

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires

**Mémoire**  
En vue de l'obtention du diplôme de master en Biotechnologie, Agro-  
Ressources, Aliment, Nutrition  
Option : Corps Gras



**Thème :**

Activité antioxydante des extraits méthanoliques  
des olives et des huiles de la variété *Chemlal* à  
différents stades de la maturation.

Présenté par :  
M<sup>elle</sup> RAMDANI Siham

**Devant le Jury:**

Présidente: M<sup>me</sup> TAFININE Z.

Promotrice: M<sup>me</sup> DAFLAOUI L.

Examinatrices : M<sup>me</sup> LEHOUCHE R.

M<sup>me</sup> AIDLI A.

**Promotion : 2013/2014**

# Remerciement

*Avant tout, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience pour réaliser ce travail ;*

*Au terme de ce travail je tiens à exprimer mes remerciements et mes sincères gratitude à ma promotrice M<sup>me</sup> DEFLAOUI Lila qui a dirigé ce travail et m'a fait bénéficier de son expérience et de ses conseils et à remercier M<sup>me</sup> LAHOUCHE R, pour ses compétences, et s'est toujours montré à l'écoute, très disponible tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer.*

*Mes remerciements vont également :*

*M<sup>me</sup> TAFININ Z, pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury et à M<sup>me</sup> LEHOUCHE R, et M<sup>me</sup> AIDLI A, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je remercie également tout le personnel de laboratoire pour leur dévouement et leur implication soutenue dans ce travail, mais également pour les moments de convivialités partagés durant les longues journées au laboratoire ;*

*Je n'oublie pas de remercier l'ensemble des enseignants ayant contribué à ma formation durant mon cycle d'étude.*

**MERCI A TOUS**

***Siham.***

# Dédicace

*Je dédie ce travail à toutes les personnes qui me sont chères ;*

*A mes parents pour leur exprimer tout le respect et l'amour que j'ai pour eux et pour leur témoigner ma reconnaissance pour tous les efforts et sacrifices qu'ils ont entrepris pour me voir ce que je suis ;*

*A mes très chers frères : Salim, Fares, Dawoud, Lotfi et Djaafar ;*

*A ma très chère sœur Hamida et son mari Amirouche ;*

*A ma très charmante nièce Nouara ;*

*A mes chers neveux Salim et Isak ;*

*A Mes belles sœurs Aziza et Victoire ainsi qu'à leur famille ;*

*A toutes mes amies surtout les copines de chambre G216 : Nabila, Nadia, Assia, Yasmina, Hayette, Baby, Mouma, Wazna et Nawal ;*

*A Toute la promotion des sciences alimentaires 2013/2014 ;*

*Et à tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.*

*Merci*

*Siham.*

**Liste des tableaux****Liste des figures****Introduction** ..... 1**Synthèse bibliographique****Chapitre I : L'olive et l'huile d'olive.**

I.1 La définition et la structure de l'olive .....	2
I.2 La composition chimique de l'olive .....	2
I.2.1 Les glucides .....	2
I.2.2 Les acides organiques .....	3
I.2.3 Les chlorophylles et les caroténoïdes.....	3
I.2.4 Les composés phénoliques .....	3
I.3 La technologie d'extraction de l'huile d'olive .....	3
I.3.1 La récolte des olives .....	3
I.3.2 L'effeuillage et le lavage.....	3
I.3.3 Le broyage .....	4
I.3.4 Le malaxage.....	4
I.3.5 L'extraction de l'huile d'olive .....	4
I.3.5.1 La séparation solide-liquide des phases: huile, grignon et phase aqueuse.....	4
I.3.5.2 La séparation liquide-liquide des phases: huile et phase aqueuse.....	5
I.3.6 Le stockage .....	5
I.4 L'huile d'olive : .....	5
I.4.1 Les dénominations et les définitions .....	5
I.4.2 La composition chimique de l'huile d'olive .....	6
I.4.2.1 La fraction saponifiable .....	6
I.4.2.2 La fraction insaponifiable.....	7

**Chapitre II : Les composés phénoliques des olives et de l'huile d'olive et l'activité antioxydante**

II.1 Les composés phénoliques.....	10
II.2 L'extraction et la détermination des composés phénoliques .....	10
II.3 Le rôle et l'activité antioxydante des polyphénols .....	11
II.4 Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	12
II.5 La stabilité oxydative au Rancimat.....	13

**Chapitre III : L'effet de maturation sur la composition des olives et de leurs huiles.**

III.1 L'effet de maturation sur le poids des olives.....	14
III.2 L'effet de maturation sur la teneur en huile .....	14
III.3 L'effet de maturation sur la teneur en acides gras des huiles .....	15
III.4 L'effet de maturation sur la composition en triglycérides.....	15
III.5 L'effet de maturation sur la teneur en composés phénoliques .....	15
III.6 L'effet de maturation sur la qualité et la stabilité oxydative .....	15

---

**Partie expérimentale**

---

**Chapitre I : Matériel et méthodes.**

I.1 Les caractéristiques des olives de la variété <i>Chemlal</i> .....	17
I.2.1 La détermination de l'indice de maturité.....	17
I.2.2 Le poids des fruits.....	18
I.2.3 L'humidité des fruits .....	18
I.2.4 Détermination de la teneur en huile .....	18
I.3 Extraction des composés phénoliques des olives et de leurs huiles .....	19
I.3.1 Extraction des composés phénoliques des olives .....	19
I.3.2 Extraction des composés phénoliques des huiles .....	19
I.4 Dosage des composés phénoliques des olives et de leurs huiles.....	19
I.5 Le dosage des <i>ortho</i> -diphénols des olives et de leurs huiles.....	20
I.6 L'évaluation de l'activité antioxydante pour les extraits méthanoliques des olives et de leurs huiles .....	20
I.6.1 L'activité scavenger sur le radical DPPH.....	20
I.6.2 L'activité scavenger sur le radical ABTS.....	21
I.6.3 Le pouvoir réducteur .....	22
I.7 L'étude statistique .....	22

**Chapitre II : Résultats et discussion.**

II.1 Les caractéristiques des olives de la variété <i>Chemlal</i> .....	23
II.1.1 L'indice de maturité.....	23
II.1.2 Le poids.....	23
II.1.3 L'humidité.....	24

II.1.4 La teneur en huile.....	24
II.5 Les composés phénoliques des extraits méthanoliques des olives ..... <b>Erreur ! Signet non défini.</b>	
II.6 Les composés phénoliques des extraits méthanoliques des huiles .....	25
II.7 Les <i>ortho</i> -diphénols des extraits méthanoliques des olives .....	26
II.8 Les <i>ortho</i> -diphénols des extraits méthanoliques des huiles .....	27
II.9 L'activité antiradicalaire sur le radical DPPH des extraits méthanoliques des olives ....	28
II.10 L'activité antiradicalaire sur le radical DPPH des extraits méthanoliques des huiles ..	29
II.11 L'activité scavenger sur le radical ABTS des extraits méthanoliques des olives.....	30
II.12 L'activité scavenger sur le radical ABTS des extraits méthanoliques des huiles .....	30
II.13 Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des olives.....	31
II.14 Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des huiles.....	32
<hr/>	
<b>Conclusion</b> .....	34

---

### Références bibliographiques

---

### Annexes

---

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Teneur en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des olives de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité.....	25
<b>Figure 02:</b> Teneur en polyphénols totaux des huiles de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité des olives.....	26
<b>Figure 03:</b> Teneur en <i>ortho</i> -diphénols des olives de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité.....	27
<b>Figure 04:</b> Teneur en <i>ortho</i> -diphénols des huiles de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité des olives.....	28
<b>Figure 05:</b> Pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH des olives de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité.....	28
<b>Figure 06:</b> Pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH des huiles de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité des olives.....	29
<b>Figure 07:</b> Pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS des olives de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité.....	30
<b>Figure 08:</b> Pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS des huiles de la variété <i>Chamlel</i> à différents stades de maturité des olives.....	31
<b>Figure 09 :</b> Pouvoir réducteur des olives de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité .....	31
<b>Figure 10:</b> Le pouvoir réducteur des huiles de la variété <i>Chemlal</i> à différents stades de maturité des olives .....	32

## Liste des figures en annexe

**Figure 01:** Les formules chimiques des principaux composés phénoliques présents dans les huiles d'olive.

**Figure 02:** Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.

**Figure 03:** Courbe d'étalonnage des *ortho*-diphénols.

---

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Les principaux triglycérides de l'huile d'olive.....	7
<b>Tableau II:</b> Les dates de récolte et d'extraction des différents échantillons.....	17
<b>Tableau III:</b> L'évolution des caractéristiques des olives de la variété <i>Chemlal</i> .....	23

## Liste des tableaux en annexe

<b>Tableau I :</b> Les composés phénoliques de l'olive.
<b>Tableau II:</b> Les huiles d'olive et critères de qualité.
<b>Tableau III :</b> Les acides gras présents dans l'huile d'olive.



# Introduction

# Introduction

---

L'olivier est arbre emblématique de l'aire méditerranéenne et l'huile d'olive fait partie intégrante de l'alimentation des populations locales (Angles, 2006). Elle est le produit méditerranéen par excellence, on la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours. Elle est la principale source de matières grasses du régime crétois ou du régime méditerranéen qui sont bien connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine (Veillet, 2010 ; Becerra-Herrera *et al.*, 2014).

L'arbre est bien connu aussi par son fruit, qui est l'olive. Il est riche en composés phénoliques qui sont un facteur important à considérer afin d'évaluer la qualité de l'huile d'olive vierge puisqu'ils sont partiellement responsables de sa stabilité oxydative et de ses caractéristiques organoleptiques (Esti *et al.*, 1998).

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités de dérivés réactifs de ce dernier. Dans certaines situations, cette production augmente fortement entraînant un stress oxydatif que l'on définit comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces molécules. Ces espèces réactives sont normalement neutralisées par différents antioxydants, comme les substances antiradicalaires apportées par l'alimentation (Fontaine *et al.*, 2002).

De nombreuses études ont montré que les régimes quotidiens supplémentés de l'huile d'olive pourraient prévenir les maladies cardiovasculaires, le cancer du côlon, et les maladies anti-inflammatoires (Spadafora *et al.*, 2008). Ces propriétés thérapeutiques sont associées à la teneur en composés phénoliques (Ouni *et al.*, 2011).

L'évolution de la consommation de l'huile d'olive vierge à l'échelle internationale est tributaire de sa qualité. Celle-ci est fondée sur des normes internationales définies par le Conseil Oléicole International. Par ailleurs, les paramètres de qualité sur lesquels les normes sont fondées se trouvent très influencés par plusieurs facteurs et par leurs interactions, à savoir : la variété (Cavusoglu et Oktar, 1994), l'environnement, les techniques culturales (Cimato, 1990; Detteri et Russo, 1993), les techniques d'extraction et l'époque de récolte (maturation des olives) (Kiritsakis, 1990; Di Giovacchino, 1996). Les études montrent que la composition chimique d'huile change pendant la maturation des olives (Mraicha *et al.*, 2010).

La présente étude a pour objectif de définir dans quelle mesure, la maturation des olives est susceptible de conditionner la qualité ainsi que la stabilité oxydative de l'huile d'olive. Ce travail est subdivisé en deux parties.

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, décrivant la composition chimique des olives et de leurs huiles, les méthodes d'évaluations des composés

## Introduction

---

phénoliques et de stabilité oxydative de ces derniers ainsi que l'influence de la maturité sur leurs compositions chimiques.

La deuxième partie est la partie expérimentale qui est consacrée à la détermination d'indice de maturité, poids des olives, humidité des olives et le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et *ortho*-diphénols) des olives et de leurs huiles ainsi que l'activités antioxydante de leurs extraits méthanoliques.

# Synthèse bibliographique

# Chapitre I

## L'olive et l'huile d'olive



## Chapitre I : L'olive et l'huile d'olive.

### I.1 La définition et la structure de l'olive

L'olive est un fruit d'un arbre nommé l'olivier (*Olea europaea*) (Chartzoulakis *et al.*, 2005). C'est une drupe charnue ayant une forme plus en moins ovale, à peau lisse. Elle est constituée de l'extérieur vers l'intérieur de trois parties: l'épicarpe (épiderme), le mésocarpe (pulpe) et l'endocarpe (noyau) (Ajana *et al.*, 1999).

#### ➤ L'épicarpe

L'épicarpe qui est la couche externe de l'olive, il contient l'épiderme avec sa cuticule. Il représente 1 à 3% du poids de fruit (Bianchi, 2003).

#### ➤ Le mésocarpe :

Il représente 70 à 80% du poids du fruit (Bianchi, 2003), le mésocarpe contient de l'eau environ 60%, de l'huile (30%), des sucres (4%), des protéines (3%), et enfin des fibres (Conde *et al.*, 2008).

#### ➤ L'endocarpe :

Il représente 13 à 30% du poids du fruit (Parvaiz *et al.*, 2013). C'est un noyau fusiforme, constitué d'une amande ayant une texture rigide, protégeant une ou, rarement, deux graines à albumen huileux cellulaire (Bianchi, 2003).

L'endocarpe contient de l'eau (10%), de la cellulose (30%), les hydrates de carbone (40%) et de l'huile (1%) (Conde *et al.*, 2008).

### I.2 La composition chimique de l'olive

La distribution et la structure des constituants chimiques de l'olive est complexe et dépendante des paramètres comprenant la variété, les pratiques en matière de culture, l'origine géographique et le niveau de la maturation (Ghanbari *et al.*, 2012).

La composition moyenne du fruit d'olive inclut l'eau (50%), les protéine (1,6%), de l'huile (22%), les hydrate de carbone (19,1%), la cellulose (5,8%), les substances inorganiques (1,5%), les composés phénoliques (1 à 3%) et d'autres composés importants comme la pectine, les acides organiques et les pigments (Ghanbari *et al.*, 2012).

#### I.2.1 Les glucides

Les glucides de l'olive sont le glucose, le fructose, le saccharose, le mannitol et les polysaccharides (pectine, cellulose et hémicellulose) (Bianchi, 2003). Les sucres sont des composants principaux solubles dans les tissus d'olive, ils jouent un rôle important, fournissant de l'énergie pour des changements métaboliques. Ils sont des composants importants de la paroi cellulaire, en relation avec les propriétés texturales des fruits et agissent comme précurseurs pour la biosynthèse de l'huile d'olive (Marsilio *et al.*, 2001). La

teneur en glucides diminue au cours de la maturation de l'olive; ces constituants interviennent dans la synthèse des anthocyanines (Ryan *et al.*, 2002).

### **I.2.2 Les acides organiques**

Ce sont les acides oxalique, citrique et malique. Ils montrent l'activité métabolique et ils sont les produits intermédiaires résultant de la formation et de la dégradation d'autres composés (Ghanbari *et al.*, 2012).

### **I.2.3 Les chlorophylles et les caroténoïdes**

La couleur du fruit d'olive vient des chlorophylles et caroténoïdes. Les caroténoïdes peuvent être facilement oxydés empêchant, de cette façon, d'autres réactions d'oxydation. D'ailleurs, ils peuvent agir en tant qu'antioxydants directs par la réaction avec les espèces actives de l'oxygène (Fernandez-Orozco *et al.*, 2011).

### **I.2.4 Les composés phénoliques**

Dans l'olive, il existe des phénols lipophiles et hydrophiles. Les principaux phénols lipophiles sont des crésols tandis que les phénols hydrophiles principaux (tableau I en annexe 1) incluent les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les flavonoïdes et les secoïridoïdes. Les polyphénols des olives ont une bonne disponibilité biologique, qui est conforme à leur efficacité antioxydante. Ils représentent aussi des propriétés antimicrobiennes dans les différentes parties de la plante et sont également responsables de l'ampleur du brunissement dans le fruit. Ces composés phénoliques contribuent également aux caractéristiques sensorielles de l'olive (Ghanbari *et al.*, 2012).

## **I.3 La technologie d'extraction de l'huile d'olive**

### **I.3.1 La récolte des olives**

La récolte est une opération importante de la culture de l'olivier. La qualité de l'huile d'olive est affectée par les modalités ainsi que l'époque de récolte qui est en relation avec le degré de maturité des olives. La cueillette peut s'effectuer à la main, c'est l'opération qui convient le mieux pour obtenir la meilleure qualité de l'huile car les olives sont cueillies sélectivement selon leur degré de maturité. Des équipements sont utilisés en récolte mécanique et parmi eux, on peut citer les crochets vibrants, les peignes oscillantes et les vibreurs. Ces machines bien que rentables présentent l'inconvénient de laisser 20 à 30% de fruits sur l'arbre (Ouaouich et Chimi, 2007).

### **I.3.2 L'effeuillage et le lavage**

Une fois cueillies, les olives sont triées afin d'éliminer les brindilles et les feuilles (Benyahia et Zein, 2003). Les équipements utilisés sont munis d'un flux d'air, ils éliminent même les autres matières végétales, les matières minérales (terre, poussière, cailloux et les

pierres). Le lavage se fait à l'eau froide au moyen d'une circulation forcée d'eau potable et propre (COI, 2006).

### **I.3.3 Le broyage**

Les olives et leurs noyaux sont ensuite broyés pour rompre les structures végétales et libérer les gouttelettes d'huile des vacuoles (Benyahia et Zein, 2003). Le broyage en industrie se fait à l'aide d'un broyeur à meules en granit ou métallique (à marteaux, disques dentés ou cylindres striés) et aboutit à la formation d'une pâte (COI, 2006).

### **I.3.4 Le malaxage**

Pour faciliter l'extraction de l'huile, le broyage doit être complété par un malaxage, étape permettant de réunir en une phase continue les gouttes d'huiles dispersées dans la pâte (Benyahia et Zein, 2003). Ce processus est réalisé au moyen d'un équipement dénommé malaxeur, muni d'un système permettant le réchauffement contrôlé et adéquat de la pâte pendant un temps donné de brassage continu et lent (COI, 2006).

### **I.3.5 L'extraction de l'huile d'olive**

L'extraction de l'huile d'olive comprend une série de procédés mécaniques et/ou physiques dans le but de séparer le jus huileux de l'ensemble des produits présents dans la masse d'olives triturées (Mendoza, 1999). D'après le COI (2006), il existe deux types de séparation ; une séparation solide-liquide et une séparation liquide-liquide.

#### **I.3.5.1 La séparation solide-liquide des phases : huile, grignon et phase aqueuse**

##### **a) L'extraction par pression**

La pâte malaxée et homogénéisée est répartie sur des scourtins. Ces derniers sont ensuite empilés sur le plateau d'une presse hydraulique. Pour maintenir bien vertical l'empilement ainsi réalisé, la presse est souvent équipée d'une aiguille. Des pompes permettent alors la montée progressive de la pression jusqu'à 300/400 Kg/cm<sup>2</sup>. Pendant cette montée en pression, la phase liquide constituée de l'huile et de l'eau est recueillie ; la phase solide résiduelle est progressivement épuisée. Elle constituera au final ce qui est appelé le grignon (Uzzan, 1994).

##### **b) L'extraction par centrifugation**

Au moyen de l'effet de la force centrifuge que génère le décanteur centrifuge horizontal qui permet de séparer les composants de la pâte d'olive malaxée en fonction de sa densité. Il existe deux types de décanteur en fonction des produits issus de la centrifugation : dans le cas de la séparation intermittente donnant lieu à la production des trois composants (huile, grignon et margine), il est appelé à trois phases ; dans le cas de la séparation interne des trois composants produisant la sortie indépendante de l'huile et de l'ensemble grignon plus eau de végétation, il est appelé à deux phases (COI, 2006).



### c) La percolation

Elle se fait au moyen d'un procédé qui utilise l'effet de la tension superficielle de l'huile sur une lame ou une maille d'acier inoxydable séparant l'huile de la pâte malaxée (COI, 2006).

#### I.3.5.2 La séparation liquide-liquide : huile et phase aqueuse

L'huile doit être séparée de l'eau de végétation en employant un procédé de centrifugation ou décantation. La centrifugation se fait au moyen d'un processus utilisant la force centrifuge pour séparer l'huile de la fraction aqueuse, en utilisant un équipement appelé séparateur centrifuge vertical. La décantation est due à la différence de densité et de miscibilité des composants du jus de l'olive : huile, eau, fragments de matières solides dans les bacs à décantation (COI, 2006).

#### I.3.6 Le stockage

L'huile d'olive est stockée dans des cuves en inox pour éviter toute oxydation (Benyahia et Zein, 2003). Ce stockage doit être dans des zones de température stable et ambiante (12-22°C) et un minimum d'éclairage et d'aération (COI, 2006).

### I.4 L'huile d'olive

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea L*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. Elle est commercialisée selon des différentes dénominations et définitions (COI, 2013).

#### I.4.1 Les dénominations et les définitions

Selon le conseil oléicole international (2013), la classification de l'huile d'olive (tableau II en annexe 2) est comme suit :

##### a) Les huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état

➤ **l'huile d'olive vierge extra** : huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 grammes pour 100 grammes.

➤ **l'huile d'olive vierge** : sont les huiles obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions thermiques notamment, qui n'entraînent pas l'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. Dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes.

➤ **l'huile d'olive vierge courante** : est huile dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes.

**b) L'huile d'olive vierge lampante** : c'est l'huile d'olive vierge non propre à la consommation dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieure à 3,3 grammes pour 100 grammes. Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques.

**c) L'huile d'olive raffinée** : est obtenue à partir des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modifications de la structure glyceridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes.

**d) L'huile d'olive** : est l'huile constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes

**e) L'huile de grignons d'olive** : est l'huile obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. On distingue : les huiles de grignons d'olive, les huiles de grignons d'olive raffinées.

#### **I.4.2 La composition chimique de l'huile d'olive**

Les propriétés de l'huile d'olive en alimentation humaine sont liées à sa partie glyceridique et probablement à ses constituants mineurs. Les constituants mineurs de l'huile d'olive sont, d'une part, l'insaponifiable et d'autres parts, les composés hydrosolubles. La fraction insaponifiable qui peut représenter jusqu'à 1% de l'huile renferme par ordre quantitatif décroissant, 0,3 à 0,7% d'hydrocarbures (les squalene), 0,1 à 0,7% d'alcool triterpenique, 0,1 à 0,2% de phytostérol (principalement le  $\beta$ -sitostérol), 0,005 à 0,015% de tocophérols et caroténoïdes (la lutéine). Les composés hydrosolubles sont les composés phénoliques (plus solubles dans les solutions hydroalcooliques). Ils présentent un grand intérêt nutritionnel et organoleptique (Jean Graille, 2003).

##### **I.4.2.1 La fraction saponifiable**

###### **a) Les acides gras**

Les acides gras retrouvés dans l'huile d'olive ainsi que leurs teneurs sont regroupés dans le tableau III en annexe 3. Le principal acide gras de l'huile d'olive est l'acide oléique. La popularité croissante de l'huile d'olive a été principalement attribuée à sa teneur élevée en cet acide (Delplanque *et al.*, 1999). L'huile d'olive contient aussi une quantité d'acides linoléique (3,5 à 21%) et linolinique (acides gras polyinsaturés essentiels). L'acide oléique représente 65 à 80% des acides gras de l'huile d'olive (Abbey *et al.*, 1993).

###### **b) Les triglycérides**

Ce sont des triesters d'acides gras et du glycérol. Ils constituent environ 98% de l'huile d'olive et sont principalement monoinsaturés (Delplanque *et al.*, 1999). Le

triglycéride majoritaire de l'huile d'olive et le trioléine (OOO) (Boskou *et al.*, 2006). Les triglycérides qui sont trouvés dans des proportions significatives dans l'huile d'olive sont présentés dans le tableau I.

**Tableau I:** Les principaux triglycérides de l'huile d'olive (Boskou *et al.*, 2006).

Triglycérides	Teneur (%)
OOO	40-59
POO	12-20
OOL	12,5-20
POL	5,5-7
SOO	3-7

**O** : acide oléique    **P** : acide palmitique    **L** : acide linoléique.

#### I.4.2.2 LA fraction insaponifiable

##### a) Les hydrocarbures

Ils sont formés lors de la synthèse des acides gras. Le principal hydrocarbure de l'huile d'olive est le squalene ( $C_{30}H_{50}$ ), avec une teneur de 300 à 700 mg/100 g. Il représente 30 à 50 % des constituants mineurs de l'huile d'olive. Ce composé est un précurseur du cholestérol (Assman et Wahrburg, 1999).

##### b) Les phospholipides

Les phospholipides sont représentés par la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine, en très faible teneur dans l'huile d'olive. Ce sont des molécules amphiphiles, possédant un pôle hydrophile et un pôle lipophile, et qui ont donc des propriétés émulsifiantes (Jacotot, 1993).

##### c) Les composés volatils et aromatiques

L'huile d'olive, comparée à d'autres huiles végétales, est distinguée par un arôme et une saveur caractéristiques, cet arôme la rend unique parmi d'autres huiles végétales (Conde *et al.*, 2008). L'analyse des composants volatils peut être employée en tant qu'un indicateur pour vérifier la qualité de l'huile d'olive, dans la détection de limites des adultérant et l'importance de goûts de produit, ou pour déterminer la variété d'olive. Le cultivar, la région géographique, la maturité du fruit, les méthodes de transformation sont des paramètres qui influencent la composition volatile de l'huile d'olive. Approximativement 280 composés ont été identifiés dans la fraction volatile de l'huile d'olive vierges. L'arôme distinctif de l'huile d'olive vierge est attribué à une grande sélection de composés de différentes classes

chimiques, comme des aldéhydes, des alcools, des esters, des hydrocarbures, des cétones, des furfurals et, probablement, d'autres composés non identifiés (Ghanbari *et al.*, 2012).

#### **d) Les stérols**

Le contenu en stérols est d'environ 100 à 300 mg pour 100 g d'huile, teneur variant selon la variété des olives et leur degré de maturité. Les stérols, ayant tous en commun le noyau stérol et se différenciant par leur chaîne latérale, sont rencontrés dans l'huile d'olive sous forme libre et estérifiée avec les acides gras. Le bêta-sitostérol est le principal stérol (70 à 90 mg/100 g) de l'huile d'olive, seule huile végétale à en contenir un taux si élevé. Ce composé est connu pour s'opposer à l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire. On peut également citer la présence d'autres composés comme le Beta-sitosterol, delta-5-avénastérol (5 à 20 mg/100 g), le campestérol (1 à 5 mg/100 g), le stigmastérol (0,5 à 2 mg/100 g), et en infimes quantités, le cholestérol, le campestanol, le delta-7-campestérol, le delta-5-24-stigmastadiénol et le delta-7-avénastérol (Ryan, 1998).

#### **e) Les pigments**

La couleur de l'huile est le résultat des teintes vertes et jaunes en raison de la présence des chlorophylles et des caroténoïdes, respectivement. Elle est influencée par le cultivar d'olive, l'indice de maturité, la zone de production, le système d'extraction et les conditions de stockage (Benlamlah *et al.*, 2012).

L'huile d'olive contient des composés mineurs qui lui confèrent ses qualités organoleptiques et nutritionnelles. Parmi ces composés mineurs les chlorophylles, qui ont un caractère antioxydant dans l'obscurité et pro-oxydant dans la lumière. La concentration en chlorophylles dans l'huile d'olive peut dépasser 80 mg/Kg pour des huiles obtenues à partir d'olives en stade précoce de maturité, pour chuter à des valeurs d'environ 2 mg/Kg lorsque le fruit est bien mûr (Tanouti *et al.*, 2011).

L'huile d'olive contient de 10 à 300 mg/Kg des caroténoïdes, dont les principaux sont : la lutéine, le  $\beta$ -carotène (provitamine A) et les xanthophylles (Rayan *et al.*, 1998), le  $\beta$ -carotène agit comme protecteur en désactivant l'oxygène singulet produit par les chlorophylles et protège l'huile contre l'activation de l'oxygène par la lumière (Torres et Maestri, 2006).

#### **f) Les tocophérols**

Parmi les antioxydants de l'huile d'olive vierge, les tocophérols sont très importants en raison de leur activité antioxydante. L'analyse de tocophérol par HPLC a indiqué la présence du  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\delta$  dans toutes les huiles d'olive. Le contenu total en tocophérol est sensiblement influencé par le facteur variétal (Baldioli *et al.*, 1996).

### g) Les composés phénoliques

Les composés phénoliques de l'huile d'olive sont des facteurs importants à considérer afin d'évaluer la qualité de l'huile d'olive vierge puisqu'ils sont partiellement responsables de ses caractéristiques organoleptiques (Esti *et al.*, 1998). Ils interviennent dans la stabilité oxydative par leurs fonction de piégeage de radicaux libres par l'auto-oxydation augmentant ainsi la durée de conservation de l'huile (Manna *et al.*, 2002).

La classe des phénols regroupe toute une gamme de substances diverses, dont les acides phénoliques, les alcools phénoliques et les flavonoïdes. En moyenne, les phénols simples sont présents à la concentration de 4,2 mg/100g dans l'huile d'olive extra vierge et de 0,47mg/100g dans l'huile raffinée (Assmann et Wahrburg, 2000). Ces concentrations dépendent non seulement de la variété, mais aussi de maturation des fruits, du climat et des procédés d'extraction (Saitta *et al.*, 2009).

Les principaux composés phénoliques de l'huile d'olive sont présentés dans la figure 01 en annexe 4.

# Chapitre II

**Les composés phénoliques des  
olives et de l'huile d'olive et activité  
antioxydante.**



## Chapitre II : Les composés phénoliques des olives et de l'huile d'olive et activité antioxydante.

### II.1 Les composés phénoliques

Ces constituants, encore appelés « biophénols », sont des substances naturelles qui ont des propriétés antioxydantes importantes (Pagès, 2012).

L'olive est très riche en composés phénoliques, mais seulement 2% du contenu total du fruit passe dans la phase huileuse et le reste se trouve dans la phase liquide (approximativement 53%) et dans le grignon (résidu sec 45%) (Rodis *et al.*, 2002).

Dans huile d'olive, les phénols sont présents jusqu'à 1% de poids total, sont des composés simples (hydroxytyrosol et tyrosol) et complexes (hydroxytyrosol ou tyrosol estérifié à l'acide élénolique, sous forme d'oleuropéine et de ligstroside, respectivement). Dans l'olive intact, l'oleuropéine et le ligstroside sont présents sous la forme glycosidique et relativement polaire. L'hydroxytyrosol et le tyrosol, aussi bien que les aglycones solubles d'oleuropéine et de ligstroside, sont partiellement libérés (5 à 10% du total dans les olives) dans l'huile pendant la production (écrasement), tandis qu'une proportion substantielle demeure dans la phase de l'eau (l'eau de végétation) (Soni *et al.*, 2006).

### II.2 L'extraction et la détermination des composés phénoliques

En ce qui concerne le processus d'extraction des composés phénoliques de l'huile d'olive vierge, deux techniques principales sont rapportées dans la littérature : l'extraction liquide-liquide (LLE) et l'extraction en phase solide (SPE), le solvant utilisé dans la méthode (LLE) est le méthanol mélangé avec différent niveau d'eau, les phénols sont isolées de l'hexane par une triple extraction avec méthanol-eau (Gimeno *et al.*, 2001; Servili *et al.*, 2004).

La méthode SPE a été appliquée pour la première fois par Mannino *et al.* (1993) pour séparer les phénols de l'huile d'olive vierge, en utilisant une cartouche d'octadecyl C18 comme phase solide et le méthanol comme solvant d'extraction (Servili *et al.*, 2004).

Les méthodes employées pour évaluer le contenu en polyphénols de l'huile d'olive sont les essais colorimétriques de Folin-Ciocalteu et la chromatographie liquide à haute performance, la précédente est simple et économique, mais elle est limitée par une faible spécificité du réactif vers les composés phénoliques, elles ne donnent pas l'information qualitative sur les phénols simple. Inversement l'HPLC est très sensible et spécifique, mais prend du temps et ne donne pas l'information sur les molécules phénolique pour lesquelles les références normalisées sont indisponibles (Visioli *et al.*, 2002). Beaucoup de documentations

ont été publiées sur l'utilisation d'HPLC couplé à la détection UV pour l'évaluation qualitative et quantitative des phénols de l'huile d'olive vierge. Cependant, les détecteurs électrochimiques et fluorimétriques ont été aussi proposés (Servili *et al.*, 2004).

Un essai enzymatique pour la détermination qualitative des phénols de l'huile d'olive a été mis en évidence. Cette méthode rapide et facile à exécuter, est plus sensible et spécifique pour les composés phénoliques que la méthode au Folin-Ciocalteu, hélas, elle donne seulement l'information quantitative, et ne détecte pas les constituants mineurs importants tels que : l'acide cinamique et l'acide vanillique (Visioli *et al.*, 2002).

### II.3 Le rôle et l'activité antioxydante des polyphénols

La défense antioxydante limite les dommages causés par les oxydants et confèrent plusieurs fonctions destinées à combattre l'inflammation, les virus, l'hypercholestérolémie, le développement du cancer, la formation de tumeurs malignes, la production des mutations cellulaires et le déclin des fonctions cognitives (Vans den Berg *et al.*, 2001; Hagfors *et al.*, 2003).

Les polyphénols sont absorbés à travers les barrières intestinales et parviennent au niveau des tissus cibles, où ils peuvent exercer des effets protecteurs. Notre organisme étant soumis à un stress oxydant, il développe diverses pathologies (maladies cardiovasculaires, cancers, maladies neuro-dégénératives ...). Les effets protecteurs cardiovasculaires sont de mieux en mieux établis (Middleton *et al.*, 2000). Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres (l'effet scavenger) générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections...), tel que le l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), le radicale Peroxyde ( $HO_2^*$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le radical d'hydroxyl (OH), le radical Alkoxy ( $RO^*$ ), le radical peroxy ( $ROO^*$ ) et l'oxygène singulet ( $O_2^*$ ) (Rice-Evans *et al.*, 1995).

Le rôle des composés phénoliques est essentiellement la prévention des maladies cardiovasculaires. De plus, les composés phénoliques ont aussi un effet sur la stabilité des huiles dans le temps, car ils agissent comme des capteurs de radicaux libres (Ollivier *et al.*, 2003).

Baldioli *et al.* (1996) ont montré que la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge présente une corrélation avec la forme oléoside de l'hydroxytyrosol. Le pouvoir antioxydant de certains composés phénoliques (hydroxytyrosol, acide gallique) explique la bonne résistance à l'oxydation radicalaire des huiles d'olive vierges. Les composés phénoliques ont des pouvoirs antioxydants différents (Perrin, 1992).



Chimi *et al.* (2006) ont fait une étude comparative sur le pouvoir antioxydant de quelques phénols naturels des huiles d'olives vierges. Les résultats de cette étude ont permis de classer le pouvoir antioxydant de ces substances phénoliques dans l'ordre suivant : hydroxytyrosol > acide caféique > oleuropéine > tyrosol. Il est établi que parmi les phénols de l'huile d'olive les *ortho*-diphenols possèdent un meilleur effet antioxydant, spécialement l'hydroxytyrosol et l'acide caféique. Au contraire, le tyrosol et autres mono phénols, tels que l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide *o*-coumarique et l'acide *p*-coumarique ont un faible effet antioxydant (De Leonardis *et al.*, 2005).

### II.4 Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Il existe de nombreuses méthodes de mesure de l'activité antioxydante (Diouf *et al.*, 2006) qui peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydant de composés phénoliques, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes les plus utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (Li *et al.*, 1999).

D'autres méthodes, moins pratiques, nécessitent la pulvérisation successive de deux solutions différentes. Une méthode à phase inversée de la chromatographie (CCM), combinée avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH). En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydante, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydante. La génération de radical libre est directement reliée avec l'oxydation dans les nourritures et les systèmes biologiques. Les méthodes principales comportent le balayage des radicaux de superoxyde ( $O_2^{\bullet}$ ) ; le balayage de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ; le balayage d'acide hypochloreux (HOCl) ; le balayage du radical d'hydroxyle (OH) ou le balayage du radical de peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ) (Maamri, 2008).

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi, on effectue différents tests de mesure de pouvoir antioxydant (Belkheiri, 2010). Les antioxydants peuvent réagir à différentes étapes du procédé d'oxydation et ils peuvent avoir plus d'un mécanisme d'action, ce qui ne facilite pas leur classification (Frankel Meyer, 2000).

Selon Huang *et al.* (2005), les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions mises en jeu : les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT, Hydrogen Atom Transfer), dans

lequel l'antioxydant et le substrat sont en compétition pour les radicaux peroxy ( $\text{ROO}^\bullet$ ), et les tests basés sur le transfert d'un électron (SET, Single Electron Transfer), dans le cadre desquels on mesure la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant, qui change de couleur quand il est réduit.

### **II.5 La stabilité oxydative au Rancimat**

La stabilité oxydante est estimée en mesurant le temps d'induction d'oxydation, sur un appareillage de Rancimat (Susana *Casal et al.*, 2010). C'est une version automatique du test de suif, qui permet de déterminer le temps de résistance d'un échantillon à l'oxydation par une mesure conductimétrique. Un flux d'air fixé à 20 l/h travers un échantillon chauffé à 150°C. Les composés volatils générés par l'oxydation sont recueillis dans un récipient contenant de l'eau distillée. L'augmentation de la conductivité de l'eau est mesurée et elle représente la résistance de l'échantillon à l'oxydation (Rolland, 2004).

# Chapitre III

## Effet de maturité sur la composition des olives et de leurs huiles



## Chapitre III : L'effet de maturation sur la composition des olives et de leurs huiles.

Le durcissement du noyau est la première étape dans la formation biologique de l'huile dans l'olive. À partir de ce moment-là, l'huile se forme et son volume augmente au fur et à mesure du développement végétatif du fruit, jusqu'à parvenir à un maximum caractéristique de chaque variété ; les caractéristiques sensorielles authentiques apparaissant avant le début du processus de maturation. Le fait d'effectuer des prélèvements périodiques avant l'époque traditionnelle de maturation fournit des indications utiles pour obtenir la plus grande quantité possible d'une huile présentant les meilleures caractéristiques. Ces prélèvements permettent en effet de calculer le moment optimal pour commencer la récolte sur une base analytique et de connaître ainsi l'évolution de la composition des fruits, du contenu en huile, de la capacité d'extraction, des propriétés sensorielles et d'un certain nombre de caractéristiques analytiques d'intérêt (COI, 2011).

### III.1 L'effet de maturation sur le poids des olives

Pendant la maturation, les olives se développent et montrent des changements de taille, de composition, de couleur, de texture et de saveur. La croissance et le développement d'olive durent 4 à 5 mois et incluent principalement et dans l'ordre les étapes suivantes: division rapide des cellules, développement de l'endocarpe, durcissement du fruit, développement de mésocarpe, accumulation intense d'huile et changement rapide de la texture de l'olive (Rotondi *et al.*, 2004). L'évolution de ce paramètre chez toutes les variétés montre une augmentation de poids au cours du développement (El Antari *et al.*, 2003).

### III.2 L'effet de maturation sur la teneur en huile

La teneur en huile du fruit sain, exprimée comme dix pour cent (10%) de matière fraîche, accrue généralement pendant la maturation (Mraicha *et al.*, 2011).

### III.3 L'effet de maturation sur la teneur en acides gras des huiles

Les acides gras sont les précurseurs d'oxydation de lipide particulièrement les polyinsaturés. Excepté les acides palmitiques et linoléiques, les teneurs des acides gras obtenues au cours de maturation des olives ne montrent aucune variation significative de contenu d'acide gras. L'acide palmitique diminue de manière significative de 17% au mois de décembre à 14,7% en janvier. Le contenu de l'acide linoléique a montré une augmentation de 10% à la première date (15 décembre) jusqu'à 13% à la dernière dates de récolte (15 janvier) (Bengana *et al.*, 2013).

### III.4 Effet de maturation sur la composition en triglycérides

Les triglycérides sont le principal constituant de l'huile d'olive. Au cours du processus de maturation, le taux de certains triglycérides montre une évolution significative. En effet, si les triglycérides du type OLL n'ont pas subi de changement notable, il n'en est pas de même pour les autres. Les taux des types trioléine (OOO), palmitooléolinoleine (POL), présentent une tendance à la chute de 10 à 13%, cette baisse est beaucoup plus prononcée avec les triglycérides du type PPL, dioléopalmitine (POO), dioléostéarine (SOO) qui peut atteindre 37%. Pour le reste des triglycérides identifiés, à savoir les dioléolinoléine (OLL), LLL et dioléolinoléine (OOL), il y a eu une augmentation notable, atteignant respectivement 31,48 et 70% (Grati *et al.*, 1999).

### III.5 L'effet de maturation sur la teneur en composés phénoliques

Les composés phénoliques changent qualitativement et quantitativement au cours de la maturation, la quantité de ces composés, particulièrement l'oleuropéine, diminue au cours de ce processus et elle peut atteindre zéro dans quelques cultivars quand les olives sont absolument mures. La réduction de la concentration en oleuropéine est accompagnée de l'accumulation de deux composés, à savoir le demethyloleuropeine et le glycoside d'acide elenolique (Ghanbari *et al.*, 2012).

Concernant le groupe de secoïridoïde, leur concentration diminue de manière significative de la première date de récolte à la dernière et les alcools phénoliques tendent à diminuer dans la concentration pendant le processus de maturation (Benganaa *et al.*, 2013).

Selon les résultats obtenus par Cerretani *et al.* (2004), les concentrations en polyphénols varient de 400 à 600 mg/Kg dans l'huile issues des olives vertes, de 270 à 350 mg/Kg dans l'huile issue des olives tournantes et de 200 à 400 mg/Kg dans l'huile issue des olives noires. Pour les *ortho*-diphénols, leurs teneurs varient de 100 à 200 mg/Kg dans l'huile issue des olives vertes, de 170 à 300 mg/Kg dans l'huile issue des olives tournantes et de 120 à 220 mg/Kg dans l'huile issue des olives noires.

### III.6 L'effet de maturation sur la qualité et la stabilité oxydative de l'huile

L'augmentation de la maturation des olives produit des pertes sur la qualité d'huile liée à sa stabilité oxydative. Cette qualité est influencée par différents paramètres telles que la composition en acides gras, en composants mineurs comme les chlorophylles qui peuvent agir en tant qu'antioxydant dans l'obscurité, en polyphénols et en tocophérols. Pendant le processus de maturation, l' $\alpha$ -tocophérol n'a montré aucune différence significative sur son contenu. Cependant, les chlorophylles et les polyphénols en huile d'olive tendent à diminuer aux étapes avancées de maturation. Cette perte en antioxydants rend l'huile vulnérable à l'oxydation. L'avancé des étapes de maturation ont pu affecter la qualité organoleptique

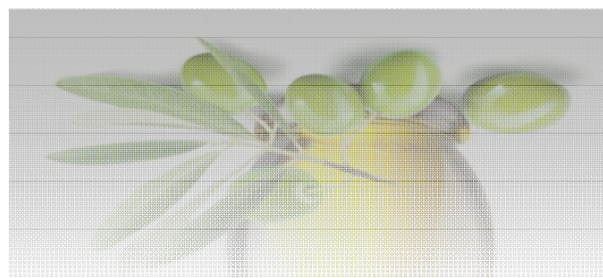
d'huile d'olive. En effet une diminution de la teneur en chlorophylle rend l'huile d'olive moins verte et plus jaune tandis que la diminution de la teneur en composés phénoliques produit une perte d'âcreté d'huile d'olive, ce que la rend plus douce dans la bouche, et ceci est un fait que les consommateurs n'apprécient pas (Bengana. *et al.*, 2013).

Selon l'étude effectuée par Benganaa *et al.* (2013), la stabilité oxydative diminue de la première (15 novembre) à la deuxième date de récolte (15 décembre). Cette tendance peut être expliquée par la perte d'antioxydants naturels (polyphénols). Après ces deux dates, la stabilité oxydative est restée constante en troisième et en quatrième date de récolte.

# Partie pratique

# Chapitre I

## Matériels et méthodes.





## Chapitre I : Matériel et méthodes.

### I.1 Le matériel végétal

Le matériel végétal est les olives de la variété *Chemlal* qui ont été récoltées à différents stades de maturité (tableau II), au niveau de la ferme Mira Abderrahmane à Tazmalt. Les huiles ont été extraites au niveau de l'institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) à Takrietz commune de Souk-Oufella, au moyen d'un oléodoseur (Levi-Dilen-Lerogsame), par les étapes suivantes : effeuillage, lavage avec de l'eau potable, broyage au moyen d'un broyeur à marteau, le malaxage est réalisé en deux temps (15mn sans eau et 15 min après l'ajout de 50ml d'eau à 30°C pour 920 g de pate d'olive ) et une centrifugation verticale à pâmer a été effectuée avec une vitesse de 4845 tours/min pendant 1 à 3mn . Après une décantation, les huiles obtenues, sont mises dans des flacons en verre fumé, remplis, étiquetés et conservés à une température de 4°C.

**Tableau II** : Les dates de récolte et d'extraction des différents échantillons.

Variété	Stade de récolte	Date de récolte	Date d'extraction
<i>Chemlal</i>	Vert	28/11/2013	29/11/2013
	Vert tacheté	16/12/2013	17/12/2013
	Tournant	07/01/2014	09/01/2014
	noir	29/01/2014	30/01/2014.

### I.2 Les caractéristiques des olives de la variété *Chemlal*

#### I.2.1 La détermination de l'indice de maturité

L'Indice de maturité permet de calculer le moment optimal pour commencer la récolte sur une base analytique et de connaître ainsi l'évolution de la composition des fruits, du contenu en huile, de la capacité d'extraction, des propriétés sensorielles et d'un certain nombre de caractéristiques analytiques d'intérêt (COI, 2011).

La méthode effectuée est celle de la Station Expérimentale Venta Del Llano de l'IFAPA de Mengibar (Jaén, Espagne) qui est basée sur un système de ponctuation correspondant à chaque étape de coloration (échelle de coloration de 0 à 7) du péricarpe et du mésocarpe. Cent fruits sont choisis au hasard sur un lot d'un Kilogramme d'olives (COI, 2001).

L'indice de maturité est donné par la formule suivante :

$$IM = [(0*n0) + (1*n1) + (2*n2) + (3*n3) + (4*n4) + (5*n5) + (6*n6) + (7*n7)]$$

Où **n** est la fréquence sur cent olives et les chiffres de 0 à 7 représentent

Classe 0 : peau vert intense ;

Classe 1 : peau vert jaunâtre ;

Classe 2 : peau verte avec des taches rougeâtres sur moins de la moitié du fruit ;

Classe 3 : peau rougeâtre ou violette sur plus de la moitié du fruit ;

Classe 4 : peau noire et pulpe blanche ;

Classe 5 : peau noire et pulpe violette sans atteindre le centre de la pulpe ;

Classe 6 : peau noire et pulpe violette sans atteindre le noyau ;

Classe 7 : peau noire et pulpe violette sur toute la pulpe jusqu'au noyau.

### I.2.2 Le poids des fruits

Le poids des fruits est déterminé selon la méthode décrite par El Antari *et al.* (2003) qui consiste à mesurer ce poids par une balance de précision à 0.001g, sur le même lot utilisé pour l'indice de maturité. Un échantillon de cent fruits est prélevé au hasard puis pesé.

### I.2.3 L'humidité des fruits

#### ➤ Principe

Cette méthode consiste à provoquer l'évaporation de l'eau par l'introduction d'un échantillon de 70g dans une étuve à 105°C pendant un temps suffisant pour permettre l'élimination de l'eau (ISO 662, 1996).

#### ➤ Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H\% = [(P-PS) / (P-P_0)] * 100$$

H% : humidité des fruits exprimée en pourcentage ;

P et Ps : poids du creuset plus la prise d'essai avant et après séchage, respectivement ;

P<sub>0</sub> : poids du creuset vide.

### I.2.4 Détermination de la teneur en huile

#### ➤ Principe

Ce paramètre est déterminé au moyen de la méthode au Soxhlet. Cette méthode est appliquée à une pâte d'olive séchée à l'étuve (100°C pendant 4h).

#### ➤ Mode opératoire

Introduire la pâte sèche dans un broyeur couvert pour désagréger rapidement les solides sans séparer l'huile. Peser entre 20 g de pâte et l'introduire dans une cartouche

d'extraction. Placer la cartouche dans l'extracteur, l'hexane utilisé comme solvant d'extraction, Extraire l'échantillon par reflux pendant au moins 5-6 h. Le mélange huile-solvant est distillé directement dans l'évaporateur rotatif. Le restes du solvant dans l'huile est éliminé par le séchage dans l'étuve à 105°C jusqu'à obtention d'un poids constant (COI, 2011).

➤ **Expression des résultats**

La teneur en huile (TH) est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{TH (\%)} = (\text{poids de l'huile/poids matière sèche}) * 100$$

### **I.3 Extraction des composés phénoliques des olives et de leurs huiles**

#### **I.3.1 Extraction des composés phénoliques des olives**

Le protocole de Mc Donald *et al.* (2001) est adopté avec des modifications ; 5g du poids sec sont extrait avec 17,5ml de méthanol. Après un broyage et une homogénéisation pendant 20min et une centrifugation à 3000 tpm/5min, le culot subit une seconde extraction dans les mêmes conditions. Les extraits sont combinés (première extraction avec la deuxième), lavés avec de l'hexane (15ml) à deux reprises avec une agitation pendant 5 ou 10 min. Enfin, on réalise une filtration.

#### **I.3.2 Extraction des composés phénoliques des huiles**

L'extraction des composés phénoliques est faite selon le protocole réalisé par Favati *et al.* (1994), un gramme de l'huile d'olive est dissout dans 10ml d'hexane, cette solution est introduite dans une colonne d'octadecyle C18 préalablement activé avec 6ml de méthanol et 10ml d'hexane. Après un lavage avec 6 ml de l'hexane, la fraction polaire est éluée avec du méthanol à 95%.

### **I.4 Dosage des composés phénoliques des olives et de leurs huiles**

➤ **Principe**

Le dosage des composés phénoliques est basé sur leur capacité de réduire les acides phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PM}_{12}\text{O}_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ), présent dans le réactif de Folin-Ciocalteu en oxyde de tungstène et molybdène (couleur bleu) (Vuorela, 2005).

➤ **Mode opératoire**

La concentration en composés phénoliques des extraits méthanoliques des échantillons des olives et de leurs huiles est déterminée suivant la méthode de Favati *et al.* (1994). Dans une fiole de 20 ml, 2ml de l'extrait methanoliques, 5 ml d'eau distillée et 0,5ml du Folin-Ciocalteu sont mélangés. Après 3 min, 4 ml de solution de carbonate de sodium (10%) sont

ajoutés. On ajuste à 20 ml avec de l'eau distillée et la solution est mise à l'obscurité pendant 90 min. Après filtration de la solution, la lecture des absorbances est faite à 765nm.

➤ **Expression des résultats**

Les concentrations en composés phénoliques sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage (figure 02 annexe 5) obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Ces concentrations sont exprimées en mg d'E.A.G./kg pour les olives et leurs huiles.

### **I.5 Le dosage des *ortho*-diphénols des olives et de leurs huiles**

➤ **Principe**

Il y a formation d'un complexe jaune entre les *ortho*-diphénols et les ions molybdates, qui absorbent au voisinage de 370 nm (Olivier *et al.*, 2004).

➤ **Mode opératoire**

La concentration en *ortho*-diphénols des extraits méthanoliques des échantillons des olives et de leurs huiles est déterminée suivant la méthode de Bendini *et al.* (2003) avec quelques modifications. Un volume de 4ml d'extrait méthanolique est additionné de 1 ml de la solution de molybdate de sodium dihydraté à 5% dans l'éthanol-eau (v/v), le mélange est agité vigoureusement au vortex pendant 1min, puis mis à l'obscurité pendant 15min et enfin filtré. L'absorbance est mesurée à 370 nm.

➤ **Expression des résultats**

Les concentrations en *ortho*-diphénols sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage (figure 03 annexe 5) obtenue en utilisant l'acide caféique comme standard. Ces concentrations sont exprimées en mg d'E.A.C./kg.

### **I.6 L'évaluation de l'activité antioxydante pour les extraits méthanolique des olives et de leurs huiles**

#### **I.6.1 L'activité scavenger sur le radical DPPH**

➤ **Principe**

Elle est estimée par le piégeage du radical 2,2-diphényl 1-picryl-hydrazyl (DPPH) par le transfert de l'atome d'hydrogène, donnant ainsi une couleur jaune (Molyneux, 2004).

➤ **Mode opératoire**

Une quantité de 1,5 ml d'une solution méthanolique du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) à  $10^{-4}$ M est ajoutée à une même quantité d'extrait méthanolique. L'absorbance est mesurée à 515 nm après 60 min d'incubation à l'obscurité. Un blanc est préparé en mélangeant une quantité de la solution de DPPH avec la même quantité de méthanol (Amro *et al.*, 2002).

➤ **Expression des résultats**

L'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la formule suivante :

$$AA(\%) = [(Abs_b - Abs_E) / Abs_T] * 100$$

AA : activité antiradicalaire (en% d'inhibition) ;

Abs<sub>b</sub> : absorbance de blanc ;

Abs<sub>E</sub> : absorbance de l'échantillon.

### **I.6.2 L'activité scavenger sur le radical ABTS**

➤ **Principe**

Cette activité consiste à la réduction du radical-cation 2,2-azobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique acide) plus connu sous le nom d'ABTS. Ce dernier est mis en solution aqueuse avec le persulfate de potassium pour générer le radical ABTS<sup>+•</sup>, ce radical est stable et coloré présente une absorbance maximale à 734 nm, une fois que le radical est formé, l'antioxydant est ajouté, la diminution de l'intensité de la couleur bleu verte du radical cationique traduit son interaction avec un électron ou un hydrogène provenant de l'échantillon antioxydant (Marc *et al.*, 2004).

➤ **Mode opératoire**

Une solution d'ABTS<sup>+•</sup> à 7mM et 2,45mM persulfate du potassium est préparée dans 25 ml d'eau distillée, cette solution est incubée à l'obscurité pendant 12-16h à température ambiante avant d'être utilisée. Cette solution est diluée avec de l'éthanol pour avoir une solution d'absorbance final de  $0,70 \pm 0,10$  à 734 nm.

Un volume de 100 µl d'extrait est additionné à un volume de 1000 µl ABTS<sup>+•</sup>. La décoloration par rapport à un blanc ou 100µl de solvant d'extraction (méthanol) a été ajouté à 100µl de la solution d'ABTS<sup>+</sup>. L'absorbance est mesuré à 734 nm après 2,5 min exactement à l'obscurité (De Marco *et al.*, 2007).

➤ **Expression des résultats**

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+•</sup> selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition de l'ABTS}^{+•}(\%) = [(A_b - A_e) / A_b] * 100$$

A<sub>b</sub> : absorbance du blanc;

A<sub>e</sub> : absorbance d'extrait.

### I.6.3 Le pouvoir réducteur

#### ➤ Principe

Ce pouvoir mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique  $\text{Fe}^+(\text{FeCl}_3)$  en fer ferreux  $\text{Fe}^+(\text{FeCl}_2)$  en présence d'un agent chromogène ferricyanure de potassium  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ . Ceci se traduit par le virage de la couleur jaune de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant (Chou *et al.*, 2003).

#### ➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des olives et de leurs huiles a été déterminé selon la méthode de Lugasi *et al.* (2003). Un volume de 1 ml d'extrait méthanolique est additionné à 2,5 ml de tampon phosphate (0,2M, Ph = 6,6) et 2,5ml de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  à 1%. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min, puis 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés au mélange avant d'être centrifugé à 5000 tours/min pendant 10 min. Dans un tube à essai, sont mélangés 2,5 ml de surnageant, 2,5ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure de ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0,1%. Après 10 min, l'absorbance est mesurée à 700 nm.

#### ➤ Expression des résultats

Le pouvoir réducteur des échantillons est exprimé en termes des absorbance.

### I.7 L'étude statistique :

Chaque analyse a été réalisée en trois essais et les résultats représentent la moyenne des trois essais. Une analyse de la variance ANOVA (test LSD) par le logiciel STATISTICA 5.5 est utilisée pour la comparaison des résultats et le degré de signification des données est pris à la probabilité ( $p < 0,05$ ).

# Chapitre II

## Résultats et discussion



## Chapitre II : Résultats et discussion

### II.1 Les caractéristiques des olives de la variété *Chemlal*

Les résultats de l'indice de maturité, de poids, de l'humidité des olives des différents échantillons étudiés sont représentés dans le tableau III :

**Tableau III:** L'évolution des caractéristiques des olives de la variété *Chemlal*.

Stade de maturité	Indice de maturité	Poids des olives	Humidité des olives	Teneur en huile
<b>Vert</b>	1,39 ± 0,01 <sup>a</sup>	120,51 ± 1,35 <sup>a</sup>	23,72 ± 0,71 <sup>b</sup>	27,11 ± 1,04 <sup>a</sup>
<b>Vert tacheté</b>	2,52 ± 0,02 <sup>b</sup>	131,1 ± 1,2 <sup>b</sup>	23 ± 0,93 <sup>b</sup>	30,51 ± 0,17 <sup>b</sup>
<b>Tournant</b>	3,24 ± 0,04 <sup>c</sup>	160,86 ± 0,51 <sup>c</sup>	20,21 ± 0,48 <sup>a</sup>	34,50 ± 1,27 <sup>c</sup>
<b>Noir</b>	4,71 ± 0,03 <sup>d</sup>	165,25 ± 0,7 <sup>d</sup>	20,33 ± 0,46 <sup>a</sup>	35,56 ± 0,98 <sup>c</sup>

\* les valeurs portant des lettres différentes au niveau de la même colonne présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

#### II.1.1 l'indice de maturité

La maturation est l'un des facteurs les plus importants associés à l'évaluation de la qualité des fruits (olives) et exerce une influence sur la composition et la teneur de l'huile d'olive (Criado *et al.*, 2007 ; Matos *et al.*, 2007).

Les résultats montrent une différence significative ( $p < 0,05$ ) de l'indice de maturité des olives à différents stades de maturité (allant du vert au noir). Cette différence est liée à la date de récolte, cela confirme que l'indice de maturité augmente progressivement au cours de la maturation. Dans le premier stade, l'indice est le plus faible (1,39), cet indice augmente jusqu'au stade noir (4,71). Cette évolution est confirmée par plusieurs auteurs (Sanchez Casas *et al.*, 1999 ; Bengana *et al.*, 2013 ; Jiménez *et al.*, 2013).

Comme la maturation progresse, l'activité photosynthétique diminue et les concentrations à la fois des chlorophylles et des caroténoïdes diminuent progressivement. A la fin du processus de maturation, le fruit devient violet ou pourpre due à l'accumulation des anthocyanes (Dag *et al.*, 2011).

#### II.1.2 Le poids

Le poids moyen des olives diffère significativement ( $p < 0,05$ ) selon le stade de maturité (tableau III). Ce poids augmente progressivement au cours de maturation des fruits. En effet, le poids le plus faible est enregistré au stade vert (120,51g), alors que le plus élevé est noté pour le stade noir (165,25g). Selon Conde *et al.* (2008), cette augmentation peut être expliquée par l'augmentation de la matière sèche.



Le poids de l'olive dépend de l'indice de maturité des olives ainsi que des teneurs en matière sèche, en huile et en eau. Le poids des fruits est très influencé par les conditions environnementales (Jiménez *et al.*, 2013).

### I.2.3 L'humidité

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les stades de maturité sauf entre le stade vert et vert tacheté et entre le stade tournant et le stade noir. La teneur en eau des fruits a diminué durant la maturation : de 23,72 % pour le stade vert à 20,33% pour le stade noir (tableau III).

Selon Machado *et al.* (2013), l'humidité des olives varie en fonction du traitement d'irrigation appliqué et diminue au cours de maturation.

### II.1.4 La teneur en huile

Les résultats obtenus (tableau III) montrent que la teneur en huile des olives augmente au cours de la maturation des fruits. On remarque que la teneur la plus faible est notée pour le stade vert avec un pourcentage de 27,11% de la matière sèche, cette teneur augmente d'un stade à un autre pour atteindre un maximum de 35,56% de matière sèche au stade noir.

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre la teneur en huile des olives selon le stade de maturité sauf entre les stades tournant et noir.

Cette augmentation peut être attribuée à l'activité continue de biosynthèse des triglycérides jusqu'à ce que le fruit atteigne la pleine maturation (Saadati *et al.*, 2013).

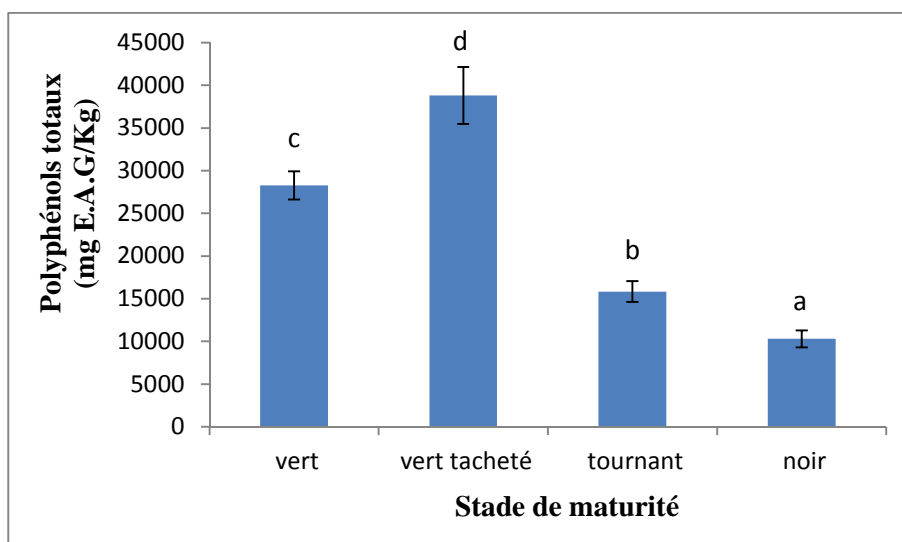
Selon Bengana *et al.* (2013), le contenu d'huile d'olive augmente de 35% jusqu'à 42%, correspondant respectivement à la première date de récolte (15 novembre) et à la troisième date de récolte (26 décembre), et puis le contenu d'huile d'olive diminue à 33% à la dernière date de récolte (15 janvier).

Les teneurs en huile des olives peuvent montrer des différences dues à la variété, aux conditions climatiques, à la teneur en eau et au temps de récolte (De Mendoza *et al.*, 2013).

Selon Jiménez *et al.* (2013), l'humidité est un paramètre important qui devrait être considéré car les fruits avec une teneur élevée en eau donnent généralement une pâte pauvre en huile, affectant ainsi négativement la qualité et la quantité de l'huile.

### II.2 Les composés phénoliques des extraits méthanoliques des olives

Les teneurs des différents échantillons des extraits méthanoliques des olives en composés phénoliques exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par kilogramme des olives révèlent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) d'un stade à un autre (figure 01).



**Figure 01** : Teneur en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des olives de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité.

\*les valeurs portant des lettres différentes présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types.

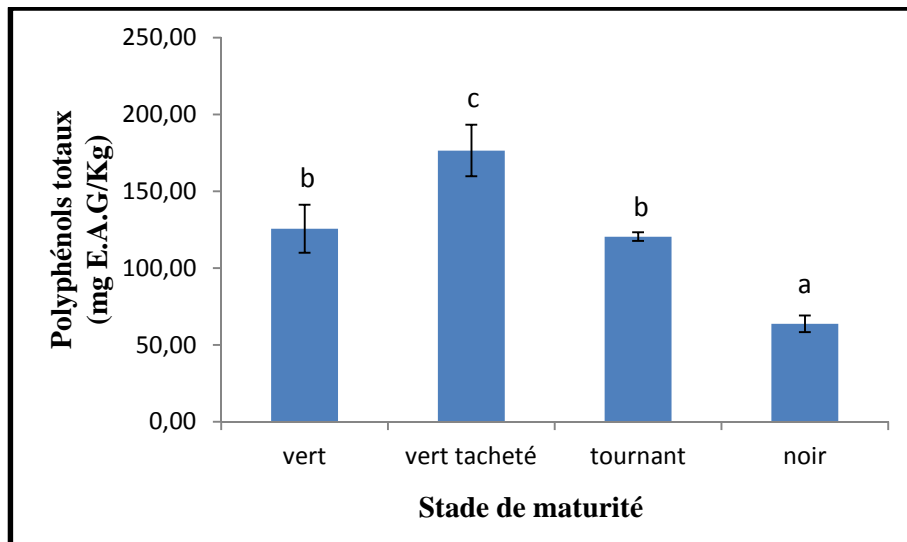
D'après nos résultats, la teneur la plus élevée en composés phénoliques est enregistrée au stade vert tacheté (38818,59 mg/Kg), suivi d'une diminution progressive pour atteindre la plus faible teneur au stade noir (10293 mg/Kg). Les olives du stade vert contiennent des teneurs supérieures aux stades tournant et noir.

Selon plusieurs auteurs (Dagdelen *et al.*, 2013 ; Machado *et al.*, 2013), les concentrations des composés phénoliques des olives diminuent sensiblement pendant leur maturation ( Selon Machado *et al.* (2013), le type et la quantité de polyphénols des olives varient considérablement selon la variété, l'étape de la maturation et les conditions de développement. Ces auteurs ont aussi enregistré une diminution de l'activité enzymatique de L-phénylalanine ammonia-lyase (PAL), responsable de la synthèse des composés phénoliques durant la maturation des olives, ce qui peut être à l'origine de la diminution de ces composés.

L'étude de Ziogas *et al.* (2010) sur l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des olives de deux variétés grecques (*Chondrolia*, *Amfissis*) a montré que les concentrations en polyphénols des olives changent selon leur maturation et l'altitude.

### II.3 Les composés phénoliques des extrais méthanoliques des huiles

Les résultats de la quantification des composés phénoliques totaux sont illustrés dans la figure 02. L'analyse statistique montre une différence significative entre les stades de maturité sauf entre le stade vert et le tournant.



**Figure 02:** Teneur en polyphénols totaux des huiles de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité des olives.

\*les valeurs portant des lettres différentes présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types.

D'après nos résultats, on remarque que la teneur la plus élevée en composés phénoliques des huiles est enregistrée au stade vert tacheté (176,48mg/Kg), suivi d'une diminution progressive pour atteindre la plus faible teneur au stade noir (63,76 mg/Kg). Les olives de stade vert contiennent presque les mêmes teneurs que le stade tournant.

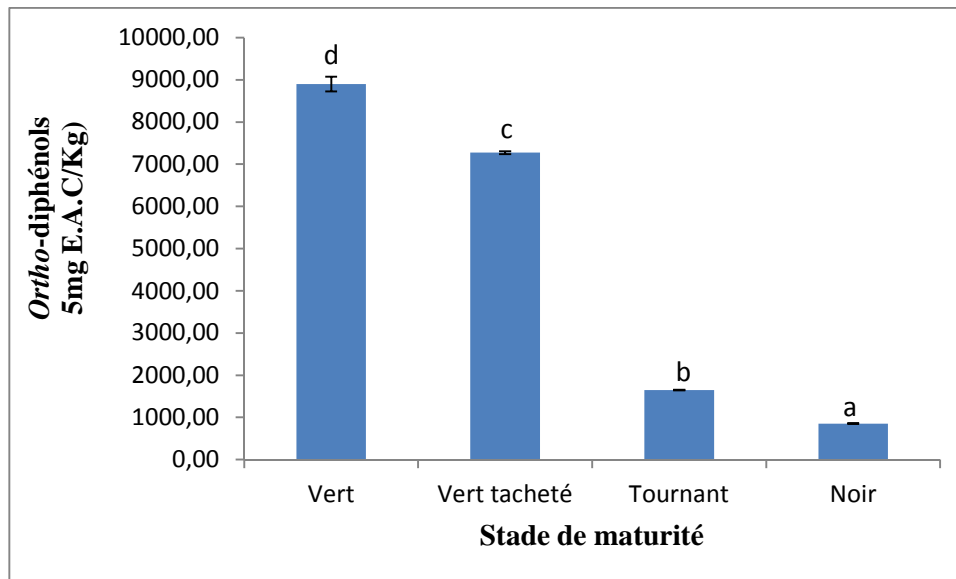
Une diminution de la teneur en composés phénoliques totaux au cours de la maturation a été obtenue par Laribi *et al.* (2009) ayant travaillé sur la variété *Chemlal* et par Dagdelen *et al.* (2013) qui ont travaillé sur trois variétés turques (*Ayvalik*, *Domat*, *Gemlik*).

La diminution de l'activité enzymatique de L-phénylalanine ammonia-lyase (PAL) responsable de la synthèse des composés phénoliques durant la maturation des olives peut être la cause de cette diminution (Tovar *et al.*, 2002).

#### II.4 Les *ortho*-diphénols des extraits méthanoliques des olives

Les teneurs des extraits méthanoliques des olives en *ortho*-diphénols exprimés en milligramme équivalent d'acide caféique par kilogramme d'olives révèlent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) d'un stade à un autre (figure 03).

D'après nos résultats, on remarque que la teneur la plus élevée en *ortho*-diphénols est enregistrée au stade vert (8900,33 mg/Kg), suivi d'une diminution progressive pour atteindre un minimum de 855,07mg/Kg au stade noir.



**Figure 03** : Teneur en *ortho*-diphénols des olives de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité.

\*les valeurs portant des lettres différentes présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types.

Cette diminution en *ortho*-diphénols au cours de la maturation a été constatée par Machado *et al.* (2013), qui ont étudié l'influence de maturité des olives de la variété portugaise *Cobrançosa* et de régime d'irrigation sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante des olives.

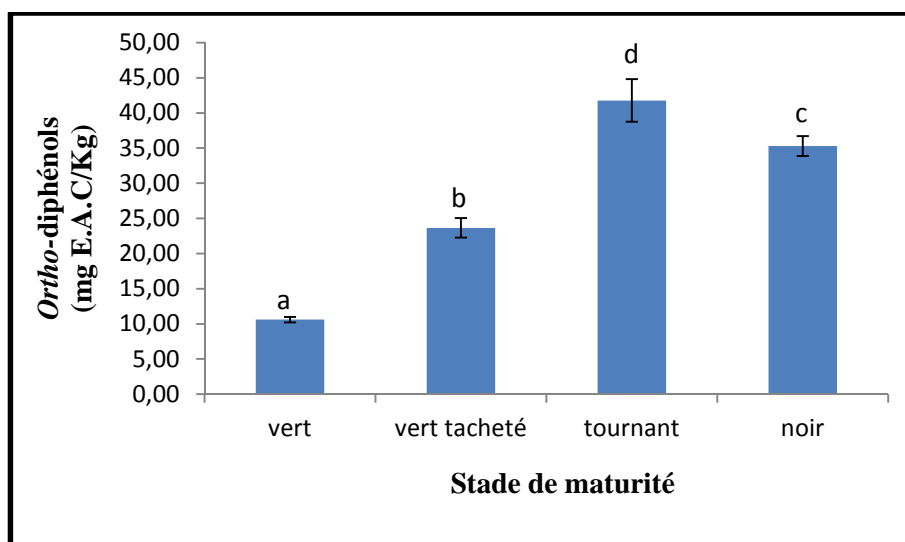
### II.5 Les *ortho*-diphénols des extraits méthanoliques des huiles

Les résultats de quantification des *ortho*-diphénols sont illustrés dans la figure 04. L'analyse statistique indique que les teneurs en *ortho*-diphénols des extraits méthanoliques des huiles analysées diffèrent significativement selon le degré de maturité ( $p < 0,05$ ).

Les résultats obtenus indiquent que les huiles du stade tournant et noir présentent des teneurs élevées (41,77 et 35,29 mg/Kg respectivement).

La teneur la plus faible est enregistrée pour l'huile issue de la première date de récolte (stade vert) avec une concentration de 10,60 mg/Kg, suivi d'une augmentation au stade vert tacheté avec une teneur de 23,65 mg/Kg.

L'étude de Laribi *et al.* (2009) sur la même variété a montré que la plus faible teneur en *ortho*-diphénols se trouve au stade tournant, tandis que la plus élevée est notée au stade vert tacheté.



**Figure 04** : Teneur en *ortho*-diphénols des huiles de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité des olives.

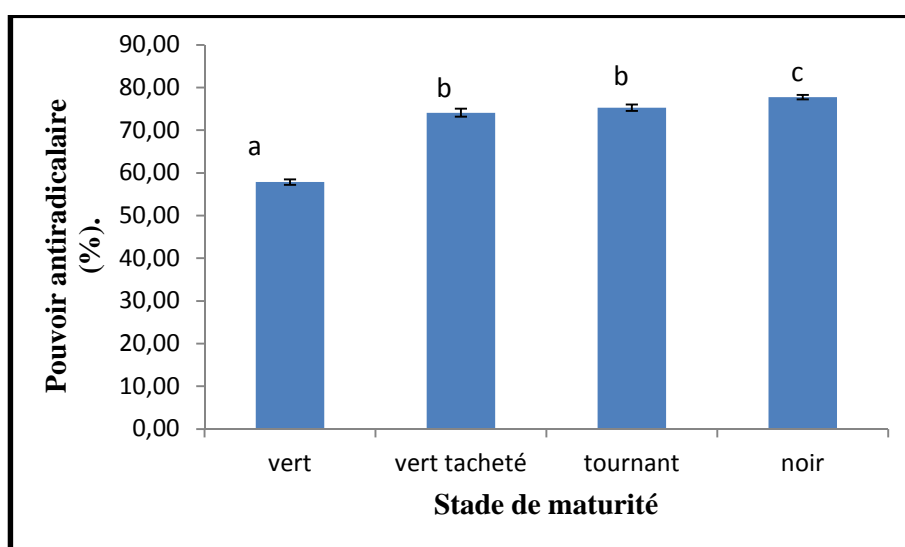
\*les valeurs portant des lettres différentes présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types.

Nos échantillons d'huiles d'olive présentent des taux en *ortho*-diphénols plus faibles que ceux des huiles d'olive tunisiennes (entre 105 et 217,6 mg/Kg) étudiées par Baccouri *et al.* (2008).

## II.6 L'activité antiradicalaire sur le radical DPPH des extraits méthanoliques des olives

Les résultats du pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH des échantillons des olives sont représentés dans la figure 05.



**Figure 05** : Pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH des olives de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité.

\*les valeurs portant des lettres différentes présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types

L'étude statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les stades de maturité sauf entre le stade vert tacheté et le stade tournant.

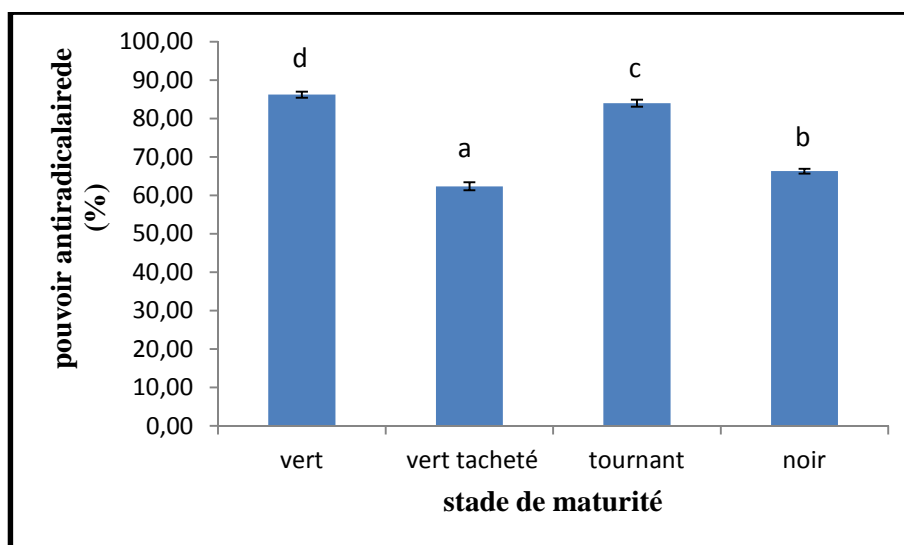
Le pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH des extraits méthanoliques des olives augmente au cours de la maturation. Le stade noir a un pourcentage le plus élevé (77,76%) et le stade vert possède la valeur la plus faible (57,87%).

Les résultats obtenus par Pérez-Bonilla *et al.* (2006) ont montré que l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine et le tyrosol, trois polyphénols prépondérants dans l'olive, possèdent une activité antioxydante sur le DPPH<sup>\*</sup> de l'ordre de 76,7 %, 20,4 %, et 3,7 %, respectivement.

Des corrélations négatives sont obtenues entre cette activité et les concentrations en polyphénols totaux ( $r = -0,39$ ), ainsi que celles en *ortho*-diphénols ( $r = -0,79$ ).

### II.7 L'activité antiradicalaire sur le radical DPPH des extraits méthanoliques des huiles

Les résultats du pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH des échantillons d'huile sont représentés dans la figure 06. L'étude statistique montre une différence significative entre les stades de maturité.



**Figure 06 :** Pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH des huiles de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité des olives.

\*les valeurs portant des lettres différentes présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types

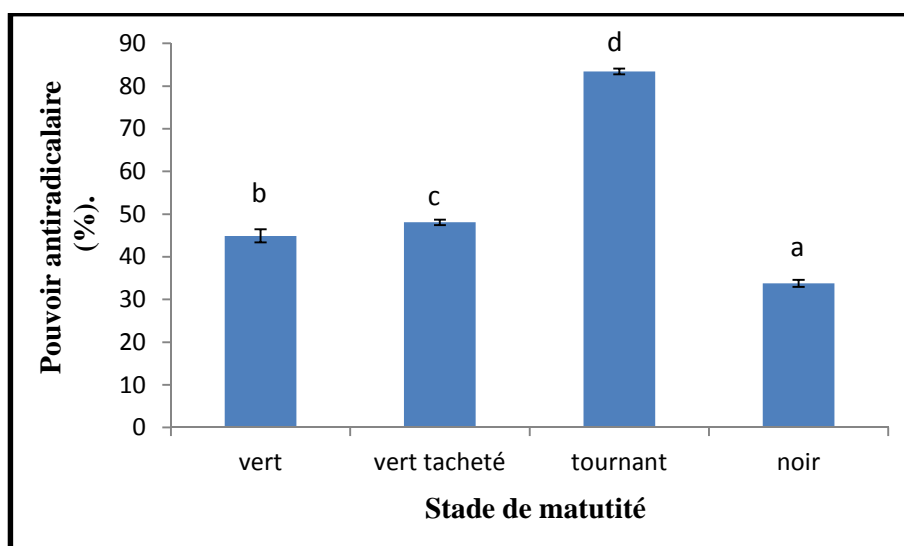
Les extraits méthanoliques des huiles issues des olives vertes et tournantes exercent les meilleures activités antiradicalaires (86,24 et 84,01%, respectivement) et les extraits issus des olives vertes tachetées et noires exercent des activités moins faibles (62,39 et 66,32% respectivement).

D'après Carrasco-Pancorbo *et al.* (2006), les *ortho*-diphénols de l'huile d'olive possèdent une forte activité antioxydante que les phénols monohydroxylés (tyrosol...). Cette propriété antioxydante élevée observée pour les *ortho*-diphénols est due à leur grande stabilité, par la formation de liaison hydrogène intramoléculaire entre leur groupement hydroxyle libre et le radical phénoxy (Visioli et Galli, 1998 ; ollivier *et al.*, 2004).

L'activité antioxydante est influencée par le degré de maturation et l'infestation des olives par la mouche d'olive qui peut utiliser les composés phénoliques comme nourriture nécessaire pour maintenir sa vie et pour accomplir son développement et métamorphose larvaires (Mraicha *et al.*, 2010).

### II.8 L'activité scavenger sur le radical ABTS des extraits méthanoliques des olives

Les résultats du pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS exprimés en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+•</sup> sont représentés dans la figure 07. L'étude statistique montre une différence significative entre les différents stades de maturité.



**Figure 07 :** Pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS des olives de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité.

\*les valeurs portant des différentes lettres présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types

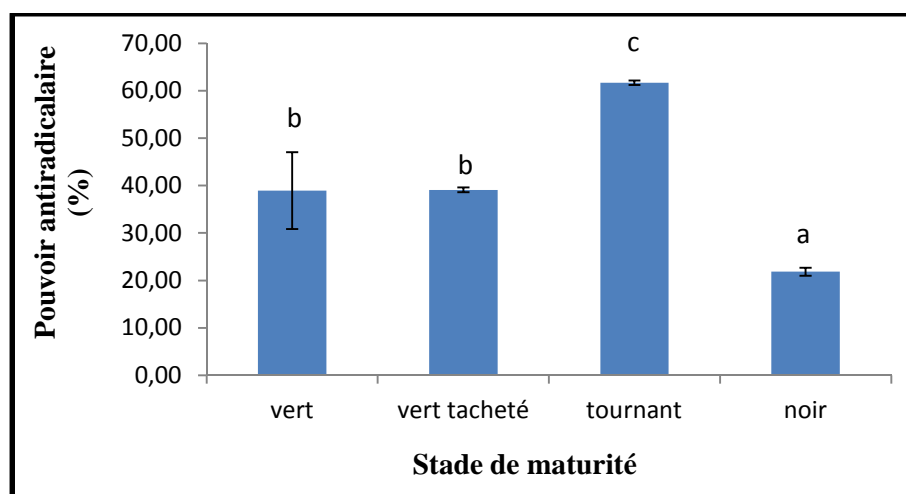
On remarque que le pourcentage de pouvoir antiradicalaire est plus élevé dans le stade tournant (82,76%) par rapport à d'autres stades : vert, vert tacheté et noir qui présentent respectivement 43,19 ; 48,7 et 33,65 %.

Par contre Machado *et al.* (2013) ont trouvé une diminution du pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS au cours de maturation, en travaillant sur la variété portugaise *Cobrançosa*.

Des corrélations négatives sont obtenues entre cette activité et les concentrations en polyphénols totaux ( $r = -0,11$ ), ainsi que celles en ortho-diphénols ( $r = -0,25$ ).

### II.9 L'activité scavenger sur le radical ABTS<sup>+</sup> des extraits méthanoliques des huiles

Les résultats du pouvoir antiradicalaire des extraits méthanoliques des huiles, exprimés en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> (figure 08) indiquent que tous les extraits d'huiles d'olive analysés au cours de maturation possèdent la capacité de piéger le radical ABTS<sup>+</sup>. Des différences significatives ( $p < 0,05$ ) sont relevées sauf entre le stade vert et vert tacheté.



**Figure 08** : Pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS des huiles de la variété *Chamlel* à différents stades de maturité.

\*les valeurs portant des différentes lettres présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types

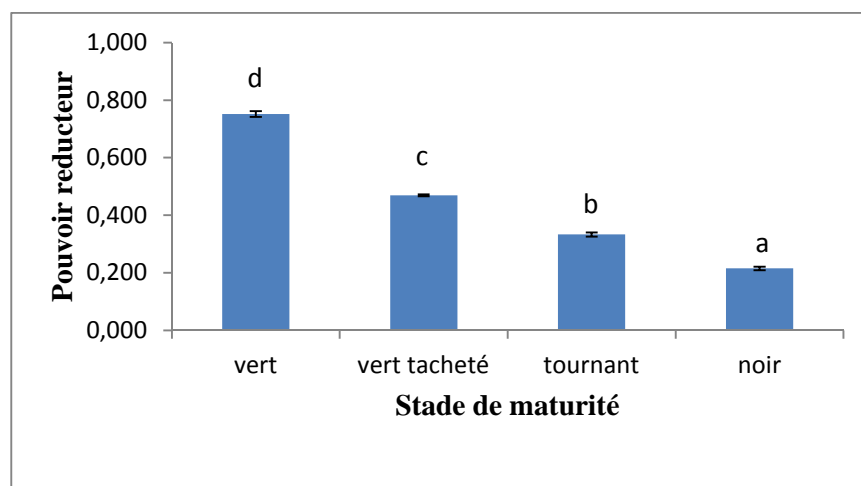
Des corrélations positives sont obtenues entre cette activité et les concentrations en polyphénols totaux ( $r = 0,29$ ), ainsi que celles en ortho-diphénols ( $r = 0,28$ ).

Une corrélation positive est obtenue entre l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques et les concentrations en polyphénols totaux avec un coefficient de corrélation de 0,79 (Samaniego Sanchez *et al.*, 2007).

### II.10 Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des olives

Nos résultats du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des olives montrent une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les différents stades de maturité des olives (figure 09).





**Figure 09** : Pouvoir réducteur des olives de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité.

\* les valeurs portantes des différentes lettres présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types

L'analyse des résultats montre que l'extrait méthanolique des olives du stade vert exerce la meilleure activité réductrice (0,752), par contre, le stade noir exerce le pouvoir le plus faible (0,215). On remarque une diminution progressive d'activité réductrice au cours de maturation.

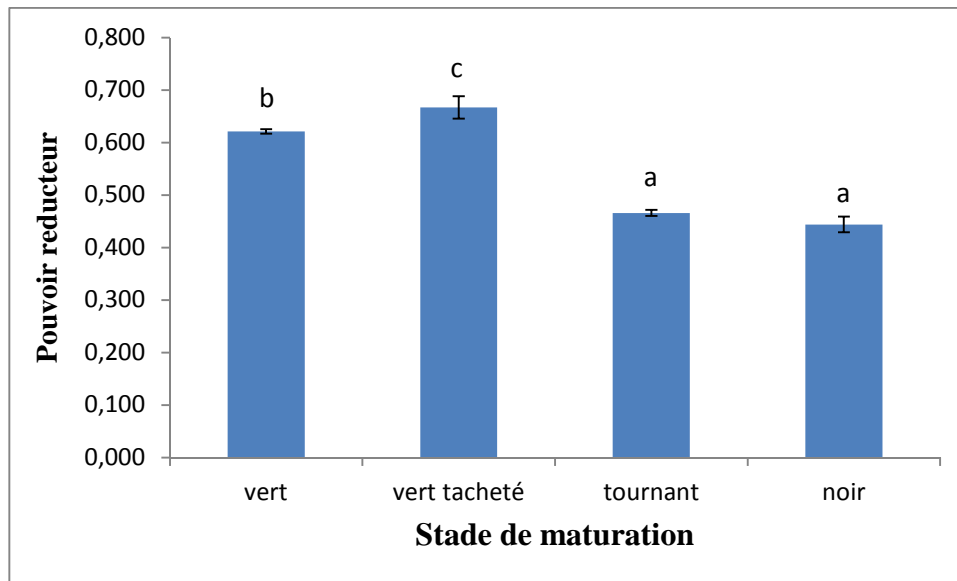
Des corrélations positives significatives sont obtenues entre l'activité d'ABTS et les concentrations en polyphénols avec un coefficient de 0,65 et en *ortho*-diphénols avec un de 0,93.

Il existe une corrélation entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante (Wong *et al.*, 2006 ; Turkmen *et al.*, 2007). Selon Lessage-Meesen *et al.* (2001), la présence des *ortho*-diphénols augmente la capacité antioxydante en améliorant la stabilité du radical phenoxy.

D'après Jessup *et al.* (1999), même les flavonoïdes sont capables de capturer directement les espèces radicalaires.

### II.11 Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des huiles

Nos résultats du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques d'huile d'olive montrent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les stades de maturation sauf entre le stade tournant et noir (figure 10).



**Figure 10 :** Pouvoir réducteur des huiles de la variété *Chemlal* à différents stades de maturité des olives.

\*les valeurs portant des différentes lettres présentent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

\*les barres verticales représentent les écarts types.

L'analyse des résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des olives du stade vert tacheté exerce la meilleure activité réductrice (0,667), par contre le stade noir exerce l'activité la plus faible (0,444). Après le stade vert tacheté, on remarque une diminution de l'activité réductrice au cours de maturation.

Une corrélation positive est obtenue entre cette activité et les concentrations en polyphénols totaux ( $r=0,84$ ), mais une corrélation négative entre elle et les teneurs en *ortho*-diphénols ( $r=-0,80$ ).

D'après Benkeblia *et al.* (2005), le pouvoir réducteur d'un extrait est essentiellement dû aux composés phénoliques. Une corrélation significative positive est obtenue entre le pouvoir réducteur des extraits d'huile d'olive et les teneurs en composés phénoliques totaux avec un coefficient de corrélation de 0,93.

# Conclusion

**Conclusion**

La présente étude a permis de déterminer quelques caractéristiques des olives de la variété *Chemlal*, teneur en composés phénoliques et activité antioxydante de ces olives et de leurs huiles à quatre stades de maturité (vert, vert tacheté, tournant et noir).

L'indice de maturité, le poids et la teneur en huile des olives augmentent significativement ( $p < 0,05$ ) avec l'avancement de l'époque de récolte, tandis que l'humidité des olives diminue du stade vert au stade noir.

Les résultats obtenus pour la teneur en composés phénoliques totaux et *ortho*-diphénols des olives et de leurs huiles changent au cours de la maturation des olives. La teneur en polyphénols des olives et de leurs huiles diminue au cours de la maturation, la quantité la plus élevée est enregistrée pour les olives issues de la deuxième récolte (stade vert tacheté). Le taux le plus important en *ortho*-diphénols est noté pour les olives du stade vert (8900,33 mg/kg), quant aux échantillons d'huile, la teneur la plus élevée est enregistrée pour l'huile issue des olives du stade tournant (41,77 mg/kg).

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des olives montre que : le stade vert présente la meilleure activité réductrice, les olives du stade tournant se caractérisent par un meilleur pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS par contre l'activité antiradicalaire sur le radical DPPH la plus importante activité est présentée par les olives du stade noir.

Pour ce qui est des échantillons d'huile, leurs activités sont inférieures à celles des olives pour l'ensemble des stades. L'huile issue des olives vertes tachetées présente une meilleure activité réductrice, le fort pouvoir antiradicalaire sur le radical ABTS est observé pour l'huile issue des olives tournantes, par contre la meilleure activité antiradicalaire sur le radical DPPH est notée pour l'huile issue des olives vertes.

En fin, il est intéressant et nécessaire de compléter ce travail par l'étude d'autres variétés de différentes régions, par l'analyse sensorielle qui est un élément fondamental dans l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive, d'étudier l'activité antimicrobienne de l'huile et de réaliser des tests *in vivo* pour une meilleure évaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive.

**A**

**Abbey M., Belling GB. and Noakes M.** 1993. Oxidation of low-density lipoproteins: Intraindividual variability and the effect of dietary linoleate supplementation. *Am J Clin Nutr*, 57: 391-398.

**Abidi S. L.** 2000. Chromatographic analysis of tocopherol-derived lipid antioxidants. *J.Chrom. A.*, 881: 197-216.

**Achat S., Valérie T., Madanic K., Chibane M., Elmaataouib M., Danglesa O. and Chemat F.** 2012. Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19: 777–786.

**Ajana H., El Antari A., and Hafidi A.** 1999. Evolution of biometric parameters and chemical composition of olives from the Moroccan Piccholine variety during fruit ripeness. *Grasas y Aceites*, 50: 1-6.

**Amron B., Aburjai T. and Al-khalil S.** 2002. Antioxidative and radical scavenging effects of cake extract. *Fitoterapia*, 73:456-461.

**ANGLES S.** 2006. L'huile d'olive : les voies vers la qualité dans les pays de l'Union européenne. Comunicación aceptada por el Comité Científico del III Congreso Internacional de la Red SIAL (Alimentación y Territorios).

**Assman G., Wahrburg U.** 1999. Effets des composants mineurs de l'huile d'olive sur la santé. Institut de recherche sur l'athérosclérose, Université de Munster, Allemagne : 1-8.

**Assmann G. and Wahrburg U.** 2000a. Effets des composés mineurs de l'huile d'olive sur la santé (2eme partie).

**B**

**Baccouri By B., Zarrouk W., Baccouri O., Guerfel M., Nouairi D., Krichene I., Daoud D. and Zarrouk M.** 2008. Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea L. subsp. Oleaster*), *Grasas Y Aceites*, 59 (4): 346-351.

**Baccouri O., Guerfel M., Baccouri B., Cerretani L., Bendini A., Lercker G., Zarrouk M., Daoud D. And Ben Miled .** 2008. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, 109: 743–754.

**Baldioli M., Servili M., Perretti G. and Montedoro G. F.** 1996. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 73(11): 1589-1593.

**Becerra-Herrera M., Sánchez-Astudillo M., Beltrán R. and Sayago A.** 2013. Determination of phenolic compounds in olive oil: new method based on liquid-liquid micro extraction and ultra-high performance liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry, *LWT - Food Science and Technology*.

**Bendini A., Bonoli M., Cerotoni L., Bigguzi B., Lercker G. and Toschi T. G.** 2003. Liquid-liquid and solid-phase extractions of phenols from virgin olives oil and their separation by chromatographic and electrophoretic methods. *Journal of Chromatography*, 985:425-433.

**Bengana M., Bakhouché A., Lozano-Sánchez J., Youcef A., Youyou A., Segura-Carretero A. and Fernández-Gutiérrez A.** 2013. Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of *Chemlal* extra-virgin olive oil. *Food Research International*, 54: 1868–1875.

**Benlemlih M. et Khanam J.** 2012. Polyphénols d'huile d'olive, trésors santé. ISBN 978-2-87211-117-6.

**Benyahia N. et Zein K.** 2003. Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. Contribution spéciale de Sustainable Business Associates (Suisse) à SESEC II.

**Bianchi G.** 2003. Lipids and phénols in table olives. *European Journal of Lipids and Science Technology*, 105 : 229-242.

**Boskou D.** 2006a. Characteristics of the olive tree and olive fruit: in olive oil, *Chemistry and Technology*, 17:505-512.

## C

**Carrasco-Pancorbo A., Gomez-Caravaca A.M., Cerretani L., Bendini A., Segura-Carretero A. and Fernandez-Gutierrez A.** 2006. Rapid quantification of the phenolic fraction of Spanish virgin olive oils by capillary electrophoresis with UV detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(21):7984-7991.

**Cavusoglu A. et Ohtar A.** 1994. Les effets des facteurs agronomiques et des conditions destockage avant la mouture sur la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 52 :18-24.

**Cerritani L., Bendini A., Rotondi A., Mari M., Lecker G. and Gallina Toschi T.G.** 2006. preliminary characterization of virgin olive oils obtained from different cultivars in Sardinia. *European Food Research Technology*, 222 : 1251-1258.

**Charbonier A.** 1996. L'huile d'olive, aliment santé. Ed Frison Roche, p 282.

**Chartzoulakis K.S.** 2005. Salinity and olive: Growth, salt tolerance, photosynthesis and yield. *Agricultural Water Management*, 78: 108–121.

- Chimi H.** 2006. Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. Trans. De Tech. En Agr, 144: 1- 4.
- Chou S. T., Chao W.W. and Chung Y.C.** 2003. Antioxydative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*Phaseolus Radiatus L. var. Aurea*). Journal of food science, 68(1):21-25.
- Cichelli A. and Pertesana G. P.,** 2004. High- performance liquid chromatographic analysis of chlorophylls, pheophytins and caroténoïds in virgin olive oil: chemometric approach to variety classification. J. Of Chrom. A, 1046: 141- 146.
- Cimato, A.**1990. Effect of agronomic factors on virgin olive oil quality. Olivae, 31: 20-31.
- C.O.I.** 2006. Guide de gestion de la qualité de l'industrie de l'huile d'olive : les moulins. Conseil Oléicole International.
- C.O.I.** 2011. Guide pour la détermination des caractéristiques des olives à huile. Conseil Oléicole International.
- C.O.I.** 2013. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. Conseil Oléicole International.
- Conde C., Delrot S. and Hernani G.** 2008. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. Journal of Plant Physiology. 165: 1545-1562.
- Costa F.** 2002. Non-pharmacological treatment of hypertension in women. Journal of hypertension, p 67-61.
- Criado M.N., M.J. Motilva., Goni M. and Romero M.P.** 2007. Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars. Food Chemistry, 100: 748–755
- Cuvelier C., Dotreppe O. and Istasse L.** 2003. Chimie, source alimentaires et dosage de la vitamine E. For Cont Art Synt, 147: 315-324.

## D

- Daga A., Keremb Z., Yogev N., Ziporia I., Laveec S. and Ben-David E.** 2011. Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. Scientia Horticulturae, 127: 358–366.
- Dagdelen A., Gülendäm T., Mehmet M Ö. and Ekrem D.** 2013. Phenolics profiles of olive fruits (*Olea europaea L.*) and oils from Ayvalık, Domat and Gemlik varieties at different ripening stages. Food Chemistry, 136: 41–45

**Delplanque B., Jusselin I., Le Roy B. and Motta C.** 1999. Intérêt nutritionnel des huiles d'olive. *Oléagineux corps gras lipids*, 6: 86-93.

**De leonardis A., Macciola V., Lembo G., Aretini A. and Nag A.,** 2005. Studies on oxidative stabilisation of lard by naturel antioxidants recovered from olive oil mill wastewater. *Food Chem*, 100: 998-1004

**De Marco E., Savarese M., Paduano A. and Sacchi R.** 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chemistry*, 104:858-867.

**De Mendoza M. F., Concepción De Miguel G., Marín Expósito J., Sánchez Casas J., Cano M. M., Martín Vertedor D. and Franco Baltasar M. N.** 2013. Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. *Food Chemistry* 141: 2575–2581.

**Detteri S. and Russo G.** 1993. Influenza della cultivar e del regime idrico su quantita e qualita dell 'olio di oliva. *Olivae*, 49:36-43.

**Di Giovacchino L.** 1996. Influence of extraction system on olive oil quality. *Olivae*, 63:52-63.

## E

**El Antari A., Hilal A., Boulouha. and Ajana H.** 2003a. evolution comparative de la qualité et de la composition acidique de l'huile d'olive chez quelques varieties medeteraneenes cultivées au Maroc. *Olivae*, 80:29-36.

**Esti M., Luciano C. and Ennio La Notte.** 1998. Phenolic Compounds in Different Olive Varieties. *Journal . Agric. Food Chem.* 46: 32-35.

## F

**Favati F., Caporale G. and Bertuccioli M.** 1994. Rapid determination of phenol content in extra virgin oil. *Grasas Y. Aceites*, 45:68-70.

**Fernández-Cuesta A., León L., Velasco, R. and De la Rosa.** 2013. Changes in squalene and sterols associated with olive maturation. *Food Research International*, 54: 1885–1889.

**Fernandez-Orozco R., Roca M., Gandul-Rojas B. And Gallardo-Guerrero L.** 2011.



DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv. Arbequina) during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24 :858–864.

**Fontaine E., Barnoud D., Schwebel C. and Leverve X.** 2002. Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique. Ed scientifiques et médicales Elsevier SAS, 11 : 411-20.

## G

**Gimino E., Castellote A. I., Lmuela- Raventos R. M., De la Torre C.M. and Lopez-saboter M. C.** 2001. The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics,  $\alpha$ - tocophérol,  $\beta$ - carotène) in virgin olive oil. *Food Chem*, 78: 207- 211.

**Ginesi C., Rosset C. and Pichard A.** 2002. Alimentation crétoise en suisse : de la théorie protectrice à la réalité pratique. *Rev. Méd.Suisse*, 360 : 23-33.

**Grail Jean.** 2003. lipides et corps gras alimentaires. ED TEC & DOC, Paris. ISBN 2-7430-05947.

**Grati Kammoun N., M Khlif., M Ayadi., H Rekik., B Rekik. And M.T Hamdi.** 1999. Evolution des caractéristiques chimiques de l'huile au cours de la maturation des olives. *Revue Ezzaitouna* 5 (1 Et 2).

## H

**Hagfors L., Leanderson P., Skoldstam L., Andersson J. and Johansson G.** 2003. Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. *Nutr J*, 2(5): 1-11.

## J

**JACOTOT B.** 1993. L'huile d'olive, de la gastronomie à la santé. Editions Artulen, 224p.

**Jiménez Brigida., Araceli Sánchez-Ortiz., Maria Luisa Lorenzo. and Ana Rivas .** 2013. Influence of fruit ripening on agronomic parameters, quality indices, sensory attributes and phenolic compounds of Picudo olive oils. *Food Research International* 54: 1860–1867.

**Judde A.**, 2004. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications, 11: 414-4183.

## K

**KAMMOUN GRATI .N ; KHLIF M; AYADI. M; REKIK. H; REKIK M.T. Aand HAMDI.** 1999. Evolution des caractéristiques chimiques de l'huile au cours de la maturation des olives. Revue Ezzaitouna 5 (1 et 2).

**Kiritsakis A.K.** 1990. Chemistry of olive oil. American Oil Chemists' Society, 25-55.

## L

**Laribi .R., Rovellini .P., Deflaoui .L., Aidli A., Mettouchi.S., Arrar L. and Tamendjari A.** 2009. Evolution of biophenolic compounds in virgin olive oil during olive ripening of Algerian cultivars. Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, 86(3):151-161

**Laurent A. and Barnouin A.** 2000. L'olive. Ed. Minevra,140p.

**Lesage-Meessen L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J-C., Lorquin J., Delattre M., Simon J-L., Asther M. and Labat M.** 2001. Simple phenolic content in olive oil residue as a function of extraction systems. Food chemistry, 75:501-507.

**Li P., Anu H., Jari S., Teijo Y. and Heikki V.** 1999. TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology. Chemistry and Nutrition, 10 : 123-187.

**LugasI A., Hovari J., and Biro I. and Biro L.** 2003. The role of antioxydant phytonutrients in the prevention of disases. Acta Biologoca Szegediensis, 47 (1-4):119-125.

## M

**Machado M., Felizardo C., Fernandes-Silva A., Fernando M. N. and Barros A.** 2013. Polyphenolic compounds, antioxidant activity and L-phenylalanine ammonia-lyase activity during ripening of olive cv. "Cobrançosa" under different irrigation regimes. Food Research International, 51: 412–421.

**Malheiro R., Sousa A., Casal S., Bento A. and Alberto Pereira J.** 2011. Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned table olives Food and Chemical Toxicology, 49: 450–457

**Manna C., D'Angelo S., Migliardi V., Loffredi E., Mazzoni O.,Morrica P., Galletti P. And Zappia V.** 2002. Protective effect of the phenolic fraction from virgin olive oils against oxidative stress in Human Cells. Journal of agricultural and food chemistry, 50: 6521-6526

**Marc F., Davin A., Deglene-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud m. and fritish P.** 2004. Methods d'évaluation du potential antioxydant dans les aliments. *Medecine Science*, 20 (4) :1-24.

**Marsilio V., Campestre C., Lanza B. and De Angelis M.** 2001. Sugar and polyol compositions of some European olive fruit varieties (*Olea europaea L.*) suitable for table olive purposes. *Food Chemistry*, 72: 485±490.

**Matos L.C., Cunha S.C. and Amaral J.S .** 2007. Chemometric characterization of three varietal olive oils (cvs.cobrançon, Madural and Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. *Food chemistry*, 102:406-414.

**Mc Donald., Prenzler P. D., Antolovich M. and Robards K.** 2001. Phenolic content and antioxydant activity of olive extracts. *Food chemistry*, 73: 73-84.

**Mendoza J. A.** 1999. Séparation des phases solides et liquide (analyse des différentes méthodes). Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oleotechnique. Conseil Oléicole International, 1-20.

**Middleton J.R.E., K. Chithan C.T. and Theoharis.** 2000. *Pharmacol. Rev*, 52(4):673-751.

**Mraicha F., Ksantinia M., Zouch O., Ayadi M., Sayadic S. and Bouaziz M .** 2010. Effect of olive fruit fly infestation on the quality of olive oil from *Chemlali* cultivar during ripening .*Food and Chemical Toxicology*, 48: 3235–3241.

**Molyneux P.** 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activitynSongklankarin *Journal of Science Technology*, 26(2):211-219.

## R

**Ghanbari R., Farooq A., M. Alkharfy K., Gilani A-H. and Saari N.** 2012.Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea L.*). *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 3291-3340

**Rayan D. and Robards K.**1998. phenolic compounds in olives. *Analyst*, 123:31-44.

**Rayan D., Robards K. and Lavee S.**1998. Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Oivae*, 72 : 28-30.

**Rayan D., Antolovich K., Prenzler P., Robards K. and Lavee S.** 2002. Biotransformation of phenolic componds in *Olea Europaea L.* *Scientia horticulturae*, 92: 147-176.

**Rice-Evans C.A., Miller N. G.,Bolwell P.G., Bramley P. M., Pridham G. B.** 1995. J .Free Rad. Res.; 22(4): 375-383.

**Rodis P.S., Karatha V.T., Mantzavinou A.** 2002. Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of agricultural and food chemistry*,50: 596-601.

**Rolland Y.** 2004. Antioxydants naturels végétaux. *O.C.L*, 11: 419- 424.

## S

**Saadatia S., N. Moallemia., Mortazavia S.M.H. and Seyyednejad S.M.** 2013 .Effects of zinc and boron foliar application on soluble carbohydrate and oil contents of three olive cultivars during fruit ripening. *Scientia Horticulturae* 164: 30–34.

**Saitta M., Salvo F., Di Bella G., Dugo G. And Loredana L.** 2009. Minor compounds in the phenolic fraction of virgin olive oils. *Food chemistry*,112: 525-532.

**Samaniego Sanchez C., Troncoso Gonzalez.A.M., Garcia-Parrilla. M.C., Quesada Granados.J.J., Lopez Garcia de la Serrana H. and Lopez Artinez.M.C.** 2007. Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica Chimica Acta*, 593:103-107.

**Servili M., Selvaggini R., Esposito S., Taticchi A., Mantodoro G.F. and Morrozi 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. *J. Of Chrom. A*, 1054: 113-127.

**Soni M.G., Burdock GA., Christian M.S., Bitler C.M. and Creac R.** 2006. Safety assessment of aqueous olive pulp extract as an antioxidant or antimicrobial agent in foods. *Food and Chemical Toxicology*. 44: 903–915.

**Soufi O., Concepción R. and Louaileche H.** 2014. *Ortho*-diphenol profile and antioxidant activity of Algerian black olive cultivars: Effect of dry salting process. *Food Chemistry* 157: 504–5.

**Susana C., Malheiro R., Sendas A., Beatriz P.P. Oliveira. And Pereira J.A.** 2010. Olive oil stability under deep-frying conditions .*Food and Chemical Toxicology* 48: 2972–2979.

## T

**Tanouti K., Serghini-Caid H., Chaieb B., Harkous M. and Elamrani A.** 2011. Amélioration qualitative d’huiles d’olive produites dans le Maroc oriental. *LES Technologies de laboratoire*. Volume 6, N°22.

**Terouzia W., De Luca M., OussamaA., Patumi M., Ioele G. and Ragno G.** 2011. A discriminant method for classification of Moroccan olive varieties by using direct FT-IR analysis of the mesocarp section. *Vibrational Spectroscopy* 56: 123–128.

**Theodora-Ioanna L., Lazou Andriana E., Vassilia J., Sinanoglou. and Evangelos S. Lazos .** 2013. Phenolic Extracts from Wild Olive Leaves and Their Potential as Edible Oils Antioxidants. *Foods*.

**Torres M.M. and Maestri D.M.** 2006. The effect of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from traslasierra Valley (Cordoba, Argentina). *Food chemistry*, 96: 507-511.

**Tovar M.J., Paz Romero M., Girona J. and Motilva M.J.** 2002. L-Phénylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phénolics in developing olive (*Olea europaea* L cvArbequina) fruit grown under different irrigation regimes. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 82:892-898.

**Turkmen N., Velioglu Y.S., Sari F. and Polat G.** 2007. Effect of extraction conditions on measured total polyphenols contents and antioxydant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12:484-496.

## P

**Parvaiz M., Hussain K., Shoaib M., William G., Tufail M., Hussain Z., Gohar D and Imtiaz S.** 2013. Therapeutic Significance of Olive *Olea europaea* L. (Oleaceae Family) .*Global Journal of Pharmacology* 7 (3): 333-336.

**Paul Iserin.** 2001. *Encyclopédie des plantes médicinales*. Larrousse.

**Perrin J.L.** 1992. Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'huile d'olive. *Rev. Fran. Corps Gras*, (1/2): 25-31.

**Perez-Bonilla M., Salido S., Teris A, van Beek., Pablo, J., Linares-Palomino Altarejos J., Nogueras M. and Sanchez A.** 2006. Isolation and identification of radical scavengers in olive tree (*Olea europaea*) wood. *Journal of Chromatography A*, 1112: 311-318.

## O

**Ollivier D., Richard M., Guérére M., Pinatel C., Petit C. and Artaud J.,** 2003. Les caractéristiques physico-chimiques des huiles de l'AOC « huile d'olive de Nyons », *Chimus. Oléic*, 34: 12-17

**Ouachich A. and Chimi H.** 2007. Guide du producteur de l'huile d'olive in production de l'huile d'olive, 346 :321-329.

**Ouni F., Taamalli A., Gómez-Caravaca A-M., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. and Zarrouk M.** 2011. Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils according to their geographical origin by a rapid and resolute LC-ESI-TOF MS method. *Food Chemistry* 127: 1263-1267.

## U

**Uzzan A. 1994.** huile d'olive. In : manuel des cors gras. Lavoisier, Ed. Technique et Documents,763-766.

## V

**Van den Berg R., van Vliet T., Broekmans WM. and coll. 2001.** A vegetable/fruit concentrate with high antioxidant capacity has no effect on biomarkers of antioxidant status in male smokers. *J Nutr*, 131(6):1714-1722.

**Vasileios Ziogas., Tanou G., Molassiotis A., Diamantidis G. and Vasilakakis M. 2010.** Antioxidant and free radical-scavenging activities of phenolic extracts of olive fruits. *Food Chemistry*, 120: 1097–1103.

**Veillet S., Tomao V. and Chemat F. (2010a)** Ultrasounds assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chemistry*. Publication acceptée.

**Visioli F. and Galli C. 2002.** Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med. Res. Rev*, 22: 65-75.10.

**Vuorela S. 2005.** Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics.

## W

**Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W. and Chen F. 2006.** A systematic survey of antioxidant activity of 30 chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxydant powerassay. *Food chemistry*, 97:705-711.

## X

**Xavier PAGÈS-XATART-PARÈS. 2012.** Technologies des corps gras (huiles et graisses végétales). Institut des corps gras. Université Claude Bernard Lyon 1.

# Références bibliographiques

# Annexes

The word "Annexes" is rendered in a large, bold, serif font. The letters are filled with a vibrant, multi-colored pattern that resembles a close-up of a textured surface, possibly a piece of fabric or a natural material. The colors include shades of green, yellow, blue, and purple. Below the main text, there is a faint, semi-transparent reflection of the word, creating a sense of depth and symmetry.



**Tableau I:** Les composés phénoliques de l'olive (Ghanbari *et al.*, 2012).

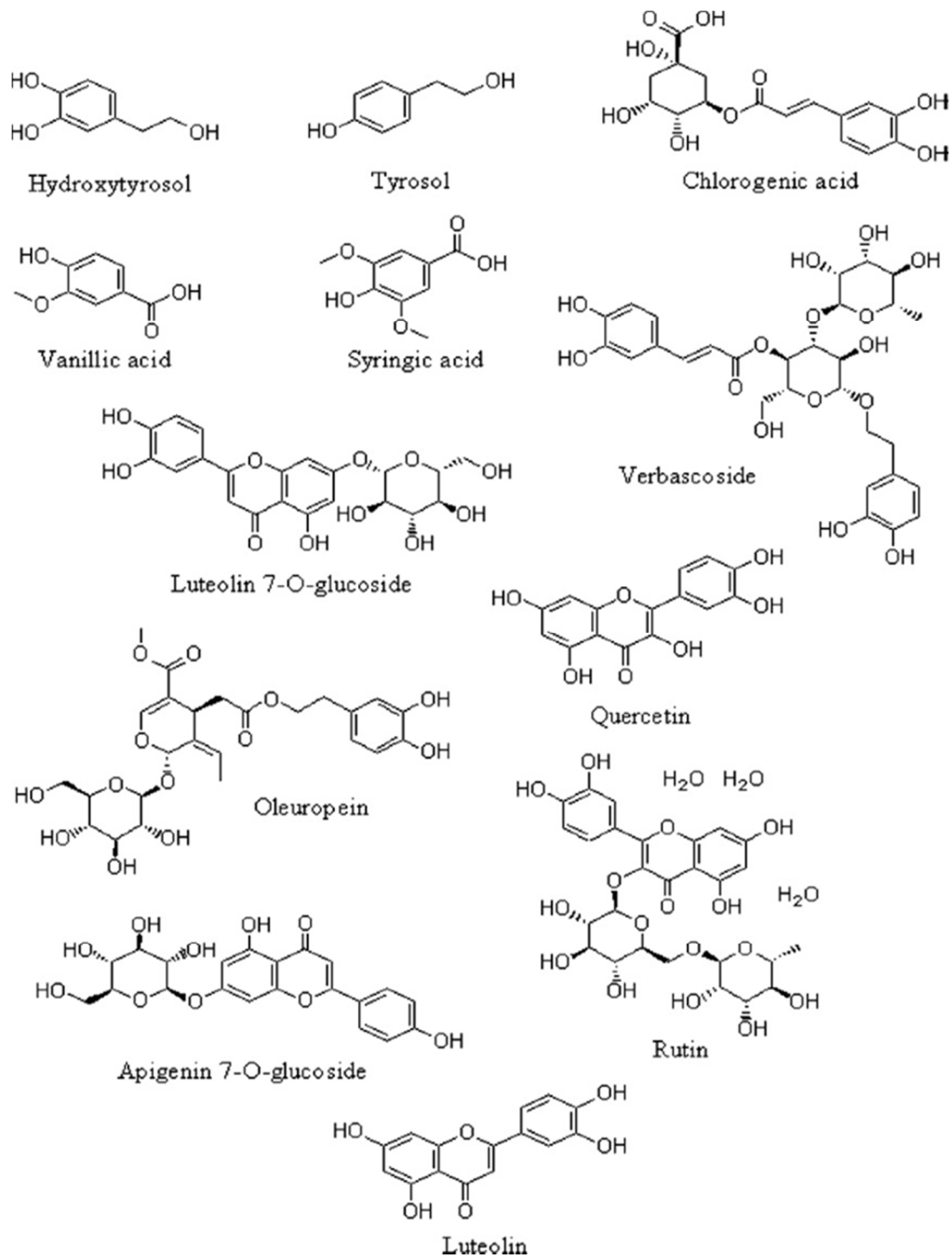
<b>composés phénoliques</b>
<p>Les Flavonols            Quercetin-3-rutinoside, Luteolin-7-glucoside, Luteolin-5-glucoside,            Apigenin-7-glucoside</p>
<p>Acides phénoliques            Acide chlorogénique, acide cafféique, acide p-hydroxybenzoïque, acide Protocatechuic,            acide de Vanilic, acide syringique, acide p-coumarique, acide o-coumarique, acide            férulique, acide sinapique, acide benzoïque, acide cinnamique, acide gallique</p>
<p>Alcools phénoliques            éthanol (3,4-Dihydroxyphenyl) (3,4-DHPEA), éthanol (de p-Hydroxyphenyl) (p-HPEA)            [2.31.38]            Secoiridoids            Oleuropéine, Demethyloteuropein, Ligstroside, Nuzhenide</p>
<p>Dérivés acides hydroxycinnamiques            Verbascoside</p>

**Tableaux II:** Les huiles d'olive et critères de qualité (COI, 2013).

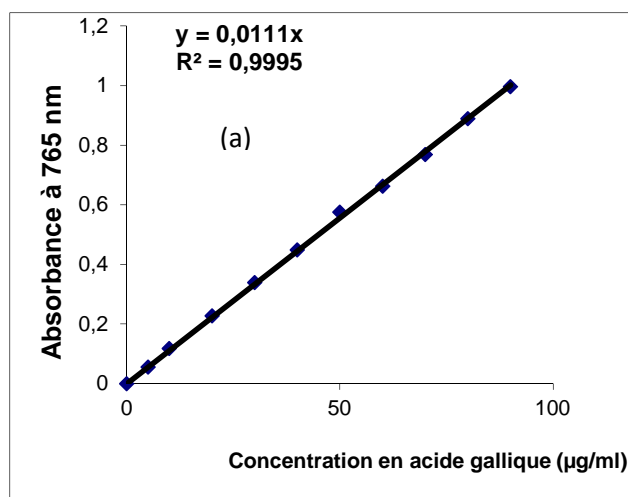
Catégorie	Acidité (%)	Indice de peroxyde (mEqO <sub>2</sub> /Kg)	Extinction spécifique dans l'UV			Caractéristiques organoleptique	
			270 nm	Dk	232nm	Médiane en défaut-majoritaire	Médiane de fruité
Huile d'olive extra vierge	≤0,8	≤20	≤0,22	0,01	20,51	Me = 0	Me>0
Huile d'olive vierge	2	20	0,25	0,01	2,60	0 < Me ≤ 3,5	Me > 0
Huile d'olive vierge courante	≤ 3,3	≤20	≤0,30			3,5 < Me ≤ 6	
Huile d'olive vierge lampante	> 3,3	≤Non limité				Me > 6,0	
Huile d'olive raffinée	≤ 0,3	≤5		≤1,10			
Huile d'olive	≤1,0	≤15		≤0,90			
Huile de grignons d'olive brute	non limitée	Non limité					
Huile de grignons d'olive raffinée	≤0,3	≤ 5		≤2			
Huile de grignons d'olive	≤1.0	≤ 15	≤1.70				

**Tableau III:** Les acides gras présents dans l'huile d'olive (COI, 2013).

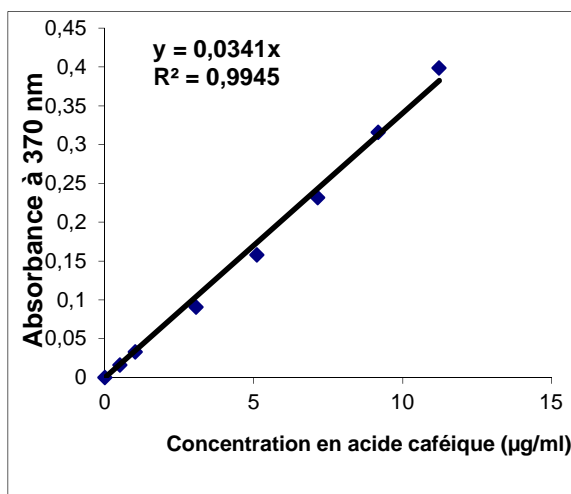
Acide gras	Nomenclature	Teneur dans l'huile (%)
acide myristique	C14:0	$\leq 0,05$
acide palmitique	C16:0	7,5-20,0
acide palmitoléique	C16:1 n-7	0,3-3,5
acide heptadécanoïque	C17:0	$\leq 0,3$
acide stéarique	C18:0	0,5-50
acide oléique	C18:1 n-9	55,0-83,0
acide linoléique	C18:2 n-6	3,5-21,0
acide $\alpha$ -linoléique	C18:3 n-3	$\leq 1,0$
acide arachidonique	C20:0	$\leq 0,6$
acide gadoléique	C20:0	$\leq 0,4$
acide béhénique	C22:0	$\leq 0,2$
acide lignocérique	C24:0	$\leq 0,2$



**Figure 01:** Les Formules chimiques des principaux composés phénoliques présents dans les huiles d'olive (Malheiroa *et al.*, 2011).



**Figure 02** : Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques totaux.



**Figure 03** : Courbes d'étalonnage pour le dosage des *Ortho*-diphénols.

## Résumé

La présente étude a pour objectif d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques des olives et de leurs huiles de la variété *Chemlal* à quatre stades de maturité (vert, vert tacheté, tournant et noir).

Le poids, le taux d'humidité, le rendement en huile des olives ainsi que la teneur en composés phénoliques totaux des olives et de leurs huiles sont influencés par le degré de maturité.

L'analyse quantitative des extraits phénoliques a révélé une richesse des olives en polyphénols totaux et ortho-diphénols par rapport à leurs huiles.

Le pouvoir antioxydant de ces extraits a été évalué *in vitro* par les activités antiradicalaires (DPPH et ABTS) ainsi que le pouvoir réducteur. Les résultats obtenus ont montré que les polyphénols ont une grande capacité de piéger les radicaux libres (DPPH et ABTS) et les forts pouvoirs antioxydant sont observés pour les échantillons d'olives.

**Mots clés:** Huile d'olive, maturation, extraits phénoliques, espèces réactives, activité antioxydante

## Summary

The present study aims to evaluate the antioxydant capacity of the extracts methanolic of olives and their oils of the *Chemlal* variety at four stages of maturity (green, mottled green, turning and black).

The weight, the content water, the oil yield of olives as well as the content of total phenolic compounds of olives and their oils are influenced by the degree of maturity.

The quantitative analysis of the phenolic extracts revealed a richness of olives out of total polyphenols and ortho-diphenols compared to their oils.

The antioxydant capacity of these extracts was evaluated *in vitro* by the activities antiradicalaires (DPPH and ABTS) as well as the reduction. The results obtained showed that the polyphenols have a great capacity to trap the free radicals (DPPH and ABTS) and the strong capacities antioxydant are observed for the olive samples.

**Key words:** Olive oil, maturation, extracts phenolic, reactive species, antioxydant activity