

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Biologique  
Option : Sciences des Corps Gras



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Etude des effets de la cuisson sur l'activité  
antioxydante de l'huile d'olive**

Présenté par :

**BELLIL Nadia & SAHRAOUI Ali Messaoud**

Soutenu le : **30 Juin 2019**

Devant le jury composé de :

Mr. TAMENDJARI A.

M<sup>me</sup>. MADDI née SOUFI O.

M<sup>me</sup>. MEZIANI S.

Professeur

MCB

MCB

Président

Promotrice

Examinatrice

## *Remerciements*

*Nous remercions Dieu de nous avoir donné le courage d'aller au bout de nos objectifs.*

*Au terme de ce travail nous tenons à exprimer nos remerciements et nos sincères gratitude à notre promotrice Mme SOUFI. O qui a dirigé ce travail et nous a fait bénéficier de son expérience et de ses conseils.*

*Nos remerciements vont également :*

*A monsieur TAMENDJARI. A pour l'honneur qu'il nous fait de présider notre jury et à Mme MEZIANI. S d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*En fin nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes précieux parents pour leur soutien et leur sacrifice tout au long de mes études.*

*Mes chères sœurs : Yasmina, Lynda et Fadila*

*Mes adorable neveux et nièces.*

*Tout le reste de la famille : tantes, oncles, cousines, cousins et leurs familles.*

*A tous mes ami(e)s et  
camarades Et à toutes la  
promotion CG 2019*

*Nadia*

# *Dédicaces*

*J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail :  
Mes précieux parents pour leur soutien et leur sacrifice  
tout au long de ma vie.*

*Mes frères et sœurs*

*Mes adorable neveux et nièces.*

*Et à toute ma famille*

*A toute la promo SCG 2019*

*A tous les amis*

*Alilou*

## Liste des abréviations

**CEE** : Communauté Economique Européenne.

**COI** : Conseil Oléicole International.

**Da**: Dalton.

**LDL**: Low Density Lipoprotein.

**Me**: Médiane.

**Meq** : Milliéquivalent

**NaOH** : Hydroxyde d'hydrogène.

**Ppm** : partie par million.

**Rpm** : Rotation par minute.

**UV**: Ultraviolet.

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Les souches microbiennes testées	<b>19</b>
<b>II</b>	Paramètres physico-chimiques des huiles analysées.	<b>21</b>
<b>III</b>	Activité antimicrobienne des deux variétés d'huiles d'olives	<b>31</b>

## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Schéma représentatif de la structure de l'olive	<b>03</b>
<b>2</b>	Structure de la chlorophylle	<b>07</b>
<b>3</b>	Structure de $\beta$ -carotène	<b>07</b>
<b>4</b>	Structure des principaux antioxydants de l'huile d'olive	<b>10</b>
<b>5</b>	Teneur en composés phénoliques totaux des huiles étudiées lors de la cuisson	<b>23</b>
<b>6</b>	Teneur en flavonoïdes des huiles étudiées au cours de la cuisson	<b>24</b>
<b>7</b>	Teneur en flavonols des huiles analysées au cours de la cuisson	<b>24</b>
<b>8</b>	Teneur en ortho-diphénols des huiles étudiées au cours de la cuisson	<b>25</b>
<b>9</b>	Teneur en chlorophylles des huiles analysées au cours de la cuisson	<b>26</b>
<b>10</b>	Teneur en caroténoïdes des huiles analysées au cours de la cuisson	<b>27</b>
<b>11</b>	Teneur en pouvoir réducteur des huiles analysées au cours de la cuisson	<b>28</b>
<b>12</b>	Activité anti-radicalaire des huiles analysées au cours de la cuisson	<b>29</b>
<b>13</b>	Inhibition de peroxyde d'hydrogène des huiles analysées lors de la cuisson	<b>30</b>
<b>14</b>	Pouvoir chélateur du fer des huiles analysées au cours de la cuisson	<b>30</b>

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

## Synthèse bibliographique

I. Définition et structure de l'olive..... 3

I.1. Epicarpe ..... 3

I.2. Mésocarpe..... 3

I.3. Endocarpe ..... 3

II. Composition chimique de l'olive ..... 3

III. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive ..... 4

III.1. Récolte des olives ..... 4

III.2. Effeuilage et lavage ..... 4

III.3. Broyage ..... 4

III.4. Malaxage..... 4

IV. Définition de l'huile d'olive ..... 5

IV.1. Production mondiale d'huile d'olive ..... 5

IV.2. Classification des huiles d'olive ..... 5

IV.2.1. Les huiles d'olives vierges ..... 5

IV.2.1. L'huile d'olive raffinée..... 5

V. Composition chimique de l'huile d'olive..... 6

V.1. Fraction saponifiable..... 6

V.1.1 Acides gras ..... 6

V.1.2 Triglycérides ..... 6

V.2. La fraction insaponifiable ..... 6

V.2.1. Stérols ..... 6

V.2.2. Tocophérols..... 6

V.2.3. Pigments..... 6

V.2.4. Les composants aromatiques ..... 7

V.2.5. Autres composés ..... 7

VI. Aspects nutritionnel et thérapeutique de l'huile d'olive.....	8
VII. Principaux antioxydant d'huile d'olive .....	8
VII.1. Composés phénoliques .....	8
VII.2. Tocophérols .....	8
VII.3. Caroténoïdes.....	9
VII.4. Squalène .....	9
VIII. L'oxydation de l'huile d'olive .....	11
IX. Effets de la cuisson des corps gras.....	11

## **Matériel et méthodes**

I. Echantillonnage .....	13
II. Analyses physicochimiques .....	13
II.1. L'acidité .....	13
II.2. Indice de peroxyde .....	14
II.3. Détermination des Absorbances dans l'ultraviolet.....	15
III. Dosage des antioxydants.....	15
III.1. Préparation des extraits .....	15
III.2. Composés phénoliques totaux.....	15
III.3. Flavonoïdes .....	16
III.4. Flavonols.....	16
III.5. <i>Ortho</i> -diphénols .....	16
III.6. Pigments.....	16
IV. Activité antioxydante.....	17
IV.1. Pouvoir réducteur .....	17
IV.2. Détermination de l'activité anti radicalaire .....	17
IV.3. Détermination de l'activité inhibitrice de peroxyde d'hydrogène.....	17
IV.4. Pouvoir chélateur du fer.....	18
V. Activité antimicrobienne.....	18
V.1. Les souches microbiennes.....	18
V.2. Préparation du milieu de culture .....	19
V.3. Préparation de l'inoculum.....	19
V.4. Diffusion en puits.....	19
VI. Analyse statistique .....	20



## Résultats et discussion

I. Analyses physico-chimiques .....	21
I.1. Acidité .....	21
I.2. Indice de peroxyde.....	22
I.3. L'absorbance spécifique à l'ultraviolet .....	22
II. Dosage des antioxydants .....	23
II.1. Composés phénoliques totaux.....	23
II.2. Flavonoïdes .....	23
II.3. Flavonols .....	24
II.4. <i>Ortho</i> -diphénols .....	25
II.5. Pigments.....	25
II.5.1 Teneur en chlorophylles .....	25
II.5.2. Teneur en caroténoïdes.....	26
III. Activité antioxydante .....	27
III.1. Pouvoir réducteur.....	27
III.2. Activité anti-radicalaire.....	28
III.3. Inhibition du peroxyde d'hydrogène.....	29
III.4. Pouvoir chélateur du fer .....	30
IV. Activité antimicrobienne .....	31
Conclusion .....	32
Références bibliographiques	
Annexes	

# **INTRODUCTION**

## **Introduction**

Depuis des millénaires, l'olivier a façonné les paysages, l'histoire, la culture et la gastronomie du bassin méditerranéen.

En Algérie, l'*Olea europaea* constitue l'une des principales espèces fruitières cultivées, avec environ 383.443 hectares, occupant ainsi 40% des superficies cultivées comparativement aux autres cultures fruitières. Actuellement, l'olivier est cultivé à travers l'ensemble du territoire national, allant des zones montagneuses aux zones arides et sahariennes (DSA, 2018).

L'huile d'olive occupe une position unique parmi les huiles alimentaires, elle est consommée dans son état brut en dehors de tout processus de raffinage. Ainsi, elle maintient ses composants naturels ayant un grand intérêt biologique tels que les polyphénols, réputés pour leur potentiel antioxydant puissant (Ryan *et al.*,1998 ; Dhifi *et al.*,2005).

La qualité de l'huile d'olive dépend de ses caractéristiques physico-chimiques, organoleptiques, et de la teneur des composants naturels existant dans l'huile tels que la chlorophylle, les polyphénols, les caroténoïdes, les acides gras (essentiellement les acides oléiques et le linoléique) (Khlif et Rekik, 1996).

La stabilité à l'oxydation appréciable de l'huile d'olive est principalement due à sa composition caractéristique en acides gras mono insaturés tels que l'acide oléique (C18: 1) et à la présence d'une quantité importante de composants mineurs tels que les composés phénoliques et le  $\alpha$ -tocophérol dotés de fortes propriétés antioxydantes (Psomiadou et Tsimidou, 1999).

Au cours de la cuisson, l'huile d'olive subit une série des réactions chimiques, à savoir, l'hydrolyse, l'oxydation, l'isomérisation, polymérisation en raison de la température élevée et l'absorption de l'oxygène et de l'eau (Choe *et al.*,2007). Par conséquent sa qualité physicochimique, nutritionnelle et organoleptique peut diminuer significativement, d'où s'inscrit la présente étude qui a pour but de déterminer les effets de la cuisson sur la qualité de l'huile d'olive issue de deux variétés différentes de la région de Bejaia et de déterminer les variations des teneurs en divers antioxydants, de l'activité antioxydante, ainsi que l'activité antimicrobienne qui peuvent avoir lieu lors ce processus.

Pour cela, le travail est organisé en trois parties :

- La première partie est réservée à la synthèse bibliographique, cette dernière inclut des généralités sur l'huile d'olive, composition chimique, les antioxydants;
- La deuxième partie présente le matériel et les méthodes utilisées pour la détermination des caractéristiques physicochimiques, le dosage des différents antioxydants, et l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits d'huiles d'olives ;
- La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus ainsi que leurs interprétations.

# Synthèse bibliographique

## **I. Définition et structure de l'olive**

L'olive, est une drupe charnue ayant une forme plus au moins ovale, à peau lisse. Elle est constituée de l'extérieur vers l'intérieur de trois parties: l'épicarpe, le mésocarpe et l'endocarpe (figure 1) (Fedeli, 1997).

### **I.1. Epicarpe**

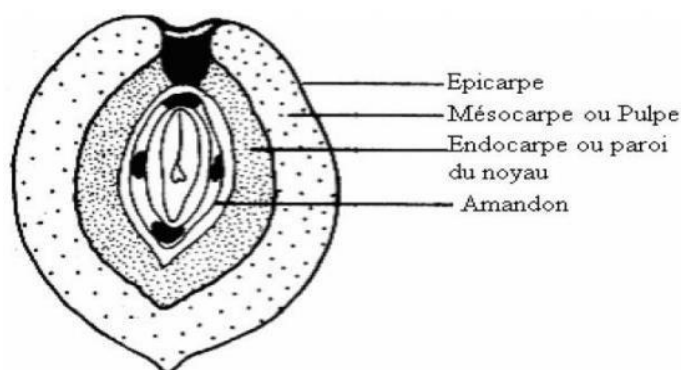
C'est la peau ou la couche externe de l'olive, sa couleur varie selon le degré de maturation du vert au début de maturation jusqu'au noir foncé en pleine maturité (Bianchi, 2003).

### **I.2. Mésocarpe**

Dénoté également pulpe (70 à 80 % du poids du fruit). Représente la partie comestible de l'olive et renferme divers constituants: eau, lipides, protéines, sucre, minéraux (Bianchi, 2003).

### **I.3. Endocarpe**

L'endocarpe (noyau) représente 18 à 22 % du poids du fruit. Il est composé de deux système l'un est constitué de la partie la plus externe la seconde de la matrice protéique, contenant la composante lipidique et la composante hydrophile (Cortesi *et al.*,2000 ; Bianchi, 2003).



**Figure 1** : Schéma représentatif de la structure de l'olive (Nefzaoui, 1984).

## **II. Composition chimique de l'olive**

Les constituants majoritaires de l'olive sont les triglycérides, l'eau, les polysaccharides et d'autres constituants présents en faibles concentrations mais qui confèrent à l'huile ses qualités gustatives, nutritionnelles et sa stabilité vis-à-vis de l'oxydation. Cette composition est influencée par le cultivar, les conditions de culture et le degré de maturité

du fruit (**Zarrouk et al.,1996 ; Gomez-Rico et al.,2008**). Les principaux constituants de l'olive sont représentés dans le tableau I (annexe I).

### **III. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive**

#### **III.1. Récolte des olives**

Pour obtenir une huile de qualité, il est important que les olives soient de bonne qualité (fruits non abîmés) au moment de la récolte (**El Antari et al.,2000**).

Il est nécessaire de récolter les olives sur l'arbre, à la main ou à l'aide de moyens mécaniques et d'éviter de ramasser les olives tombées par terre et les pratiques qui nuisent aux fruits et aux arbres comme le gaulage qui provoque la blessure des fruits (**Çavusoglu et Oktar, 1994 ; El Antari et al.,2000**).

#### **III.2. Effeuilage et lavage**

L'effeuillage est effectué à l'aide d'un appareil automatique muni d'un système d'aspiration, à défaut de disposer d'un système mécanique, cette opération peut être réalisée manuellement. (**Di Giovacchino, 1991; Chimi, 2001**).

Après l'effeuillage, il convient de procéder au lavage des olives, pour éliminer toutes les impuretés (terre et poussière) qui risquent d'altérer la qualité de l'huile d'olive vierge (**Uzzan, 1994; Chimi, 2001**).

#### **III.3. Broyage**

Les olives propres sont soumises à un broyage poussé qui vise à faire éclater la drupe gorgée d'huile, à permettre le concassage du noyau et l'écrasement de l'amande, ceci est réalisée par de broyeurs à meules (granite ou pierre) ou de broyeurs métalliques (à marteaux fixes ou mobiles, à dents ou à disques, à rouleaux...) (**Uzzan, 1992 ; Di Giovacchino, 1991 ; Benlemlih et Ghanam, 2012**).

La durée de broyage ne doit pas dépasser 20 à 30 minutes. La prolongation du broyage provoque l'oxydation des polyphénols (**Ouaouich et Chimi, 2007**).

#### **III.4. Malaxage**

Le malaxage des pâtes d'olive doit être réalisé pendant une courte durée et il est recommandé d'opérer à une température ne dépassant pas la température de 30°C (**Demnati, 2008**). Il s'effectue au moyen d'un équipement appelé 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**).

## **IV. Définition de l'huile d'olive**

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea L*) à l'exception des huiles obtenues par solvants ou par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (COI, 2003).

### **IV.1. Production mondiale d'huile d'olive**

La production mondiale était estimée à 2900 000 tonnes (t) lors de la campagne oléicole 2017/2018 dont 1 800 000 tonnes sont produits par les pays de l'union européenne. L'Algérie, l'Argentine, la Jordanie, le Maroc, la Palestine, la Tunisie et la Turquie ont enregistré quant à eux une production de plus de 800 000 tonnes d'huile. Le principal importateur d'huile d'olive reste les États-Unis, avec 37 % du marché mondial, suivi de l'Union européenne (16 %) (COI, 2018).

### **IV.2. Classification des huiles d'olive**

#### **IV.2.1. Les huiles d'olives vierges**

Ces huiles sont obtenues uniquement par des procédés mécaniques ou physiques dans des conditions thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (COI, 2015) (annexe 1, tableau II).

**a. L'huile d'olive vierge extra :** c'est une huile dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8g pour 100 g.

**b. L'huile d'olive vierge :** c'est une huile dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2g pour 100g.

**c. L'huile d'olive vierge courante :** il s'agit d'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3g pour 100 g.

#### **IV.2.1. L'huile d'olive raffinée**

C'est l'huile d'olive obtenue à partir des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3g pour 100g.



## **V. Composition chimique de l'huile d'olive**

### **V.1. Fraction saponifiable**

Elle représente 99 % de l'huile d'olive, constituée principalement d'acides gras estérifiés et de triglycérides (**Karleskind, 1992**).

#### **V.1.1 Acides gras**

Le principal acide gras de l'huile est l'acide oléique (55 à 83 %), suivi de l'acide palmitique (7,5 à 20 %) et l'acide linoléique (3,5 à 21 %) (annexe I, tableau III). Cependant, l'huile d'olive est pauvre en acides gras saturés comparés à certaines graisses alimentaires (**Karleskind, 1992**).

#### **V.1.2 Triglycérides**

Les triglycérides constituent le principal composant de l'huile d'olive (environ 98%) (**Olivier et al.,2004**). Le triglycéride majoritaire de l'huile d'olive est la trioléine (ooo) (annexe I, tableau IV) (**Ruiz et al.,1998**).

### **V.2. La fraction insaponifiable**

La fraction insaponifiable de l'huile d'olive est constituée d'un mélange complexe de composés. Celle-ci varie de 0,4 à 0,8% pour l'huile d'olive, et de 1 à 2% pour l'huile extraite du grignon d'olive (**Karleskind, 1992**).

#### **V.2.1. Stérols**

Ils représentent environ 15 % de la fraction insaponifiable. La quantité totale de stérols varie selon la variété d'olive et leur degré de maturité (**Haddam et al.,2014**). Les principaux stérols dans l'huile d'olive sont le  $\beta$ -sitostérol ; le  $\Delta$ -5 avenastérol ; le campestérol et le stigma-stérol (annexe I, tableau V).

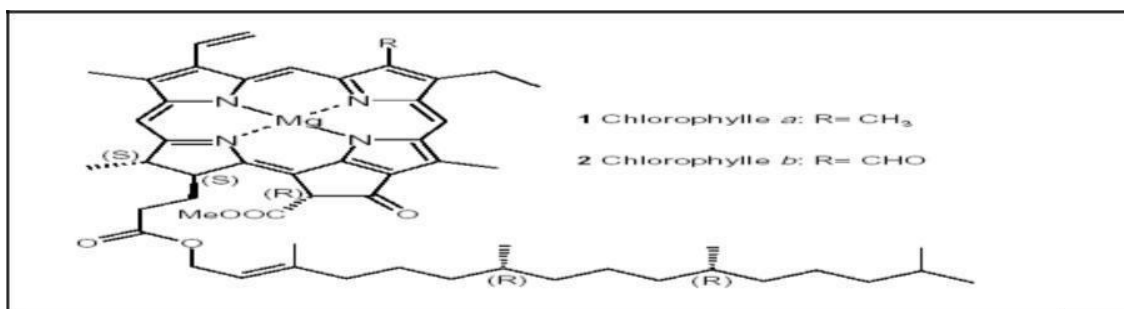
#### **V.2.2. Tocophérols**

L'huile d'olive contient des teneur variable en tocophérol, allant jusqu'à 450 mg/kg d'huile (**Gutierrez et al.,1999 ; Boskou et al.,2006**). L'alpha-tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols (**Sherwin, 1976**). Alors que la beta, gamma et delta tocophérol ne sont présentes qu'à l'état de traces (**Psomiadou et al.,2000**). La teneur en tocophérols est fortement influencée par la variété d'olive, le stade de maturation et lors de l'extraction (**Sakouhi et al.,2008**).

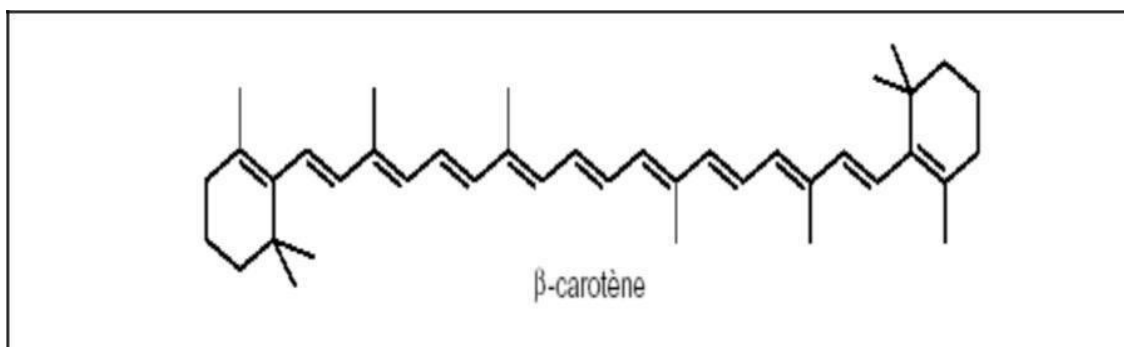
#### **V.2.3. Pigments**

L'huile d'olive contient deux types de pigments : les chlorophylles et les caroténoïdes (figure 2 et 3). La présence des chlorophylles dans l'huile d'olive fraîche

oscille entre 1 et 20 ppm, dont 40 à 80% sont des phéophytines (Ryan *et al.*,1998). Cependant, la concentration des caroténoïdes dans l'huile d'olive est de 0,5 à 1 mg/100g, dont 30 à 60% sont de lutéine, 5 à 15% sont de  $\beta$ -carotène, et diverses xanthine (Karleskind, 1992).



**Figure 2 :** structure de la chlorophylle (Folly, 2000).



**Figure 3 :** Structure de  $\beta$ -carotène (Folly, 2000).

#### V.2.4. Les composants aromatiques

Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire possédant une volatilité à température ambiante (Angerosa, 2002). Ces composés sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras insaturés. D'une manière générale, les enzymes endogènes présentes dans l'olive, dégrade les acides gras par la voie de lipoxygénases et les produits obtenus sont liés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olive (Venkateshwarlu *et al.*,2004).

#### V.2.5. Autres composés

L'huile d'olive contient d'autres composés :

Les hydrocarbures : le principal hydrocarbure de l'huile d'olive est le squalène, un triterpène qui provient dans la voie de biosynthèse de cholestérol (Assman et Wahburg, 2000).

L'huile d'olive vierge contient une concentration en squalène qui varie de 300 à 700 mg/100 g de la fraction insaponifiable (**Uzzan, 1992**).

Les alcools aliphatiques (du méthanol au pentanol,...etc.).

Les phospholipides (5 à 15 mg/100 g).

## **VI. Aspects nutritionnel et thérapeutique de l'huile d'olive**

L'huile d'olive est riche en substances anti-oxydantes (polyphénols, caroténoïdes, tocophérols...) qui sont impliqués dans la protection contre certaines maladies : maladies cardiovasculaires, certains cancers et maladies neuro-dégénératives (Alzheimer, Parkinson) (**Servili et al.,2004**). D'autre part, la richesse de l'huile d'olive en acides gras mono-insaturés, principalement, l'acide oléique, contribue à l'augmentation du taux des HDL, diminue et empêche l'oxydation des LDL, diminuant ainsi le risque d'athérosclérose et des maladies cardiovasculaires (**Jacotot et al.,1985; Delplanque et al.,1999; Visioli et al.,2002**). En effet, la teneur élevée en acide oléique diminue le risque des cancers du sein, des ovaires, de l'estomac et du colon (**Owen et al.,2003 ; Colomer et Menéndez, 2006 ; Baccouri et al.,2008**). Par ailleurs, l'intérêt nutritionnel du squalène (hydrocarbure), des stérols et des tocophérols réside dans leur potentiel à diminuer les concentrations plasmatiques du cholestérol total et des LDL (**Kafatos, 1995 ; Sotiroudis et Kyrtopoulos, 2008**).

## **VII. Principaux antioxydant d'huile d'olive**

L'huile d'olive renferme plusieurs types d'antioxydants naturels (figure 4). Ces antioxydants agissent par différents mécanismes et contribuent différemment à la stabilité de l'huile d'olive.

### **VII.1. Composés phénoliques**

Les propriétés antioxydantes et la valeur de l'huile d'olive qui en résulte peuvent être attribuées en grande partie aux composés phénoliques (**Ryan et al.,1998**).

Ces composés contribuent à la stabilité de l'huile d'olive vierge par piégeage des radicaux pyroxyles et alkoxyys et par chélation des métaux de transition qui sont présents en traces (**Leger, 2003 ; Bendini et al.,2007**).

### **VII.2. Tocophérols**

L' $\alpha$ -tocophérol est considéré comme antioxydant majeur de l'huile d'olive (**Blekas et al.,1994**). Elle favorise la stabilité de l'huile d'olive vierge, par inhibition de l'auto et la

photo-oxydation en désactivant l'oxygène singulet (**Ryan *et al.*,1998; Ben Tekaya et Hassouna, 2007**).

### **VII.3. Caroténoïdes**

Les principaux caroténoïdes présents dans l'huile d'olive sont la lutéine, le  $\beta$ - carotène. Les caroténoïdes et en particulier le  $\beta$ -carotène sont des antioxydants efficaces, cela est dû à leur habilité à altérer l'espèce oxygénée radicalaire (**Morello *et al.*,2004**). Ils sont bien connus comme désactivant de l'oxygène singulet, ils sont donc des inhibiteurs très efficaces de la photo-oxydation induite par les pigments chlorophylliens (**Perrin, 1992**).

### **VII.4. Squalène**

Ce composé joue un rôle important dans l'inhibition de l'oxygène singulet, donc il a une activité antioxydante durant la photo-oxydation de l'huile d'olive exposée à la lumière (**Psomiadou et Tsimidou, 2002**).

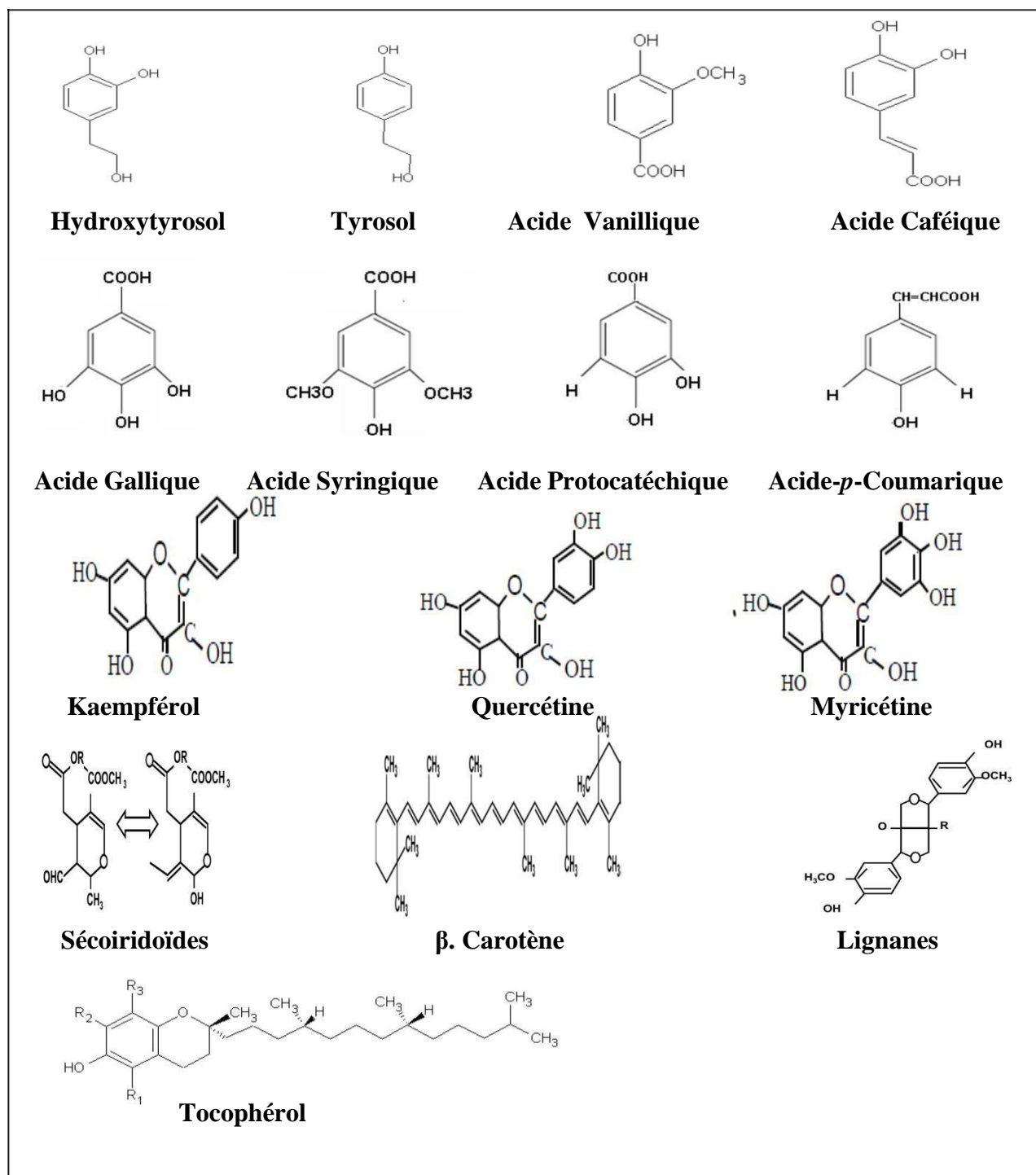


Figure 4 : Structure des principaux antioxydants de l'huile d'olive (Leger, 1999).

## **VIII. L'oxydation de l'huile d'olive**

Le comportement des lipides vis-à-vis de l'oxydation est très variable, ces variations peuvent être expliquées selon **Alyor et Ori-jesu (2008)** par l'influence de différents facteurs ;

- Teneur en oxygène**: la dégradation des lipides par l'oxygène est la cause majeure de la détérioration des corps gras pendant le stockage.
- **Lumière**: elle active le phénomène d'oxydation en accélérant la réaction d'initiation.
- Température**: elle favorise également l'oxydation en augmentant la vitesse de décomposition des peroxydes. Les acides gras saturés ne se décomposent qu'à une température supérieure à 60°C, tandis que les polyinsaturés s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelé.
- Traces métalliques** : le fer et le cuivre à des concentrations de moins de 1 ppm peuvent causer une réduction notable de la stabilité des corps gras (**Sherwin, 1978 ; Alyor et Orijesu, 2008**). Ce problème est amplifié par la présence d'acides gras libres qui agissent en solubilisant les métaux dans les lipides.
- Teneur en acides gras libres** : les acides gras libres sont plus sensibles à l'oxydation que ceux estérifiés.
- **Enzymes** : la présence de lipoxygénases accélère le processus d'oxydation.

## **IX. Effets de la cuisson des corps gras**

Les cycles successifs de chauffage et de refroidissement auxquels sont soumis les corps gras lors de leur utilisation en friture provoquent de nombreuses transformations en particulier sur les acides gras insaturés. Ces transformations résultent de réactions complexes: oxydation, polymérisation, hydrolyse, cyclisation et pyrolyse (**Augustin et Berry, 1983 ; Quiles et al.,2002 ; Kalogianni et al.,2009**). Les produits de dégradation des huiles sont généralement des composés volatils et non volatils. La fraction volatile est essentiellement constituée d'aldéhydes saturés et insaturés, cétones, alcools, acides gras courts, esters. La quasi-totalité de ces produits est entraînée par le dégagement de la vapeur qui accompagne toute friture. Les produits non volatils de PM élevé (polymères, acides oxydés, monomères cycliques) restent dans l'huile, et donc une partie peut être absorbée par l'aliment (**Allam et El-sayed, 2004 ; Navas et al.,2007**).

L'huile d'olive est idéale pour les fritures. Dans des conditions adéquates de température, si elle n'est pas chauffée excessivement, elle ne subit aucune modification

substantielle dans sa structure et conserve mieux que les autres huiles ses propriétés diététiques, non seulement grâce à la présence des antioxydants mais également pour sa richesse en acide oléique. Elle a un point de fumée élevée (210°), nettement supérieur à la température idéale de friture des aliments (180°) **COI, (2018)**.

# Matériel et méthodes



## **I. Echantillonnage**

Les huiles d'olives utilisées dans la présente étude appartiennent à deux variétés différentes qui sont récoltées durant la campagne oléicole 2018/2019.

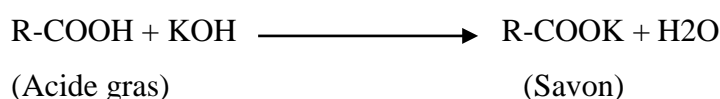
### **• Préparation des échantillons**

Elle est réalisée par le remplissage de six flacons (en verre ombré) avec 150 ml d'huile de chaque variété. Ces échantillons ont été incubés (flacons ouverts) à l'étuve réglée à  $180 \pm 5^\circ\text{C}$  durant une période de deux heures ; pendant laquelle, on a prélevé cinq échantillons différents après un intervalle de temps de 15, 30, 45, 60, et 120 min, respectivement puis sont réfrigérés ; cependant deux autres flacons de chaque variété analysée n'ont subi aucune cuisson ; ils ont été directement réfrigérés et considérés comme témoins.

## **II. Analyses physicochimiques**

### **II.1. L'acidité**

L'acidité, nous renseigne sur le degré d'hydrolyse et le taux d'acide gras libres présents dans une huile. Selon la nature des matières grasses, elle est exprimée en acide oléique dans le cas de l'huile d'olive. La méthode est basée sur la neutralisation d'une quantité connue de matière grasse avec une solution d'hydroxyde de potassium préparée dans l'éthanol à une normalité bien déterminée, pour donner des savons comme l'explique la réaction suivante :



La mesure de l'acidité est réalisée selon la méthode normalisée **C.E.E (2568/91)**. Une masse de 0,5g d'huile d'olive a été ajoutée à 2,5 ml d'un mélange d'éthane éther-pétrole 80% (V/V). Après agitation, on titre le mélange avec une solution de KOH (0,02N) en présence de phénolphthaléine jusqu'au virage de l'indicateur coloré et apparition d'une couleur rose pale, un essai témoin (sans matière grasse) a été réalisé dans les mêmes conditions.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'acide oléique selon la formule suivante :

Où :

$$\boxed{\text{A\% (Acide oléique)} = \frac{(V - V_0) * N * P}{10 * m}}$$

V : Volume de la solution KOH nécessaire (ml) ;

V<sub>0</sub> : Volume de la solution KOH à blanc (ml) ;

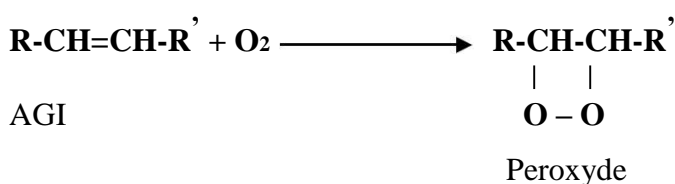
m : Prise d'essai en grammes ;

N : Normalité de la solution KOH ;

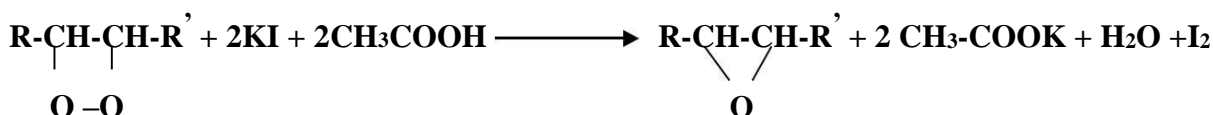
P : Poids moléculaire d'acide oléique : 282g/mol.

## II.2. Indice de peroxyde

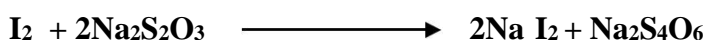
L'indice de peroxyde nous renseigne sur le degré d'oxydation du corps gras. La méthode consiste en un traitement d'une quantité d'huile dans de l'acide acétique et du chloroforme, par une solution d'iodure de potassium (KI) puis on titre l'iode libéré par le thiosulfate de sodium (0,01N) en présence d'empois d'amidon. Les acides gras insaturés entrant dans la composition du corps gras s'oxydent partiellement en présence de l'oxygène de l'air pour donner des peroxydes.



La réaction d'iodure de potassium en milieu acide est la suivante :



L'iode libéré va agir avec le thiosulfate de sodium suivant cette réaction :



L'indice de peroxyde est déterminé selon la méthode normalisée par le règlement **C.E.E (2568/91)**. Une masse d'huile d'olive (0,5g) est mise en solution avec 2,5 ml de chloroforme, un volume de 2,5ml d'acide acétique et 0,25ml d'iodure de potassium saturé (KI) sont ajoutés. Après une réaction pendant 5 min à l'obscurité, un volume de 2,5ml d'eau distillée est additionné, en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon (0,1%). Le mélange est titré avec le thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) à 0,01N, en agitant vigoureusement jusqu'à disparition de la couleur. Un essai à blanc est effectué simultanément. L'indice de peroxyde (IP) est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'huile selon la formule suivante :

$$\text{IP (meq d'O}_2\text{/Kg)} = \text{N} * (\text{V} - \text{V}_0) * 1000 / \text{m}$$

Où:

**N**:Normalité de thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) (0,01N) ;

**V, V<sub>0</sub>**: Volumes de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  nécessaires pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à Blanc, respectivement (ml) ;

**m**: masse de la prise d'essai (0,5g).

### **II.3. Détermination des Absorbances dans l'ultraviolet**

Cette analyse consiste à déterminer les absorbances à 232nm et à 270nm qui correspondent au maximum d'absorbance des hydroperoxydes et des produits secondaires d'oxydations, respectivement. L'extinction spécifique est déterminée selon la méthode décrite par le **COI (2003)**. Après filtration des échantillons d'huile d'olive, on prend 0,1g dans une fiole de 10 ml, puis on l'ajuste avec du cyclohexane. L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes 232nm et 270nm. Les coefficients d'extinction K232 et K270 sont exprimés selon l'équation suivante:

Où:

$$K = A_{\lambda} / C * L$$

K: Extinction spécifique à la longueur d'onde  $\lambda$  ;

$A_{\lambda}$  : Absorbance mesurée à la longueur d'onde  $\lambda$  ;

C : La concentration de la solution (g/100ml) ;

L:Epaisseur de la cuve en centimètre.

## **III. Dosage des antioxydants**

### **III.1.Préparation des extraits**

Les extraits sont préparés selon la méthode de Vassiliki (2009) avec quelques modifications : une masse de 2g d'huile d'olive est dissoute dans 4ml d'hexane, additionnée de 8ml de méthanol 80%. Le mélange est agité puis centrifugé (5000 rpm/5min) ; la phase méthanolique qui est récupérée subit deux lavages avec l'hexane (4ml) pour éliminer les composés liposolubles.

### **III.2. Composés phénoliques totaux**

Le principe de la réaction de dosage des composés phénoliques est basé sur leur capacité à réduire les acides phosphotungstiques ( $H_3PM_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdiques ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ), présents dans le réactif de Folin-Ciocalteu, en oxyde de tungstène et molybdène (**Vuorela, 2005**). La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée selon la méthode décrite par **Kahkonen et al. (1999)**. Un volume de 0,2ml d'extrait est mélangé avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange est agité pendant 3 minutes puis additionné d'un volume de 0,5 ml de carbonate de sodium (4%). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 750 nm. La concentration en composés phénoliques totaux est estimée en mg équivalent d'acide gallique par Kg d'huile en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe II, figure 1).

### **III.3. Flavonoïdes**

Un volume de 0,1 ml d'extrait est mélangé avec 0,4 ml d'eau distillée, 0,03 ml de nitrite de sodium (5%) et 0,02 ml de chlorure d'aluminium (10%). Après incubation pendant 5 min, le mélange est additionné de 0,2 ml d'hydroxyde de sodium (1M) et de 0,25 ml d'eau distillée (**Kim et al.,2003**) ; l'absorbance est mesurée à 510 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine par Kg d'huile en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe II, figure 2).

### **III.4. Flavonols**

La méthode rapportée par **Kumaran et Karunakaran (2007)** est utilisée pour estimer la teneur en flavonols: un volume de 0,5 ml du chlorure d'aluminium (2%) et 0,75 ml d'acétate de sodium (5%) sont ajoutés à 0,5 ml d'extrait. Après incubation pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 440 nm. La concentration en flavonols est exprimée en mg équivalent de quercétine par kg d'huile par référence à une courbe d'étalonnage (annexe II, figure 3).

### **III.5. Ortho-diphénols**

La teneur en *ortho*-diphénols est estimée selon la méthode de **Tovar et al. (2002)**: un volume de 2 ml d'extrait est additionné de 0,5 ml de molybdate de sodium (5%). Après agitation et incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée à 350 nm. La concentration des *ortho*-diphénols est exprimée en mg équivalent d'acide caféique par kg d'huile par référence à une courbe d'étalonnage (annexe II, figure 4).

### **III.6. Pigments**

Le protocole décrit par **Minguez-Mosquera et al. (1991)**, est adopté pour estimer la teneur des pigments (chlorophylles et caroténoïdes). Pour cela, une masse de 3g d'huile d'olive filtrée est introduite dans une fiole de 10 ml. Le volume est ajusté avec du cyclohexane et l'absorbance est mesurée à 670 nm pour les chlorophylles et à 470 nm pour les caroténoïdes. Les teneurs sont déterminées selon la formule suivante:

$$\text{Chlorophylles (ppm)} = (A_{670} * 106) / (613 * 100 * L)$$

$$\text{Caroténoïdes (ppm)} = (A_{470} * 106) / (2000 * 100 * L)$$

Où:

$A_{\lambda}$ : absorbance à la longueur d'onde  $\lambda$  ;

L: épaisseur de la cuve en centimètre (1cm) ;

613: Coefficient spécifique de la phéophytine comme standard ;

2000: Coefficient spécifique de la lutéine comme standard.

## **IV. Activité antioxydante**

### **IV.1. Pouvoir réducteur**

Ce test mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  ( $FeCl_3$ ) en fer ferreux  $Fe^{2+}$  ( $FeCl_2$ ) en présence d'un agent chromogène ferricyanure de potassium  $K_3[Fe(CN)_6]$ . Ceci se traduit par le virage de la couleur de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant (**Chou *et al.*, 2003**). Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de **Gülçin *et al.* (2002)**: Un volume de 0,25 ml d'extrait est mélangé avec 0,25ml de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 0,25 ml de ferricyanure de potassium (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min, puis un volume de 0,25 ml d'acide trichloroacétique (10%) est additionné a ce mélange. Après 5min d'incubation, 0,2ml de chlorure ferrique (0,1%) sont ajoutés et l'absorbance est mesurée à 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique par kg d'huile par référence à une courbe d'étalonnage (annexe II, figure 5).

### **IV.2. Détermination de l'activité anti radicalaire**

La méthode utilisant le radical DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est largement employée pour évaluer l'activité anti-oxydante. Elle est rapide et facile et s'effectue à température ambiante. La délocalisation d'un électron autour de la molécule de DPPH• qui est un radical à l'origine de sa couleur violette foncée; en présence d'une substance anti-oxydante et après libération d'un proton ou d'un électron, le radical DPPH• est converti en DPPH. La réduction des radicaux DPPH• implique une baisse de l'absorbance. Sous la forme radicalaire, le DPPH• absorbe à 515 nm (**Williams *et al.*, 1995**).



Un volume de 0,1 ml d'extrait est additionné de 1 ml de la solution DPPH•. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 515 nm. L'activité anti radicalaire des extraits est estimée en mg équivalent d'acide ascorbique par Kg d'huile en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe II figure 6).

### **IV.3. Détermination de l'activité inhibitrice de peroxyde d'hydrogène**

La capacité des extraits d'huiles à piéger le peroxyde d'hydrogène est mesurée selon la méthode rapportée par **Atmani *et al.* (2009)**. Un volume de 0,15 ml d'extrait est ajouté à 1 ml d'une solution de peroxyde d'hydrogène et 1,35 ml de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4).

Un blanc a été préparé suivant les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction (méthanol). L'absorbance des échantillons est mesurée à 230 nm après une incubation de 20 min. Le pouvoir antioxydant est exprimé en pourcentage d'inhibition du peroxyde d'hydrogène selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(At - Ae) / At] * 100$$

Où ;

At : Absorbance du témoin ;

Ae: Absorbance de l'échantillon.

#### **IV.4. Pouvoir chélateur du fer**

La capacité chélatrice des extraits d'huile d'olive est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe<sup>2+</sup>-ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent selon la méthode de **Wang et al. (2008)**. Un volume de 250 µl d'extrait est additionné de 25 µl du chlorure ferreux (5mM) et 800 µl d'eau distillée. Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 5 min ; 50 µl de la solution de ferrozine (5mM) sont ajoutés au mélange réactionnel; l'absorbance du complexe Fe<sup>2+</sup>ferrozine est mesurée à 562 nm. L'effet séquestrant des extraits d'huile vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage de Chélation} = [(At - Ae) / At] * 100$$

Où ;

At : Absorbance du témoin ;

Ae: Absorbance de l'échantillon.

#### **V. Activité antimicrobienne**

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion en puits.

##### **V.1. Les souches microbiennes**

Les trois souches (tableau I), sur lesquelles nous avons testé l'activité antibactérienne des extraits ont été sélectionnées en fonction de leurs pouvoir pathogène pour l'homme.

**Tableau I :** Les souches microbiennes testées.

<b>Souche</b>	<b>Type</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif (Anonyme)
<i>Escherichia Coli</i>	Gram négatif (Anonyme)
<i>Candida albicans</i>	Levure

## **V2. Préparation du milieu de culture**

- milieu Plate Count Agar (PCA)

La gélose PCA est un milieu recommandé pour le dénombrement standardisé des bactéries, préparé comme suit:

Mettre en suspension (23) g de la gélose PCA dans un litre d'eau distillée, porter le milieu à ébullition sous agitation constante jusqu'à dissolution complète, répartir en flacons puis auto-claver pendant 20 minute à 121 °C et introduire dans des boites de Pétri stérile.

- Muller-Hinton

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton, préparé comme suit:

Dissoudre (38) g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, répartir en flacons puis auto-claver pendant 20 minute à 121°C et finalement couler le milieu dans les boites de Pétri.

## **V.3. Préparation de l'inoculum**

Les souches bactériennes sontensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37C° pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à testées ( $10^{+7}$  UFC/ml). Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique.

## **V.4. Diffusion en puits**

L'activité antimicrobienne des différents extraits a été étudiée pour chaque souche bactérienne. A partir d'une culture de 24h ( $10^{+7}$  UFC/ml). L'ensemencement de l'inoculum est réalisé en surface du milieu Muller-Hinton préalablement couler dans des boites de Pétri, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur (l'extrémité épaisse) ensuite 50µl d'extrait distribué dans chaque puits. Les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37 °C pendant 24h et les auréoles d'inhibition sont mesurées par

un pied à coulisse le diamètre des puits est inclus dans le tableau des résultats (Tableau III).

## **VI. Analyse statistique**

Les résultats obtenus pour chaque échantillon représentent la moyenne de trois essais. L'étude statistique a été réalisée pour la comparaison de ces résultats et la mise en évidence des différences significatives ou non entre les échantillons, et ce, pour chaque paramètre, en appliquant une analyse de la variance (ANOVA) à l'aide d'un logiciel STATISTICA 5,5. Le seuil de signification des résultats est pris à la probabilité  $p < 0,05$ .



# Résultats et discussion

## I. Analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur les deux variétés d'huiles d'olives sont représentés dans le tableau suivant.

**Tableau II** : paramètres physico-chimiques des huiles analysées.

Paramètre physico-chimique	Temps de cuisson (min)	Moyenne ± écart type			
		Variété 1		Variété 2	
Acidité (% acide oléique)	0	0,1 <sup>c</sup> ± 0		0,18 <sup>c</sup> ± 0,06	
	15	0,1 <sup>c</sup> ± 0		0,18 <sup>c</sup> ± 0,06	
	30	0,2 <sup>b</sup> ± 0,06		0,22 <sup>c</sup> ± 0	
	45	0,3 <sup>a</sup> ± 0		0,32 <sup>cb</sup> ± 0,12	
	60	0,2 <sup>cb</sup> ± 0,06		0,6 <sup>a</sup> ± 0,17	
	120	0,1 <sup>c</sup> ± 0		0,41 <sup>b</sup> ± 0,07	
Indice de peroxyde (Meq d'O <sub>2</sub> / Kg)	0	0,4 <sup>c</sup> ± 0		0,40 <sup>a</sup> ± 0	
	15	0,7 <sup>a</sup> ± 0		0,33 <sup>b</sup> ± 0,06	
	30	0,6 <sup>b</sup> ± 0		0,28 <sup>b</sup> ± 0,03	
	45	0,27 <sup>d</sup> ± 0,06		0,22 <sup>c</sup> ± 0,03	
	60	0,2 <sup>a</sup> ± 0		0,12 <sup>d</sup> ± 0,03	
	120	0,1 <sup>e</sup> ± 0		0,05 <sup>e</sup> ± 0	
Extinction spécifique dans l'Uv Coefficient d'extinction (K) à λ = 232nm et λ = 270 nm		<b>λ = 232</b>	<b>λ = 270</b>	<b>λ = 232</b>	<b>λ = 270</b>
	0	1,51 <sup>c</sup> ±0,33	0,07 <sup>d</sup> ±0,05	1,57 <sup>a</sup> ±0,31	0,05 <sup>d</sup> ±0,03
	15	2,27 <sup>a</sup> ± 0,13	0,17 <sup>c</sup> ± 0,03	1,86 <sup>a</sup> ± 0	0,12 <sup>c</sup> ± 0,01
	30	2,08 <sup>ab</sup> ± 0,05	0,49 <sup>a</sup> ± 0,04	1,82 <sup>a</sup> ± 0,03	0,15 <sup>bc</sup> ± 0,01
	45	1,97 <sup>abc</sup> ± 0,03	0,27 <sup>b</sup> ± 0,03	1,63 <sup>a</sup> ± 0,1	0,24 <sup>a</sup> ± 0,02
	60	1,66 <sup>bc</sup> ± 0,25	0,26 <sup>b</sup> ± 0,01	1,66 <sup>a</sup> ± 0,02	0,17 <sup>b</sup> ± 0
	120	0,91 <sup>d</sup> ± 0,56	0,13 <sup>c</sup> ± 0,01	1,55 <sup>a</sup> ± 0,34	0,22 <sup>a</sup> ± 0,04

Les lettres minuscules (a>e) indiquent des différences significatives (test ANOVA, p<0,05) entre les huiles analysées au cours de la cuisson.

### I.1. Acidité

Le taux de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique est estimé par l'acidité (Abaza *et al.*,2002). L'analyse statistique révèle des différences significatives (p<0,05) entre les deux variétés au cours de la cuisson d'huile d'olive.

Concernant l'acidité de la variété 1, on observe une stabilité après 15 min (0,1%), une augmentation de 15 à 45 min (0,1-0,3%), puis une diminution de 45 à 120 min (0,3-0,1%). De même pour la variété 2 pour laquelle on remarque une stabilité de 0 à 15 min (0,18%), une augmentation de 15 à 60 min (0,18-0,6%) et enfin une diminution jusqu'à la fin de cuisson (0,41%). La stabilité enregistrée peut être expliquée par un début lent de l'hydrolyse des triglycérides, puis l'augmentation de l'acidité est à l'origine de l'accumulation des acides gras libérés lors de l'hydrolyse des triglycérides, alors que la diminution peut signifier la transformation de ces acides gras libres en d'autres composés tels que les hydroperoxydes.

Concernant les huiles fraîches analysées, les résultats ont montré que la deuxième variété renferme plus d'acides gras libres comparant à la première ; toute fois, les valeurs obtenues sont conformes aux normes établies par le **COI (2015)**.

## **I.2. Indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde détermine le nombre d'hydroperoxydes et constitue l'un des moyens directs pour mesurer l'auto-oxydation lipidique, il est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par Kg d'huile (**Ryan et al.,1998**).

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les deux variétés ; l'indice de peroxyde des huiles de la variété 1 augmente de 0,4 à 0,7 meqO<sub>2</sub>/kg pendant la première quinzaine de minutes, puis diminuent de 0,7 à 0,1 meqO<sub>2</sub>/kg durant le reste du temps de cuisson, contrairement à la variété 2, où on a remarqué une diminution de 0,4 à 0,05 meqO<sub>2</sub>/kg tout au long de la cuisson.

L'augmentation peut signifier la formation des hydroperoxydes alors que la diminution peut s'expliquer par la formation des composés secondaires (acétones, aldéhydes,...). Les valeurs d'indice de peroxyde des huiles analysées sont largement inférieures à la limite établie par le **COI (2015)**.

## **I.3. L'absorbance spécifique à l'ultraviolet**

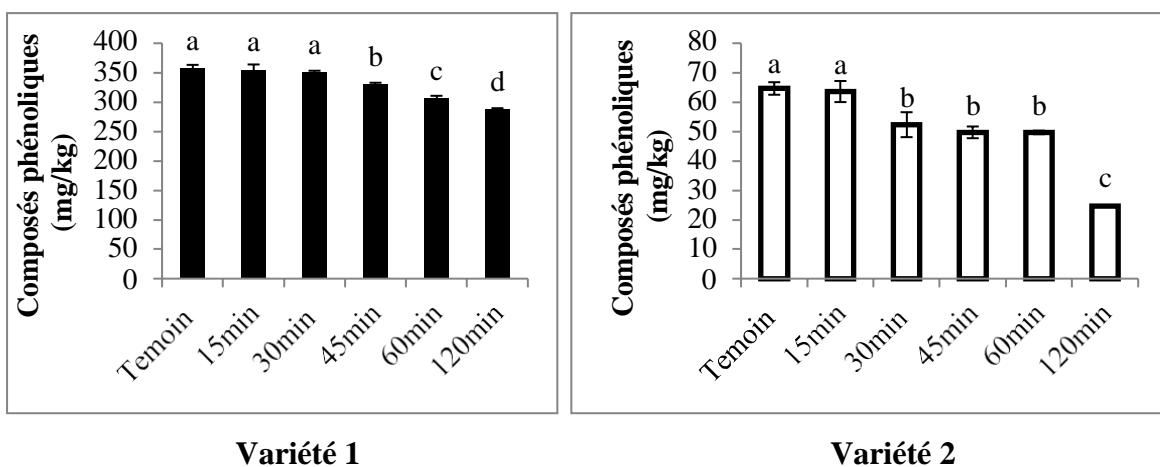
La détermination des coefficients d'extinction dans l'ultraviolet ( $K_{232}$  et  $K_{270}$ ) nous renseigne sur la présence ou l'absence des produits d'oxydation secondaires dans l'huile. L'extinction spécifique des huiles dans l'ultraviolet constitue un paramètre important de leur qualité. En effet, à 232 nm, elle permet d'évaluer la présence de produits primaires, alors qu'à 270 nm, c'est les produits secondaires d'oxydation (triènes conjugués) qui sont estimés (**COI, 2008**).

L'analyse statistique des résultats obtenus à 232 et 270nm montre des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les deux variétés d'huiles. Les absorbances enregistrées à 232 nm varient entre 1,51 et 0,91 pour la variété 1, et entre 1,57 à 1,55 pour la variété 2. Concernant les coefficients d'extinction enregistrés à 270 nm ; ils sont compris entre 0,07 et 0,13, pour la variété 1 et entre 0,05 et 0,22 pour la variété 2. Les valeurs obtenues sont conformes aux normes du **COI (2015)** et inférieures à celles obtenues par **Casal et al. (2010)**.

## II. Dosage des antioxydants

### II.1. Composés phénoliques totaux (CPT)

L'analyse statistique des teneurs en composés phénoliques (CPT) des huiles montre une diminution significative (figure 5) ( $p < 0,05$ ) au cours de la cuisson. La concentration en composés phénoliques varie entre 359 mg/Kg et 288 mg/Kg pour la variété 1 et de 65 mg/kg à 288 mg/Kg pour la variété 2, avec des taux de pertes de 20% et 62% respectivement. Cette baisse peut être expliquée par la thermo sensibilité de certains de ces composés et/ou leur rôle d'antioxydant dans la protection de l'huile vis-à-vis de l'oxydation. Ces résultats sont en accord avec ceux constatés par **Bester *et al.* (2007)**.

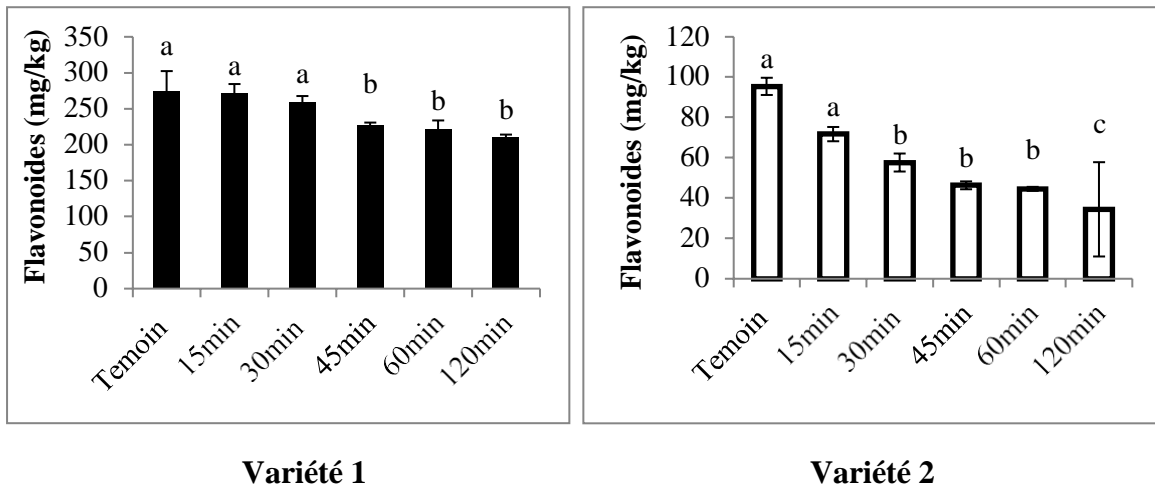


**Figure 5:** Teneur en composés phénoliques totaux des huiles étudiées lors de la cuisson. Les lettres minuscules (a>d) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

### II.2. Flavonoïdes

L'analyse statistique révèle des différences significatives des teneurs en flavonoïdes des variétés analysées ( $p < 0,05$ ) (figure 6). En effet, les concentrations diminuent progressivement au cours de la cuisson pour atteindre des taux de perte de 23% et 64% pour les variétés 1 et 2, respectivement. Les teneurs en flavonoïde des huiles fraîches des variétés 1 et 2 sont de 275 mg/kg et 211mg/kg, respectivement. Cette diminution peut être due à la dégradation de ces composés sous l'effet de la température appliquée au cours de la cuisson. Tandis que les différences notées entre les deux variétés analysées peuvent être liées au degré de maturité des olives et/ou l'effet variétal.

L'étude statistique montre l'existence d'une corrélation significative positive ( $p < 0,05$ ) entre les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes avec un coefficient de corrélation de 0,99 (figure 7, annexe 2).

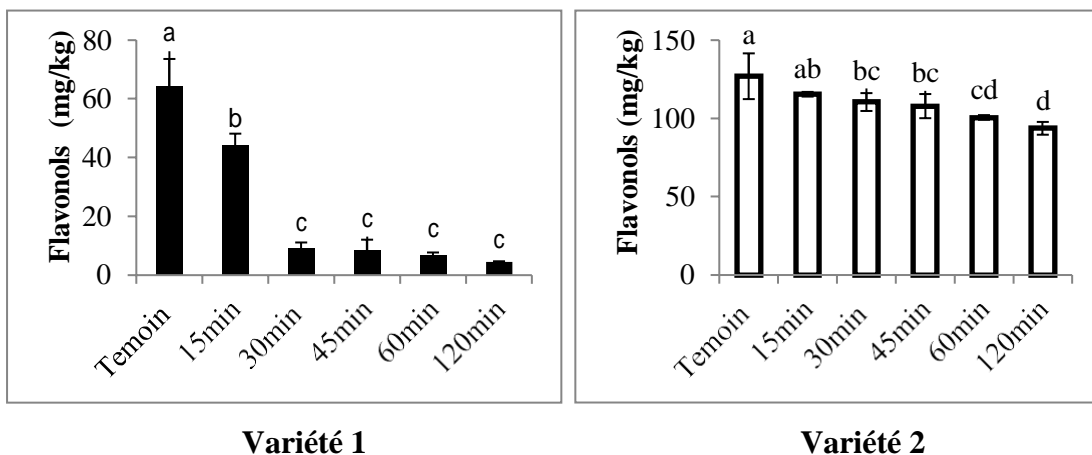


**Figure 6:** Teneur en flavonoïdes des huiles étudiées au cours de la cuisson.

Les lettres minuscules (a>c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

### II.3. Flavonols

L'analyse statistique révèle une diminution significative de la teneur en flavonols des deux variétés analysées lors de la cuisson ( $p < 0,05$ ) (figure 7). La concentration en flavonols des huiles varie entre 64 et 5 mg/kg pour la variété 1 et entre 120 à 94 mg/kg pour la variété 2 avec des pertes de 92% et de 22%, respectivement. La dénaturation de ces composés au cours de la cuisson peut être à l'origine de la perte de ces composés.



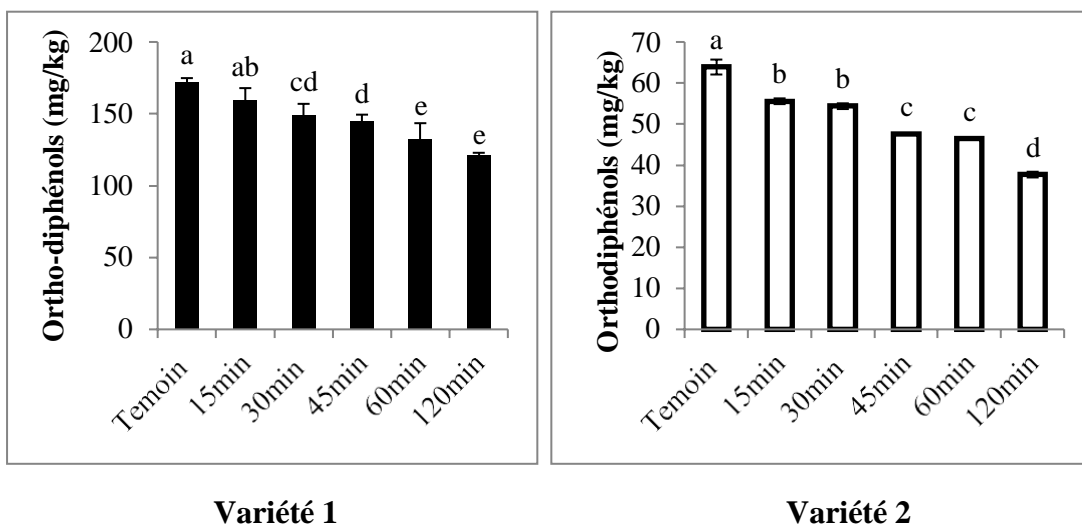
**Figure 7:** Teneur en flavonols des huiles analysées au cours de la cuisson.

Les lettres minuscules (a>d) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

## II.4. Ortho-diphénols

L'analyse statistique montre qu'il existe des différences significatives entre les variétés d'huiles étudiées au cours de la cuisson ( $p < 0,05$ ) (figure 8). Les teneurs en *ortho* diphénols de la variété 1 diminuent graduellement pour atteindre un taux de perte de 29% en fin de cuisson; les valeurs sont comprises entre 172 mg/kg (témoin) et 120 mg/kg (120 min). De même pour la variété 2, où on a enregistré un taux de perte de 41% en fin de cuisson (34 mg/g).

On remarque que l'évolution de la teneur en *ortho* diphénols des deux variétés d'huiles au cours de la cuisson présente le même aspect que la variété 1 ; ce qui peut être expliqué par l'implication de ces composés dans la protection de l'huile vis-à-vis de l'oxydation. L'étude comparative des variétés analysées a révélé la richesse de la variété 1; cette différence peut être liée aux caractéristiques des olives, notamment la taille du fruit.



**Figure 8:** Teneur en ortho-diphénols des huiles étudiées au cours de la cuisson.

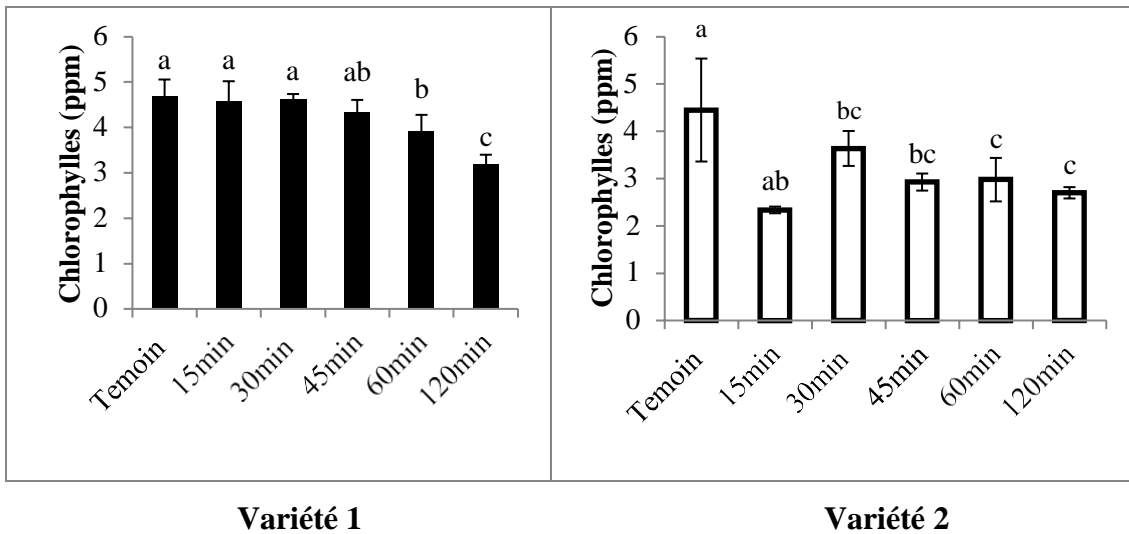
Les lettres minuscules (a>e) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

## II.5. Pigments

### II.5.1 Teneur en chlorophylles

Les teneurs en chlorophylles des huiles d'olive analysées sont indiquées dans la figure 9. L'analyse statistique révèle des différences significatives ( $p < 0,05$ ) des teneurs en chlorophylles des deux variétés. Les valeurs obtenues sont de 4,69 à 3,18 ppm, et de 4,45 à 2,7 ppm pour la variété 1 et la variété 2 respectivement ; on peut déduire que les chlorophylles se dégradent sous l'effet de la température avec augmentation du risque

d'oxydation des huiles. L'étude comparative a montré que la première variété renferme la concentration en chlorophylles la plus élevée.

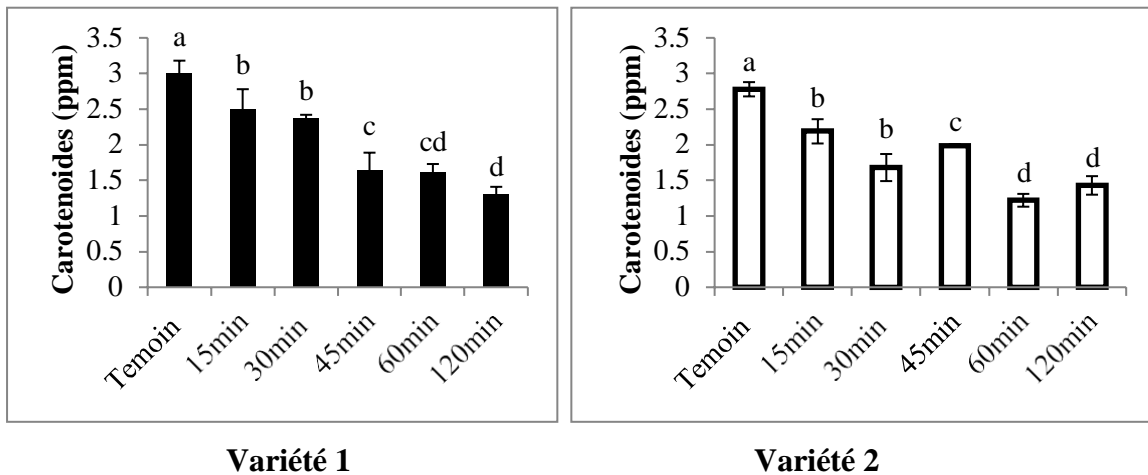


**Figure 9:** Teneur en chlorophylles des huiles analysées au cours de la cuisson.

Les lettres minuscules (a>c) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

### II.5.2. Teneur en caroténoïdes

Les teneurs en caroténoïdes des huiles analysés sont représentés dans la figure 10. L'analyse statistique indique que les teneurs des deux variétés présente une différence significative ( $p < 0,05$ ). On remarque une diminution des concentrations de 3 à 1,31 ppm lors de la cuisson des huiles de la variété 1, et de 2,78 à 1,43 ppm lors de la cuisson des huiles de la variété 2 excepté pour les temps de cuisson 45 et 120 min où on a observé une légère augmentation. On peut expliquer cette diminution par la dégradation des caroténoïdes sous l'effet de la température. Par ailleurs, l'augmentation observée peut être liée à la présence d'autres substances interférentes dans le dosage et qui ont été absorber à la même longueur d'onde utilisée.



**Figure 10:** Teneur en caroténoïdes des huiles analysées au cours de la cuisson.

Les lettres minuscules (a>d) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

### III. Activité antioxydante

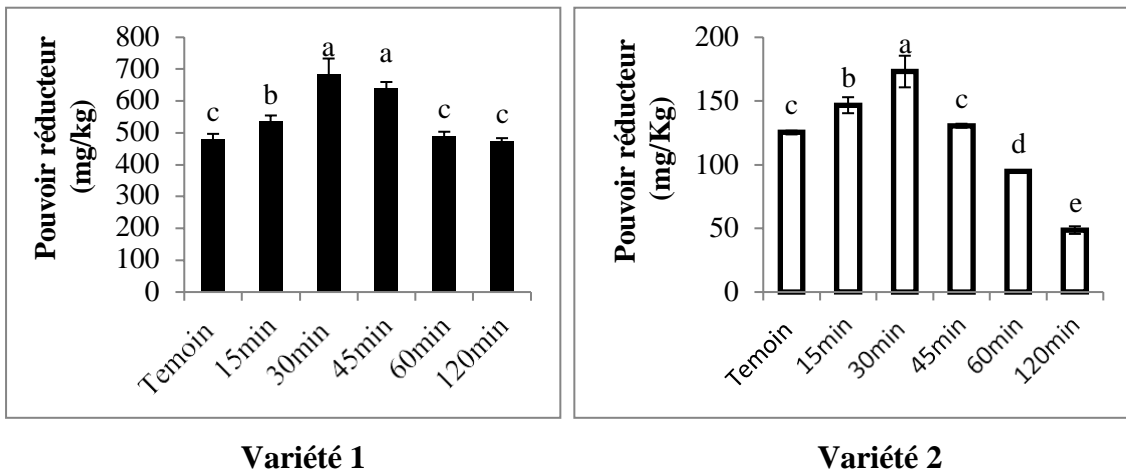
#### III.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance. L'activité réductrice des extraits d'huiles analysées montre des différences significatives ( $p < 0,05$ ) au cours de la cuisson (figure 11). On remarque que le pouvoir réducteur des huiles de la variété 1 augmente significativement jusqu'à atteindre la valeur la plus élevée au bout de 30 min (683 mg/kg), puis il chute avec un taux de perte de 45% pour atteindre l'activité la plus faible en fin de cuisson (474,27 mg/kg). De même que pour l'activité réductrice des extraits de la variété 2 qui atteint une valeur maximale de 173 mg/kg au bout de 30 min. Par contre l'activité la plus faible est notée en fin de cuisson (49 mg/kg). Parmi les variétés étudiées, les extraits de la variété 1 exercent le meilleur pouvoir réducteur.

Les différences du pouvoir réducteur constatées entre les extraits analysés pourraient être liées à la teneur en composés donneurs d'électrons (composés phénoliques) qui entraînent la réduction de fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ).

L'étude statistique montre l'existence d'une corrélation significative positive ( $p < 0,05$ ) entre les teneurs en composés phénoliques et le pouvoir réducteur avec un coefficient de corrélation de 0,97 (figure 8, annexe 2).





**Figure 11:** Teneur en pouvoir réducteur des huiles analysées au cours de la cuisson.

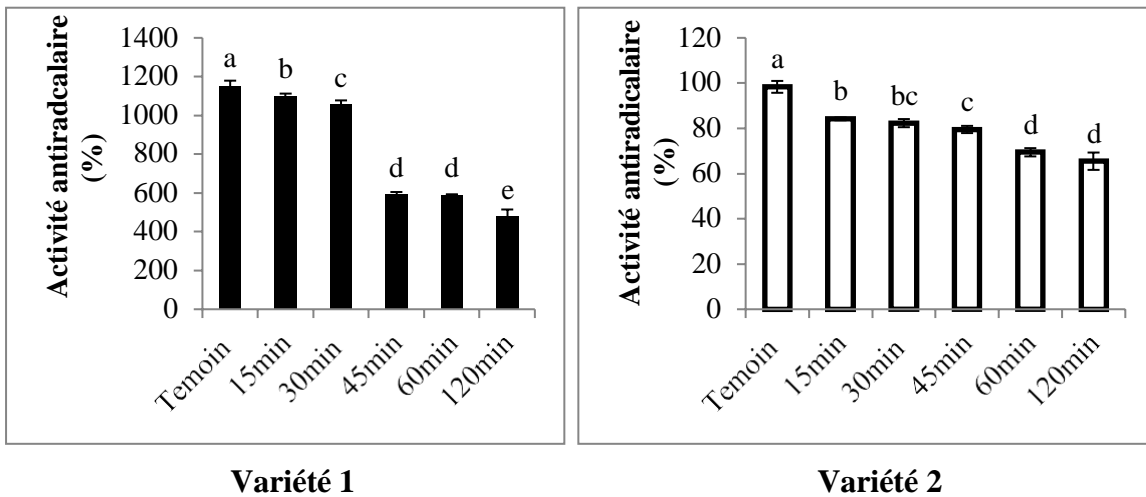
Les lettres minuscules (a>e) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

### III.2. Activité anti-radicalaire

L'analyse statistique de l'activité anti-radicalaire des huiles étudiées révèle des différences significatives ( $p < 0,05$ ) (figure 12). La variété 1 exerce la meilleure activité anti radicalaire (1151 mg/kg), contrairement à la variété 2 (98 mg/kg).

Les taux de baisse de l'activité anti radicalaire au cours de la cuisson sont de 59% (variété 1) et de 33% (variété 2). Ces résultats peuvent être expliqués par la concentration des composés phénoliques particulièrement les *O*-diphénols en raison de leur rôle important dans l'activité anti radicalaire des extraits d'huile d'olive.

L'étude statistique montre l'existence d'une corrélation significative positive ( $p < 0,05$ ) entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité anti radicalaire avec un coefficient de corrélation de 0,93 (annexe 2, figure 9).



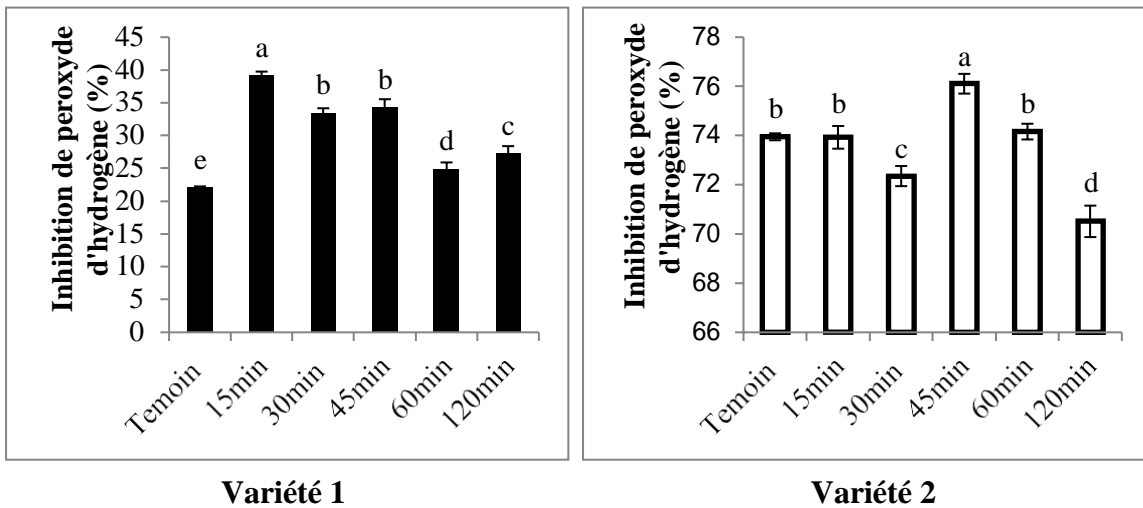
**Figure 12:** Activité anti-radicalaire des huiles analysées au cours de la cuisson.

Les lettres minuscules (a>e) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

### III.3. Inhibition du peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est un produit non radicalaire, mais très réactif et susceptible de produire des radicaux hydroxyles très réactifs ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) en présence du fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ) par la réaction Fenton. En effet, l'activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène est une méthode importante pour la détermination des caractéristiques antioxydantes.

L'analyse statistique de l'activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène des variétés étudiées montre des différences significatives ( $p < 0,05$ ) (figure 13). L'activité varie entre 34% (variété 1) et 76% (variété 2). Les différences constatées entre les variétés analysées peuvent être liées aux propriétés physico-chimiques des antioxydants présents dans les extraits (Kulisic *et al.*,2004).

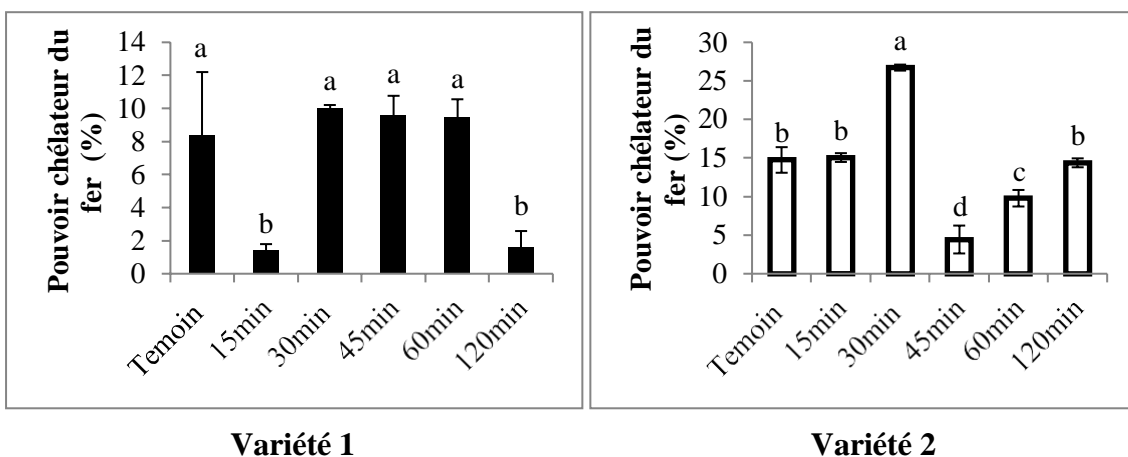


**Figure 13:** Inhibition de peroxyde d’hydrogène des huiles analysées lors de la cuisson.

Les lettres minuscules (a>e) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

### III.4. Pouvoir chélateur du fer

La ferrozine peut former un complexe avec les ions ferreux ( $Fe^{+2}$ ). En présence d’agents chélateurs, la formation de ce complexe est inhibée. L’analyse statistique des résultats a révélé des différences significatives entre les variétés étudiées ( $p < 0,05$ ) (figure 14). Les extraits d’huile fraîche exercent l’activité chélatrice maximale comprise entre 10% (variété 1) et 26% (variété 2). Ces valeurs sont enregistrées au bout de 30 min de cuisson.



**Figure 14:** Pouvoir chélateur du fer des huiles analysées au cours de la cuisson.

Les lettres minuscules (a>d) indiquent des différences significatives (test ANOVA,  $p < 0,05$ ) entre les huiles analysées au cours de la cuisson. Les barres verticales représentent les écarts types.

#### IV. Activité antimicrobienne

Activité antimicrobienne des deux huiles d'olives étudiées sont illustrés dans le tableau III.

**Tableau III** : activité antimicrobienne des deux variétés d'huiles d'olives étudiées.

Variété	Temps (min)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Variété 1	0	--	--	--
	15	--	--	--
	30	--	--	--
	45	--	--	--
	60	--	--	--
	120	--	--	--
Variété 2	0	--	--	--
	15	--	--	--
	30	--	--	--
	45	--	--	--
	60	--	--	--
	120	--	--	--

(--): pas de zones d'inhibitions observées.

Aucune activité antagoniste n'a été enregistrée à l'encontre des deux variétés d'huile, et cela peut être expliqué par la faible quantité d'extrait prise lors de l'analyse ou bien suite à la détérioration des molécules à l'origine de l'activité antimicrobienne lors de la cuisson d'huile.

# Conclusion

## Conclusion

La présente étude nous a permis de montrer les effets de la cuisson d'huile d'olive sur les teneurs en antioxydants (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, flavonols, *ortho*-diphénols et pigments), ainsi que l'activité antioxydante (activité anti radicalaire, pouvoir réducteur, inhibition de peroxyde d'hydrogène et pouvoir chélateur de fer) de deux variétés d'huile. Cette étude est complétée par la détermination des paramètres physicochimiques (acidité, indice de peroxyde et absorbance dans l'ultraviolet), ainsi que l'activité antimicrobienne.

Les résultats obtenus présentent des valeurs d'acidité, d'indice de peroxyde et des coefficients d'extinction spécifique dans l'UV (K232, K270) qui répondent aux limites établies par le COI, (2015) pour une huile d'olive extra vierge, ce qui nous permet de les classer dans la catégorie « extra vierge ».

Les résultats enregistrés indiquent que la cuisson affecte significativement les teneurs en composés phénoliques ainsi que le potentiel antioxydant des deux variétés étudiées. L'analyse statistique des teneurs en antioxydants (polyphénols et pigments) et l'activité antioxydant montre une diminution significative au cours de la cuisson.

Le dosage des antioxydants a révélé que les teneurs les plus élevées en composés phénoliques totaux, flavonoïdes et *ortho* diphénols sont enregistrées pour les extraits de la variété 1. De même pour l'activité antioxydante, les extraits de la variété 1 exercent la meilleure activité ce qui confirme le rôle important des composés phénoliques dans l'activité antioxydante ; alors qu'aucune activité antimicrobienne n'a été observée pour les deux variétés analysées.

On peut conclure que l'huile d'olive présente une bonne stabilité lors d'un traitement thermique à 180°C durant la première quarantaine de minutes (45 min), par contre la dégradation des antioxydants progresse durant le reste de la période de cuisson (de 45 à 120 min), jusqu'à atteindre sa plus faible concentration au bout de deux heures. De même pour l'activité antioxydante.

Dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant de :

- Multiplier le nombre d'échantillons à analyser ;
- Etudier d'autres variétés Algériennes ;
- Tester d'autres processus de cuisson ;
- Déterminer la nature chimique des composés affectés lors de la cuisson en utilisant des méthodes plus performantes.

# Références bibliographiques

**A**

**Abaza, L., Msallem, M., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2002).** Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 9(2), 174-179.

**Aluyor E.O. & Ori-jesu M. (2008).** The use of antioxidants in vegetable oils. *African Journal of Biotechnology*, 7(25), 4836-4842.

**Angerosa F. (2002).** Influence of volatile compound on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104.639-660.

**Assman A., Wahburg U.,(2000).** Effet des composants mineurs de l'huile d'olive sur la santé, 53.

**Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., ... & Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.

**Augustin, M. A., & Berry, S. K. (1983).** Efficacy of the antioxidants BHA and BHT in palm olein during heating and frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(8), 1520-1523.

**B**

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

**Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Lercker, G. (2007).** Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade Alessandra. *Molecules*, 12(8), 1679-1719.

**Benlemlih M et Ghannam J. (2012).** Polyphénols d'HUILE d'OLIVE, trésors santé ! .Ed. Medicatrix: 19-35.

**Ben Tekaya I .et Hassouna M. (2007).** Effet des chlorophylles de la beta carotène de l'alphatocophérol du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive Tunisienne.OCL, 14(1): 60-67.

**Bešter E., Butinar B., Bučar-Mičlačić M. & Golob T. (2007).** Chemical changes in extra virgin olive oil from Slovenian Istra after thermal treatment. *Food Chemistry*, 1-19.



**Bianchi, G. (2003).** Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105(5), 229-242.

**Blekas G., Tsimidou M. et Boskou D. (1994).** Contribution of  $\alpha$ - tocopherol to olive oil stability. *Food Chem.*, 52, PP: 289-294.

**Boskou D, Blekas G, Tsimidou M., (2006).** Olive oil composition, Olive oil. Chemistry and technology, Champaign Illinois: *American oil Chemists society USA*. pp 41-72.

**Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

### C

**C.O.I (2018).** Conseil Oléicole International. Norme commerciale applicable aux huiles d'olives et aux huiles de grignons d'olives. 14 p.

**C.O.I. (2003).** Conseil Oléicole International. Normes commerciales applicables aux huiles d'olives et aux huiles de grignons d'olives, 16p.

**C.O.I. (2006).** Conseil Oléicole International. Guide de gestion de la qualité de l'industrie de l'huile d'olive : les moulins, 17p.

**C.O.I. (2015).** Conseil Oléicole International. Norme commerciale applicable aux huiles d'olives et aux huiles de grignons d'olives. 17 p.

**Casal, S., Malheiro, R., Sendas, A., Oliveira, B. P., & Pereira, J. A. (2010).** Olive oil stability under deep-frying conditions. *Food and chemical toxicology*, 48(10), 2972-2979.

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

**CEE/2568/91.** Communauté économique européenne. Règlement (CEE) N°2568/91 de la commission du 11 juillet 1991. Relatif aux caractéristiques des huiles d'olives et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyses y afférentes : 6(1): 50 -56.

**Chimi H. (2001).** Qualité des huiles d'olive au Maroc. Transfert de Technologie en Agriculture. Bulletin Mensuel d'Information et de Liaison du Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture, 79: 1-4.

**Choe, E., & Min, D. B. (2007).** Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of food science*, 72(5), R77-R86.

**Chou, S. T., Chao, W. W., & Chung, Y. C. (2003).** Antioxidative activity and safety of 50% et hanolic red bean extract (*Phaseolus radiatus* L. var. Aurea). *Journal of food science*, 68(1), 21-25.

**Colomer, R., & Menéndez, J. A. (2006).** Mediterranean diet, olive oil and cancer. *Clinical and Translational Oncology*, 8(1), 15-21.

**Cortesi N., Rovellini P. et Fedeli E. 2000.** Cultivars, technologie et qualité des huiles d'olive. *Olivae*, 81: 26-35.

### **D**

**Delplanque B., Jusselin I., Le Roy B. and Motta C. (1999).** Intérêt nutritionnel des huiles d'olive. *Oléagineux Corps gras Lipides*, 6 (1) : 86-89.

**Demnati D. (2008).** Elaboration d'une huile d'olive vierge. *Technologie Alimentaire, Analyse Sensorielle et Gestion de la Qualité*, 4p.

**Dhifi, W., Angerosa, F., Serraiocco, A., Oumar, I., Hamrouni, I., & Marzouk, B. (2005).** Virgin olive oil aroma: Characterization of some Tunisian cultivars. *Food Chemistry*, 93(4), 697-701.

**Di Giovacchino L. (1991).** L'extraction de l'huile des olives par les systèmes de la pression, de la centrifugation et de la percolation : incidence des techniques d'extraction sur les rendements en huile. *Olivae*, 21 (10): 15-37.

**DSA :** la direction de wilaya des services agricoles.

### **E**

**El Antari A., Hilal A., Boulouha. et El Moudni A. (2000).** Etude de l'influence de la variété, de l'environnement et des techniques culturales sur les caractéristiques des fruits et la composition chimique de l'huile d'olive vierge extra au Maroc. *Olivae*, 80 : 29-36.

### **F**

**Fedeli E. (1997).** Technologie de production et de conservation de l'huile. In : *Encyclopédiemondiale de l'olivier*. Ed. Plaza et Janes, pp. 253-273.

**Folly, P. (2000).** Catabolisme de la chlorophylle, structures, mécanismes et synthèse. Thèse Doctorat en sciences naturelles : Fribourg (Suisse) : Faculté des sciences de l'université de Fribourg. N°1287, P: 200.

### **G**

**Gómez-Rico, A., Fregapane, G., & Salvador, M. D. (2008).** Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*, 41(4), 433-440.

**Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. İ., & Aslan, A. (2002).** Determinations of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 325-329.

**Gutiérrez, F., Jimenez, B., Ruiz, A., & Albi, M. A. (1999).** Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties Picual and Hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 121-127.

### **H**

**Haddam, M., Chimi, H., & Amine, A. (2014).** Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. *OCL*, 21(5), D507.

### **I**

**Isabel Minguez-Mosquera, M., Rejano-Navarro, L., Gandul-Rojas, B., SanchezGomez, A. H., & Garrido-Fernandez, J. (1991).** Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68(5), 332-336.

### **J**

**Jacotot B., Lasserre M., Osteva O., Baudet M.F. and Dachet C. (1985).** corps gras alimentaires et prévention des maladies vasculaires. Etude chez le sujet sain. *Revue Française des Corps Gras*, 85 (2) : 11-16.

### **K**

**Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.

**Kafatos A.G. (1995).** La consommation d'huile en Crète : Une des principales caractéristiques du régime alimentaire méditerranéen- crétois. *Olivae*, 56 : 22-24.

**Kalogianni, E. P., Karastogiannidou, C., & Karapantsios, T. D. (2009).** Effect of the presence and absence of potatoes under repeated frying conditions on the composition of palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(6), 561-571.

**Karleskind, A (1992).** Généralités. In : Manuel des corps gras. Ed : Lavoisier, Tec. Et Doc, paris, p.1-46.

**Karliskind A, 1992.** Manuel des corps gras. Ed.: *Tech & Doc*. 2: 1198-1212.

**Khelif M. et Rekik H. 1996.** La qualité de l'huile d'olive en tunisie un atout, des contraintes et des ambitions. *Revue Ezzaitouna*, 2 (1 et2) : 79-92.

**Kim, D. O., Chun, O. K., Kim, Y. J., Moon, H. Y., & Lee, C. Y. (2003).** Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(22), 6509-6515.

**Kuliscic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004).** Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry*, 85(4), 633-640.

**Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2007).** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 344-352.

### **L**

**Leger C.L. 2003.** L'huile d'olive : sa place dans l'alimentation humaine. In : Lipides et corps gras alimentaires. Lavoisier, Ed. Technique et documents, pp.81 -101.

**Leger Calaud-Louis. (1999).** Co-produits de l'huilerie d'olive : les composés phénoliques et leurs propriétés biologiques. *O.C.L.*, 6, p.60-63.

### **M**

**Morelló, J. R., Romero, M. P., & Motilva, M. J. (2004).** Effect of the maturation process of the olive fruit on the phenolic fraction of drupes and oils from Arbequina, Farga, and Morrut cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(19), 6002-6009.

### **N**

**Nefzaoui, A., 1984.** Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier. Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie. Étude FAO production et santé animales 43.

### **O**

**Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guérère, M., & Artaud, J. (2004).** Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. In *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique* (Vol. 965, pp. 169-196).

**Ouaouich .A et Chimi .H .(2007).** Le guide de production de l'huile d'olive. Ed. *ONUD*. Vienne: 4-23.

**Owen R.W., Haubner R., Mier W., Giacosa A., Hull W.E., Spiegelhalder B. and Bartsch H. (2003).** Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food and Chemical Toxicology*, 41:703–717.

**P**

**Papoti, V. T., & Tsimidou, M. Z. (2009).** Looking through the qualities of a fluorimetric assay for the total phenol content estimation in virgin olive oil, olive fruit or leaf polar extract. *Food chemistry*, 112(1), 246-252.

**Perrin J.L. (1992).** Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et Recherche*, 4: 25-31.

**Psomiadou E .et Tsimidou M. (2002).** Stability of Virgin Olive Oil. 1. Autoxidation Studies. *Journal of Agriculture and Chemistry*, 50 (4):716-72.

**Psomiadou E, Tsimidou M. (1999).** On the role of squalene in olive oil stability. *J. Agric. Food Chem.* 47(10): 4025-32.

**Psomiadou, E., Tsimidou, M. and D. Boskou. (2000).** A-Tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (5), 1770-1775.

**Q**

**Quiles, J. L., Huertas, J. R., Battino, M., Ramírez-Tortosa, M. C., Cassinello, M., Mataix, J., ... & Manas, M. (2002).** The intake of fried virgin olive or sunflower oils differentially induces oxidative stress in rat liver microsomes. *British Journal of Nutrition*, 88(1), 57-65.

**R**

**Ruiz-Gutiérrez, V., Morgado, N., Prada, J. L., Pérez-Jiménez, F., & Muriana, F. J. (1998).** Composition of human VLDL triacylglycerols after ingestion of olive oil and high oleic sunflower oil. *The Journal of nutrition*, 128(3), 570-576.

**Ryan D., Robards K., Lavee S. (1998).** Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*72, p. 23-38.

**S**

**Sakouhi, F., Harrabi, S., Absalon, C., Sbei, K., Boukhchina, S., & Kallel, H. (2008).**  $\alpha$ -Tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives (*Olea europaea* L.): Changes in their composition during ripening and processing. *Food Chemistry*, 108(3), 833-839.

**Servili, M., Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G., & Morozzi, G. (2004).** Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 113-127.

**Sherwin, E. R. (1976).** Antioxidants for vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53(6 Part2), 430-436.

**Sherwin, E. R. (1978).** Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55(11), 809-814.

**Sotiroidis T.G. and Kyrtopoulos S.A.** 2008. Anticarcinogenic compounds of olive oil and related biomarkers. *European Journal of Nutritional*, 47: 69–72.

### **T**

**Tovar, M. J., Romero, M. P., Girona, J., & Motilva, M. J. (2002).** l-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive (*Olea europaea* L cv Arbequina) fruit grown under different irrigation regimes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 892-898.

### **U**

**Uzzan A. (1992).** Olive et huiled'olive .In : Manuel des Corps Gras.Paris: LavoisierTec & Doc.1:221-228.

**Uzzan A. (1992).** Olive et huile d'olive. In : Manuel des corps gras. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp. 221-229.

**Uzzan A. (1994).** Huile d'olive. In : manuel des corps gras. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp. 763-766.

### **V**

**Venkateshwarlu, G., Let, M. B., Meyer, A. S., & Jacobsen, C. (2004).** Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(6), 1635-1641.

**Visioli, F., Poli, A., & Gall, C. (2002).** Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal research reviews*, 22(1), 65-75.

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

### **W**

**Wang, H., Gao, X. D., Zhou, G. C., Cai, L., & Yao, W. B. (2008).** In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry*, 106(3), 888-895.

### **Z**

**Zarrouk M., Marzouk Ben MiledDaoud D. and Chérif A. (1996).** Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition. *Olivae*, 61: 41 -45.

# Annexes

**Tableau I :** Composition chimique de l'olive (Laurent et Barnouin, 2000).

<b>Constituants</b>	Teneurs (pour 100 g de matière fraîche)
<b>Eau</b>	68 g (70 à 75 %).
<b>Lipides</b>	20 g (17 à 30 %).
<b>Glucides</b>	10 g (12 %).
<b>Protéines</b>	1 g (1 %).
<b>Acides organiques</b>	Trace.
<b>Sels minéraux (mg)</b>	
-Sodium (Na)	128
-Fer (Fe)	2,9
-Calcium (Ca)	122
-Magnesium (Mg)	2
-Soufre (S)	27
-Manganèse (Mn)	2
-Phosphore (P)	14
-Cuivre (Cu)	0,2
-Chlore (Cl)	4
<b>Vitamines (mg)</b>	
-Vitamine E	238 – 352
-Vitamine B1	0,54 – 11
-Vitamine A	0,15 – 0,23



**Tableau II : La classification des huiles d'olive (COI, 2015).**

<b>Catégorie</b>	<b>Huile d'olive extra vierge</b>	<b>Huile d'olive vierge</b>	<b>Huile d'olive courante</b>	<b>Huile d'olive lampante</b>
<b>Acidité libre (% d'acide oléique)</b>	$\leq 0,8$	$\leq 2,0$	$\leq 3,3$	$>3,3$
<b>Indice de Peroxyde ( meq d'O<sub>2</sub>/kg)</b>	$\leq 20$	$\leq 20$	$\leq 20$	Non limité
<b>Absorbance dans l'UV</b> - à 270nm - à 232nm - $\Delta K$	$\leq 0,22$ $\leq 2,5$ $\leq 0,01$	$\leq 0,25$ $\leq 2,60$ $\leq 0,01$	$\leq 0,3$  $\leq 0,01$	
<b>Teneur en eau et en matière volatiles</b>	$\leq 0,2$	$\leq 0,2$	$\leq 0,2$	$\leq 0,3$

**Tableau III** : Composition moyenne en acide gras de l'huile d'olive analysée par chromatographie en phase gazeuse (COI, 2003)

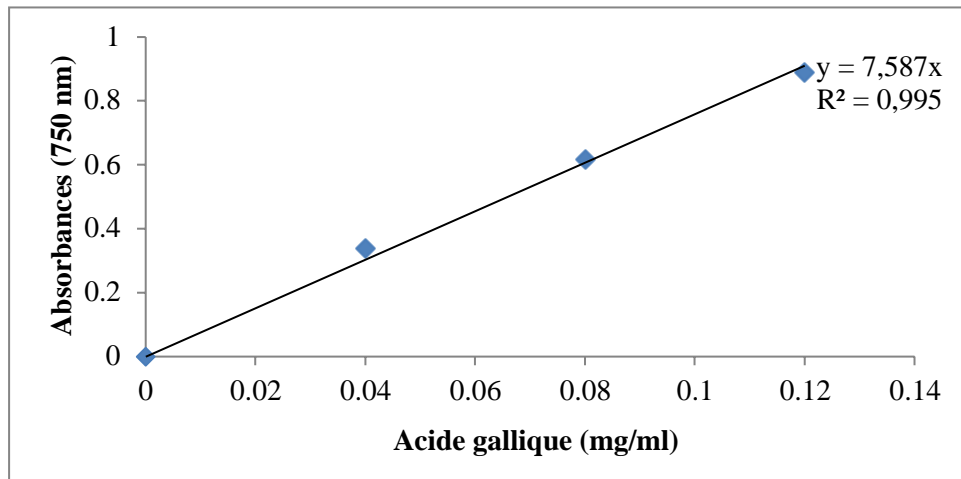
Acides gras	Taux en %
Acide myristique	≤0,05
Acide palmitique	7,5-20,0
Acide palmitoléique	0,3-3,5
Acide heptadécanoïque	≤0,3
Acide heptadécinoïque	≤0,3
Acide stéarique	0,5-5,0
Acide oléique	55,0-83,0
Acide linoléique	3,5-21,0
Acide linoléinique	≤1,0
Acide arachidique	≤0,6
Acide gadoléique	≤0,4
Acide béhénique	≤0,2
Acide lignocérique	≤0,2

**Tableau IV** : Les principaux triglycérides de l'huile d'olive (Ryan *et al.*,1998).

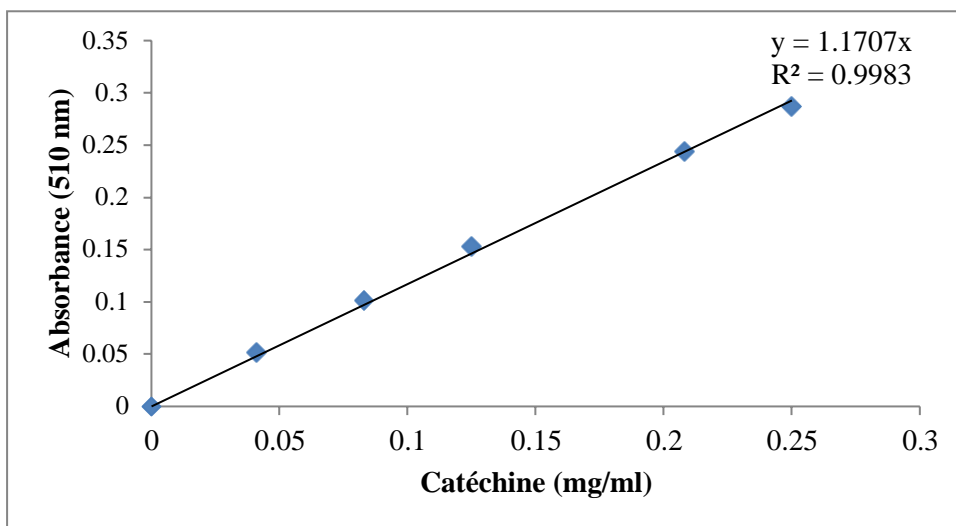
Nature	Pourcentage des triglycérides
Trioléine (OOO)	47,45 - 58,34
Dioléopalmitine (POO)	18,72 - 21,81
Dioléolinoléine(OOL)	15,10 - 20,96
Palmitooléolinoléine (POL)	3,16 - 6,94
Dioléostéarine (SOO)	2 - 5

**Tableau V:** Composition moyenne en stérols de l'huile d'olive (Uzzan, 1992).

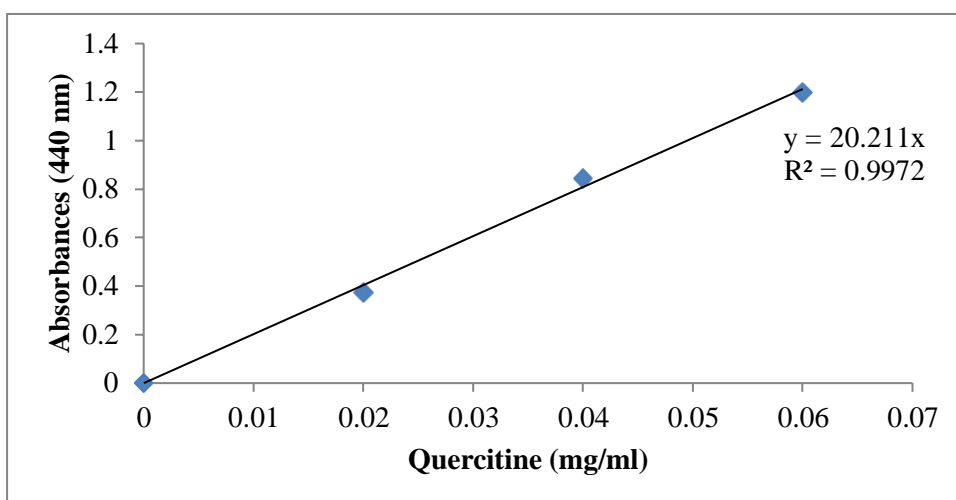
<b>Stérols</b>	<b>Pourcentage des stérols totaux</b>
$\beta$ -Sitostérol	75 - 90
$\Delta$ -5 avenastérol	3 - 14
Campestérol	2 - 4
Stigmastérol	1-2
Cholestérol	<0.3



**Figure 1** : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux.



**Figure 2** : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.



**Figure 3** : Courbe d'étalonnage des Flavonols.

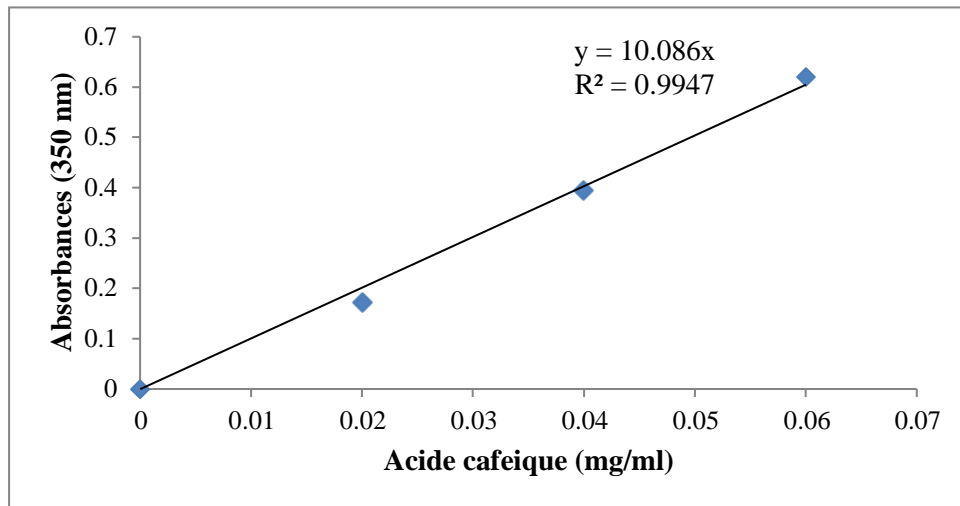


Figure 4 : Courbe d'étalonnage des *ortho*-diphénols.

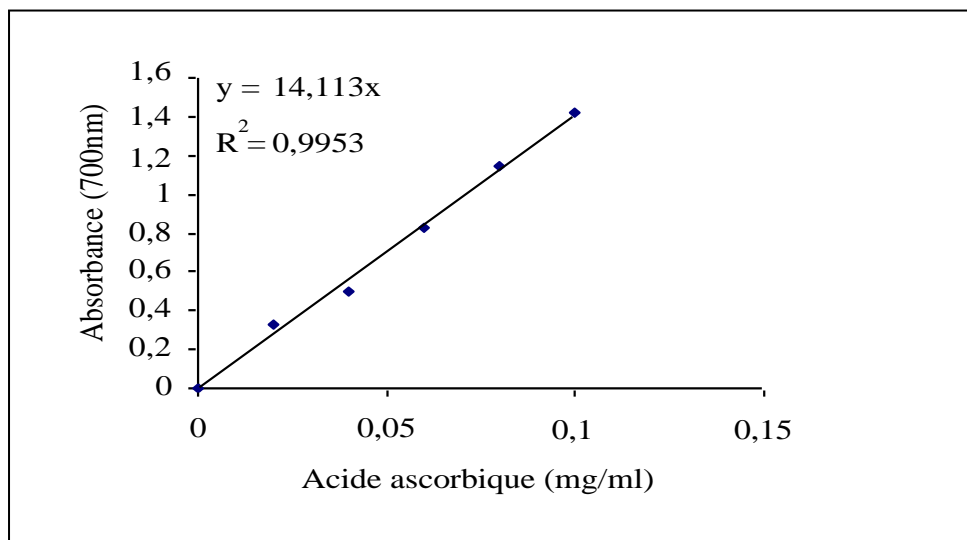


Figure 5 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

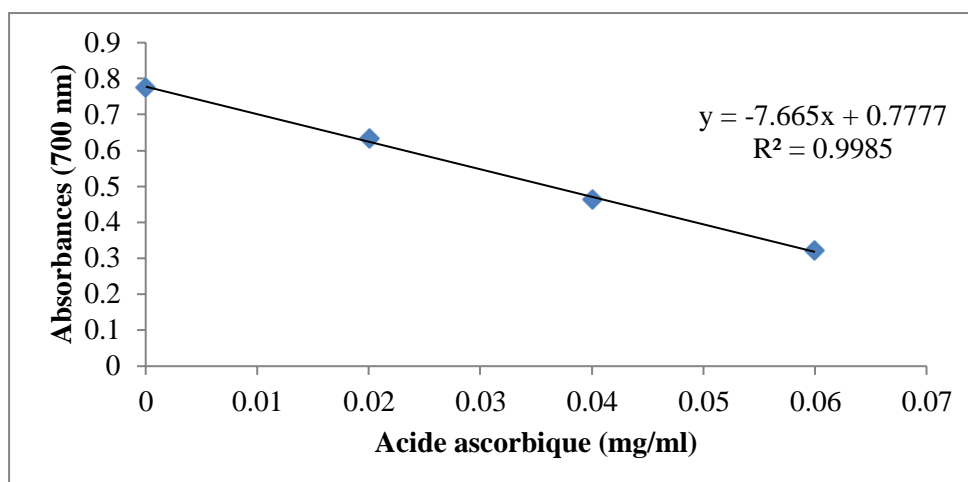
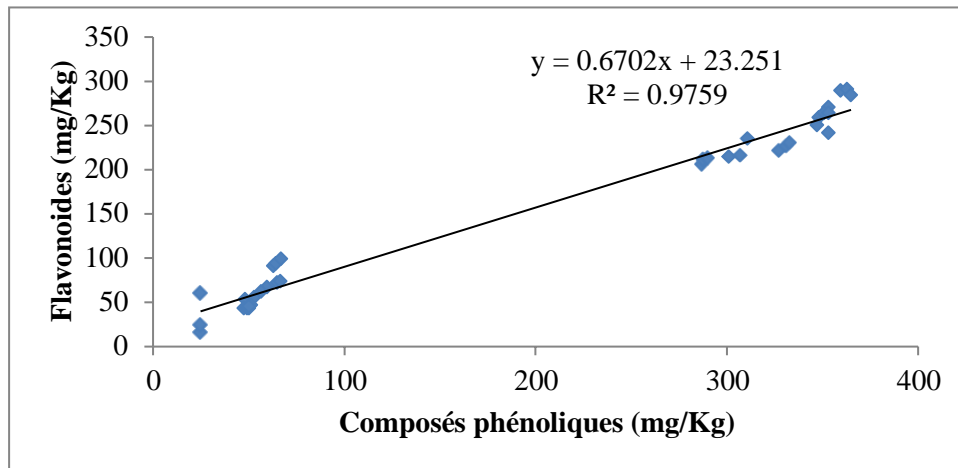
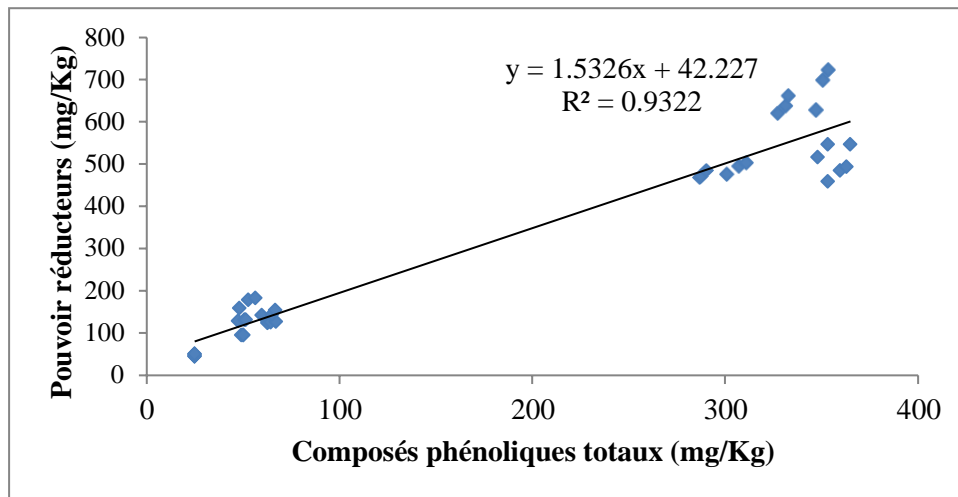


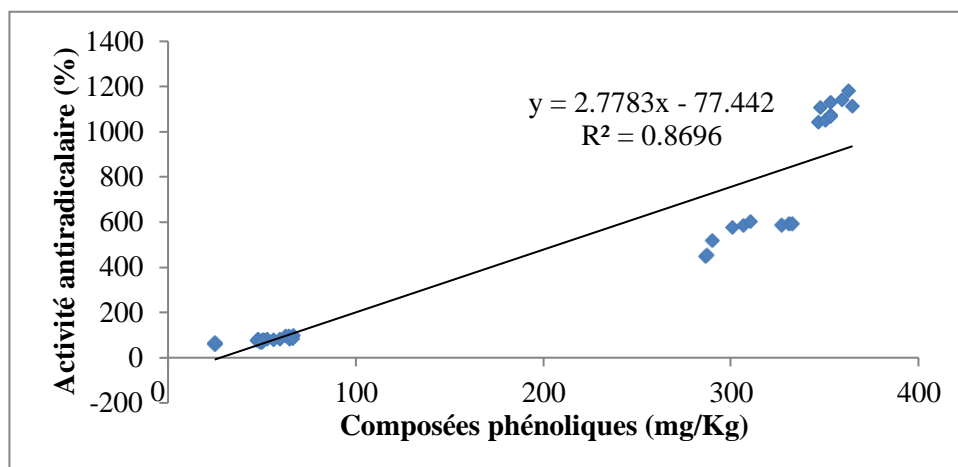
Figure 6 : Courbe d'étalonnage de DPPH.



**Figure 7:** Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits d'huile d'olive.



**Figure 8:** Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et en pouvoir réducteurs des extraits d'huile d'olive.



**Figure 9:** Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et en activité anti radicalaire des extraits d'huile d'olive.

## Résumé

Ce présent travail a été entrepris dans le but d'évaluer l'effet de la cuisson sur l'activité antioxydante de deux variétés d'huile d'olive. Les extraits ont été testés pour leurs teneurs en antioxydants (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, flavonols, *ortho* diphénols et pigments) ainsi que leur potentiel antioxydant. Les résultats indiquent la conformité des paramètres physicochimiques (l'indice d'acidité, l'indice de peroxyde et l'absorbance dans l'UV) avec les normes établie par COI (2015), pour la catégorie des huiles d'olive vierge extra. La cuisson affecte significativement les teneurs en composés phénoliques ainsi que le potentiel antioxydant. Le dosage des antioxydants a révélé que les teneurs les plus élevées en composés phénoliques totaux et flavonoïdes et les *ortho* diphénols sont enregistrées pour les extraits de la variété 1. Ces résultats montre que l'huile d'olive présente la meilleure stabilité lors de la cuisson à 180°C durant la première quarantaine de minutes (45 min), par contre la dégradation des antioxydants progresse durant le reste de la période de cuisson (de 45 à 120 min), jusqu'à atteindre sa plus faible concentration au bout de deux heures. L'évolution similaire est notée pour l'activité antioxydante.

**Mots clés :** huile d'olive, cuisson, antioxydant, activité antioxydante.

## Abstract

This work was undertaken to evaluate the effect of cooking on the antioxidant activity of two varieties of olive oil. The extracts were tested for their antioxidant contents (total phenolic compounds, flavonoids, flavonols, ortho diphenols and pigments) as well as their antioxidant potential. The results indicate the compliance of the physicochemical parameters (the acid number, the peroxide index and the absorbance in the UV) with the standards established by COI (2015), for the category of extra virgin olive oils. Cooking significantly affects the levels of phenolic compounds as well as the antioxidant potential. The antioxidant assay revealed that the highest levels of total phenolic compounds and flavonoids and ortho diphenols are recorded for variety 1 extracts. These results show that olive oil has the best stability during cooking. at 180 ° C during the first forty minutes (45 min), the degradation of antioxidants progresses during the rest of the cooking period (from 45 to 120 min), until reaching its lowest concentration after two hours. Similar evolution is noted for antioxidant activity.

**Keywords:** olive oil, cooking, antioxidant, antioxidant activity.