

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de microbiologie appliquée et
sciences alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و العلوم الغذائية

جامعة محمد الصديق بن يحيى

كلية علوم الطبيعة و الحياة
المكتبة
رقم الجرد : 254

Mémoire de fin d'étude

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

Option : Contrôle de qualité des produits alimentaires

Thème

**L'Optimisation de l'enrichissement assisté par ultrason d'une huile
d'olive vierge avec les feuilles de *pistachia lentiscus* : l'activité antioxydant
et la stabilité oxydative**

Membre de jury :

Présidente : Dr.Ayad.R

Examineur : Dr.Laib.E

Encadreur: Dr.Dairi.S

Présenté par :

M^{elle} : Zarour Wissam

M^{elle} : Boulssane Saliha

Année universitaire 2016-2017

N°d'ordre :.....



Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères tout d'abord au bon DIEU de nous avoir donné le courage, la santé et toute la patience qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.

Nos remerciements vont également au:

membres du jury, La présidente du jury Mdm Ayad de nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Egalement Mdm. laib d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Notre promoteur DR. DAIRI .S d'avoir accepté de nous encadrer, pour son suivi, ses conseils, ses orientations et sa précieuse aide.

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire

Wissam et Saliha



Dédicaces

*A ceux qui m'ont tout donnés sans rien en retour
A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les
plus difficiles*

Et ceux à qui je dois tant

Mon père, mon ange gardien

À ma mère, la lumière de ma vie

*J'espère qu'un jour mon bon Dieu me donne l'occasion de les
honorer et leur rendre ce qu'ils méritent.*

À mes chères sœurs (Imane)

mon aide dans le parcours de ma vie.

*Mes frères, ma joie et ma fierté, que Dieu le garde et les
protège Abderahmane, abdraouf, abdlatif,*

A Toute ma famille

A mes proches surtout mon amie Sara

A ma binôme Saliha l'ensemble de sa famille

A ceux qui m'ont soutenu de loin et de près

A toute la promotion de contrôle de qualité des produits alimentaires 2017

Wissam ZAROUR



Dédicaces

*Je dédie ce mémoire à ma mère, qui m'a encouragé à aller de l'avant et
qui m'a donné tous son amour pour reprendre mes études*

A mes sœurs : Wahiba et Nassima

A Mes frères : Kamal, Omar et Ahmed

A Toute ma famille

A mes proches

A tous mes camarades de la promotion 2017

A ma binôme Wissam et l'ensemble de sa famille

A ma famille et toutes les personnes que j'aime

Saliha BOULESSANE

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Partie I. Huile d'olive : entre tradition et innovation

I.1. Définition.....	3
I.2. Classification.....	3
I.3. Production mondiale de l'huile d'olive.....	4
I.4. Composition générale de l'huile d'olive.....	5
I.5. Procédé de fabrication de l'huile d'olive.....	7
I.6. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive.....	9
I.7. Enrichissement de l'huile d'olive.....	10
I.7.1. Enrichissement endogène	10
I.7.2. Enrichissement exogène de l'huile d'olive vierge.....	14

Partie II

II.1. Oxydation lipidique.....	17
II.1.1. Type d'oxydation lipidique.....	17
II.1.2. Prévention de l'oxydation lipidique.....	18
a. Définition de l'antioxydant.....	18
b. Antioxydant naturels : Polyphénols.....	18

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

I.1. Appareillage et réactifs.....	20
I.2. Matériel végétal.....	21

I.3. Préparation du matériel végétal.....	21
I.4. Caractérisation du matériel végétal.....	22
I.4.1. Détermination de taux d'humidité.....	22
I.4.2. Détermination de l'activité de l'eau (AW).....	22
I.4.3. Extraction des composés phénoliques totaux.....	22
I.4.4. Dosage des composés phénolique totaux.....	23
I.4.5. Dosage des flavonoïdes.....	23
I.4.6. Détermination de la teneur en caroténoïdes et en chlorophylle.....	23
I.4.7. Tests d'activité antioxydante.....	24
I.5. Optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons.....	25
I.6. Enrichissement conventionnelle.....	26
I.7. Caractérisation phyto-chimique de l'huile d'olive enrichie.....	27
I.7.1. L'extraction des polyphénols de l'huile.....	27
I.7.2. Dosage des polyphénols totaux des huiles.....	27
I.7.3. Mesure des activités anti oxydantes.....	27
I.7.4. Détermination de l'indice de peroxyde.....	27
I.7.5. Détermination de l'absorbance spécifique en rayonnement UV.....	28
I.7.6. Détermination de la teneur en caroténoïdes et en chlorophylle.....	29
I.8. Evaluation de la stabilité thermique et oxydative de l'huile d'olive.....	29
II. Résultats et discussion	
II.1. Taux d'humidité et activité de l'eau (Aw).....	31
II.2. Analyse phytochimique de la poudre de <i>Pistachia lentiscus</i>	31
II.3. Evaluation de l'activité anti oxydante.....	32
II.3.1 Pouvoir scavenger du radical DPPH.....	32

II.3.2. Pouvoir réducteur.....	33
II.4. Optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons.....	33
II.4.1. Effet du temps.....	34
II.4.1.1. Effet sur les polyphénols.....	34
II.4.1.2. Effet sur les pigments « chlorophylles et caroténoïdes».....	35
II.4.2. Effet de l'amplitude.....	37
II.4.2.1. Effet sur les composés phénoliques.....	37
II.4.2.2. Effet sur les chlorophylles et caroténoïdes.....	38
II.4.3. Effet du ratio.....	39
II.4.3.1. Effet sur les polyphénols.....	39
II.4.3.2. Effet sur les chlorophylles et caroténoïdes.....	40
II.4.4. Effet de la granulométrie.....	41
II.4.4.1. Effet sur les polyphénols.....	41
II.4.4.2. Effet sur les chlorophylles et caroténoïdes.....	42
II.5. Comparaison entre macération conventionnelle et assistée par ultrasons.....	43
II.5.1. Composition phytochimique.....	43
II.5.2. Activités antioxydantes des huiles enrichies.....	46
II.5.2.1. Test DPPH.....	46
II.5.2.2. Pouvoir réducteur des huiles enrichies.....	47
II.6. Test de chauffage à 130°C (chauffage sous conditions de cuisson).....	48
II.6.1. Indice de peroxyde.....	48
II.6.2. Coefficient d'extinction k_{232} et k_{270}	49
II.6.3. Changement de la teneur en chlorophylles et caroténoïdes.....	50
II.6.4. Changement de la teneur en polyphénols.....	52

II.6.5. Effet du chauffage sur l'activité antioxydante (Piégeage du radical libre DPPH) 53

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Différentes catégories de l'huile d'olive.	4
02	Les 10 premiers pays producteurs d'huile d'olive (en milliers de tonnes) au cours de trois dernières campagnes.	5
03	Composition phénolique des huiles d'olive vierge Coratina à centrifugation en deux phases et en trois phases	9
04	Résumé des travaux récents sur l'effet d'enrichissement de l'huile d'olive	15
05	Caractérisation phytochimique de l'extrait de la poudre de <i>Pistachia lentiscus</i> .	31
06	Composition en CPT, chlorophylle et caroténoïdes des différentes huiles étudiées.	44

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Composés phénoliques majeurs présents dans l'huile d'olive	6
02	Image électronique de la coalescence des gouttelettes d'huile	8
03	Diagramme de production d'une huile d'olive	11
04	La déformation d'un milieu suite au passage d'une onde sonore	13
05	Explosion de bulles de cavitation et libération du matériel végétal	14
06	Traitements de la pâte d'olive par des ultrasons	14
07	Feuilles de <i>Pistachia lentiscus</i> (a) ; huile d'olive vierge Numidia (b)	21
08	Protocole pour la détermination du pouvoir réducteur	25
09	Les méthodes d'enrichissement de l'huile d'olive.	27
10	Pouvoir scavenger du radical DPPH.	32
11	Pouvoir réducteur de l'extrait du <i>P. lentiscus</i> .	33
12	Effet du temps sur le taux des CPT.	34
13	Effet du temps sur le taux des caroténoïdes.	36
14	Effet du temps sur le taux des chlorophylles.	36
15	Effet de l'amplitude sur le taux des CPT.	37
16	Effet de l'amplitude sur le taux des caroténoïdes.	38
17	Effet de l'amplitude sur le taux des chlorophylles.	39
18	Effet du ratio sur le taux du CPT.	40
19	Effet du ratio sur le taux des caroténoïdes.	40
20	Effet du ratio sur le taux de la chlorophylle.	41
21	Effet de la granulométrie sur le taux de CPT.	42
22	Effet de la granulométrie sur le taux des caroténoïdes.	43
23	Effet de la granulométrie sur le taux de la chlorophylle.	43
24	le taux des CPT dans les trois types de l'huile.	45

25	Comparaison cinétique de l'enrichissement de l'HOV assisté par ultrasons (VOO-US) et la méthode conventionnelle (VOO-CV)	45
26	le taux des caroténoïdes dans les trois types de l'huile.	46
27	taux des chlorophylles dans les trois types de l'huile.	46
28	Activité antiradicalaire DPPH des huiles enrichies.	46
29	Pouvoir réducteur des trois types de l'huile d'olive.	47
30	Variation des valeurs de l'indice de peroxyde des huiles T et E pendant le chauffage à 130°C.	49
31	Variation des valeurs de K_{232} et K_{270} des huiles étudiées pendant le chauffage à 130°C.	51
32	Variation du taux des chlorophylles dans l'HT et HE pendant le chauffage à 130°C.	52
33	Variation du taux des caroténoïdes dans l'HT et l'HE pendant le chauffage à 130°C.	52
34	Variation de taux des CPT de l'HT et HE pendant le chauffage à 130°C.	53
35	Pouvoir anti radicalaire de l'HT et l'HEU pendant le chauffage à 130°C.	54

- EAU** extraction assistée aux ultrasons
- EC** extraction conventionnelle
- ED** Eau distillée
- HOV** huile d'olive vierge
- HOV-CV** huile d'olive vierge-méthode conventionnelle
- HOV-US** huile d'olive vierge-assistée aux ultrasons
- HT** huile Témoin
- HE** huile Enrichie
- ROS** espèces réactives oxygénées
- NOS** espèces réactives de nitrogène
- LDL** lipoprotéines de basse densité
- HDL** lipoprotéines de haute densité
- SAR** Relations structure-activité
- UV** ultraviolet
- XO** xanthine oxydase
- PPO** polyphénols oxydase
- EDTA** éthylène diamine tétra acétique
- ESM** eau salée modérée
- COI** Conseil Oléicole International
- UE** Union européenne

L'huile d'olive vierge est largement consommée dans le bassin méditerranéen. Elle est connue pour ses propriétés organoleptiques et nutritionnelles. Cela est dû à sa composition en acides gras mono-insaturés (acide oléique), et les acides gras polyinsaturés (acide linoléique et linoléique) qui sont connus pour leurs effets protecteurs contre les maladies cardiovasculaires par prévention de l'oxydation des lipoprotéines à faible densité (**Achat et al.,2012**).De plus, il y a également la présence d'autres composés tels que les composés phénoliques, qui sont des métabolites secondaires aux fortes propriétés antioxydantes(**Owen et al.,2000 ; Panza et al.,2007; Scarneas,2006**).

Les consommateurs aujourd'hui prennent une plus grande responsabilité pour leur propre santé et tournent de plus en plus à leur alimentation pour l'améliorer. Les composés phénoliques présents dans l'huile d'olive vierge ne sont pas suffisants pour assurer une bonne stabilité pendant son stockage et/ou son chauffage. Pour cela, l'enrichissement de l'huile d'olive par des phénols peut être une bonne stratégie pour améliorer sa capacité oxydante et son profil nutritionnel, ce qui permet de développer de nouveaux aliments (**Rubio et al., 2012**).Dans cette démarche, l'enrichissement de l'huile d'olive[10], a fait l'objet de nombreuses recherches, ayant opté pour l'incorporation dans l'huile de matrices végétales (origan, feuilles d'olivier, feuilles de myrte etc.) (**Mancuso et al., 2000**). La production d'huile d'olive enrichie ouvre de nouveaux marchés aux entreprises qui ont décidé de faire un bond de qualité dans le secteur oléicole comme une nouvelle stratégie pour améliorer les effets bénéfiques de l'huile d'olive (**Reboredo-Rodríguez et al., 2017**).

Une huile d'olive aromatisée préparée avec l'ajout d'une certaine herbe et / ou les plantes aromatiques ne doivent pas seulement satisfaire les exigences sensorielles des consommateurs, mais devrait également présenter d'autres qualités appréciés sur le marché de l'alimentation, comme l'amélioration de la qualité comparée à celle de l'huile ordinaire. Et également à inhiber l'oxydation et assurer la conservation de sa qualité (**Segade,M.et al., 2016**).

Il est bien connu que les herbes, les plantes aromatiques et les épices conservent la valeur nutritive de la nourriture, améliorent les qualités de conservation des produits alimentaires et augmentent leur durée de vie (**Farag et al., 1989; Tsimidou et al., 1995**).Parmi eux, *Pistachia lentiscus* L., est l'une des principales espèces aromatiques et médicinales de la famille des *Anacardiaceae* et est largement répartie dans toute la région Méditerranéenne(**Cherbal, 2017**).

Néanmoins, l'inconvénient de ces supplémentations pratiquées en général par macération est qu'elles sont longues et nécessitent des zones de stockage importantes. Ces dernières années de

nombreuses techniques alternatives ayant pour but de pallier à ces problèmes se sont développées. Parmi elles, les ultrasons. En effet, les ondes d'ultrasons permettent d'accélérer par voie physique la migration des composés d'intérêt et par conséquent le temps de contact est largement réduit (Veillet et al., 2012).

Dans cette optique, un enrichissement assistée par ultrasons a été testé, afin de réduire ce temps et de faciliter sa mise en place pour les professionnels de l'huile d'olive. L'objectif principal de ce travail est d'évaluer pour la première fois l'effet de l'enrichissement de l'huile d'olive vierge avec les feuilles de *Pistachialentiscus*, sur la composition, la qualité nutritionnelle et la stabilité oxydative de de l'huile.

Dans ce contexte, le présent travail est scindé en plusieurs parties :

1. Synthèse bibliographique sur l'huile d'olive, enrichissement et oxydation ;
2. Caractérisation de la composition phytochimique et les propriétés antioxydantes des extraits des feuilles de *P.lentiscus* ;
3. Etude des facteurs influençant la macération assistée par ultrasons : optimisation des différents paramètres (Temps, amplitude, ratio, granulométrie). Pour cela, l'effet de chaque paramètre a été évalué sur la teneur en polyphénols totaux, caroténoïdes et chlorophylle.
4. Comparaison entre les deux méthodes d'enrichissement : innovante et conventionnelle
5. Evaluation de la stabilité oxydative des huiles étudiées (conditions de cuisson).

I. Huile d'olive entre tradition et innovation

Dans les trente dernières années, il y a un intérêt croissant pour l'utilisation de l'huile d'olive dans la cuisine en raison d'une meilleure connaissance de la cuisine méditerranéenne et une conscience des vertus saines d'un régime méditerranéen, et en particulier de l'huile d'olive. Parmi les différentes huiles végétales, l'huile d'olive vierge est unique car elle est obtenue à partir d'olive (*Olea europaea* L.) uniquement par des moyens mécaniques, sans autre traitement que le lavage, la filtration, la décantation (Carrasco-Pancorbo *et al.*, 2005). La consommation de l'huile d'olive vierge a été rapportée comme étant corrélée à une incidence plus faible des maladies comme les maladies cardiovasculaires et certaines formes de cancer. Cet effet bénéfique est dû à la fois à sa forte proportion en acides gras mono-insaturés (l'acide oléique) et à la présence d'antioxydants naturels, principalement des composés phénoliques. Ces composés ont la capacité de récupérer les radicaux libres, responsables de l'altération oxydante des biomolécules (Kalantzakis *et al.*, 2006).

I.1. Définition

Selon Codex « C'est l'huile provenant uniquement de l'olivier (*Olea europaea* L.) A l'exclusion des huiles obtenues par solvants ou par procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature ».

I.2. Classification

Différents paramètres à savoir l'acidité, l'indice de peroxyde, l'absorbance dans l'UV et les caractéristiques organoleptiques, permettent de caractériser la qualité et de distinguer différentes catégories (Kalua, 2007 ; Katsoyannos, 2015). Le Conseil Oléicole International (COI, 2015) a classé l'huile d'olive en trois catégories reportés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Différentes catégories de l'huile d'olive.

Huile d'olive vierge	Huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état	Huile d'olive vierge extra	L'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes.
		Huile d'olive vierge	L'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes.
		Huile vierge courante	L'acidité libre exprimée en acide oléique est en maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes.
	Huile d'olive vierge non propre à la consommation en l'état (lampante)		L'acidité libre exprimée en acide oléique est en maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes.
Huile d'olive raffinée	Huile 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.		
Huile d'olive	Est l'huile constituée par couplage d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes.		

I.3. Production mondiale de l'huile d'olive

Selon les bilans oléicoles adoptés fin de novembre 2013 par le conseil des membres du COI, la production mondiale de la campagne 2013/2014 (Tableau 2) est très fortement élevée par rapport à la campagne précédente qui avait été particulièrement mauvaise, passant de 2425000t à 3098000t.

Tableau 2. Les 10 premiers pays producteurs d'huile d'olive (en milliers de tonnes) au cours de trois dernières campagnes (Barjol, 2014).

Pays	2011 /2012	production	
		2012/2013	2013/2014
Espagne	1615,0	616,3	1536,5
Italie	399,2	415,5	450,0
Grèce	294,6	357,9	230,0
Turquie	191,0	195,0	180,0
Série	198,0	198,0	135,0
Maroc	120,0	100,0	120,0
Tunisie	182,0	220,0	80,0
Portugal	76,2	59,1	76,2
Algérie	39,5	66,0	62,0
Chili	21,5	28,0	32,0

I.4. Composition générale de l'huile d'olive

Chaque huile d'olive a une composition particulière en acides gras et en plusieurs micronutriments (Šarolić *et al.*, 2014) responsables de son caractère sensoriel particulier et les caractéristiques nutritionnelles (Boskou, 2006). Les acides gras (comptant pour environ 98% du poids de l'huile d'olive) sont principalement sous forme de triglycérides et des diglycérides. De plus, les composants mineurs comprennent principalement des pigments, tocophérols et composés phénoliques (Manai-Djebali *et al.*, 2012 ; Rigane, 2013).

La plupart des principaux composés phénoliques polaires présents dans l'huile d'olive vierge ont été détectés (Nevado *et al.*, 2012). Ces composés peuvent être des acides phénoliques, des phénols simples tels que le tyrosol et l'hydroxytyrosol, des dérivés secoiridoïdes, des glycosides, oléuropeine et ligstroside, des lignanes, et des flavonoïdes.

Le terme "composés phénoliques polaires" est utilisé pour les différencier d'une autre classe de phénols, les tocophérols (Boskou, 2010).

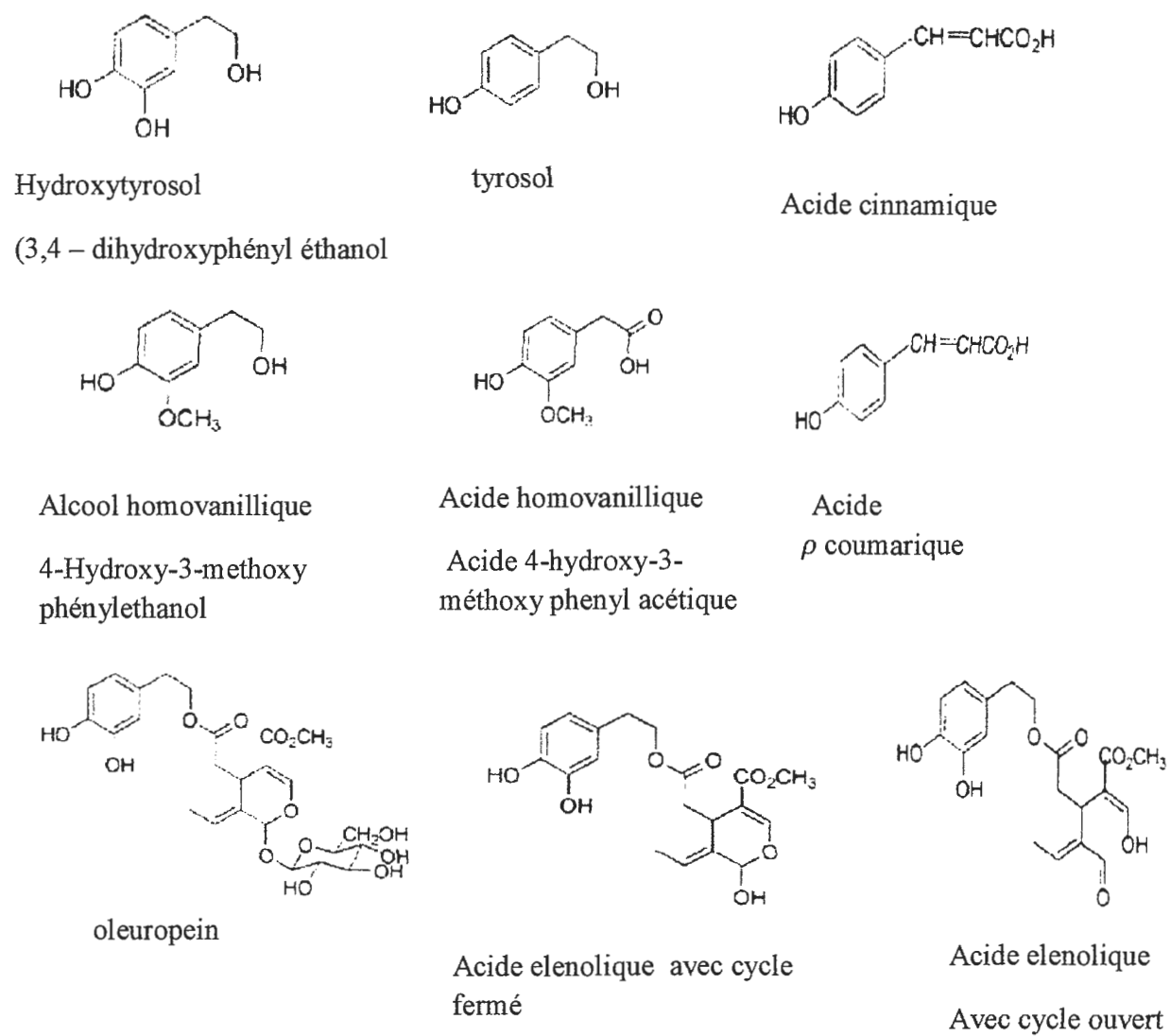


Figure 1. Composés phénoliques majeurs présents dans l'huile d'olive (Godoy-Caballero *et al.*, 2012).

Différentes études ont montré l'importance des composés phénoliques de l'huile d'olive. En effet, (Clodoveo *et al.*, 2013). Ont constatés que l'hydroxytyrosol et l'oleuropeine ont une activité antimicrobienne contre plusieurs souches bactériennes qui sont des agents causaux d'infections intestinales ou des voies respiratoires chez l'homme. Dans une étude récente in vivo, (Glatzle *et al.* 2007) ont démontré que les régimes contenant des phénols d'huile d'olive peuvent augmenter la résistance in vivo à l'oxydation des LDL. L'efficacité de l'oleuropeine a été expliquée en partie par

sa capacité d'agir comme antioxydant et en partie par un effet hypocholestérolémique (Paiva *et al.*, 2007).

L'arôme distinctif de l'huile d'olive vierge est attribué à un large éventuel de composés de différentes classes chimiques, telles que les aldéhydes, les alcools, les esters, les hydrocarbures, les cétones et les furanes (Aparicio-Ruiz *et al.*, 2012).

I.5. Procédé de fabrication de l'huile d'olive

Habituellement, un taux de 80% à 90% de l'huile présente dans le fruit est facilement libéré par le processus d'extraction (Leone *et al.*, 2014 ;Squeo *et al.*, 2017).

HOV est produit par des processus mécaniques et physiques. Ces processus impliquent la collecte, l'élimination des feuilles, lavage, broyage des olives, malaxation de la pâte d'olives, centrifugation, stockage, filtration et mise en bouteille (Ortega, 2016).

- **Ecrasement**

Cette opération est conçue pour déchirer les cellules des fruits pour libérer les gouttelettes d'huile de la cavité interne. Actuellement, le broyeur-marteau métallique ou les disques dentés sont utilisés pour broyer les olives. L'utilisation du marteau augmente le rendement d'extraction (Veillet *et al.*, 2009).

- **Malaxation**

Le procédé de malaxation est essentiel pour augmenter le rendement d'extraction. Il est conçu pour améliorer l'effet du broyage et pour rendre la pâte uniforme. Pendant l'étape de malaxation, les petites gouttelettes de l'huile, au moyen d'un malaxage lent et continu de la pâte produite, fusionne en grandes gouttes qui peuvent être facilement séparées par l'appareil de séparation (Angerosa et Basti, 2001). La composition des bioactifs de l'huile d'olive peut être sensiblement améliorée par divers facteurs, y compris la température de malaxage, le temps et l'utilisation d'enzymes (Servili *et al.*, 2003 ;Vierhuis, 2001 ;Juliano *et al.*, 2017).

L'objectif de la malaxation est de favoriser la coalescence des gouttelettes d'huile **Figure 2**, de séparer plus facilement de l'huile d'olive de la phase solide insoluble par centrifugation, et de réduire la viscosité de la pâte d'olives et d'optimiser la séparation de l'huile à l'intérieur du décanteur (Bejaoui *et al.*, 2017).

- **Décantation**

Après le processus de malaxation, l'huile doit être séparée de la pâte et de l'eau de végétation par utilisation d'un procédé de décantation. Les décanteurs sont de deux types :

- ✚ Décanteur à trois phases : fonctionne en utilisant moins d'eau. Il permet de réduire la viscosité des pâtes et de séparer facilement l'huile de la phase solide. Une quantité d'eau suffisante doit être ajoutée avant la centrifugation (**Montedoro et al., 1992**).

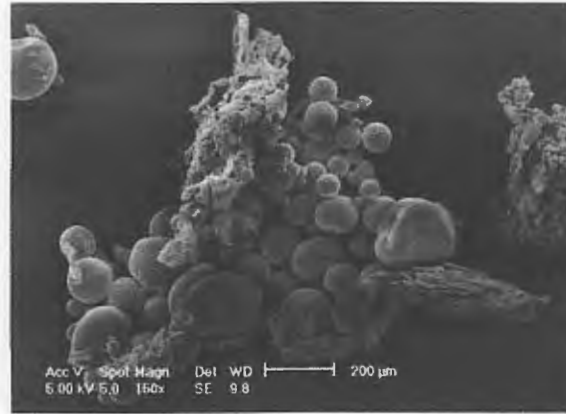


Figure 2 : Image électronique de la coalescence des gouttelettes d'huile (**Veillet, 2010**).

- ✚ Décanteur à deux phases : Les systèmes de centrifugation en deux phases ont évolué au cours des 10 dernières années pour avoir besoin de moins d'eau pour la séparation d'huile. Comme le montre le **tableau 3**, ce procédé permet d'obtenir des teneurs plus élevées en composés phénoliques (**Ortega et al., 2016**). Ainsi, l'huile produite par un système à deux phases a une activité antioxydant plus forte et une plus grande résistance à l'oxydation que celle obtenue par un système à trois phases en raison de la plus forte quantité d'hydroxytyrosol (**Cert, et al.1996 ; Manna et al. 1999**).

- **Filtration**

Cette étape est également peut affecter les composés phénoliques. en utilisant un filtre en coton pour éliminer l'humidité, la teneur de l'hydroxytyrosol en huile d'olive extra vierge a été diminuée (**Gomez-Rico et al., 2007 ; Lozano-Sánchez et al., 2011**). Cependant, la filtration avec du coton ou du papier plus sulfate de sodium anhydre conduit à une augmentation apparente de la teneur en phénol. De nos jours, des matières organiques telles que des matières fibreuses de cellulose et de l'amidon sont utilisées comme auxiliaires de filtration.

Tableau 3 : Composition phénolique des huiles d'olive vierge Coratina à centrifugation en deux phases et en trois phases (Stefanoudaki, *et al*, 1999).

Composition phénolique	Deux phases (ppm)	Trois phases (ppm)
(3,4 DHPEA)	0,87 ± 0,02	0,58±0,08
Hydroxytyrosol		
(<i>p</i> -HPEA) Tyrosol	3,74 ± 0,07	2,34± 0,08
Acide vanilique	0,41± 0,01	0,19±0,01
Acide caféique	0,16 ±0,01	0,12± 0,02
(3,4 -DHPEA-EDA) 3,4	522,2 ±13,5	427,2 ±13,8
dihydroxyphényl-éthanol liée à l'acide elenolique		
(<i>p</i> -HPEA-EDA <i>p</i> hydroxyphenylethanol liée à l'acide elenolique forme dialdéhydrique		
<i>p</i> -HPEA ester	38,41± 0,10	
(3,4-DHPEA-EA) 3,4		35,62 ±1,11
dihydroxyphényl-éthanol liée à l'acide elenolique	351,71±11,0	244,9 ±13,6
Polyphénols totaux	673±4	585±7

I.6.Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive

Différents auteurs ont montré qu'un régime riche en acides gras mono-insaturés, réduisait le cholestérol total et le cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL) sans affecter le cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL) (Tripoli *et al.*, 2005). De plus, des études épidémiologiques ont montré que l'alimentation méditerranéenne traditionnelle, dans laquelle l'huile d'olive a une place importante, jouait un rôle majeur dans la prévention des facteurs de risques des maladies cardiovasculaires, telles que dyslipidémies, hypertension et diabète (Motard-Bélanger *et al.*, 2008 ; Rotondo et Gaetano , 2000). L'huile d'olive a un effet également protecteur contre certains types de tumeurs malignes, est un anti-inflammatoire, et protège aussi les individus de la perte de mémoire liée au vieillissement (Reboredo-Rodríguez *et al.*, 2017). Par ailleurs, l'huile d'olive joue un rôle important dans l'augmentation de l'espérance de vie grâce à sa richesse en vitamine E qui joue un rôle biologique positif pour neutraliser les radicaux libres, molécules

impliquées dans certaines maladies chroniques et dans le processus de vieillissement. Selon (Medina *et al.*, 2006) l'huile d'olive possède un pouvoir bactéricide contre les bactéries nuisibles de la flore intestinale (*Clostridium perfringens* et *Escherichia coli*) par rapport à d'autres huiles végétales (tournesol, colza, soja, maïs...).

I.7. Enrichissement de l'huile d'olive

L'huile d'olive vierge de qualité supérieure doit être obtenue à partir d'olives saines et correctement mûries. Néanmoins, la production d'un produit alimentaire de haute qualité nécessite non seulement une matière première irréprochable mais aussi un contrôle de processus et une assurance de la qualité tout au long du processus de fabrication (Fregapane et Salvador, 2013). En effet, plusieurs études ont porté sur l'amélioration de la qualité de l'huile, qui repose sur l'optimisation du processus de fabrication ou sur l'enrichissement post-production.

I.7.1. Enrichissement endogène : Comment améliorer la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive avant et pendant le processus de production ?

L'huile d'olive vierge (HOV) est exclusivement extraite des fruits par des techniques mécaniques comprenant les étapes de concassage, malaxage et extraction. Chacune de ces opérations technologiques, outre les caractéristiques des olives, affecte la qualité du produit (Clodoveo, 2012). En effet, diverses études ont porté sur le développement de nouvelles technologies et stratégies pour produire une huile d'olive de meilleure qualité nutritionnelle et organoleptique.

- **Irrigation à l'eau salée**

L'olivier est traditionnellement cultivé dans des conditions pluviales, en particulier dans de nombreux pays méditerranéens, caractérisé par des zones à ressources en eau limitées. Néanmoins, comme l'irrigation augmente le rendement de l'olivier, il y a un intérêt croissant pour l'agriculture irriguée. Selon le travail de (Bedbabis *et al.*, 2010), le traitement d'irrigation des oliviers «Chemlali» à eau salée modérée (ESM) a affecté positivement le rendement en huile d'olive par arbre, avec un accroissement positif des bénéfices économiques. Il semble que l'irrigation a une influence sur la composition des acides gras, les polyphénols et la teneur en chlorophylle.

- **Amélioration de l'étape de malaxation**

La malaxation est un processus de température et de temps qui sépare l'huile d'olive de la pâte d'olive (Leone *et al.*, 2014). Une faible température de malaxage (<30 °C) et un temps de malaxage entre 30 et 45 min sont recommandés pour obtenir une bonne qualité d'huile d'olive sans compromettre les rendements (Karaaslan *et al.*, 2008).

- Utilisation d'un dénoyauteur d'olive

Une nouvelle procédure technologique est en cours d'élaboration qui comprend l'enlèvement de noyau avant le processus d'extraction de l'huile d'olive. Dans les travaux de (Amirante *et al.* 2010) qui ont étudié l'effet de l'introduction d'un dénoyauteur (destoner) et d'un échangeur de chaleur sur la qualité de l'huile selon le procédé présenté dans la **figure3**. Les auteurs ont montré que les huiles obtenues à partir de pâtes dénoyautés présentaient une teneur plus élevée en polyphénols et une augmentation du temps d'induction à l'oxydation.

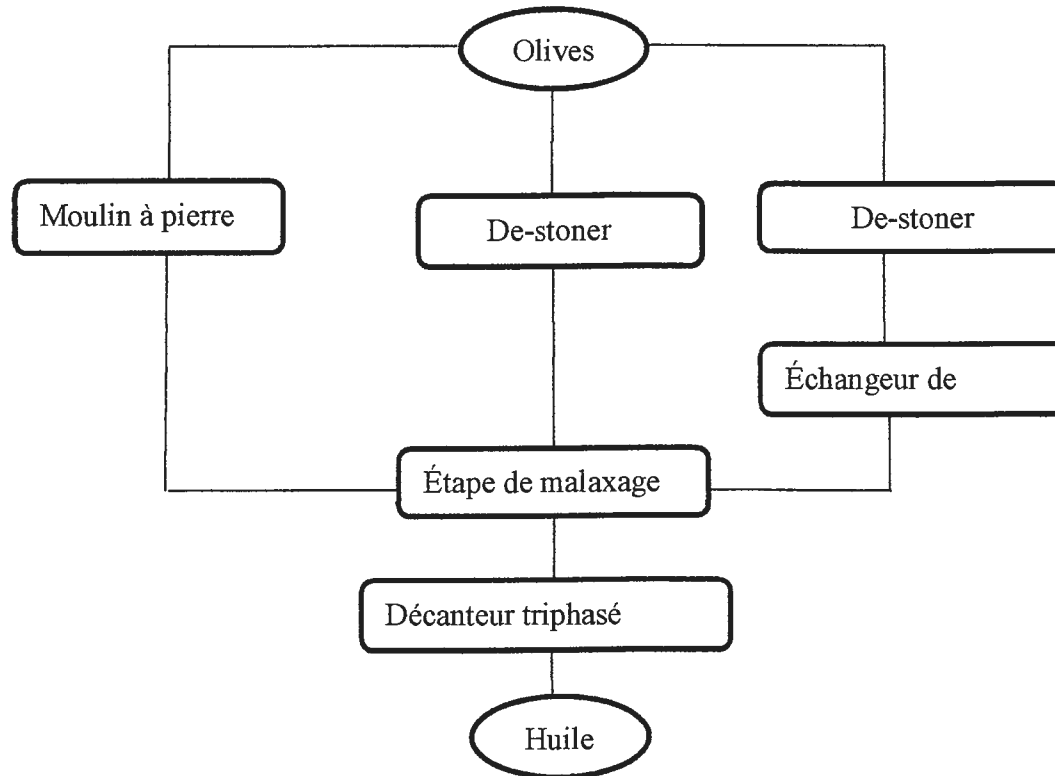


Figure 3 : Diagramme de production d'une huile d'olive (Amirante *et al.* 2010).

L'utilisation de l'échangeur de chaleur couplé à un dénoyauteur améliore les rendements d'huile d'olive et rend la malaxation plus efficace.

- Traitement avec refroidissement de la pâte d'olive

Selon les travaux de (Veneziani *et al.*, 2016) qui a étudié l'effet de refroidissement de la pâte d'olive dans le procédé d'extraction mécanique de l'huile d'olive, montrent que le refroidissement rapide de la pâte d'olive, a été capable de produire une augmentation de la concentration phénolique dans les huiles d'olives produites. Cela peut être dû à l'effet inhibiteur sur les polyphénols oxydase (PPO) à la suite du refroidissement des pâtes, car ces enzymes ont une activité optimale pour des températures élevées.

- **Applications de micro-ondes dans l'extraction d'huile d'olive**

Les études de (**Leone et al., 2014**) ont établi que le chauffage par micro-ondes améliore l'efficacité d'extraction mécanique d'huile. Ce phénomène vaporise l'eau dans le substrat végétal et augmente la pression intérieure dans les tissus végétaux. Cette pression accrue rompt par conséquent les membranes cellulaires. En soumettant la pâte d'olive aux micro-ondes après la phase de broyage, une libération d'huile des vacuoles peuvent se produire, ce qui accélère le phénomène de coalescence.

- **Extraction assistée par ultrasons (EAU)**

Les ultrasons sont des ondes sonores mécaniques qui sont capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (**Leong et al., 2011**).

Les ultrasons ont des effets cavitaires qui accélèrent le transfert de masse par rupture des parois des cellules végétales **figure4**, conduisant à une libération améliorée des composés cibles provenant de plusieurs sources naturelles (**Rodríguez et al., 2008 ; Sousa et al., 2015**).

Les effets de cavitation qui sont responsables de l'extraction des ingrédients peuvent être décrits en deux étapes :

-Entrée du solvant dans la matrice, diminution de la taille des particules, et les effets mécaniques permettent une meilleure pénétration des solvants ;

-libère des extraits de la matrice (surface de contact plus grande entre Les phases solides et liquides).

Ainsi, le contenu cellulaire diffuse rapidement et facilement de la matrice dans le milieu d'extraction.

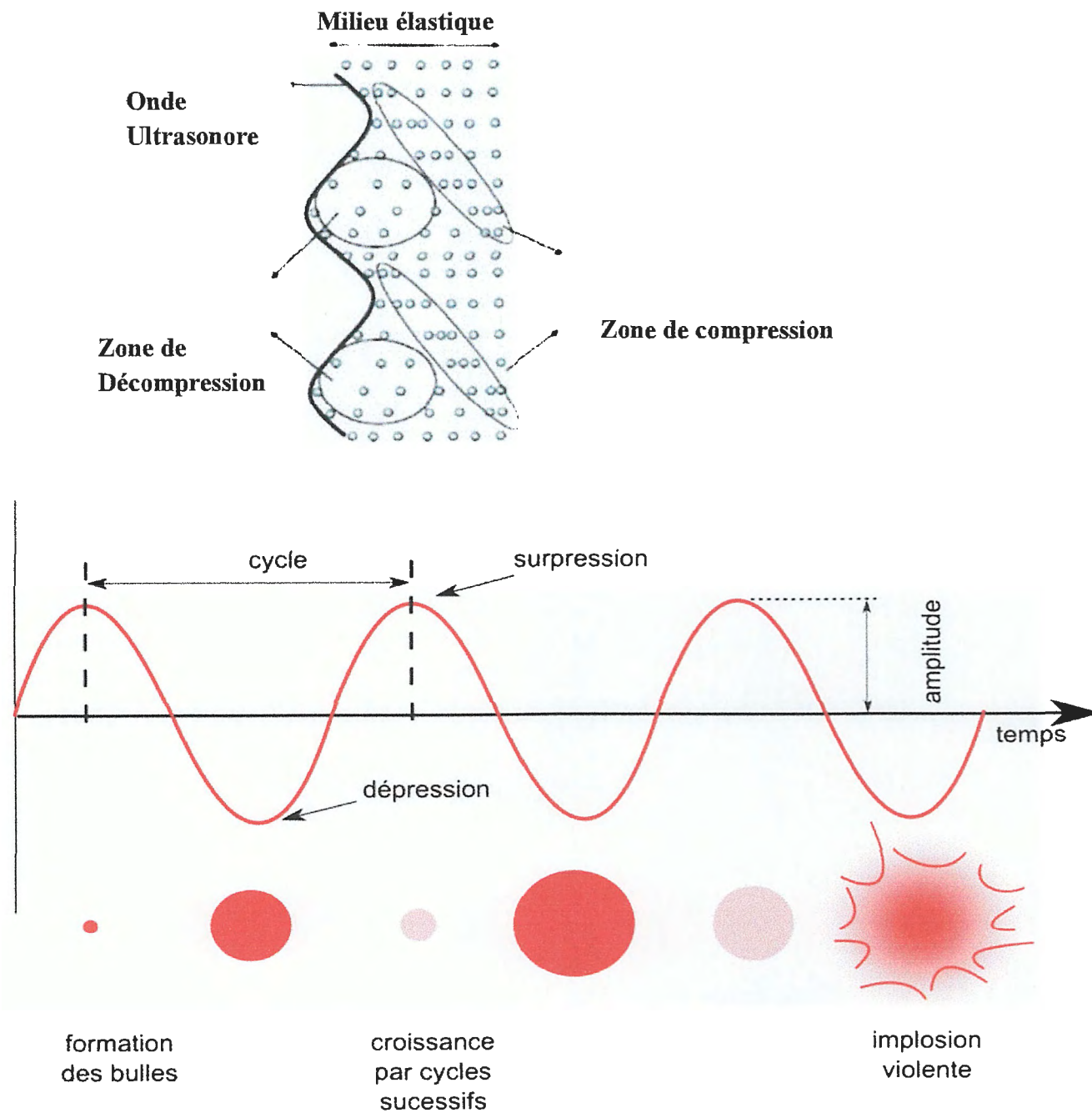


Figure 4. La déformation d'un milieu suite au passage d'une onde sonore (Sousa *et al.*, 2015 ; Tokalioglu *et al.*, 2010).

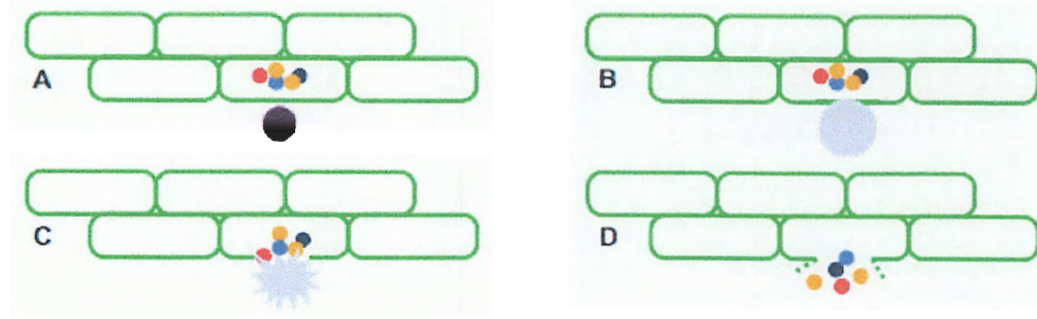


Figure 5. Explosion des bulles de cavitation et libération du matériel végétal (chemat *et al.*, 2017).

Une étude récente menée par (Juliano *et al.*, 2017), après les traitements de pré-malaxation de la pâte en utilisant des ultrasons de basse fréquence (35 kHz) pour 8 min, ce qui a entraîné une augmentation de l'extractibilité de l'huile à 3,6% voir la figure 6 . L'ultrason produit de gros bulles de cavitation instables, qui implosent à des températures très élevées et produisent des ondes de choc et des effets de cisaillement qui peuvent casser le matériau de la paroi cellulaire. Les auteurs ont montré que la technique ultrasonore a amélioré la teneur en antioxydants, les tocophérols, les caroténoïdes et la teneur en chlorophylles que les huiles non traitées et a montré une plus grande valeur nutritive de l'huile d'olive vierge étudiée.

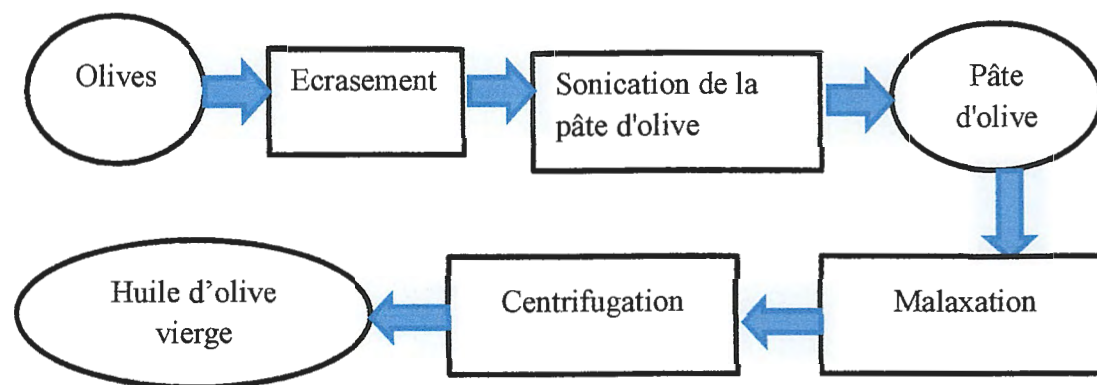


Figure 6 : Traitements de la pâte d'olive par des ultrasons

I.7.2. Enrichissement exogène de l'huile d'olive vierge

Il existe un grand intérêt pour les antioxydants naturels pour la supplémentation en huile visant à inhiber l'oxydation et à conserver la qualité nutritionnelle et sensorielle et / ou à obtenir de l'huile avec une valeur ajoutée. En ce qui concerne l'étape d'enrichissement, il y a de nouvelles technologies comme l'ultrason pour faciliter et accélérer la procédure d'enrichissement et une meilleure dissolution de l'extrait. En fait, une procédure plus écologique a été développée en utilisant la technologie ultrasonore. Dans ce procédé, les plantes ont été mises directement dans

l'huile d'olive et des ultrasons ont été appliqués au mélange pour augmenter la vitesse de la macération. Il en résulte une procédure plus verte utilisant de l'huile d'olive comme solvant, réalisée à température ambiante (pour éviter la dégradation thermique) et dans un temps considérablement réduit (Veillet *et al.*, 2010).

Une synthèse de quelques travaux réalisés ces dernières années sur l'enrichissement exogène de l'huile d'olive a été résumée dans le tableau suivant:

Tableau 4 : Résumé des travaux récents sur l'effet d'enrichissement de l'huile d'olive

Type d'huile d'olive	Procédure appliquée	Matière brute	Caractéristique ajoutée	références
Huile d'olive vierge	Liquide-liquide Extraction et ultrason	Olive cake Thyme (<i>thymus zygis</i>)	Teneur plus élevée en flavonoïdes, activité antioxydant et la stabilité oxydative plus importante. Diminution de l'indice amer Amélioration de l'acceptation du consommateur.	Rubio <i>et al.</i> (2012)
Huile d'olive raffinée	Extraction liquide-liquide	Feuilles et grignon d'olive	Amélioration de la composition en composés phénoliques	Sanchez Medina <i>et al.</i> (2011)
Huile d'olive extra vierge	Macération assisté par ultrason	Feuilles d'olive	Radical de balayage à plus grande capacité. Une stabilité améliorée à la dégradation thermique. Concentration plus élevée en oleuropeine et α -tocophérol.	Achat <i>et al.</i> (2012)
Huile d'olive	Macération assisté par ultrason	Basilique	Amélioration de la qualité sensorielle	Veillet <i>et al.</i> (2010)

Huile d'olive raffinée	Extraction liquide-liquide	Feuilles d'olive	Amélioration de la qualité oxydative et le contenu en stérol	Bouaziz et al. (2008)
Huile d'olive	Liquide liquide	- <i>Thymbra capitata</i>	Améliore la stabilité oxydative	Miguel et al. (2014)
Huile d'olive vierge	Liquide-liquide et macro onde	Myrte <i>Myrtus communis</i>	Améliore la composition en antioxydant et la stabilité à l'oxydation	Dairi et al. (2015)
Huile d'olive vierge	Agitation vertical	Feuilles d'origan	Améliorer l'enrichissement en vert de l'huile d'olive vierge par l'origan. Teneur plus élevée en antioxydant naturel. Augmenté la capacité antioxydant	Peñalvo et al. (2016)
Huile d'olive vierge	Macération assisté agitation	épinard par (<i>Spinacia oleracea</i>)	Enrichi par la Zia-xanthine de lutéine, améliore ses propriétés nutritionnelles conserve sa qualité organoleptique appréciée,	De Valle-Prieto et al. (2017)
Huile d'olive vierge	Macération liquide-liquide	Feuilles <i>Myrtus communis</i>	Amélioration de l'activité antioxydante dans différents systems oxydatifs	Dairi et al. (2017)

II.1. Oxydation lipidique

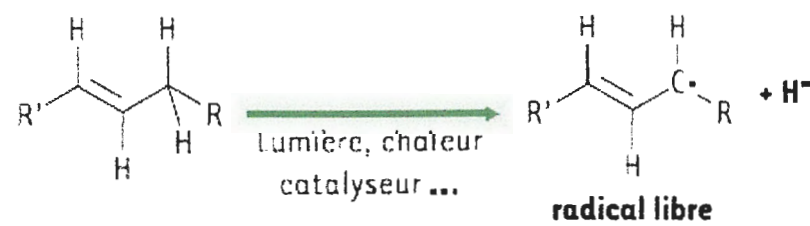
La peroxydation est l'une des réactions d'altération des lipides touchant particulièrement les acides gras insaturés. Ce phénomène est favorisé par plusieurs facteurs tel que la température, les radicaux libres, la lumière (Ancos *et al.*, 2000).

II.1.1. Type d'oxydation lipidique

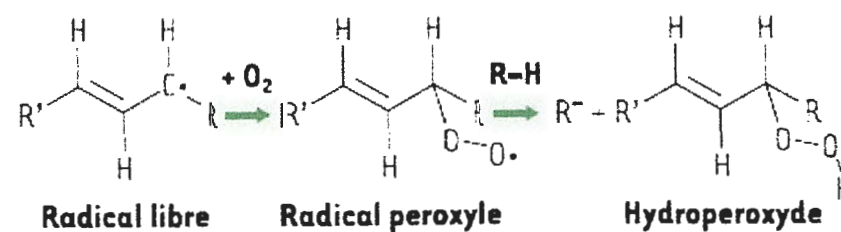
L'oxydation des lipides est une réaction à radicaux libres (Al-Dalaen *et al.*, 2014). Elle peut se faire par trois mécanismes : auto-oxydation, photo oxydation et oxydation enzymatique. Le processus d'auto-oxydation est le plus important quand il s'agit de produits alimentaires.

Le processus d'auto-oxydation des lipides polyinsaturés est généralement initié par exposition des lipides à la lumière, à la chaleur, aux rayonnements ionisants et aux ions métalliques (Shahidi, 2015 ; Shahidi et Naczka, 2004). Il se produit selon trois étapes : initiation, propagation et terminaison.

- **La phase d'initiation** : pendant cette étape se forme un premier radical libre. L'arrachement d'hydrogène est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).



- **La phase de propagation** où l'oxygène se fixe sur le premier radical pour donner un radical peroxyde qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néoradical libre et un hydroperoxyde. Les hydroperoxydes instables se scindent en composés plus courts (Amiot *et al.*, 2009), (Hennebelle *et al.*, 2004).



- **Étape de terminaison** : le processus d'oxydation se termine lorsque deux espèces radicales réagissent entre elles pour former une espèce non radicale.

I.1.2. Prévention de l'oxydation lipidique

L'oxydation lipidique peut causer des dommages alimentaires en raison de modification de l'arôme, de la texture et du goût (Andjelković *et al.*, 2006). en plus de la dégradation de la qualité (Aparicio- Ruiz *et al.*, 2014 ; Aparicio- Ruiz *et al.*, 2010) . Il est donc très important d'utiliser des substances pouvant prévenir ce phénomène. L'une des pratiques utilisées actuellement est l'utilisation des antioxydants et particulièrement ceux d'origine naturelle.

a. Définition de l'antioxydant

Un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celles d'un substrat oxydable (comme les lipides), retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat (Atmani *et al.*, 2009), dans les systèmes alimentaires, le terme antioxydant est utilisé pour désigner les inhibiteurs de la peroxydation lipidique, alors que dans les systèmes biologiques, il est fait référence à la protection des lipides, des protéines et d'ADN contre les dommages oxydatifs impliquant des espèces réactives d'oxygène (ROS) .

b. Antioxydant naturels : Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de composés qui sont omniprésents dans le règne végétal. Divisés en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. L'apport total approximatif des polyphénols est de 1 g / jour (Auger *et al.*, 2014).

Classification

Les phénols peuvent se regrouper en deux grands groupes :

- Les composés non flavonoïdes (acides phénoliques, lignanes et stilbènes) dont la molécule la plus connue est le resvératrol très abondant dans le raisin.
- Les composés flavonoïdes tels que flavones, flavanones, flavonols, anthocyanines, proanthocyanidines.

- **Relations structure-activité**

La structure des composés phénoliques est un déterminant clé de leurs propriétés antiradicalaires et l'activité chélatrice des métaux. Dans le cas des acides phénoliques par exemple, l'activité antioxydante dépend du nombre et des positions des groupes hydroxyles (**Balasundram et al., 2006**). Leur activité antioxydant augmente avec un degré croissant d'hydroxylation, comme c'est le cas d'acide gallique trihydroxylés. (**Vacca et al., 2016**).

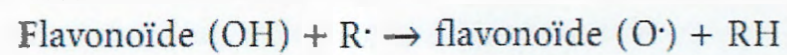
- **Mode d'action des polyphénols**

Les flavonoïdes sont les polyphénols pour lesquels les « effets santé » ont été le plus explorés. Les nombreuses propriétés de ces composés relatives à la santé, sont principalement fondées sur leurs activités antioxydants : Ils peuvent piéger les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et sont même des chélateurs de certains ions métalliques (**Bisby et al., 2008**).

L'activité antioxydant des polyphénols a été attribué à la capacité d'inhiber les enzymes pro-oxydantes, y compris la cyclooxygénase, et lipoxygénase (**Alonso et al., 2017**).

Dans le cas de l'oxydation lipidique, on peut distinguer deux types de mécanismes.

✚ **Les antioxydants primaires** peuvent piéger des radicaux lipidiques en donnant un atome d'hydrogène ou un électron à un radical pour former des produits stables non radicaux.



✚ **Les antioxydants secondaires** retardent l'oxydation par suppression ou inhibition des promoteurs d'oxydation (des ions métalliques), par des chélateurs de métaux tels que l'acide citrique, l'acide phosphorique, l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et les acides ascorbiques, formant de complexe stable (**Nimse et al., 2015 ; Chobot et al., 2014**).

La capacité de chélation métaux par des polyphénols est liée à la présence des molécules portant des groupes catéchol ou galloyle (**Barreiro et al., 2017**).

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1.Appareillage et réactifs

- Appareillage

- Ultrason
- Tamis
- broyeur
- Centrifugeuse électrique (Hettich)
- Spectrophotomètre UV
- Balance (KERN EMB)
- Bain marie (Memmert)
- Vortex électrique (MS2 Minishaker, VWR VV3)
- Agitateur
- pH mètre (Hannab pH 211) (inola)
- étuve (Memmert)

- Solvants et réactifs

- Folin -ciocalteu
- Méthanol
- Ethanol
- Hexane
- Cyclohexane
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- 2, 2diphényl-1- picrylhydrazyl (DPPH)
- Hydroxyde de potassium (KOH)
- Thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)
- Acide acétique glacial
- Chloroform
- Amidon pour préparation d'empois d'amidon
- Sodium phosphate dibasique (Na_2HPO_4)
- Sodium phosphate monobasique (NaH_2PO_4)
- Acide trichloroacétique ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$)
- Ferrocyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$]
- Chlorure ferrique(FeCl_3)

- chlorure d'aluminium (AlCl_3)
- Iodure de potassium (KI)

I.2. Matériel végétal

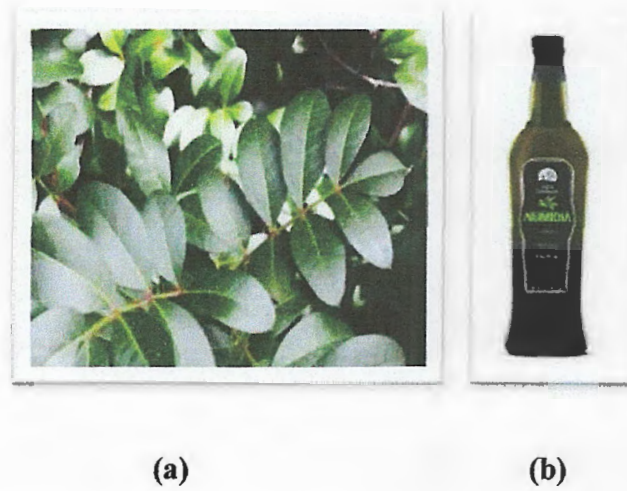


Figure 07. Feuilles de *Pistachia lentiscus* (a) ; huile d'olive vierge Numidia (b)

Le matériel utilisé au cours de notre étude est : *pistachia lentiscus* d'où on extrait les polyphénols, l'huile d'olive ou on va incorporer notre extrait.

- **Feuilles de *pistachia lentiscus* :** *p lentiscus* (*Anacardiacees*) est une plante spontanée très connue en Méditerranée. L'étude a été réalisée sur leurs feuilles, récoltées au niveau de la région de Beni Belaid, Wilaya de jijel, en Mars 2017 .
- **Huile d'olive :** le type de l'huile d'olive est de la variété CHEMLLAL ; fournie par l'entreprise IFRI Numidia (Akbou).

-Description et choix de l'échantillon des feuilles de *pistachia lentiscus* utilisée :

Les feuilles de *pistachia lentiscus* de couleur verte a odeur résineuse forte.

Ce choix se justifie par sa grande dispersion dans la nature, sa richesse en composés phénoliques, ses effets thérapeutiques et son utilisation ancestrale dans l'huile d'olive.

-Caractérisation et description de l'échantillon d'huile

Il s'agit d'une huile d'olive extra-vierge fruitée dont l'extraction est faite sur des olives à mi-maturation utilisant une centrifugation à trois phases.

I.3 Préparation du matériel végétal :

Après lavage des feuilles récoltées, afin de les débarrasser de la poussière et d'autres impuretés, elles sont aussitôt séchées à l'aire (**Kablan, 2008**). Une fois séchées, les feuilles subissent un broyage à l'aide d'un broyeur électrique, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (**Awika et al., 2005**).

Cette dernière a été tamisée à l'aide d'un tamis, contenant des tamis de différents diamètres, (250, 125µm). Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des récipients et stockées à l'abri de la lumière.

I.4. Caractérisation du matériel végétale

I.4.1. Détermination de taux d'humidité

❖ Principe

La teneur en eau a été déterminée par la méthode décrite par **Doymaz et al., (2004)**. Une prise d'essai de 1 g de la poudre est séché dans une étuve à 103°C ± 2°C jusqu'à poids constant.

❖ Expression des résultats

Le taux d'humidité (H %) est calculé par la formule suivante :

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

Où :

H% : Taux d'humidité en % ;

M₁ : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en g ;

M₂ : Masse de l'ensemble après séchage en g ;

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

I.4.2. Détermination de l'activité de l'eau (AW)

L'activité de l'eau de la poudre a été mesurée à 22°C avec un hygromètre à capteur de type capacitif (HygroPalmAW1, Rotronic).

I.4.3. Extraction des composés phénoliques totaux

L'extraction est faite selon le protocole décrit par **Dairi et al. (2014)**. En bref, on ajoute 1 g de la poudre de *Pistachia lentiscus* dans 20 ml de d'éthanol/l'eau (v/v), puis le mélange est laissé agiter pendant 60 minutes à température ambiante. Ensuite on fait la filtration.

I.4.4. Dosage des composés phénolique totaux

I.4.4. Dosage des composés phénolique totaux :

❖ Principe

La concentration de la teneur en composés phénoliques totaux a été estimée par le dosage de Folin-Ciocalteu. Le réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

❖ Mode opératoire

La détermination de la teneur en polyphénols totaux est réalisée selon le protocole décrit par **(Georgé et al. 2005)**.

D'abord nous avons faire une dilution de 1/80 (1ml de l'extrait et complète jusqu'à 80 ml avec l'eau distillée), puis dans des tubes à essai, nous avons mélangé 250 μ L d'extrait de la poudre diluée avec 1,25 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 1/10). Après 2 min à l'obscurité, on ajoute 1 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75g /L). Après 15 minutes d'incubation à 50°C, l'absorbance est mesurée à 760 nm contre un témoin ou l'extrait est remplacé par le même volume du solvant utilisé. Les concentrations sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par g de poudre de *pistachialentiscus*.

I.4.5. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée par une méthode colorimétrique décrite par **Bonvehí, Torrento, et Lorente (2001)**. 1ml de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$ 2%) est additionné à 1ml d'extrait. Après 15 mn d'incubation à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 430nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent rutine/g de poudre.

I.4.6. Détermination de la teneur en caroténoïdes et en chlorophylle

Selon **Minguez Mosquera et al (1991)**, le protocole du dosage des caroténoïdes et des chlorophylles est comme suit :

Une prise d'essai de 1.5g d'huile est ajustée jusqu'à 5ml de cyclohexane dans une fiole jaugé.

Les absorbances maximales à 670nm et a470nm nous renseignent sur la fraction chlorophyllienne et les caroténoïdes respectivement. La valeur du coefficient d'extinction spécifique utilisée :

- $E_0 = 613$ pour la Pheophytine (composant majeur des chlorophylles).
- $E_0 = 2000$ pour la lutéine (composant majeur des caroténoïdes)

❖ Résultats :

$$\text{Chlorophylles} = \frac{A_{670} \times 10^6}{613 \times 100 \times T}$$

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

A : l'absorbance

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

I.4.7. Tests d'activité antioxydant

- **Test DPPH**

Le composé chimique 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (α, α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure- activité antioxydant des composés phénoliques. Du fait que ce composé possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, les molécules du radical ne forme pas des dimères il reste donc sous sa forme monomère relativement stable à température ambiante. C'est cette délocalisation qui provoque la coloration violet foncé bien caractéristique de la solution de DPPH. Mesurer la diminution de la coloration de DPPH permet de mesurer l'efficacité d'un antioxydant, due à une recombinaison des radicaux DPPH qui possède une absorbance maximum à 515 nm. Concernant les composés phénoliques, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par transfert de l'atome H sur le DPPH° alors transformé en une molécule stable DPPH.

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou en pourcentage d'inhibition des radicaux libres en utilisant la formule suivante.

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

❖ **Mode opératoire :**

Le test DPPH est réalisé selon la méthode décrite par *Stephanie et al. (2009)*. 100 μ l d'extrait à différentes concentration sont mélangés avec 3ml de la solution de DPPH (60 μ M). Après 20 minutes d'incubation à 37°C, l'absorbance est lue à 515nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, et une courbe d'inhibition en fonction de la concentration est tracée.

%d'inhibition =f (concentrations). On a déterminé ainsi la concentration inhibitrice de 50% le radical (IC₅₀).

- **Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé en utilisant la méthode basée sur la réduction de ferricyanure de potassium (Oyaizu, 1986). La présence des agents réducteurs dans les extraits induit la réduction de l'ion ferrique (Fe⁺³) à l'ion ferreux (Fe⁺²). Cette réduction est mesurée par l'intensité de la couleur verte bleue qui en résulte. Le protocole de détermination du pouvoir réducteur est illustré dans la **Figure 08**.

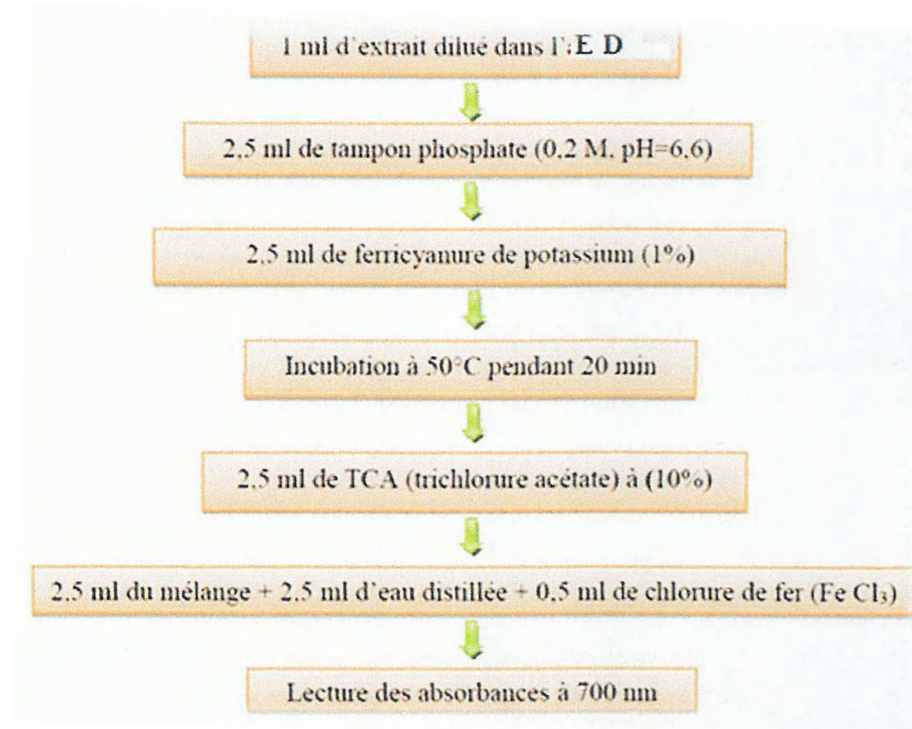


Figure 08. Protocole pour la détermination du pouvoir réducteur (Kumaran, A. ,2006).

I.5 .Optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons

Avant l'optimisation, des expériences ont été exécutées pour déterminer la gamme appropriée des conditions pour l'extraction des composés phénoliques de *pistachia lentiscus* , à savoir, le temps, l'amplitude, le ratio : masse /volume d'extraction et la granulométrie en changeant une variable indépendante à la fois tous en maintenant les autres constantes (Chan *et al.*, 2009).

✓ **Effet du temps sur l'extraction des composés phénoliques totaux :** On pèse 5 g de la poudre et on complète jusqu'à 50g d'huile d'olive. L'extraction est faite en fixant l'amplitude à 60 %, tout en variant le temps (10, 20 ,30 et 40min) et on détermine le meilleur temps d'extraction.

✓ **Effet de l'amplitude sur l'extraction des composés phénoliques totaux** : On utilise la quantité d'huile d'olive optimisée 50g pendant 10 minutes avec une variation d'amplitude (20, 40, 60, 80 et 100 %), on détermine la puissance d'extraction des composés phénoliques totaux.

✓ **Effet du ratio (solide / liquide) sur l'extraction des composés phénoliques totaux** : En variant la masse de la matière solide (5g, 7,5g, 10g de la poudre) et en fixant la quantité d'huile d'olive (50g) tout en fixant les autres paramètres aux valeurs optimisées précédemment, on optimise ainsi le ratio (solide / liquide).

✓ **Effet de la granulométrie sur l'extraction des composés phénoliques totaux** : On utilise la quantité d'huile d'olive optimisée et en variant le type de diamètre de la poudre (250 et 125 μm) tout en fixant les autres paramètres aux valeurs optimisées précédemment, on optimise ainsi la granulométrie.

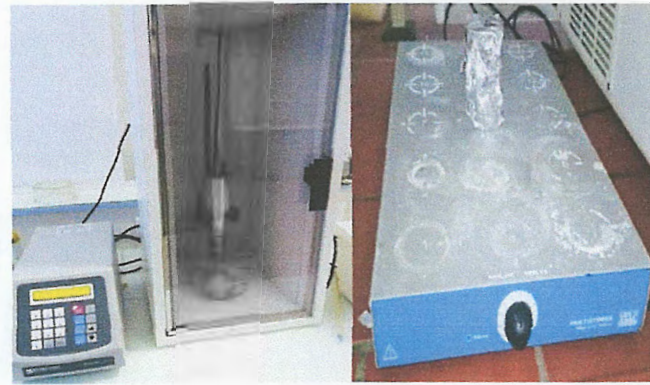
L'enrichissement de l'huile d'olive assisté par ultrason :

Dans ce travail, nous avons étudié l'enrichissement de l'huile d'olive vierge avec des antioxydants à partir d'herbes naturelles (feuilles de *pistachia lentiscus*).

L'enrichissement se réalise par l'ajout de la poudre de *pistachia lentiscus* contenant des substances bioactives (polyphénols) dans l'huile d'olive afin d'augmenter sa qualité nutritionnelle et sa stabilité oxydative.

I.6.Enrichissement conventionnelle

La macération conventionnelle faite à titre de comparaison, a été effectuée dans les mêmes conditions sans ultrasons.



Extraction par ultrasons

Extraction conventionnelle

Figure 09. Les méthodes d'enrichissement de l'huile d'olive.

I.7. Caractérisation chimique de l'huile d'olive enrichie

I.7. 1. L'extraction des polyphénols de l'huile

❖ 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.

❖ Mode opératoire :

Une prise d'essai de 2.5 g d'huile est additionnée à 5 ml d'hexane (99%) et 5 ml du méthanol/ eau (6/4, v/v), puis agitée au vortex pendant 2 min, ensuite le mélange est centrifugé à 3200 rpm pendant 5 min. La fraction polaire (phase méthanolique) est récupérée, tandis que la phase apolaire (hexanique) subit un épuisement (une autre extraction). Les trois fractions obtenues sont mélangées et conservé à 4°C et à l'abri de la lumière (Kalantzakis *et al.*, 2006).

I.7.2. Dosage des polyphénols totaux des huiles

Les mêmes protocoles utilisés dans les dosages des polyphénols totaux pour l'extrait du *P.lentiscus*.

I.7.3. Mesure des activités anti oxydantes

Le même protocole utilisé dans le dosage des CPT pour l'extrait de *pistachia lentiscus* (sauf dans ce cas on élimine l'étape de dilution).

Les résultats sont exprimés en mg EAG/Kg de l'huile.

I.7.4. Détermination de l'indice de peroxyde

❖ Principe

Consiste à un traitement d'une quantité d'huile en solution dans l'acide acétique et le chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI). Le titrage d'iode libéré se fait par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré (règlement(CEE) N° 2568/91).

❖ Mode opératoire

On pèse 2g d'huile dans une fiole, on ajoute 10ml de chloroforme, 15ml d'acide acétique glacial et 1 ml de KI (iodure de potassium). Après agitation pendant 1 min, on met le mélange à l'abri de la lumière pendant 5 min et on ajoute 75 ml d'eau distillé. 3 à 4 gouttes de la solution d'amidon ont été

ajoutées et on titre par le thiosulfate de sodium (0.01 N) jusqu'à la disparition de la couleur. En parallèle on effectue un essai à blanc.

➤ **Expression des résultats**

La détermination de l'indice de peroxyde est faite selon la formule suivante :

$$Ip = \frac{[N.(V_1 - V_0).100]}{m}$$

Ip : Indice de peroxyde (Meq d'O₂ / kg d'huile).

N : Normalité de Na₂S₂O₃ (N).

V₁ : Volume de Na₂S₂O₃ utilisé pour titrer l'échantillon (ml).

V₀ : Volume de Na₂S₂O₃ utilisé pour l'essai à blanc (ml).

m : masse de la prise d'essai (g).

I.7.5. Détermination de l'absorbance spécifique en rayonnement UV

L'examen spectrophotométrique dans l'UV peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse et sur son état de conservation. Les absorptions aux longueurs d'onde prévues dans la méthode sont dues à la présence de systèmes diéniques et triéniques conjugués.

❖ **Principe**

La matière grasse étudiée est dissoute dans le solvant requis, puis on détermine l'extinction de la solution à la longueur d'onde prescrite, par rapport au solvant pur. On calcule les extinctions spécifiques à partir des lectures spectrophotométriques.

❖ **Protocole**

On fait la même opération pour les deux échantillons. Une prise d'essai de 0.25g d'huile d'olive est introduite dans une fiole jaugée, ensuite ajustée avec 25ml d'hexane jusqu'au trait de jauge. Placer sous agitation, puis on fait lecture de l'absorbance à λ=232nm et λ=270nm (**règlement(CEE) N° 2568/91**).

I.7.6. Détermination de la teneur en caroténoïdes et en chlorophylle

Le même protocole utilisé dans le dosage des caroténoïdes et des chlorophylles pour l'extrait de la poudre de *pistachia lentiscus*.

I.8. Evaluation de la stabilité thermique de l'huile d'olive témoin et l'huile d'olive enrichie

- Test d'étuvage :

Ce test consiste à provoquer un stress thermique en chauffant l'huile d'olive dans des conditions proches à celle de la cuisson dans le but de voir est ce que l'huile enrichie résiste mieux à l'oxydation lipidique. La mise en évidence de l'oxydation est montrée par mesure de l'indice de peroxyde, le coefficient d'extinction (K_{232} et K_{270}) en fonction du temps. D'autres dosages également ont été réalisés à savoir les composés phénoliques, les caroténoïdes, les chlorophylles et la mesure de l'activité antioxydant.

Le protocole suivi est décrit par **Ayadi *et al.*, (2009)** avec quelques modifications. Une prise d'essai de 10 g d'huile témoin et de l'huile enrichie est introduite dans des tubes à essai, puis chauffés dans une étuve à une température de 130°C à différents temps d'exposition (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 h).Après chauffage, les échantillons traités sont laissés refroidir à température ambiante avant leur analyses chimiques.

Résultats et discussion

II.1. Taux d'humidité et activité de l'eau (Aw)

Le taux d'humidité et l'activité d'eau (Aw) jouent un rôle important dans la conservabilité de la poudre des feuilles séchées. De plus, la matrice végétale à incorporer dans une matrice huileuse, devrait de préférence contenir une faible quantité d'eau pour éviter une hydrolyse possible des triglycérides, ce qui pourrait par conséquent libérer des acides gras libres plus oxydables.

La poudre de feuilles de *Pistachia lentiscus* séchées a présenté un taux d'humidité de 10 % (90 % de matière sèche), et une activité d'eau (Aw) de 0.4 (27 °C).

II.2. Analyse phytochimique de la poudre de *Pistachia lentiscus*

Les teneurs en pigments et en composés phénoliques de la poudre étudiée sont représentées dans le **Tableau 5**. D'après les résultats, les feuilles de *Pistachia lentiscus* renferment des métabolites secondaires en quantité considérable. En effet, la teneur en polyphénols totaux atteint 79.18 mg EAG/g. Le dosage des flavonoïdes révèle une teneur de 2,35 mg ER/g. Parmi les pigments analysés, les caroténoïdes présentent la plus grande teneur (6,19 mg/g). Cette richesse est indiquée par *khazaal et al.,(1994)* et *Cabiddu et al.,(2000)* qui stipulent que les arbustes méditerranéens sont généralement riches en composés phénoliques.

Tableau 5. Caractérisation chimique de l'extrait de la poudre de *Pistachia lentiscus*.

CPT (mg EAG/g)	79.18 ± 11.17
Flavonoïdes (mg ER/g)	2.35 ± 0.03
Caroténoïdes (mg/g)	6.19 ± 0,02
Chlorophylles (mg/g)	0.89 ± 0,00

II.3. Evaluation de l'activité anti oxydante

Différentes méthodes ont été développées pour l'évaluation des activités anti oxydantes. Dans cette présente étude, nous avons utilisé deux méthodes : test DPPH et le pouvoir réducteur.

II.3.1 Pouvoir scavenger du radical DPPH

D'après la Figure 10, on remarque bien que l'activité antioxydant augmente en parallèle avec l'augmentation de la concentration de l'extrait de la poudre avec un effet dose dépendant, mais à partir d'une certaine concentration une stabilité de l'activité antioxydant est observée. Le pourcentage d'inhibition maximal est obtenu à la dilution de la valeur maximal correspondant la dilution 1,95 mg EAG/ml ($89.18 \pm 0.45 \%$). Différentes études ont montré que les feuilles de *Pistachia lentiscus* contiennent des acides phénoliques (tels que l'acide gallique), des flavonoïdes (tels que les dérivés de myricétine) et des tannins (Umadevi *et al.*,1988) et (Romani *et al.*, 2002). Ces composés sont considérés comme des éliminateurs de radicaux libre et capteur du radical DPPH (Baratto *et al.*, 2003 ; Benhammou *et al.*, 2008 ; Bampouli *et al.*, 2015 ; Mezni *et al.*, 2015).

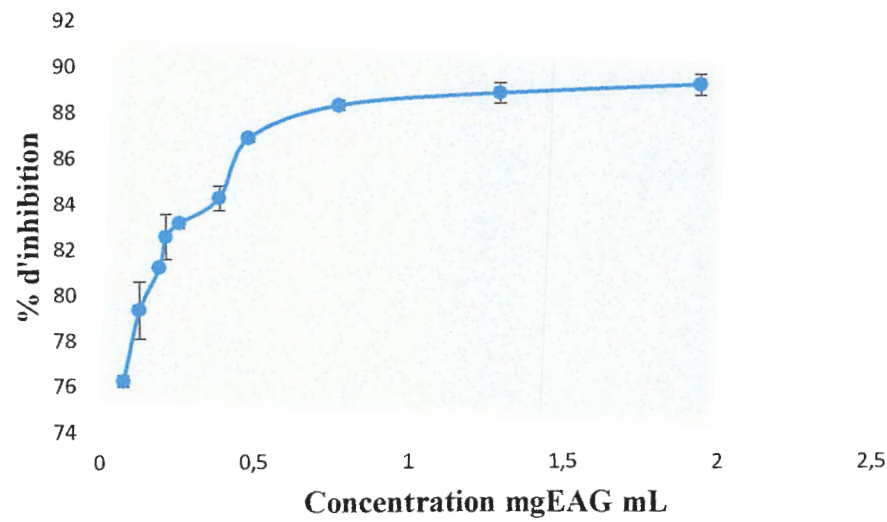


Figure10. Pouvoir scavenger du radical DPPH.



II.3.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est basé sur la réduction de Fe^{+3} en Fe^{+2} . Selon la **Figure 11**, le pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation de concentration de l'extrait éthanolique. Les feuilles de *P. lentiscus* montre un potentiel maximal de réduction avec la concentration 0,99 mg EAG/ ml (0.99 ± 0.0004). Ces résultats sont probablement dus aux groupements hydroxyles des composés phénoliques, qui peuvent servir de donneurs d'électrons. **Mier et al., (1995)** montrent que la capacité de réduction d'un composé peut servir d'indicateur significatif de son potentiel antioxydant.

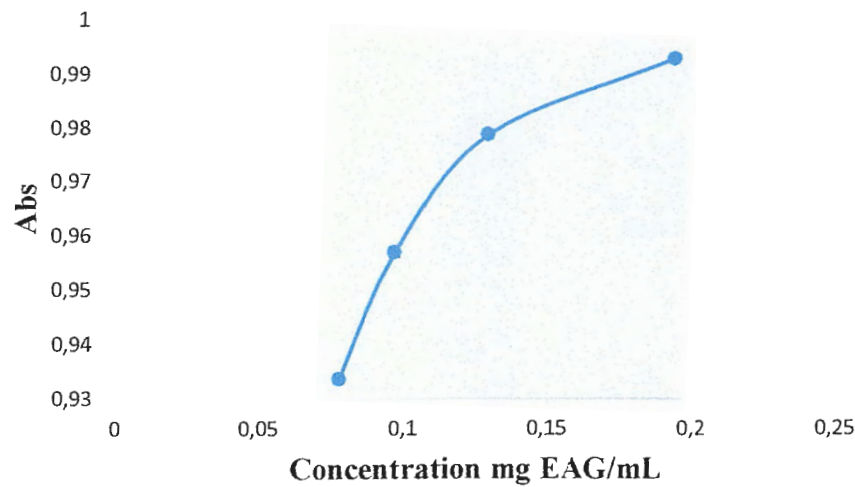


Figure 11. Pouvoir réducteur de l'extrait du *P. lentiscus*.

II.4. Optimisation d'enrichissement assisté par ultrasons

L'utilisation des ultrasons pour l'extraction sur les matrices végétales ou alimentaires est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction. Ces améliorations peuvent être attribuées à l'amélioration de la diffusion des substances dissoutes de l'intérieur de la cellule vers le milieu d'extraction (**Veillet et al., 2010**). Néanmoins, différents paramètres peuvent moduler l'efficacité de ce procédé. Pour cela, une optimisation est nécessaire afin de déterminer et d'optimiser les bonnes conditions de macération assistée par ultrasons.

II.4.1. Effet du temps

Différents temps ont été appliqués pour voir leur effet sur les différentes substances bioactives.

II.4.1.1.Effet sur les polyphénols

D'après la figure 12 montrée ci-dessous, le taux des CPT a augmenté de 110 mg EAG/Kg à 192,30mg EAG/Kg et 194,92 mg EAG/Kg \pm 15.52 après 10 à 20 min, sans qu'il y ait une différence significative entre les deux temps d'exposition ($p < 0.05$). Néanmoins, à partir de 20 min le taux des CPT diminue progressivement avec l'augmentation du temps d'exposition jusqu'à atteindre une teneur de 113,30 mg \pm 0.49 EAG/Kg à 40 min, soit une diminution de presque 40 % par rapport au maximum (10 min). Cette différence conduit à la conclusion suivante : Plus on augmente le temps d'agitation plus on risque de dégrader les composés phénoliques. Notre résultat est en accord avec celui de Veillet *et al.*, (2010) qui ont choisi le temps à 15 min comme le meilleur temps de macération. Mais s'oppose à celui d'Achat *et al.*, (2012) qui ont trouvé que le temps à 45 min est le temps optimal de l'enrichissement. Cette différence entre les résultats peut être due à la différence de la composition chimique liée à la plante lui-même.

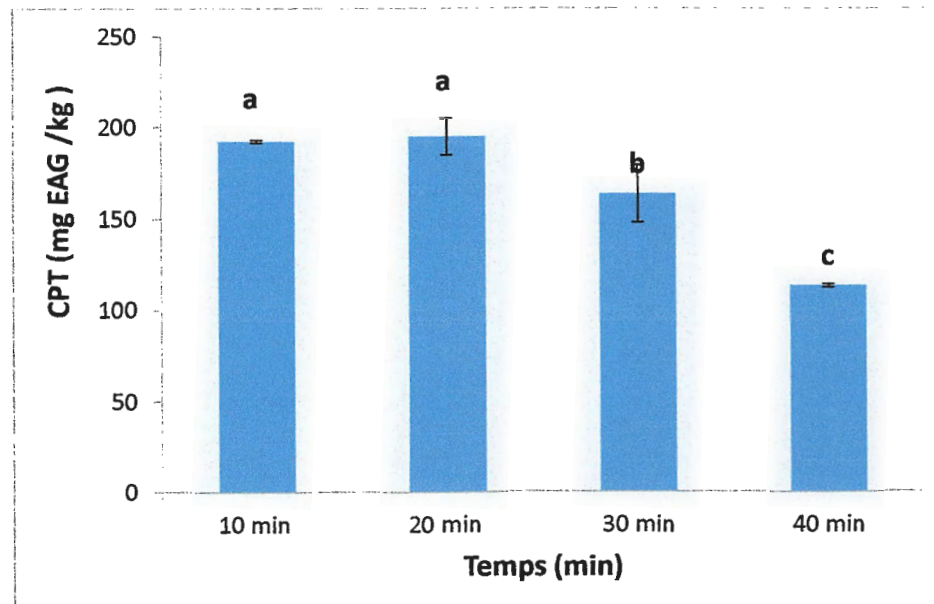


Figure12. Effet du temps sur le taux des CPT.

II.4.1.2.Effet sur les pigments « chlorophylles et caroténoïdes»

Le taux de chlorophylles et de caroténoïdes augmente progressivement avec la durée de sonication et d'une façon significative et linéaire pendant les premiers temps d'exposition aux Ultrason ($p < 0.05$). En effet, la teneur en caroténoïdes passe de valeur 0.44 mg EAG/Kg (huile témoin) à 2.82 mg EAG/Kg pour l'huile enrichie après 40 min soit une augmentation de 540 %. Concernant la teneur en chlorophylle, elle passe de valeur 0.50 mg EAG/kg (huile témoin) à 2 mg EAG/Kg après 40 min soit une augmentation de valeur 300 %. Selon *Chemat et al.,(2017)*, la cinétique d'extraction des chlorophylles des épinards présentait une augmentation également linéaire avec les ultrasons en fonction du temps, et cela est probablement en raison de la réduction de la taille des particules (fragmentation de l'échantillon). Cette fragmentation peut être due à des collisions entre les particules et des ondes de choc créées à partir de bulles de cavitation qui s'effondrent le liquide. Une conséquence directe de la réduction de la taille des particules par action ultrasonore est l'augmentation de la surface spécifique du solide, entraînant un transfert de masse plus élevé et un taux d'extraction accru.

Cette augmentation est plus remarquée pour les caroténoïdes par rapport aux chlorophylles, par comparaison avec les CPT : migration de caroténoïdes > migration de chlorophylles > migration de polyphénols. Ce rapide relargage des pigments dans l'huile peut être dû au degré de solubilité, car les chlorophylles et les caroténoïdes sont des composés apolaires (liposolubles), donc elles sont plus solubles dans l'huile par rapport aux polyphénols (composés polaires), et cela permet leurs plus migration rapidement dans l'huile.

En tenant compte de ces résultats, le temps optimum choisi est 10 min car il n'y a pas une différence significative entre le temps 10 min et 20 min dans l'extraction des composés phénoliques, et permet d'éviter la dégradation des composés extraits suite à l'augmentation considérable de la température lors des impulsions sonores. De plus, cela temps permet de gagner du temps et économiser plus d'énergie.

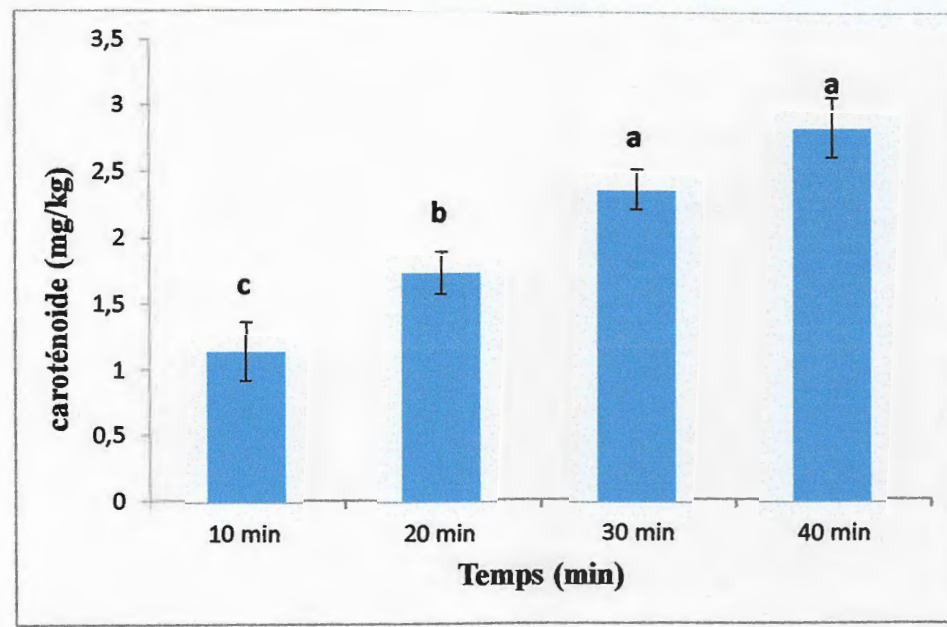


Figure 13. Effet du temps sur le taux des caroténoïdes.

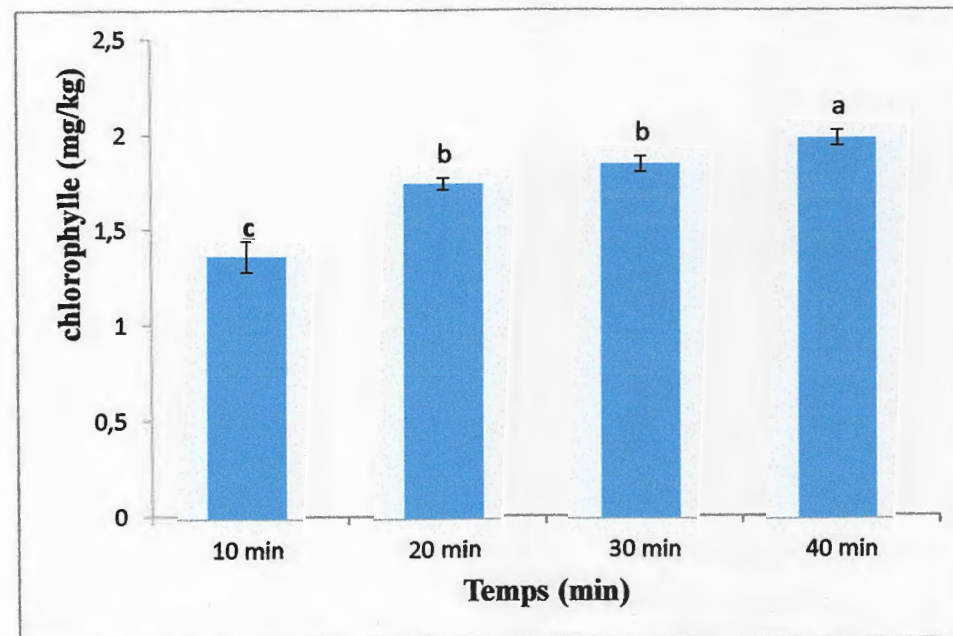


Figure 14. Effet du temps sur le taux des chlorophylles.

II.4.2. Effet de l'amplitude

II.4.2.1. Effet sur les composés phénoliques

L'amplitude est un paramètre très important dans l'extraction assistée par ultrason. Selon la figure, le taux de CPT augmente progressivement avec l'augmentation de l'amplitude, et cela pourrait être attribué à l'intensité de la cavitation ultrasonore. En effet, la teneur en CPT augmente de valeur 128.56 mg EAG/Kg à 206, 44 mg EAG/Kg avec une amplitude maximale de 100 %. Aucune dégradation n'a été observée avec les conditions utilisées. Cela laisse supposer, qu'une exposition à un temps réduit et avec une forte amplitude permet de prévenir la dégradation des substances sensibles tels que les composés phénoliques. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Chemat et al.,(2017)** sur l'extraction assistée par ultrason (EAU) de limonène des graines de carvi ; ou ceux de **Vielle et al.,(2010)** sur l'EAU des polyphénols à partir de peau d'orange, respectivement.

Il y a une relation directe entre l'intensité des ultrasons et l'amplitude de la pression de l'onde sonore qui est-elle corrélée à la pression acoustique. La pression acoustique étant un paramètre clé dans la génération des ultrasons, plus l'intensité des ultrasons sera élevée plus facilement la cavitation pourra se faire (**Veillet, 2010**). Les bulles de cavitation générées par l'application d'ultrasons peuvent exploser et détruire les cellules végétales, et du fait la migration des composés phénoliques à partir des feuilles de *Pistachia lentiscus* vers l'huile sont favorisée.

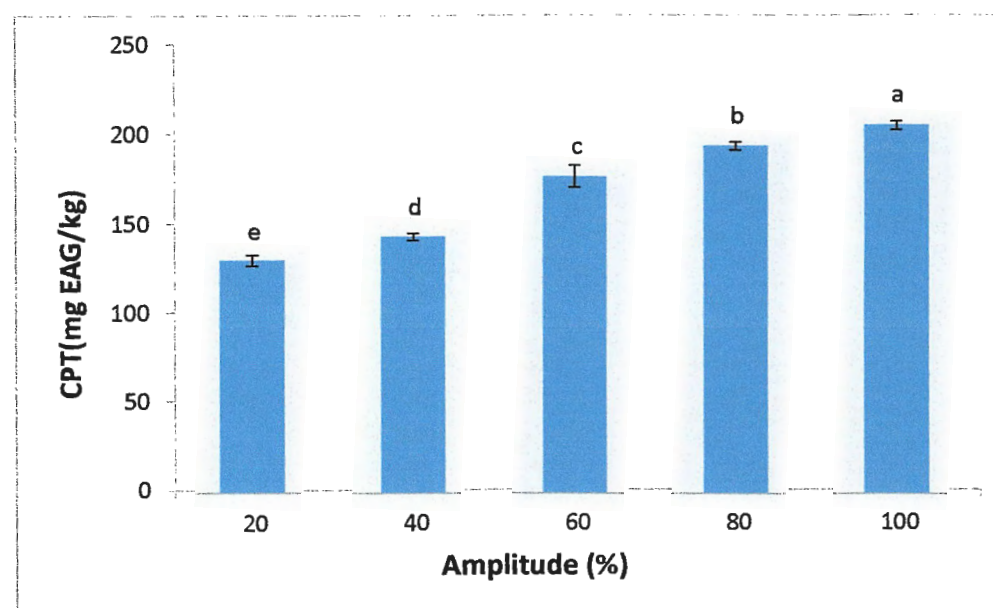


Figure 15 : Effet de l'amplitude sur le taux des CPT

II.4.2.2.Effet sur les chlorophylles et caroténoïdes

a- Caroténoïdes

D'après les résultats obtenus (Figure 16), on remarque qu'il y a une proportionnalité entre l'amplitude et le taux des caroténoïdes. Plus l'amplitude s'accroît plus le transfert de ce pigment est favorisé. En effet, la teneur initiale en caroténoïdes a augmenté de 72.8 % après l'utilisation de l'amplitude maximale (100).

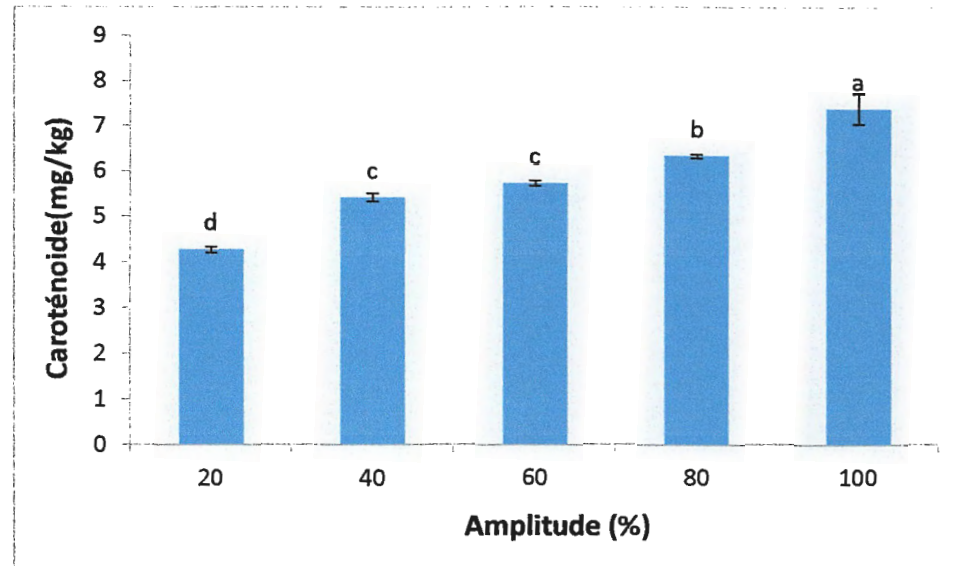


Figure 16. Effet de l'amplitude sur le taux des caroténoïdes.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de *Chemat et al., (2012)* qui ont montré que l'intensité des ultrasons améliore et accélère l'enrichissement de l'huile comestible en caroténoïdes de l'argousier.

b- Chlorophylle

D'après la figure, on remarque que le taux de chlorophylle augmente avec l'augmentation de l'amplitude jusqu'au 60 % ou il atteint son apogée ($3.22 \text{ mg/kg} \pm 0.17$). Après la teneur de ce pigment diminue d'une façon significative quand les amplitudes 80 et 100 % sont appliquées et donnant des teneurs de 2.62 et 2.49 mg/kg respectivement mais sans aucune différence significative entre les deux ($p < 0.05$).

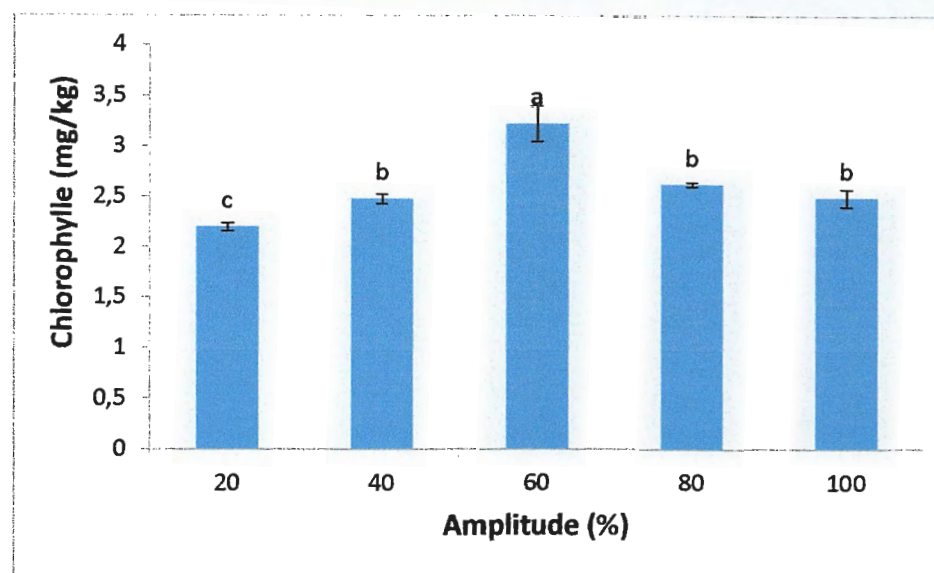


Figure 17. Effet de l'amplitude sur le taux des chlorophylles.

Ce résultat laisse supposer que les pigments chlorophylliens sont plus susceptibles à la dégradation avec l'augmentation de la cavitation ultrasonore. En effet, l'utilisation de forte amplitude peut conduire à des phénomènes sonochimiques (hydrolyse, oxydation ...) (Mason et Lorimer.,2002).

Afin d'avoir un compris entre les composé étudiés, l'amplitude 100% a été choisie pour le reste des manipulations.

III.4.3. Effet du ratio

II.4.3.1. Effet sur les polyphénols

Les résultats pour les trois charges différentes indiquent qu'il y a une corrélation positive entre le ratio et la concentration des CPT ; et par conséquent, la teneur en polyphénols augmente en parallèle avec l'augmentation de la quantité de la poudre .des feuilles de *Pistachia lentiscus*. D'après ces résultat, on constate aussi que l'huile enrichie a 10 et 15 % présentent des teneurs non significatives ($p < 0.05$). Concernant l'huile à 20 %, elle a présenté la plus grande valeur en CPT mais le produit formé était trop foncé, ce qui nous a poussés à ne pas en tenir compte dans le choix de meilleur ratio.

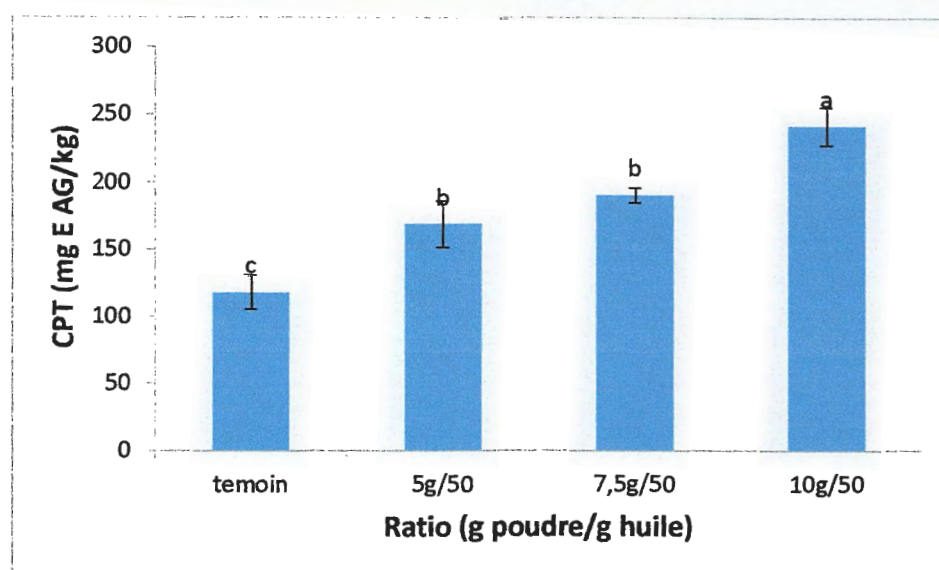


Figure 18. Effet du ratio sur le taux du CPT.

II.4.3.2. Effet sur les chlorophylles et caroténoïdes

Pour les caroténoïdes, on observe une évolution progressive du taux pendant les différentes charges de la valeur minimale de (8.66 mg/ Kg \pm 0,29) qui correspond le ratio minimale de 5 g/ 50g jusqu'à atteindre la valeur maximale de 13.95mg/ Kg \pm 0,16) qui correspond le ratio maximale de 20g/ 50g qui est plus treize fois par rapport à l'huile d'olive vierge (0.50 mg/kg \pm 0.05). Selon la figure, le taux de chlorophylles est presque stable malgré l'augmentation de la concentration de la poudre.

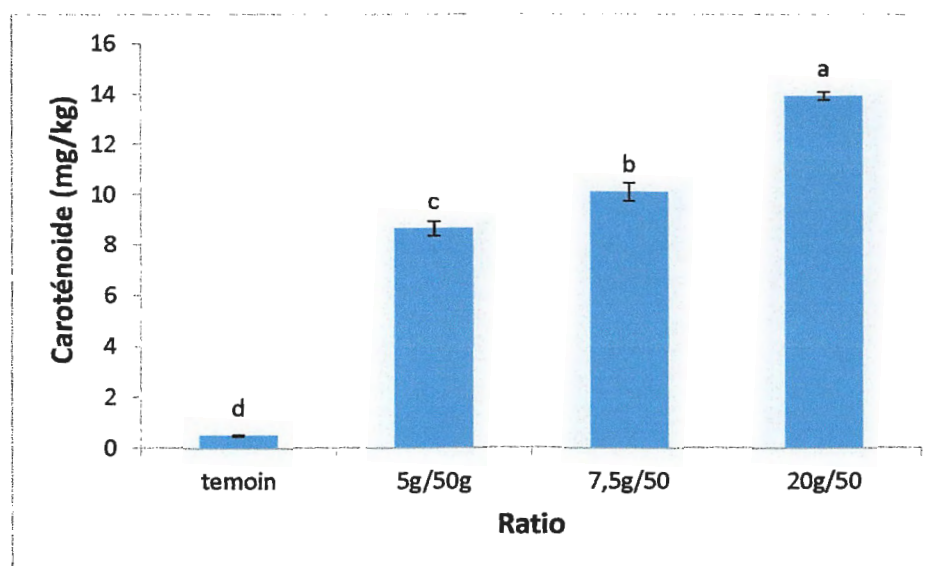


Figure 19. Effet du ratio sur le taux des caroténoïdes.

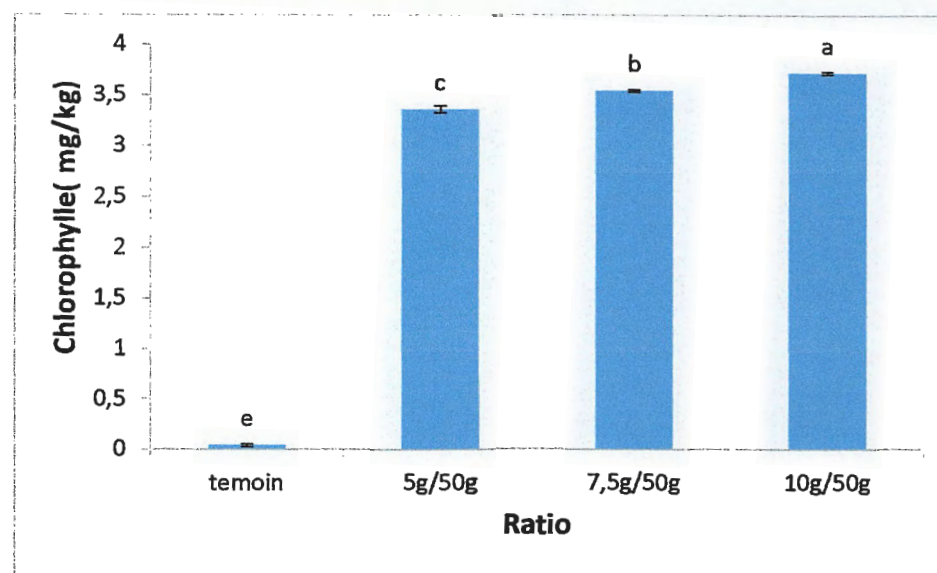


Figure 20. Effet du ratio sur le taux de la chlorophylle.

II.4.4. Effet de la granulométrie

II.4.4.1. Effet sur les polyphénols

Le meilleur résultat est celle du diamètre 125 μ m (voir la figure) (198.49 mg EAG/kg \pm 1.76). ce résultat est d'accord à celui obtenu par Veillet *et al.*,(2010) qui ont montré que le meilleur rendement en polyphénols est obtenu lors de l'utilisation des particules plus fines, ce qui probablement dû à l'augmentation de la surface de contact avec le solvant.

La réduction de la taille des particules par la cavitation ultrasonique augmente la surface de contact entre la matière à extraire et le solvant.

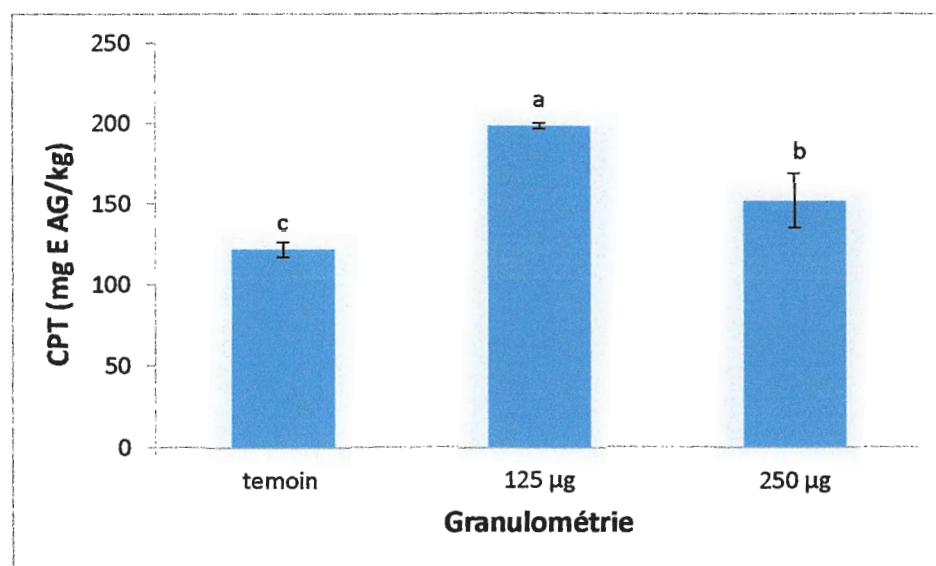


Figure 21. Effet de la granulométrie sur le taux de CPT.

II.4.4.2. Effet sur les chlorophylles et caroténoïdes

Les résultats ont montré qu'il n'y a pas une différence significative entre les deux types de la granulométrie 125 μ m (2.86 mg/kg \pm 0.36) et 250 μ m (2.79 mg/kg \pm 0.17) qui sont plus deux fois par rapport à l'huile témoin (0.33mg/kg \pm 0.02).

Ces résultats sont similaire à celle du taux des caroténoïdes selon la figure les deux types de la granulométrie 125 μ m (10.52 mg/kg \pm 0.22) et 250 μ m (10.48 mg/kg \pm 0.29) sont plus quatre fois par rapport à l'huile témoin (2.45mg/kg \pm 0.13).

On choisit le diamètre de 125 μ m comme le meilleur pour lequel le taux des chlorophylles et caroténoïdes prend les valeurs maximale. et cela peut être liée au degré de solubilité de ces derniers et leurs grande vitesse de diffusion lorsque on réduit le diamètre de la poudre.

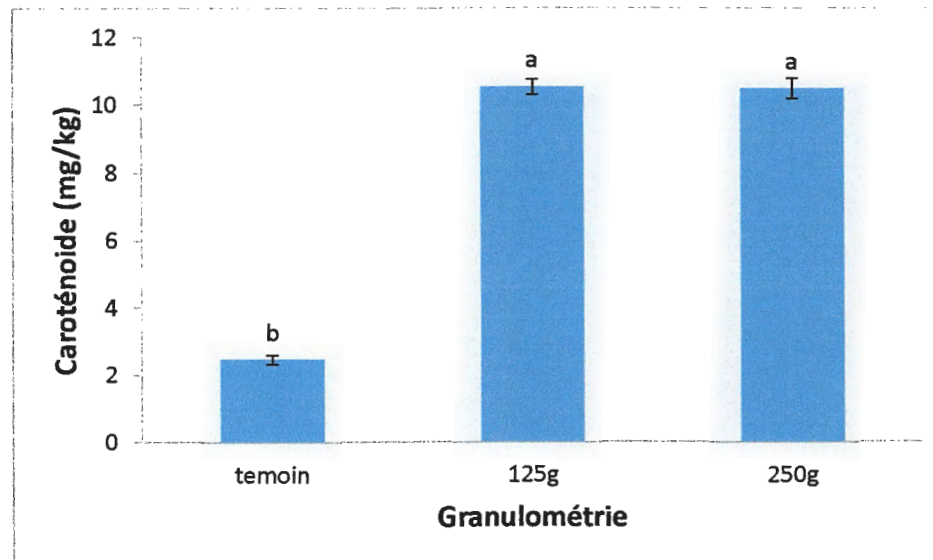


Figure 22. Effet de la granulométrie sur le taux des caroténoïdes.

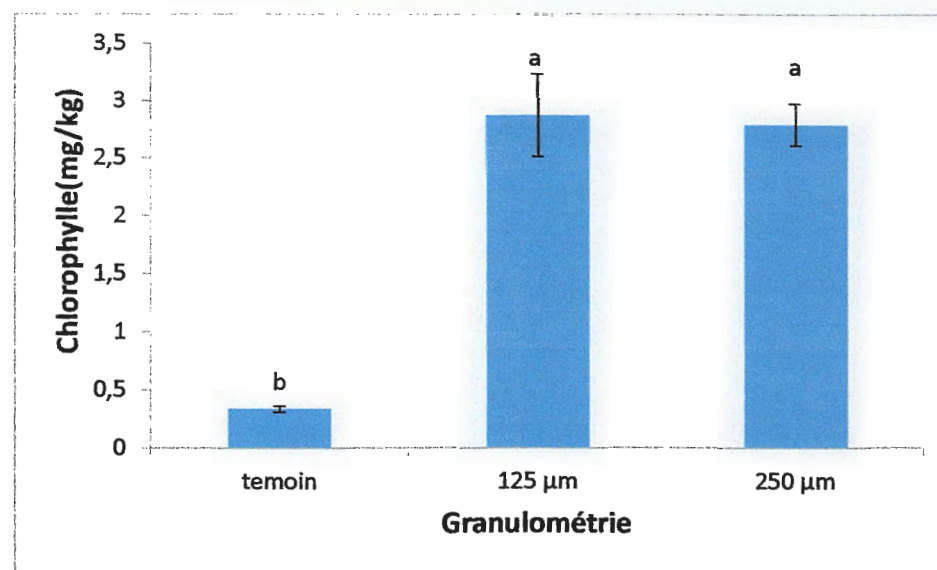


Figure 23. Effet de la granulométrie sur le taux de la chlorophylle.

D'après l'ensemble des résultats, les conditions optimales retenues dans cette étude sont : temps de macération (10 min), et l'amplitude 100 %, granulométrie 125 µm et la granulométrie 10 %.

II.5. Comparaison entre macération conventionnelle et assistée par ultrasons

En vue de voir l'efficacité de l'utilisation des ultrasons dans l'enrichissement de l'huile, une comparaison avec la macération passive a été faite par rapport la composition en substances bioactives et aussi par rapport à l'activité antioxydant.

II.5.1. Composition phytochimique

Les résultats d'analyse de la composition phytochimique sont résumés dans le Tableau 6.

Tableau 6. Composition en CPT, chlorophylle et caroténoïdes des différentes huiles étudiées.

	Ultrason	Macération conventionnel	HT
Temps	10 min	24 heures	-
CPT(mg EAG/kg)	198,49 ± 1,76	137,25 ± 4,49	122,17 ± 4,65
Chlorophylle (mg/kg)	2,86 ± 0,36	3,28 ± 0,13	0,95 ± 0,001
Caroténoïde (mg/kg)	10,52 ± 0,22	7,65 ± 0,22	2,45 ± 0,13

✦ **Polyphénols.** Nos résultats révèlent que l'huile d'olive vierge renferme une quantité plus faible et plus proche à celle de l'huile d'olive enrichie par la macération conventionnelle en polyphénols totaux, soit 154.27 ± 0.45 et 166.38 ± 1.99 mg EAG/kg respectivement, par rapport à l'huile d'olive enrichie par l'ultrason dont la teneur moyenne est sensiblement plus élevée 198.49 ± 2.74 mg EAG /kg (+ 62% par rapport à HT). Les variations des teneurs en polyphénols observés peuvent être dues à la cavitation ultrasonore qui favorise la migration des substances bioactives. Le temps de traitement est donc réduit de quelques heures ou quelques jours à quelques minutes lorsque l'on compare à la macération traditionnelle (Assami *et al.*, 2016 ; Achat *et al.* 2012).

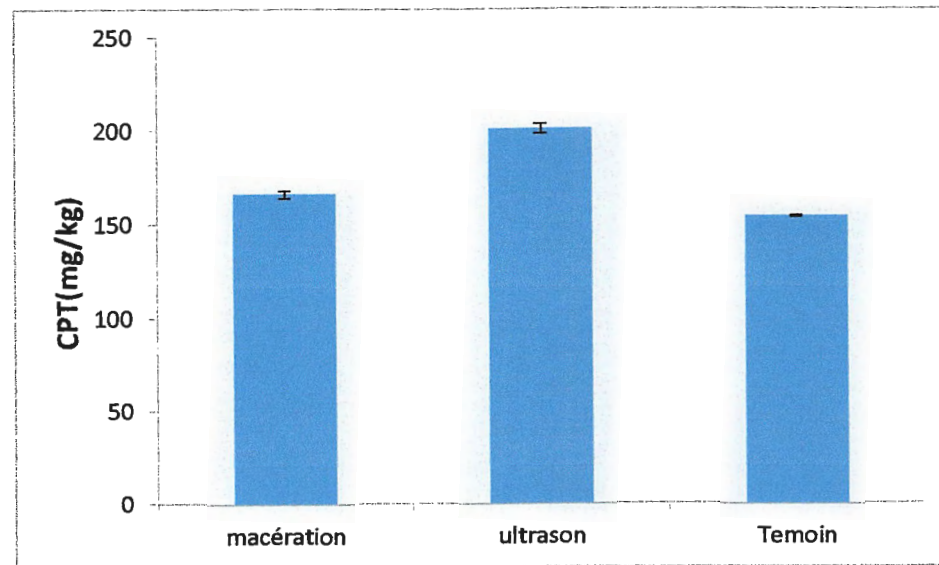


Figure 24 : le taux des CPT dans les trois types de l'huile.

Selon Achat *et al.*, (2012), la teneur des CPT dans l'huile d'olive enrichie par ultrason est 53 % plus élevée par rapport à l'huile d'olive enrichie par la macération conventionnelle.

✚ **Dosage des caroténoïdes** : D'après la Figure 26, l'huile enrichie par ultrason renferme la quantité la plus élevée en caroténoïdes soit en moyenne une teneur de 10.52 mg/kg \pm 0.22 par rapport à l'huile d'olive vierge, et plus proche à l'huile enrichie par macération conventionnelle dont les valeurs sont respectivement 7.65 mg/kg \pm 0.22, 2.45mg/kg \pm 0.13. Selon nos résultats, la migration des caroténoïdes dans l'huile enrichie par l'ultrason est élevée 4 fois par rapport à l'huile témoin et presque 1,3 fois par rapport à l'huile enrichie par la macération conventionnelle.

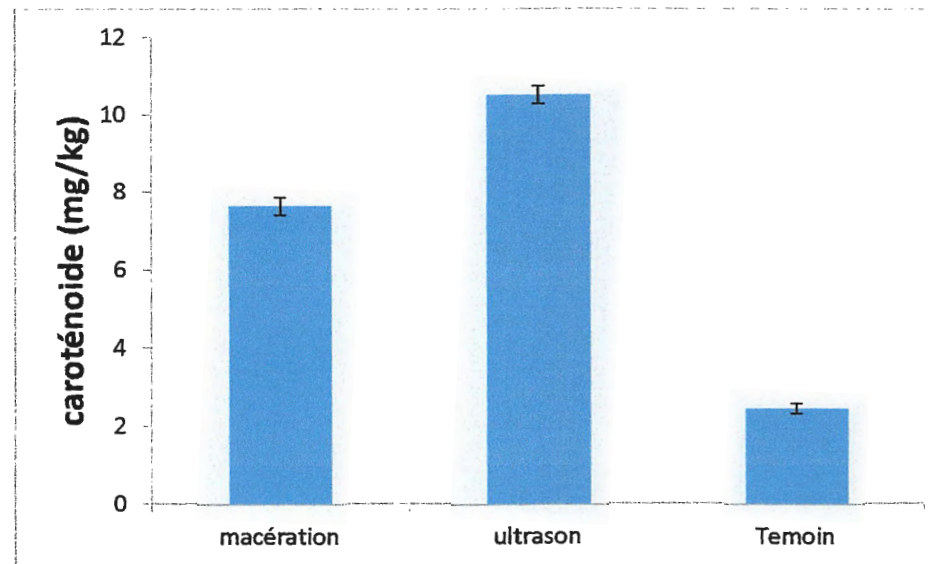


Figure 26 : le taux des caroténoïdes dans les trois types de l'huile.

✚ **Dosage des chlorophylles** : Nos résultats révèlent que l'huile d'olive enrichie par l'ultrason renferme 2.86 mg/kg \pm 0.36 de la chlorophylle, elle est 2 fois plus qu'à celle de l'huile d'olive vierge (0.95 \pm 0.001 mg/kg). L'huile d'olive enrichie par la macération conventionnelle donne une valeur de 3.28 \pm 0.13 mg/kg, mais sans aucune différence significative avec celle obtenue avec la méthode assistée par ultrasons.

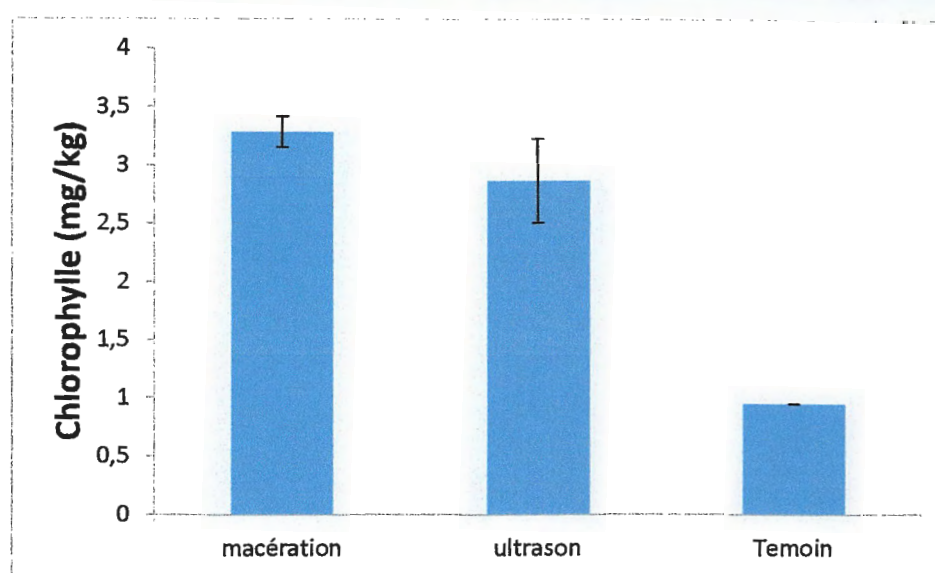


Figure 27 : taux des chlorophylles dans les trois types de l'huile.

On remarque que le pourcentage de la migration des polyphénols, chlorophylles et caroténoïdes dans les l'huile d'olive est très variable. Cela est probablement dû à la différence de degré de solubilité : Caroténoïde > chlorophylle > polyphénols.

II.5.2. Activités antioxydants des huiles enrichies

II.5.2.1. Test DPPH

Les résultats de pourcentage de l'activité antioxydant des échantillons d'huiles d'olives vierges sont présentés dans la Figure 28 ci-dessous.

Selon la figure, les extraits méthanoliques des huiles étudiées présentent la capacité à piéger le radical DPPH et diffère d'une huile à une autre. La valeur la plus élevée de l'activité antioxydant a été enregistrée avec l'huile d'olive enrichie par l'ultrason ($62.59 \pm 7.33 \%$). Cette valeur est proche à celle de l'huile d'olive enrichie par la macération ($54.06 \pm 0.39 \%$), mais la valeur la plus faible est enregistrée chez l'huile d'olive vierge ($25.58 \pm 4.27 \%$). Cela est directement lié à sa plus grande teneur en antioxydants phénoliques ; car une corrélation fréquente entre la capacité antioxydant et le taux de PT est reconnue. Ce qui indique que l'enrichissement de l'huile d'olive vierge par la poudre de *pistachia lentiscus* améliore son pouvoir antioxydant. Ce résultat est en accord avec le travail récent du **Dairi et al., (2017)**.

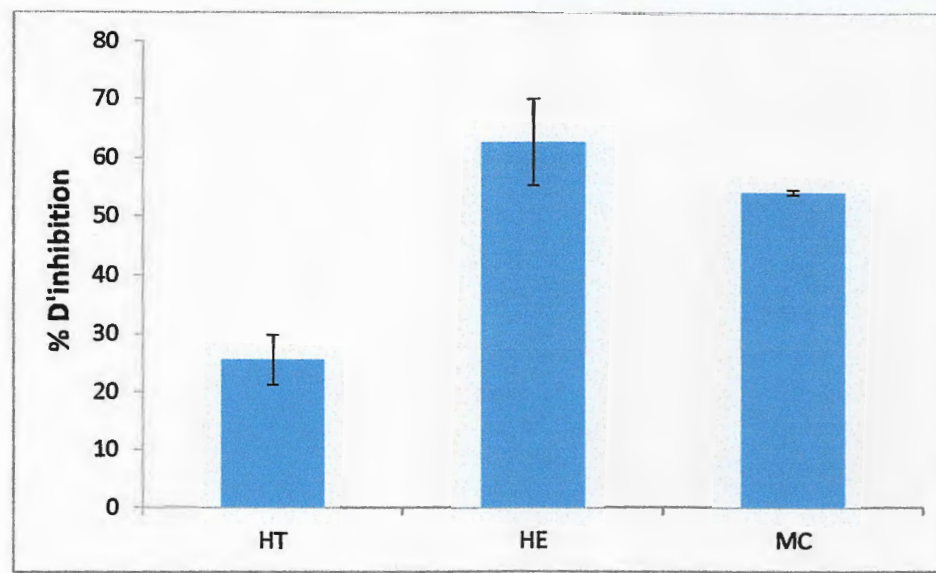


Figure 28. Activité antiradicalaire DPPH des huiles enrichies.

II.5.2.2. Pouvoir réducteur des huiles enrichies

D'après la Figure 29, nous constatons que l'huile obtenue par ultrason a présenté l'activité la plus importante dans la réduction du fer (0.4 ± 0.002), suivi de celle par macération (0.34 ± 0.01). Néanmoins, l'huile témoin a présenté un pouvoir réducteur inférieur (0.24 ± 0.01) par rapport aux autres huiles. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Hayes *et al.*, (2011).

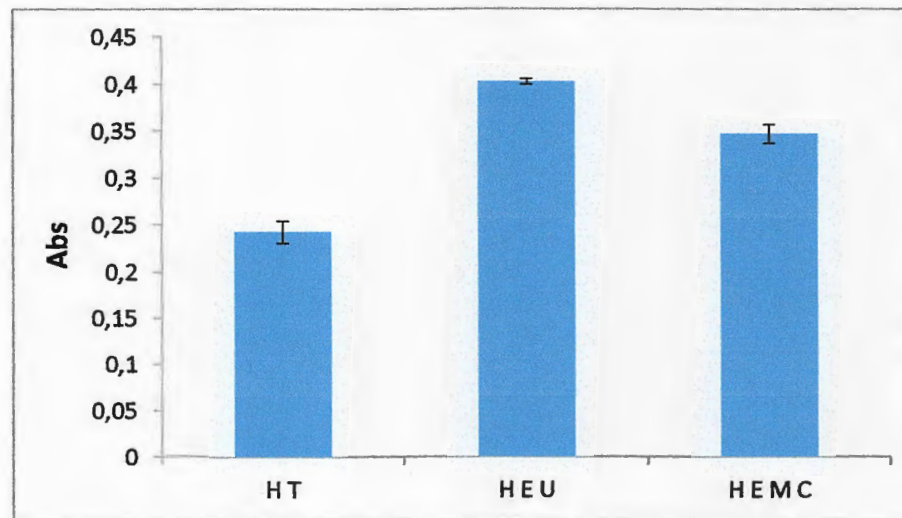


Figure 29. Pouvoir réducteur des trois types de l'huile d'olive.

II.6. Test de chauffage à 130°C (chauffage sous conditions de cuisson)

Afin de voir est ce que l'enrichissement améliorer la stabilité thermique et oxydative de l'huile d'olive, l'huile enrichie est soumise à un stress thermique dans des conditions de cuisson (130°C).

II.6.1. Indice de peroxyde

L'indice de peroxydes est l'un des paramètres qui peuvent décrire l'état d'oxydation d'une huile.

La quantité de peroxydes présents dans un échantillon est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme de produit (Gharby *et al.*, 2011). Avant traitement (au temps zéro), on peut constater que l'indice de peroxyde de l'huile d'olive (témoin et enrichie) présente des valeurs inférieures au maximum autorisé qui ne doit pas dépasser 20 meq O₂/kg pour toutes les catégories d'huile d'olive vierge. Pendant le chauffage à 130°C, le taux d'oxydation de l'huile d'olive enrichie évolue à un niveau inférieur par rapport à celle du témoin. Après 4 heures, on constate une forte augmentation de la pente pour l'huile témoin qui traduit que l'oxydation se produit d'une manière plus rapide. Par contre l'huile enrichie devient stable, et cela peut être due à l'effet des composés présents dans les feuilles de *P. lentiscus* sur l'inhibition de la formation des hydroperoxydes (Ayadi *et al.*, 2009).

Finalement on peut dire que L'évolution de l'indice de peroxyde des huiles contenant des antioxydants suit relativement un rythme moins Accentué que celle du témoin. Ceci démontre que l'enrichissement de l'huile végétale par les polyphénols semble améliorer la stabilité oxydative de l'huile (Gharby *et al.*, 2014).Nos résultats sont conformes à ceux précédemment rapportés par (Caponio *et al.* ,2003) ;(Neves *et al.*, 2008).

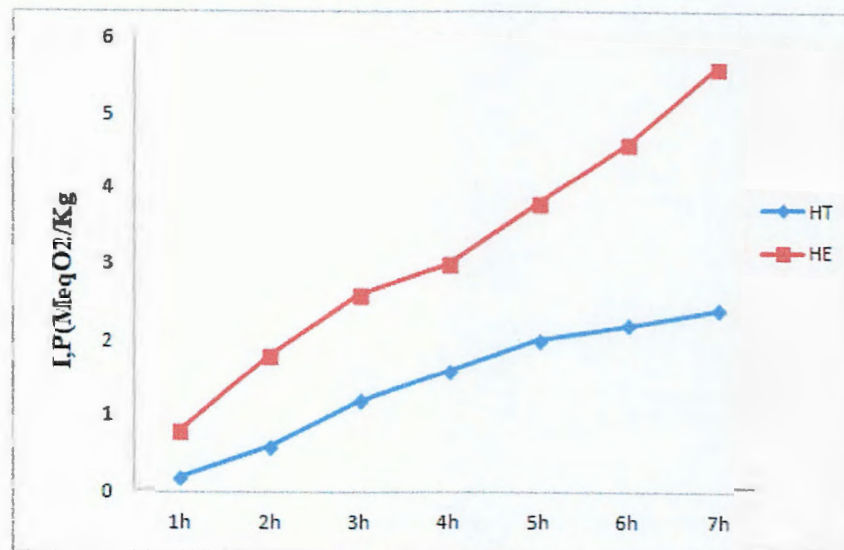


Figure 30 : Variation des valeurs de l'indice de peroxyde des huiles T et E pendant le chauffage à 130°C.

II.6.2. Coefficient d'extinction k_{232} et k_{270}

La détermination des diènes conjugués et la formation des produits d'oxydation secondaires est une bonne mesure de l'état oxydatif des huiles et donc un bon indicateur d'efficacité des antioxydants (Nevado *et al.*, 2012). Ils permettent de vérifier le degré d'oxydation de l'huile d'olive (Rodrigues *et al.*, 2012). Ces coefficients d'extinction spécifiques sont indicatifs de la formation du produit primaire (k_{232}) et du produit secondaire (K_{270}) de l'oxydation respectivement pendant la contrainte thermique (Malheiro *et al.*, 2013). Les valeurs maximales autorisées pour K_{232} et K_{270} sont respectivement de 2,50 et 0,20 (CEE, 1991).

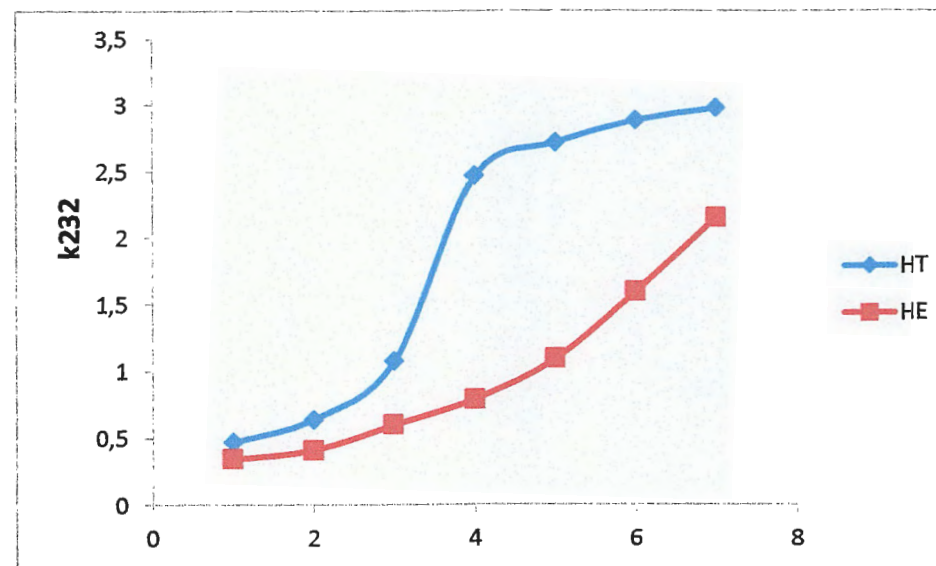
L'ajout d'extraits des feuilles de *Pistachia lentiscus* à l'huile d'olive n'a pas apporté des changements significatifs sur les valeurs K_{232} et K_{270} pour l'huile enrichie avant le chauffage ($t = 0$ h). Pendant le chauffage dans le premier temps (1-3h), le K_{232} pour les deux types d'huiles (témoin et l'enrichie) a montré une augmentation lente et en parallèle mais après cette étape initiale, une augmentation drastique de K_{232} a été observée pour atteindre des valeurs variant entre 2,47 à 2,98 pour l'huile témoin pendant le traitement thermique alors que l'huile enrichie augmente de manière moins rapide et constante.

Ce qui indique que l'extrait des feuilles de *P. lentiscus* peut réduire les pertes de composés phénoliques d'huile d'olive vierge pendant le chauffage et, par conséquent, cet extrait peut

contribuer à diminuer la formation des produits primaires (Hydroperoxydes) en protégeant l'oxydation des acides gras polyinsaturés (PUFA).

En ce qui concerne le K_{270} , la formation des produits secondaires dans le contrôle et même pour l'huile enrichie est faible pendant le premier temps de chauffage (1-3h), mais après cette période, il y a une augmentation importante des valeurs de K_{270} pour l'huile témoin, de **0,61 à 1,56**. Par contre l'huile enrichie reste presque stable à la fin du traitement. Ce résultat est en relation avec les résultats de l'indice de peroxyde montrant que la quantité des produits primaires est faible dans le cas de l'huile enrichie, ceci explique la faible teneur en composés secondaires.

Par comparaison, les résultats montrent que l'enrichissement de HOV par des feuilles de *P.lentiscus* protège l'huile pendant le chauffage, et augmente sa stabilité oxydative par rapport au témoin. Ce qui indique l'importance de l'enrichissement de l'huile d'olive. Nos résultats sont d'accord avec ceux obtenus par **Dairi et al., (2015)** qui a montré que l'enrichissement d'huile d'olive par l'extrait de *Myrtuscommunis* évite de manière significative la consommation de composé phénolique endogène pendant le chauffage à la flamme, par rapport au témoin (HOV sans enrichissement).



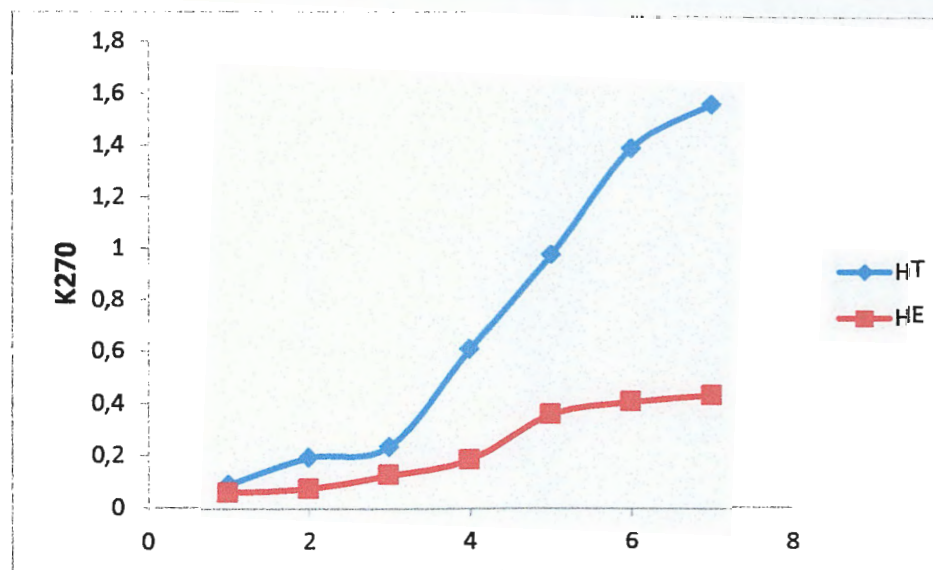


Figure 31. Variation des valeurs de K_{232} et K_{270} des huiles étudiées pendant le chauffage à 130°C .

III.6.3. Changement de la teneur en chlorophylles et caroténoïdes

Les chlorophylles et les caroténoïdes jouent un rôle important dans la stabilité à l'oxydation en raison de leur activité antioxydant en absence de lumière et pro-oxydante dans la lumière et sont principalement responsable de la couleur de l'huile d'olive vierge (Criado *et al.*, 2008).

Dans le présent travail, avant le traitement, la quantité de chlorophylle varie entre 0,95mg / kg et 2,86 mg/kg pour l'huile d'olive témoin et enrichie respectivement. Pendant le traitement, la teneur en chlorophylle diminue avec le temps de chauffage (jusqu'à 4 heures) d'une façon linéaire, après cette période la teneur des chlorophylles atteint une valeur de 0,041 mg/Kg (après 7 heures). Néanmoins, l'huile enrichie présente toujours après chauffage des teneurs plus élevées que l'huile non enrichie.

Les caroténoïdes sont également présents dans l'huile d'olive et sont responsables de la coloration jaune. Le comportement de ces pigments par rapport au chauffage ou le processus d'oxydation était plus marqué pour les deux huiles étudiées, ou il y a une dégradation progressive de celle-ci par comparaison avec des chlorophylles comme indiqué dans la Figure 32. Cela est dû à l'implication de ces composés dans la lutte contre l'oxydation lipidique. Néanmoins, huile enrichie présente tjrs des teneurs plus importantes à la fin du chauffage.

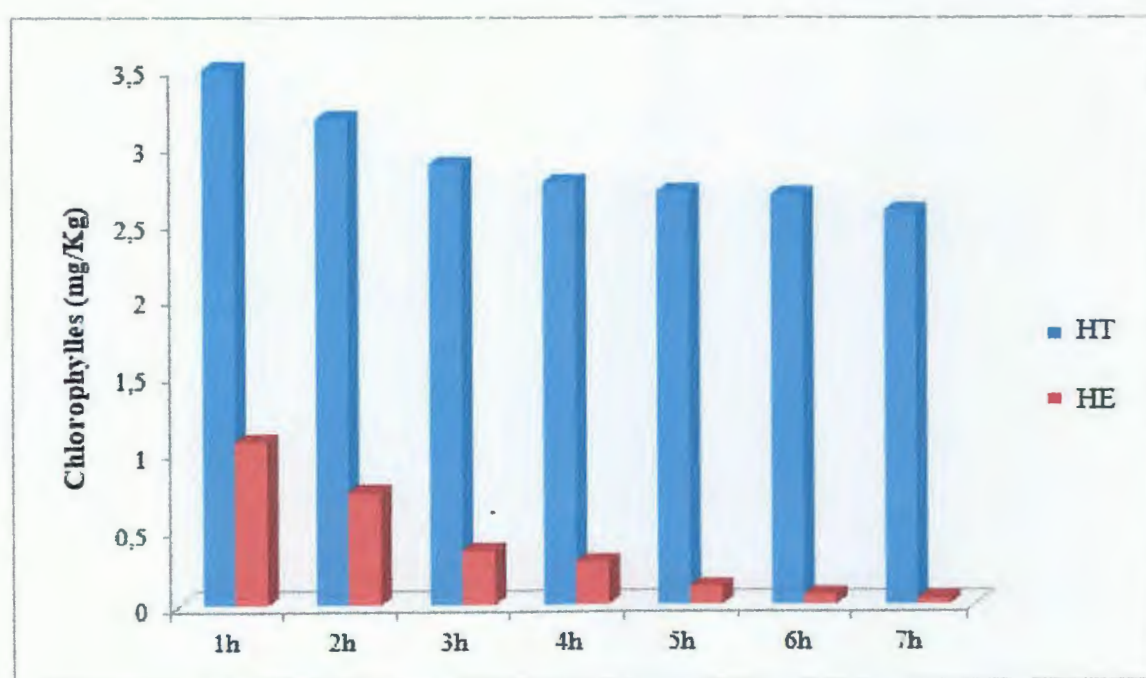


Figure 32. Variation du taux des chlorophylles dans l'HT et HE pendant le chauffage à 130°C.

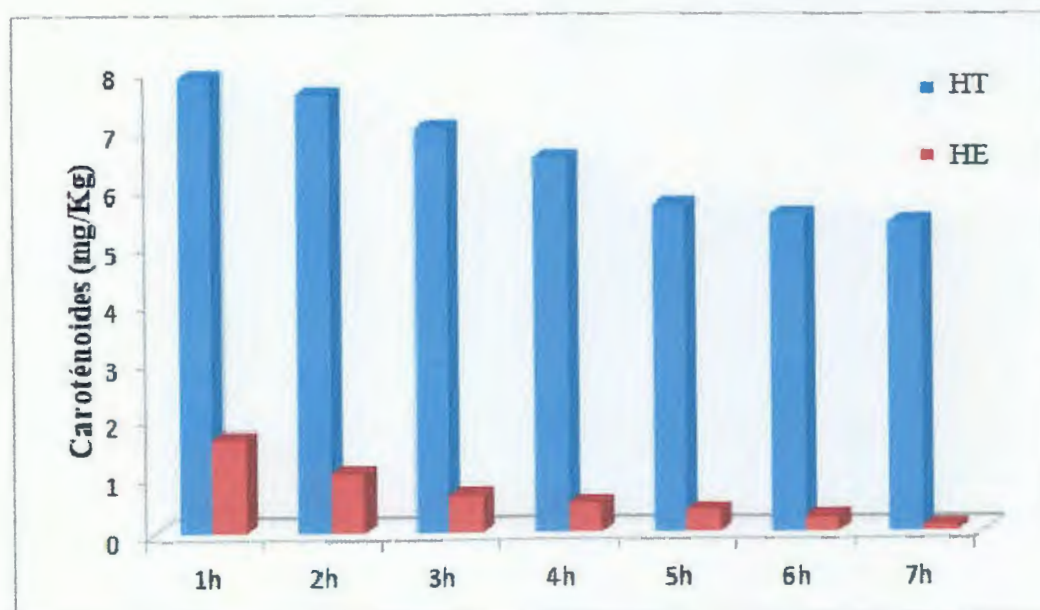


Figure 33. Variation du taux des caroténoïdes dans l'HT et l'HE pendant le chauffage à 130°C.

II.6.4. Changement de la teneur en polyphénols

Les composés polyphénoliques sont naturellement présents dans les huiles d'olive et sont les principaux composés responsables de la stabilité de ces huiles. Pendant le stockage et le chauffage. Dimitrios, (2006) a publié un avis d'antioxydants phénoliques naturels que les principaux composés présents dans l'huile d'olive naturelle sont : hydroxytyrosol et dérivés, et le tyrosol et ses dérivés.

Comme montré dans la figure, on constate que pour l'huile témoin, le taux des CPT diminue de manière importante avec le temps de traitement, tandis que pour l'huile enrichie le taux des CPT diminue lentement. Il y a une dégradation progressive des CPT pour l'huile témoin avec le temps par rapport à l'huile enrichie, Cela peut être dû à l'effet protecteur des feuilles de *Pistachia lentiscus* sur la composition phénolique de l'huile d'olive vierge.

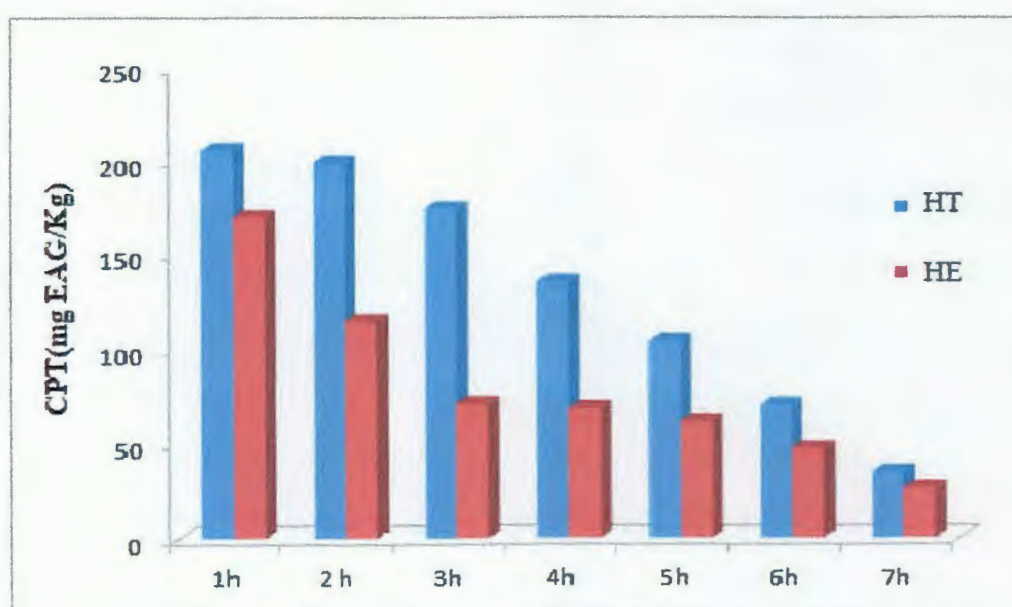


Figure 34. Variation de taux des CPT de l'HT et HE pendant le chauffage à 130°C.

II.6.5. Effet du chauffage sur l'activité antioxydant (Piégeage du radical libre DPPH)

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.

D'après la Figure 35, on remarque que le pouvoir anti radicalaire de l'huile d'olive assisté par ultrason est enregistré des valeurs apparemment stable d'une heure jusqu'à quatre heure (50.53 ± 0.71 ; 42.67 ± 0.05) respectivement et élevés par rapport à l'huile d'olive témoin (23.94 ± 0.5 ; 14.73 ± 0.12). Cette différence peut être due à l'efficacité de la supplémentation assistée par ultrasons de l'HE qui est attribuée aux polyphénols. Ces derniers prolonge

significativement la durée de vie de l'huile d'olive et confèrent une protection antioxydant importante. (Ayadi *et al.*,2009).

A la lumière de ces résultat, on peut dire que l'enrichissement a amélioré d'une façon significative la stabilité oxydative de l'huile d'olive, et d'autre part, l'huile enrichie chauffée présentait une composition plus riche en polyphénols, caroténoïdes, chlorophylles et une activité antioxydant plus élevée que celle de l'huile témoin chauffée. Ce qui suppose, les effets synergiques entre les polyphénols endogènes de l'huile d'olive et ceux apportées par les feuilles de *P.lentiscus*.

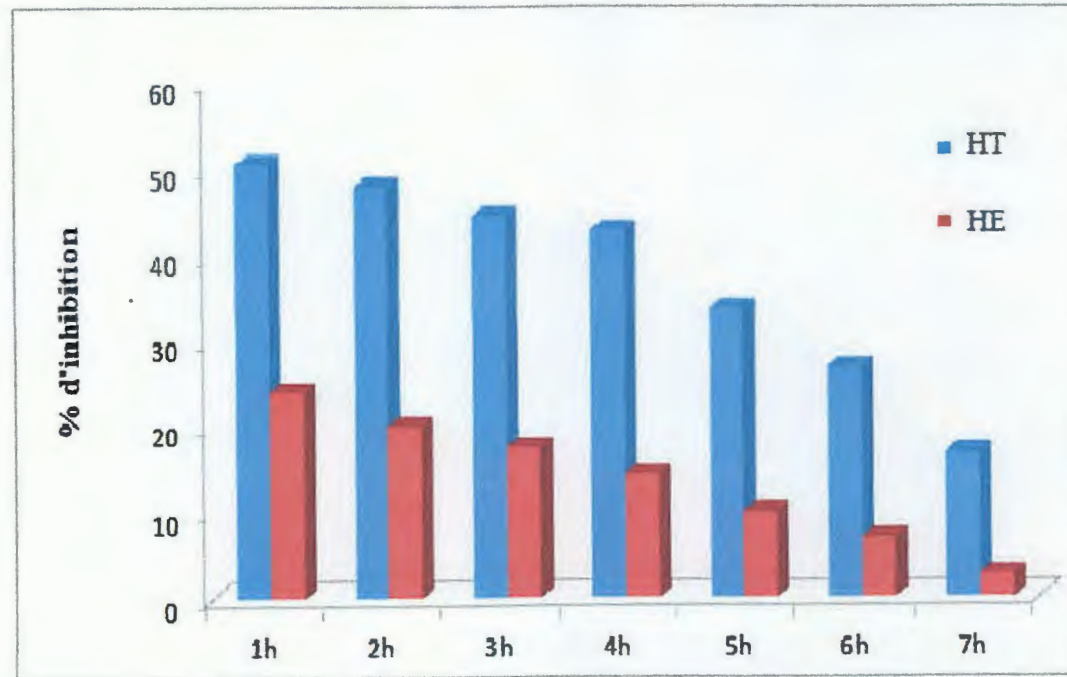


Figure 35. Pouvoir anti radicalaire de l'HT et l'HEU pendant le chauffage à 130°C.

L'huile d'olive vierge est obtenue uniquement par des moyens mécaniques dans des conditions qui n'entraînent pas d'altération de l'huile. Ces procédés la différencient des autres huiles alimentaires qui, pour la grande majorité d'entre elles, sont raffinées. Les procédés mis en œuvre lui confèrent une composition originale de triglycérides et de composés mineurs. Parmi ces derniers, les composés phénoliques qui sont responsables de la bonne stabilité à l'oxydation des huiles d'olive vierges mais aussi à des effets bénéfiques pour la santé. Mais un renforcement de ceux-ci, constitue un réel intérêt pour la santé humaine.

Au cours du procédé d'extraction, l'huile d'olive peut subir des pertes de ces composés bioactifs, pour pallier ces problèmes nous trouvons ici une alternative simple, toute naturelle, qui consiste en l'enrichissement de l'huile d'olive en composés phénoliques par transfert direct de ces derniers depuis des feuilles de *Pistachialentiscus*, séchées et broyées, à l'huile sous l'ultrason en comparaison avec une macération conventionnelle.

Le transfert de ces derniers de matrice à l'huile est influencé par quelques paramètres d'extraction qui sont le temps, l'amplitude, la charge et le diamètre de la poudre. Ces derniers prennent son optimum sous les conditions suivantes : le temps d'agitation de 10 min, l'amplitude de 100 %, le ratio 5g /50g et la granulométrie de 125 µm.

Les résultats montrent que les taux des CPT, des chlorophylles, et des caroténoïdes sont plus élevés dans l'huile enrichie par ultrason par rapport à celui de la macération conventionnelle. De même pour l'activité antioxydant.

L'évaluation de la stabilité oxydative montre que l'huile enrichie présente une meilleure résistance à l'oxydation par contre à l'huile témoins'oxyde rapidement.

D'après cette étude on constate que l'enrichissement de l'huile d'olive assisté par ultrason permet d'obtenir un bon rendement en composés bioactifs comme les CPT qui sont responsables de son activité antioxydant et une grande stabilité oxydative. Donc une meilleure qualité.

❖ *Classification des références*

A

Achat, S., Tomao, V., Madani, K., Chibane, M., Elmaataoui, M., Dangles, O., & Chemat, F. (2012). Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. *Ultrasonics sono chemistry*, 19(4): 777-786.

Al-Dalaen, S.M., & Al-Qtaitat, A.I. (2014). Review article: oxidative stress versus antioxidants. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2(5): 60-71.

Alonso, C., Martí, M., Barba, C., Carrer, V., Rubio, L., & Coderch, L. (2017). Skin permeation and antioxidant efficacy of topically applied resveratrol. *Archives of Dermatological Research*, 1-9.

Amiot, M.J., Riollet, C., & Landrier, J. F. (2009). Polyphénols et syndrome métabolique: Polyphenols and metabolic syndrome. *Médecine des maladies métaboliques*, 3(5):476-482.

Amirante, P., Clodoveo, M.L., Leone, A., Tamborrino, A., & Patel, V.B. (2010). Influence of different centrifugal extraction system on antioxidant content and stability of virgin olive oil. In V.R. Preedy (King's College London; University of London, UK), & R.R. Watson (University of Arizona, U.S.A.) (Eds.), *Olives and olive oil in health and disease prevention* (pp.85-93).

Ancos, B., González, E. M., & Cano, M. P. (2000). Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(10):4565-4570.

Andjelković, M., Van Camp, J., De Meulenaer, B., Depaele, G., Socaciu, C., Verloo, M., & Verhe, R. (2006). Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chemistry*, 98(1): 23-31.

Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C., & Vito, R. (2001). Influence of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. *Food Chemistry*, 72(1):19-28.

Aparicio-Ruiz, R., & Gandul-Rojas, B. (2014). Decoloration kinetics of chlorophylls and carotenoids in virgin olive oil by autoxidation. *Food research international*, 65:199-206.

Aparicio-Ruiz, R., Roca, M., & Gandul-Rojas, B. (2012). Mathematical model to predict the formation of pyropheophytina in virgin olive oil during storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(28):7040-7049.

Aparicio-Ruiz, R., Mínguez-Mosquera, M. I., & Gandul-Rojas, B. (2010). Thermal degradation kinetics of chlorophyll pigments in virgin olive oils. 1. Compounds of series a. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(10):6200-6208.

Assami, K., Chemat, S., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2016). Ultrasound-Assisted Aromatisation with Condiments as an Enabling Technique for Olive Oil Flavouring and Shelf Life Enhancement. *Food Analytical Methods*, 9(4):982-990.

Atmani D, Chaheer N, Barboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, et al. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem* (2009);112:3039.

Auger, C., & Schini-Kerth, V. B. (2014). Potentiel des polyphénols à améliorer la protection vasculaire en stimulant la fonction endothéliale. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4) :160-172.

Awika, J. M., Rooney, L. W., & Waniska, R. D. (2005). Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 90(1): 293-301.

Ayadi, M. A., Grati-Kamoun, N., & Attia, H. (2009). Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and chemical toxicology*, 47(10): 2613-2619.

B

Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1):191-203.

Bampouli, A., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G., Louli, V., Aligiannis, N., Magoulas, K. 2015. Evaluation of total antioxidant potential of *Pistacia lentiscus* var. *chia* leaves extracts using UHPLC–HRMS, *J. Food Eng.* 167:25–31.

Baratto, M. C., Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Romani, A., Visioli, F. Antioxidant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *Pistacia lentiscus* leaves. *Free Radical Research*, 37:405–412.

Barjol, J.L., (2014) .L'économie mondiale de l'huile d'olive. 21(5):1-5.

Bedbabis, S., Clodoveo, M.L., Rouina, B., Boukhris, M., (2010). Influence of Irrigation with Moderate Saline Water on "Chemlali" Extra Virgin Olive Oil Composition and Quality. *Journal of Food Quality* , 33: 228-247.

Bejaoui, M. A., Sánchez-Ortiz, A., Sánchez, S., Jiménez, A., & Beltrán, G. (2017). The high power ultrasound frequency: Effect on the virgin olive oil yield and quality. *Journal of Food Engineering*, 207:10-17.

Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2): 22-28.

Bisby, R.H., Brooke, R., & Navaratnam, S., (2008). Effect of antioxidant oxidation potential in the oxygen radical absorption capacity (ORAC) assay. *Food chemistry* 108:1002-1007.

Boskou, D., 2010. Olive Oil: Minor Constituents and Health. CRC Press.

Boskou, D. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends Food Science Technology*, 17:505–512.

Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., & Sayadi, S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108(1): 253-262.

C

Cabiddu, A., Decandia, M., Sitzia, M., & Molle, G. (2000). A note on the chemical composition and tannin content of some Mediterranean shrubs browsed by Sarda goats. *Options méditerranéennes*, 52 :175-178.

Caponio, F., Gomes, T., Summo, C., & Pasqualone, A. (2003). Influence of the type of olive-crusher used on the quality of extra virgin olive oils. *European journal of lipid science and technology*, 105(5): 201-206.

- Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Del Carlo, M., Gallina-Toschi, T., & Fernandez-Gutierrez, A. (2005). Evaluation of the antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23):8918-8925.
- CEE (1991). Commission Regulation No. 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive residue oil and on relevant methods of analyses, European Union. Brussels, Belgium.
- Cert, A.; Alba, J.; León-Camacho, M.; Moreda, W.; Pérez-Camino, M.C. Effects of talc addition and operating mode on the quality and oxidative stability of virgin olive oils obtained by centrifugation. *J. Agric. Food Chem.* (1996), 44: 3930–3934.
- Chan, K. W., & Ismail, M. (2009). Supercritical carbon dioxide fluid extraction of *Hibiscus cannabinus* L. seed oil: a potential solvent-free and high antioxidative edible oil. *Food Chemistry*, 114(3):970-975.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sono chemistry*, 34:540-560.
- Chemat, F., Périno-Issartier, S., Loucif, L., Elmaataoui, M., & Mason, T. J. (2012). Enrichment of edible oil with sea buckthorn by-products using ultrasound-assisted extraction. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(4):453-460.
- Cherbal, A., Kebieche, M., Yilmaz, E., Aydoğmuş, Z., Benzaouia, L., Benguessoum, M., & Madani, K. (2017). Antidiabetic and hypolipidemic activities of Algerian *Pistachia lentiscus* L. leaves extract in alloxan-induced diabetic rats. *South African Journal of Botany*, 108: 157-162.
- Chobot.V, Hadacek.F, Kubicova.L, Effects of Selected Dietary Secondary Metabolites on Reactive Oxygen Species Production Caused by Iron (II) Autoxidation, *Molecules*, 19. (2014), 20023.
- Clodoveo, M. L., Durante, V., La Notte, D., Punzi, R., & Gambacorta, G. (2013).Ultrasound-assisted extraction of virgin olive oil to improve the process efficiency. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(9):1062-1069.

Clodoveo, M. L. (2012). Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future—An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 25(1):13-23.

Conseil Oléicole International. (2015). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de Grignons d'olive. COI/T.15/NC n°3/R2V.8.

Criado, M. N., Romero, M. P., Casanovas, M., & Motilva, M. J. (2008). Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. *Food chemistry*, 110(4): 873-880.

D

Dairi, S., Carbonneau, M. A., Galeano-Dias, T., Remini, H., Dahmoune, F., Aoun, O., & Madani, K. (2017). Antioxidant effects of extra virgin olive oil enriched by myrtle phenolic extracts on iron-mediated lipid peroxidation under intestinal conditions model. *Food Chemistry*.

Dairi, S., Galeano-Díaz, T., Acedo-Valenzuela, M. I., Godoy-Caballero, M. P., Dahmoune, F., Remini, H., & Madani, K. (2015). Monitoring oxidative stability and phenolic compounds composition of myrtle-enriched extra virgin olive during heating treatment by flame, oven and microwave using reversed phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME)-HPLC-DAD-FLD method. *Industrial Crops and Products*, 65:303-314.

Dairi, S., Madani, K., Aoun, M., Him, J. L. K., Bron, P., Lauret, C., & Carbonneau, M. A. (2014). Antioxidative properties and ability of phenolic compounds of *Myrtus communis* leaves to counteract in vitro LDL and phospholipid aqueous dispersion oxidation. *Journal of food science*, 79(7): 1260-1270.

De Valle-Prieto, M. B., Delgado-Adámez, J., Gil, M. V., Martillanes, S., Franco, M. N., & Martín-Vertedor, D. (2017). Virgin Olive Oil Enriched with Lutein-Zeaxanthin from *Spinaciaoleracea*. *Journal of Oleo Science*, 66(5):463-468.

Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science RFF& Technology*, 17(9):505-512.

Doymaz, I. (2004). Convective air drying characteristics of thin layer carrots. *Journal of food engineering*, 61(3): 359-364.

F

Farag R.S., El-Baroty G.S., Amany-Basuny M. (1989). The influence of phenolic extracts obtained from the olive plants (cvs. Picual and Kronakii) on the stability of sunflower oil. *Journal of Food Science and Technology*. 38: 81-87.

Fregapane, G., & Salvador, M. D. (2013). Production of superior quality extra virgin olive oil modulating the content and profile of its minor components. *Food research international*, 54(2):1907-1914.

G

George, A. L., & Bennett, A. (2005). *Case studies and theory development in the social sciences*. mit Press.

Gharby, S., Harhar, H., Bouzoubaa, Z., Roudani, A., Chafchaoui, I., Kartah, B., & Charrouf, Z. (2014). Effet des Polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol (Effect of Polyphenols extracts from margins on the stability of sunflower oil). *J. Mater. Environ. Sci*, 5(2): 464-469.

Gharby, S., Harhar, H., Guillaume, D., Haddad, A., Matthäus, B., & Charrouf, Z. (2011). Oxidative stability of edible argan oil: A two-year study. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1): 1-8.

Glatzle, J., Beckert, S., Kasperek, M.S., Mueller, M.H., Mayer, P., Meile, T., Konigsrainer, A., Steurer, W., (2007). Olive oil is more potent than fish oil to reduce septic pulmonary dysfunctions in rats. *Langenbeck's Archives of Surgery* 392:323-329.

Godoy-Caballero, M., Acedo-Valenzuela, M., Galeano-Díaz, T., (2012). Simple quantification of phenolic compounds present in the minor fraction of virgin olive oil by LC–DAD–FLD. *Talanta* 101:479-487.

Gomez-Rico, A.; Desamparados Salvador, M.; Moriana, A.; Perez, D. Olmedilla, N.; Ribas, F.;Fregapane, G. Influence of different irrigation strategies in a traditional Cornicabra cv. olive orchard on virgin olive oil composition and quality. *Food Chem.* (2007), 100:568–578.

H

Hayes, J. E., Allen, P., Brunton, N., O'grady, M. N., & Kerry, J. P. (2011). Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea L.*), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry*, 126(3):948-955.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1): 3-6.

J

Juliano, P., Bainsczyk, F., Swiergon, P., Supriyatna, M. I. M., Guillaume, C., Ravetti, L., & Xu, X. Q. (2017). Extraction of olive oil assisted by high-frequency ultrasound standing waves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38:104-114.

K

Kablan, B. J., Adiko, M., & Abrogoua, D. P. (2008). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoecrenata* et de *Manoteslongiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, 6(5):282-288.

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 Science and Technology*, 108(4):329-335.

Kalua, C. M., Allen, M. S., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., & Robards, K. (2007). Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*, 100(1):273-286.

Karaaslan, D. (2008). The effect of different nitrogen doses on seed yield, oil, protein and nutrient. *Pak. J. Bot.*, 40(2) :807-813.

Katsoyannos, E., Batrinou, A., Chatzilazarou, A., Bratakos, S. M., Stamatopoulos, K., & Sinanoglou, V. J. (2015). Quality parameters of olive oil from stoned and non-stoned Koroneiki and Megaritiki Greek olive varieties at different maturity levels. *Grasas y Aceites*, 66(1):067.

Khazaal, K., & Ørskov, E. R. (1994). The in vitro gas production technique: an investigation on its potential use with insoluble polyvinyl poly pyrrolidone for the assessment of phenolics-related antinutritive factors in browse species. *Animal Feed Science and Technology*, 47(3-4):305-320.

Kumaran, A. "Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*." *Food chemistry* 97.1 (2006): 109-114.

L

Leone, A., Romaniello, R., Zagaria, R., Tamborrino, A., (2014). Development of a prototype malaxer to investigate the influence of oxygen on extra-virgin olive oil quality and yield, to define a new design of machine. *Biosystems Engineering* 118:95-104.

Leong, T., Ashokkumar, M., & Kentish, S. (2011). The fundamentals of power ultrasound a review. *Acoust. Aust*, 39(2):54-63.

Losada-Barreiro, S., & Bravo-Díaz, C. (2017). Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*.

Lozano-Sánchez, J.; Segura-Carretero, A.; Fernández-Gutiérrez, A. Characterisation of the phenolic compounds retained in different organic and inorganic filter aids used for filtration of extra virgin olive oil. *Food Chem.* (2011), 124:1146–1150.

M

Malheiro, R., Rodrigues, N., Manzke, G., Bento, A., Pereira, J. A., & Casal, S. (2013). The use of olive leaves and tea extracts as effective antioxidants against the oxidation of soybean oil under microwave heating. *Industrial crops and products*, 44:37-43.

Manai-Djebali, H., Krichene, D., Ouni, Y., Gallardo, L., Sanchez, J., Osorio, E., Zarrouk, M. (2012). Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 27(2):109–119.

- Mancuso J.R., Mc Clements D.J., Decker E.A. (2000). Iron-accelerated cumene hydroperoxide decomposition in hexadecane and trilaurin emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(2): 213-219.
- Manna, C.; Galletti, P.; Cucciolla, V.; Montedoro, G.; Zappia, V. Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages. *J. Nutr. Biochem.* (1999), 10:159–165.
- Mason, T. J., & Lorimer, J. P. (2002). *Applied sonochemistry: the uses of power ultrasound in chemistry and processing.*
- Medina, D., Urresta, F., Gabrieli, J. D., Moseley, M., Fleischman, D., Bennett, D. A., & Stebbins, G. T. (2006). White matter changes in mild cognitive impairment and AD: A diffusion tensor imaging study. *Neurobiology of aging*, 27(5):663-672.
- Mezni F, Aouadhi C, Khouja ML, Khaldi A, Maaroufi A (2015). In vitro antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus L.* edible oil and phenolic extract. *Natural product research*, 29(6): 565-570.
- Mier S, Kaner J, Akiri B, Hadas SP (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defence systems of various senescing leaves. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1813-1817.
- Miguel, M. G., Antunes, M. D., Rohaim, A., Figueiredo, A. C., Pedro, L. G., & Barroso, J. G. (2014). Stability of fried olive and sunflower oils enriched with *Thymbra capitata* essential oil. *Czech Journal of Food Sciences*, 32:102-108.
- Mínguez-Mosquera, M.I., Rejano-Navarro, L., Gandul-Rojas, B., Sanchez-Gomez, A.H., & Garrido-Fernandez, J. (1991). Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* 68, 332–336.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M., & Miniati, E. (1992). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 2. Initial characterization of the hydrolyzable fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9):1577-1580.
- Motard-Bélanger, A., Charest, A., Grenier, G., Paquin, P., Chouinard, Y., Lemieux, S., & Lamarche, B. (2008). Study of the effect of Trans fatty acids from ruminants on

blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*, 87(3):593-599.

N

Nevado, J. J., Robledo, V. R., & Callado, C. S. (2012). Monitoring the enrichment of virgin olive oil with natural antioxidants by using a new capillary electrophoresis method. *Food chemistry*, 133(2):497-504.

Neves, Jean, and Joël Pincemail. "Antioxydants alimentaires: vitamines, oligoéléments et non-nutriments." *Aliments fonctionnels*. Paris: Lavoisier (2008): 203-41.

Nimse, D. Palb, Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms, *RSC Advances*, (2015)5:27986–28006.

O

Ortega, F. B., Lavie, C. J., De Schutter, A., Parto, P., Jahangir, E., Kokkinos, P., & Milani, R. V. (2016). Obesity and prevalence of cardiovascular diseases and prognosis—the obesity paradox updated. *Progress in cardiovascular diseases*, 58(5):537-547.

Owen, R.W.; Mier, W.; Giacosa, A.; Hull, W.E.; Spiegelhalder, B.; Bartsch, H. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem. Toxicol.*(2000), 38: 647–659.

Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.

P

Paiva-Martins, F., Correia, R., Félix, S., Ferreira, P., & Gordon, M. H. (2007). Effects of enrichment of refined olive oil with phenolic compounds from olive leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(10): 4139-4143.

Panza, F., Capurso, C., D'Introno, A., Colacicco, A.M., DelParigi, A., Gagliardi, G., & Solfrizzi, V. (2007). Mediterranean diet, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Experimental Gerontology*, 42, 7.

Peñalvo, G. C., Robledo, V. R., Callado, C. S., Santander-Ortega, M. J., Castro-Vázquez, L., Lozano, M. V., & Arroyo-Jiménez, M. M. (2016). Improving green enrichment of virgin olive oil by *oregano*. Effects on antioxidants. *Food chemistry*, 197: 509-515.

R

Reboredo-Rodríguez, P., Figueiredo-González, M., González-Barreiro, C., Simal-Gándara, J., Salvador, M. D., Cancho-Grande, B., & Fregapane, G. (2017). State of the art on functional virgin olive oils enriched with bioactive compounds and their properties. *International journal of molecular sciences*, 18(3): 668.

Reglement (CEE) n°2568/91 de la Commission du 11 juillet 1991, relatif aux normes commerciales de l'huile d'olive. J.O.C.E. du 15.05.2002.

Reglement (CEE) N° 2568/91 de la commission du 11 juillet 1991, Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes y afférentes, J.O.C.E n° L248 du 05/09/2003.

Rigane, G., Boukhris, M., Bouaaziz, M., Sayadi, S., & Ben Salem, R. (2013). Analytical evaluation of two monovarietal of Tunisia: Jemri-Bouchouka and Chemlali-Tataouin cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(5):1242–1248.

Rodríguez, G., Lama, A., Rodríguez, R., Jiménez, A., Guillén, R., & Fernández-Bolaños, J. (2008). Olive stone an attractive source of bioactive and valuable compounds. *Bioresource Technology*, 99(13) :5261–9.

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

Rotondo, S., & de Gaetano, G. (2000). Protection from cardiovascular disease by wine and its derived products. In *Mediterranean Diets* (Vol. 87, pp. 90-113). Karger Publishers.

Rubió, L., Motilva, M. J., Macià, A., Ramo, T., & Romero, M. P. (2012). Development of a phenol-enriched olive oil with both its own phenolic

compounds and complementary phenols from thyme. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(12):3105-3112.

S

Sánchez de Medina, V., Priego-Capote, F., Jiménez-Ot, C., & Luque de Castro, M. D. (2011). Quality and stability of edible oils enriched with hydrophilic antioxidants from the olive tree: The role of enrichment extracts and lipid composition. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(21):11432-11441.

Šarolić, M., Gugić, M., Marijanović, Z., & Šuste, M. (2014). Virgin olive oil and nutrition. *hrana u zdravlju i bolesti*, 3(1):8-43.

Scarmeas, N., Stern, Y., Tang, M. X., Mayeux, R., & Luchsinger, J. A. (2006). Mediterranean diet and risk for Alzheimer's diseases. *Annals of Neurology*, 59:912-921.

Segade, M.; Bermejo, R.; Silva, A.; Paiva-Martins, F.; Gil-Longo, J.; Campos-Toimil, M. Involvement of Endothelium in the vasorelaxant effects of 3,4-DHPEA and 3,4-DHPEA EDA, two major functional bioactives in olive oil. *J. Funct. Foods* (2016), 23:637-646.

Serra Bonvehí, J., M. Soliva Torrentó, and E. Centelles Lorente. "Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain." *Journal of agricultural and food chemistry* 49.4 (2001): 1848-1853.

Servili, M., & Montedoro, G. (2003). Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 14:602-613.

Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18:820-897.

Shahidi, F.; Naczk, M. *Phenolic in Food and Nutraceutical*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, (2004).

Sousa, A.; Casal, S.; Malheiro, R.; Lamas, H.; Bento, A.; Pereira, J. A. Aromatized olive oils: Influence of flavouring in quality, composition, stability, antioxidants, and antiradical potential. *LWT Food Sci. Technol.* (2015), 60:22-28.

Squeo, G., Tamborrino, A., Pasqualone, A., Leone, A., Paradiso, V. M., Summo, C., & Caponio, F. (2017). Assessment of the influence of the decanter set-up during continuous processing of olives at different pigmentation index. *Food and Bioprocess Technology*, 3(10):592-602.

Stefanouadaki, E.; Koutsaftakis, A.; Kotsifaki, F.; Angerosa, F.; DiGirolamo, M. Quality characteristics of olive oils of dual- and three-phase decanters and laboratory mill. *Acta Hort.* (1999), 474:705–708.

Stephanie, T. G., Joel, Y., Alembert, T.T. (2009). Phenolic content and DPPH scavenging activity of *Carpobrotus edulis* and *Anchomanes difformis*, enter for research on medicinal plants and traditional medicine.

T

Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., & La Guardia, M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition research reviews* 18(01):98-112.

Tsimidou M, Papadopoulos G, Boskou D. (1995). Determination of Phenolic compounds in virgin olive oil by reversed-phase HPLC with emphasis on UV detection. *Food Chem.* 44:53–60.

U

Umadevi, I., Daniel, M., & Sabnis, S. D. (1988). Chemotaxonomic studies on some members of *Anardiaceae*. In *Proceedings of the Indian Academy of Sciences Plant sciences*, 98(3): 205–208.

V

Références bibliographiques

Vacca, Rosa Anna, et al. "Plant polyphenols as natural drugs for the management of Down syndrome and related disorders." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 71 (2016): 865-877.

Veillet, S. (2010). *Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive: entre tradition et innovation* (Doctoral dissertation).

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

Veillet, S., Tomao, V., Bornard, I., Ruiz, K., & Chemat, F. (2009). Chemical changes in virgin olive oils as a function of crushing systems: Stone mill and hammer crusher. *Comptes Rendus Chimie*, 12(8) :895-904.

Veneziani, G., Esposito, S., Taticchi, A., Urbani, S., Selvaggini, R., Di Maio, I., & Servili, M. (2016). Cooling treatment of olive paste during the oil processing: Impact on the yield and extra virgin olive oil quality. *Food chemistry*, 221 :107-113.

Vierhuis E, Servili M, Baldioli M, HA Schols, AGJ Vorage, Montedoro GF (2001) Effet du traitement enzymatique Lors de l'extraction mécanique d'huile d'olive sur des composés phénoliques et des polysaccharides. *J Agric Food Chem* 49:1218-1223.

Annexes I :

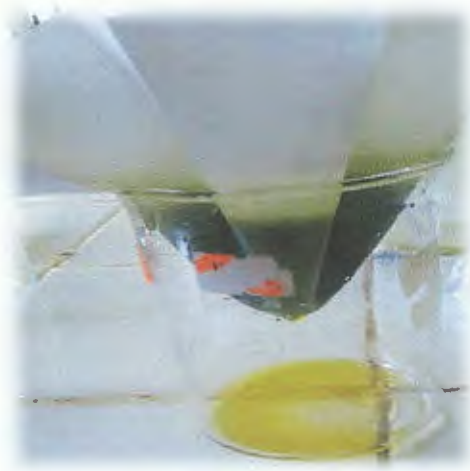


Figure 1: filtration de l'extrait éthanolique.

Annexes II : Courbes d'étalonnage

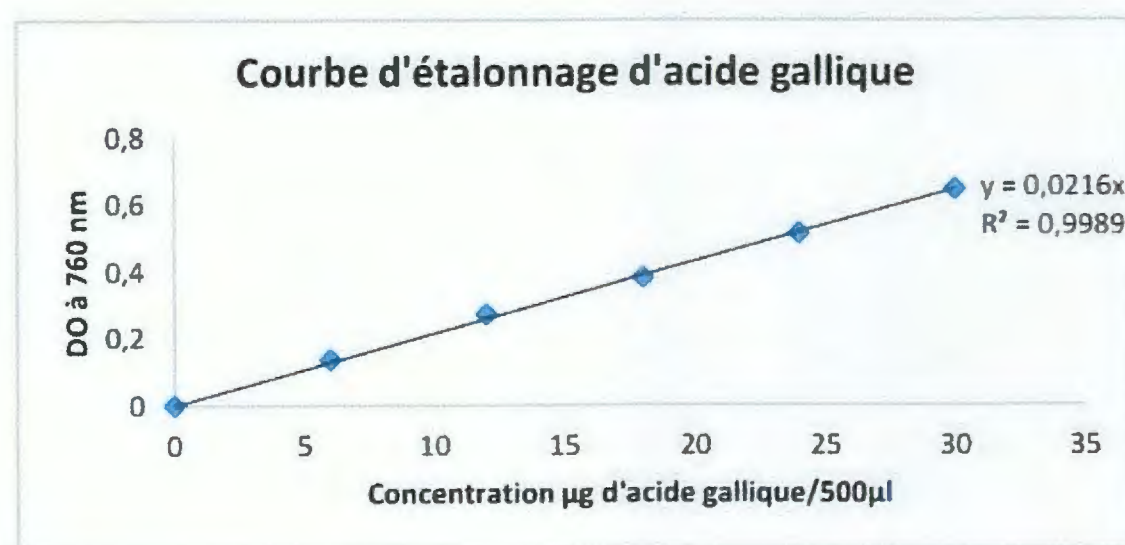


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

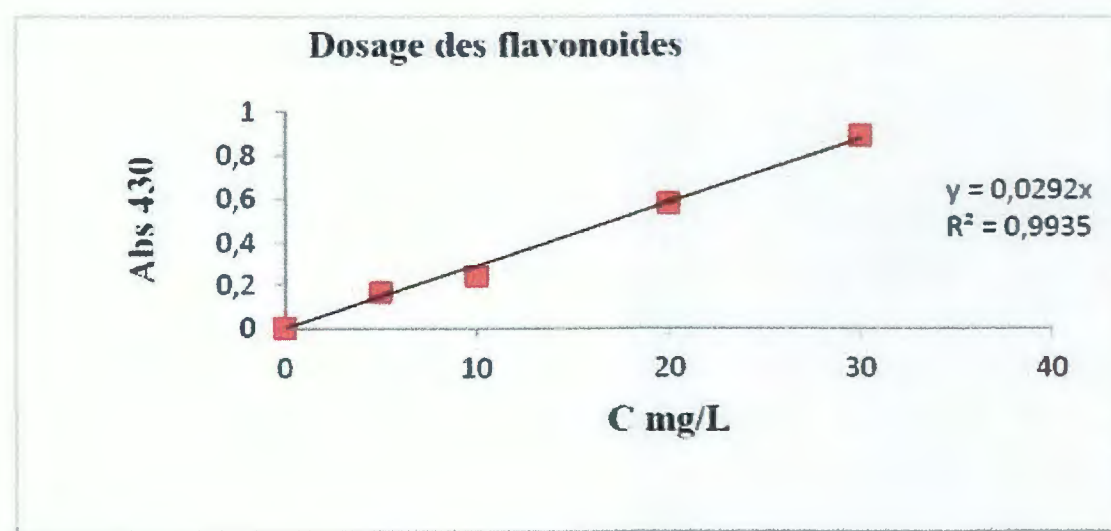


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de La rutine

Présenté par :
- Zarour Wissam
- Boulssane Saliha

Encadrant : Dairi.S

Date de soutenance : 02 /07/2017

Titre de mémoire : L'optimisation de l'enrichissement assisté par ultrason d'une huile d'olive vierge avec les feuilles de *P.lentiscus* : activité oxydative, stabilité antioxydante

Nature du diplôme : Master en biologie
Option : contrôle de qualité des produits alimentaires

Résumé

La capacité d'améliorer la composition et la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive vierge par l'enrichissement avec les feuilles de *Pistachialentiscus* a été étudiée. En effet, l'enrichissement de l'huile d'olive vierge se fait par un transfert direct des composés bioactifs des feuilles de *Pistachialentiscus* à l'huile, en utilisant deux méthodes : l'une assistée avec des ultrasons comparée avec l'autre méthode qui est la macération conventionnelle. Après optimisation, les conditions optimales pour une meilleure extraction sont : 10 min (le temps), 100 % (amplitude), 5g/50g (le ratio) et 125 µm (la granulométrie). Avec ces conditions, la teneur en polyphénols totaux (PT) est passée de $122,17 \pm 4,65$ à $198,49 \pm 1,76$ mg d'EAG/Kg. De plus, la composition de l'huile obtenue avec les ultrasons est largement plus riche et importante que celle obtenue par le procédé conventionnel. De plus, les tests d'activités antioxydantes (DPPH et FRAP) montrent clairement l'augmentation de l'activité antioxydante de cette huile enrichie. L'évaluation de la stabilité oxydative de l'huile a montré également l'effet protecteur des composés des feuilles de la plante étudiée par l'augmentation de la capacité de résistance à l'oxydation.

Mots clés : huile d'olive vierge, enrichissement, feuilles de *Pistachialentiscus*, ultrasons, optimisation, Polyphénols, activités antioxydantes, stabilité oxydative

Abstract

The ability to improve the composition and nutritional quality of virgin olive oil by enrichment with *Pistachia lentiscus* leaves has been studied. Indeed, the enrichment of virgin olive oil is done by direct transfer of the bioactive compounds from the leaves of *Pistachia lentiscus* to oil, using two methods: one assisted with ultrasound compared with the other which is conventional maceration. After optimization, the optimum conditions for a better extraction are: 10 min (time), 100% (amplitude), 5 g / 50 g (the ratio) and 125 µm (the particle size). Under these conditions, the total polyphenol (PT) content increased from 122.17 ± 4.65 to 198.49 ± 1.76 mg EAG / Kg. Moreover, the composition of the oil obtained with the ultrasound is considerably richer and greater than that obtained by the conventional method. In addition, the antioxidant activity tests (DPPH and FRAP) show clearly the increase in the antioxidant activity of this enriched oil. The evaluation of the oxidative stability of the oil also showed the protective effect of the compounds of the leaves plant studied by the increase of the capacity of resistance to oxidation.

Key Words: virgin olive oil, enrichment, *Pistachia lentiscus*, ultrasound, optimization, total polyphenol, the antioxidant activity, the antioxidant activity, the oxidative stability

ملخص

تمت دراسة القدرة على تحسين التكوين والجودة الغذائية لزيت الزيتون البكر الممتاز من خلال إثرائه بأوراق *Pistachia lentiscus*. في الواقع يتم تخصيب زيت الزيتون البكر عن طريق التحويل المباشر من المركبات النشطة بيولوجيا لـ *Pistachia lentiscus* إلى الزيت، وذلك باستخدام طريقتين: واحد بمساعدة الموجات فوق الصوتية والأخرى عن طريق الأسلوب التقليدي النقع. بعد التحسين، واختيار الظروف المثلى لاستخراج أفضل ما يلي: 10 دقيقة (الوقت)، و 100% (السعة)، و 5G / 50G (نسبة) و 125 ميكرون (حجم الجسيمات). مع هذه الظروف، فإن مجموع محتوى البوليفينول (PT) ارتفع من $122,17 \pm 4,65$ إلى $198,49 \pm 1,76$ ملغ EAG / كغ. وبالإضافة إلى ذلك، إنتاج الزيت المستخلص مع الموجات فوق الصوتية على نطاق واسع وأكثر ثراء من المتحصل عليه في الطريقة التقليدية. وبالإضافة إلى ذلك، اختبارات الأنشطة المضادة للأكسدة (DPPH و FRAP) تظهر بوضوح زيادة نشاط مضادات الأكسدة من هذا الزيت المخصب. وقد أظهر تقييم الاستقرار التأكسدي أن الزيت أيضا تأثير وقائي من مركبات من أوراق النبات ودرس عن طريق زيادة مقاومة الأكسدة

الكلمات المفتاحية : زيت الزيتون البكر، الموجات فوق الصوتية، البوليفينول، الأنشطة المضادة للأكسدة، الاستقرار التأكسدي، الظروف المثلى، *P.lentiscus* تخصيب