

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

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté : Sciences de la Nature et de la Vie

Département : de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

M^{elle} GUELAILIA Bouchra.

M^{me} MEDJADI Halima.

Thème:

*Caractérisation physicochimique et Etude de l'activité
Anti oxydante de trois échantillons d'huile d'olive*

Soutenu publiquement le : 04/07/2024.

Devant le jury :

Grade

Président : Mr BOUFARESS K.

M.C.A

Université -Tiaret

Encadrant : M^{me} GHARABI D.

M.C.A

Université -Tiaret

Examineur : M^{me} SOUALEM N.

M.A.A

Université -Tiaret

Année universitaire : 2023/2024

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions, du plus profond de notre cœur, **Allah** le tout-puissant de nous avoir donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Nous remercions et nous reconnaissons que ce travail ne serait pas aussi riche sans l'aide et de l'encadrement de Madame **GHARABI Dhia**, nous le remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel.

Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur **BOUFARESS Khaled**, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire. **Ainsi** que Madame **SOULEM Nadia**, d'avoir accepté d'examiner notre travail à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions ki durant mes recherches.

Nos sincères remercions aussi le personnel des deux laboratoires biochimie et biologie en particulier, **Mme SEMAR**, **Mr Abed ALHAMID** et **Mr BENHALIMA** pour leurs conseils, leurs orientations, encouragements et leurs hautes qualités humaines.

Notre remerciement s'adresse également à tous nos enseignants pour leur générosité et la grande patience dont ils ont fait preuve malgré leur charge académique.

Toute notre gratitude va aussi à nos parents, nos frères et sœurs pour leurs soutiens toute au long de nos études et durant ce mémoire.

.

Merci à tous



Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail à mes très chers parents en leur disant qu'aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte et ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements :

Qu'**Allah** vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

Chers frères **MOHAMMED** et ma chère sœur **BATOULE** vraiment vous m'avez soutenu tout au long de ces années d'études, merci pour votre amour fraternel, votre soutien et votre encouragement.

Un grand merci également à **ma grand-mère** qui serait surement fière de moi, aux deux familles : **MOSTEFAI et GUELAILIA.**

MEDJADI Halima. Merci pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce mémoire.

À tous mes amis proches : **S. Chahinaz, Z. Amal, C. Arwa, A.Romaisa.**

Qu'**Allah** les garde tous et les protège.

Je vous aime tous



Bouchra

Dédicace

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir Donné la volonté,
la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail :

A mes chers parents

Ma chère Maman Fatima

Nul mot ne parviendra jamais à exprimer l'amour que je te porte. Ton amour, ta
patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gage de la
réussite. J'espère que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et
témoignage de ma profonde affection.

Mon cher Papa Benaouda

Signe de fierté et d'honneur, ce travail est le vôtre, Inchalah tu trouveras ici
toute mon affection et ma profonde gratitude pour toutes ces années de sacrifice
pour moi.

A mon cher frère Abed elkader pour leur soutien moral.

A mes chères sœurs Rafiaa et Roaya

A mon mari khaled

A ma fille taline

A tous la famille de mon mari

A tous mes amies Hadil et Bochera

Halima

المخلص

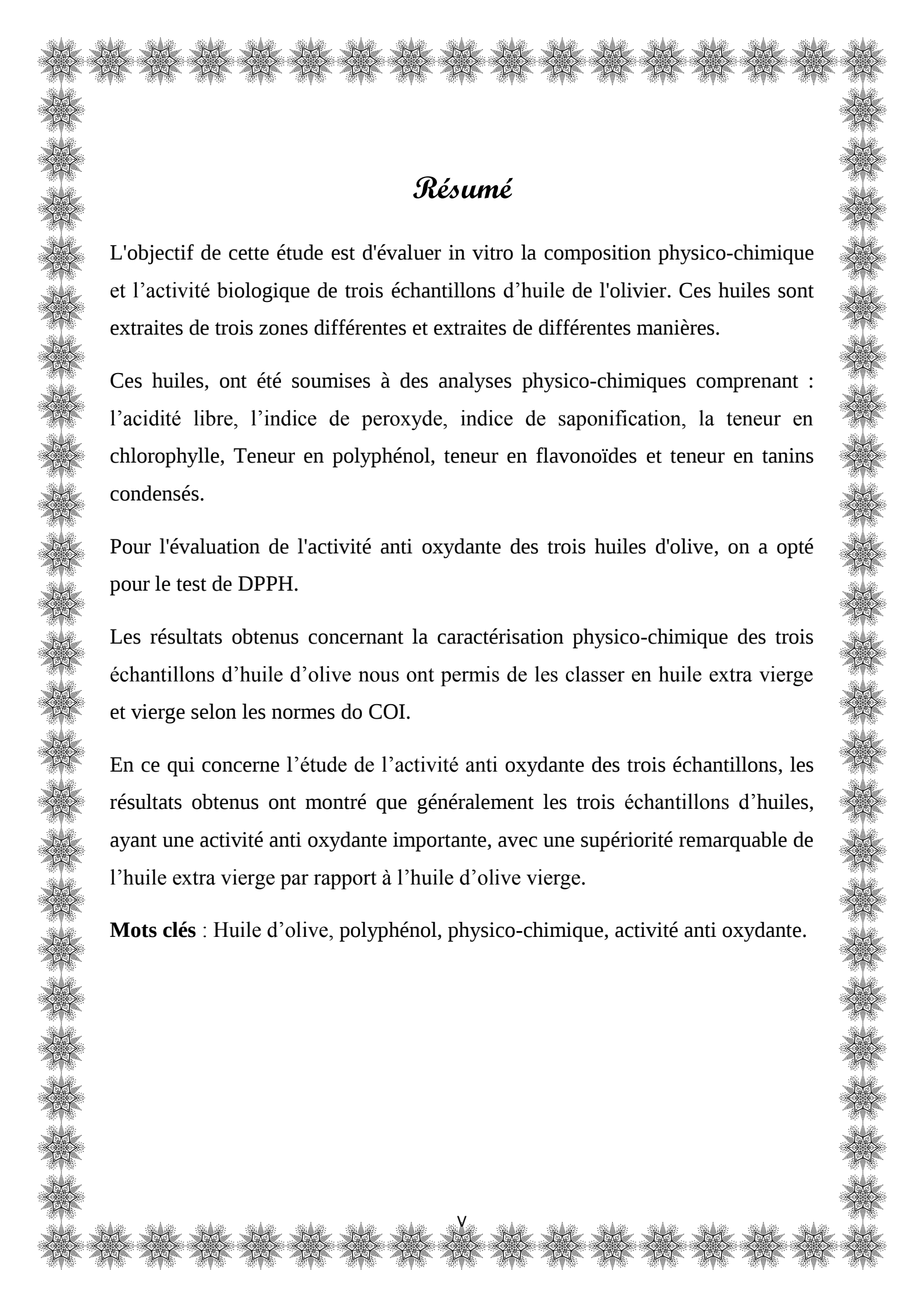
الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التركيب الكيميائي النباتي والنشاط البيولوجي لثلاثة عينات من زيت الزيتون. يتم استخراج هذه الزيوت من ثلاث مناطق مختلفة ويتم استخلاصها بطرق مختلفة .

تم إخضاع هذه الزيوت للتحاليل الفيزيائية والكيميائية والتي شملت: الحموضة الحرة، مؤشر البيروكسيد، مؤشر التصبن، محتوى اليخضور، محتوى البوليفينول، محتوى الفلافونويد و محتوى العفص المكثف .

لتقييم نشاط مضادات الأكسدة لزيوت الزيتون الثلاثة، اخترنا اختبار (2.2'-ثنائي فينيل-ل-بيكريل-هيدرازيل) « DPPH » النتائج التي تم الحصول عليها فيما يتعلق بالتوصيف الفيزيائي والكيميائي لعينات زيت الزيتون الثلاثة سمحت لنا بتصنيفها إلى زيت بكر و زيت بكر ممتاز وفقاً لمعايير مجلس الزيتون الدولي « C.O.I »

فيما يتعلق بدراسة نشاط مضادات الأكسدة للعينات الثلاث، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيوت الثلاثة بشكل عام لها نشاط مضاد للأكسدة كبير، مع تفوق ملحوظ للزيت البكر الممتاز مقارنة بالزيت البكر .

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون، البوليفينول، النشاط الفيزيائي الكيميائي، مضادات الأكسدة



Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer in vitro la composition physico-chimique et l'activité biologique de trois échantillons d'huile de l'olivier. Ces huiles sont extraites de trois zones différentes et extraites de différentes manières.

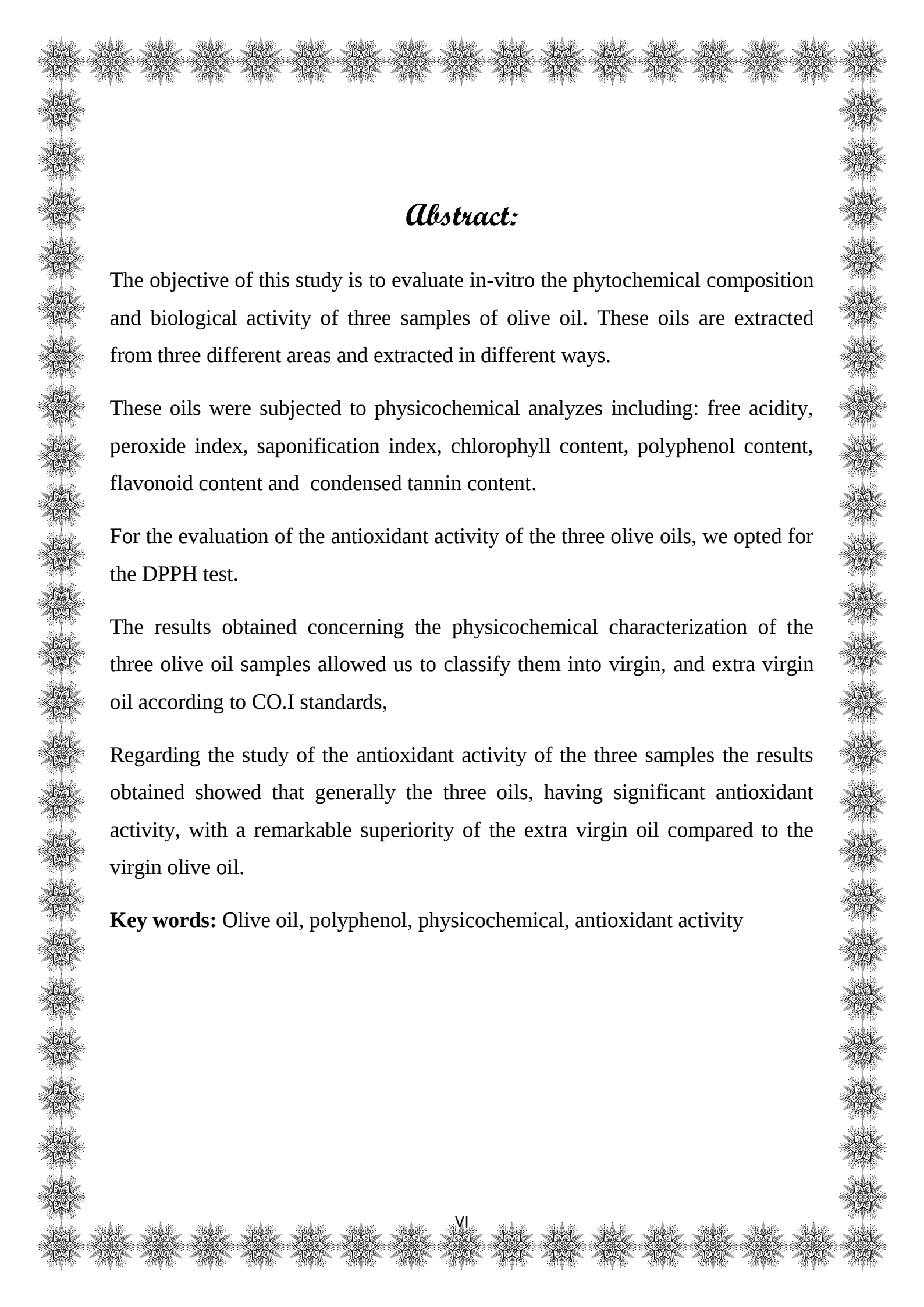
Ces huiles, ont été soumises à des analyses physico-chimiques comprenant : l'acidité libre, l'indice de peroxyde, indice de saponification, la teneur en chlorophylle, Teneur en polyphénol, teneur en flavonoïdes et teneur en tanins condensés.

Pour l'évaluation de l'activité anti oxydante des trois huiles d'olive, on a opté pour le test de DPPH.

Les résultats obtenus concernant la caractérisation physico-chimique des trois échantillons d'huile d'olive nous ont permis de les classer en huile extra vierge et vierge selon les normes do COI.

En ce qui concerne l'étude de l'activité anti oxydante des trois échantillons, les résultats obtenus ont montré que généralement les trois échantillons d'huiles, ayant une activité anti oxydante importante, avec une supériorité remarquable de l'huile extra vierge par rapport à l'huile d'olive vierge.

Mots clés : Huile d'olive, polyphénol, physico-chimique, activité anti oxydante.



Abstract:

The objective of this study is to evaluate in-vitro the phytochemical composition and biological activity of three samples of olive oil. These oils are extracted from three different areas and extracted in different ways.

These oils were subjected to physicochemical analyzes including: free acidity, peroxide index, saponification index, chlorophyll content, polyphenol content, flavonoid content and condensed tannin content.

For the evaluation of the antioxidant activity of the three olive oils, we opted for the DPPH test.

The results obtained concerning the physicochemical characterization of the three olive oil samples allowed us to classify them into virgin, and extra virgin oil according to CO.I standards,

Regarding the study of the antioxidant activity of the three samples the results obtained showed that generally the three oils, having significant antioxidant activity, with a remarkable superiority of the extra virgin oil compared to the virgin olive oil.

Key words: Olive oil, polyphenol, physicochemical, antioxidant activity

Table des matières

Tables des matières

Remerciement	I
Dédicace	II
Dédicace	III
ملخص	IV
Résumé.....	V
Abstract.....	VI

Tables des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Première partie : étude bibliographique sur le sujet

Chapitre I: Généralités sur l'huile d'olive

Introduction.....	3
1. L'huile d'olive.....	3
2. L'extraction de l'huile d'olive	3
2.1 Système discontinue d'extraction par presse	4
2.2 Système d'extraction continue avec centrifugation	4
2.3. Procédé par Sinoléa.....	4
3. Les différentes catégories d'huile d'olive	5
3.1 Les huiles d'olive vierges	5
3.2 L'huile d'olive raffinée	5
3.3 L'huile de grignon d'olive.....	6
4. Les caractérisations physico chimiques.....	6
4.1 Indice d'acidité.....	6
4.2 Indice de peroxyde	7
4.3 Indice de saponification	7
4.4 Polyphénols	7
4.5 Flavonoïdes	7

Tables des matières

4.6 Tanins	8
4.7 Chlorophylle.....	8
5. Oxydation de l'huile d'olive et stabilité oxydative	8
6. Principaux antioxydantes de l'huile d'olive.....	9
6.1. Les antioxydants naturels d'huile d'olive.....	9
6.2. L'activité anti-oxydante d'huile d'olive	9
6.3 Composés phénoliques.....	10
6.4 Tocophérols	10
6.5 Caroténoïdes.....	10
6.6 Squalène	10
Chapitre II : Généralité sur les antioxydantes et leurs activités.....	Erreur ! Signet non défini.
1. Généralité	11
2. Les Antioxydantes	11
2.1 Définition	11
3. Les Types D'antioxydantes.....	12
3.1 Les antioxydantes endogènes (enzymatiques)	12
3.2 Les antioxydantes exogènes (non enzymatiques)	12
4. Classification des antioxydantes	13
4.1 Les anti oxygènes de synthèses	13
4.2 Antioxygènes d'origine végétale.....	14
4.3 Substances synergiques	14
5. Les mécanismes d'action des antioxydants comprennent	14
5.1 Antioxydantes brisant les chaînes par des réactions avec les radicaux peroxydes	14
5.2 Antioxydantes brisant les chaînes par des réactions avec les radicaux alkyles.....	15
5.3 Antioxydants décomposant les hydro-péroxydes.....	15
5.4 Antioxydants désactivant les métaux	15
6. L'activité anti-oxydante.....	15

Tables des matières

6.1 Définition	15
6.2 Le stress oxydant	16
6.3 Les radicaux libres	16
7. Utilisation des Antioxydantes	17
Partie Expérimentale	19
1. Origine et description du matériel utilisé.....	19
1.1 But et objectif du travail.....	19
2. Analyse des caractéristiques physico-chimiques d'huiles d'olive	21
2.1 Indices de qualité.....	21
2.1.1 Détermination de l'acidité libre(IA).....	21
2.1.2 Indice de saponification (IS)	24
2.1.3 L'indice de peroxyde (IP)	27
2.2 Dosage des pigments chlorophylliens	29
2.3 Dosage des composés phénoliques totaux	31
2.4 Dosage des flavonoïdes.....	34
2.5 Dosage des tanins condensés.....	35
2.6 Etude de l'activité anti-oxydante.....	37
2.6.1 Activité scavenger du radical DPPH	37
II. Résultats et Discussion	42
2.1. Les Caractérisation physico-chimique	42
2.1.1. Résultats de l'indice d'acidité	42
2.1.2 Résultats de L'Indice de saponification	42
2.1.3 Résultats de l'indice de peroxyde.....	43
2.2 Résultats de teneur en pigments chlorophylliens	45
2.3 Résultat de dosage des composés phénoliques totaux.....	46
2.4 Résultats de Teneur en flavonoïdes.....	47
2.5 Résultats de Teneur en tanins condensés	48

Tables des matières

2.6 Etude de l'activité antioxydante	49
2.6.1 Résultats de l'activité scavenger du radical DPPH	49
CONCLUSION	52

Références et bibliographie

Liste des annexes

Liste des figures

Liste des figures

Liste des figures

Figure01 : représentation schématique du protocole expérimental.	20
Figure 02 : l'équivalence dès l'apparition (la couleur ros).	23
Figure03 : La disparition de la couleur rose.....	24
Figure04 : le mélange à l'ébullition à reflux.	27
Figure05 : l'incolore de la solution.....	27
Figure06 : L'apparition et la disparition de la couleur violette.....	30
Figure07 : les solutions après l'incubation.....	33
Figure08 : Préparation de la solution qui contient l'acide gallique.	34
Figure 09 : Courbe d'étalonnage des polyphénols	34
Figure 10 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.	36
Figure11 : les échantillons avec l'Homogénéisation.	38
Figure 12 : Courbe d'étalonnage des tanins.....	38
Figure13 : la solution de DPPH et les dilutions.	41
Figure14 : Histogramme présentant La teneur en acidité Libre des échantillons étudiés..	42
Figure15 : Histogramme présentant la teneur en l'indice de saponification des échantillons étudiés.....	43
Figure16 : Histogramme présentant la teneur en l'indice de peroxyde des échantillons étudiés.	44
Figure17 : Histogramme présentant le Teneurs en chlorophylle des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés	45

Liste des figures

Liste des figures

Figure18 : Histogramme présentant le Teneurs en polyphénols des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés.	46
Figure19 : Histogramme présentant le Teneurs en flavonoïdes des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés.	48
Figure20 : Histogramme présentant le Teneurs en tanins condensés mg/g des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés	49
Figure21 : pourcentage d'inhibition radical DPPH des échantillons d'huiles d'olive étudiés.	50

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : les matériel et les réactifs utilisés dans l'indice d'acidité	22
Tableau 2: les matériels et les réactifs utilisés dans l'indice de saponification (IS)	25
Tableau 3: les matériels et les réactifs utilisés dans l'indice de peroxyde	28
Tableau 4: les matériels et les réactifs utilisés dans le dosage des pigments chlorophylliens	30
Tableau 5: les matériels et les réactifs utilisés dans le dosage des composes phénoliques totaux..	31
Tableau 6: les matériels et les réactifs utilisés dans le dosage des flavonides.....	34
Tableau 7: les matériels et les réactifs utilisés dans le dosage des tanins condensés	36
Tableau 8: les matériels et les réactifs utilisés dans l'évaluation d'activité anti oxydants	38

Liste des Abréviations

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique.

AFIDOL : Association Française Interprofessionnelle de l'Olive.

AFNOR : Recueil des Normes françaises des corps gras.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium.

AscH• : radical ascorbate tricarbonyle.

BHA : butylhydroxyanisole.

BHT : butylhydroxytoluène.

Chl : Teneur en chlorophylles.

CNUCED : Conférence Des Nations Unies sur Le Commerce et Le Développement.

COI : Conseil Oléicole International.

Cu : cuivre.

CUPRAC : Capacité anti oxydante par réduction de cuivre.

Cu-SOD : SOD à cuivre.

DPPH• : DiPhénylPicrylHydrazyl.

Ech : échantillon.

E.Q/Kg : Equivalent de quercétine par kilogramme.

EAG / g : Equivalent d'acide gallique par gramme.

EqC : équivalent catéchine.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

Fe: fer.

Fe-SOD: SOD ferreux.

g /mol : gramme par mol.

Liste des abréviations

GPx : glutathion peroxydase.

GPx : glutathion peroxydase.

GSH : glutathion.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

HO• : radical hydroxyle.

IA : Indice d'acidité.

IGP : Indication Géographique Protégée.

IP : Indice de peroxyde.

IS : Indice de saponification.

IS : Indice de saponification.

ISO : Organisation internationale de normalisation.

Kg : kilogramme.

KI : Iodure de potassium.

Meq O₂ /kg : milliéquivalent d'Oxygène par kilogramme.

Meq : milliéquivalents.

meq/kg : milliéquivalent par kilogramme.

Mg EAG / g E : milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait.

Mg EqC/g MS : milligrammes équivalent catéchine par g de matière sèche.

Mg KOH/ g : milligrammes de hydroxyde de potassium par gramme.

mg/g : milligrammes par gramme.

Mn-SOD : SOD à manganèse.

N : Normalité.

Na₂CO₃ : carbonate de sodium.

Na₂S₂O₃ : thiosulfate de sodium.

Liste des abréviations

nm: Nano-mètre.

O₂ : Oxygène singulet.

Ppm : partie par million.

R°: Radical alkyle.

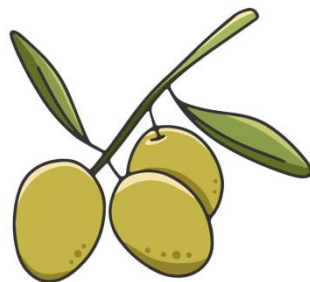
RO°: Radical alkoxy.

ROO°: Radical pyroxy.

ROS : espèces réactives de l'oxygène.

SOD : superoxyde dismutase.

Introduction



Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'huile d'olive constitue un extrait miracle utilisé par l'homme dans son arsenal thérapeutique et ainsi dans sa vie quotidienne. Grâce à ses vertus bénéfiques à travers plusieurs civilisations, l'huile d'olive est devenue indispensable dans la vie humaine. «Huile» et «olive» deux mots qui désignent une fortune, depuis la civilisation grecque et qui ont deux racines distinctes qui indiquent leur origine et leur localisation. Dans un premier temps le terme huile vient du crétois «elaiwa», du sémitique «ulu», «oleum» en latin puis il est devenu «oli» en langues romaines et « **Vielle et al, 2010**).

L'huile d'olive est le produit méditerranéen par excellence, utilisé depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours. Elle constitue la principale source de matières grasses du régime méditerranéen, reconnue pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine (**Estruch R et al, 2013**).

Elle est largement recommandée par de nombreux diététiciens et a acquis une place prépondérante dans la recherche sur ses propriétés médicinales et cosmétiques. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute, sans traitement préalable (**Boskou, 1996**). Toutes les études montrent que les régimes alimentaires intégrant l'huile d'olive sont bénéfiques pour la santé humaine, réduisant le risque de nombreuses maladies : prévention de la dégénérescence mentale, propriétés anticancéreuses, lutte contre le diabète, renforcement du système immunitaire, diminution de la pression artérielle, régulation du cholestérol, lissage des cheveux et hydratation naturelle de la peau. Ces bienfaits sont attribués soit à sa composition équilibrée en acides gras, où l'acide oléique est le composant principal, soit à la présence de biomolécules mineures telles que les vitamines et les antioxydants naturels (**Luaces et al, 2003 ; Tsimidou M Z & Boskou D. 2019**).

Sans nécessité de processus de raffinage. Conformément aux normes officielles, sa production est limitée à l'utilisation de méthodes physiques uniquement. Cette absence de raffinage permet à l'huile d'olive de préserver toutes ses antioxydantes, qui ne sont pas éliminées lors du processus (**COI, 2019**).

Les principaux antioxydants présents dans l'huile d'olive sont des dérivés de l'oleuropéine et du ligstroside, appartenant à la classe des composés phénoliques. Ces composés jouent un rôle crucial dans la préservation de la qualité de l'huile d'olive au fil du temps en prévenant son oxydation, en association avec le tocophérol (**Veillet, 2010 ; Boskou D, 2015**).

Introduction générale

Dans ce contexte, s'inscrit ce présent travail ayant pour objectif essentiel est une analyse physicochimique des trois échantillons d'huile et d'évaluation de leurs activités antioxydantes contre les radicaux libres en utilisant des systèmes chimiques in vitro. De trois échantillons d'huile d'olive sont de différentes origines, la première provient de région inconnue, la deuxième de région de la wilaya de Tiaret et la troisième de la wilaya de Tizi-Ouzou. Notre expérimentation a concerné les analyses physico-chimiques des trois des échantillons d'huile (acidité, indice de peroxyde, dosage des pigments, des composés phénoliques, le dosage des flavonoïdes et tanins condensés) en plus de l'évaluation de l'activité anti oxydante qui a été réalisée par la méthode de l'activité scavenger du radical DPPH.

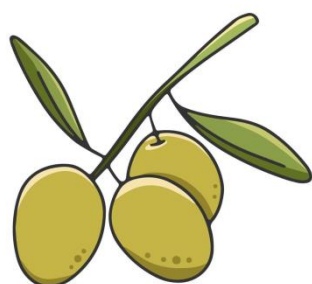
Notre travail a été organisé de la manière suivante :

- I. La première partie consacrée à une étude bibliographique elle-même composée de deux chapitres
 - ✓ **Un premier chapitre** : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés.
 - ✓ **Un second chapitre** : Généralités sur les antioxydants.
- II. Seconde partie : Matériel et méthodes adoptées**
- III. Troisième partie : Résultats obtenus, discussions et interprétations.
- IV. Conclusion
- V. Références bibliographiques.
- VI. Annexes.

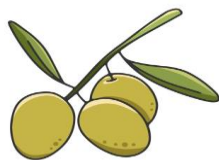
Première partie

étude

bibliographique



Chapitre 1 :
généralités sur
l'huile d'olive et
ses propriétés



Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

Introduction

L'huile d'olive, symbole ancestral de la région méditerranéenne, est extraite du fruit de l'olivier et possède une histoire millénaire profondément ancrée dans les traditions locales (COI, 2015). Emblématique de la cuisine méditerranéenne depuis l'Antiquité grecque (Trichopoulou et Lagiou, 1997), elle est la principale source de matières grasses reconnues pour leurs bienfaits sur la santé. Sa valeur nutritionnelle provient de sa composition en acides gras insaturés et en acides gras essentiels en quantités limitées, ainsi que de sa richesse en composés minoritaires comme les polyphénols (Tripoli et al, 2005). Ces composés phénoliques, grâce à leurs puissantes activités antioxydantes, pourraient contribuer à la prévention ou au ralentissement de maladies dégénératives et cardiovasculaires, souligne l'importance d'optimiser leur teneur dans l'huile d'olive pour la santé publique (Servili et al, 2014).

L'huile d'olive est une huile de table obtenue directement à partir des olives, qui sont des fruits de type drupe. Elle présente une composante amère, l'oleuropéine, une teneur en sucres relativement faible, variant de 2,6 % à 6 %, par rapport à d'autres drupes qui peuvent contenir 12 % ou plus de sucres, et une forte teneur en huile, allant de 12 % à 30 %, selon la période de l'année et la variété (COI, 2019).

1. L'huile d'olive

Conformément aux directives de l'Organisation internationale de l'olivier (COI, 2001), l'huile d'olive est seulement extraite de fruits d'olivier (*Olea europaea* L) et obtenue sans recourir à des solvants chimiques ni à des procédés de ré-estérification sans aucun mélange avec d'autres types d'huile.

2. L'extraction de l'huile d'olive

Le traitement des olives en vue de l'extraction de l'huile peut être réalisé par des méthodes mécaniques telles que le pressage ou la centrifugation (hammadi, 2006). Il existe trois procédés d'extraction différents d'huile d'olive.

Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

2.1 Système discontinue d'extraction par presse

La presse d'olive fonctionne en appliquant une pression métallique ou hydraulique à la pâte d'olive pour séparer l'huile, l'eau de végétation (margine) et grignon d'olive (**Wiesman, 2009**). La pâte issue du broyage est empilée sur les scourtins, à raison de 5 à 10 Kg par scourtin. L'application de la pression sur la charge des scourtins doit être réalisée de manière progressive. Il s'agit d'un système discontinu dû à la nécessité de procéder selon des « charges » ou des cycles de presse séquentielle (**Ranalli et al, 2001**) (les avantages et les inconvénients de ce système sont donnés en annexe 4).

2.2 Système d'extraction continue avec centrifugation

L'introduction des systèmes d'extraction continue par centrifugation a transformé l'industrie oléicole, avec deux principales méthodes : la centrifugation à trois phases et à deux phases. La méthode à trois phases sépare l'huile d'olive, les margines (eaux résiduelle), et les grignons (résidus solides). Cette méthode réduit les coûts et le temps de stockage des olives, diminuant ainsi l'acidité de l'huile. Cependant, elle nécessite un apport d'eau chaude de 40 à 60 % du poids de la pâte, ce qui appauvrit l'huile en composés aromatiques et phénoliques, qui passent dans les margines. Les grignons produits ont une forte humidité (45 à 55 %), compliquant leur gestion et valorisation (**Garcia-Gonzalez et Aparicio, 2010**) (les avantages et les inconvénients de ce système sont donnés en annexe 5).

En revanche, la méthode de centrifugation à deux phases, qui sépare uniquement l'huile et les grignons sans ajout d'eau, permet de conserver plus de composés aromatiques et phénoliques, améliorant ainsi la qualité de l'huile. De plus, les grignons ont une humidité réduite, facilitant leur gestion (**Ranalli et Angerosa, 1996**). Cette avancée technologique améliore la qualité de l'huile et optimise la gestion des résidus (**Tura et al, 2007 ; Krichene et al, 2010**) (les avantages et les inconvénients de ce système sont donnés en annexe 6).

2.3. Procédé par Sinolée

Selon, **Aparicio et Harwood (2013)** ce procédé peut extraire jusqu'à 70- 75 % d'huile contenue dans les olives. En effet, le Sinolée est un appareillage semi-cylindrique d'acier inoxydable avec beaucoup de petites lames qui ont la possibilité de se déplacer par des fentes dans l'appareillage, les lames plongent dans la pâte d'olive, sans arrêt, elles sont imprégnées d'huile et quand celles-ci sont retirées, l'huile s'écoule et sera récupérée dans un bac opaque.

Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

3. Les différentes catégories d'huile d'olive

L'huile d'olive est exclusivement obtenue par des procédés physiques sans recours à des solvants. Cette définition est fondamentale, bien que d'autres critères permettent de subdiviser les huiles d'olive en différentes catégories (CNUCED, 2005 ; COI, 2019).

3.1 Les huiles d'olive vierges : sont des huiles extraites exclusivement des fruits de l'olivier par des procédés mécaniques ou d'autres méthodes physiques. Ces processus, y compris ceux impliquant la chaleur, ne doivent pas altérer l'huile. De plus, elles ne doivent pas avoir subi de traitements autres que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (CNUCED, 2005 ; COI, 2019).

- ✓ **Les huiles d'olive vierges conviennent à une consommation directe ;**
- I) **L'huile d'olive vierge extra :** C'est l'huile d'olive vierge qui a une acidité libre exprimée en acide oléique de 0,8 gramme pour 100 grammes d'huile.
- II) **L'huile d'olive vierge :** C'est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, ne dépasse pas 2 grammes pour 100 grammes d'huile.
- III) **L'huile d'olive vierge courante :** est définie comme étant celle dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, ne dépasse pas 3,3 grammes pour 100 grammes d'huile.
- ✓ **L'huile d'olive vierge non adaptée à une consommation directe** connue sous le nom d'huile d'olive vierge lampante est celle dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, dépasse 3,3 grammes pour 100 grammes. Elle est destinée aux industries de raffinage ou à des usages techniques.

3.2 L'huile d'olive raffinée

- L'huile d'olive est obtenue à partir d'huiles d'olive vierges grâce à des techniques de raffinage qui ne modifient pas la structure glycéridique initiale. Son acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes.
- L'huile d'olive est obtenue en coupant de l'huile d'olive raffinée et des huiles d'olive vierges propres à être consommées telles quelles, Pour 100 grammes il y a un maximum de 1 gramme d'acide oléique exprimé en acidité libre.

Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

3.3 L'huile de grignon d'olive : Il s'agit d'une huile obtenue à partir du traitement des grignons d'olive par des solvants ou d'autres procédés physiques, à l'exclusion des huiles produites par ré-estérification ou tout mélange avec des huiles d'autres origines.

- **L'huile de grignons d'olive brute** est une huile de grignons d'olive qui respecte les critères définis pour cette catégorie par cette norme. Elle est conçue pour être raffinée en vue d'être utilisée pour la consommation humaine ou pour des usages techniques.
- **L'huile de grignons d'olive raffinée** est obtenue en utilisant des techniques de raffinage qui ne modifie pas la structure glycéridique initiale de l'huile de grignons d'olive brute, Pour 100 grammes, il y a un maximum de 0,3 gramme d'acide oléique exprimé en acidité libre.
- **L'huile de grignons d'olive** est obtenue en coupe de l'huile de grignons d'olive raffinée et des huiles d'olive vierges qui sont propres à la consommation en l'état. Il peut contenir jusqu'à 1 gramme d'acide oléique pour 100 grammes. Il est strictement interdit de considérer ce coupage comme de « l'huile d'olive ».

4. Les caractérisations physico chimiques

Une classification rapide des huiles en fonction de leur acidité libre est proposée par le **(C.O.I, 2015)** (Annexe 7). Cependant, il existe de nombreux critères pour sélectionner ou exclure une huile d'une catégorie.

La surveillance de ces critères, qu'ils soient spécifiques à une catégorie d'huile ou plus généraux, est essentielle. Une détérioration de la qualité de l'huile peut entraîner diverses conséquences, tant sur le plan nutritionnel que sur celui de la santé publique.

4.1 Indice d'acidité

La matière grasse de l'huile d'olive est constituée de triglycérides. Lorsque ces derniers sont dégradés, les acides gras sont libérés dans l'huile. Ils sont appelés acides gras libres. Leur taux dans l'huile (grammes d'acide oléique pour 100 gramme d'huile) désigne l'acidité de l'huile.

L'acidité, l'amertume et l'ardente, qui sont des sensations gustatives perçues lors de la dégustation de l'huile d'olive, sont en fait des signes de qualité. Ils sont associés à une forte teneur en antioxydants puissants, tels que les phénols **(Poyet B, 2014)**. Ce critère conduit à la classification donnée dans l'annexe 8 selon le **(COI 2015)**.

Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

4.2 Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est le test le plus courant pour l'évaluation du niveau d'oxydation des huiles. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'oxygène actif par kg de corps gras. La norme internationale recommandée pour les huiles d'olive (**COI, 2015**) fixe le minimum de cet indice à 20 meq d'oxygène actif par kg d'huile.

4.3 Indice de saponification

L'indice de saponification (Is) représente la quantité de potasse (KOH) en milligrammes nécessaires pour neutraliser l'acidité libre et saponifier les esters présents dans un gramme de lipides. Cet indice diminue lorsque les acides gras associés aux glycérols ont des poids moléculaires plus élevés (**Bureau D, 2001**), ce critère conduit à la classification donnée dans l'annexe 9 selon le (**CODEX, 2015**).

4.4 Polyphénols : Sont des antioxydants naturels présents en quantités notables dans l'huile d'olive vierge, et responsables du goût amer de celle-ci. Ces composés contribuent d'une manière significative à la stabilité de l'huile vis-à-vis de l'oxydation (**Baccouri et al, 2006**).

Les huiles d'olive vierges sont riches en composés phénoliques appartenant à diverses familles phénols et hydroxy phénols, acides et alcools phénols, sécoïridoïdes, lignanes, flavonoïdes (**Kiritsakis et Markakis, 1988 ; Ollivier et al 2004**). En particulier l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine qui possédant des propriétés antioxydantes (**Talhaoui et al 2016**).

La quantité de polyphénols contenus dans l'huile d'olive vierge fluctuent selon divers paramètres, parmi lesquels la localisation géographique, les conditions climatiques et agricoles, ainsi que le degré de maturité des olives (**Talhaoui et al 2016**).

4.5 Flavonoïdes : Les flavonoïdes sont caractérisés par un noyau flavane et présentent une structure commune en C6-C3-C6, dans laquelle deux cycles benzéniques sont liés par un élément en C3. Cette structure de base varie selon la classe spécifique de flavonoïdes, tels que les flavonols, flavones, flavanones, flavanols (cathéchines) et anthocyanes (**Apak et al, 2007**).

Dans l'olive, les flavonoïdes sont présents dès les premiers stades de développement, les flavones (lutéoline 7-O-glucoside, lutéoline -5- O-glucoside, la utine et l'apigénine 7-O-glucoside) et les flavonols-glucosidiques (quercétine 3-O-glucoside et quercétine 3-O

Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

rutinoside) sont les composés majoritaires dans l'olive (Blekas et al, 2002 ; Vinha et al, 2005).

4.6 Tanins

Le terme « **tanin** » trouve son origine dans une ancienne pratique qui impliquait l'utilisation d'extraits de plantes pour le tannage des peaux d'animaux. Dans le règne végétal, on distingue deux groupes de tanins, qui se distinguent par leur structure et leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Biaye ,2002).

- **Les tanins condensés** : sont des polymères d'unités flavonoïdes composés d'unités flavan-3-ols, avec un degré de polymérisation allant de deux à plus de 50 unités (Khanbaba et Ree, 2001). Ces polymères sont liés par des fortes liaisons de carbone non hydrolysables, bien qu'ils puissent être oxydés par des acides forts, libérant ainsi des anthocyanidines.
- **Les tanins hydrolysables** : polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (Hopkins, 2003).

4.7 Chlorophylle

Les chlorophylles sont des molécules photosensibles qui absorbent l'énergie lumineuse. Elles peuvent transférer cette énergie à l'oxygène, créant ainsi des radicaux libres d'oxygène. Ces radicaux libres peuvent ensuite réagir avec les acides gras insaturés présents dans l'huile d'olive, entraînant des réactions d'oxydation (Psomiadou et al, 2002) Les chlorophylles sont responsables de la couleur verte de l'huile d'olive.

5. Oxydation de l'huile d'olive et stabilité oxydative

L'oxydation est un processus qui survient non seulement lors de la production des huiles, mais aussi à l'intérieur du corps humain, où des réactions entraînent la formation de radicaux libres (agents peroxydants) (COI, 2011). Ces radicaux provoquent des dommages importants aux macromolécules et à l'acide nucléique (Bubonja-Sonje et al, 2011).

L'oxydation de l'huile commence après son extraction et entraîne une détérioration qui s'aggrave pendant le stockage. Les lipides sont d'abord oxydés en hydroperoxydes inodores et insipides, puis la décomposition de ces hydroperoxydes produit des composés volatils. Ces

Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

produits d'oxydation secondaires sont responsables des caractéristiques sensorielles désagréables (**Seguro-Carretero et al, 2010**).

L'auto oxydation peut être influencée par divers facteurs tels que l'oxygène, la lumière, la température, les métaux, les pigments, la composition en acides gras insaturés, ainsi que par la quantité et le type d'antioxydants naturels présents (**Seguro-Carretero et al, 2010**).

La stabilité de l'huile d'olive vierge est attribuée à son rapport élevé d'acides gras mono insaturés par rapport aux acides gras polyinsaturés, ainsi qu'à sa forte teneur en composés mineurs possédant une activité anti-oxydante. Parmi ces composés, l' α -tocophérol peut fournir son atome d'hydrogène phénolique aux radicaux libres lipidiques, tandis que les composés phénoliques peuvent inhiber l'oxydation par divers mécanismes (**Krichene et al, 2010**).

6. Principaux antioxydants de l'huile d'olive

6.1. Les antioxydants naturels d'huile d'olive :

Les antioxydants naturels de l'huile d'olive sont des composés qui empêchent ou ralentissent l'oxydation, un processus chimique qui peut produire des radicaux libres causant des dommages aux cellules. Les principaux antioxydants naturels présents dans l'huile d'olive (**Boskou, 2006**)

6.2. L'activité anti-oxydante d'huile d'olive :

L'activité anti-oxydante de l'huile d'olive est principalement attribuée à ses composés phénoliques, ses tocophérols, ses caroténoïdes et autres substances bioactives. Ces composés aident à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs dans le corps, contribuant ainsi à la réduction du risque de maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires et certains cancers (**Visioli et al, 2002**)

6.3 Composés phénoliques

L'huile d'olive est abondante en composés phénoliques aux propriétés anti oxydantes, contribuant à réduire les risques de maladies cardiovasculaires, en particulier grâce aux orthodiphénols (**Ollivier et al, 2004**) (**Essiari, 2014**).

Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

Leurs propriétés anti oxydantes proviennent de leur capacité à établir une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'hydrogène libre du groupement hydroxy et l'hydroxyle du radical phénoxy, ce qui conduit à la formation d'une quinone (**Ollivier et al, 2004**). Ils ont également la capacité de céder un atome d'hydrogène aux radicaux libres formés au cours de la propagation (**Cinquanta et al, 2001**).

6.4 Tocophérols

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

L'alpha-tocophérol a un effet inhibiteur sur l'auto-oxydation et la photo-oxydation. Dans l'obscurité, il interrompt la réaction en chaîne du processus radicalaire en réagissant avec les radicaux hydroperoxydes par transfert d'hydrogène, formant ainsi des hydroperoxydes et d'autres radicaux. Ces radicaux se combinent ensuite avec d'autres radicaux hydroperoxydes dans une réaction de terminaison, produisant des produits non radicalaires.

En présence de lumière, l'alpha-tocophérol désactive l'oxygène singulet à l'oxygène atmosphérique et réagit chimiquement avec celui-ci pour former des produits de dégradation tels que les quinones tocophéroliques et les époxydes de quinones. De plus, l' α -tocophérol montre un effet synergique avec le bêta-carotène en présence de lumière (**Ben Tekaya et al, 2007**).

6.5 Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des composés naturels antioxydants liposolubles, parmi lesquels le β -carotène est le plus significatif (**Benaziza et al, 2016**). Le β -carotène agit comme un protecteur en désactivant l'oxygène singulet généré par les chlorophylles. De plus, il filtre les longueurs d'onde actives des radiations lumineuses, protégeant ainsi l'huile contre l'activation de l'oxygène par la lumière. Cependant, son efficacité diminue progressivement à mesure que l'huile est exposée à la lumière (**Ben Tekaya et al, 2007**).

6.6 Squalène

Ce composé tri terpénique contribue à la stabilité oxydative de l'huile d'olive en préservant les acides gras non saturés de l'oxydation. En outre, il est réputé pour son rôle protecteur contre le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Sagratini et al, 2012**).

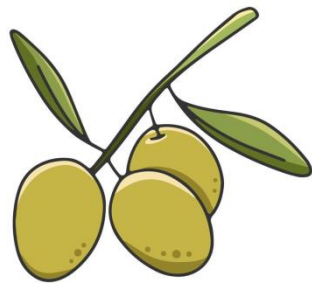
Chapitre 1 : Généralités sur l'huile d'olive et ses propriétés

Le squalène a un rôle essentiel dans l'inhibition de l'oxygène singulet, ce qui lui donne une activité antioxydante pendant la photo-oxydation de l'huile d'olive exposée à la lumière (Psomiadou et Tsimidou, 2002).

Chapitre 2 :

Généralités sur les

antioxydants



Chapitre II : Généralités sur les antioxydants et leurs activités

1. Généralité

Les antioxydants sont des substances présentant en faibles quantités dans les aliments ou dans l'organisme, qui retarde, inhibe ou contrôle significativement l'oxydation d'un substrat oxydable. Leur ajout a prouvé son efficacité pour maîtriser l'oxydation grâce à leurs propriétés uniques dérivant d'une grande variété de structures chimiques, ce qui permet de prolonger la durée de conservation des produits alimentaires sans affecter leur qualité sensorielle ou nutritionnelle. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS), telles que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical pyroxydé ($ROO^{\bullet}$), le radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$) et l'oxygène singulet (O_2), sont responsables des dommages oxydatifs dans le corps humain (Shahidi et Ambigaipalan, 2018).

Les réactions d'oxydation peuvent générer des radicaux libres, lesquels peuvent initier des réactions en chaîne. Les antioxydants interrompent ces réactions en neutralisant les radicaux libres intermédiaires et en empêchant d'autres réactions d'oxydation de se produire (Rai et al, 2013).

2. Les Antioxydants

2.1 Définition

Le mot « antioxydant » est utilisé généralement, pour n'importe quel agent chimique qui inhibe l'attaque par l'oxygène ou l'ozone (Bonnefont-Rousselot et al 2003) (Halliwell, 1995) a donné une définition large du terme antioxydant : « toute substance qui, présente à faible quantité comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat ». Appliqués aux huiles végétales, les antioxydants sont des composés qui interrompent le processus d'oxydation en réagissant préférentiellement avec les radicaux libres pour former d'autres radicaux plus stables et protègent certaines vitamines (Moure et al 2001).

- Se lier aux ions de métaux de transition tels que Fe^{2+} et Cu^+ qui sont biologiquement importants et peuvent favoriser la production de radicaux libres via la réaction de Fenton.
- Interagir avec d'autres antioxydants, et idéalement, les régénérer lorsque possible.
- Avoir un impact positif sur la régulation de l'expression des gènes.
- Être rapidement absorbé par l'organisme.
- Atteindre une concentration qualifiée de "physiologique" dans les tissus et les fluides biologiques.

Chapitre II : Généralités sur les antioxydants et leurs activités

- Etre efficace dans les environnements aqueux et/ou dans les membranes cellulaires
Avoir la capacité de capturer directement et de manière spécifique les radicaux libres.

3. Les Types D'antioxydants

3.1 Les antioxydantes endogènes (enzymatiques)

Ce sont des enzymes ou protéines anti oxydantes produites naturellement par notre organisme, avec l'aide de certains minéraux. Elles sont constamment présentes dans notre corps, mais leur concentration tend à diminuer avec l'avancée en âge (**Mika et al 2004**).

- **La catalase** : cette enzyme est principalement présente dans les hématies (globules rouges) et les peroxysomes hépatiques. Son action est en synergie avec les superoxydes dismutase (SOD), car elle accélère la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Piquet et Hébuterne, 2007**).
- **La glutathion peroxydase (GPx)** : La glutathion peroxydase joue un rôle crucial dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène ainsi que de l'hydroperoxyde formé lors de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras. Elle le fait en associant la réduction de ses composés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs tels que le glutathion (GSH) (**Piquet et Hébuterne, 2007**).

3.2 Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

En raison de leur efficacité, de leur coût relativement bas et de leur disponibilité, les antioxydants exogènes sont largement utilisés comme additifs alimentaires pour prévenir la rancidité des aliments. Cependant, leur sécurité suscite un débat important, car leur utilisation engendre un besoin de recherche pour trouver des substituts provenant de sources naturelles en tant qu'antioxydants alimentaires. (**Wang et al, 2003**).

Différentes substances ont été proposées comme antioxydants in vivo. Parmi celles-ci, on trouve la vitamine E, l'acide ascorbique (vitamine C), les caroténoïdes, les flavonoïdes et les composés phénoliques. Ces composés peuvent stabiliser les membranes cellulaires en réduisant leur perméabilité. De plus, ils ont la capacité de se lier aux acides gras libres, aidant ainsi à prévenir leur oxydation et à maintenir l'intégrité structurelle des membranes. (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

- **La vitamine c** : ou l'acide ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'homme). Elle est connue pour son action

Chapitre II : Généralités sur les antioxydants et leurs activités

protectrice contre l'oxydation membranaire (**Retsky et al 1999**) son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AsCH^-) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyl ($\text{AsCH}^\bullet$), stabilisée par résonance (**Valko et al 2006**).

- **La vitamine E** : est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols. Ce sont de bons antioxydants alimentaires, elle prévient l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux $\text{LOO}^\bullet$ (**Kaiser et al 1990 ; Yoshida et al 1993**) la vitamine E agit sur les radicaux $\text{LOO}^\bullet$ Selon la réaction suivante : $\text{LOO}^\bullet + \text{T-OH} \rightarrow \text{T-O}^\bullet + \text{LOOH}$.
- **Les caroténoïdes** : des pigments dérivés des plantes et des microorganismes, se divisent en deux principales catégories : les carotènes et les xanthophylles. Leur activité antioxydante découle de leur longue chaîne polyénique, qui leur permet de réagir avec différents radicaux tels que les $\text{ROO}^\bullet$, $\text{HO}^\bullet$, O_2^- , $\text{R}^\bullet$ par simple addition électrophile et transfert d'électrons. Cette capacité leur permet notamment de neutraliser l'oxygène singulet (**Valko et al 2006**).
- **Les composés phénoliques** : En particulier les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisées par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane leur activité antioxydante provient de leur capacité à interrompre les réactions en chaîne radicalaire en transférant des électrons et des protons, et à chélater les ions métalliques de transition qui peuvent catalyser la peroxydation lipidique (**Schroeter et al 2002 ; Leopoldini et al 2011**).

4. Classification des antioxydants

4.1 Les Antioxygènes de synthèses

Les antioxydants de synthèse sont des composés chimiques ajoutés à divers produits pour prévenir ou ralentir l'oxydation des substances sensibles à l'oxygène, comme les corps gras insaturés ou les extraits végétaux riches en oxydase. Ces antioxydants sont souvent utilisés dans les formulations cosmétiques, alimentaires et pharmaceutiques pour maintenir la stabilité et la durabilité des produits. Leur concentration d'utilisation est généralement dix fois plus faible que celle des conservateurs et se situe entre 0,02 et 0,05 %.

Voici quelques exemples d'antioxydants de synthèse couramment utilisés :

- le butylhydroxytoluène (BHT).

Chapitre II : Généralités sur les antioxydants et leurs activités

- le butylhydroxyanisole (BHA).
- les gallates de propyle, octyle et de dodécyle.

Quelques limites d'utilisation des antioxydants de synthèse donné dans l'annexe10.

4.2 Antioxygènes d'origine végétale

Les plantes sont des sources extrêmement significatives d'antioxydants. Parmi les antioxydantes naturelles les plus reconnues tant dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine, on retrouve les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols. Ces composés sont appréciés pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs dans les cellules.

4.3 Substances synergiques

Certaines molécules agissent en améliorant l'efficacité de certains antioxydants, ce qui se traduit souvent par une prolongation de la période de protection. Parmi ces molécules, on retrouve les acides lactiques, tartriques et orthophosphoriques ainsi que leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés bénéfiques peuvent s'expliquer par leur capacité à chélater les métaux tels que le fer ou le cuivre, dont l'effet pro-oxydant est bien connu, surtout à faible dose. Cependant, il est important de noter que cette capacité chélatante ne constitue peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont considérés comme des chélatants de faible qualité (Marie. C.M et Monique.S ,2016). Dans le contexte spécifique du stockage du saindoux à 65 °C en récipients ouverts, le temps nécessaire pour atteindre un indice en peroxyde de 20 meq/kg ayant un indicateur pertinent de l'efficacité des antioxydants et de leurs synergies avec les agents chélatant en récipients ouverts et donné dans l' annexe11.

5. Les mécanismes d'action des antioxydants comprennent

L'oxydation d'un composé organique peut être retardée de plusieurs manières :

5.1 Antioxydants brisant les chaînes par des réactions avec les radicaux peroxydes

Il s'agit de composés réducteurs possédant des liaisons O-H et N-H relativement faibles, tels que les phénols, les naphthols, les hydroquinones, l'amine aromatique, les aminophénols et les diamines .Ces composés réagissent facilement avec les radicaux peroxydes, formant ainsi des radicaux intermédiaires de faible activité (Denisov et Afanasev.2004).

Chapitre II : Généralités sur les antioxydants et leurs activités

5.2 Antioxydantes brisant les chaînes par des réactions avec les radicaux alkyles

Il s'agit de composés tels que les quinones, les nitrons, les iminoquinones, les méthylènequinones, les radicaux nitroxy stable et les composés nitrés, acceptent facilement les radicaux alkyles (**Denisov et Afanasev, 2004**).

5.3 Antioxydants décomposant les hydro-peroxydes

Les composés tels que les sulfures, les phosphites, les arsénites, les triphosphates, les carbamates et certains complexes métalliques réagissent avec les hydro-peroxydes sans former de radicaux libres. Ces réactions peuvent être stœchiométriques ou catalytiques, en particulier pour les complexes métalliques chélates (**Denisov et Afanasev, 2004**).

5.4 Antioxydants désactivant les métaux

Les composés de métaux de transition accélèrent l'oxydation en décomposant les hydro-peroxydes en radicaux libres. Pour ralentir cette oxydation, des composés comme les diamines, les hydroxyacides et d'autres bi-fonctionnels peuvent être ajoutés pour former des complexes inactifs avec les ions métalliques, agissant comme antioxydants (**Denisov et Afanasev, 2004**).

6. L'activité anti oxydante

6.1 Définition

Les cellules et les tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Walker J.E.M et al, 1982**).

Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences c'est ce qu'on appelle l'activité anti oxydante (**Khati L et al, 2016**).

Chapitre II : Généralités sur les antioxydants et leurs activités

6.2 Le stress oxydant

Le stress oxydatif se produit lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité du corps à les neutraliser par des antioxydants. Ce déséquilibre entraîne des dommages cellulaires, affectant les lipides, les protéines et l'ADN, et peut conduire au développement de diverses maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les troubles neurodégénératifs **(Sies, 2015)**. Des concentrations élevées en ERO peuvent être un important médiateur de dommage des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines **(Valko et al, 2006)**.

Le stress oxydant est la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, le syndrome de détresse respiratoire aigüe, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré...etc. Il est aussi l'un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires **(Favier, 2003)**.

6.3 Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons célibataires, ce qui le rend hautement réactif. **(Jacotot, 1993)** Ces électrons célibataires sont responsables de la réactivité des radicaux libres, car ils peuvent former des liaisons avec d'autres atomes ou molécules pour stabiliser leur structure électronique. Les radicaux libres jouent un rôle important dans de nombreuses réactions chimiques, mais en excès, ils peuvent également causer des dommages aux cellules et aux tissus dans le corps, ce qui est associé à des processus pathologiques tels que le vieillissement et diverses maladies.

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives de l'oxygène **(Favier, 2003)**. L'oxydation est l'un des processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants **(Bubonja-Sonje et al 2011)** mais ils peuvent également être produits par fission homolytique, c'est-à-dire par rupture symétrique d'une liaison covalente, à l'issue de laquelle chaque atome conserve un électron **(Jungbluth, 2008)**.

Ces radicaux causent des dégradations majeures dans les macromolécules et l'acide nucléique **(Bubonja-Sonje et al 2011)**. Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés **(Bonnefont-Rousselot et al 2003)** :

- Addition d'un électron libre à un non radical ($NR + e^- \rightarrow R^\cdot$).
- Perte d'un électron par un non radical ($NR - e^- \rightarrow R^\cdot$).

Chapitre II : Généralités sur les antioxydants et leurs activités

- Scission homolytique d'une liaison covalente ($A : B \rightarrow A^{\bullet} + B^{\bullet}$)

Le caractère radicalaire de ces espèces les rend généralement très instables sur le plan énergétique. En effet, pour satisfaire à la règle de l'octet, les radicaux libres ont tendance à rechercher la stabilité en captant un électron pour compléter leur orbitale. Ils peuvent ainsi réagir en captant un électron d'une molécule non radicalaire ou d'un autre radical libre, cherchant à former une liaison covalente et à se stabiliser. Cette recherche de stabilité rend les radicaux libres très réactifs et capables d'initier des réactions en chaîne dans des systèmes chimiques (Jungbluth, 2008).

7. Utilisation des Antioxydants

Les antioxydants sont utilisés dans plusieurs domaines à savoir : (Valko et al 2006)

- **Dans l'industrie chimique :** les antioxydants sont utilisés pour prévenir le durcissement du caoutchouc et protéger les métaux de l'oxydation, ce qui pourrait entraîner une détérioration de leurs propriétés physiques et mécaniques.
- **Dans l'industrie agro-alimentaire :** les antioxydants sont utilisés pour éviter le rancissement des corps gras. L'oxydation des lipides peut entraîner une altération du goût, de l'odeur et de la qualité nutritionnelle des aliments, ce qui peut être évité en utilisant des antioxydants.
- **Dans l'industrie de la teinturerie :** les antioxydants sont utilisés pour prévenir l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture. L'oxydation des colorants peut altérer leur couleur et leur qualité, ce qui compromettrait le processus de teinture et la qualité des produits finis.
- **Cosmétiques :** Ils sont utilisés dans les produits de soins de la peau et les produits capillaires pour protéger contre les dommages causés par les radicaux libres, aidant ainsi à maintenir la santé et la jeunesse de la peau et des cheveux.
- **Emballage alimentaire :** Les antioxydants sont ajoutés aux emballages alimentaires pour empêcher l'oxydation des aliments, ce qui prolonge leur durée de conservation et maintient leur fraîcheur.
- **Santé humaine :** Les antioxydants sont souvent consommés sous forme de suppléments alimentaires pour leurs potentiels bienfaits pour la santé, notamment la prévention des maladies cardiovasculaires, le renforcement du système immunitaire et la lutte contre le stress oxydatif associé au vieillissement.

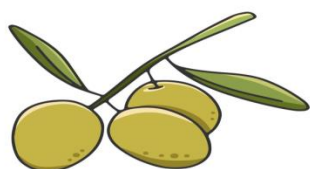
Chapitre II : Généralités sur les antioxydants et leurs activités

- **Santé animale :** Les antioxydants sont également utilisés dans l'alimentation animale pour prévenir l'oxydation des nutriments et maintenir la santé des animaux d'élevage.

Deuxième partie :

Partie

Expérimentale



Partie Expérimentale

1. Origine et description du matériel utilisé

Le matériel utilisé dans notre expérimentation est composé de trois types d'huile d'olive de différentes régions obtenus par trois types de procédés.

Echantillon 1 : provient d'une origine inconnue, son mode d'extraction est un procédé continu à trois phases.

Echantillon 2 : provient d'une exploitation agricole, localisée à Tiaret son mode d'extraction est un procédé continu à trois phases avec conditions contrôlées.

Echantillon 3 : provient de région de Tizi Ouzou, son mode d'extraction est un procédé discontinu à deux phases.

Toutes les étapes (Fig.1) de notre expérimentation ont été réalisées dans le laboratoire de biochimie, de la Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret.

1.1 But et objectif du travail

L'objectif principal de cette étude est de déterminer la caractérisation physicochimique de trois types d'huiles d'olive et d'évaluer leurs effets antioxydants, afin de déterminer les différences et les similitudes entre ces huiles et identifier celles ayant le meilleur potentiel antioxydant.

Partie Expérimentale

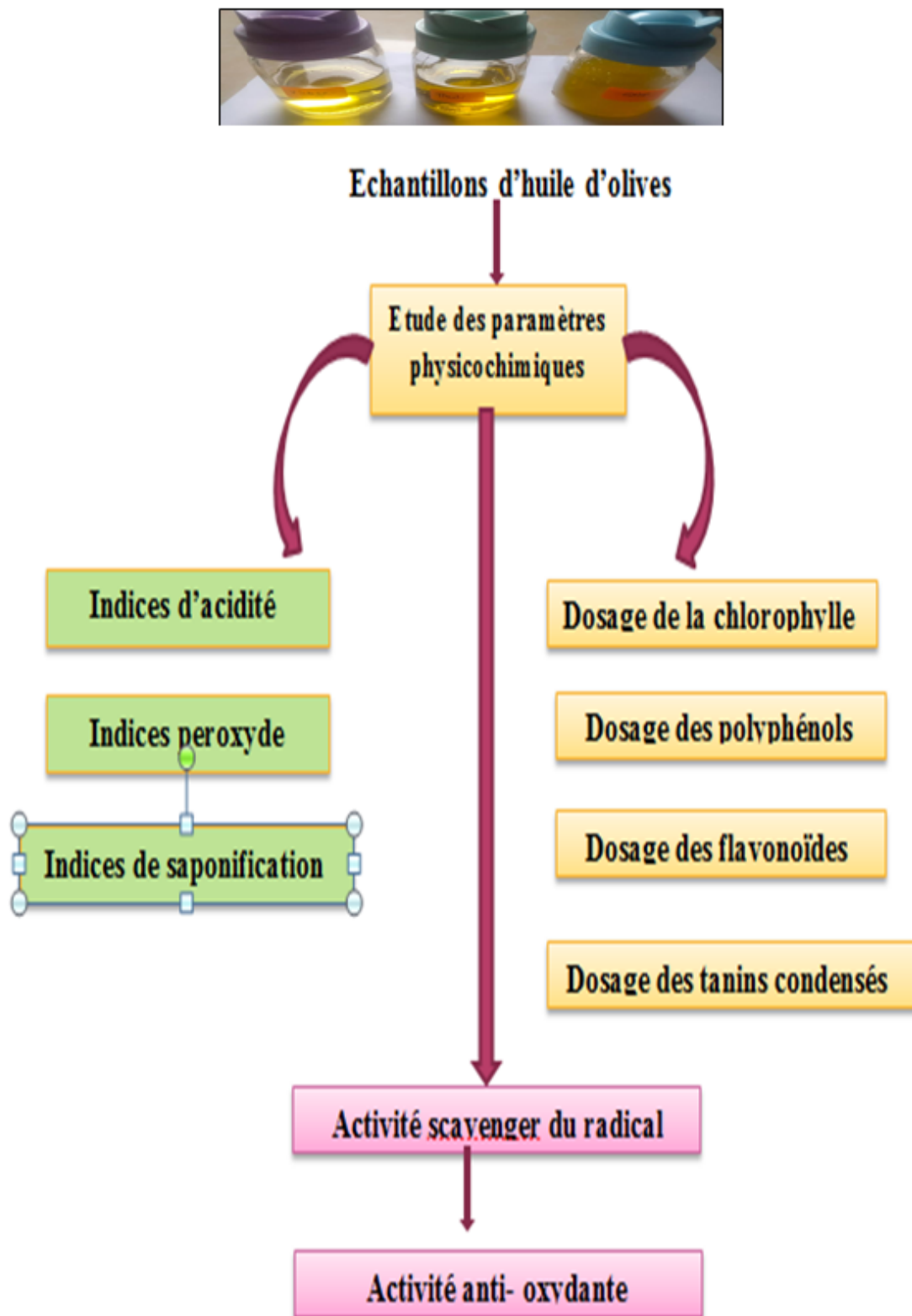


Figure 1: représentation schématique du protocole expérimental

2. Analyse des caractéristiques physico-chimiques d'huiles d'olive

2.1 Indices de qualité

2.1.1 Détermination de l'acidité libre(IA)

Le principal critère de qualité de l'huile d'olive est généralement son taux d'acidité oléique, déterminé par l'analyse des acides gras. Ce taux est généralement influencé par divers facteurs tels que leur maturité ou les dommages subis pendant la récolte ou le stockage. L'acidité résulte de la dégradation enzymatique des triglycérides dans les olives et peut varier peu après la production de l'huile. Ainsi, une huile issue d'olives abîmées ou trop mûres peut présenter un taux d'acidité élevé.

❖ Principe :

La teneur en acides gras libres dans l'huile d'olive, résultant de l'hydrolyse des triglycérides et exprimée conventionnellement en acide oléique (g/100g d'huile), est un paramètre essentiel pour évaluer sa qualité. Elle est mesurée selon la norme **AFNOR (1984) (BENRACHOU, 2013) (BENABID, 2009)**.

Le principe de cette méthode repose sur la dissolution d'une quantité déterminée de lipides dans de l'éthanol chaud. Ensuite, les acides gras libres sont titrés à l'aide d'une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium, nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1g de matière grasse (**Essiari et al, 2014**).

Partie Expérimentale

❖ Matériels et réactifs utilisés :

Tableau 1 : les matériel et les réactifs utilisés dans l'indice d'acidité

Matériels	Réactifs
Pipettes graduée et le support	Solution d'hydroxyde de sodium à 0,1N
Burette graduée	Solution d'éthanol.
Balance analytique.	Solution de phénophtaléine à 2%
Agitateur et barreau magnétique	L'eau distille.
Bécher	
Entonnoir	
Pipeter	
Pissette	
Compte-gouttes	
Eprouvette graduée	

❖ Mode opératoire :

Indice d'acide d'un corps gras est la quantité de potasse exprimé en milligrammes, nécessaire pour neutraliser l'acidité contenue dans un gramme de corps gras (**Gavrilo vic et al, 1996**), On a travaille avec cette méthode « **La méthode AFNOR (1985)** » :

- Dissoudre une prise de 1 g d'huile d'olive dans 5 ml d'éthanol.
- ajouter 3 à 5 gouttes de phénolphtaléine à 2%.
- à l'aide d'une burette, titrer les acides gras libres par une solution de KOH éthylique à 0,1 N.
- noter le volume V versé à l'équivalence dès l'apparition de la couleur ros.
- Pourcentage d'acidité :

$$A \% = [(N \times M \times V) / (m \times 1000)] \times 100$$

Partie Expérimentale

➤ L'indice d'acide IA (mg de KOH/g huile) est donné par la relation suivante :

$$IA = V \times M' \times N/m$$

- V : volume en ml de la solution titrée de KOH éthylique.
- M' : Masse molaire de KOH (56,1 g /mol).
- N : La normalité de KOH éthylique (0,1 N).
- m: masse d'huile pesée en g (1g).
- M : masse molaire de l'acide oléique $C_{17}H_{33}COOH$ (282 g /mol).



Figure 2 : l'équivalence dès l'apparition (la couleur ros).



Figure 3 : La disparition de la couleur rose.

.1.2 Indice de saponification (IS)

❖ Principe :

L'indice de saponification (Is) est une mesure utilisée en chimie pour déterminer la quantité de matière grasse dans un échantillon. Il est exprimé en milligrammes de KOH (hydroxyde de potassium) nécessaire pour saponifier un gramme de matière grasse. L'indice de saponification mesure la quantité de potasse (KOH) en milligrammes nécessaire pour saponifier les acides gras dans un gramme de matière grasse. Plus les acides gras sont de faible poids moléculaire, plus cet indice est élevé (**AFNOR, 1978**).

Partie Expérimentale

❖ Matériels et réactifs utilisés

Tableau 2: les matériels et les réactifs utilisés dans l'indice de saponification (IS)

Matériels	Réactifs
ballon, Bécher l'ébullition à reflux Pipettes graduée et le support Burette graduée Balance analytique. Agitateur et barreau magnétique Réfrigérant droit Eprouvette graduée Entonnoir Pipeter Pissette Compte-gouttes	Solution d'hydroxyde de sodium KOH de 0,5 mol/l Solution de phénophtaléine à 2% l'acide chlorhydrique de 0,5 mol/l L'eau distille

❖ Mode opératoire :

L'indice de saponification est le nombre de milligrammes de KOH nécessaires pour hydrolyser ou saponifier un gramme de cors gras, On a travaille avec méthode de « **(Smith et Wood ,1995)** ».

- Introduire dans un ballon 1g d'huile d'olive et 25 ml de KOH éthylique de 0,5 mol/l.
- Porter le mélange à l'ébullition à reflux pendant 60 min.
- Laisser refroidir et ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine à 2%.
- Titrer le contenu du ballon par l'acide chlorhydrique de 0,5 mol/l.

Partie Expérimentale

- Agiter constamment jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphthaléine.
- Déterminer le volume V1 de la neutralisation de l'échantillon.
- réaliser un témoin (1 ml d'eau distillée+25 ml de KOH éthylique) dans les mêmes conditions de l'échantillon en déterminant le volume V0 du titrage.

Calcul de l'indice de saponification IS (mg de KOH/g huile) :

$$IS = (MKOH \times V0 - V1 \times CHCl) / m$$

- V0 : Volume de neutralisation de témoin en ml.
- V1 : Volume de neutralisation de l'échantillon en ml.
- CHCl: concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l (0,5mol/ l).
- MKOH : masse molaire du KOH en g/mol (56,1g/mol).
- m : masse d'huile pesée en g (1g).



Figure 4 : le mélange à l'ébullition à reflux.



Figure 5 :l'incolore de la solution.

2.1.3 L'indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde mesure la quantité de peroxyde formé par la fixation d'oxygène sur les doubles liaisons des acides gras insaturés présents dans l'huile. L'oxydation d'une huile est généralement causée par son exposition à l'air, mais elle est également influencée par sa composition en acides gras insaturés. Des facteurs tels que la lumière et la chaleur peuvent favoriser ce processus.

❖ Principe :

La détermination de la teneur en peroxydes dans les huiles permet d'évaluer le niveau d'oxydation primaire produite au cours du stockage et/ou l'élaboration de l'huile (**Tanouti et al, 2010**).

L'indice de peroxyde (IP) nous renseigne sur l'état d'altération des échantillons d'huile d'olive par rancissement oxydatif. La mesure de l'indice de peroxyde se fait par un titrage à la solution de thiosulfate de sodium.

La matière grasse à analyser est mise en solution dans un mélange de chloroforme et d'acide acétique, l'iodure de potassium (KI) est ajouté .Ce KI réagit avec les peroxydes pour former l'iode (I₂). Celui-ci est ensuite dosé par réaction avec Na₂S₂O₃ (**Delcharlerie et al, 2008**).

Partie Expérimentale

Tableau 3: les matériels et les réactifs utilisés dans l'indice de peroxyde

Matériels	Réactifs
Pipettes graduée	L'acide acétique
Burette graduée et le support	Chloroforme
Balance analytique.	Solution d'iodure de potassium saturée KI
Agitateur et barreau magnétique	L'eau distillée
Bécher	Solution d'empois d'amidon à 3%
Entonnoir	une solution de thiosulfate de sodium Na ₂ S ₂ O ₃ de 0,01 N
Pipeter	
Pissette	
Compte-gouttes	
Eprouvette graduée	

❖ Mode opératoire :

On a travaillé avec méthode de « **(Delcharlerie et al, 2008)** ».

› Mettre en solution 1g de l'huile d'olive avec 15 ml d'acide acétique, 10ml de chloroforme et 1ml de solution d'iodure de potassium saturée KI.

› agiter pendant une minute et laisser reposer pendant 5 minutes à l'abri de la lumière et à une température de 15 à 25°C.

› ajouter environ 75 ml d'eau distillée pour arrêter la réaction.

› ajouter quelques gouttes d'empois d'amidon à 3% comme indicateur de coloration.

› titrer l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium Na₂S₂O₃ de 0,01 N en agitant vigoureusement jusqu'à disparition de la couleur violette.

Partie Expérimentale

› effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions en remplaçant l'huile d'olive par de l'eau distillée.

Le calcul d'indice de peroxyde IP (meq O₂/ kg d'huile) est donné par la formule suivante :

$$IP = [(V - V_0) / m) \times 1000 \times N]$$

- V : le volume de thiosulfate de sodium requis pour titrer l'échantillon.
- V₀ : le volume de thiosulfate de sodium requis pour titrer le blanc.
- N : normalité de Na₂S₂O₃ (0,01N).
- m : la prise d'essai en grammes (1g).

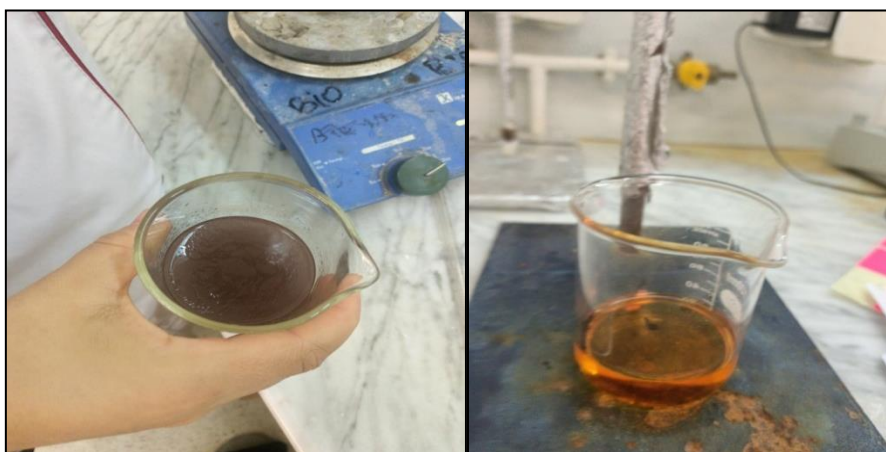


Figure 6 :L'apparition et la disparition de la couleur violette.

2.2 Dosage des pigments chlorophylliens

Les chlorophylles, appartenant au groupe des tétrapyroles à magnésium, sont présentes dans l'huile d'olive à des concentrations variables, allant de 0 à 20 parties par million (ppm). Ces pigments sont responsables de la teinte verte caractéristique de l'huile d'olive (**Gandul-Rojas et MinguezMosquera, 1996**)

Partie Expérimentale

❖ Principe :

L'analyse des pigments colorants n'est pas obligatoire selon les normes de commercialisation de l'huile d'olive. Pourtant, la couleur est un critère essentiel pour évaluer les caractéristiques de l'huile d'olive et est largement associée par les consommateurs à sa qualité. La teinte de l'huile d'olive est souvent perçue comme un indicateur de fraîcheur et de qualité. Ainsi, même si les normes ne spécifient pas cette analyse, les producteurs et les consommateurs considèrent souvent la couleur comme un élément important dans la perception de la qualité de l'huile d'olive (**Benrachou, 2013**).

Puisqu'elle a un effet antioxydant dans l'obscurité et un effet pro-oxydant à la lumière, on pense qu'elle joue un rôle important dans le maintien de la qualité de l'huile et de sa stabilité oxydative (**Tanouti et al, 2011**).

❖ Matériels et réactifs utilisés :

Tableau 4: les matériels et les réactifs utilisés dans le dosage des pigments chlorophylliens

Matériels	Réactifs
Fioles jaugée Spectrophotomètre Cuvette Micro –pipette Eprouvette graduée	le cyclohexane

Partie Expérimentale

❖ Mode opératoire :

Prendre 1ml d'huiles mettre des fioles de 10 ml, ajuster au trait de jauge avec de cyclohexane. Elle consiste en une quantification par spectrophotométrie à des longueurs d'onde de 630 et 670 nm. Mesurer l'absorbance est mesuré à 670 nm. Avec un tube témoin contenant le cyclohexane. La teneur en chlorophylle est calculée par la formule (méthode de **Mosquera Minguez et al, 1991**).

$$\text{Chl (ppm)} = A_{670} \times 106 / 613 \times 100 \times l$$

Chl : Teneur en chlorophylles (ppm).

A : Absorbance à la longueur d'onde indiquée (670 nm).

I : Epaisseur de la cuve (1cm), 613 : coefficient spécifique de la phéophytine a comme standard.

2.3 Dosage des composés phénoliques totaux

❖ Principe :

Le réactif de Folin-Ciocalteu, est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phospho-molybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**RIBEREAU, 1968**).

❖ Matériels et réactifs utilisés :

Tableau 5 : les matériels et les réactifs utilisés dans le dosage des composés phénoliques totaux

Matériels	Réactifs
Spectrophotomètre	Méthanol
Cuvette	réactif de Folin-Ciocalteu 0,2 N

Partie Expérimentale

Micro –pipette	la solution de Na ₂ CO ₃ à 7%
Tube à essai	L'eau distillée
Balance analytique.	l'acide gallique à des concentrations de 0 à 0,1mg/ml.
Pissette	
Eprouvette graduée	

❖ Mode opératoire :

La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée selon la méthode décrite par **(Kahkonen et al, 1999)**

- › Diluer une prise de 1g de chaque échantillon d'huile d'olive dans 5ml de méthanol.
- › prendre 125µl de chaque dilution d'échantillon.
- › ajouter 500µl d'eau distillée et 125µl du réactif de Folin-Ciocalteu 0,2 N.
- › agiter et laisser reposer pendant six minutes.
- › ajouter 1250µl de la solution de Na₂CO₃ à 7% et 3ml d'eau distillée.
- › incuber le mélange dans l'obscurité pendant 90 minutes.
- › mesurer la densité optique de ces solutions avec un colorimètre à 760 nm contre un blanc.
- › effectuer les mêmes opérations pour réaliser une gamme d'étalonnage utilisant l'acide gallique à des concentrations de 0 à 0,1mg/ml.

La teneur en polyphénols de l'extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent acide gallique par kg d'huile d'olive (mg GAE/ kg d'huile) **(Zemour et al., 2019)**.

Partie Expérimentale

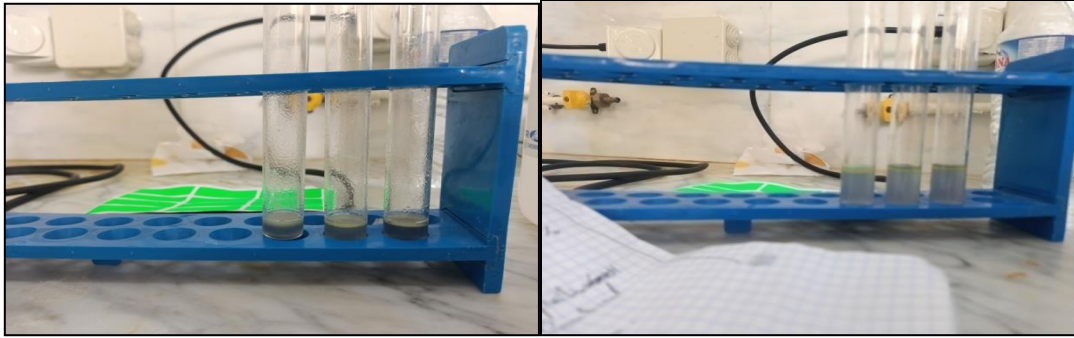


Figure 7 : les solutions après l'incubation.

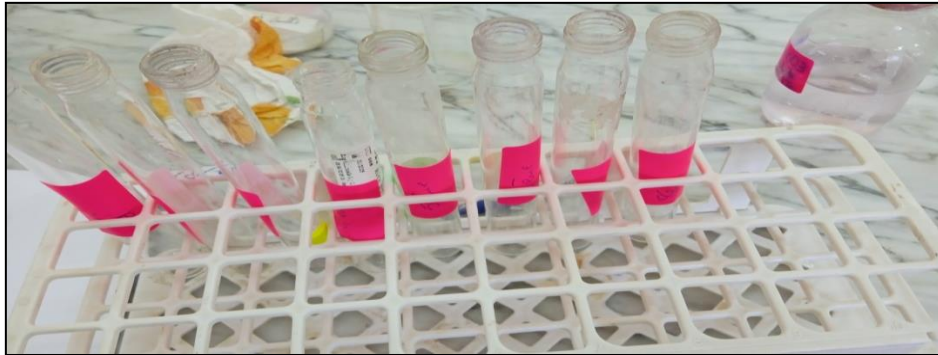


Figure 8 : Préparation de la solution qui contient l'acide gallique.

La courbe d'étalonnage est réalisée la dilution de l'acide gallique à différentes concentrations avec les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage (les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait (mg EAG / gE)).

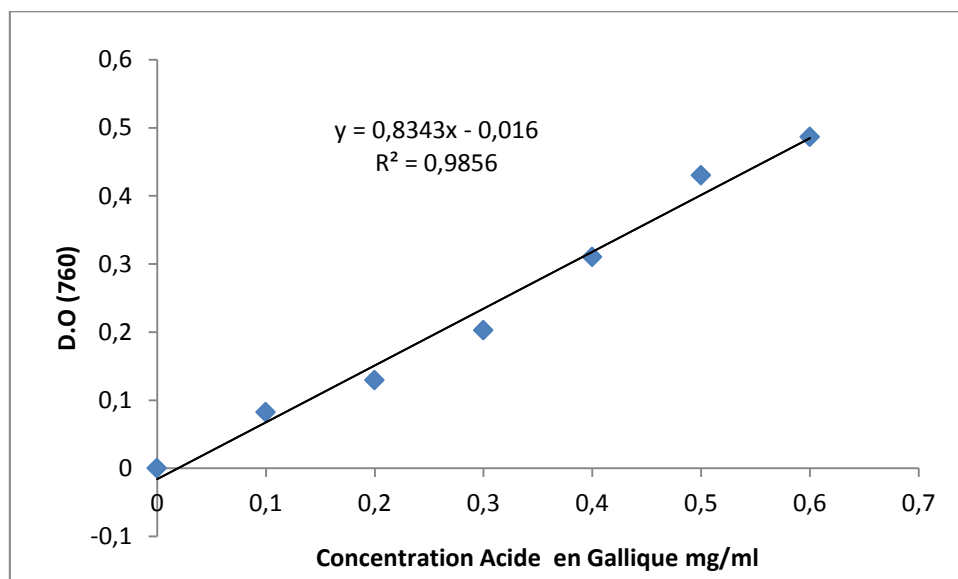


Figure 9 : Courbe d'étalonnage des polyphénols.

Partie Expérimentale

2.4 Dosage des flavonoïdes :

Ce sont des composés de bas poids moléculaire, composés de quinze atomes de carbone; portent la structure C6–C3–C6. Ils sont principalement divisés en deux classes: les anthocyanes (dérivé glycosylé d'anthocyanidine, présent dans les fleurs et fruits colorés); et les anthoxanthines (un groupe de composés incolores divisé en plusieurs catégories, comprenant les flavones, les flavanes, les flavonols, les isoflavones et leurs glycosides)

❖ Principe :

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle ($C=O$) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones Et des flavonols. Par ailleurs, $AlCl_3$ peut également former des complexes acides labiles avec Les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des Flavonoïdes (Chang C et al ,2002).

❖ Matériels et réactifs utilisés :

Tableau 6:les matériels et les réactifs utilisés dans le dosage des flavonides

Matériels	Réactifs
Spectrophotomètre Cuvette Balance analytique. Eprouvette graduée Agitateur et barreau magnétique Bécher	$AlCl_3 \cdot 6H_2O$ à 2%.

❖ Mode opératoire :

L'évaluation quantitative des flavonoïdes totaux dans les différentes fractions a été réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium (Bahorun et al, 1996).

Partie Expérimentale

›Diluer une prise de 2 ml dans chaque échantillon d'huile d'olive dans 2ml de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ à 2% avec l'agitation.

›Faire l'incubation pendant 10 min à l'obscurité et à température ambiante.

›Lecture des absorbances à 430 nm.

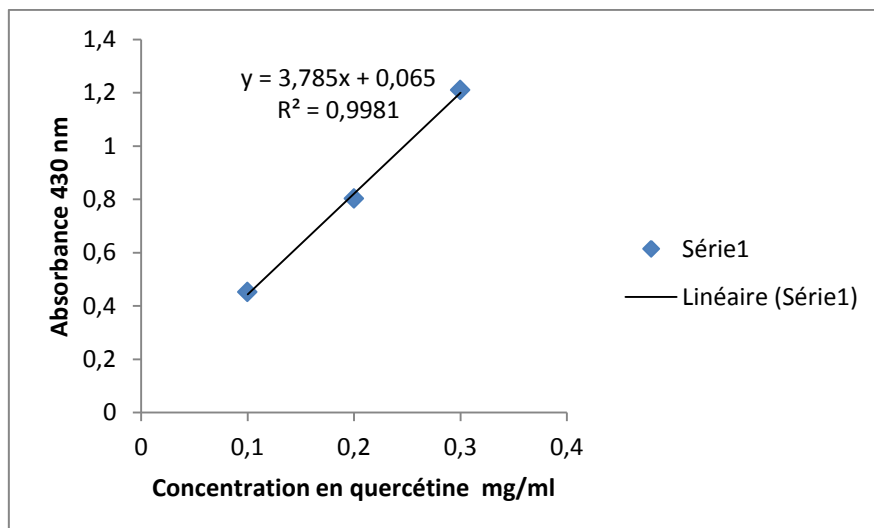


Figure 10 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

2.5 Dosage des tanins condensés

Les plantes riches en tanins sont employées pour resserrer les tissus souples et pour favoriser la réparation des tissus endommagés par des affections telles que l'eczéma ou les brûlures. De plus, elles ont tendance à rendre les selles plus liquides, ce qui facilite le transit intestinal (Iserin et al, 2001).

❖ Principe :

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (Price et al, 1978). La méthode repose sur la réaction spécifique de la vanilline avec les tanins condensés en présence d'un acide fort, formant un complexe coloré.

Cette réaction est spécifique à la première unité du polymère des tanins, ce qui permet une estimation quantitative précise de ces composés. La quantité de tannins est supposée la méthode décrite par (Julkunen-Titto, 1985).

❖ Matériels et réactifs utilisés :

Partie Expérimentale

Tableau 7: les matériels et les réactifs utilisés dans le dosage des tanins condensés.

Matériels	Réactifs
Spectrophotomètre	Vanilline/méthanol
Cuvette.	Catéchine
Agitateur et barreau magnétique	Chlorure d'hydrogène (HCL)
Bécher	
Micro –pipette	

❖ Mode opératoire :

Le protocole de dosage des tanins condensés contenant dans la poudre du pomelo, La quantité de tannins est estimée la méthode décrite par (**JulkunenTitto, 1985**).

- › Diluer 50µl de chaque échantillon d'huile d'olive dans 1500µl de (Vanilline/méthanol).
- › Faire l'Homogénéisation et ajouter 750µl de HCL.
- › Incubation pendant 20 min à température ambiante.
- › Lecture de L'absorbance à 550 nm contre un blanc.
- › Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine (EqC) par g de matière sèche (mg EqC/g MS).

Partie Expérimentale

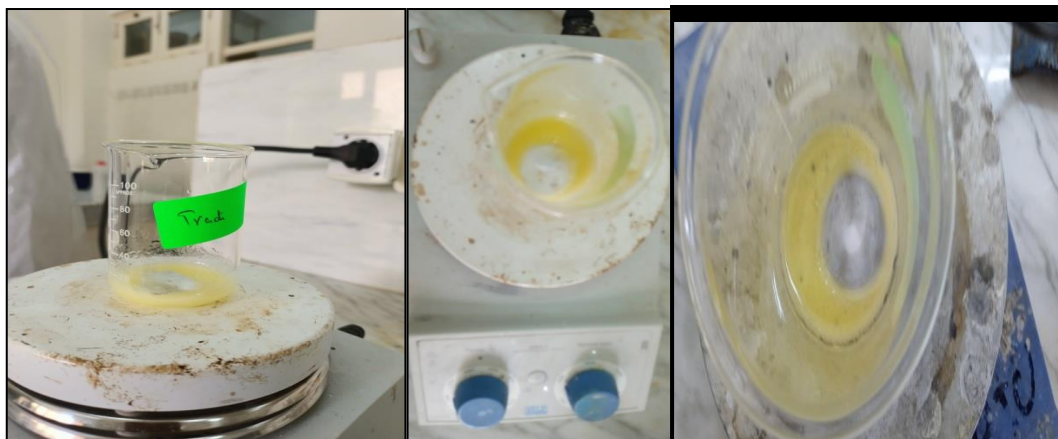


Figure 11 : les échantillons avec l'Homogénéisation.

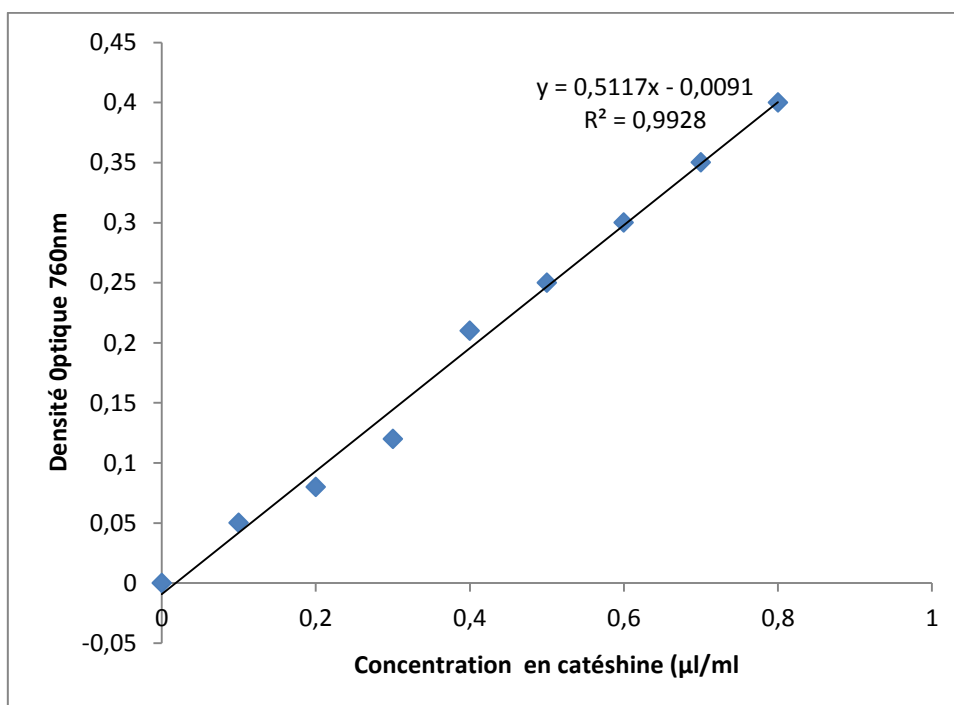


Figure 12 : Courbe d'étalonnage des tanins.

2.6 Etude de l'activité anti oxydante

2.6.1 Activité scavenger du radical DPPH

❖ Principe :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable, caractérisé par sa couleur violette. Ce radical possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, ce qui lui permet d'absorber à un maximum de 517 nm.

Partie Expérimentale

Lorsqu'il interagit avec un donneur de protons, tel qu'un antioxydant, ce radical est réduit, ce qui entraîne un changement de couleur de violet à jaune. Cette réduction et le changement de couleur associé peuvent être quantifiés par spectrométrie UV-Visible (**Chandra Shekhar et Goyal, 2014**).

❖ Matériels et réactifs utilisés :

Tableau 8: les matériels et les réactifs utilisés dans l'évaluation d'activité anti oxydants

Matériels	Réactifs
Spectrophotomètre Cuvette. Agitateur et barreau magnétique Bécher Micro –pipette tube Eppendorf.	méthanol DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'Activité antioxydant

❖ Mode opératoire :

L'effet piègeur ou le pouvoir anti radicalaire des huiles d'olive étudiées vis-à-vis du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par **Blois (1958)**.

Préparation de la solution de DPPH : On a préparé une solution de DPPH, en dissolvant 2mg de DPPH dans 100 ml de méthanol et on les laisse sous agitation pendant 15 mn, puis on filtre la solution et on la conserve dans un flacon opale.

Préparation des échantillons : On a préparé une solution mère des extraits de chaque échantillon. A partir de ces solutions mères, on prépare au moins quatre dilutions dans des solvants appropriés.

Partie Expérimentale

Mélange des échantillons et de la solution de DPPH : On ajoute un volume de 1000 µl de solution DPPH à 200 µl de chaque échantillon dans des tubes eppendorf. On a préparé trois répétitions pour chaque échantillon.

Incubation : les tubes Eppendorf sont incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 mn.

Mesure de l'absorbance : Après l'incubation, l'absorbance de chaque échantillon est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc (contrôle) contenant uniquement le DPPH sans échantillon.

Calcul de l'activité anti oxydante : Pour évaluer l'activité anti oxydante, on compare l'absorbance des échantillons avec celle du contrôle. Plus l'absorbance est faible, plus l'activité Anti oxydante est élevée, car cela indique une plus grande capacité des échantillons à neutraliser le radical libre DPPH.

Le pourcentage d'inhibition (I%) du radical DPPH est calculé par :

$$(\%) \text{ d'inhibition du DPPH} = (Ac - Ae / Ac).100$$

- Ac : Absorbance du contrôle.
- Ae : Absorbance de l'échantillon.

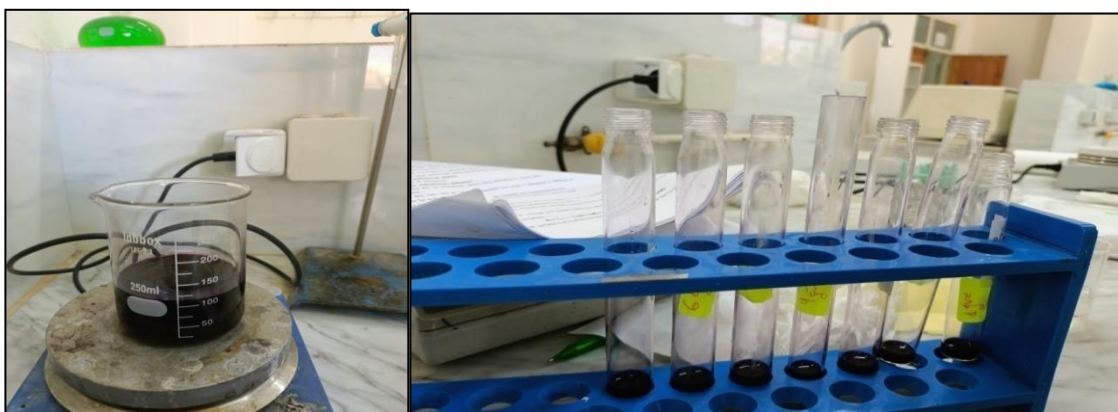


Figure13 : la solution de DPPH et les dilutions.

Troisième partie :

*Résultats et
discussion*

II. Résultats et Discussion

2.1. Les Caractérisation physico-chimique :

2.1.1. Résultats de l'indice d'acidité

Les résultats de la teneur en acidité libre contenus dans nos trois échantillons (1,2 et 3) respectives sont illustrés dans la figure 14.

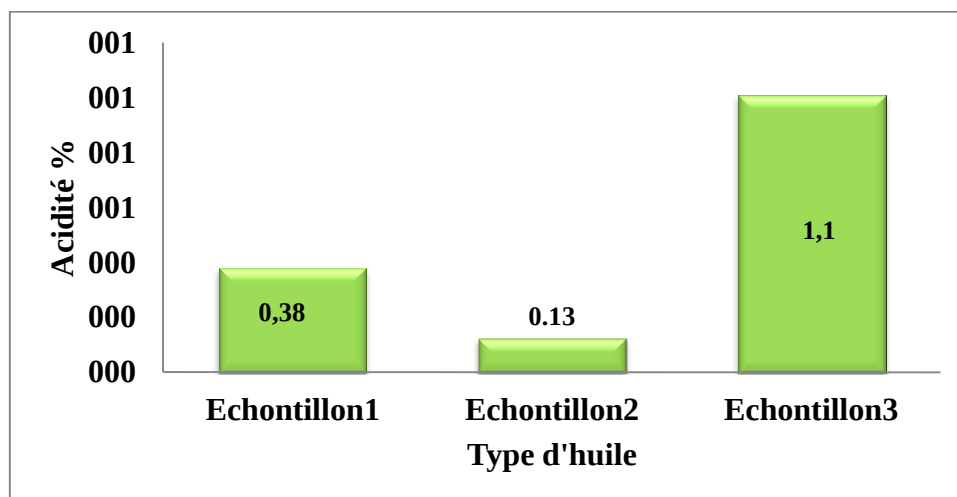


Figure 14 : Histogramme présentant La teneur en acidité Libre des échantillons étudiés.

La figure 14 montre le pourcentage des acides libres des trois échantillons d'huile d'olive enregistre des valeurs allant de **1,1 % l'échantillon 3**, suivi de L'échantillon 1 **0,38%**, et enfin L'échantillon 2 **0,13%** qui a le niveau d'acidité le plus bas. Les résultats obtenus sont tous conformes aux normes données par le Conseil Oléicole International (**COI, 2015**), ce qui signifie que ces huiles d'olive sont toutes les trois de bonne qualité. ce qui permet de classer l'échantillon 1 et 2 dans la catégorie des huiles d'olive extra vierge et l'échantillon 3 dans la catégorie des huiles d'olive vierge. ces résultats montrent que les huiles testées sont extraites des olives récoltées de vergers cultivés en respectant des bonnes pratiques culturales, une extraction appropriée des huiles et une conservation adéquate.

2.1.2 Résultats de L'Indice de saponification

La l'évaluation de cet indice est essentielle car elle permet de déterminer le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses, aux quels elle est inversement proportionnelle.

Résultats et discussion

En d'autres termes, plus le poids moléculaire moyen des acides gras est élevé, plus l'indice de saponification est faible (ISO : 3657 - 2002).

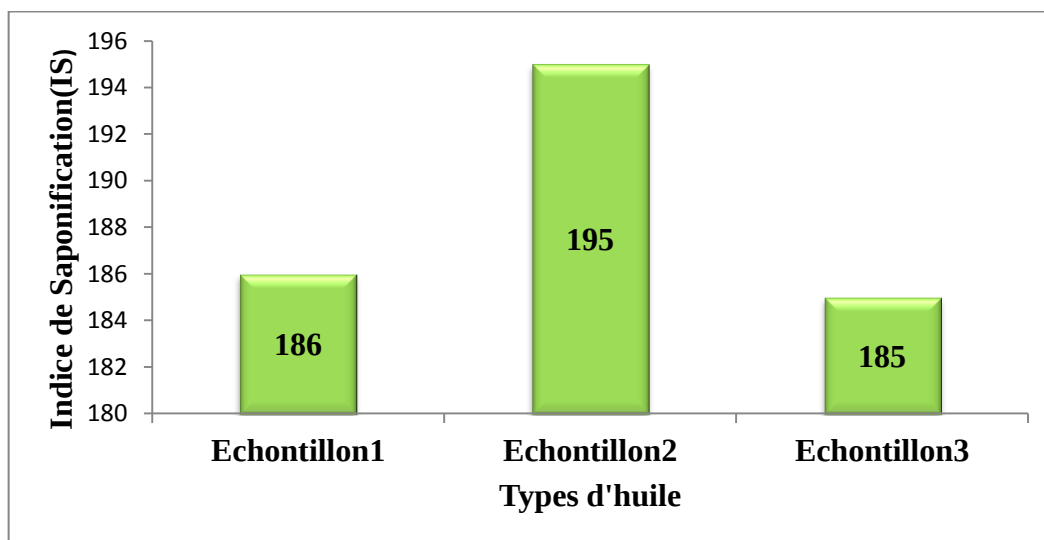


Figure 15 : Histogramme présentant la teneur en l'indice de saponification des échantillons étudiés.

Les résultats obtenus (fig. n°15), montrent que la différence de l'indice de saponification des trois échantillons étudiés n'est pas significative. Les valeurs de l'échantillon 1 (186 KOH/ g d'huile), Échantillon2 (195 mgKOH/ g d'huile) et celle de Échantillon3 (185mg KOH/ g d'huile) ; en effet ces valeurs sont conformes à celle de la norme de (CODEX ,2015), qui est fixée entre 185 et 196 mg KOH/ g d'huile. Cela montre également que notreÉchantillon2 est moins riche en acide gras à longue chaîne que les deux autres huiles, par contre les échantillons Echantillon1et Echantillon3 présentent un indice de saponification plus faible, ce qui s'est traduit par la richesse de ces huiles en acides gras à longues chaînes et leur pauvreté en acides gras à courtes chaînes.

2.1.3 Résultats de l'indice de peroxyde

La mesure de l'indice de peroxyde (IP) des trois échantillons d'huile d'olive, sont inférieurs à 20 meq O₂/kg ces valeurs indiquent une extraction rapide et un bon stockage, suggérant une bonne conservation et une faible probabilité d'oxydation prématurée (Association Française Interprofessionnelle de l'Olive (AFIDOL), 2014).

Résultats et discussion

En effet, le IP pourrait être retenu pour contrôler la qualité des huiles ; car il dépend des problèmes qui peuvent se produire après la récolte (modalité de transport et de conservation des fruits avant le broyage et pendant la transformation (**BRUNI U et al, 1994**). Le phénomène d'oxydation des acides gras aboutit à des modifications des propriétés organoleptiques, chimiques et nutritionnelles .Ces altérations affectent la qualité marchande du produit (**JUDDE A.2004**). Il faut noter que l'I.P augmente avec la maturité des olives, et surtout à la suite d'un choc thermique, consécutivement à un gel ou à un processus de fabrication défectueux. Le stockage inadapté ou prolongé, est également une des causes d'augmentation de ce paramètre.

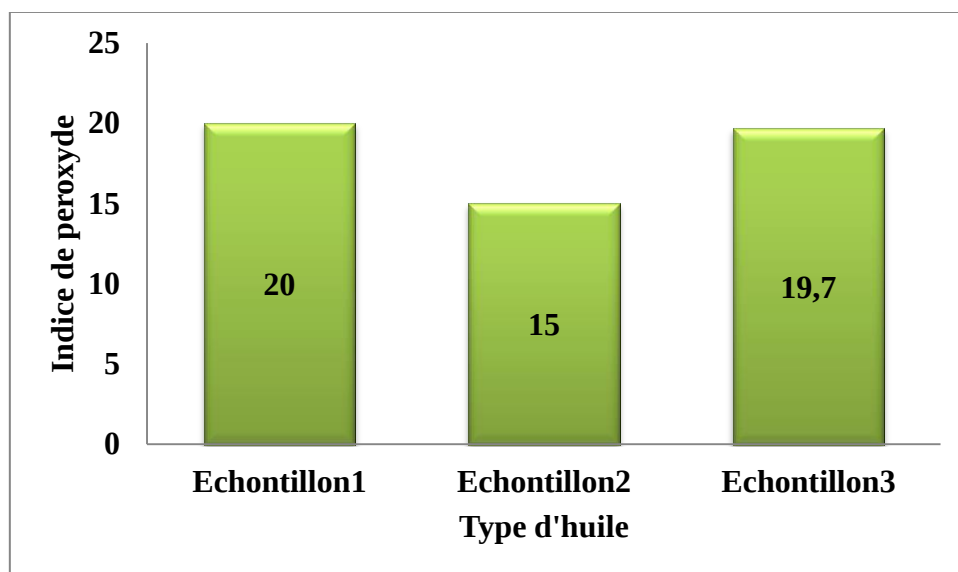


Figure 16 : Histogramme présentant la teneur en l'indice de peroxyde des échantillons étudiés.

A partir des résultats présentés (fig. n°16), On observe que l'indice de peroxyde (IP) de l'échantillon 01, estimé à 20meq O₂ /kg, semble plus élevé comparé aux restes des deux échantillons. Les valeurs d'IP ainsi rencontrées allant de 15meq O₂/kg pour l'huile de l'échantillon02 et à 19,7 meq O₂/kg pour l'huile de l'échantillon 03. Les résultats obtenus montrent que les valeurs obtenues répondent aux normes du (**COI, 2015**) qui recommande un indice de peroxyde inférieur ou égale à 20 meq d'O₂/kg .Ce qui indique que leurs acides gras ne sont pas oxydés.

Résultats et discussion

2.2 Résultats de teneur en pigments chlorophylliens

En raison de leur caractère antioxydant dans l'obscurité et pro oxydant dans la lumière, les chlorophylles jouaient un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile au cours de son et dans la préservation de sa qualité (Tanouti et al, 2011).

La photosensibilité de la chlorophylle peut entraîner une oxydation plus rapide sous l'exposition à la lumière, affectant négativement la qualité de l'huile. Par conséquent, il est crucial de stocker l'huile d'olive dans des contenants opaques ou dans l'obscurité pour préserver sa qualité (Aparicio R et al, 2013).

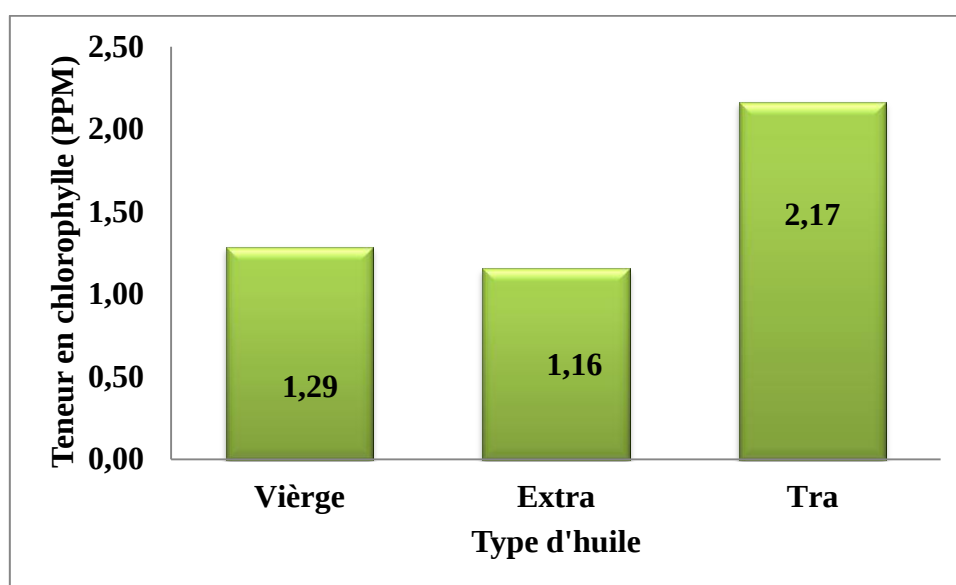


Figure17 : Histogramme présentant le Teneurs en chlorophylle des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés.

Les teneurs obtenues pour les pigments des échantillons étudiés exprimées en ppm sont représentées sur la figure n°17 et montrent que les trois échantillons étudiés ont des teneurs en chlorophylle inférieures à 3 ppm avec une teneur maximale enregistrée par l'échantillon 3 avec 2,17 ppm, suivi par l'échantillon 1 avec une valeur 1,29 ppm, et le dernier est l'échantillon 2 avec 1,16Ppm. les résultats de teneur en pigments chlorophylliens de nos échantillons sont très faibles en se référant aux résultats rapportés par l'équipe de (Benrachou, 2013) et qui ont trouvé des teneurs en chlorophylles variant de 10,03 à 13,53 ppm de trois huiles issues de trois variétés d'oliviers (limli, bouricha et Blanquette) de l'est algérien (Jijel, Bejaia, Guelma).

Résultats et discussion

En effet, une teneur élevée indique une possible contamination des olives par les feuilles (**Ben Tekeya et Hassouna, 2007**).

En revanche, nos résultats sont similaires à ceux des travaux de (**Ben Tekeya et Hassouna, 2007**) sur des huiles d'olive vierges extra de la variété (Chétoui) tunisienne et qui ont montré que les teneurs en chlorophylles de ces variétés d'huile d'olive sont de 1,6 et 4,87 ppm.

2.3 Résultat de dosage des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques dans les huiles sont des substances chimiques naturelles présentes principalement dans les huiles végétales. Ils peuvent agir comme antioxydants en aidant le corps à renforcer son système de défense contre les anomalies liées au stress oxydatif telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et le processus inflammatoire (**Rojas et al, 2005**). Les résultats de dosage des teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des huiles d'olives analysées exprimée en microgramme EAG/g sont représentés dans la figure 26.

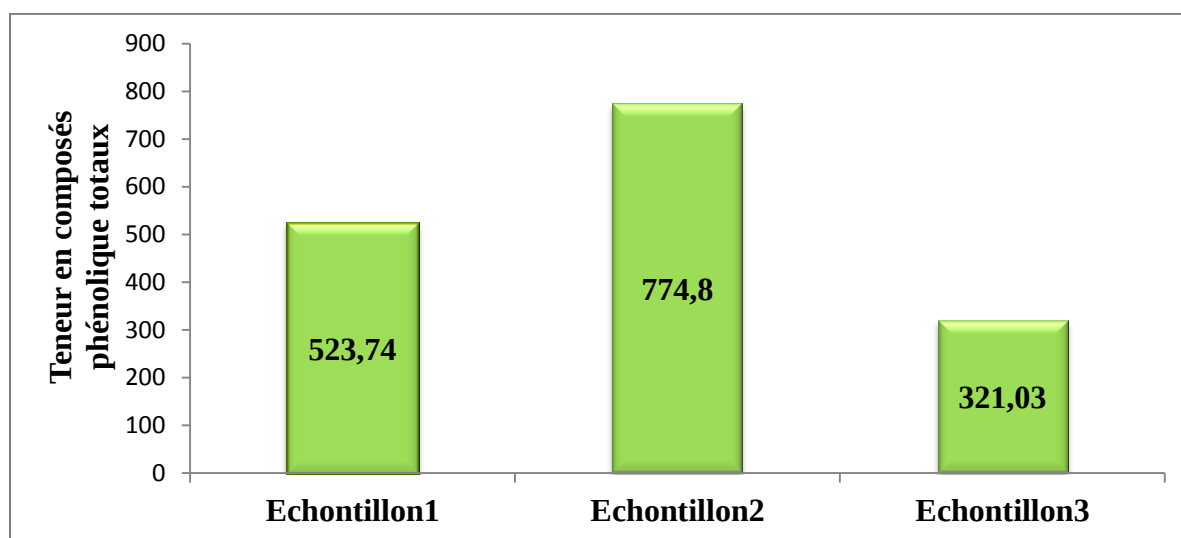


Figure18 : Histogramme présentant le Teneurs en polyphénols des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés.

D'après les résultats illustrés par figure. n°18, on remarque que l'échantillon Echantillon 2 renferme 774,8 mg GAE/ kg d'huile, alors que l'échantillon3 a enregistré une teneur en polyphénols de 321,03 mg GAE/ kg d'huile l'échantillon 1, estimée à 523, mg GAE/ kg d'huile.

Résultats et discussion

Les résultats des analyses montrent une quantité importante de composés phénoliques dans les huiles d'olive étudiées et nous constatons que les teneurs en polyphénols, pour les échantillons étudiés, répondent à la norme, alors l'échantillon 1 et 2 ils ont une meilleure activité anti oxydante. Ces résultats sont en accord avec Les résultats de **(Ait salah et Taibi, 2006)** présentent des teneurs en polyphénols variant de 182,69 à 819,85 mg GAE/ kg d'huile.. En effet, divers facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques dans huile Olive, notamment la maturation des olives, les variations saisonnières, les conditions environnementales, la diversité intra-variétale des oliviers et la méthode d'extraction utilisée.**(Ranalli et al, 1999)**.

De plus, la présence de feuilles lors du broyage des olives peut augmenter la concentration en composés phénoliques **(Boudhioua et al, 2008)**. Ces variations peuvent être considérées comme des marqueurs de terroir, influençant le classement des huiles en produits d'Indication Géographique Protégée (IGP) **(Tanouti et al, 2011)**.

2.4 Résultats de Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes dans les huiles d'olive est un indicateur important de leur qualité et de leurs propriétés anti oxydantes .Les résultats de dosage des flavonoïdes sont représentés dans la figure19.

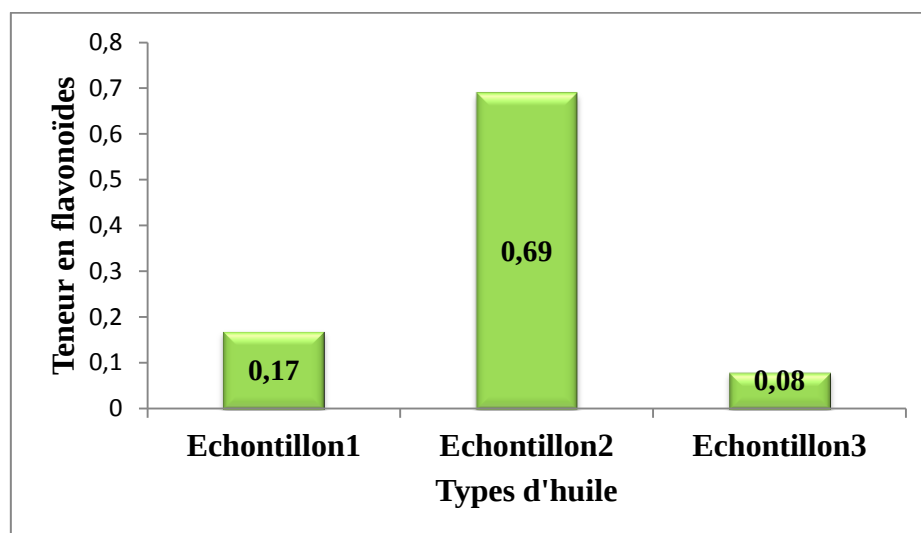


Figure19 : Histogramme présentant le Teneurs en flavonoïdes des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés.

Résultats et discussion

Les résultats de dosage des flavonoïdes pour les trois échantillons d'huile d'olive sont présentés dans la (fig. n°19), On observe que L'échantillon 02 affiche la concentration la plus élevée 0.69 mg E.Q/Kg, suivi de près par l'échantillon 01 0.17mg E.Q/Kg, tandis que l'échantillon 03 présente la concentration la plus basse 0.08 mg E.Q/Kg, alors l'échantillon 1 et 2 ont une meilleure activité anti oxydante.

Cette variation peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que le degré de maturité des olives, la variété d'olive utilisée, les pratiques agronomiques, les conditions environnementales et les méthodes de traitement et d'extraction de l'huile. Bien que des normes spécifiques ne soient pas disponibles, des études scientifiques suggèrent que des niveaux plus élevés de flavonoïdes dans l'huile d'olive peuvent être associés à une meilleure qualité et à des propriétés antioxydantes accrues.

Des recherches menées par **(Visioli et al,2002)** ont montré que les flavonoïdes présents dans l'huile d'olive extra vierge qui peuvent aider à réduire le risque de maladies cardiovasculaires en protégeant les vaisseaux sanguins et en améliorant la fonction endothéliale et des études de **(Boskou et al, 2006)** ont souligné le rôle des flavonoïdes comme des antioxydants, neutralisant les radicaux libres et réduisant ainsi les dommages cellulaires causés par le stress oxydatif et les maladies chroniques.

2.5 Résultats de Teneur en tanins condensés

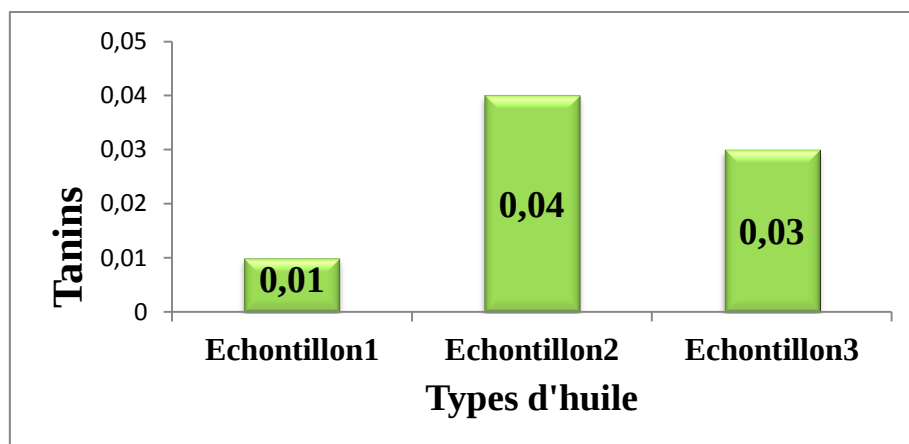


Figure20 : Histogramme présentant le Teneurs en tanins condensés mg/g des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés.

D'après ces résultats obtenus (fig. n°20), nous avons constaté que La teneur en tanins la plus élevée est enregistrée avec l'échantillon 2 de 0,04 mg/g, ensuite l'échantillon 3 0,03 mg/g,

Résultats et discussion

alors que l'échantillon 1a le taux le plus faible en tanins estimé à 0,01 mg/g, alors l'échantillon 2 suggère une capacité anti oxydante accrue.

Des études montrent des variations significatives dans les concentrations de tanins en fonction des variétés d'olives, des méthodes de culture et des processus de production. Par exemple, **(Visioli et al, 2002)** indiquent que les huiles d'olive de haute qualité contiennent des niveaux élevés de divers polyphénols.

Selon **(José et ses collaborateurs 2008)**, Plusieurs facteurs, tels que le stockage et la cuisson, peuvent influencer la teneur en pro-anthocyanidines (tanins condensés) dans les aliments. Cependant, De nombreuses observations suggèrent que les tanins présentent un large choix de propriétés pharmaceutiques, thérapeutiques et chimio protectrices en raison de leur caractéristique anti oxydative **(Tohge et al, 2005)**.

2.6 Etude de l'activité anti oxydante

2.6.1 Résultats de l'activité scavenger du radical DPPH

Le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est utilisé pour évaluer l'activité anti oxydante des extraits de plantes et des composés naturels. Le DPPH est un radical libre stable de couleur violette. Lorsqu'il est exposé à des antioxydants, il est réduit à une forme non-radicalaire et sa couleur violette disparaît.

L'activité anti oxydante est déterminée en utilisant le pourcentage d'inhibition de la réduction du DPPH. Rappelons que le pourcentage d'inhibition est proportionnellement lié à l'activité anti oxydante c'est-à-dire que plus le pourcentage d'inhibition n'est élevé, plus l'activité anti oxydante de l'échantillon testé n'est élevée. Le calcul de cet indice consiste à comparer l'absorbance de la solution de DPPH après incubation avec l'échantillon testé à celle de la solution de contrôle qui ne contient pas d'échantillon testé.

.

Résultats et discussion

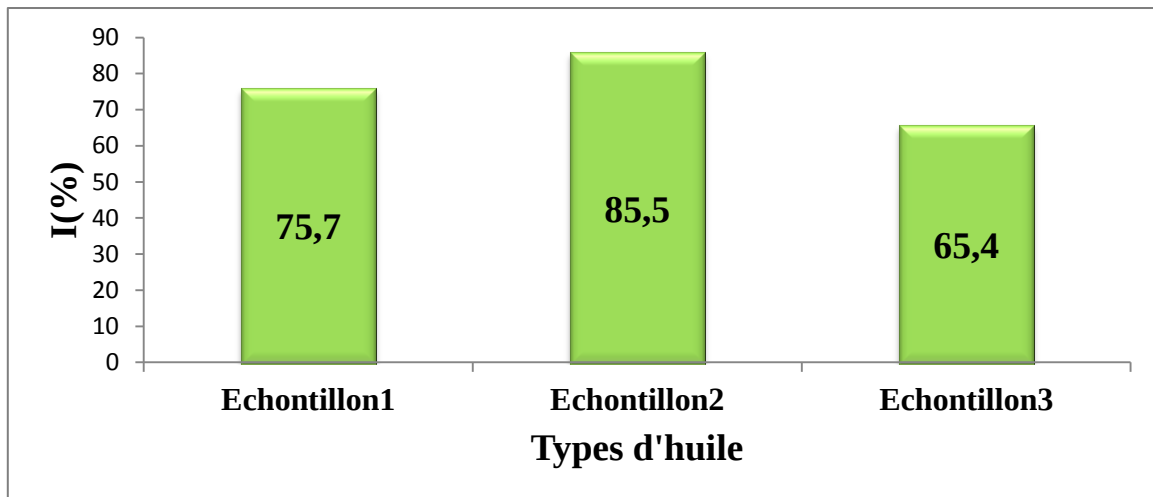


Figure 21 : pourcentage d'inhibition radical DPPH des échantillons d'huiles d'olive étudiés.

Il est constaté de la (fig. n°21) montre que l'huile d'olive de l'échantillon 1 et 2 qu'on a classé comme étant extra vierge selon ses propriétés physicochimique enregistre le pourcentage d'inhibition le plus élevé, indiquant une activité anti oxydante plus élevée de 85,5%, 75,5% et l'échantillon d'huile d'olive classé comme vierge avec un taux d'inhibition de 65,4%.

En réalité nos échantillon ont tout les trois un effet antioxydant important et confirment ceux des travaux de **(Owen et al. 2000)** qui ont montré que les huiles d'olive extra vierges ont une activité anti oxydante plus élevée grâce à des composés comme l'hydroxytyrosol et le tyrosol. Ils ont rapporté des pourcentages d'inhibition du DPPH souvent supérieurs à 80%, De même **(Servili et al, 1999)** ont trouvé que les huiles d'olive vierges et extra vierges présentaient des activités antioxydantes élevées, avec des pourcentages d'inhibition du DPPH allant de 70 à 85% pour les huiles d'olive extra vierges et de 60 à 75% pour les huiles d'olive vierges.

Nos résultats sont aussi identiques à ceux de **(Velasco et Dobarganes, 2002)** ont également indiqué que la méthode de production influence la stabilité oxydative et l'activité anti oxydante des huiles d'olive. Les huiles d'olive extra vierges, produites par des méthodes mécaniques à basse température, conservent une plus grande quantité de composés antioxydants, avec des pourcentages d'inhibition du DPPH souvent supérieurs à 80%. Ces résultats mettent en évidence l'importance des méthodes de production et des conditions de stockage pour préserver les propriétés anti oxydantes des huiles d'olive.

Résultats et discussion

Bien que l'huile d'olive extra vierge soit souvent considérée comme la meilleure en terme d'activité anti oxydante, l'huile d'olive vierge peut également offrir des avantages pour la santé en tant qu'alternative viable. En revanche, Ces résultats soulignent l'importance de choisir judicieusement le type d'huile d'olive en fonction de ses objectifs de santé et de bien-être.

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les paramètres physico-chimiques et l'activité anti oxydante de trois échantillons d'huiles d'olive qu'on a nommé : échantillon 1 ; échantillon 2 et échantillon 3.

Dans premier temps, nous avons commencé par analyse les caractéristiques physico-chimiques telles que l'acidité, l'indice de peroxyde, l'indice de saponification, ainsi que la teneur en pigments chlorophylliens, composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés. À travers la détermination de ces paramètres, on a pu déterminer les différences de qualité entre les trois échantillons d'huiles étudiées on les a classés les échantillons 1 et 2 en huile d'olive extra vierge, et l'échantillon 3 en huile d'olive vierge.

Dans un second temps plus, nous avons évalué l'activité anti oxydante de chaque huile en utilisant le test au DPPH pour mesurer leur capacité à neutraliser les radicaux libres et le pourcentage d'inhibition du DPPH par les trois échantillons d'huiles déjà caractérisées et classées selon les normes du C.O.I.

À travers la seconde partie de notre travail on a pu conclure que les trois échantillons étudiés ont eu un effet antioxydant mais avec des différences selon le type d'huile l'huile d'olive extra vierge dépasse l'huile d'olive vierge par 10%. Donc on peut dire que les propriétés anti oxydantes de l'huile d'olive sont liées à son type et ses propriétés physicochimiques. Ce qui a été prouvé par d'autres études qui ont montré que la teneur en polyphénols, ainsi que d'autres paramètres physico-chimiques tels que l'acidité et l'indice de peroxyde, peuvent servir de marqueurs de qualité pour les huiles d'olive. Et qu'il y a une corrélation positive entre la teneur en polyphénols et l'activité anti oxydante des huiles d'olive vierges, mettant en évidence l'importance de ces composés dans la détermination de leur potentiel protecteur contre le stress oxydatif.

En conclusion, les résultats de cette étude physico-chimique et de l'activité anti-oxydante montre que les trois échantillons des huiles caractérisées comme extra vierge et vierge sont riches en principes actifs qui ont des effets bénéfiques sur la santé tels que : activité anti-oxydante, anti-tumorales et prévention contre les maladies cardiovasculaires. En effet, il a été démontré que l'huile d'olive est une source prometteuse pour contribuer à d'autres propriétés biologiques potentielles dans les domaines biomédicaux, en particulier en tant qu'agents antibactériens et anticancéreux naturels.

Références

Bibliographiques

Références et bibliographie

« A »

- ❖ **AFNOR. 1978.** Recueil des Normes françaises des corps gras. Graines Oléagineuses produits dérivés. Ed. Paris.
- ❖ **AIT SALAH S. TAIBI A. 2006.** Extraction et dosage des composés phénoliques de quelques variétés d'huile d'olive algériennes. (Université Abderrahmane MIRA de Bejaia).pp 35.
- ❖ **Apak R. Güçlü K. Demirata B. Özyürek M. EsinÇelik S. Bektaşoğlu B. Berker K I. et Özyurt D.2007.** Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. Review Molecules .1496-1547.
- ❖ **Aparicio R. et Harwood J. 2013.** Hand book of Olive Oil: Analysis and Properties. 2^{ème} édition. New York: Springer Science and Business Media. 772p.
- ❖ **Association Française Interprofessionnelle de l'Olive (AFIDOL). 2014.** Qualité de l'huile d'olive. Paris, France. AFIDOL.

« B »

- ❖ **Bahorun T. Gressier B. Trotin F. Brunet C. Dine T. Vasseur J. Cazin M. Pinkas M et Cazin J C. 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. **Arzneimittel-Forschung.** 46(11), 1086-1089.
- ❖ **Baccouri O. Guerfel M. Baccouri B. Cerretani L. Bendini A. Lercker G. Zarrouk M. et Daoud Ben Miled, D. 2006.** Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. Food Chemistry, 94(2), 234-242.
- ❖ **Benaziza I. Gourine N. Kara N. et Yousfi M. 2016.** Carotenoids content in different local food products from Algerian market: Evaluation of their antioxidant activities. Food Chemistry, 208, 35-42.
- ❖ **BENABID H. 2009.** Caractérisation de l'huile d'olive algérienne Apports des méthodes chimio métriques. Institut Nutrition d'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires, Inataa.
- ❖ **BENRACHOU N. 2013.** Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba .Algérie.
- ❖ **BENTEKAYA I. HASSOUNA M. 2007.** Effets des chlorophylles, du bêta-carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne. 14 (1) : 60-67.

Références et bibliographie

- ❖ **Bereau D. 2001.** Huiles et fractions insaponifiables de huit espèces de palmiers amazoniens. Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.154p.
- ❖ **Biaye M. 2002.** Actions pharmacologiques des tanins. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université cheikh Anta Diop de DAKAR. Sénégal.
- ❖ **Blekas G. Vassilakis C. Harizanis C. Tsimidou M. et Boskou D G. 2002.**Biophenols in table olives. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 3688-3692.
- ❖ **Blois M S. 1958.** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature.181(4617), 1199-1200.
- ❖ **Bonnefont-Rousselot D. Thérond P.et Delattre J.2003.** Radicaux libres et antioxydants. Biochimie Pathologique. Aspects Moléculaires et Cellulaires. Flammarion, Paris. p317.
- ❖ **Boskou .Dimitrios. 1996.** Olive Oil : Chemistry and Technology. Journal of Olea europaea Insights.296 pages.
- ❖ **Boskou D. 2000.** Olive Oil In World .Review of Nutrition and Dietetics.56–77.
- ❖ **Boskou, D. 2006.** Sources of natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science & Technology, 17(9), 505-512.
- ❖ **Boskou D. Blekas G et Tsimidou M. 2006.** Olive oil composition. In Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. (pp. 61-76).
- ❖ **Boskou D. 2015.** Olive and Olive Oil Bioactive Constituents. AOCS Press.
- ❖ **BOUDHIOUA N. BENSLIMEN I. BAHMOUM N. KECHAOU N. 2008.** Etude du séchage par infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne. Revue des Energies Renouvelables SMSTS. Alger. pp 111–116.
- ❖ **BOULFANE S. MAATA N. ANOUAR A. HILALI S. 2015.** « Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc ». Journal of Applied Biosciences. 87 (1) : 8022–8029.
- ❖ **BRUNI U.CORTESI N R. FIORINO P. 1994.** Influence des techniques agronomiques, des cultivars et des zones d'origine sur les caractères de l'huile d'olive vie.
- ❖ **Bubonja-Sonje M. Giacometti J. & Abram M. 2011.** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. Food Chemistry. 127(4), 1821-1827.

« C »

- ❖ **Calabrese E J. 2002.** Paradoxical dose-response in toxicology. Human & Experimental Toxicology, 21(2), 91-97.
- ❖ **Cinquanta L. Esti M. & La Notte E. 2001.** Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage.Journal of the American Oil Chemists' Society.78(12), 1197-1202.

Références et bibliographie

- ❖ **COI : Conseil oléicole International. 2001.** Préparation des esters méthyliques d'acides gras de l'huile d'olive et de l'huile de grignons d'olive. /T.20/Doc N° 24.
- ❖ **COI : Conseil Oléicole International. 2011.** Normes commerciales applicables aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. T.15/NC n° 3, /Rév 6.
- ❖ **COI : Conseil Oléicole International .2019.** Norme commerciale applicable aux huiles D'olive et aux huiles de grignons d'olive.
- ❖ **CODEX ALIMENTARIUS. 1981.** Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév1989,2003 , 2015).
- ❖ **CNUCED : Conference Des Nations Unies sur Le Commerce et Le Developpement. 2005.** Accord international de 2005 sur l'huile d'olive et les olives de table. Nations Unies TD/OLIVE.OIL.10/6.
- ❖ **Chang C. Yang M. Wen H. et Chern J. 2002.** Estimation of total flavonoid Chromatography. 1054: 113-127 .
- ❖ **Chandra Shekhar H. et Goyal S. 2014.** Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of Ageratum conyzoides Linn. American Journal of Ethnomedicine, 1(4), 244-249.
- ❖ **C.O.I. : Conseil Oléicole International .2015.** Commercial applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive/ T.15/NC n 3/ Rév. 8 Février 2015.

« D »

- ❖ **Delcharlerie M. Dupont. Lefevre S. et Martin P.2008.** Determination of Peroxide Value in Fats and Oils Using Iodometric Titration. Journal of Food Chemistry. 100(2), 456-462.
- ❖ **Denisov E T. et Afanas'ev I B. 2004.** Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. Boca Raton, FL: CRC Press.
- ❖ **Dupont J. Martin P. Lefevre S et Dubois A. 2010.** Quantification of Chlorophyll in Oils Using Spectrophotometry at 670 nm. Journal of Food Analysis. 45(5), 678-685.

« E »

- ❖ **Essiari M. Zouhairr Etchimi H. 2014.** Contribution A L'étude De La Typicité Des Huiles D'olive Vierges Produites Dans La Région De Sais (Maroc). Journal Officiel Du Conseil Oléicole International, N° 119.
- ❖ **Estruch R. Ros E. Salas-Salvadó J. Covas M I.. Corella D. Arós F& Martínez-González M A. 2013.** Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. New England Journal of Medicine, 368(14), 1279-1290.

Références et bibliographie

« F »

- ❖ **Favier A. 2003.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*. 108-1.
- ❖ **Favier A. 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 64(6), 390-396.

« G »

- ❖ **Gandul-Rojas B. and Minguez-Mosquera I. 1996.** Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of Science and Food Agriculture*. 72 31-39.
- ❖ **GARCIA A. BRENES M. GARCIA P. ROMERO C. GARRIDO A. 2003.** Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*. 216 (6) :520–525.
- ❖ **Garcia-Gonzalez D L, et Aparicio R. 2010.** Olive Oil Extraction and Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(21), 11243-11252.
- ❖ **Gavrilovic M. Kovacevic D. et Mitrovic S. 1996.** Acid number determination of fats and oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(9), 1231-1235.
- ❖ **Gimeno E. Castellote A I. Lamuela-Raventos R M. De la Torre M C et Lopez- Sabater M C. 2002.** The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, a-tocopherol, and b-carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78: 207–211.

« H »

- ❖ **Halliwell B. 1995.** Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. *The Lancet*. 344(8924), 721-724.
- ❖ **Hammadi C. 2006.** Technologie d'extraction d'huile d'olive et gestion de sa qualité. *Transfert de technologie en agriculture*. 4.
- ❖ **Hopkins W. 2003.** *Physiologie végétale*. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris, 514 p.
- ❖ **HURABIELLE M et PARIS. 1981.** « abrégé de matières médicale (pharmacognosie) ». Faculté de pharmacie chatenay- malabry. Ed MASSON. France. 243p.

« I »

- ❖ **Iserin P. Masson M. Restellini J P. Ybert E. De laage de meus A. Moulard F. Zha E. De la roque R. De la roque O .Vican P. Delesalle -feat T. Biaujeaud M. Ringuet J. Bloth J**

Références et bibliographie

et Botrel A.2001. Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de Vuief. Hong Kong.335p.

- ❖ **ISO 3657 : Organisation internationale de normalisation (ISO), 2002.**Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice de saponification. Genève, Suisse.

« J »

- ❖ **Jacotot B. 1993.** L'huile d'olive de la gastronomie à la santé. Artulen. Paris. P 280 (15).
- ❖ **José A. Garcia-Mesa N. Pereira-Caro G .Fernandez-Hernandez A.Civantos C G O et Manteos R. 2008.**Influence of lipid matrix in the bitterness perception of vergin olive oil. Food Qualité and Preference.19, 421-430.
- ❖ **JUDDE A.2004.** Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique mécanisme, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelle application OCL- Vol. 11, n° 6, p : 414-418rge et les niveaux de certains de ses composants mineurs. Olivæ. 53, 28 – 34.
- ❖ **Julkunen-Titto R. 1985.** Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural and Food Chemistry.33(2), 213-217.
- ❖ **Jungbluth. 2008.** Les espèces réactives de l'oxygène et leur principale implication dans la physiologie canine. Thèse de Doctorat de médecine vétérinaire. L'École Nationale Vétérinaire de Lyon. France.

« K »

- ❖ **Kähkönen M P. Hopia A I. Vuorela H J. Rauha J P. Pihlaja K. Kujala T S. et Heinonen M. 1999.** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 47(10), 3954-3962.
- ❖ **Kaiser S. Di Mascio P. Murphy M E. et Sies H.1990.** Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols. Archives of Biochemistry and Biophysics. 277(1), 101-108.
- ❖ **Khati L. and Tadjenant D.2016.** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques d'Urticadioica L. Thèse de Doctorat Université Mouloud Mammeri. Algérie. 115p.
- ❖ **Khanbabaee K and van Ree T.2001.** Tannins: classification and definition. Nat. Prod. Rep. 18(6): p. 641-649.
- ❖ **Kiritsakis A. 1998.** Olive Oil : From the Tree to the Table. Food & Nutrition Press. 276p.

Références et bibliographie

- ❖ **Koechlin-Ramonatxo C.2006.**Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme. 20(4), 165-177.
- ❖ **Krichene D. Allalout A. Mancebo-Campos V. Salvador M D.et Fregapane G. 2010.** Stability of Virgin Olive Oil and Behavior of Its Natural Antioxidants Under Medium Temperature Accelerated Storage Conditions. Food Chemistry. 121(1), 171-177.

« L »

- ❖ **Leopoldini M. Russo N.et Toscano M. 2011.** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants . Food Chemistry. 125(2), 288-306.
- ❖ **Levent T. 2011.** Chlorophylls: Structural properties, health benefits and safety. Journal of Food Science and Technology, 48(5), 545-552
- ❖ **Li H B. Cheng K W.Wong C C . Fan K W. Chen F et Jiang Y. 2007.** Determination of total phenolic content and other oxidation substrates in tea by high-performance liquid chromatography. Food Chemistry. 101(4), 1403-1411.
- ❖ **LUACES P. PEREZ A. SANCHEZ C. 2003.** Role of olive seed in the biogenesis of
- ❖ virgin olive oil aroma. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 4741-4745.

« M »

- ❖ **Marie-Claude Martini. Monique Seiller Coordonnatrices.2016.** Actifs et additifs en cosmétologie. Éditions Tec & Doc ISBN : 2-7430-0191-7 .France .p.337 à 352.
- ❖ **Mika A. Minibayeva F. Beckett R.et Lühthje S.2004.** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. Phytochemistry Reviews. 3(1-2), 173-193.
- ❖ **Minguez-Mosquera M I. Gandul-Rojas B et Gallardo-Guerrero L. 1991.** Rapid method of quantification of chlorophylls and carotenoids in virgin olive oil by high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39(10), 1789-1791.
- ❖ **Moure A. Cruz JM. Franco D. Dom nguez J M. Sineiro J. Dom nguez H. et Parajó J C. 2001.** Natural antioxidants from residual sources. Food chemistry. 72(2), 145-171.

« N »

- ❖ **NORME AFNOR. (1978).** Recueil des Normes françaises des corps gras. Graines Oléagineuses produits dérivés. Ed. Paris.
- ❖ **NORME AFNOR. (1984).** Corps gras–graines oléagineuses -produits dérivés ,4^{ème} édition, Paris, p 459.

Références et bibliographie

- ❖ **Norme AFNOR. (1985).** Produits dérivés des huiles grasses - Détermination de l'indice d'acide. NF T 60-204. Paris: Association Française de Normalisation.

« O »

- ❖ **OCAKOGLU D. 2008.** Classification of Turkish virgin olive oils based on their phenolic profiles. Thesis, Master of Science in food engineering and science – Izmir institute of technology .Turkish.
- ❖ **Ollivier D. Boubault E. Pinatel C. Souillol S. Guérère M. et Artaud J. 2004.** Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. In Annal Expert Forum Chيمي Toxicol. 965. 169-196.
- ❖ **Owen R W. Mier W. Giacosa A. Hull W E. Spiegelhalder B. Bartsch H. et Olives C. 2019.** Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. Journal of Chromatography A. 881(1-2), 93-100.
- ❖ **Owen R W. Giacosa A. Hull W E. Haubner R. Wurtele G. Spiegelhalder B et Barts H. 2000.** Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. The Lancet Oncology, 1(2), 107-112.

« P »

- ❖ **Paris M. et Hurabielle A. 1981.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Masson. Paris.
- ❖ **Perrin J L. 1992.** Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. Revue française des corps gras, 39(1-2), 25-32.
- ❖ **Piquet M A. et Hébuterne X. 2007.** Nutrition en pathologie digestive. Doin .France. 16-20.
- ❖ **Poyet B et Ollivier V. 2014.** Réglementation sur l'étiquetage et la présentation des huiles d'olives. Oilseeds & fats Corps and lipids. (7) .5p
- ❖ **Price M L. Van Scoyoc S et Butler L G. 1978.** A Critical Evaluation of the Vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 26(5), 1214-1218.
- ❖ **Psomiadou E et Tsimidou M. 2002.** Stability of virgin olive oil. Autoxidation studies. Agricultural and Food Chemistry. 50, 716-721.

« R »

- ❖ **Ranalli A. et Angerosa F. 1996.** Influence of Virgin Olive Oil Processing on Phytosterol Content. Journal of the American Oil Chemists' Society, 73(4), 507-514.

Références et bibliographie

- ❖ **RANALLI A. FERRANTE M. DE MATTIA G. COSTANTINI N. 1999.** Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(2), 417-424.
- ❖ **Ranalli A. Malfatti A. Lucera L. Contento S. Sotiriou E. Morrone R. et Iannucci E. 2001.** Effect of extraction methods on the quality of olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78(7), 623-629.
- ❖ **Retsky K L. Chen K. Zeind J. Et Frei B. 1999.** Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(1-2), 90-98.
- ❖ **Ribéreau-Gayon P. 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- ❖ **Ryan D. Robardas K and Lavee S. 1998.** Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72 26-38.

« S »

- ❖ **Sagratini G. Caprioli G. Ballini R. Cosci F. Fiorini D. Maggi F et Papa F. 2012.** Comparative analysis of phenolic compounds in olive oil and its by-products: Antioxidant activity by chemical and cell-based assays. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 223-229.
- ❖ **Schroeter H. Boyd C. Spencer J P. Williams R J. Cadenas E. et Rice-Evans C. 2002.** MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of aging*. 23(5), 861-880.
- ❖ **Seguro-Carretero A. Menéndez J. Fernández-Gutiérrez A et Martínez-Férez A. 2010.** Comprehensive analysis of virgin olive oil phenolic compounds : Influence of the degree of ripeness on the profile of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 334-341.
- ❖ **Servili M. Selvaggini R. Esposto S. Taticchi A. Montedoro GF. et Morozzi G. 2004.** Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and
- ❖ technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of*
- ❖ *Chromatography*, 1054: 113-127.
- ❖ **Servili M. Sordini B., Esposto S. Urbani S. Veneziani G. Di Maio I. Taticchi A. 2014.** Biological activities of phenolic compound of extra virgin olive oil. *Antioxidants*. 3(1), 1-23.
- ❖ **Servili M. Baldioli M. Selvaggini R. Macchioni A et Montedoro G F. 1999.** Phenolic compounds of olive fruit: one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance characterization of nüzhenide and its distribution in the constitutive parts of fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 12-18.

Références et bibliographie

- ❖ **Shahidi F et Ambigaipalan P. 2018.** Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18(Part B), 820-897.
- ❖ **Sies H. 2015.** Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180-183.
- ❖ **Smith J. et Wood R. 1995.** Determination of the Saponification Value of Fats and Oils. *Journal of Analytical Chemistry*. 72(3), 456-462.

« T »

- ❖ **Talhaoui N. Gómez-Caravaca A M. León L. De la Rosa R. Fernández-Gutiérrez A. et Segura-Carretero A. 2016.** From olive fruits to olive oil: phenolic compound transfer in six different olive cultivars grown under the same agronomical conditions. *International journal of molecular sciences*. 17(3).33.
- ❖ **Tanouti K. Elamrani A. Serghini-Caid H. Khalid A. Bahtta Y. Benali A. Harkous M. et Khia M. 2010.** Caractérisation de l'huile d'olive produite dans des coopératives pilote (lakrama et kenine) au niveau du Maroc oriental. *Les technologies de laboratoire*. 5(18) : 18 ; 26.
- ❖ **Tanouti K. Serghini caid H. Abid M. Mihamou A. Khia M. Hachem M. Bahetta Y. Elamrani A. 2011.** Amélioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le Maroc oriental. *Les technologies de laboratoire*. 6 (22) : 1-12.
- ❖ **Tohge T et Watanabe M. 2005.** Biochemical approaches to the study of medicinally relevant plant specialized metabolites. *Plant and Cell Physiology*, 46(4), 509-516.
- ❖ **Trichopoulou A. Lagiou P. 1997.** Healthy traditional Mediterranean diet : an expression of culture, history, and lifestyle. *Nutrition reviews*. 55 : 383-389.
- ❖ **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(1) 98-112.
- ❖ **Tsimidou M Z & Boskou D. 2019.** Olive Oil: Minor Constituents and Health .CRC Press.

« V »

- ❖ **Valko M. Rhodes C J. Moncol J. Izakovic M. et Mazur M. 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* .160, 1-40.
- ❖ **Veillet S. 2010.** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. *Science des procédés, sciences des aliments*. 306. 28-35.

Références et bibliographie

- ❖ **Veillet, S., Tomao, V., & Chemat, F. (2010).** Ultrasound assisted maceration : An original Procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chem*, 123(3), 905- 911.
- ❖ **Velasco J et Dobarganes C. 2002.** Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 661-676.
- ❖ **Vinha A F. Ferreres F. Silva B M. Valentao P. alves A G. Pereira J A. Oliveira M B. Seabra R M et Andrade P B. 2005.** phenolic profiles of Portuguese olive fruits (Olea virgin olive oil aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 4741-4745.
- ❖ **VISIOLI F. GALLI C. 2002.** Antioxidant and other biological activities of phenols from olive and olive oil. *Medicinal Research Reviews*. 22 : 65-75.

« W »

- ❖ **Walker J E M. Saraste M J. Runswick and Gay NJ. 1982.** Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The Embo Journal*. 1(8) : 945-51.
- ❖ **Walter. Henriette. 2013.** Histoire de l'huile d'olive : de l'Antiquité à nos jours. Éditions Fayard. Paris. 340 pages.
- ❖ **Wang \$ L. Yen J H. Liang H L. Et Wu M J. 2003.** Antioxidant effect of methanol extracts from lotus plumule and blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.). *Journal of food and drug Analysis*. 11(1), 60-66.
- ❖ **Wiesman Z. 2009.** Desert olive oil cultivation: advanced bio technologies. 1^{ere} édition. USA : Academic press. 398p.

« Y »

- ❖ **Yoshida H. Kajimoto G. et Emura S. 1993.** Antioxidant effects of d-tocopherols at different concentrations in oils during microwave heating. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 70(10), 989-9.

« Z »

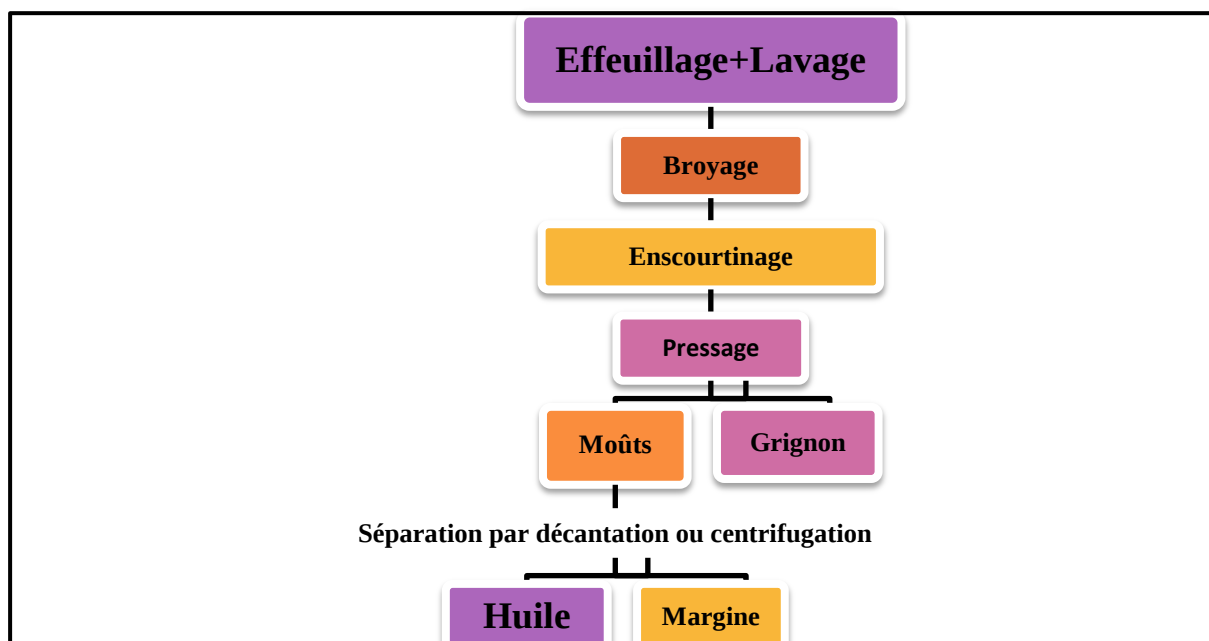
- ❖ **Zemour K. Labddelli A. Adda A. Della A D .Talou T. And Merah O. 2019.** Phenol Content of Safflower Seed Oil (*Carthamus Tinctorius* L). *Cosmetics*, 6(55) : 1 - 11.

Références Web :

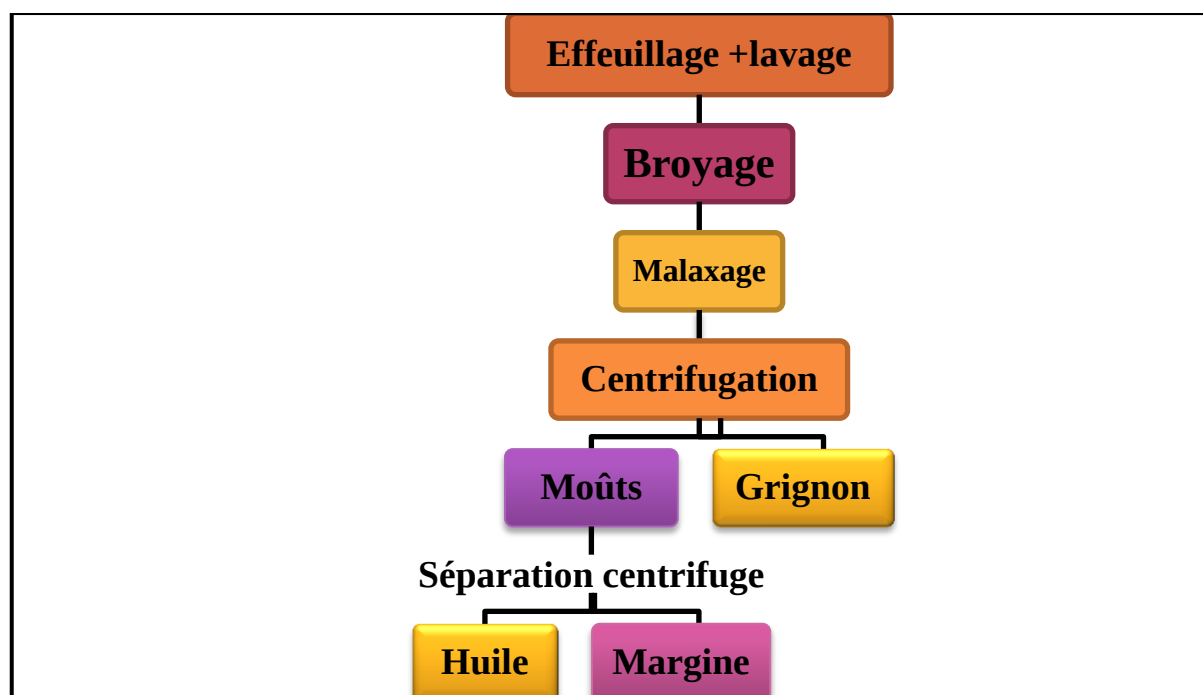
- ❖ **Site Web :** <http://www.alloliveoil.com/fr/history.html/> (consulté le 24/06/2024 à 15h 30mn).

Liste des Annexes

Annexes

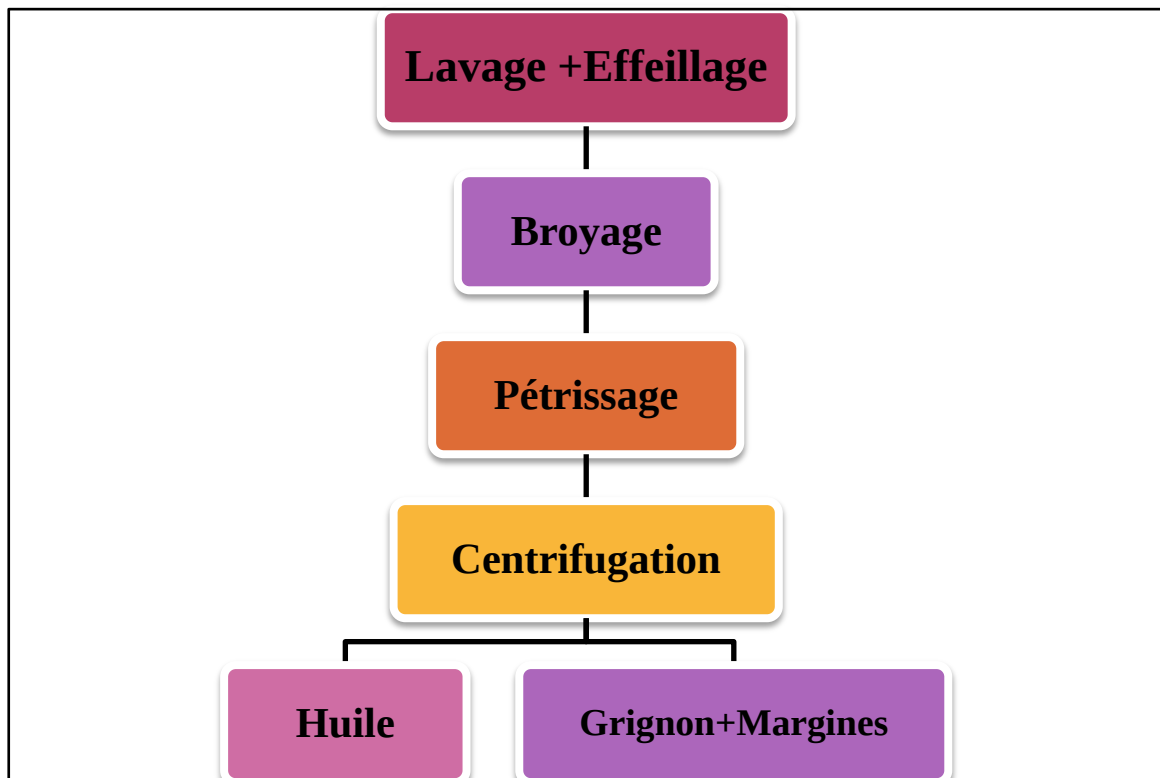


Annexe 1: Système discontinu d'extraction par presse.



Annexe 2 : Système continu d'extraction avec centrifugation à 3phase.

Annexes



Annexe 3: Système continu d'extraction avec centrifugation à 2 phases.

Annexe 4 : les avantages et les inconvénients de Système discontinu d'extraction par presse (HAMMADI, 2006).

Les avantages de ce système	les inconvénients de ce système
-Permet l'obtention d'une huile non piquante. -Produit une huile riche en polyphénols.	-Les opérations de broyage et de pressage en plein air peuvent entraîner l'altération des huiles. -L'auto-oxydation de l'huile due à la présence de l'air provoque la dégradation des acides gras insaturés. -Formation d'hydroperoxydes pouvant se décomposer en produits volatils, menant au rancissement de l'huile. -Génère des quantités importantes de margines (60 à 70 L par 100 kg d'olives).

Annexes

Annexe 5: les avantages et les inconvénients de Système continu d'extraction avec centrifugation à 3phases (HAMMADI, 2006).

Les Avantages	Les Inconvénients
Réduction des coûts de transformation	Apports élevés en eau chaude (40 à 60 % du poids de la pâte)
Réduction de la durée de stockage des olives	Appauvrissement de l'huile en composés aromatiques et en composés phénoliques
Production d'huile de moindre acidité	Les composés aromatiques et phénoliques passent partiellement dans les margines
	Production de grignons à teneurs élevées en humidité (45 à 55 %)

Annexe 6: les avantages et les inconvénients Système continu d'extraction avec centrifugation à 2 phases (HAMMADI, 2006).

les avantages	les inconvénients
-Rendement en huile légèrement plus élevé que les autres systèmes. -Obtention d'une huile riche en polyphénols totaux et en ortho-diphénols, donc plus stable. -Plus respectueux de l'environnement car il ne procède pas à l'augmentation du volume d'effluent liquide (margines). -Ne nécessite pas l'ajout d'eau pour la séparation des phases huileuse et solide.	-Peut nécessiter un équipement initialement plus coûteux. -Coûts de maintenance et d'opération potentiellement plus élevés.

Annexes

Annexe 7 : Classification des huiles selon les données physico-chimiques(COI.2015).

Critères de qualité	Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive vierge	Huile d'olive vierge courante	Huile d'olive vierge lampante	Huile d'olive raffinée	Huile de grignons d'olive brute	Huile de grignons d'olive raffinée	Huile de grignons d'olive
Acidité Libre %m/m exprimée en acide oléique	< 1,0	< 2,0	< 3,3	>3.3	< 0.3	Non limite	< 0.3	< 1,5
Indice de peroxyde en milliéquivalents d'oxygène des peroxyde par kg d'huile	< 20	< 20	< 20	Non limite	< 5	Non limite	< 5	< 15

Annexe 8: Acidité des huiles issues de trois systèmes d'extraction d'huile.

Catégories d'huile d'olive	Pourcentage d'acidité %
Vierge Extra	<0,8
Vierge	<2
Vierge lampante	> 2
Raffinée	<0,3
Grignons d'olive	<1,5

Annexes

Annexe 9 : l'indice de saponification de diffère catégorie d'huile d'olive selon le (CODEX ,2015).

Catégories d'huile d'olive	Indice de Saponification (mg KOH/g d'huile) :
Vierge Extra	184 -196
Vierge	184 -196
Vierge lampante	184 -196
Raffinée	184 -196
Grignons d'olive	182 -193
vierge courante	184 -196

Annexe 10 :Quelques exemples d'utilisation réglementée des antioxydants de synthèse (Perrin J.L, 1992)

Nature de l'aliment	Antioxydant	Concentration maximale (ppm)
Saindoux, graisse de bœuf, de volaille et de mouton, huile de poisson.	Gallates et BHA seuls	200
	ou en mélange	
	BHT	100
Compléments alimentaires	Gallates BHT et BHA	400
Soupes et viandes déshydratées, lait en poudre	Gallates et BHA seuls	200
	ou en mélange	

Annexes

Annexe 11 : Effet synergique de l'association de plusieurs antioxydants (Marie. C.M et Monique. S ,2016)

Anti oxygènes et synergistes (mg/kg de saindoux)				
Echelle	Palmitate d'ascorbyte	dl- α -tocophérol	Lécithine	Durée (jours)
Témoin	0	0	0	1
1	250	0	0	4
2	0	50	0	4
3	0	0	700	1
4	250	50	0	17
5	250	50	700	30