 0,2%), alors que l'échantillon E1,

E4 et E7 ont la teneur la plus faible en eau qui est successivement de $0,095 \pm 0,007\%$, $0,2 \pm 0 \%$ et $0,15 \pm 0,07 \%$ et qui sont conformes aux normes.

Nos résultats sont totalement supérieurs à ceux trouvés par **Haddamet al.(2014)** et qui varient de 0,06 à 0,17% .

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

L'augmentation de la teneur en matière volatile peut être expliquée par l'oxydation des acides gras (**Kalua et al., 2007**).

II.2.2. Résultats du pH et de l'acidité

l'acidité libre est un paramètre qui permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique des chaînes d'acides gras des triglycérides en acides gras libres et de glycérides partiels, suite à un mauvais traitement ou à une mauvaise conservation (**Tanouti et al., 2011**).

Elle est exprimée en pourcentage (%) d'acide oléique (**Boulfane et al., 2015**). Le pH, l'indice d'acide et l'acidité oléique de huit échantillons d'huile analysés sont illustrés dans la figure suivante :

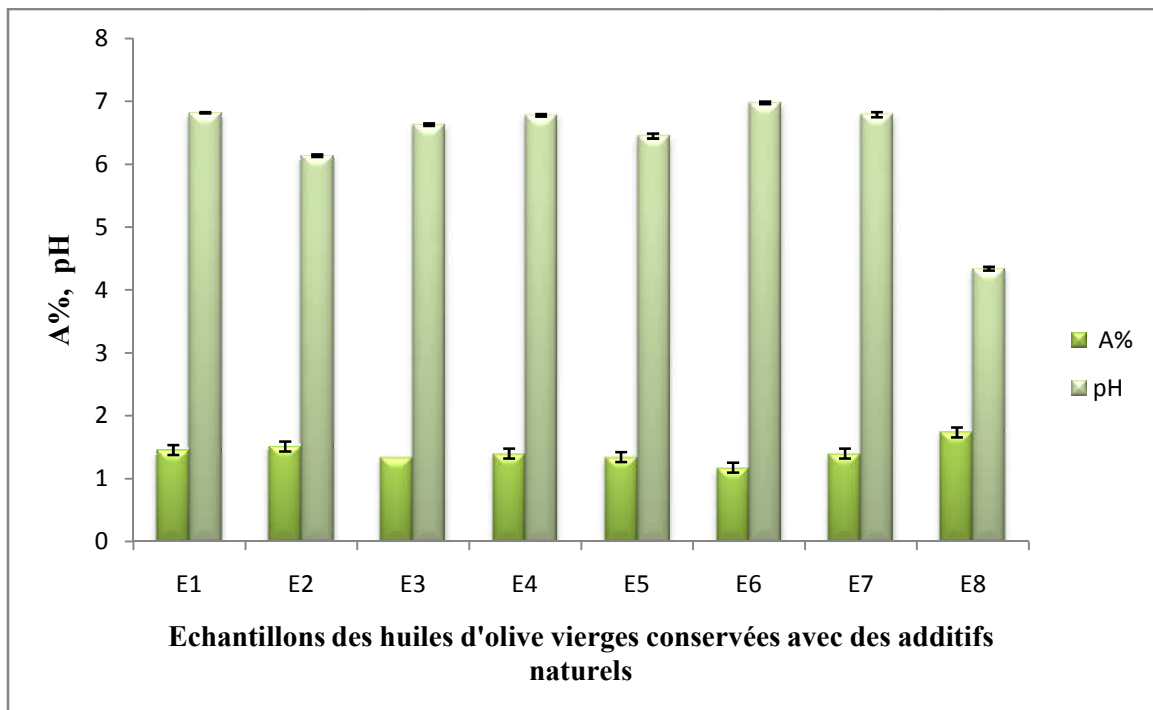


Fig. 13 : Histogramme présentant, le pourcentage d'acidité et le pH des échantillons étudiés.

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que tous les échantillons présentent une acidité $A\% \leq 1,75\%$ ce qui nous permet de classer notre huile d'olive dans la catégorie « *huile d'olive vierge* » puisque la teneur en acide gras libre des échantillons analysés reste en dessous de la norme fixée par COI ($A\% \leq 2\%$) (COI, 2015).

Egalement l'acidité de tous les échantillons conservés avec des additifs naturels est inférieure à l'acidité de les échantillons E2 (avec O₂ + récipient en verre) et E8 (avec O₂ + récipient en plastique).

Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par **Boulafne et al. (2015)** qui est ($1,77 \pm 0,01$). Et sont semblable à celles de quelque variété de la Turquie (entre 0,5 et 1,71 %) analysées par **Tanilgan et al. (2007)**.

Il ressort de la figure 13, que les résultats de l'acidité obtenus coïncident à ceux du pH. En effet, le pH des huiles d'olive étudiées varie entre 4,34 et 6,98 dont la valeur maximale ($6,98 \pm 0,02$) est observée avec l'échantillon E6 et qui correspond aux faible taux d'acidité ($1,175 \pm 0,07$). Par contre, l'échantillon E8 qui a la valeur d'acidité la plus élevée ($1,735 \pm 0,07$) prend la valeur du pH la plus basse ($4,34 \pm 0,03$).

D'après **Tanouti et al. (2010)**, une huile d'olive fraîchement extraite à partir des olives saines, en respectant les de bonnes pratiques de trituration, présente une très faible acidité. Dans le cas contraire et au cours du stockage, l'huile d'olive peut s'altérer et son acidité augmente suite à la libération d'acides gras libre par hydrolyse des triglycérides.

Par ailleurs, **Meftah et al. (2014)**, ont rapporté que l'acidité élevée est le résultat d'une oxydation poussée, qui se traduit par un rancissement de l'huile et qui est due à la dégradation des acides gras insaturés (acide oléique et linoléique) et à la production des composés secondaires d'oxydation.

II.2.3. Résultats de l'indice de peroxyde

Les résultats de l'indice de peroxyde de différents échantillons étudiés sont présentés dans la figure 14. Les résultats sont exprimés en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'huile (még O₂ actif /Kg d'huile olive).

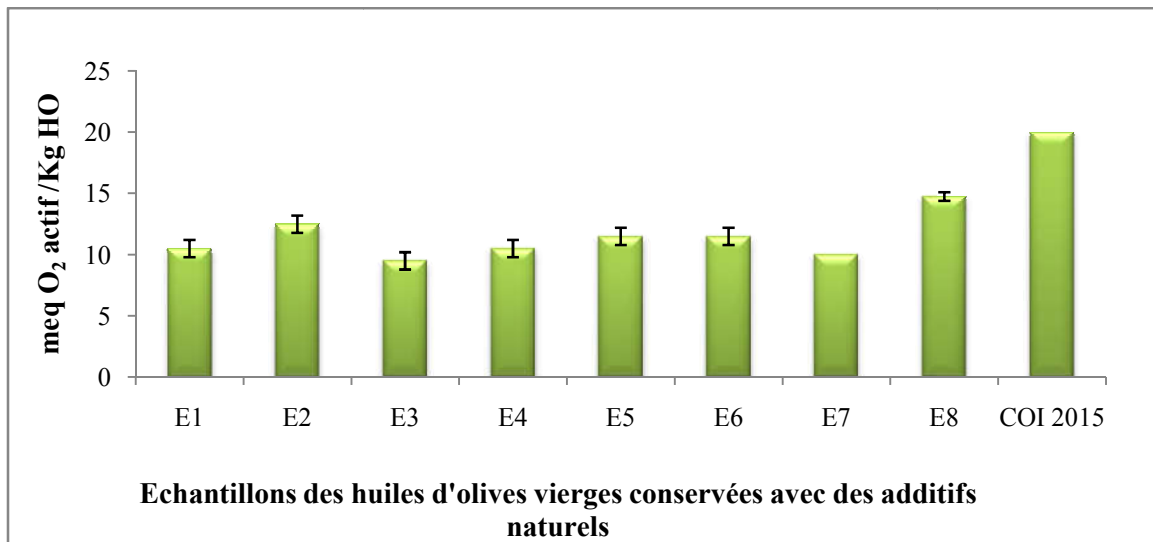


Fig. 14 :Histogramme présentant l'indice de peroxyde des échantillons étudiés.

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

Nous remarquons que l'indice de peroxyde (IP) oscille entre 9,5 pour l'échantillon E3 et 14,75 meq O₂ actif / Kg d'huile d'olive pour l'échantillon E8. Ces valeurs restent inférieures à la limite établie par la norme commerciale du Conseil Oléicole International pour les huiles d'olive vierges (≤ 20 meq O₂ actif / kg d'huile olive) (COI, 2015).

Egalement l'indice de peroxyde de tous les échantillons conservés avec des additifs naturels est inférieure à l'acidité des échantillons E2 (avec O₂ + récipient en verre) et E8 (avec O₂ + récipient en plastique).

L'indice de peroxyde (IP) de l'échantillon E3 montre la plus faible valeur ($9,5 \pm 0,70$ meq O₂ actif / Kg HO) qui peut être expliqué par la présence de l'acide gallique qui est considéré comme antioxydant le plus efficace dans la prévention de la oxydation des huiles pour augmenter la stabilité à l'oxydation (Shahidi et Zhong, 2005).

Les échantillons E7, E4 et E1 présentent des indices de peroxyde de 10 ± 0 ; $10,5 \pm 0,70$ et $10,5 \pm 0,70$ meq O₂ actif / Kg HO respectivement, suivi par les échantillons E5, E6 avec 11,5 meq O₂ actif / Kg HO. Cependant, les échantillons E2 et E8 ont des valeurs d'IP (12,5 et 14,75 meq O₂ actif / Kg HO respectivement) plus élevés mais qui restent toujours inférieures de la limite établie

par le COI. Ceci peut être expliqué par une oxydation des huiles d'olive suite aux conditions de récoltes et post récoltes des olives et de conservation (**Boulfane et al., 2015**).

Ces résultats sont proches de ceux trouvés par **Boulfane et al. (2015)** qui ont obtenu des valeurs variant de 10,96 à 18,7 meq O₂/Kg pour des huiles d'olive issues des huileries traditionnelles de la région de la Chaouia (centre du Maroc). De plus, ils sont plus élevés que ceux rapportés par **BenTekaya et Hassouna (2007)** avec des valeurs de l'indice de peroxyde oscillent entre 6,6 et 11,5 meq O₂/kg pour les huiles d'olive de la Tunisie.

Ces valeurs de l'IP 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 dire que l'huile ne s'oxydait pas prématurément et se conservait au cours du temps.

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

II.2.4. Recherche du glycérol

Dans la nature, nous trouvons le glycérol sous forme de différents esters appelés glycérides. Selon le nombre de groupements hydroxyles estérifiés, il existe les mono-, di- et triglycérides. Ces derniers constituent la matière grasse : graisses, huiles, margarines.

Les graisses sont constituées d'acides gras saturés, les huiles d'acides gras insaturés (notamment l'acide oléique, acide gras en C18) et les margarines sont des émulsions de graisse et d'eau (quelques %) (**Cordella, 2004**).

Le tableau V et la figure 15 présentent les résultats de la recherche du glycérol dans les échantillons de l'huile d'olive vierge, nous constatons une différence au niveau de l'intensité de couleur de chaque échantillon, ce qui nous informe sur la teneur de glycérol (Tableau V).

Tableau V : Résultats de la recherche du glycérol.

Echantillon	intensité de la présence de glycérol
E1	++++
E2	++
E3	+
E4	+++

E5	++
E6	++
E7	+++
E8	+++
+ : intensité faible ; ++ : intensité moyenne ; +++ : intense ; ++++ : intensité élevée	

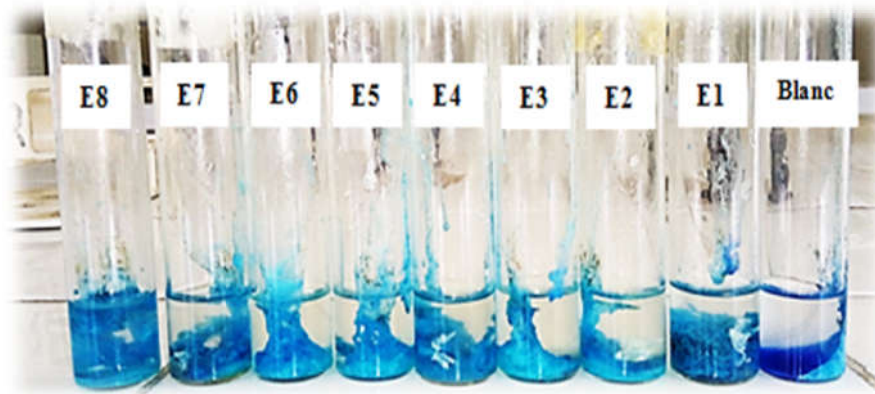


Fig.15 : Mise en évidence de la présence du glycérol.

En comparaison avec le blanc, la couleur la plus intense est obtenue avec l'échantillon E1 puis les échantillons E8, E7 et E4, alors que les échantillons E6, E5, E3 et E2 respectivement ont la plus faible intensité de couleur.

D'après **Cordella (2004)** et de manière générale, toute hydrolyse de matière grasse produit du glycérol et des acides gras; ce qui explique la couleur très intense des échantillons E1, E8 et E7.

II.2.5. Résultats de l'analyse spectrophotométrique dans l'Ultra-Violet (K 232 nm et K 270 nm)

Les valeurs des extinctions spécifiques obtenues pour les échantillons étudiés en Ultra-Violet à 232 nm et à 270 nm et ΔK sont présentées dans la figure 16 et le tableau VI.

Les valeurs des extinctions spécifiques en Ultra-Violet K232 et K270 obtenues pour tous les échantillons d'huile d'olive étudiés, indiquent qu'elles n'excèdent pas les limites fixées par le Conseil Oléicole International pour les huiles d'olive vierges (**COI, 2015**), qui sont respectivement inférieures ou égales à 2,6 et 0,25.

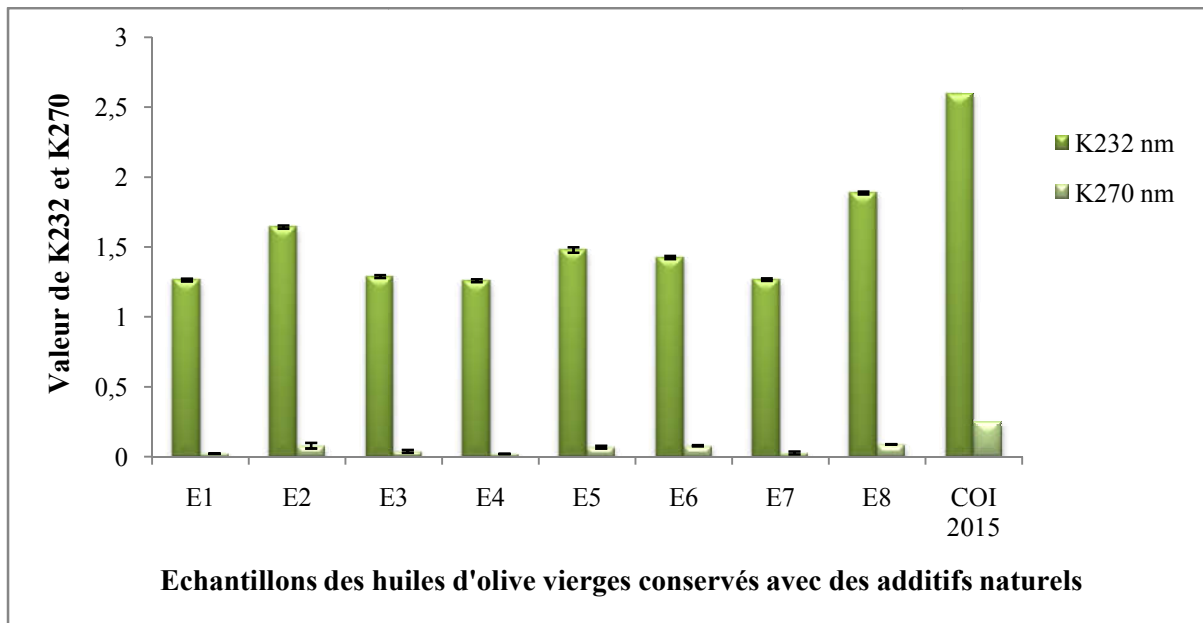


Fig. 16 : Histogramme présentant les extinctions spécifiques en UV des échantillons étudiés.

Les résultats obtenus montrent que les échantillons E1, E3, E4 et E7 possèdent les valeurs de K232nm et K 270 nm les plus faibles. Il est à noter que ces mêmes huiles, ont présenté des valeurs d'indice de peroxyde les moins élevés que les autres échantillons respectivement. Ce qui peut s'expliquer par une meilleure conservation et qui est due probablement la protection de l'huile d'olive vierge contre l'O₂ pour l'échantillon E1 ou bien à l'effet protecteur des additifs ajoutés à l'huile d'olive qui sont l'acide gallique (AG) pour l'échantillon E3, huile essentielle d'*Origanum glandulosum* (OG) pour l'échantillon E4 et l'huile essentielle de *Thymus numidicus* (TYTO) pour l'échantillon E7.

Par contre, l'échantillon E8 montre les plus grandes valeurs d'extinctions spécifiques 1,8878± 0,0101 pour le K232 nm et 0,0896±0,0007 pour le K270 nm. De même cet échantillon présente la valeur de l'indice de peroxyde la plus élevée ce qui s'explique peut-être par les mauvaises conditions de conservation (récipient en plastique et exposition à l'O₂) (COI, 2015).

L'extinction spécifique à 232 nm et à 270 nm d'une huile reflète son état d'oxydation. Plus son extinction à 232 nm est forte, plus elle est peroxydée. De même, plus l'extinction à 270 nm est forte, plus l'huile est riche en produits d'oxydation secondaires et traduit sa faible aptitude à la conservation (Boulfane et al., 2015).

Tableau VI : Valeurs de ΔK des échantillons étudiés.

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
ΔK	0,01265	0,007225	0,02295	0,0114	0,01565	0,01245	0,02685	0,0084

La variation de l'extinction spécifique ΔK , varie d'un échantillon à l'autre mais sa valeur reste comparable à celle établie par le Conseil Oléicole International ($\Delta K < 0,01$) (COI, 2015).

II.2.6. Teneurs en composés phénoliques des huiles d'olive vierges et des additifs

II.2.6.1. Huile d'olive conservée avec des additifs naturels

- Rendements en polyphénols des différents échantillons d'huile d'olive

L'extraction des composés phénoliques par le méthanol des huiles étudiées, nous a permis de déterminer leurs rendements en polyphénols. Les résultats sont exprimés en g par 100 g d'huile d'olive (Fig. 17).

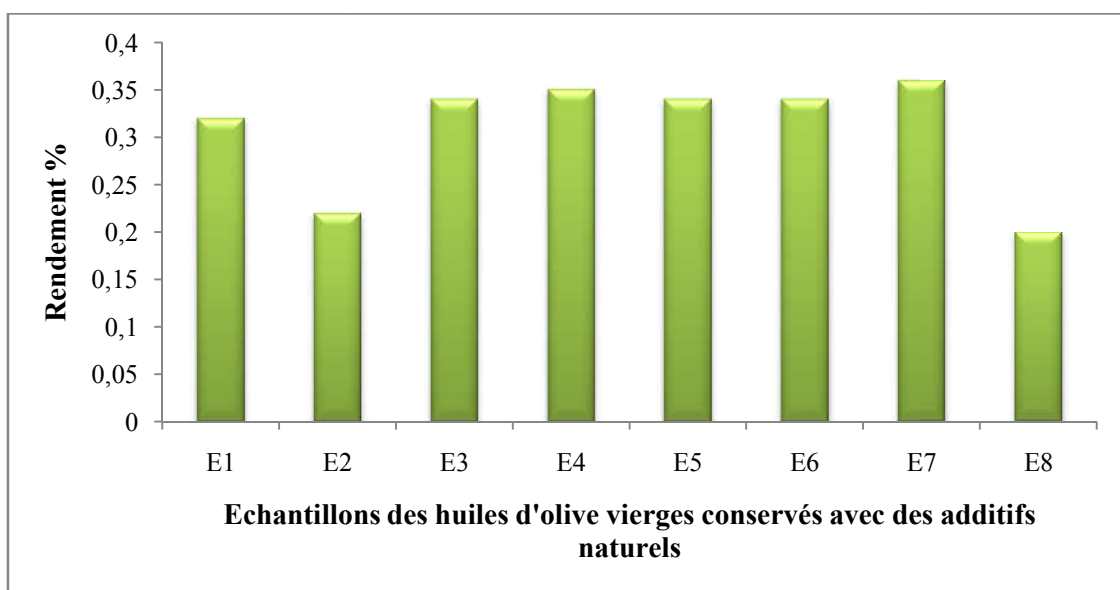


Fig. 17 : Histogramme présentant les rendements en polyphénols des extraits méthanoliques des échantillons étudiés.

Nous constatons que l'échantillon E7 enregistre le rendement le plus élevé qui est de 0,36% suivi par l'échantillon E4. L'échantillon E8 présente le rendement le plus faible (0,2%).

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement en extrait varie en fonction de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, de l'espèce et l'origine géographique de la plante, des conditions et de la durée du stockage et de la période de la récolte (Haddouchi et al., 2016).

- Dosage des polyphénols des différents extraits méthanoliques des échantillons étudiés

La teneur en composés phénoliques totaux dans les huiles d'olive a été très souvent déterminée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu (Ollivier et al., 2004). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante :

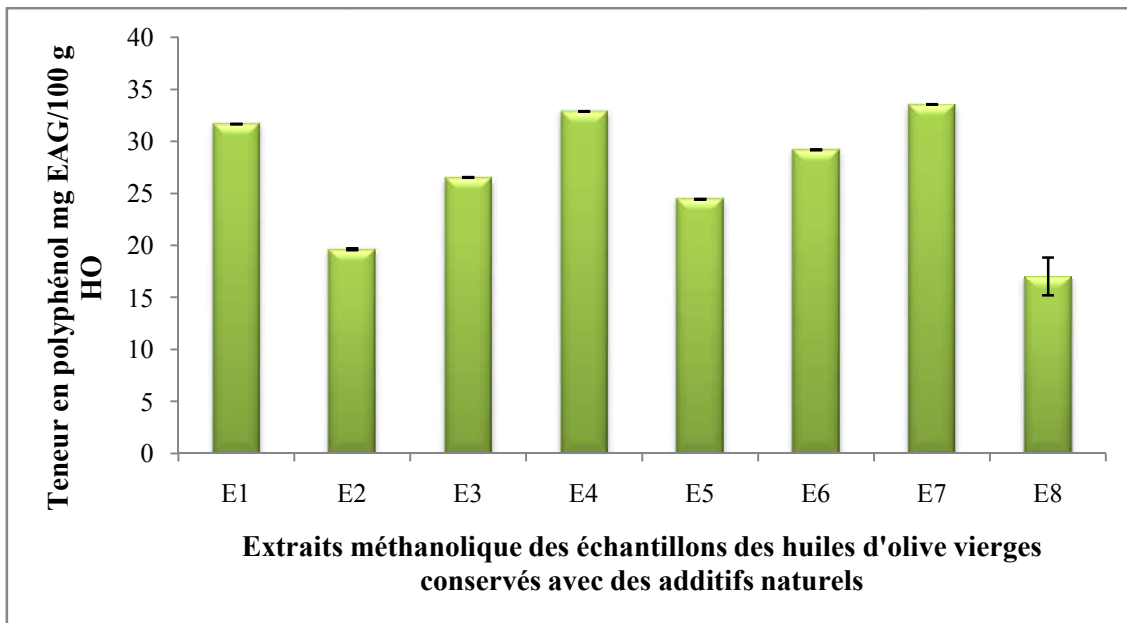


Fig. 18 : Histogramme présentant les teneurs en polyphénols des extraits méthanoliques des échantillons étudiés.

Les résultats obtenus montrent que les échantillons E7, E4 et E1 présentent des teneurs en polyphénols totaux les plus élevées qui sont respectivement $33,56 \pm 0,007$; $32,91 \pm 0,002$; $31,67 \pm 0,002$ mg EAG /100g. Alors que les échantillons E2 et E8 ont les teneurs les plus faibles qui sont respectivement $19,64 \pm 0,08$ et $17,04 \pm 1,8$ mg EAG /100g.

Les résultats que nous avons obtenus sont en accord avec ceux de **Meftah et al., 2014** qui ont travaillé sur les huiles d'olive de la région de Tadla Azilal (Maroc) (179,9 à 281,35 mg/kg).

L'huile d'olive vierge contient une quantité appréciable de composés phénoliques. Ces derniers sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation et se conserve assez longtemps. Une huile d'olive de bonne qualité possède plus de 200 ppm en polyphénols (**Essiari et al., 2014**). Ce qui reflète notre résultat ; les échantillons ayant un rendement élevé en polyphénols présentent des indices de peroxydes et des coefficients d'extinctions les plus faibles.

Les composés phénoliques confèrent également à l'huile d'olive une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant (**Tanouti et al., 2011**).

La présence des feuilles lors du broyage des olives peut aussi augmenter la concentration en composés phénoliques dans les huiles d'olive (**Boudhioua et al., 2008**).

Les variations des teneurs observées peuvent être dues à la différence du degré de maturité des olives avant trituration, (récolte précoce des olives) mais dépendent également de la variété cultivée et de la zone géographique (**Garcia et al., 2003**). Mais dans notre cas il s'agit de la même

huile conservée avec divers additifs naturels ce qui peut s'expliquer par enrichissement de ces huiles d'olive vierges en composés phénoliques par ces additifs.

L'augmentation des teneurs en polyphénols de certaines huiles aromatisées peut être due à leur enrichissement par l'ajout des extraits des plantes riche en polyphénols.

Une étude effectuée sur plusieurs plantes de la famille de Lamiacées (des espèces du thym comprennent des teneurs qui varient de 12,1 à 14,1mg EAG/g d'extrait phénolique) (Cosio *et al.*, 2006). Cela explique la teneur la plus élevée en polyphénols dans les extraits de l'huile d'olive enrichie.

II.2.6.2. Dosage des polyphénols des additifs (extrait chloroformique (CL) et extrait d'acétate d'éthyle (ET) du Lichen *Evernia prunastri*)

Les résultats du dosage des composés phénoliques sont présentés dans la figure suivante:

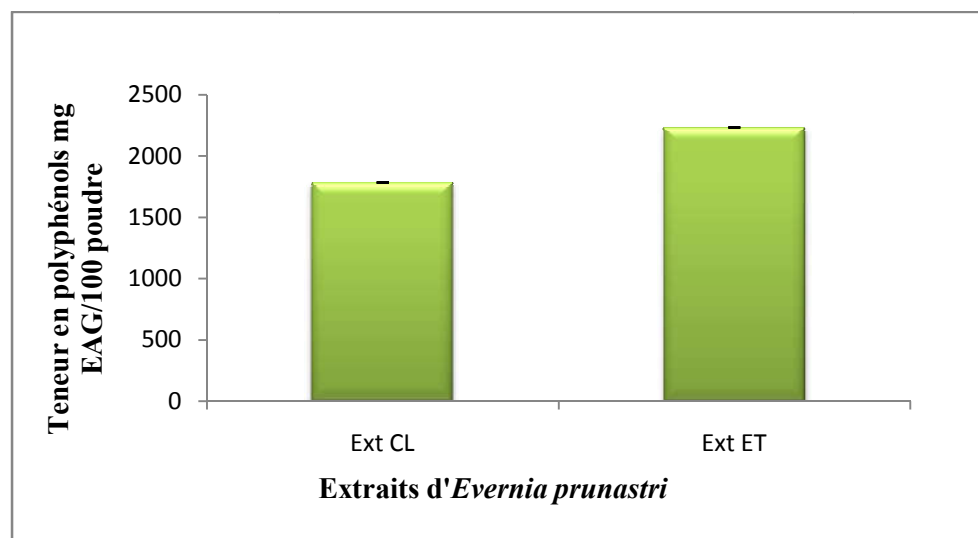


Fig. 19 : Histogramme présentant les teneurs en polyphénols des extraits d'*Evernia prunastri*

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que les extraits ET et CL possèdent des teneurs en polyphénols très élevées qui sont de l'ordre de 1784,978 et 2233,45mg EAG/100g de poudre respectivement.

Les lichens montrent un métabolisme particulier qui se traduit par la biosynthèse de substances phénoliques fréquemment spécifiques (Quilhot *et al.*, 1991).

Ils sont communément subdivisés en acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou dérivés de l'acide cinnamique), coumarines, stilbènes, flavonoïdes, lignanes, lignines, tanins (Cheynier, 2005 ; Georgé *et al.*, 2005).

II. 2.7. Teneurs en proanthocyanidines des huiles d'olive vierges et des additifs

- **Huile d'olive conservée avec des additifs naturels**

La figure 20 présente les teneurs en proanthocyanidines (mg/100 g de l'huile d'olive) des échantillons étudiés.

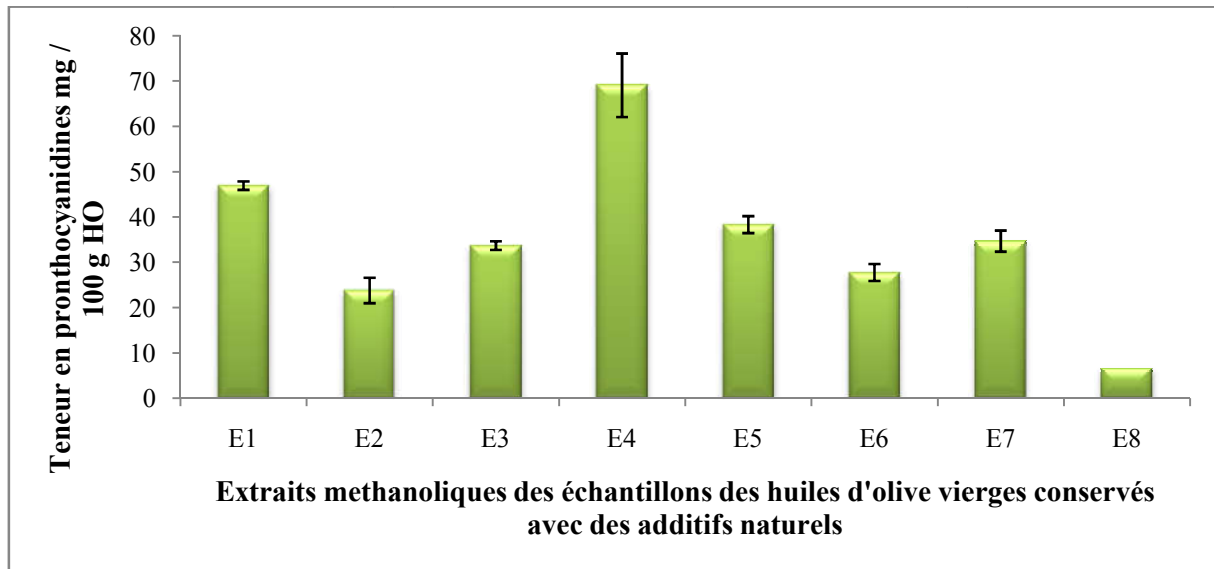


Fig. 20 : Histogramme présentant les teneurs en proanthocyanidines des extraits méthanoliques des échantillons étudiés.

La teneur la plus élevée a été trouvée dans l'échantillon E4 ($69,10 \pm 7,01$ mg/100g HO). Les échantillons E1 ; E3 ; E5 et E7 ont montré également des fortes teneurs avec des valeurs de $46,95 \pm 0,93$; $33,72 \pm 0,93$; $38,35 \pm 1,87$; $34,717 \pm 2,33$ mg/100g HO respectivement. Cependant E8 a donné la teneur la plus faible ($6,612 \pm 0$ mg/100g HO).

Les proanthocyanidines sont un groupe de bioflavonoïdes polyphénoliques que nous trouvons partout dans les fruits et les légumes. Les proanthocyanidines ont suscité l'intérêt en raison de leur vaste activité pharmacologique et de leur potentiel thérapeutique (**Bagchi et al., 1998**).

Les teneurs en proanthocyanidines peuvent être variables en raison de plusieurs facteurs tels que : la sensibilité des tanins aux différentes voies de dégradation (oxydation, la lumière...), le stade de maturité des fruits, les conditions culturales, climatiques ou le stress de prédation (**Ghedadba et al., 2015**).

La valeur la plus faible en proanthocyanidines de l'échantillon E8 en comparaison avec celles de l'échantillon E1 et E4 particulièrement peut s'expliquer par son oxydation vue que cet échantillon a été conservé dans de mauvaises conditions.

Les propriétés chimiques des bioflavonoïdes en ce qui concerne la disponibilité des hydrogènes phénoliques en tant que piègeurs de radicaux donneurs d'hydrogène et extincteurs d'oxygène singulet prédisent leur activité antioxydante. Pour qu'un cyanidine ou un bioflavonoïde soit défini comme un antioxydant, il doit remplir deux conditions de base : lorsqu'il est présent à de faibles concentrations par rapport au substrat à oxyder, il peut retarder ou empêcher l'autooxydation ou l'oxydation induite par les radicaux libres (**Bagchi et al., 1998**).

II.2.8. Analyse de la composition des huiles d'olive vierges en acides gras et des additifs par CPG/SM

II.2.8.1. Huile d'olive vierge

La figure ci-dessous montre la composition chimique de l'huile d'olive vierge en acide gras.

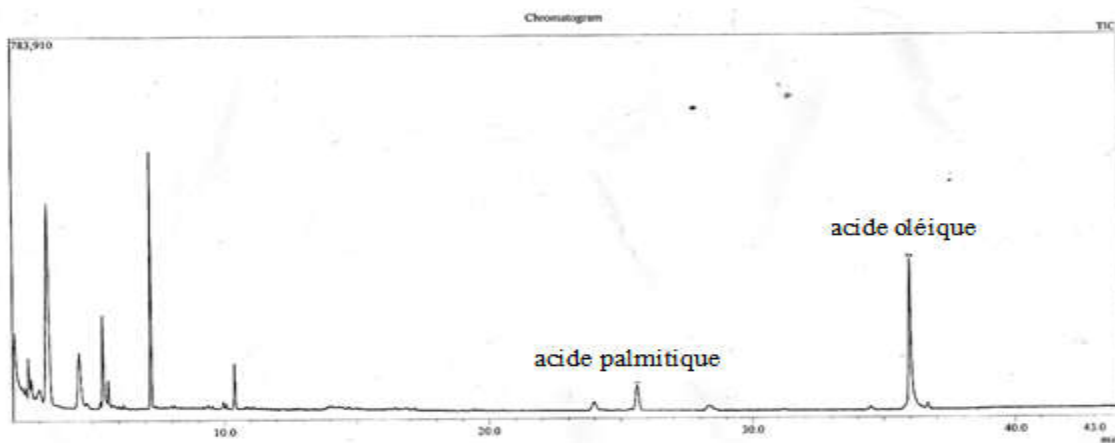


Fig.21 : Chromatogramme présentant la composition en acides gras de l'huile d'olive vierge.

Ce chromatogramme révèle la présence de deux pics 1 et 2 avec des temps de retentions de 25,634 min et 35,998 min et qui correspondent à l'acide palmitique et oléique respectivement (Annexe I).

II.2.8.2. Huiles essentielles OG et TYTO

Les huiles essentielles de *T. numidicus* (TYTO) et *O. glandulosum* (OG) ont été caractérisées par les mêmes composés majeurs incluant le carvacrol (46.8% et 33.8%, respectivement), *p*-cymène (21.2% et 15.8%, respectivement) et γ -terpinène (5.9% et 9.4%, respectivement). En plus, *O. glandulosum* est riche en thymol (25.7%). Ce qui montre une composition chimique riche en phénols et en carbures monocycliques (**Bekka-Hadji et al., 2016**).

Pour *T. numidicus* différents chemotypes ont été rapportés en Algérie et qui dépendent de l'origine géographique (chemotype à thymol (**Kabouche et al., 2005a ; Kabouche et al., 2005b ;**

Giordani et al., 2008) ; carvacrol et p-cymène comme composants prédominants (**Hazzit et Baaliouamer, 2007**). Cependant, notre échantillon collecté dans la région de Bejaia était de type carvacrol avec p-cymène, γ -terpinène, α -pinène et linalool en quantité considérable.

Pour la composition chimique, les huiles essentielles d'*O. glandulosum* collecté dans différentes régions de l'Est de l'Algérie ont montré la présence de trois chemotypes : chemotype à thymol, chemotype à carvacrol et chemotype à carvacrol/thymol (**Ruberto et al., 2002 ; Sari et al., 2006 ; Khalfi et al., 2008**). Les régions de Tlemcen et Jijel présentaient un chemotype à thymol (**Bendahou et al., 2008 ; Berrahl et al., 2010**). La région de Constantine était de chemotype thymol/carvacrol (**Ruberto et al., 2002**). **Sari et al. (2006)** ont identifié deux chemotypes pour les échantillons collectés dans la Wilaya de Bejaia (Taskriout et EL Kseur : chemotype à thymol ; Kharrata : chemotype à thymol et carvacrol). De même **Maiza et al. (2011)** ont démontré deux chemotypes dans la région même région (Barbacha : chemotype à carvacrol et chemotype à thymol et carvacrol). Les composants majeurs identifiés au niveau de notre échantillon d'origine de Bejaia étaient le thymol (25.7%), le carvacrol (33.8%), le p-cymène (15.8%) et le γ -terpinène (9.4%). Ce qui correspond au chemotype à thymol et carvacrol.

II.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des échantillons d'huile d'olive vierge conservés avec de additifs naturels

II.3.1. Activité antioxydant totale (TAC)

Les résultats de la capacité anti-oxydante de différents extraits des échantillons d'huile d'olive vierge sont présentés dans la figure suivante :

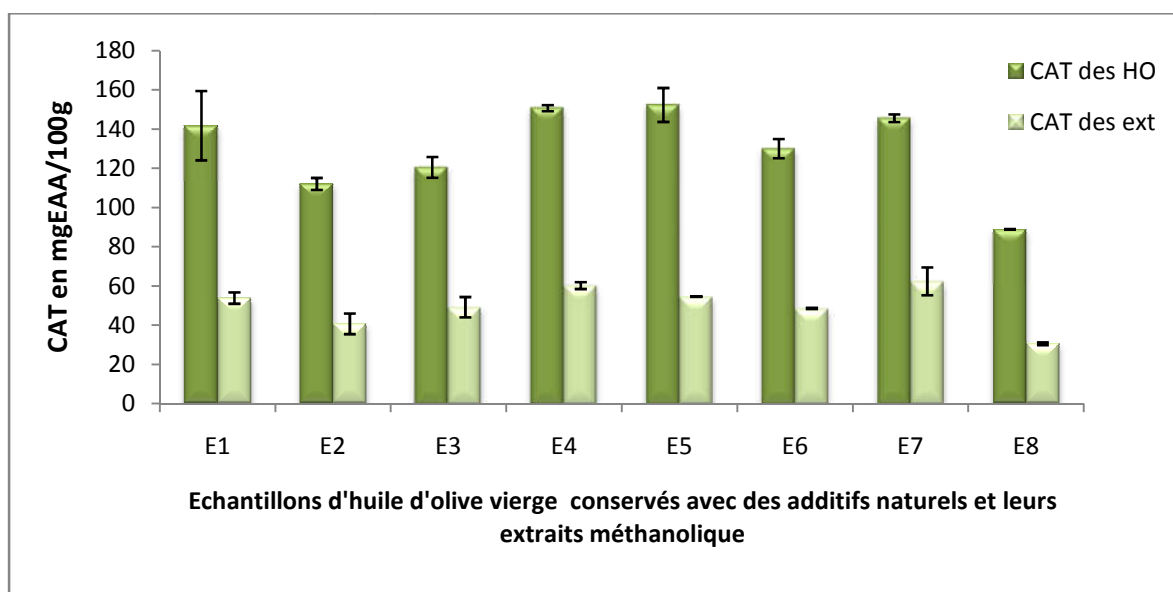


Fig. 22 : Histogramme présentant la capacité antioxydante totale des huiles d'olive vierges et les extraits méthanoliques des différents échantillons étudiés.

Les résultats obtenus montrent une très faible capacité antioxydante totale pour les échantillons E2 et E8 et cela que ce soit pour l'huile d'olive entières (53.714 et 15.584 ± 0.48 EAA/100g respectivement) ou bien pour l'extrait méthanolique (40.78 ± 5.27 et 30.60 ± 0.67 mgEAA/100g, respectivement). Ce qui peut être expliqué par les mauvaises conditions de conservation (E2 : exposition à l'O₂ ; E2 : exposition à l'O₂+ récipient en plastique).

D'après ces résultats, nous avons remarqué que la capacité anti-oxydante totale d'huile d'olive est supérieure à celle des extraits méthanoliques. Ce qui est expliquée par la richesse de l'huile d'olive par d'autres composés ; d'après **Prieto et al. (1999)** ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydant des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que la vitamine E, ...

Selon **Meot-Duros et al. (2008)**, l'activité anti-oxydante estimée par l'activité réductrice n'est pas due seulement aux polyphénols, mais aussi à d'autres composés tels que les acides organiques qui peuvent augmenter l'activité anti-oxydante. D'autre part, les études effectuées par **Jayaprakasha et al. (2008)**, ont montré que l'activité anti-oxydante dépend de la teneur en composés phénoliques des échantillons, de la position et du nombre de groupements hydroxylés.

II.3.2. Réduction de fer : FRAP (FerricReducingAntioxidant Power)

Le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) a été utilisé pour évaluer les capacités antioxydantes de 8 échantillons d'huile d'olive vierge conservés avec des additifs naturels. Le test FRAP est basé sur la capacité des antioxydants à réduire les ions ferriques (Fe³⁺) en ions ferreux (Fe²⁺) une méthode simple et largement utilisée pour évaluer la capacité antioxydante (**Fu et al., 2011**).

La concentration des composés réducteurs (antioxydants) dans les extraits méthanoliques est exprimée en mg Equivalent Acide Ascorbique (EAA)/100g d'extrait. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure ci-dessous. :

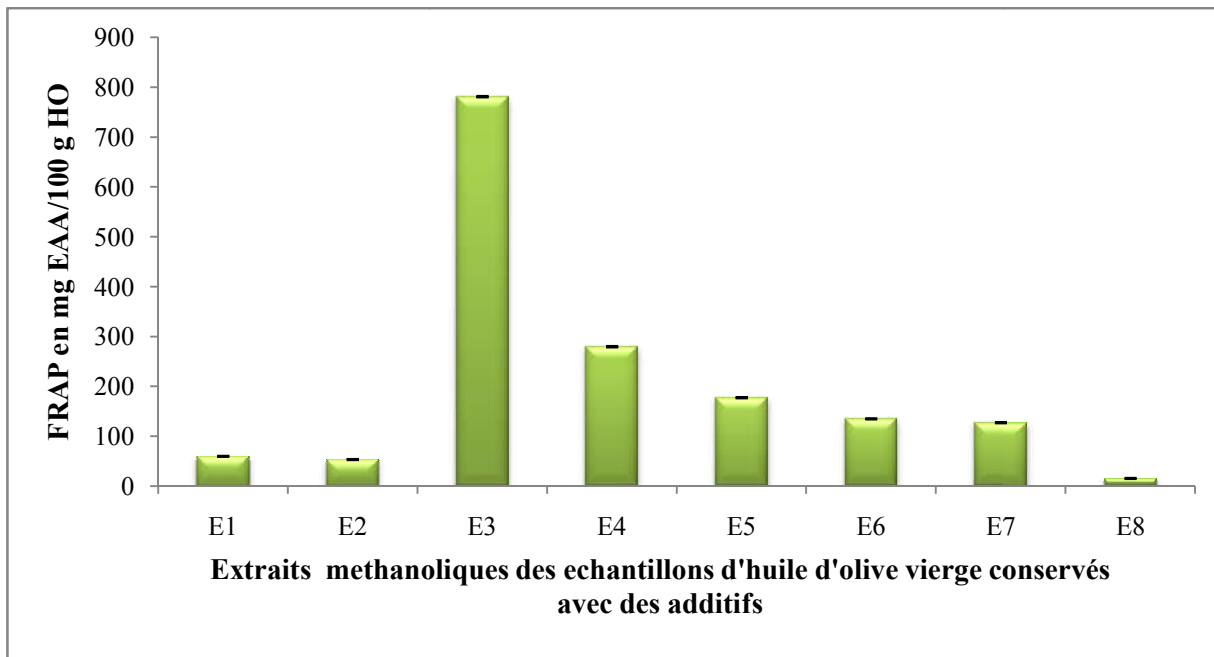


Fig.23 :Histogramme présentant le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) des extraits méthanoliques des différents échantillons étudiés.

D'après la figure 23, l'échantillon E3 donne une réduction des ions ferriques en ions ferreux de l'ordre de $781,142 \pm 0,80$ mg EAA/100gd'huile d'olive, suivi par l'échantillon E4 ($279,809 \pm 0,80$ mg EAA/100g HO).

L'échantillon E8 présente toujours la valeur la plus faible et qui peut être toujours expliqué par les mauvaises conditions de conservation.

Ce résultat traduit la richesse de ces extraits en composés phénoliques. Nous pouvons déduire alors de ce test joue un rôle très important dans la chélation des métaux de transition impliqués dans la réaction de Fenton par les polyphénols (formation de radicaux hydroxyles résultant de la réaction du fer avec le peroxyde d'hydrogène) (**Ghedadba et al., 2015**).

II.3.3. Activité anti-radicalaire (DPPH Scavengingactivity)

La neutralisation du radical DPPH• est utilisée afin d'évaluer la capacité antioxydante des composés naturels. Les molécules anti-oxydantes peuvent neutraliser les radicaux libres DPPH• et les convertir en d'autres composés plus stables, ce qui induit une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Brand-Williams et al., 1995**). Les résultats de l'activité anti-radicalaire des extraits méthanoliques de l'huile d'olive exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (figure 24) et en mg EAA/100g (figure 25).

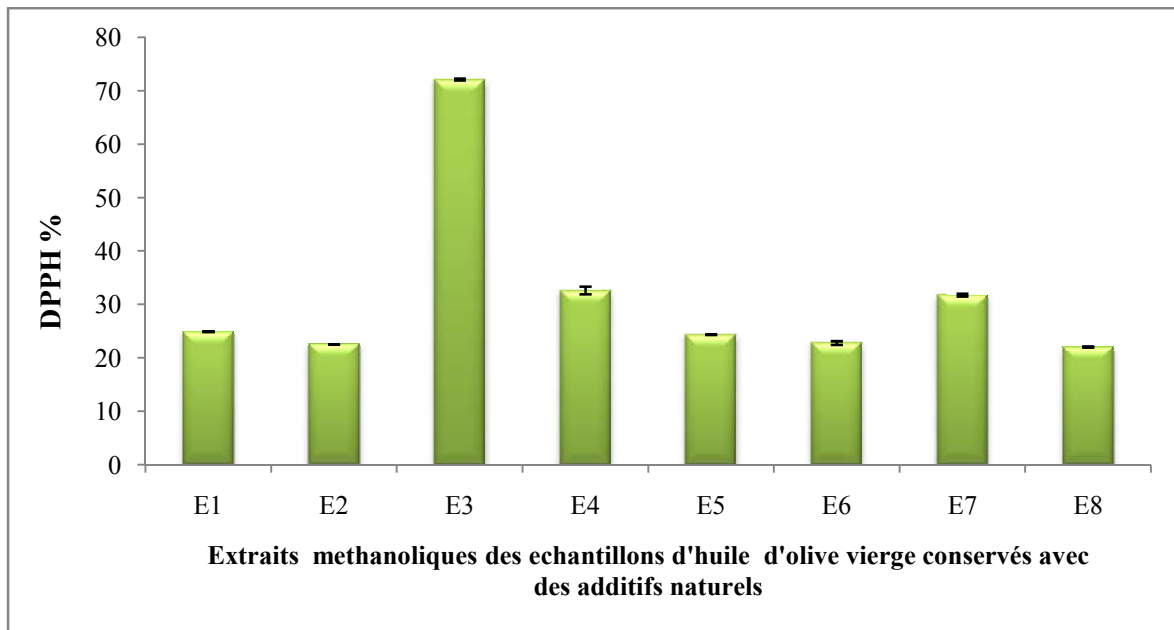


Fig. 24: Histogramme présentant l'activité antiradicalaire en % DPPH des extraits méthanoliques des différents échantillons étudiés.

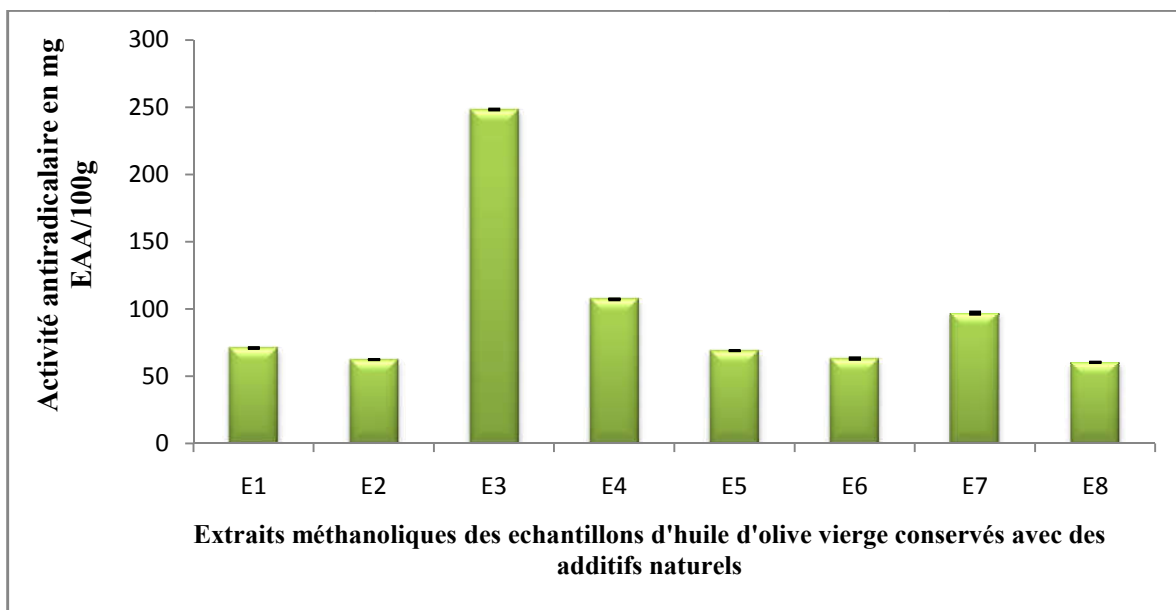


Fig. 25: Histogramme présentant l'activité antiradicalaire en mg EAA/100 g des extraits méthanoliques des différents échantillons étudiés.

Les extraits méthanoliques des échantillons E7, E4 et E3 et qui renferment les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux exercent une activité anti-radicalaire la plus importante et qui est de 97 ; 107.38 et 248.42 mg EAA/100g et inhibent 31.76 % ; 34.53% et 72.09% du radical DPPH• respectivement. Alors que la capacité anti-radicalaire des extraits d'huile échantillons E2 et E8 est de 62.49 et 60.56 mg EAA/100g et inhibe 22.75% et 22.06% du radical

DPPH•respectivement. Cette faible activité peut être due à ses faibles teneurs en polyphénols totaux (19.64 mg /100g et 17.04mg /100g) respectivement.

L'ensemble des résultats obtenus sont proches de ceux trouvés par **Nakbi et al. (2010)** pour les huiles d'olive des variétés Tunisiennes ou ils avaient enregistré des valeurs entre 37.23% et 78.56%.

Condelliet al. (2013) ont révélé que les différences observées sont essentiellement dues aux profils phénoliques.

Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé de groupements hydroxyles présentent l'activité anti-oxydante la plus élevée due à leur capacité de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (**Rodriguez-Bernaldo deQuiröset al., 2009**).

Les pourcentages d'activité anti-radicalaire des extraits phénoliques CL, ET et des huiles essentielles de TYT, OG sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Pourcentages de l'inhibition du DPPH[•] par les additifs naturels.

Activité anti-radicalaire (DPPH%)	
CL	31.20 %
ET	30.66 %
OG	58.41 %
TYTO	67.62 %

Les huiles essentielles OG et TYTO présentent un pouvoir anti-radicalaire très élevé en comparaison avec celui des extraits CL et ET. Ce résultat est accord avec les échantillons d'huile d'olive vierge E4 et E7 conservés avec les huiles essentielles d'OG et de TYTO respectivement, cela peut s'expliquer par l'effet conservateur de ces additifs dans l'huile d'olive vierge.

Plusieurs études ont évoqué l'activité antioxydante de plantes aromatiques appartenant au genre *Origanum et Thymus* (**Vardar-Uçlu et al., 2003 ; Tepe et al., 2004a ; Tepe et al., 2004b ; Sokmen et al., 2004**).

Tepe et al. (2005) ont étudié l'activité antioxydante de l'espèce *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*, ils ont constaté que le pourcentage de l'inhibition du DPPH[•] était très élevé et le taux d'inhibition de l'oxydation d'acide linoléique était similaire à celui du BHT, cela peut s'expliquer par la richesse de cette huile en phénols (carvacrol, thymol). Ce qui correspond peut-être à notre résultat obtenu.

II.4. Résultats du test de vieillissement

Afin d'évaluer la stabilité oxydative des huiles d'olive étudiées, nous avons fait appel au test de vieillissement, les échantillons sont déposés à la fois à température ambiante en présence de l'O₂ et à l'étuve à 50 ± 2 °C en présence toujours de l'O₂. Après 15 jours, l'indice de peroxyde et l'analyse spectrophotométrique à UV sont déterminés (figure 26 et 27).

L'indice de peroxyde, K232 et K270 des huiles conservées à l'obscurité sont utilisés comme témoin afin de faire une comparaison.

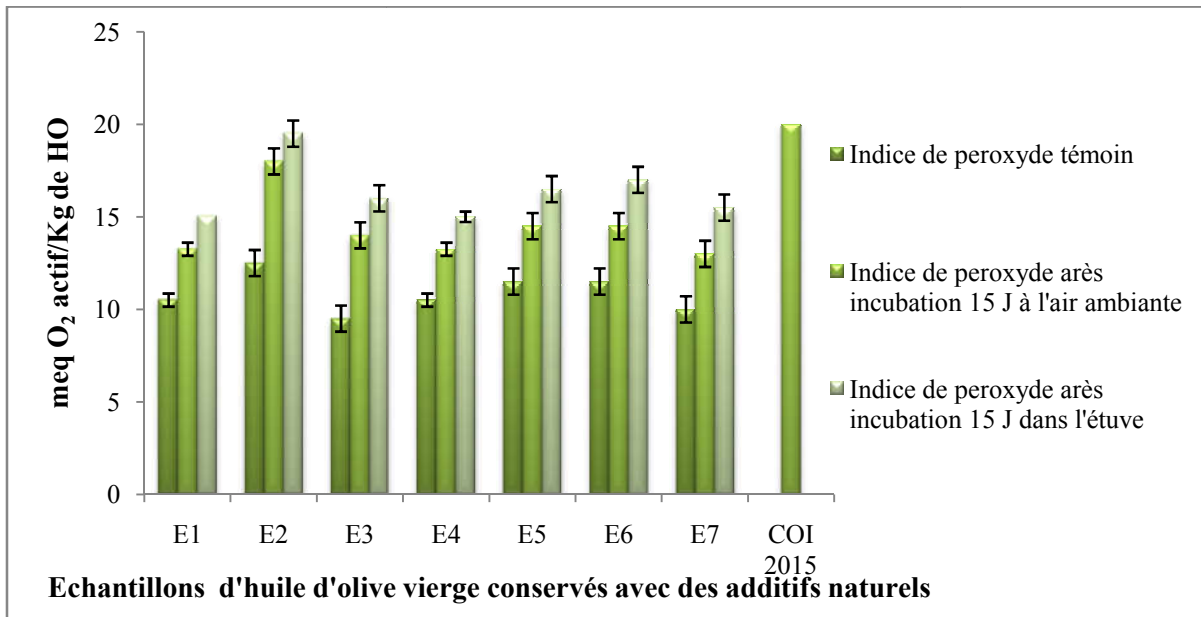


Fig.26 : Comparaison entre les indices de peroxyde (IP) des huiles d'olive étudiées avant et après vieillissement.

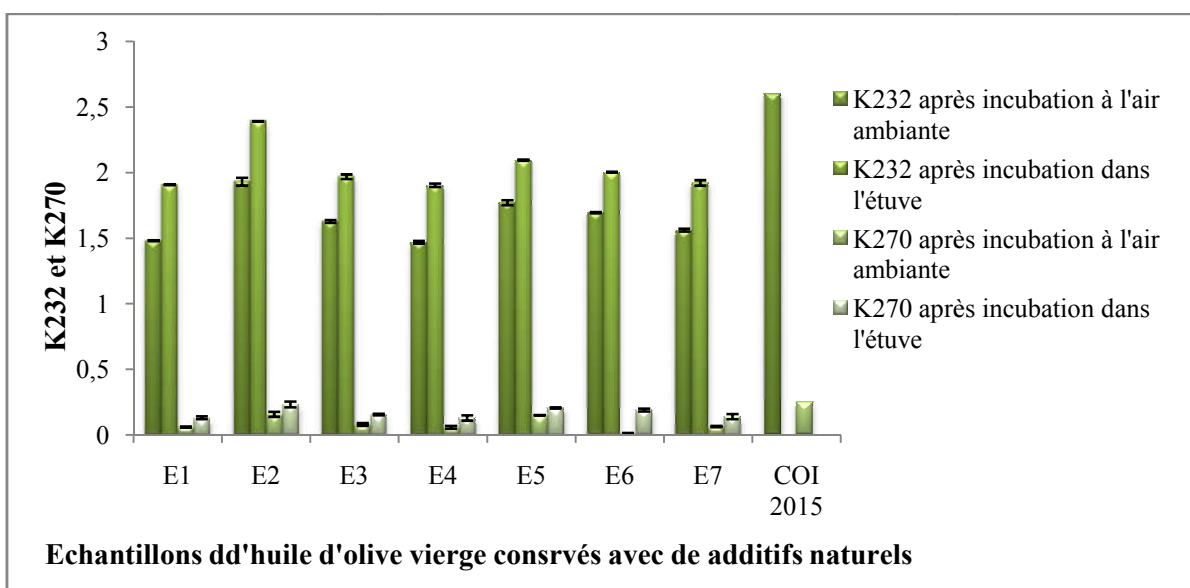


Figure 27 : Comparaison entre les extinctions spécifiques en UV des différents échantillons étudiés après vieillissement.

D'après les résultats présentés dans la figure 26 l'indice de peroxyde (IP) oscille entre 13 pour l'échantillon E7 et 19,5 meq O₂ actif / Kg d'huile d'olive pour l'échantillon E2. Ces valeurs restent toujours inférieures à la limite établie par la norme commerciale du Conseil Oléicole International pour les huiles d'olives vierges (≤ 20 meq O₂ actif / kg d'huile olive) (COI, 2015).

Nous remarquons que les valeurs d'indice de peroxyde (IP) les plus faibles sont obtenues pour les échantillons E1, E4 et E7 ($13,25 \pm 0,35$; $13,25 \pm 0,35$; $13 \pm 0,70$ meq O₂ actif / kg d'huile olive respectivement) incubés à l'air ambiante.

De même pour les échantillons incubés à l'étuve, E1, E4 et E7 représentent toujours de faibles valeurs d'IP avec des indices de 15 ± 0 ; $15 \pm 0,28$; $15,5 \pm 0,70$ respectivement. Cependant, l'échantillon E2 représente la valeur la plus élevée avec $18 \pm 0,70$ et $19,5 \pm 0,70$ meq O₂ actif / Kg d'huile après incubation à l'air ambiante et à l'étuve respectivement.

Ces résultats montrent que l'indice de peroxyde est en évolution. D'après Mailer et Ayton (2004), la valeur de peroxyde peut être liée à la température et à l'exposition à l'oxygène durant l'extraction et le stockage alors que la méthode d'extraction (traditionnelle et moderne) ne semble pas avoir d'effet direct (Boulfane et al., 2015).

D'après la figure 27, nous remarquons que l'échantillon E4 possède la valeur la plus faible pour le K232 ($1,4694 \pm 0,010$; $1,9033 \pm 0,01$ après incubation à l'air ambiante et dans l'étuve respectivement) mais pour le K 270 nm l'échantillon E6 et E4 montre les plus faibles après incubation à l'air ambiante et dans l'étuve.

Les valeurs les plus élevées sont obtenues pour l'échantillon E2 ($1,9306 \pm 0,03$; $2,3906 \pm 0,001$) pour le K232 nm et pour le K270 nm les valeurs sont de l'ordre de $0,1579 \pm 0,019$; $0,2332 \pm 0,02$ à l'air ambiante et à l'étuve respectivement. Il est à noter que cette même huile (E2), a présenté des valeurs d'indice de peroxyde supérieures que les autres échantillons (18 et $19,5$ meq O₂ / Kg d'huile) après incubation à l'air ambiante et à l'étuve respectivement. Ces valeurs restent conformes à la limite établie par la norme commerciale du Conseil Oléicole International pour les huiles d'olives vierges (COI, 2015).

Cette évolution des extinctions spécifiques à 232 nm et à 270 nm peut s'expliquer par plusieurs facteurs, tels que l'exposition excessive des huiles extraites à l'oxygène de l'air et à la lumière (Maaoui et al., 2017).

III. Etude statistique

Le test utilisé dans notre étude est l'ANOVA/MANOVA (test LSD, $\alpha = 0,05$) qui permet d'analyser un certain nombre de paramètres qui paraissent indispensable pour étudier la stabilité oxydative d'un produit alimentaire à base de matière grasse.

Les résultats ci-dessous représentent la répartition de chaque échantillon d'huile d'olive en groupes homogènes qui sont désignés par les lettres (A, B, C,...). Deux lettres différentes signifient deux groupes qui sont différents significativement.

- **Acidité des échantillons d'huile d'olive**

L'analyse statistique a montré que l'échantillon E8 a donné l'acidité la plus élevée, suivi de celle des échantillons E1 et E2 qui s'explique par un certain état de dégradation. Cependant les échantillons additionnés de différents extraits naturels présentent tous une acidité inférieurs à celle des échantillons témoins ; les échantillons E3, E5, E4, E7 appartiennent au même groupe homogène (B), donc ces échantillons ne présentent pas de différences significatives.

	1	2	3	4	5
E6	A				
E3		B			
E5		B			
E4		B	C		
E7		B	C		
E1			C	D	
E2				D	
E8					E

- **Indice de peroxyde des échantillons d'huile d'olive**

L'analyse statistique a montré que l'échantillon E8 a donné l'acidité la plus élevée suivi de l'échantillon E2 cela signifie un certain état de dégradation. Cependant les échantillons additionnés de différents extraits naturels E3, E4 et E7 présentent des indices de peroxydes les plus faibles et qui se rapprochent de celui de l'échantillon témoin E1 conservé en absence d'O₂.

	1	2	3	4	5
E3	A				
E7	A	B			
E4		B			
E1		B			
E6			C		
E5			C		
E2				D	
E8					E

- **K232 des échantillons d'huile d'olive**

L'analyse statistique a montré que l'échantillon E8 donne le K232 le plus important et les K232 les plus faibles sont fournis par E1, E4 et E7 (même groupe homogène A ; pas de différence significative), ce résultat est en relations direct avec les résultats de l'indice de peroxyde, cela confirme une autres fois le rôle conservateurs des additifs ajoutés dans l'échantillon E4 et E7 qui sont l'huile essentielle d'OG et de TYTO respectivement.

	1	2	3	4	5	6
E4	A					
E1	A					
E7	A					
E3		B				
E5			C			
E6				D		
E2					E	
E8						F

- **K270 des échantillons d'huile d'olive**

Les K232 les plus faibles sont fournis par E1, E4 et E7 (même groupe homogène A ; pas de différence significative), cela est en coïncidence avec les résultats du K232, ce qui confirme encore une autre fois le résultat obtenu précédemment.

	1	2	3	4
E4	A			
E1	A			
E7	A	B		
E3		B		
E5			C	
E6			C	D
E2			C	D
E8				D

- **Capacité antioxydante totale (CAT) des extraits méthanoliques des différents échantillons d'huile d'olive**

L'analyse statistique a montré que les échantillons E4 et E7 ont donné la meilleur capacité, les plus faibles ont été enregistrées avec les échantillons E8 et E2. Ce qui confirme l'effet conservateurs du OG et TYTO au niveau des échantillons E4 et E7.

	1	2	3	4	5	6
E8	A					
E2		B				
E6			C			
E3			C	D		
E1				D	E	
E5					E	
E4						F
E7						F

- **Réduction des extraits méthanoliques des différents échantillons d'huile d'olive (FRAP)**

L'analyse statistique a montré que les échantillons E3 présente la meilleure capacité à réduire le fer suivi de l'échantillon E4. La plus faible capacité a été enregistrée avec l'échantillon E8 suivi de celle de E2. Ce qui confirme toujours le meilleur effet conservateurs du OG au niveau de l'échantillon E4 et la mauvaise qualité de l'échantillon E8 et E2.

	1	2	3	4	5	6	7	8
E8	A							
E2		B						
E1			C					
E7				D				
E6					E			
E5						F		
E4							G	
E3								H

- **Activité anti-radicalaire (DPPH.) des extraits méthanoliques des différents échantillons**

L'analyse statistique a montré que l'échantillon E3 présente toujours la meilleure capacité à réduire le radical DPPH. suivi de l'échantillon E4 puis E7. La plus faible capacité a été enregistrée avec l'échantillon E8 suivi toujours de E2. Ce qui confirme toujours le meilleur effet conservateurs du OG au niveau de l'échantillon E4 et la mauvaise qualité de l'échantillon E8 et E2.

	1	2	3	4	5	6	7
E8	A						
E2		B					
E6		B					
E5			C				
E1				D			
E7					E		
E4						F	
E3							G

L'ensemble des résultats obtenus nous confirme que l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* est le meilleur conservateur des huiles d'olive dans notre cas, du moment que les meilleurs résultats sont tous obtenus pour cet échantillon et avec tous les paramètres étudiés. Cependant les échantillons E8 (conservé dans un récipient en plastique et en présence de l'O₂) et E2 (conservé dans un récipient en verre et en présence de l'O₂) présentent des résultats non satisfaisants, ce qui explique la mauvaise qualité qui est due à sa dégradation au cours de la période de stockage.



Conclusion

Dans le présent travail nous nous sommes intéressés à l'étude des propriétés physicochimiques et de la stabilité oxydative d'une huile d'olive additionnée de quelques extraits naturels.

Le but de ce travail est d'étudier l'effet antioxydant de quelques extraits naturels. Pour cela 8 échantillons ont été préparés avec de la même huile d'olive vierge de la région de Taher (Jijel).

E1 constitue l'échantillon témoin (huile d'olive conservée en absence d'O₂), E2 présente l'échantillon conservé en présence d'O₂, E8 échantillon conservé dans un récipient en plastique et en présence toujours de l'O₂.

Les autres échantillons sont préparés par ajout d'additifs naturels et en présence d'O₂ : E3 échantillon additionnée d'acide gallique ; E4 échantillon additionnée de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* ; E5 échantillon additionné d'extrait chloroformique d'*Evernia prunastri* ; E6 échantillon additionné d'extrait d'acétate d'éthyle d'*Evernia prunastri* ; E7 échantillon additionné de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* .

Tous les échantillons sont conservés à température ambiante et pendant 4 mois.

A l'issue des résultats obtenus, nous avons pu tirer les conclusions suivantes :

La détermination des indices de qualité permet de trouver des pourcentages d'acidité $\leq 2\%$, des indices de peroxydes ≤ 20 meq O₂ actif/Kg d'huile d'olive et des valeurs d'extinction de $\leq 2,60$ et $\leq 0,25$ pour le K232 nm et K270nm respectivement. Ces paramètres nous ont permis de classer les huiles étudiées dans la catégorie « huile d'olive vierge » suivant les directives du COI, 2015.

Nous notons que l'acidité, l'indice d'acide ainsi que le K232 et K270 de tous les échantillons conservés avec des additifs naturels sont inférieures à ceux des échantillons E2 et E8.

La quantification des composés phénoliques montre des teneurs élevées en polyphénols totaux et en pro-anthocyanidines ($33,56 \pm 0,007$; $32,91 \pm 0,002$ mg EAG /100g pour E7 ; E4 respectivement et $69,10 \pm 7,01$; $46,95 \pm 0,93$ mg/100g pour E4 ; E1 respectivement), ceux qui leur confèrent, ainsi, une très bonne stabilité contre l'oxydation.

Les résultats obtenus montrent une très faible capacité antioxydante totale pour les échantillons E2 et E8. Ce qui peut être expliqué par les mauvaises conditions de conservation.

L'échantillon E3 donne une réduction des ions ferriques en ions ferreux de l'ordre de $781,142 \pm 0,80$ mg EAA/100g d'huile d'olive, suivi par l'échantillon E4 ($279,809 \pm 0,80$ mg EAA/100g HO).

L'échantillon E8 présente toujours la valeur la plus faible et qui peut être toujours expliquée par les mauvaises conditions de conservation.

Les échantillons E7, E4 et E3 exercent une activité anti-radicalaire la plus importante et qui est de 97 ; 107.38 et 248.42 mg EAA/100g et inhibent 31.76 % ; 34.53% et 72.09% du radical DPPH• respectivement. Alors que la capacité anti-radicalaire des extraits d'huile échantillons E2 et E8 est de 62.49 et 60.56 mg EAA/100g et inhibe 22.75% et 22.06% du radical DPPH• respectivement.

Les huiles essentielles OG et TYTO présentent un pouvoir anti-radicalaire très élevé en comparaison avec celui des extraits CL et ET. Ce résultat est en accord avec les échantillons d'huile d'olive vierge E4 et E7 conservés avec les huiles essentielles d'OG et de TYTO respectivement, cela peut s'expliquer par l'effet conservateur que joue ces additifs dans l'huile d'olive vierge.

Les résultats de test de vieillissement réalisé, nous a permis de savoir l'influence de la température et de l'oxygène sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive.

Nous remarquons que les valeurs d'indice de peroxyde (IP) les plus faibles sont obtenues pour les échantillons E4 et E7 incubés à l'air ambiant et à l'étuve. Cependant, l'échantillon E2 représente la valeur la plus élevée. Ce qui peut être due à la présence des additifs naturels dans ces échantillons et contribuent à leur protection contre l'oxydation.

Au terme de cette étude, nous avons constaté que les polyphénols de l'huile d'olive vierge et les antioxydants ajoutés jouent un rôle très important dans le maintien de sa stabilité oxydative.

Pour une meilleure évaluation de la qualité des huiles et afin de compléter ce travail, il serait souhaitable de poursuivre notre étude par un suivi de ces caractères pendant une période un peu plus prolongée et procéder à des analyses plus poussées par CPG /SM et HPLC et ce afin de déterminer la composition chimique avant et après conservation en présence et en absence de ces additifs naturels.



Références bibliographiques

A

- AFNOR. (1978).** Recueil des Normes françaises des corps gras. Graines Oléagineuses produits dérivés. Ed. Paris.
- Aggoun-Arhab, M. (2016).** Caractérisation de la composition en micro-constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri-Constantine. 209p.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., Rafiquzzaman, M. (2013).** Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143–152.
- Ali, I. B. E. H., Chaouachi, M., Bahri, R., Chaieb, I., Boussaïd, M. et Harzallah-Skhiri, F. (2015).** Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. Et Reut. *Industrial Crops and roducts*, 77, 631-639.
- Alpsoy, L., Orhan, F., Nardemir, G., Agar, G., Gulluce, M. et Aslan, A.(2013).**Antigenotoxicpotencies of a lichen species, *Evernia prunastri*. *Toxicology and Industrial Health*, 1-9.
- Angerosa, F. (2002).** Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of lipid Science and Technology*, 14, 639-660.
- Audigie, C.L., Dupont, G. et Zouszain, F. (1984).**Principes des méthodes d'analyse biochimique. Toma 1. Ed. Doin, pp : 136-155.

B

- Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R. L., Bagchi, M., Bagchi, D. J., Balmoori, J. et Stohs, S. J. (1998).** Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *General Pharmacology: The Vascular System*, 30(5), 771-776.
- Balladin, D. A.et Headley, O. (1999).**Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herbs.*Renewable Energy*, 17(4), 523–53.
- Bekka-Hadji, F., Bombarda, I. et Touati A. (2016).** Antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of five essential oils from Algerian medicinal plants (Lamiaceae). *Journal of Essential oil research*, 28(6), 518–527.
- Bekka-Hadji, F. (2017).** Criblage de plantes aromatiques locales douées d'activité antibactérienne. Thèse de Doctorat. Université de Bejaia. 158 p.

- Benabid, H. (2009).** Caractérisation de l'huile d'olive algérienne Apports des méthodes chimio-métriques. Thèse de doctorat (Sciences Alimentaires) Université Mentouri de Constantine, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires. 85p.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J-M., Bernardini, A-F. et Costa, J.(2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106, 132–139.
- Benlemlih, M. et Ghanam, J.(2016).** Polyphenols d'huile d'olive, trésors santé ! Medicatrix, Marco Pietteur, éditeur. 208p.
- Benrachou, N., Henchiri, C., et Djeghaba, Z. (2010).** Caractérisation de trois huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. *Synthèse : Revue des Sciences et de la Technologie*, 22,12-22.
- Ben Rhouma, H. (2008).** L'effet de l'irradiation sur la qualité de l'huile d'olive et l'analyse par des nouvelles méthodes. Le *Centre National des Sciences et Technologies Nucléaires*. 53 p.
- Ben Tekaya, I. et Hassouna, M. (2005).** Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *OCL VOL.12N°5-6*.
- Ben Tekaya, I. et Hassouna, M. (2007).** Effets des chlorophylles, du bêta carotène, de l'alpha tocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne. *OCL. Oléagineux, corps gras, lipides*, 14(1), 60-67.
- Benyahia, N. et Zein, K. (2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. Contribution spéciale de Sustainable Business Associates (Suisse) dans le cadre de la 2ème Conférence Internationale Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries (SESEC II) à Lausanne, Suisse, 2p.
- Berrahl, D., Boudiar, T., Hichem, L., Khalfallah, A., Kabouche, A., Al-Freihat, A., Ghannadi, A., Sajjadi, E., Meharabani, M., Safaei-Ghomi, J., Kabouche, Z. (2010).** Comparative composition of four essential oil of Ogerano used in Algeria and Jordanian folk medicine. *Natural Product Communications*, 5, 957–960.
- Bondet, C., Brand-Williams, W. et Berset, C. (1997).** Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 30, 609-615.
- Borg, J. et Reeber, A. (2004).** Stress oxydant. In *Biochimie métabolique*. Ellipses, Paris, pp. 217-228.
- Boudhioua, N., Ben Slimen, I., Bahloul, N. et Kechaou, N. (2008).** Etude du séchage par infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne. *Revue des Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger*, 111 -116.

- Bouhaddouda, N., Aouadi, S. et Labiod, R. (2016).** Evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanol extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desf.)Jets waart from Algeria. *International Journal Pharmacognosy Phytochemical Research*, 8, 104-112
- Boukhari, R., Kiciri, S. et Gaouar, S.B. (2017).** Les variétés d'olivier à diffusion très restreinte dans l'Est Algérien : Un potentiel génétique non exploité, une richesse en voie de disparition In *Le Secteur Oléicole : Contraintes, Enjeux et Défis*, 16 p.
- Boulfane, S., Maata, N., Anouar, A. et Hilali, S. (2015).** Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 87(1), 8022-8029.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. et Berset, C. (1995).** Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28, 25-30.
- C**
- Campaniello, D., Bevelacqua, A., D'Amtò, D., RasarioCorbo, M., Alteiri, C. et Singaglia, M. (2005).** Microbial characterization of table olives processed according styles. *Grasas Y Aceites*, 4, 289-294.
- Caputo, M.C., De Girolama, A.M. et Volpe, A. (2013).** Soil amendment with olive mill wasters: Impact on ground water. *Journal of Environment Management*, 131, 261-221.
- Cheynier, V. (2005).** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 223-229.
- Chou, S.T., Chao, W.W. et Chung, Y.C. (2003).** Antioxydative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*Phaseolus radiatus* L. var. *Aurea*). *Journal of food science*, 68, 21-25.
- COI. (2011).** Guide pour la détermination des caractéristiques des olives à huile. COI/OH/Doc. N° 1, 34p.
- COI. (2015).** Analyse sensorielle de l'huile d'olive. Méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge. C.O.I/t.20/ doc. N° 15 /rév.
- COI. (2017).** Marché oléicole. Newsletter, N° 119.
- Condelli, N., Caruso, M. C., Galgano, F., Russo, D., Milella, L. et Favati F. (2013).** Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. *Food Chemistry*, 177, 233-239.
- Cordella, C. (2004).** Le glycérol un alcool pas comme les autres.... *Biofutur*, 241, 15-17.
- Cosio, M.S., Buratti, S., Mannino, S. et Benedetti, S. (2006).** Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family. *Food chemistry*, 97 (4), 725-731.

Couic-Marinier, F. et Lobstein, A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 18-21.

D

Delattre, J., Durand, G. et Jardillier, J. (2003). Radicaux libres et antioxydants. In *Biochimie pathologique : aspects moléculaire et cellulaire ; De la biologie à la clinique*. Flammarion, France, pp. 59-81.

Douibi, C., Messaoud, R., Takia, L., Pierre, C. et Gilles, F. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea* from Algeria. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 4(5), 35-42.

Dellile, L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. Alger: Bert. 240p.

E

Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents. *A review-Phytotherapie. Res*, 21, 308-323.

Elbir, M., Amhoud, A., Houlali, I., Moubarik, A., Hasib, H., Jouad, A. et Mbarki, M. (2014). Characterization and classification of monocultivar olive oils from two areas in Morocco (Meknes-Tafilalet and Marrakech-Tansift-Al Haouz). *Journal Mater Environment Science*, 5 (2), 565-570

El Rhzaoui, G., Divakar, P. K., Crespo, A. et Tahiri, H. (2015). Bio-monitoring of air pollutants by using lichens (*Evernia prunastri*) in areas between Kenitra and Mohammedia cities in Morocco. *Lazaroa*, 36, 21-30

Essiari, M., Zouhair, R. et Chimi, H. (2014). Contribution à l'étude de la typicité des huiles d'olive vierges produites dans la région de Sais (Maroc). *Journal Officiel du Conseil Oléicole International*, 119, 8-22.

F

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

Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q. et Li, H. B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food chemistry*, 129(2), 345-350.

G

Garcia, A., Brenes, M., Garcia, P., Romero, C. et Garrido, A. (2003). Phenolic content of commercial olive oils. *European Food research Technology*, 216, 520-525

Garcia-Gonzalez, D.L., Aparicio-Rui, R. et Aparicio, R. (2008). Virgin olive oil-chemical implications on quality and health. *European journal of lipid Science and technology*, 110, 1-6.

- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, M. J. (2005).** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(5), 1370-3.
- Georgiou, D., Djeddi, S. et Skaltsa, H. (2015).** Secondary metabolites from *Thymus numidicus* Poiret. *Biochemical Systematics and Ecology*, 59, 104-106.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselfela, H. et Oueld-Mokhtar, S. M. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
- Giordani, R., Hadeif, Y. et Kaloustian, J. (2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79, 199–203.
- Golmakani, M.T. et Rezaei, K. (2008).** Comparison of microwave assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 109, 925-930.
- Gorinstein, S., Martin Belloso, O., Katrich, E., Lojek, A., Czek, M. et Gligelmo-Miguel, N. (2003).** Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 14, 154-159.
- Graille, J. (2003).** L'huile d'olive : sa place dans l'alimentation humaine in lipides et corps gras alimentaire, Ed. Col Science et Technologie. Agro-alimentaire. *Lavoisier*, pp : 80- 105.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, İ. et Aslan, A. (2002).** Determination of antioxidant activity of lichens *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 325-329.
- H**
- Haddam, M., Chimi, H. et Amine, A. (2014).** Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. *Oilseeds & fats Corps Lipids*, 21(5), D507, 10p.
- Haddam, M., Chimi, H., El-Antari, A., Zahouily, M., Mouhibi, R., Zaz, A., Ibrahimi, M. et Amine, A. (2014).** Caractérisation physico-chimique et stabilité oxydative des huiles d'olive des variétés Picholine marocaine, Haouzia, Koroneiki et Arbéquine de la région oléicole centrale du Maroc (Chaouia-Ouardigha). *Journal officiel du Conseil oléicole international*, N° 119.
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M. et Halla, N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*. 1-9p.
- Hadj-Sadok, T., Rebiha, K. et Terki D. (2018).** Caractérisation Physico-Chimique et Organoleptique des Huiles d'olive Vierges de quelques Variétés Algériennes. *Revue Agrobiologia*, 8, 706-718.
- Hamid, D. (2015).** L'huile d'olive de Jijel, Une qualité reconnue. 1p.

- Hazzit, M. et Baaliouamer, A. (2007).** Essential oil composition of *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut. and *Thymus numidicus* Poiret. From Algeria. *Rivista Italiana. EPPOS*, 43, 11–18.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Verissimo, A.R., Faleiro, M.L. et Miguel M.G.(2009).** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chemistry*, 116, 714-721.
- Hatipoglu, G., Sökmen, M., Bektas, E., Daferera, D., Sökmen, A., Demir, E. et Sahin, H. (2013).** Automated and standard extraction of antioxidant phenolic compounds of *Hyssopus officinalis* L. ssp. *angustifolius*. *Industrial Crops and Products*, 43, 427–433.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S. et Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1, 3-6.
- Henry, S. (2003).** L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincare – NANCY. 127p.
- Hiltensbrand, V. (1999).** Place de la peroxydation lipidique dans les effets délétères des UV-A : mise en évidence des haptènes amino-imino-propene. Intérêts potentiels des antioxydants lipophiles en cosmétologie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier, Faculté de pharmacie de Grenoble. 122 p.

J

- Jayaprakasha, G.K., Girenavar, B. et Patil, B. S. (2008).** Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges: Extraction efficiency of solvents in sequence. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 41, 376-384.

K

- Kabouche, A., Kabouche, Z. et Bruneau, C. (2005a).** Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. *Flavour Fragrance Journal*, 20, 235-236.
- Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Ait-Kaki, Z. et Benlabed, K. (2005b).** Comparative antibacterial activity of five *Lamiaceae* essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, 15, 129-133.
- Kalantzakis, G., Blekas, G., Pegklidou, K., Boskou, D.(2006).** Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. *European Journal of Lipid and Science Technology*, 108, 329–335.
- Kalua, C.M., Allen, M.S., Bedgood, D.R., Bishop, A.G., Penzler, P.D. et Robards, K., (2007).** Olive oil volatile compounds, flavor development and quality: critical review. *Food chemistry*, 100, 273- 286.
- Karabulut, G. et Ozturk, A. S. (2015).** Antifungal Activity of *Evernia prunastri*, *Parmelia sulcata*, *Pseudevernia furfuracea* Var. *Furfuracea*. *Pakistan Journal of Botany*, 47(4), 1575-1579.

- Karioti, A., Vrahimi-Hadjilouca, T., Droushiotis, D., Rancic, A., Hadjipavlou-Litina, D. et Skaltsa, H. (2006).** Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Medica*, 72, 1330-1334.
- Karleskind, A. (1992).** Généralités. In : Manuel des corps gras. Ed : Lavoisier, Tec. et Doc, paris, p.1-46.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T. et Jukic, M. (2006).** Screening of 70 medicinal plant extract of antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94, 550-557.
- Khalfi, O., Sahraoui, N., Bentahar, F. et Boutekedjiret, C. (2008).** Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf.) essential oil from Algeria. *Journal of Science and Food Agriculture*, 88, 1562–1566.
- Kintzios, S.E. (2002).** Oregano: The genera *Origanum* and *Lippia*. London and New York: Taylor et Francis. 267p.
- Kosanic, M., Manojlovic, N., Jankovic, S., Stanojkovic, T. et Rankovic, B. (2013).** *Evernia prunastri* and *Pseudoevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 112–118.

L

- Lizzerini, C. et Domenici, V. (2017).** Pigments in Extra-Virgin Olive Oils Produced in Tuscany (Italy) in Different Years. *Foods*, 6(4), 25.
- Lazzez, A., Cossentini, M., Khlif, M. et Karray, B. (2006).** Etude de l'évolution des stérols, des alcools aliphatiques et des pigments de l'huile d'olive au cours du processus de maturation. *Journal de la société chimique de Tunisie*, 8, 21-32.
- Lecoq R. (1965).** Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles. *Doin*, Paris.
- Liu, H., Qiu, N., Ding, H. et Yao R. (2008).** Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Research International*, 6, 123–155.
- Loppi, S. et Frati, L. (2006).** Lichen diversity and lichen transplants as monitors of air pollution in a rural area of central Italy. *Environmental Monitoring and Assessment*, 114, 361-375.

M

- Maaoui, M., Benali, A., Mourhat, Z., Ider, A. A., Rabi, S. et Mbarki, M. (2017).** Physico-Chemical Characterization of Olive Oils produced in the rural commune of Tagzirt, province of BeniMellal, Morocco. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 20(3), 817-826.
- Mailer, R. J. et Ayton, J. (2004).** Comparison of olive oil (*Olea europaea*) quality extracted by stonemill and hammermill. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 32(3), 325-330.

- Maiza-Benabdesselam, F., Bekka, F., Touati, A., Ceyhan Goren, A. et Benallaoua, S. (2011).** Antibacterial activity of essential oil of two Algerian medicinal plants: *Origanum glandulosum* Desf. and *Artemisia herba alba* Asso. *Life Science. Leaflets* 16, 583-594.
- Maksimovic, Z., Malencic, D. et Kovacevic, N. (2005).** Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology*, 96, 873–877.
- Maslač, A., Maslač, M. et Tkalec, M. (2016).** The impact of cadmium on photosynthetic performance and secondary metabolites in the lichens *Parmelia sulcata*, *Flavoparmelia caperata* and *Evernia prunastri*. *Acta Botanica Croatica*, 75 (2), 186–193.
- Marouane, A., Naoui, A., Medjahed, H., Ali, k. et Saadi, A. (2014).** Activité antioxydant des composés phénoliques d’huile d’olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal Biological Chemical Science*, 8 (4), 1865-1870.
- Meftah, H., Latrache, H., Hamadi, F., Hanine, H., Zahir, H. et El louali, M. (2014).** Comparaison des caractéristiques physicochimiques des huiles d’olives issues de différentes zones de la région Tadla Azilal (Maroc). *Journal Mater. Environment Science*, 5(2), 641-646.
- Meot-Duros, L., Floch, G.L. et Magné, C. (2008).** Radical scavenging, antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 258-262.
- Messara, Y., Fernane, F. et Meddour, R. (2018).** Chemical Composition, Antibacterial, and Antifungal activities of the Essential Oil of *Thymus numidicus* Poir et from Algeria. *Phytherapie, Lavoisier*, 16, 163-168.
- Mezghache, M., Henchiri, C. H., Martine, L., Berdeaux, O., Aouf, N. et Juanda, P. (2010).** Contribution à l’étude de la fraction insaponifiable de trois huiles d’olive issues des variétés Guasto, Rougette et Blanquette plantés dans l’Est Algerien. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 17, 337-44.
- Moirrence, S. et Nicolas, J. (2006).** Oléiculture, collection Loubatière : 10-11.
- Molnár, K. et Farkas, E. (2010).** Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: à review. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 65(3-4), 157-173.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrasyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarinn. *Journal of Science and Technology*. 26(2), 211-219.
- Munzi, S., Pisani, T., Renzi, M. et Loppi, S. (2013).** Effect of nitrogen supply on the C/N balance in the lichen *Evernia prunastri* (L.) Ach. *Turkish Journal of Biology*, 37, 165-170.

N

Nakbi, A., Tayeb, W., Grissa, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Chargui, I. et Hammami, M. (2010). Effects of olive oil and its fractions on oxidative stress and the liver's fatty acid composition in 2, 4- Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats. *Nutrition and metabolism*, 7(80), 11p.

O

Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guérère, M. et Artaud, J. (2004). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des Falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologique*, 965, 169-196.

Ouaouichi, A. et Chimi, H. (2007). Guide du producteur de l'huile d'olive. Projet de développement du petit entrepreneuriat agro-industriel dans les zones périurbaines et rurales des régions prioritaires avec un accent sur les femmes au Maroc, *Organisation des Nations Unies pour le développement industriel*, 7, 36 p.

P

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

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

Q

Quezel, P. et Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome II, C.N.R.S., Paris, 603p.

Quilhot, W., Hidalgo, M.E., Flores, E., Fernandez, E. et Pena, W. (1991). Possibilités d'utilisation de substances lichéniques comme protecteurs solaires *Troisième Symposium sur les substances naturelles d'intérêt biologique de la région Pacifique-Asie. Substances naturelles d'origine végétale*, 135-142.

R

Rahmani, M. (2007). Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides. *Les technologies de laboratoire*, 2(2), 18-21.

Rodriguez-Bernaldo de Quiros, A., Lage-Yusty, M.A. et Lopez-Hernandez, J. (2009). HPLC analysis of polyphenolic compounds in Spanish white wines and determination of their antioxidant activity by radical scavenging assay. *Food Research International*, 42, 1018–1022.

Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux, *OCL*, 11(6), 419-424.

Ruberto, G., Baratta, M.T., Sari, M. et Kaabeche, M. (2002). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and fragrance journal*,17(4), 251–254.

S

Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G. et Özer, H. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. vulgare in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15, 549–557.

Samaniego-Sánchez, C., Quesada-Granados, J.J., Serrana, H.L.G. et LópezMartínez, M.C. (2010).β-Carotene, squalene and waxes determined by chromatographic method in picual extra virgin olive oil obtained by a new cold extraction system. *Journal of food composition and analysis*, 23(7), 671-676.

Saou, M. (2013).Huile d'olive à Jijel, une production de 4,4 millions de litres. 1p.

Sari, M., Biondi Daniela, M., Kaabeche, M., Mandalari, G., D'arrigo, M., Bisignano, G., Saija, A., Daquino, C. et Ruberto, G. (2006).Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *fragrance journal. J*, 6, 890-898.

Sekour, B. (2012). Phytoprotection de l'huile d'olive vierge (HOV) par ajout des plantes végétales. (Thym, ail, romarin). Thèse de magister. Université M'Hamed Bougara-Boumerdes. 127p.

Servili, M. et Montedoro, G.F. (2002). Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 602-613.

Shahidi, F. et Zhong, Y. (2005). Antioxidants: regulatory status. *Bailey's industrial oil and fat products*,(6), 491-512.

Shukla, V., Joshi, G. P., et Rawat, M. S. M. (2010).Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. *Phytochemistry Reviews*, 9(2), 303-314.

Singleton, V. I., Othofer, R. et Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteureagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.

Sokmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., Akpulat, H.A., Sahin, F. et Sokmen, A. (2004). In Vitro Antioxidant, Antimicrobial, and Antiviral Activities of the Essential Oil and Various Extracts from Herbal Parts and Callus Cultures of *Origanum acutidens*, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*.,52, 3309-3312.

T

Tanilgan, K., Ozcan, M.M. et Unver, A. (2007). Physical and chemical characteristics of five Turkish olive (*Olea europea* L.) varieties and their oils. *Grasas y Aceites*, 58 (2), 142 -147.

- Tanouti, K., Elamrani, A., Serghini-Caid, H., Khalid, A., Bahtta, Y., Benali, A., Harkous, M. et Khiaar, M. (2010).** Caractérisation de l'huile d'olive produite dans des coopératives pilote (Lakamara et Kenine) au niveau du Maroc oriental. *Technologie de laboratoire*, 5, 18-26.
- Tanouti, K., Caid, H. S., Abid, M., Mihamou, A., Khiaar, M., Hachem, M., Bahetta Y. et Elamrani, A. (2011).** Isly Huile d'Olive Vierge Analyse des Triglycérides et Composition en Acides Gras. *Les technologies de laboratoire*, 23, 58-63.
- Tepe, B., Daferera, D., Sökmen, M., Polissiou, M. et Sökmen, A. (2004 a).** The *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L var *bevanii*. *Journal of Science and Food Agriculture*, 84, 1389-1396.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, M., Polissiou, M. et Sokmen, A. (2004b).** In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils and Various Extracts of *Thymus eigi* M. Zohary et P.H. Davis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 1132-1137.
- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. (2005).** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of Food Engineering*, 66, 447-454.
- Turkmen, N., Sari, F. et Velioglu, Y.S. (2006).** Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99, 835-841.

V

- Vardar-Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E. et Tepe, B. (2003).** Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae) *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 63-67.
- Veillet, S. (2010).** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : entre tradition et innovation. Thèse de Doctorat : Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. Marseille, 21, 41.
- Venkateshwarlu, G.L., M.B., Meyer, A.S. et Jacobsen, C. (2004).** Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1635-1641.

Z

Zouad, A. (2015). L'huile d'olive de Jijel, une qualité reconnue et certifiée. 1p.

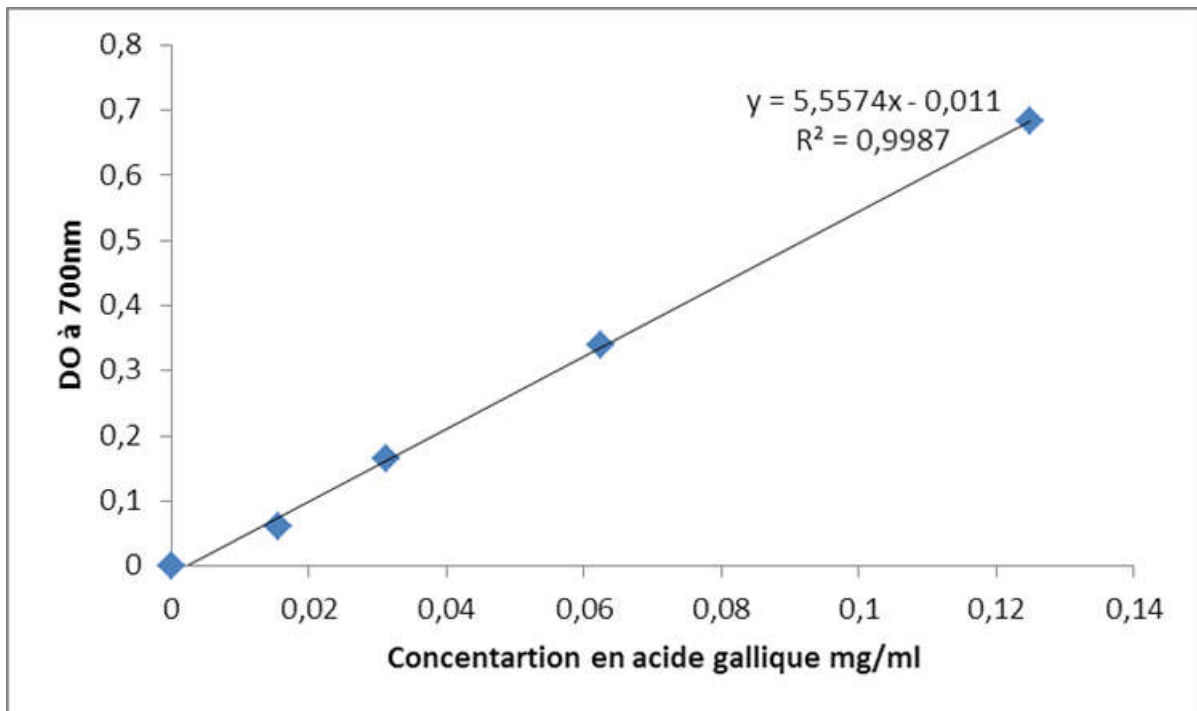
Normes et textes Règlementaires

C.E.E. 2568/91. Règlement relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes. 9-31.

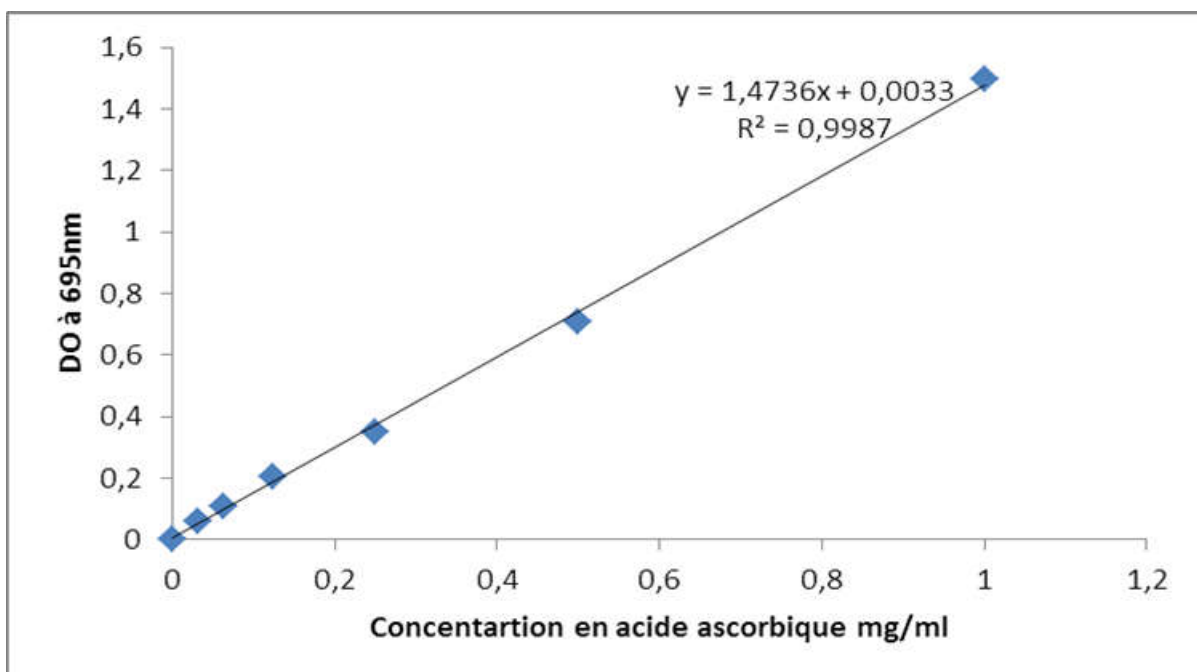
Codex Alimentarius Commission. (2015). Codex standard for olive oils and olive pomace oils.



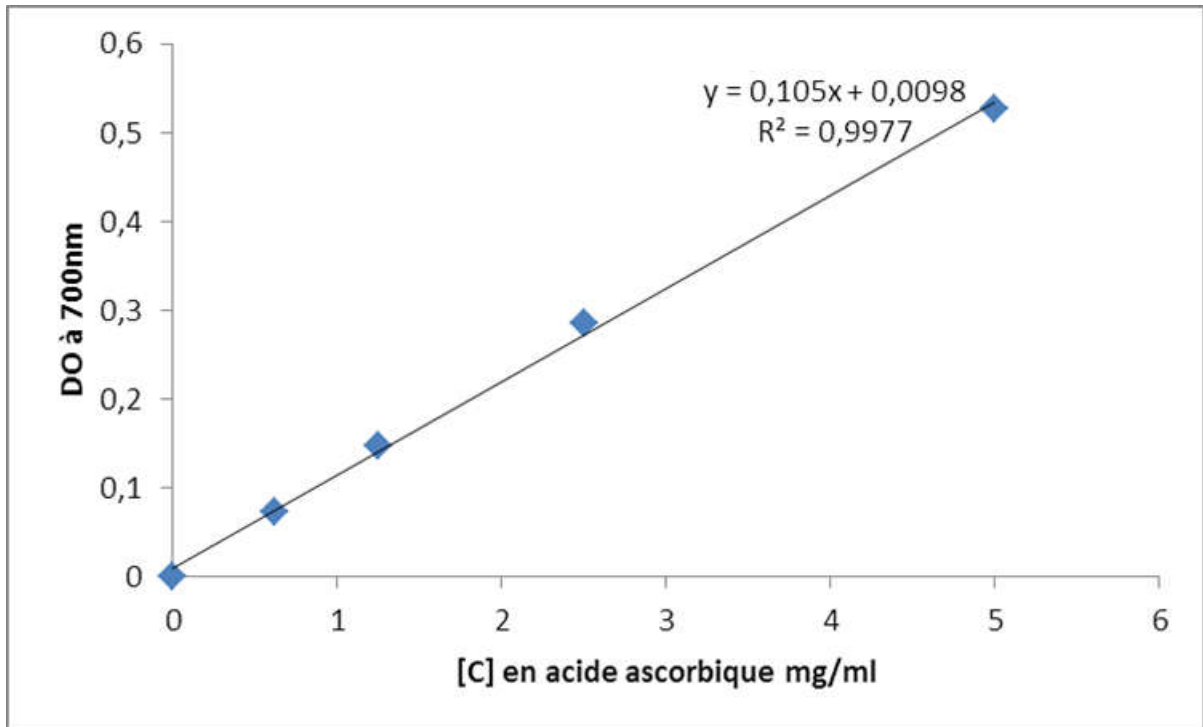
Annexes



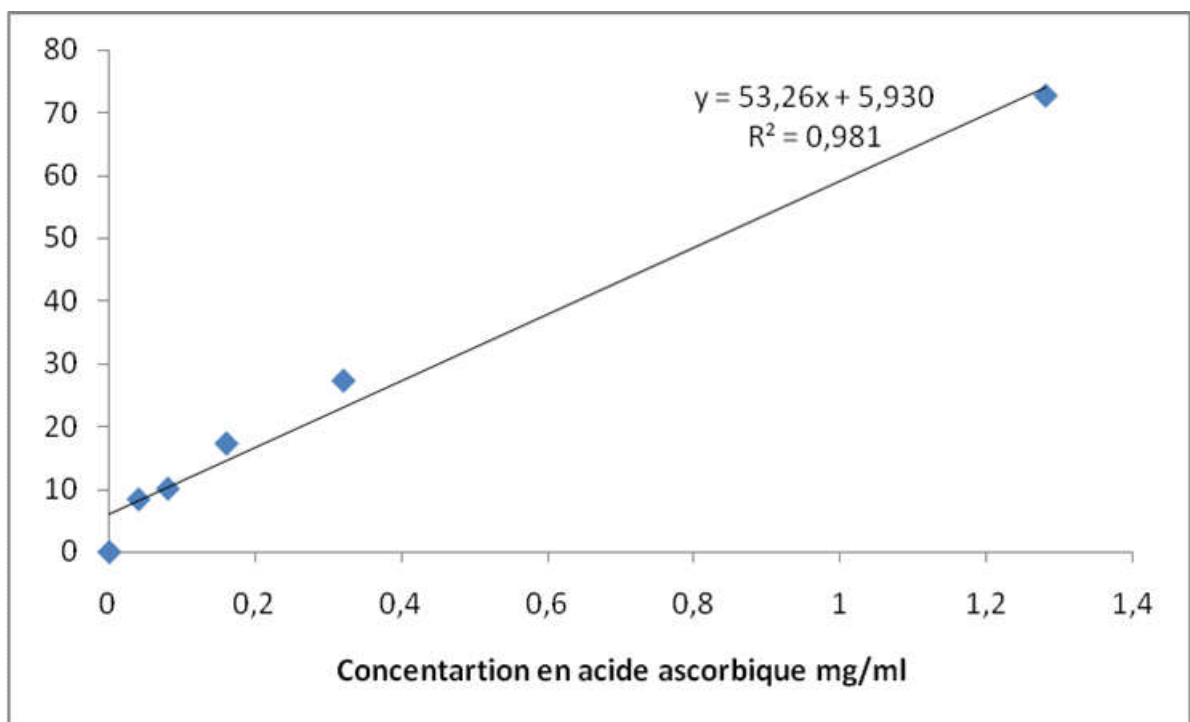
Courbe d'étalonnage d'acide gallique (dosage des polyphénols)



Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique (CAT).



Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique (FRAP).



Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique (DPPH)

Résultats de la densité des huiles d'olive analysées

	Avant chauffage	Après chauffage
La fiole avec l'eau	83,46 g	83,36 g
La fiole avec l'huile d'olive	79,07 g	79 g
La fiole vide	33,75 g	
Densité	0,9102	
C.A	0,910 - 0,916	
C.O.I	0,910 - 0,916	

Résultats du chromatogramme de l'huile d'olive vierge

Peak	R.Time	Area%	Height %	Name	Base m/z
1	25.634	20.31	15.09	hexadecanoic acid, methyl ester	Acide palmitique 74.00
2	35.998	79.69	84.91	9-octadecenoic acid (z)- methyl ester	Acide oléique 55.00
		100.00	100.00		

Résumé

Notre travail a pour objectif d'étudier les caractéristiques physico-chimiques et la stabilité oxydative d'une huile d'olive vierge additionnée de quelques antioxydants naturels. Les échantillons témoins ainsi que les échantillons conservés par des additifs naturels (8 échantillons) ont été conservés plus de 4 mois dans les mêmes conditions du stockage.

La partie pratique consistait à la détermination de quelques paramètres physicochimiques (Humidité, Densité, Acidité, indice de peroxyde,...) qui sont importants pour prédire qualité et la stabilité de l'huile d'olive durant la période de stockage. Le recours à la détermination des coefficients d'extinction spécifique (K232, K270) renseigne sur la présence ou l'absence des produits d'oxydation secondaires.

Les teneurs en polyphénols totaux et en protoanthocyanidine ont été déterminées. L'activité anti-oxydante a été également estimée par plusieurs méthodes.

La détermination des indices de qualité des échantillons des huiles étudiées montre que les valeurs obtenues d'acidité, d'indice de peroxyde et des coefficients d'extinction spécifiques dans l'ultraviolet (K232, K270) sont conformes aux normes établies par le COI, 2015.

La quantification des polyphénols et des proanthocyanidines montre des teneurs importantes ainsi qu'une activité anti-oxydante forte montrée par des valeurs importants de la CAT, FRAP et DPPH.

Le présent travail a montré aussi l'influence de la température et l'oxygène sur les propriétés physicochimiques (indice de peroxyde, K232 nm et K270 nm) des huiles d'olives étudiées.

Mots clés : huile d'olive, paramètres physicochimiques, oxydation, anti-oxydant, stabilité oxydative,

Abstract

The aim of our work is to study the physico-chemical parameters and oxidative stability of virgin olive oil auditioned with some natural antioxidants. Control samples and samples preserved with natural additives (8 samples) were stored for more than 4 months under the same storage conditions.

The practical part consisted of the determination of some physicochemical parameters (Humidity, Density, Acidity, peroxide index,...) which are important to predict the quality and the stability of the olive oil during the period of storage. The use of the determination of specific extinction coefficients (K232, K270) provides information on the presence or absence of secondary oxidation products.

Total polyphenol and protoanthocyanidine contents were determined. Antioxidant activity was also estimated by several methods.

The determination of the quality indices of the samples of the oils studied shows that the obtained values of acidity, peroxide index and specific extinction coefficients in the Ultraviolet (K232, K270) are in accordance with the standards established by the IOC, 2015.

The quantification of polyphenols and proanthocyanidins shows important contents as well as strong antioxidant activity shown by important values of TAC, FRAP and DPPH.

The present work has also shown the influence of temperature and oxygen on the physicochemical properties (peroxide index, K232 nm and K270 nm) of the olive oils studied.

Key words: olive oil, physico-chemical parameters, oxidation, antioxidant, oxidative stability,

ملخص

يهدف عملنا إلى دراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية والاستقرار التأكسدي لزيت الزيتون مع بعض مضادات الأكسدة الطبيعية. تم تخزين عينات المراقبة والعينات المحفوظة بواسطة المضافات الطبيعية (8 عينات) لأكثر من 4 أشهر في نفس ظروف التخزين. يتكون الجزء العملي من تحديد بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية (الرطوبة، الكثافة، الحموضة، مؤشر بيروكسيد، ...) والتي تعتبر مهمة تحديد جودة زيت الزيتون واستقراره خلال فترة التخزين. يسمح لنا استخدام تحديد معاملات الامتصاص في الأشعة فوق البنفسجية (270K، 232K) معلومات حول وجود أو عدم وجود نواتج الأكسدة الثانوية.

تم تحديد إجمالي لمحتويات البوليفينول والبروتوانثوسيانيدين. كما تم تقدير نشاط مضادات الأكسدة بعدة طرق. يوضح تحديد مؤشرات جودة عينات الزيوت التي تمت دراستها أن قيم الحموضة التي تم الحصول عليها ومؤشر بيروكسيد ومعاملات الامتصاص في الأشعة فوق البنفسجية (270K، 232K) تتوافق مع المعايير التي حددتها المجلس الدولي للزيتون، 2015. يظهر التقدير الكمي للبوليفينول والبروتوانثوسيانيدين مستويات كبيرة وكذلك نشاط مضاد للأكسدة قوي تظهره قيم كبيرة من CAT و HPPD و PFRA.

أظهر العمل الحالي أيضًا تأثير درجة الحرارة والأكسجين على الخواص الفيزيائية والكيميائية (مؤشر بيروكسيد، 232K و 270K) في زيوت الزيتون التي تمت دراستها.

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، الأكسدة، مضادات الأكسدة، الاستقرار التأكسدي