

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 de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en Biotechnologie,
Agro-ressources, Aliments et Nutritions.

Option : Corps Gras.

Thème

Optimisation de l'extraction des composées
phénoliques par micro-onde d'*Allium cepa* (oignon
rouge), et l'évaluation de leur enrichissement dans les
huiles végétales (olive, soja).

Présenté par :

M^r REMITA HAKIM

M^{elle} YOUS LILIA

Membres du jury :

President: M^r BOUKHALFA FARID

Promoteur: M^r MADANI KHODIR

Examinatrice: M^{elle} ISSAADI OURDA

Examineur : M^r CHIKHOUNE AMIROUCHE

Année : 2012/2013

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le Généreux qui a enseigné à l'Homme ce qu'il ne savait pas et aussi de nous avoir donné la force afin d'accomplir ce modeste travail.

A notre promoteur Khodir MADANI, MCA à la Faculté des Sciences de la nature et de la vie et Directeur de Laboratoire de BBBS, qu'il trouve ici le témoignage de nos vifs remerciements pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de nous encadrer, ainsi que pour l'aide qu'il nous a apportée afin de réaliser ce travail .

Nous remercions également M^r Farid Boukhalifa, d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance ainsi que M^r Chikhounne et M^{elle} Issaadi qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.

Nos remerciements s'adressent à tous le personnel de recherche et développement de CEVITAL plus particulièrement Mr Hadjal Samir, pour l'accueil, l'aide, et conseils qui nous ont apportés tout au long de notre stage.

Un remerciement spécial et sincère à Soufiène DAIRI qui, sans sa collaboration et son aide, Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés à : Sihem et Khalida pour leur aide inestimable.

Sans oublier bien sûre nos deux très chères amies.

Nos remerciements les plus sincères à tout le personnel de laboratoire BBBS, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

*A l'aide de notre dieu le tout puissant on a pu faire ce modeste travail que je dédie à :
A celle qui m'a comblé d'amour, de soutien et de tendresse. A vous mon signe de joie et de*

bonheur, ma fierté et mon honneur : Ma Mère

*A celui qui a sacrifié toute sa vie pour me guider et m'encourager avec ces
précieux conseils et son soutien tout au long de mes études : Mon père*

A mon cher frère : Madjid

A mes adorables soeurs : Hayette, Sarra et Amina

Tous mes oncles, tantes, cousin, cousine en particulier Louisa

Pour son soutien et encouragement, tout au long de mes études.

A mes meilleures amis : Louisa, Sadrina, Lilia, Naima, Hania, Linda, Sabrina, Chanez,

Amel, merouan, oussama, farid, oumar et mastafa.

A mont rés chère collègue Hakim et toute sa famille

A Toute la Promotion CG ainsi à celle des SA.

Lilia

Je dédie ce présent et modeste travail :

A mes très chers parents ;

Ceux qui m'ont tout donné sans rien au retour; Tant d'affection et d'amour

Ce n'est que grâce à leur soutien que ce travail a vu le jour

Que Dieu vous protège et vous accorde une longue

vie pleine de santé et de bonheur

À mes adorables sœurs ;

Souhila, Linda et Tinhinen

A toute ma grande famille ; cousins, cousines, oncles, tentes ainsi que ma grand-mère

A tout mes chers amis (es) ;

En particulier, Aissa, Oussama, Oumar, Farid, Athman, Kivine, Amin, Salim, Merouan,

Sadrina , Lila, Sabrina ,Naima, Hania ,Chanez.

A ma très chère collègue Lilia et toute sa famille

A toute la promotion CG et SA

A toute personne cher

Hakim

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

Abse : Absorbance de l'échantillon.

Abst : Absorbance du témoin.

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

AGPI : Acide Gras PolyInsaturé.

ANOVA : Analysis Of Variance.

aw : Activité de l'eau.

BBD: Box-Behnken design.

BHT : Hydroxytoluène butylé.

C.O.I. : Conseil Oléicole International.

CPT: Composés Phénoliques Totaux.

DHA : Acide docosahexaénoïque.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

E.A.G: Equivalent d'Acide Gallique.

E.R: Equivalent de la Rutine.

EOA: Espèces Oxygénée Activé.

EOR : Espèces Oxygénée Réactive.

HT : Huile Témoin.

IC50 : concentration inhibitrice.

IP : Indice de Peroxide.

IT: Temp d'induction.

Meq: Milliequivalent.

p/v : poid/volume.

ppm: partie par million.

R• : Radical libre.

RH : Acide gras insaturé.

RMS : Méthode de Surface de Réponse.

ROO• : Radical peroxy.

ROOH: Hydroperoxyde.

v/v : Volume/Volume.

Liste des figures

Figure n° 01: Structure de base des flavonoïdes	9
Figure n°02 : Effet du solvant d'extraction.....	24
Figure n° 03 : Effet de différentes puissances de micro-onde sur l'extraction des polyphénols.	25
Figure n° 04 : Effet de différents temps d'extraction sur les polyphénols.	26
Figure n°05: Effet de différents rapports liquide/solide sur l'extraction des polyphénols	27
Figure n°06 : L'effet des différentes concentrations du solvant sur l'extraction des polyphénols.	27
Figure n° 07: Surface de réponse pour les effets de concentration d'éthanol/temps (A), la concentration solvant/le ratio (B) et temps/puissance (C) sur le rendement CPT d'oignon rouge.	30
Figure n°08 : Teneurs des CPT dans les deux huiles (olive et soja).	37
Figure n°09: Activité antiradicalaire d'huile d'olive témoin et enrichie sur le DPPH	38

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique de l'oignon (<i>Allium Cepea.L</i>).....	3
Tableau II : Principaux antioxydants de l'oignon rouge (mg/100g).	10
Tableau III : les variables indépendantes et les niveaux de facteurs influençants sur l'extraction assistée par micro-onde.....	15
Tableau IV: Taux d'humidité et l'activité de l'eau d'oignon rouge.	23
Tableau V: analyse de la variance (ANOVA) des expérience exprérimentales.	29
Tableau VI: Conditions optimales d'extraction des polyphénols à partir de la poudre étudiée.	32
Tableau VII : Teneurs en composés phénoliques et des flavonoïdes de l'oignon rouge.	32
Tableau VIII : Activité antioxydante exprimée par l'IC 50 (µg/ml).	33
Tableau IX : Les paramètres physico-chimiques d'huile d'olive.	33
Tableau X: Les teneurs en pigments et en composés phénoliques de l'huile étudié (témoin).	35
Tableau XI: les analyses de l'huile de soja.	36
Tableau XII : stabilité oxydative des huiles non enrichies et les huiles enrichie mesurée par le rancimat.	39
Tableau XIII : Evaluation des paramètres physico-chimique de l'huile de soja enrichie au cours du chauffage.	40

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

Partie I. Synthèse bibliographique

Chapitre I. Généralités sur l'oignon et les huiles alimentaires

I. Origine et production	3
I.1. Composition chimique et nutritionnelle de l'oignon rouge	3
II. Huile d'olive	4
II.1. Dénominations et définition	4
II.1.1. Huiles d'olive vierges	4
II.1.3. Huile d'olive courante	5
II.2. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive	5
II.3. Composition et caractéristiques de l'huile d'olive	5
III. Huile de soja	5
III.1. Définition et composition de la graine	5
III.2. Composition de l'huile de soja	6
III.3. Principales étapes de raffinage d'huile de soja	6

Chapitres II. Oxydation et antioxydants

I. Oxydation	7
I.1. Mécanismes généraux de l'oxydation	7
I.1.1. L'auto-oxydation	7
I.1.2. Oxydation enzymatique	7
I.1.3. Photo-oxydation	7

II. Antioxydants.....	8
II.1. Polyphénols	8
II.2. Flavonoïdes.....	9
II.3. Anthocyanes	10
III. Effet thérapeutique	11
VI. Extraction des composés phénoliques	12
IV.1. Les méthodes d'extraction	12
IV.1.1 Extraction conventionnelle	12
IV.1.2. Extraction moderne par micro-onde	12

Partie II. Partie pratique

Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal	13
I.2. Détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'oignon rouge.....	13
I.2.1. Taux d'humidité.....	13
I.2.2. Détermination de l'activité d'eau.....	13
I.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques.....	14
I.3.1. Extraction par microonde.....	14
I.3.2. Essais préliminaires	14
I.3.3. Conception expérimental	15
I.4. Extraction par la méthode conventionnelle.....	16
I.5. Le rendement	16
I.6. Dosage des composés phénoliques totaux	16
I.7. Dosage des flavonoïdes.....	17
I.8. Activité antiradicalaire sur le radical DPPH.....	17
II. Enrichissement des huiles de soja et d'olive par l'extrait phénolique de l'oignon rouge ...	17
II.1. Préparation des extraits phénoliques des huiles	17
II.2. Dosage des composés phénoliques.....	18

II.3. Dosage des pigments	18
II.4. Paramètre physico-chimique	18
II.4.1. Acidité	18
II.4.2. Indice de peroxyde.....	19
II.4.3. Absorbance spécifique dans l'ultraviolet	19
II.4.5. Couleur	20
II.4.6. Mesure des composés polaires	20
III. Activité antiradicalaire sur le radical DPPH des extraits d'huiles d'olive.....	20
III.1. Evaluation de la stabilité oxydative des l'huiles enrichies.....	21
III.1.1. Stabilité oxydative utilisant le Rancimat.....	21
III.2. Procédure de friture.....	21
III.3. Analyse statistique.....	22

Chapitre II. Résultats et discussion

I. Caractérisation de l'oignon rouge	23
I.1. Evaluation du taux d'humidité et l'activité de l'eau	23
I.2. Extraction des composés phénolique	23
I.2.1. Extraction des composés phénoliques par micro ondes.....	23
I.2.2. Etudes préliminaires.....	24
I.2.2.1. Effet de solvant d'extraction	24
I.2.2.2. Effet de différentes puissances de micro-onde sur l'extraction des polyphénols	25
I.2.2.3. L'effet de différents temps d'extraction	26
I.2.2.4. L'effet de différents rapports liquides/solides sur l'extraction des polyphénols	26
I.2.2.5. L'effet des différentes concentrations du solvant sur l'extraction des polyphenols totaux.....	27
I.2.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénolique totaux	28
I.2.3.1. Analyse de la surface de réponse	30
I.2.3.1.1. Intéraction concentration solvant/temps d'irradiation	30

I.2.3.1.2. Interaction de la concentration d'éthanol et le ratio liquide-solide.....	31
I.2.3.1.3. Intéraction entre le temps d'extraction et la puissance de micro-onde	31
I.2.3.1.4. Vérification du model	31
I.2.3.1.5. Conditions optimales	31
I.2.4. Comparaison entre la méthode d'extraction assistée par micro-ondes et la méthode conventionnelle	32
I.3. L'activité scavenger sur le radical DPPH	32
II. Caractérisation de l'huile d'olive	33
II.1. Analyse des paramètres physico chimique de l'huile d'olive	33
II.1.1. L'acidité.....	34
II.1.2. L'indice de peroxyde	34
II.1.3. Absorbance dans l'ultraviolet.....	34
II.2. Analyse des pigments et des polyphénols totaux de l'huile d'olive témoin.....	35
III. Caractérisation de l'huile de soja	36
IV. Enrichissement de l'huile de soja et l'huile d'olive.....	37
IV.1. Teneur en polyphénols totaux des huiles enrichies (huile d'olive et l'huile de soja)	37
IV.2. Détermination de l'activité antioxydant d'huile d'olive.....	37
IV.2.1. L'activité scavenger du radical DPPH	37
IV.3. Teste de rancimat	38
V. Détermination des indices de qualité d'huile de soja enrichie au cours des fritures.....	40
V.1. Acidité	41
V.2. Indice de peroxyde	41
V.3. Couleur	42
V.4. Composé polaire.....	42
Conclusion.....	43
Références bibliographiques	

Introduction

Introduction

Les huiles végétales comestibles comme l'huile d'olive et l'huile de soja, occupent une place importante dans la nutrition humaine (**Salta et al., 2007**). Elles sont riches en acides gras insaturés et contiennent des composés mineurs d'une grande importance (composés phénoliques). Malheureusement, ces huiles sont instables et sujettes à une oxydation rapide durant le stockage ou lors des préparations culinaires, ce qui modifie leur caractéristiques organoleptiques et physicochimiques, et qui affectent ainsi leur durée de conservation (**Lee et al., 2009**).

Afin de surmonter les problèmes de stabilité des huiles et des graisses, des antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) ont été employés comme additifs alimentaires (**Farag, 2007**). Cependant, ces composés ont révélés des effets néfastes sur la santé humaine y compris le cancer. En raison de ces soucis, le consommateur tend à rejeter tous les additifs alimentaires y compris les antioxydants synthétiques (**Artajo et al. 2006**). Néanmoins, il a une préférence pour tout ce qui est naturel (**Bianco et Uccella, 2000**).

De ce fait, l'industrie agroalimentaire développe et recourt à l'utilisation des antioxydants naturels, parmi lesquelles on trouve dans une grande mesure la famille des polyphénols. En effet, ces composés sont largement présents dans notre alimentation (fruits et légumes) et ils font actuellement l'intérêt de nombreuses études car en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles pour l'industrie agroalimentaire, ils peuvent s'avérer utiles dans le traitement de nombreuses pathologies (**Hennebelle et al., 2008**).

Par conséquent, la recherche de molécules extraites de sources naturelles et surtout leur incorporation dans les huiles avance dans un rythme compétitif vu l'intérêt double que pourraient apporter ces substances (**chiou et al. 2009**). Et les différentes études réalisées dans ce sens ont concluent l'intérêt positive de l'enrichissement exogène des huiles étudiées (**Fki et al., 2005 ; Veillet et al., 2010 ; Ayadi et al., 2009**).

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'étude de l'enrichissement de deux huiles à savoir l'huile d'olive et l'huile de soja avec les polyphénols *d'allium cepea* (oignon rouge). Le choix de cette plante consiste à son utilisation dans l'herboristerie traditionnelle, sa présence en très grande quantité et bien sûr en sa richesse en polyphénols particulièrement les flavonoïdes (**Albitar, 2010**).

Cette étude est subdivisée en trois parties :

Une synthèse bibliographique qui porte sur des généralités sur l'oignon rouge, l'huile d'olive, l'huile de soja et sur l'oxydation et les antioxydants.

L'optimisation de l'extraction des composés phénoliques à partir de l'oignon rouge par micro-onde en utilisant la méthode de surface de réponse (RMS) développée par le plan de Box Behenken (BBD).

L'évaluation de l'effet d'incorporation des polyphénols d'oignon rouge dans les huiles : huile d'olive et huile de soja.

Partie
Théorique

CHAPITRE I:
Généralités sur l'oignon et les
huiles

CHAPITRE II:

Oxydation et antioxydants

Chapitre I

I. Origine et production

L'oignon (*allium Cepa*), de la famille des *Alliaceae* (anciennement *Liliaceae*), est une espèce herbacée, largement cultivée partout dans le monde. L'oignon était déjà cultivé, il y a 5000 ans, en Égypte où il était très prisé. C'est une excellente source de nutrition, fournissant des quantités significatives de vitamines C, B6, potassium, composants bioactifs tels que flavonoïdes, acide folique... ainsi que du calcium et du fer (**Albitar, 2010**).

Les oignons sont la récolte horticole deuxième dans le monde entier, après des tomates, avec une production annuelle courante d'environ 66 millions de tonnes. Au cours des dix dernières années, la production d'oignon a augmenté de plus de 25% (**Benítez et al., 2011**).

les pays producteurs d'oignon principaux dans le monde sont la Chine avec la plus grande production de 3.93 millions de tonalités, suivie de l'Inde avec 3.35 millions de tonalités, des Etats-Unis 2.45 millions de tonalités et de la Turquie 1.55 million de tonalités (**Arslan ,et Özcan., 2010**).

Outre la Chine, plusieurs autres pays ont connu des hausses de production au cours des dernières années. C'est le cas de la Turquie, du Pakistan, de l'Argentine, du Maroc, de l'Algérie et de l'Afrique de Sud, pour ne citer que les plus importants, qui ont plus que doublé leur production depuis le début des années 80 (**Pelletier et al., 2000 ; Catchala et al., 2002**).

I.1. Composition chimique et nutritionnelle de l'oignon rouge

La composition nutritionnelle de l'oignon se rapproche de celle des autres légumes frais, Il est plus ou moins riche en eau de constitution (89 .11%), Il doit l'essentiel de son apport énergétique à ses glucides qui inclus le sucrose (1.60g), et son galactoside, à savoir le raffinose (0.20g) (**Dini et al., 2008**).

Les protides, les lipides et les autres constituants énergétiques de l'oignon ne sont présents qu'en très faibles quantités. Les fibres, moyennement abondantes, sont constituées à la fois de cellulose et d'hémicellulose. La composition chimique moyenne de l'oignon rouge est résumée dans le tableau I.

Tableau I : Composition chimique de l'oignon (*Allium Cepea*) (Dini *et al.*, 2008).

Composants	Eau (%)	Protéines (%)	Carbohydrates (%)	Graisses (%)	Fibres (%)	Minéraux mg/100g				
						Ca	Mg	K	Na	Zn
Teneurs	89 .11	1.1	9.35	0.1	1.7	23	10	146	4	0.21

II. Huile d'olive

II.1. Dénominations et définition

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'autres natures (Codex STAN, 1989). Elle est commercialisée selon les dénominations et définitions ci-après :

II.1.1. Huiles d'olive vierges

Selon (C.O.I., 2011) les huiles obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. Ces huiles d'olives vierges font l'objet d'un classement et de dénominations suivantes :

- **Huile d'olive vierge extra :** Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 0,8 g pour 100 g.
- **Huile d'olive vierge :** Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 2 g pour 100 g.
- **Huile d'olive vierge courante:** Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 3,3 g pour 100 g.
- **Huile d'olive vierge lampante:** Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est supérieure à 3,3g pour 100 g.

II.1.2. Huile d'olive raffinée

C'est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraîne pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes (C.O.I., 2011).

II.1.3. Huile d'olive courante

Huile constituée par un coupage d'huiles d'olive raffinées et d'huiles d'olive vierges autres que lampantes, dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, ne peut être supérieure à 1 g pour 1 00g (C.O.I., 2011).

II.2. Technologie d'élaboration de l'huile d'olive

On obtient l'huile d'olive à partir des fruits de l'olivier (*Olea europaea sativa*) par des moyens mécaniques ou physiques, dans des conditions qui ne provoquent aucuns changements dans l'huile (Annexe I).

II.3. Composition et caractéristiques de l'huile d'olive

L'huile d'olive peut être divisée, du point de vue de la composition chimique en fractions principales et secondaires :

Les triacylglycérols représentent plus de 98% du poids total de l'huile, ils sont constitués principalement d'acide gras mono-insaturé (l'acide oléique). Celui-ci représente 65% à 80 % des acides gras de l'huile d'olive (Quiles, 2006).

Les composants mineurs, qui présentent une très faibles quantités (environ 2% du poids du pétrole), comprennent plus de 230 produits chimiques tels que des alcools aliphatiques, triterpéniques, les stérols, les hydrocarbures, composés volatils et des antioxydants (les caroténoïdes et les composés phénoliques) (Jacotot, 1996).

III. Huile de soja

III.1. Définition et composition de la graine

Soja ou soya, graine de *glycine max L.*, légumineuse cultivée dans les régions subtropicales. Sa composition globale est la suivante : 40% de protéines, 18% d'huile, 17% de glucides, 45% de cendres et elle contient des quantités modérées de vitamines A, D, E et B12.

Sa fraction protidique, déficiente en acides aminés soufrés, se compose de deux globulines (glycine et phoséoline) et deux albumines (légumélines).

L'huile de soja est peu colorée et d'un gout caractéristique. Elle renferme 15% d'acide gras saturé et 80% s'acides gras insaturés avec une prédominance d'acide linoléique (Adriane *et al.*, 2003).

III.2. Composition de l'huile de soja

La graine de soja fournit environ 12 à 25 % d'huile. Cette huile contient :

- Acides gras non saturés (85%).
- Mono-insaturés : acide oléiques (25%-35%).

- Polyinsaturés : acide linoléique (40% - 50%), linoléique (2%-10%), arachidonique (trace, mais la teneur la plus élevée de toutes les huiles).
- Acides gras saturés (10%-15%) : acides stéarique, palmitique, arachidique, lignocérique (**Valnet, 2001**).

Les triglycérides constituent plus de 95% des composés lipidiques de la graine de soja, les autres composés étant les phospholipides et les diacylglycérols (**Karleskind, 1992**).

III.3. Principales étapes de raffinage d'huile de soja

Huile de soja subit un raffinage, une étape clé de la technologie de production des huiles (**François, 1974**). Ce raffinage est destiné à débarrasser l'huile de toutes impuretés (**Cossut, 2002**). Notre huile est obtenue par un raffinage enzymatique cela suivant plusieurs étapes dans les principales sont :

- **Dégommage enzymatique** : La déémulagination enzymatique est un type de procédé physique performant, qui produit des rendements d'huile plus élevés. Il consiste à transformer les phospholipides non hydratés en lyso-phospholipides hydrophiles sous l'action d'une phospholipase (**Kartika, 2005**).

- **Neutralisation** : afin d'enlever les acides gras indésirables (**Karleskind, 1992**). Les traces résiduelles seront éliminées par une centrifugation.

- **Décoloration et désodorisation** : pour se débarrasser des pigments et des composés volatils, respectivement (**Cossut, 2002**).

Chapitre II

I.1. Oxydation

L'oxydation est le phénomène qui fait rouiller les métaux, qui fait flétrir les légumes et les fruits et rancir les graisses. Il modifie le goût et la couleur des aliments (**Rolland, 2004**), ainsi que leur valeur nutritionnelle en entraînant la perte d'acides gras essentiels mais aussi de vitamines et d'acides aminés indispensables (**Kim et al., 2007**).

I.1.1. Mécanismes généraux de l'oxydation

D'après (**Eymard, 2003**), l'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs (Annexe III) :

I.1.1.1. L'auto-oxydation

L'auto oxydation semble donc être un mécanisme principal dans l'oxydation des lipides. Elle produit principalement des hydroperoxydes et des composés volatils, généralement par un processus triphasé (initiation, propagation et terminaison) (**Marc et al., 2004**).

➤ **L'initiation** : Cette étape est initiée par la chaleur, la lumière ou les ions métalliques et aboutit à la formation des espèces très réactives : ROO* et R*.

➤ **Propagation** : Les espèces réactives formées s'attaquent aux molécules lipidiques (LH) d'où la formation des hydroperoxydes et la destruction de ces derniers donnent naissance à des composés responsables des goûts et odeur de rance par rupture des liaisons O-O.

➤ **Terminaison** : Apparition de nouvelles espèces moléculaires non radicalaires (formation des polymères entre espèces réactives) (**Rolland, 2004**).

I.1.1.2. Oxydation enzymatique

Divers enzymes tissulaires, les lipoxygénases, peuvent aussi, en présence d'oxygène, oxyder les restes d'acides gras insaturés. Il s'agit généralement d'une oxydation limitée qui peut se dérouler simultanément à l'auto-oxydation (**Fuhrer et al., 2005**).

I.1.1.3. Photo-oxydation

La photo-oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (**Riahi et Marzouki, 2000**).

II. Antioxydants

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaires. Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient **(Halliwell et Gutteridge, 1990)**.

Les antioxydants agissent de plusieurs manières. Leur mécanisme d'action peut être direct ou indirect, en tant que partie de la structure d'enzymes et/ou cofacteurs d'enzymes antioxydantes **(Berger, 2006)**.

Les antioxydants sont interdépendants. En donnant un électron, ils deviennent eux-mêmes des radicaux libres qui doivent se rééquilibrer, autrement dit être réduits **(Berger, 2006)**.

L'apport constant en ces substances antioxydantes par une diète riche en fruits et légumes représente la base de toute stratégie visant à prévenir le développement des maladies **(Faller et Fialho, 2009)**. Parmi ces aliments, l'oignon rouge et l'huile d'olive en constitue un bon exemple ; ils présentent plusieurs vertus grâce à leurs compositions en antioxydants, dont les plus importants sont les suivants :

II.1. Polyphénols

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles **(Macheix et al., 2005)**.

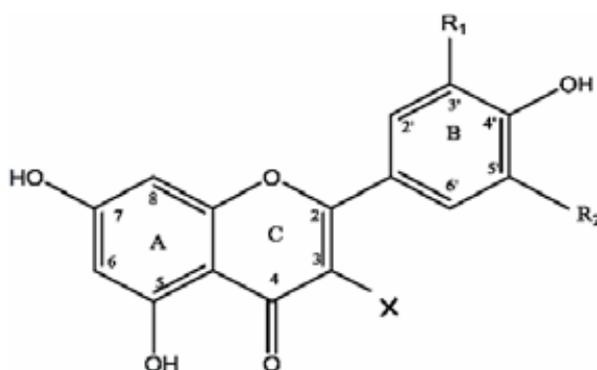
Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres découlant aussi bien des réactions d'oxydation de différents nutriments que de celles de l'organisme. La richesse des structures des polyphénols en résidus hydroxyles, leur confère une meilleure capacité à neutraliser les radicaux libres. Etant des antioxydants primaires et radicalaires, ils peuvent ralentir la formation de radicaux libres et interrompre la chaîne autocatalytique. Toutefois, les mécanismes par lesquels les polyphénols peuvent avoir des effets protecteurs sur la santé via une action antioxydante ne sont pas bien élucidés **(Spencer et al., 2001)**.

La présence de composés phénoliques a été détectée dans l'oignon rouge, avec des teneurs allant de 9,4 mg EAG/g à 52,7 mg EAG/g de poids sec **(Benítez et al., 2011)**, alors que l'huile d'olive est connue pour sa richesse en composé phénolique avec des teneurs qui varient entre 250 et 300ppm selon **O.N.H., (2012)** qui contribue au goût amer et astringent de l'huile.

II.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes appelés également phénylpropanoïdes sont une famille de plus de 4000 métabolites secondaires, comportant cinq sous-classes : anthocyanes, flavonols, flavones, flavanols et flavonones (**Wang et Huang, 2004 ; Morot-Gaudry et Prat, 2009**).

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone (Fig 1), constitué de deux noyaux aromatiques A, B et d'un noyau central hétérocycle oxygéné (cycle C), pourvus d'au moins une fonction hydroxyle. Selon, le degré d'oxydation du noyau pyranique, on classe les flavonoïdes sur la base du nombre, de la position et de la nature des substituant (groupements hydroxyles -OH et méthoxyles OCH₃ principalement), sur la base des deux cycles aromatiques A et B et sur celle de la chaîne de carbone intermédiaire. Ils ont donc en commun une même structure, dont les multiples substitutions permettent de les diviser en plusieurs classes. (**Belarbi-Ouarkoub et al., 2008**).



Flavonol: X = OH ; Quercétin: R1 = OH, R2 = H ; Kaempferol: R1 = H, R2 = H ; Myricétine: R1 = OH, R2 = OH; Flavones: X = H ; Apigenin: R1 = H, R2 = H ; Luteolin: R1 = OH, R2 = H.

Figure n°1 : Structure de base des flavonoïdes.

Les flavonoïdes appartiennent à la classe des composés naturels faisant l'objet d'intérêt scientifique et thérapeutique considérable. Ils sont omniprésents dans les cellules des plantes vertes et, par conséquent, participent au processus de la photosynthèse (**Havsteen, 2002**). Des propriétés biologiques ont été attribuées aux flavonoïdes. **Martens et al. (2010)**, ont rapporté dans leurs travaux parmi elles : les propriétés cardioprotectives, antioxydantes, anti-inflammatoires, neuroprotéctives et même un potentiel anticancéreux des flavonols, notamment la quercétine.

II.3. Anthocyanes

Les anthocyanes sont le plus grand et le plus divers groupes de colorants hydrosolubles des plantes (**Kopjar et al., 2009**), elles s'accumulent dans les vacuoles des cellules les plus externes (épidermes et hypodermes) et dérivent de la voie des phénylpropanoïdes. Elles sont des composés phénoliques du groupe des flavonoïdes. Il y a au moins 20 anthocyanidines différentes dans le nombre et la position de leurs groupes hydroxyles et méthoxyles. Les anthocyanidines sont modifiées par des parties glycosyliques et aromatiques ou aliphatiques, ayant pour résultat des centaines de molécules d'anthocyanes qui diffèrent dans la stabilité (**Guignard, 1996 ; Kuti, 2004 ; Oren-Shamir, 2009**).

Les quatre anthocyanes principales de l'oignon rouge ont été identifiées comme 3-(3'' glucosyl-6'' malonylglucoside), le 3-(6''- malonylglucoside), le 3-(3'' - glucosylglucoside) et la cyanidine-3-glucoside (**Fossen et al., 1996**). En outre quelques colorants mineurs d'anthocyanes ont été détectés: 3-(3''-6'' -dimalonylglucoside), 3-(3'' - malonylglucoside) cyanidine -3,5-diglucoside, péonidine-3-glucoside, péonidine 3,5-diglucoside et péonidine-3 malonylglucoside (**Fossen et al., 1996; Donner et Mazza, 1998**).

La teneur des principaux antioxydants d'oignon rouge (flavonols principalement la quercitrine et ses dérivés, les anthocyanes) sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau II : Principaux antioxydants de l'oignon rouge (mg/100g) (Albitar, 2010).

Classe	Flavonoïdes	Moyenne
Flavones	Apegenine	0.35
	Luteoline	0.19
Flavonols	Isorhamnetine	4.25
	Kaempfenol	1.1
	Myricetine	2.7
	Quercetine	33.34
Anthocyanes	Cyanidine	6.16
	Delphinidine	2.28
	Pelargonidine	0.02
	Peonidine	1.22

III. Effet thérapeutique

Les antioxydants ont reçu une attention accrue par les nutritionnistes et les chercheurs médicaux pour leurs effets potentiels sur la prévention des maladies chroniques et dégénératives comme le cancer et maladies cardio-vasculaires ainsi que le vieillissement. Des études épidémiologiques ont fourni des preuves d'une association inverse entre les régimes riches en fruits et légumes et ces maladies. Ces effets importants sur la santé peuvent être liés à la présence des composés dans les aliments ayant une activité antioxydante.

La capacité des antioxydants à piéger les radicaux libres dans le corps humain et de ce fait diminuer la quantité de dommages des radicaux libres à des molécules biologiques telles que les lipides (**Wu et al., 2004**).

Des études épidémiologiques récentes ont mis en évidence la contribution de l'huile d'olive à réduire l'incidence des cancers du sein, du colon, des ovaires, de l'utérus et de la prostate. (**Jacotot, 1997**), D'autre part il a été démontré que la consommation journalière de 50 g d'huile d'olive extra vierge par des femmes ménopausées pendant huit semaines s'est traduite par une baisse significative des marqueurs urinaires des lésions oxydatives de leur ADN. Une étude espagnole, a affirmé que les composés phénoliques de l'huile d'olive ont augmenté les défenses antioxydantes d'hépatocytes humains en culture en situation de stress oxydant induit. (**Gigon et Le Jeune, 2010**).

D'autres chercheurs ont attirés l'attention sur les attribues thérapeutiques de l'oignon, ils ont démontré qu'un régime comprenant l'oignon, réduit le risque du cancer d'estomac et de cerveau chez l'homme, empêche la thrombose et réduit le niveau du cholestérol, des triglycérides et de thromboxanes dans le sang (**Corzo-Martinez et al., 2007**). D'autre part, **Gharib Naseri et al. (2008)** ont montré que l'oignon possède des activités antioxydante, spasmolytique et anti hypertensive, et que son pouvoir réducteur est plus efficace que la vitamine E.

A cet égard, l'industrie agro alimentaire a développé l'utilisation des antioxydants naturels, parmi les quelles on trouve dans une grande mesure les polyphénols. La recherche de molécules extraite de source naturelles et leurs incorporation dans les huiles avance dans un rythme compétitif afin de les protéger contre l'oxydation, surmonter les problèmes liés à leur conservation (**Chiou et al., 2009**), et ainsi présenté au consommateur un produit meilleur pour ça santé.

De nombreuses études, ont été réalisées sur l'enrichissement des huiles végétales les huiles : (soja, olive, tournesol, palme, colza et arachide) ont été supplémenté par l'origan, la sauge, le romarin, épinards etc (**Salta et al., 2007**) .

De ce fait plusieurs études d'enrichissement des huiles comestibles ont été proposées on utilisant différentes techniques, à savoir :

- extraction conventionnelle (liquide /solide, liquide/ liquide)
- extraction moderne (micro-onde, ultrason)

VI. Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés bioactifs à partir des matrices végétales utilisant des solvants, constitue une étape importante dans la fabrication des produits riches en composés actifs divers. L'application de cette technologie peu coûteuse pour obtenir à des molécules employées comme additifs ou produits nutritionnels est une stratégie appropriée (**Campelo et al., 2011**).

IV.1. Les méthodes d'extraction

IV.1.1 Extraction conventionnelle

Les techniques classiques pour l'extraction par solvant de molécules actives à partir des matrices végétales sont passées sur le choix du solvant couplé à la température et/ ou à l'agitation, parmi les techniques les plus utilisées, l'extraction liquide-liquide, et l'extraction solide- liquide (**Ben Amour. 2008**).

IV.1.2. Extraction moderne par micro-onde

Les micro-ondes ionisent l'énergie électromagnétique avec une fréquence de 0,3 à 300 GHz. Cette énergie est transmise sous forme d'ondes, qui peuvent pénétrer dans les matières biologiques et agir avec les molécules polaires à l'intérieur des matériaux, tels que l'eau, pour produire la chaleur. L'extraction assistée par micro-ondes est un processus qui emploie l'effet des micro-ondes pour extraire les matériaux biologiques. Cette technique a été considérée comme une alternative importante à l'extraction à basse pression en raison de ses avantages: réduction du temps d'extraction, faible utilisation des solvants, la sélectivité (**Chemat, 2009**).

Partie
Expérimentale

Partie
Expérimentale

Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal

La présente étude a été réalisée sur des échantillons d'oignon rouge issu du commerce, d'huile d'olive extra vierge de la variété CHEMLLAL produite par l'huilerie Ifri Olive de la ville d'Ouzellaguène de la wilaya de Bejaïa et d'huile de soja produite par le complexe Agro-alimentaire CEVITAL de la wilaya de Bejaïa. Tous ces échantillons ont été achetés à la même période février 2013.

Les oignons ont été nettoyés, épluchés, et coupés en petits morceaux, et ont ensuite suivi un séchage à l'étuve (Ecocell) à 40°C pendant 4 jours. Une fois séchés, ils ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique (IKA), la poudre a été récupérée et tamisée à l'aide d'un tamiseur électrique (Retsch, Allemagne) dont les dimensions des pores sont $\leq 125 \mu\text{m}$, afin d'obtenir une poudre plus lisse sans grumeaux. Cette dernière a été conservée dans des flacons fermés étiquetés et mise à l'abri de la lumière en attendant d'être analysée.

I.2. Détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'oignon rouge

I.2.1. Taux d'humidité

La teneur en humidité a été déterminée en séchant un poids déterminé de la poudre à 103°C jusqu'à obtention d'un poids constant (Doymaz *et al.*, 2004).

Les résultats sont exprimés en pourcentage

$$H\% = (P_0 - P_1 / P) / 100$$

Où :

P_0 : poids de l'échantillon avant séchage.

P_1 : poids de l'échantillon après séchage.

P : prise d'essai.

I.2.2. Détermination de l'activité d'eau

La teneur en eau est un paramètre important à évaluer dans un échantillon, car il permet de déterminer les conditions optimales de sa conservation. L'activité de l'eau de la poudre a été mesurée à 22°C à l'aide d'un hygromètre à capteur de type capacitif (HygroPalmAW1, rotronic).

I.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques

I.3.1. Extraction par microonde

L'extraction des composés phénoliques de l'oignon rouge a été réalisée en utilisant un four à micro-onde domestique modifié (NN-S674MF, atterrisseur, Japon, 32 l, W 1000, 2.45 gigahertz) (Annexe IV).

I.3.2. Essais préliminaires

Des essais préliminaires ont été effectués pour déterminer les paramètres influençant l'extraction des composés phénoliques d'oignon rouge, à savoir le type de solvant, concentration du solvant, temps d'extraction, le ratio, ainsi que la puissance d'extraction.

❖ Type de solvant

L'extraction a été conduite en utilisant trois types de solvants différents : l'eau 100% (v/v), l'éthanol 50% (v/v), et l'acétone 50% (v/v). La puissance et le temps d'extraction sont fixés à 700watt pendant 2 minutes, respectivement. Le meilleur solvant a été choisi en se basant sur la quantité la plus importante de polyphénols totaux.

❖ La puissance :

Un poids déterminé de la poudre d'oignon rouge a été mélangé avec 20ml du solvant optimisé, et a été exposé à différentes puissances du micro-onde (400 watt, 700 watt et 900 watt) pendant deux minutes. Suivant la teneur en composés phénoliques totaux extraite, une puissance optimale a été définie.

❖ Temps d'extraction

L'extraction a été réalisée en utilisant le solvant optimisé et en soumettant les extraits à la puissance définie, avec variation du temps (30, 120, 180 secondes). La meilleure période d'extraction a été choisie selon la teneur la plus élevée en composés phénoliques totaux.

❖ Le ratio

La détermination du ratio (liquide/solide) est réalisée en fixant la masse de la matière solide (1g de la poudre) et en variant la phase liquide : 10, 20,30 et 40 ml (solvant). Les autres paramètres étant fixés aux valeurs optimisées précédemment.

❖ Concentration du solvant

La meilleure concentration du solvant a été déterminée en utilisant le meilleur solvant avec des concentrations de 30, 50, 80 % (v/v). La meilleure concentration du solvant a été choisie en se basant sur la valeur la plus élevée des polyphénols.

I.3.3. Conception expérimental

Les plans d'expérience permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent des recherches scientifiques ou des études industrielles, et d'obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Box-Behnken Design (BBD) est un modèle du seconde degré a plusieurs variables. Il est facile à mettre en œuvre et possède la propriété de séquentialité. On peut entreprendre l'étude des k premiers facteurs en se réservant la possibilité d'en ajouter de nouveaux sans perdre les résultats des essais déjà effectués (**Goupy et Creighton, 2005**). Ses principales caractéristiques sont (**Bezzer et al., 2008**) :

- ❖ Nécessite un nombre d'expérience $N = 2k(k-1) + C_p \dots (1)$, ou k est le nombre de facteur et C_p est le nombre de point centraux.
- ❖ Tous les niveaux de facteurs doivent être seulement à trois niveaux (-1, 0, +1) avec des intervalles réguliers.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes appliqués à la réalisation d'un plan de Box-Behnken de trois niveaux pour évaluer l'effet combiné de quatre variables indépendantes : % solvant, le temps, la puissance et le ratio (liquide / solide) qui sont désigné par A, B, C e t D respectivement. L'étude préliminaire qu'on a effectuée, nous a permis de déterminer les niveaux bas et hauts pour les variables influençant sur les expérimentations qui sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau III : les variables indépendantes et les niveaux de facteurs influençant sur l'extraction assistée par micro-onde.

Les variables indépendants	Niveaux des facteurs		
	-1	0	+1
A : Ethanol (%)	30	50	80
B : Temps	30	120	180
C: Puissance	400	700	900
D: Ratio (liquide/ solide)	20	30	40

Selon la formule (1), 27 expériences seront réalisées de manière à pouvoir estimer le modèle mathématique de la réponse investiguée.

Les diverses réponses, analyses de données et interprétations seront réalisées en utilisant le plans d'expériences. La méthodologie des surfaces de réponses va permettre de

modéliser les réponses étudiées sous la forme d'une équation polynomiale du second degré ci-après :

$$y = a_0 + a_1A + a_2B + a_3C + a_4D + a_{12}A_1B_2 + a_{23}BC + a_{34}CD + a_{13}AC + a_{14}AD + a_{24}BD + a_1A^2 + a_2B^2 + a_3C^2 + a_4D^2 + E$$

Avec : $a_0, a_1, a_2, a_3, a_4, a_{12}, a_{23}, a_{34}, a_{13}, a_{14}$ et a_{24} : sont les coefficients de régression,

A, B, C et D : sont les facteurs étudiés ;

y : la réponse mesurés ;

E : l'erreur.

I.4. Extraction par la méthode conventionnelle

L'extraction par macération et par agitation a été réalisée avec les paramètres optimaux obtenus avec l'extraction par micro-onde suivant le protocole de (**Khizar et al., 2009**).

1g de poudre a été mélangé avec 25ml d'éthanol à 70%(v/v), et a été soumis à une agitation pendant 1h sur une plaque agitatrice, le mélange a ensuite été centrifugé à 5000 tour/min pendant 15 minutes, le surnagent a été récupéré et le culot a subit une deuxième extraction avec 20ml d'éthanol afin de conserver le même rapport de poids. Après centrifugation, le surnagent a été additionné au volume obtenu.

I.5. Le rendement

Les extraits récupérés (conventionnel et micro-onde) ont été mis à l'étuve à 40°C pendant 48h afin d'évaporer le solvant et jusqu'à obtention d'un poids constant, puis ils ont été reconstitués dans l'éthanol 70%. Le rendement d'extraction a été calculé.

P_1 : poids de l'extrait évaporé et du creuset.

$$R\% = \frac{P_1 - P_0}{P_0} \times 100$$

P_0 : poids du creuset vide.

I.6. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques pour la méthode conventionnelle et micro-onde a été réalisé selon la méthode d'écrite par (**Georgé et al., 2005**) utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. 2.5ml de ce réactif (10%) ont été mélangés avec 25µl d'extrait et 475µl d'eau distillée, après 2 minutes, 2ml de carbonate de sodium à 7% ont été rajoutés et l'absorbance a été mesurée à 760nm contre un blanc après 15minutes d'incubation à 50°C au bain Marie.

Les teneurs en composés phénoliques ont été estimés en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique et exprimés en mg/g de poudre (Annexe V).

I.7. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode colorimétrique décrite par **(Bonvehi et al., 2001)**. 1 ml du chlorure en aluminium (AlCl_3 2%) a été ajouté à 1 ml d'extrait, et l'absorbance a été mesurée à 430nm contre un blanc après 15 minutes d'incubation. Les résultats sont exprimés en mg EAG/g de poudre (Annexe V).

I.8. Activité antiradicalaire sur le radical DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits d'oignon rouge sur le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été déterminée selon la méthode de **(Stephanie et al., 2009)**. Différentes concentrations d'extraits ont été préparées (100 μg à 800 μg) et additionnées à 3ml de la solution du radical. Les absorbances ont été mesurées à 515nm après 20 minutes d'incubation. Les résultats d'inhibition du radical DPPH sont exprimés en pourcentages :

$$\%d'inhibition = [(Abs_t - Abs_e) / Abs_t] \times 100\%.$$

Abs_t : Absorbance du témoin;

Abs_e : Absorbance de l'échantillon.

Les concentrations correspondantes à 50% d'inhibition (IC_{50}) ont été déterminées à partir des graphiques de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration.

II. Enrichissement des huiles de soja et d'olive par l'extrait phénolique de l'oignon rouge

L'enrichissement a été réalisé en incorporant aux deux huiles une aliquote des extraits phénoliques de l'oignon rouge à des concentrations différentes. Ces molécules sont transférées à la phase huileuse en fonction de leur solubilité. Le mélange a été soumis à une agitation pendant 30 minutes.

L'évolution de la quantité en composés phénoliques totaux a été suivie par dosage colorimétrique contre des huiles témoins.

II.1. Préparation des extraits phénoliques des huiles

L'extraction des composés phénoliques totaux à partir des deux huiles enrichies et des huiles témoins a été réalisée selon la méthode de **(Kalantzakis et al., 2006)**. 5g de chaque huile a été mélangée avec 10ml d'hexane et 10ml méthanol/eau (60/40), puis elles ont été centrifugées à 3500 tours/min pendant 10min, et la phase polaire (extrait méthanolique) a été récupérée. La phase apolaire (hénanique) a suivi une deuxième et une troisième extraction par

l'ajout du méthanol, et les trois phases polaires ont été mélangées (extraits phénoliques méthanoliques).

II.2. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux des extraits d'huiles végétales enrichies et témoins a été réalisé selon le même protocole établi pour le dosage des extraits phénoliques de l'oignon rouge, avec une prise d'essai de 500µl (Georgé *et al.*, 2005).

II.3. Dosage des pigments

Le protocole adopté au dosage des chlorophylles et des caroténoïdes est celui de (Minguez-Mosquera *et al.* 1991). Un échantillon de 7,5g d'huile est ajusté à 25 ml du cyclohexane. Le maximum d'absorption à 670 nm renseigne sur la fraction chlorophyllienne, alors que la fraction caroténoïde est détectée à 470 nm. La valeur du coefficient d'extinction spécifique appliquée est $E_{0}=613$ pour la pheophytine comme composant majeur des chlorophylles et $E_{0}=2000$ pour la lutéine comme caroténoïde majeur. Ainsi le contenu en pigments est déterminé comme suit :

Avec :

A : absorbance

T : trajet optique (épaisseur de la cuve)

$$\text{Chlorophylle} = A_{670} \cdot 10^6 / 613 \cdot 100 \cdot T$$

$$\text{Caroténoïde} = A_{470} \cdot 10^6 / 2000 \cdot 100 \cdot T$$

II.4. Paramètre physico-chimique

II.4.1. Acidité

L'acidité de nos huiles est déterminée selon la méthode **A.O.C.S(64/1992)** après dissolution de 10g d'huile dans 75 ml d'alcool éthylique, les acides gras présents sont titrés à chaud à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (0,1 N) en présence d'un indicateur coloré qui est la phénolphthaléine. Un essai témoin (sans matière grasse) est réalisé dans les mêmes conditions. Les résultats sont exprimés en % (m/m) d'équivalent acide oléique selon la formule :

$$\text{Acidité (\%)} = (M \times N \times V) / P \times 10$$

M : poids moléculaire adopté pour l'expression de l'acidité avec PM acide oléique=282

N : normalité de la solution NaOH à 0,1N ;

V : volume de la solution NaOH nécessaire ;

P : poids de la prise d'essai (g).

II.4.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (IP) est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme de corps gras oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode (**Adrian et al., 1998**).

L'indice de peroxyde est déterminé selon la méthode **A.O.C.S(8-53/ 1992)**. 5g d'huile est mis en solution avec 12 ml chloroforme, 18 ml d'acide acétique, et 1ml d'une solution saturée d'iodure de potassium sont ajoutés. Après réaction pendant 1min à l'obscurité, 75 ml d'eau distillée est ajouté et l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium 0,01 N en présence d'empois d'amidon comme indicateur.

Un essai témoin est réalisé dans les mêmes conditions. L'indice de peroxyde (IP) est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme selon la formule:

$$IP (meq O_2 / kg) = N (V_1 - V_0) \times 1000/m$$

V_0 : volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc ;

V_1 : volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'échantillon ;

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium 0,01N ;

m : masse de la prise d'essai.

II.4.3. Absorbance spécifique dans l'ultraviolet

La spectrophotométrie ultraviolette est basée sur les pouvoirs que possèdent certaines substances à absorber de l'énergie lumineuse. Les produits d'oxydation des huiles chauffées ont des spectres caractéristiques dans l'UV.

La méthode est fondée sur le fait que les hydroperoxydes linoléiques absorbent à 232nm. Et que les produits non volatils de décomposition des hydroperoxydes, représentés essentiellement, par des acides oxydés (en particulier des cétones insaturées) absorbent à 270nm.

L'extinction spécifique est déterminée selon la méthode décrite par règlement (**CCE**) **N°2568/91** 0,25 g d'huile sont dissouts dans 25 ml de cyclohexane. L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes 232 nm et 270 nm. Les coefficients d'extinction E_{232} et E_{270} sont exprimés par l'équation suivante :

$$E_{1cm} (\lambda) = A_{\lambda} / CD$$

$E_{1\text{cm}}$: Extinction spécifique à la longueur d'onde λ ;

A : Densité optique à la longueur d'onde λ ;

D (cm) : Épaisseur de la cuve ;

C (g/100ml) : Concentration de la solution.

II.4.5. Couleur

La mesure de la couleur de l'huile se fait par l'utilisation d'un «**calorimètre Lovibond**» en se référant à la méthode **A.O.C.S. (12c/1992)**.

Cette méthode consiste à comparer la couleur de la lumière transmise à travers une certaine couche d'huile contenue dans une cuve à face parallèle à la couleur de la lumière provenant toujours de la même source transmise à travers des lames colorées standardisées à l'aide d'un monoculaire. Les verres et l'échantillon sont éclairés par réflexion sur un bloc de carbonate de magnésium. L'échantillon a été analysé dans une cellule de (5pouces et 1/4) et sa couleur a été déterminée en faisant la comparaison avec les lames de la cellule standard.

Les valeurs de la couleur sont données comme suit : X_J, Y_R .

Où :

J : la couleur jaune ;

R : la couleur rouge ;

X, Y : les valeurs déterminés par **Lovibond**.

II.4.6. Mesure des composés polaires

La mesure des composés polaires de l'huile a été faite par l'utilisation d'un «**Testeur OPTIFRY**». Cet appareil permet une mesure précise des composés polaires présents dans l'huile et une approche des polymères responsables de la dégradation des huiles de friture.

Avant de commencer la mesure, un contrôle des différents paramètres de l'appareil a été effectué. Le résultat est affiché après environs 5secondes.

III. Activité antiradicalaire sur le radical DPPH des extraits d'huiles d'olive

L'effet des extraits méthanoliques des différents échantillons d'huile témoins et enrichies sur le radical DPPH est mesuré, en utilisant le protocole de **Stephanie D et al. (2009)**. 1ml de chaque extrait a été ajouté à 3ml de la solution DPPH préparée à 60 μ M dans du méthanol. L'absorbance a été mesurée à 515nm après 20min d'incubation à l'obscurité. Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont déterminés selon la formule suivante.

$$\%d'inhibition = [(Abst - Abs_e) / Abst] \times 100\%.$$

Abst: Absorbance du témoin;

Abs_e: Absorbance de l'échantillon.

III.1. Evaluation de la stabilité oxydative des l'huiles enrichies

Afin d'étudier l'influence des composés phénolique extraits à partir de l'oignon rouge sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge et l'huile de soja, des séries de tests ont été effectués.

III.1.1. Stabilité oxydative utilisant le Rancimat

Pour évaluer la qualité des huiles étudiées, il convient d'estimer de façon rapide et simple, leur stabilité et durabilité par un test d'oxydation accéléré. Le principe du Rancimat consiste à vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique à 98°C, sous un bullage intensif d'air. Les acides organiques, produits de dégradation de cette oxydation poussée, sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une cellule de mesure remplie d'eau distillée. Le temps d'induction est déterminé par conductimétrie et correspond au TIR.

La spécification de TIR (Temps d'Induction au test Rancimat, exprimé en heures) correspond au temps pendant lequel la matière grasse a résisté à un stress oxydatif.

Le test au Rancimat offre l'avantage de suivre plusieurs échantillons en parallèle, avec des durées d'analyse réduites (**Rahmani, 2007**).

III.2. Procédure de friture

L'huile de soja (enrichie et témoin) ont été soumises à un chauffage électrique par l'utilisation d'une friteuse électrique de marque PHILIPS. Des pommes de terre découpées en frites de taille plus ou moins égales ont été réparti dans 10 groupes, chacun d'entre eux est constitué de 250 g de frites. Le rapport frites /volume d'huile est respecté (Annexe V).

Après chauffage du bain d'huile jusqu'à 180°C, la friture est entamée en introduisant la première pesée de frite sans salaison, tout en fixant le temps de cuisson à 3 min, suivie de la deuxième, troisième et jusqu'à la cinquième friture en respectant les mêmes conditions (3min de cuisson et 180°C), juste après la cinquième friture, 150 ml d'huile ont été prélevés dans un tube (préforme de bouteille d'huile), sans aucune période de refroidissement. Le procédé de friture est repris dans les mêmes conditions après ajustement des paramètres (poids des frite/volume de l'huile). 150 ml d'huile ont été prélevés dans un autre tube après la dernière friture (dixième).

Les tubes d'huile récupérés ont été conservés dans le réfrigérateur pour arrêter toutes les réactions d'oxydation.

Afin de déterminer le degré d'altération des deux huiles au cours des fritures répétées, nous avons déterminé plusieurs paramètres physico-chimiques (acidité, IP, couleur, composés polaires) contre une huile enrichie témoins (n'ayant subi aucun chauffage)

III.3. Analyse statistique

Les résultats représentent la moyenne des trois mesures plus ou moins un écart type. Une étude statistique a été réalisée pour la comparaison des résultats et la mise en évidence des différences significatives entre les échantillons, et ce, pour chaque paramètre en appliquant une analyse de la variance (ANOVA) par le test de tukey-HSD à l'aide d'un logiciel JMP. Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité $p < 0,05$.

Résultats et discussions

I. Caractérisation de l'oignon rouge

I.1. Evaluation du taux d'humidité et l'activité de l'eau

L'activité de l'eau ainsi que l'humidité sont des paramètres importants à évaluer dans un échantillon. Ils permettent de déterminer les conditions optimales de sa conservation. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV: Taux d'humidité et l'activité de l'eau d'oignon rouge.

Test	Teneur (%)
a_w (L'activité de l'eau)	0,32%
Taux d'humidité	13%

Les résultats du teste d'humidité montrent que la poudre testée possède un taux d'humidité de 13% et une activité d'eau de 0,32%. Ceci indique que notre poudre est pauvre en eau. Cela a une importance majeure pour l'extraction des polyphénols, vu que les cellules végétales contiennent différents types d'enzymes, susceptibles de provoquer des modifications des composés phénoliques contenus dans le matériel végétal ainsi que leur dégradation par le phénomène d'oxydation (**Rolland, 2004**).

I.2. Extraction des composés phénolique

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribereau, 1968**). La coloration produite, est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques présents dans les extraits végétaux.

Les principales sources alimentaires en composés phénoliques sont les fruits et les légumes qui contribuent environ pour moitié à notre apport en ces phytomicronutriments (**Middleton et al., 1992**). L'oignon rouge constitue également une bonne source en ces composés.

I.2.1. Extraction des composés phénoliques par micro ondes

En général, l'efficacité d'extraction d'un composé est influencée par de multiples paramètres tels que : le temps, la puissance, l'acidité et la polarité du solvant entre autre. Les effets peuvent être indépendants ou interactifs (**Chandrika et Shahidi, 2005**). L'influence de ces paramètres a une importance majeure sur le rendement d'extraction des composés phénoliques.

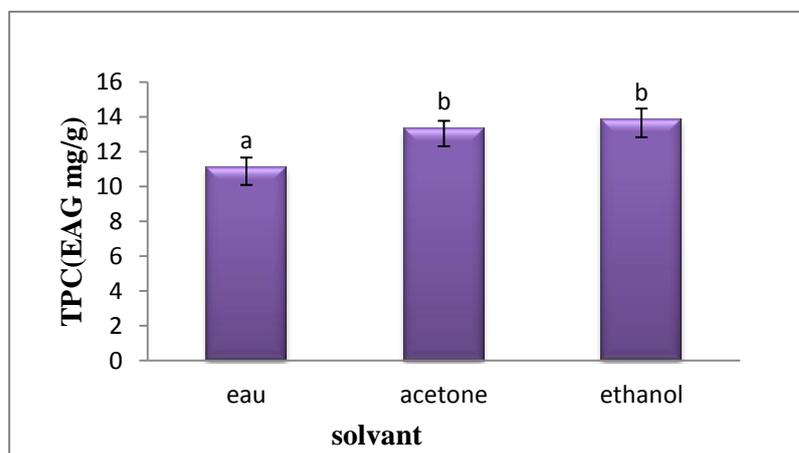
La procédure d'optimisation est initiée par des études préliminaires afin de choisir les conditions appropriées pour l'extraction. Cependant, celles-ci ne peut pas être généralisées à tous les phytomicronutriments existants dans les différentes matrices végétales (**Wettainghe et Shahidi ,1999**).

I.2.2. Etudes préliminaires

I.2.2.1. Effet de solvant d'extraction

Le méthanol, l'éthanol et l'acétone séparément ou mélangés avec de l'eau sont utilisés généralement pour extraire les composés phénoliques à partir de l'échantillon (**Uma et al.,2010**).

D'après les résultats obtenus, tous les solvants ont la capacité d'extraire les composés phénoliques totaux (**figure n°05**).



*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

Figure n°05 : Effet du solvant d'extraction.

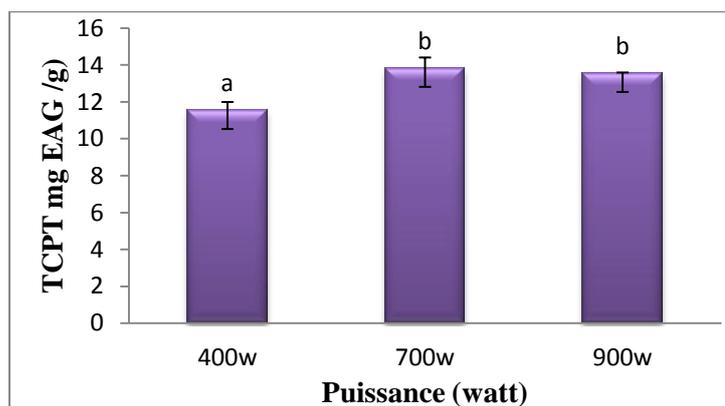
L'analyse statistique révèle une différence significative à $p < 0,05$ entre le taux de polyphénols totaux extrait par l'eau et les deux autres solvants l'éthanol et l'acétone.

Les taux d'extraction en polyphénols totaux les plus élevés sont enregistrés par les extraits éthanoliques suivis des extraits acétoniques avec des teneurs de 13,83 mg EAG /g de poudre et 13,31 mg EAG /g de poudre respectivement, alors que l'extraction par l'eau a donné un taux faible de 11,09 mg EAG/g de poudre mais qui reste important.

Suite à l'étude réalisée, on constate que l'éthanol reste le solvant le plus approprié pour cette extraction. En effet, l'éthanol est un solvant généralement le plus appliqué pour des raisons hygiéniques et d'abondance (**Kiassos et al., 2009**), et par conséquent il a été employé comme solvant d'extraction pour la suite de nos analyses.

I.2.2.2. Effet de différentes puissances de micro-onde sur l'extraction des polyphénols

D'après les résultats obtenus, on constate que l'extraction des composés phénolique a été considérablement influencée par la puissance de micro-onde. Les taux des composés phénoliques augmentent avec l'augmentation de la puissance d'extraction avec un taux maximal de 13,81 mg EAG /g de poudre à 700watt, au de la de cette puissance le taux en ces composés diminue légèrement, on enregistre une teneur de 13,53 mg EAG /g de poudre à 900watt (**figure n°06**).



*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

Figure n° 06 : Effet de différentes puissances de micro-onde sur l'extraction des polyphénols.

L'analyse statistique montre qu'il existe une différence significative à $p < 0,05$ entre 400 watt, et les deux autre puissances (700 et 900 watt), par contre aucune différence significative n'est enregistrée entre 700 et 900 watt.

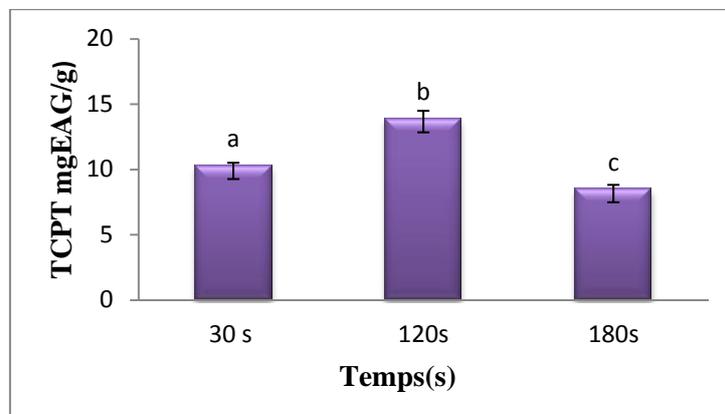
Ballard *et al.* (2010) ont étudié l'effet de la puissance des micro-ondes sur l'extraction des composés phénoliques totaux. Ils ont trouvé que la puissance augmentait considérablement les teneurs en CPT, ce qui confirme nos résultats obtenus.

Les températures élevées influencent la solubilité des composés phénoliques, augmentent la vitesse de diffusion avec un transfert de masse accru, cependant, il convient de noter que l'augmentation de la température au-delà de certaines valeurs peut favoriser le risque de dégradation thermique et la décomposition possible des composés phénoliques (**Chan *et al.*, 2009**).

Dans cette analyse, l'intervalle optimal concernant la puissance de micro-onde a été définie entre 400-900watt.

I.2.2.3.L'effet de différents temps d'extraction

Les résultats de l'effet du temps sur l'extraction des composés phénoliques des extraits d'oignon rouge sont présentés dans la **figure n°7**.



*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

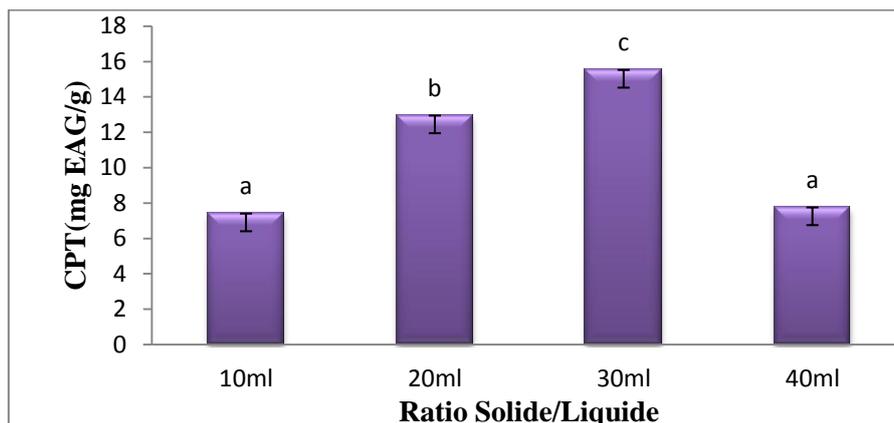
Figure n° 07 : Effet de différents temps d'extraction sur les polyphénols.

Le temps d'extraction est un autre paramètre principal du procédé d'extraction. Les résultats obtenus indiquent que plus le temps d'extraction est long, meilleur est le taux des composés phénoliques avec une valeur maximal de 13,83 mg EAG /g de poudre à 120s. Au de la de cette période, le rendement baisse d'environ 39% (à 180s). En effet, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention à la possibilité de l'oxydation de ces composés si le temps d'extraction est long (**Talli et al., 2010**). Aucune différence significatif à $p < 0,05$, entre les trois temps d'extraction n'a été enregistrée. Une augmentation du temps d'extraction de 30 à 120s est accompagnée d'une augmentation en CPT de 10,25 à 13,83 mg EAG /g de poudre respectivement. De ce fait, la prolongation du temps d'extraction des CPT fait accroître le rendement. Cependant une exposition prolongée des rayonnements électromagnétiques pendant le processus d'extraction au micro-onde peut mener à la dégradation thermique des constituants bioactifs (**Khizar et al., 2010**).

Il ressort de ces résultats, que l'intervalle de temps optimal se situe entre 30s-180s.

I.2.2.4. L'effet de différents rapports liquides/solides sur l'extraction des polyphénols

L'impact du rapport solide/liquide sur l'extraction des polyphénols d'oignon rouge est mesuré avec les rapports 1 /10, 1 /20, 1 /30, 1/ 40 ; P/ V (**figure n°08**). Une différence significative à $p < 0,05$ est enregistrée entre les différents rapports.



*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

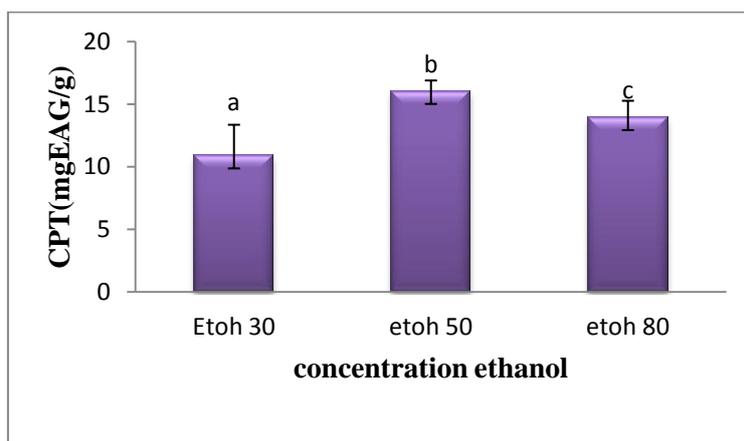
Figure n°08: Effet de différents rapports liquide/solide sur l'extraction des polyphénols.

En augmentant le rapport solide/liquide de 1/10 à 1/30, on obtient un meilleur rendement d'extraction qui passe de 7,40mg EAG/g de poudre à 15,52 mg EAG/g de poudre respectivement, au de la de ce rapport les taux en composés phénoliques diminues de presque de moitié, il passe de 15,52 à 7,75 mg EAG/ g de poudre.

Suite aux résultats obtenues, le rapport du solide /liquide 20-30 ml/g a été considéré comme intervalle optimal.

I.2.2.5. L'effet des différentes concentrations du solvant sur l'extraction des polyphénols totaux

L'influence da la concentration du solvant sur le rendement en composés phénoliques totaux des extrais étudiés est illustrée dans la **figure n°09**.



*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

Figure n°9 : L'effet des différentes concentrations du solvant sur l'extraction des polyphénols.

L'analyse statistique révèle une différence significative à $p < 0,05$ entre les différentes concentrations. L'éthanol 50% a donné un meilleur rendement en polyphénols totaux avec un

taux de 16,01mg EAG/g de poudre, suivie de l'éthanol 80% avec une teneur de 13,92mg EAG/g de poudre, alors que l'éthanol 30% a donnée le taux le plus bas de 10,64 mg EAG/g de poudre.

En effet, ces résultats concordent avec les travaux réalisés dans le même contexte par **Yap *et al.* (2009)** et **Chan *et al.* (2009)**, qui ont étudié l'influence de la concentration du solvant sur l'extraction des polyphénols totaux en utilisant l'éthanol ; ainsi que l'étude faite par **Santas *et al.* (2008)** sur des oignons ou l'éthanol 70% a donné un meilleur rendement en CPT.

Les combinaisons de solvants tels que le méthanol, l'éthanol et l'acétone avec l'eau font améliorer l'extraction des composés phénoliques glycosylés (**Talli *et al.*, 2010**).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'intervalle optimal concernant la concentration de l'éthanol dans l'eau est défini entre 30-80% (v/v).

I.2.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénolique totaux

L'optimisation des conditions d'extraction par micro-onde a été rapporté dans plusieurs études (**Bezzera *et al.*,2010 ; Radojkovica *et al.* 2012**). En général, l'efficacité d'extraction d'un composé est influencée par plusieurs paramètres comme la température, le temps d'irradiation et la polarité du solvant. Leur effets peuvent être indépendants ou interactifs.

Basées sur les observations des études préliminaires, les gammes de chaque variable indépendant (concentration en éthanol, puissance d'extraction, temps d'extraction et le ratio liquide/solide) influençant le CPT ont été choisies. Les données expérimentales obtenues à partir des 27 essais ont été analysées aléatoirement à l'aide d'un plan d'expérience Box-Behenken Design (BBD). Les réponses mesurées sont comparées à celles prédites pour l'estimation de l'écart et l'erreur expérimentale afin de vérifier la validité du modèle choisi.

Les résultats ont montré que la teneur en polyphénols totaux varie de 8.12 à 12.35 mg EAG/g de poudre, impliquant que les facteurs (concentration du solvant, puissance, temps et le ratio) ont une influence significative sur le rendement d'extraction de ces composés bioactifs. Les résultats de cette présente étude sont en concordance à celles trouvés par (**Ballard *et al.*, 2010**).

Le tableau V montre que la concentration d'éthanol (A) à ($p < 0.0015$), a un effet hautement significatif sur le taux de CPT extrait. Cependant le temps d'extraction (B), la puissance d'extraction (C) et le ratio liquide-solide (D) n'ont pas un effet significatif à ($p < 0,05$).

La modélisation mathématique de l'extraction des CPT en fonction des différents paramètres est représentée par l'équation suivante qui montre la relation entre la concentration de solvant (A), le temps (B), la puissance (C) et le ratio (D) et la teneur en composés phénoliques totaux CPT (Y) dans l'extrait.

$$Y = +10.38 + 0.52 * A - 0.18 * B + 18.03 * C - 0.28 * D + 1.48 * A * B + 0.025 * A * C - 0.91 * A * D - 0.79 * B * C - 0.31 * B * D - 0.030 * C * D - 0.20 * A^2 + 0.58 * B^2 - 1.34 * C^2 + 0.60 * D^2$$

Tableau V: analyse de la variance (ANOVA) des expériences expérimentales.

Source	SC	d.d.l	C	Valeur	prob>F
Modele	34.2901122	14	2.449293773	13.24213713	< 0.0001
A	3.22303333	1	3.224033333	17.43077616	0.0015
B	0.40333333	1	0.403333333	2.180626664	0.1678
C	0.00044444	1	0.000444444	0.002402894	0.9618
D	0.77469444	1	0.774694444	4.188395112	0.0654
AB	8.791225	1	8.791225	47.52986689	<0.0001
AC	0.0025	1	0.0025	0.013516281	0.9095
AD	3.294225	1	3.294225	17.81026828	0.0014
BC	2.5281	1	2.5281	13.66820397	0.0035
BD	0.390625	1	0.390625	2.111918902	0.1741
CD	0.00225	1	0.00225	0.012164653	0.9142
A ²	0.20437041	1	0.204370	1.104931484	0.3157
B ²	1.76776175	1	1.767761775	9.557425941	0.0103
C ²	8.83310291	1	8.833102991	47.75628022	<0.0001
D ²	1.73642942	1	1.736429422	9.388027183	0.0108
Résidual	2.03458333	11	0.184962121		
Lack of fit	1.813516667	9	0.201501852	1.822996247	0.4041
Pure Error	0.221066667	2	0.110533333		
C.Total	36.32469615	25			
R ²	0.9440				
R ² adj	0.8727				

I.2.3.1. Analyse de la surface de réponse

I.2.3.1.1. Interaction concentration solvant/temps d'irradiation

La figure 08 (A) montre la surface de réponse qui présente l'effet de concentration de solvant et le temps d'irradiation sur l'extraction des composés phénoliques. Une augmentation de la teneur en CPT a été observée avec l'augmentation de la concentration de solvant de 45-65 % et le temps d'irradiation de 55-80s, mais la tendance a été renversée lorsque le rapport a atteint une certaine valeur. En effet, à un temps de 85-180s et solvant de 70-80%, une diminution remarquable de la quantité de composé extrait est constatée ce qui est démontré dans l'étude préliminaire lors de l'étude de la cinétique d'extraction sous l'effet d'irradiation microonde. Une longue exposition aux radiations micro-ondes entraîne une dégradation de certains constituants thermolabiles (**Kormin et al., 2010**).

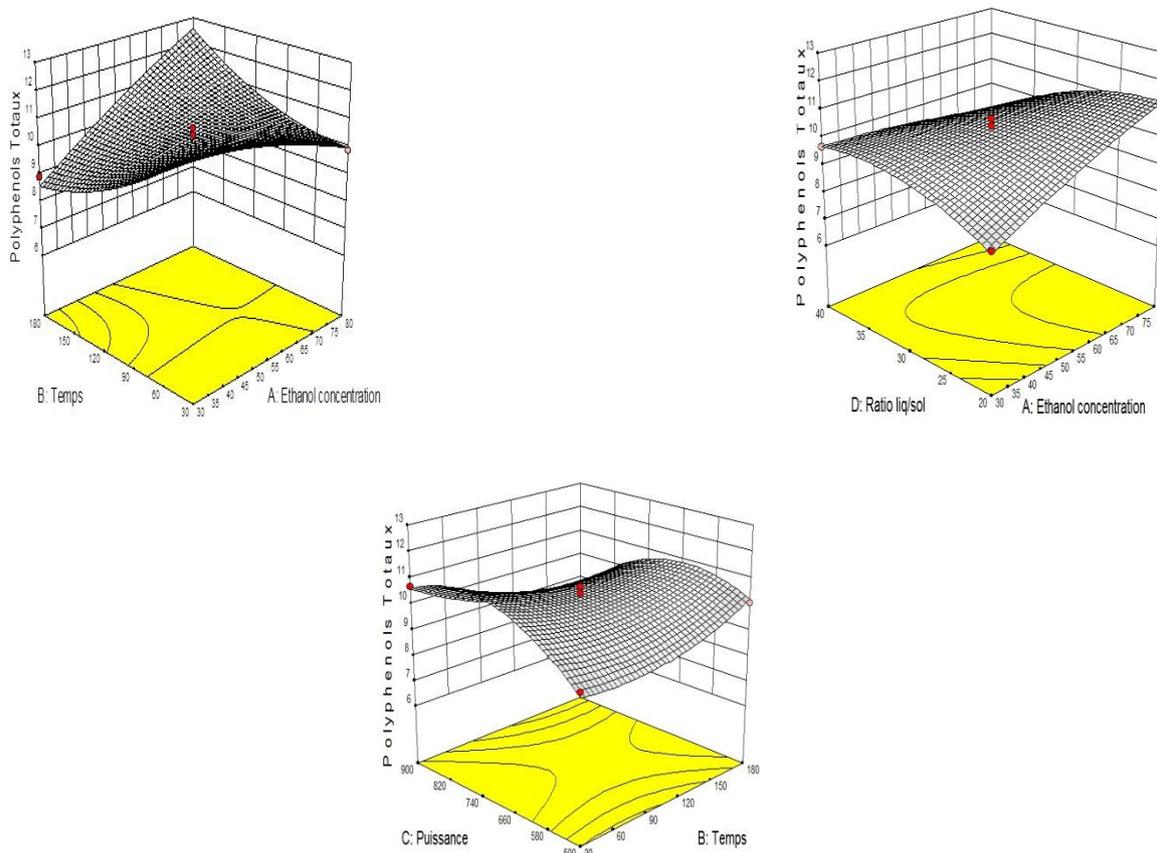


Figure 08: Surface de réponse pour les effets de concentration d'éthanol/temps (A), la concentration solvant/le ratio (B) et temps/puissance (C) sur le rendement CPT d'oignon rouge.

I.2.3.1.2. Interaction de la concentration d'éthanol et le ratio liquide-solide

La figure 08 (B) montre la surface de reponse qui presente l'effet de concentration de solvant et le ratio sur l'extraction des composés phénoliques. Une augmentation de la teneur en CPT a été observée avec l'augmentation de la concentration de solvant de 45%-80% et le ratio liquide/solide environ de 20-35 ml/g. La stabilité de la teneur en CPT a été observée dans tout le domaine de la variation du facteur ratio, lorsque il atteint une certaine valeur (ratio de 35-40ml/g).

D'après **Prasad *et al.* (2011)**, l'extraction des composés phénoliques dépend en grande partie de la polarité du solvant et des composés. Un solvant pur peut ne pas être efficace pour l'isolement des composés bioactifs. Par conséquent, une combinaison alcool-eau est plus efficace.

I.2.3.1.3. Intéraction entre le temps d'extraction et la puissance de micro-onde

L'augmentation de la puissance de micro-onde, induit l'augmentation de la teneur en composés phénoliques jusqu'à une valeur de 10 mg EAG/g de poudre. Cependant une longue durée d'extraction avec une forte puissance de micro-onde donne une teneur faible. Cela est due probablement à la dégradation des CPT par les ondes électromagnétiques (**Song *et al.*, 2009**). Ce qui explique la valeur maximal de 10,50 mg EAG/g de la poudre à un temps de 180s une puissance de 900 watts, mais si on poursuit l'extraction avec des niveaux très élevés pour chaque paramètre, la valeur en composés phénolique totaux diminue de 10,50 à 9 mg EAG/g de poudre (figure 08 C).

I.2.3.1.4. Vérification du model

L'analyse statistique a montré que le coefficient de corrélation R^2 et celui d'ajustement sont de 0,9440 et 0.8727 respectivement qui sont proches de 1 et un manque d'ajustement du model qui est insignificative à $p < 0,05$, indiquant que le modèle pourrait être utilisé pour prédire les résultats obtenus en terme de polyphénols par cette technique d'extraction assistée par micro-onde (tableau V).

I.2.3.1.5. Conditions optimales

Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux complets peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparait que les conditions expérimentales optimales, c'est-à-dire celles conduisant à une maximisation de l'extraction des polyphénols sont obtenues au niveau du domaine expérimental dans le tableau suivant :

Tableau VI: Conditions optimales d'extraction des polyphénols à partir de la poudre étudiée.

Condition optimal	Estimation
Le temps	65s
Le ratio	25 g/ml
La puissance	700(W)
La concentration de solvant	70%

I.2.4. Comparaison entre la méthode d'extraction assistée par micro-ondes et la méthode conventionnelle

Les teneurs en composés phénoliques totaux ainsi que celles des flavonoïdes extraites par la méthode conventionnelle et micro-onde sont représentés dans le tableau:

Tableau VII : Teneurs en composés phénoliques et des flavonoïdes de l'oignon rouge.

Teneur en polyphénols (EAG mg/g de poudre)	EMO	14,69±0,62 ^a
	EC	15,54±0,37 ^a
Teneur en flavonoïdes (ER mg/g de poudre)	EMO	22,72±0,58 ^a
	EC	24,08±0,77 ^a

*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

L'analyse statistique sur la teneur en polyphénols et les flavonoïdes indiquent qu'il n'y a aucune différence significative $p < 0,05$ entre les deux méthodes d'extraction, cependant l'extraction par micro-onde a beaucoup d'avantage tel que la réduction de la durée d'analyse, et la quantité de solvant, une plus grande pureté du produit final ainsi que la réduction du temps d'extraction (Pérez *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2008 ; Khizar *et al.*, 2009).

I.3. L'activité scavenger sur le radical DPPH

Le DPPH est un radical libre de couleur violette, il est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés antiradicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 515nm, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité. (Kouamé, 2009).

Les extraits phénoliques de l'oignon rouge issue des deux méthodes (conventionnel et par micro-onde), ont la capacité de réduire le radical DPPH.

Les IC₅₀ enregistrées sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important (tableau VIII).

Tableau VIII : Activité antioxydante exprimée par l'IC₅₀ (µg/ml).

Echantillon	IC 50 (µg/ml)
Oignon conventionnelle	700,10 ^a
Oignon micro-onde	749,39 ^a

*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

L'analyse de la variance montre qu'aucune différence significative ($p < 0,05$) n'est enregistrée entre les deux méthodes.

Les extraits phénoliques d'oignon rouge issus des deux méthodes (conventionnelle, et micro-onde) présentent des activités antiradicalaires appréciables soit des IC₅₀ de 700,10µg/ml et 749,39µg/ml respectivement (Annexe V).

L'activité antiradicalaire pourrait être interprétée par la différence de la composition et du contenu en antioxydants, par la diversité structurale des composés phénoliques ainsi que par la différence dans la cinétique du potentiel antioxydant. En outre, un effet synergique entre les antioxydants, fait que l'activité antioxydante est dépendante non seulement de la concentration, mais aussi de la structure et l'interaction entre antioxydants (Pellegrini et Battino, 2006).

II. Caractérisation de l'huile d'olive

II.1. Analyse des paramètres physico chimique de l'huile d'olive

Le tableau IX, représente les indices de qualités de l'huile d'olive étudiée.

Tableau IX : Les paramètres physico-chimiques d'huile d'olive.

Les paramètres	Huile d'olive	Normes C.O.I
Acidité (%)	0,26	< 0,8
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	10,25	≤ 20
K ₂₃₂	2,14	≤ 2,5
K ₂₇₀	0,211	≤ 0,20

II.1.1. L'acidité

L'acidité est un paramètre classique qui permet de caractériser les différentes huiles en évaluant la matière grasse. Ce paramètre détermine la teneur en acides gras libres résultants de l'hydrolyse des triglycérides (**Ben Youssef et al ., 2012**).

L'acidité de l'huile étudiée est $<$ à 0.8% d'acide oléique, normes fixées par le **C.O.I (2011)** pour une huile d'olive vierge extra.

Selon **El Antari et al. (2000)** une faible acidité de l'huile contribuerait non seulement à une meilleure qualité commerciale mais aussi à une meilleure résistance à l'hydrolyse spontanée qui se produit au cours du stockage, elle indique également que l'huile a été extraite immédiatement après la récolte des olives.

II.1.2. L'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde détermine les hydroperoxydes et constitue l'un des moyens les plus directs pour mesurer l'autooxydation lipidique (**Ryan et al., 1998**).

L'indice de peroxyde enregistré par l'huile étudiée est inférieure à la norme du **C.O.I (2011)** pour une huile d'olive vierge extra (≤ 20 meq d'O₂/Kg).

La faible valeur de cet indice dans l'huile étudiée, serait liée d'une part à sa richesse en antioxydants (les polyphénols) et à l'état sain des fruits, d'autre part aux bonnes conditions de transformation des olives (la récolte à la main, de transport, le stockage à l'air et une période courte) et du système d'extraction. (**Ben Youssef et al ., 2012**).

II.1.3. Absorbance dans l'ultraviolet

L'absorbance à 232 nm et à 270 nm d'un corps gras renseigne sur le degré d'oxydation. Les hydroperoxydes absorbent au voisinage de 232nm et les produits secondaires d'oxydation tel que les aldéhydes et les cétones sont quantifiés à 270nm (**Osawa et al ., 2007**).

L'huile analysée, enregistre des absorbances à 232 nm et à 270 nm de 2,14 et 0,21 respectivement, qui s'inscrivent tout parfaitement dans les limites fixées par le **C.O.I (2010)**, pour une huile d'olive extra vierge ($K_{232} \leq 2,5$; $K_{270} \leq 0,20$).

Les résultats obtenus témoignent que notre huile contient peu de produits d'oxydation grâce à sa richesse en divers antioxydants qui lui confèrent sa stabilité oxydative (**Veillet et al ., 2010**).

Compte tenu des résultats des indices de qualité (acidité, indice de peroxyde et coefficients d'extinction spécifique dans l'UV « K_{232} , K_{270} ») qui sont inférieurs aux limites

établies par le **C.O.I (2010)**, notre huile d'olive peut être classée dans la catégorie extra vierge.

II.2. Analyse des pigments et des polyphénols totaux de l'huile d'olive témoin

Les teneurs en pigments et en composés phénoliques totaux de l'échantillon d'huile étudiée, sont représentées dans le tableau X.

Tableau X: Les teneurs en pigments et en composés phénoliques de l'huile étudié (témoin).

Les paramètres	Huile d'olive
Polyphénols totaux (mg EAG/kg)	241,48 ±0,42
Chlorophylles (mg/kg)	2,59
Caroténoïdes (mg/kg)	2,35

Les résultats du dosage colorimétrique des polyphénols totaux exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique/Kg d'huile enregistrés par l'huile étudiée est de 241,48 mg EAG/Kg.

Montedoro *et al.* (1992) ont classé des variétés selon leur richesses on composées phénoliques totaux comme suit :

- Variétés présentant une teneur faible (50-200ppm)
- Variétés présentant une teneur moyenne (200-500 ppm)
- Variétés présentant une teneur élevée (500-1000ppm)

D'après cette classification notre huile est classée parmi la variété présentant une teneur moyenne en polyphenol totaux.

La variété, le degré de maturation des olives, le système d'extraction, les conditions du traitement et du stockage sont des facteurs critiques pour le contenu des polyphénols (**Ollivier, 2004**).

Les polyphénols sont naturellement présents dans l'huile d'olive et jouent un rôle important, comme antioxydants Ils contribuent à la bonne stabilité de l'huile d'olive (**Ollivier *et al.*, 2004 ; Paz Aguilera *et al.*, 2005**).

Garcia *et al.* (2009) ont rapportés dans une étude sur les sources d'antioxydants phénoliques naturelles que les composés principaux présents dans l'huile d'olive sont l'hydroxytyrosol et le tyrosol ainsi que leurs dérivés. Il a indiqué aussi que le contenu de

polyphénols diffère d'une huile à une autre. Des estimations ont été données (100-300 mg/kg).

La teneur en chlorophylle obtenue pour l'huile d'olive étudiée est faible (2,59 mg/kg), en se référant à la fourchette rapportée par **(Krichene, 2006)** (de 1,37 à 22,01ppm).

Les chlorophylles sont des substances colorantes de l'huile d'olive. Elles jouent un rôle important dans l'activité oxydante du produit, due à leur nature anti-oxydante dans l'obscurité et pro-oxydante dans la lumière. Une faible teneur en chlorophylle permet de diminuer les risques d'oxydation des différentes huiles **(Tanouti et al., 2011)**.

Uğurlu Asık. (2011) a signalé que la teneur en chlorophylle diminue au fur et à mesure de la maturité des olives, elle dépend de la variété, du degré de maturité du fruit, du processus d'extraction et des conditions de stockage, elles contribuent aussi à la note « fruité » du goût l'huile d'olive **(Tanouti et al., 2011)**.

L'huile d'olive étudiée, montre une teneur faible en caroténoïdes (2,35 mg/kg) mais qui reste similaire aux résultats obtenus par **Krichene. (2006)** qui a enregistré des valeurs comprises entre 0.36 et 6.29 mg/Kg. La teneur en caroténoïde dans l'huile d'olive vierge varie considérablement suivant la variété et le degré de maturation **(Cerretani et al., 2008)**.

Le faible taux en caroténoïdes enregistré par notre huile, peut être due à leur oxydation pendant le processus de maturation, ainsi qu'à leur rôle protecteur contre la photooxydation en désactivant l'oxygène singulet **(Fakourelis et al., 1987; Perrin, 1992)**.

III. Caractérisation de l'huile de soja

Les résultats de l'analyse de l'huile de soja sont représentés dans le tableau XI suivant :

Tableau XI: les analyses de l'huile de soja.

Les paramètres	Huile Soja	Normes ISO
Acidité (%)	0,06	< 0,6
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	0,8	< 10
Composées polaires	00	< 25
Polyphénols totaux (mg/kg)	14,32	/
Chlorophylle (mg/kg)	1,04	/
Caroténoïdes (mg/kg)	0,049	/
Couleur Rouge	1,1	2
Jaune	10	16

Les valeurs des paramètres physicochimiques ainsi que les teneurs des composés caractéristiques de l'huile de soja sont inférieures aux normes internationales, ce qui indique que le procédé de raffinage de cette huile a été réalisé dans des bonnes conditions.

IV. Enrichissement de l'huile de soja et l'huile d'olive

IV.1. Teneur en polyphénols totaux des huiles enrichies (huile d'olive et l'huile de soja)

Les résultats de la teneur en composés phénoliques totaux des huiles étudiées sont représentés dans la **figure n°11**.

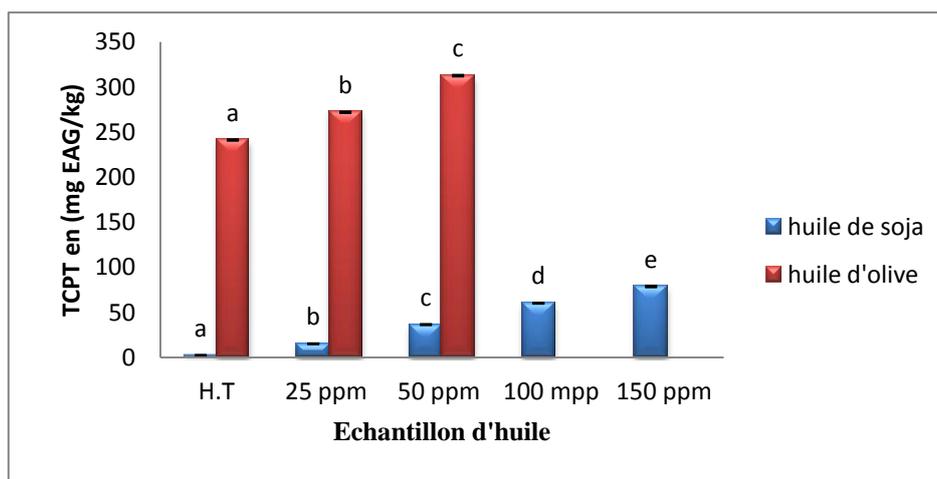


Figure n°11 : Teneurs des CPT dans les deux huiles (olive et soja).

*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

L'analyse de la variance montre des différences significatives ($p < 0,05$). La teneur en polyphénols dans les deux huiles augmente significativement avec l'élévation de la concentration des extraits phénoliques de l'oignon rouge, ou elle augmente de 241,48 mg EAG/kg pour l'huile d'olive témoin à 272,22 mg EAG/kg et 312 mg EAG/kg avec 25ppm et 50 ppm respectivement. Cette augmentation a été aussi enregistrée par l'huile de soja ou la teneur en composés phénoliques totaux à 25ppm est sept fois plus importante que l'huile témoin (de 2,16 mg EGA/kg pour huile témoin à 15,67mg EAG/kg.), et leur teneur atteint 78,88 mg EAG/kg à 150pm soit une augmentation 97%.

Cette augmentation peut être due à une interaction entre les composés phénoliques de l'oignon rouge et les huiles étudiées.

IV.2. Détermination de l'activité antioxydant d'huile d'olive

IV.2.1. L'activité scavenger du radical DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire de l'huile d'olive enrichie et de l'huile témoin exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (figure n°12), montrent que les huiles

analysées ont des aptitudes distinctes à piéger le radical DPPH et différentes d'une manière significative ($p < 0,05$) entre les trois huiles.

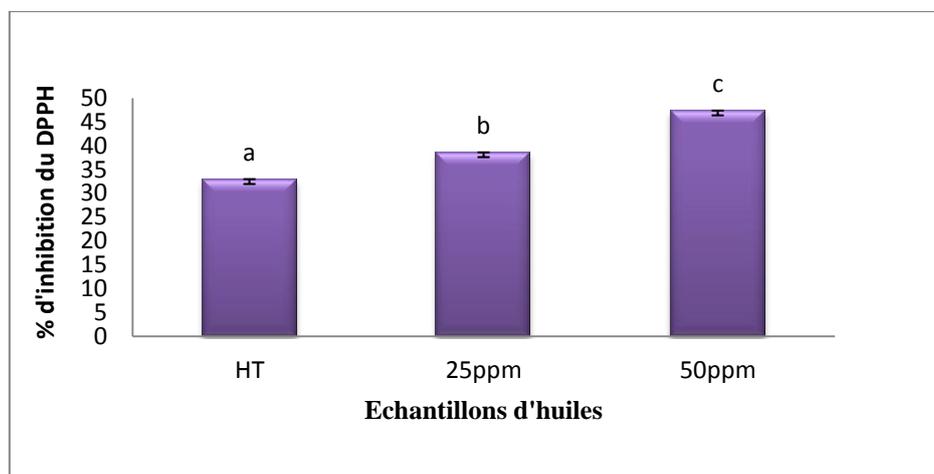


Figure n° 12: Activité antiradicalaire d'huile d'olive témoin et enrichie sur le DPPH

*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

Les huiles enrichies manifestent les activités les plus importantes contre le radical DPPH. L'huile enrichie avec 50ppm d'extrait phénolique d'oignon rouge exerce la meilleure activité, suivie de celle additionnée de 25 ppm avec des inhibitions respectives de 47.36% et 38.59%. La plus faible activité antiradicalaire est constatée pour l'huile témoin qui inhibe que 32,95% du radical DPPH mais qui reste importante.

Chiou *et al.*, (2009) ont montré que l'huile d'olive possède une activité antioxydante élevée avant et après enrichissement par les feuilles d'olive.

Ces résultats confirment l'étude réalisée par **Sultana *et al.*, (2007)** qui ont démontré que l'élévation de la concentration en composés phénoliques ou leur degré d'hydroxylation est suivie par l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

IV.3. Teste de rancimat

Pour estimer la stabilité ou la susceptibilité de l'huile à l'oxydation, les échantillons ont été soumis à un test d'oxydation accéléré sous des conditions standardisées à l'aide d'un appareil rancimat (Rancimat Metrohm n°743).

Les résultats (Tableau XII) sont exprimés en temps d'induction (heures), déterminés grâce à une courbe de conductivité (Annexe VI).

Tableau XII : stabilité oxydative des huiles non enrichies et les huiles enrichies mesurée par le rancimat.

Enrichissement par ppp	Temps d'induction(T)
Huile d'olive	
0 ppm	42.44 h
25 ppm	39.07 h
50 ppm	35.33 h
Huile de soja	
0 ppm	16.61 h
25 ppm	19.27 h
50 ppm	19.24 h
100 ppm	18.87 h
150 ppm	19.16 h

Les valeurs obtenues sont hétérogènes, elles oscillent entre 35,33h à 42,44h pour les huiles d'olives, et entre 16,61h à 19,27h pour les huiles de soja.

On constate que le temps d'induction maximal est enregistré par l'huile d'olive témoin (42,44h), bien que l'huile d'olive enrichie avec 50ppm renferme plus de substances antioxydantes, elle enregistre un temps d'induction moindre (35,33h) Cela peut être due aux produits secondaires d'oxydation présents avant le chauffage des huiles ainsi qu'à la composition en acides gras (**Krichene et al., 2010**).

Bien que l'huile de soja additionnée de 150 ppm d'extrait phénolique d'oignon rouge soit plus riche en composés phénoliques totaux, elle note un temps d'induction modeste (19,16h) par rapport à l'huile enrichie avec 25ppm qui présente un temps d'induction maximal de 19,27h. De ce fait on constate que la stabilité oxydative de l'huile de soja est influencée par la quantité de composés phénoliques ajoutées, mais elle n'est pas proportionnelle à leur concentration. En effet d'après (**Pirisi et al**) rapporté par (**Ollivier el al., 2004**), la stabilité à l'oxydation, évaluée par le test du Rancimat, ne serait pas fonctionnelle de la teneur en composés phénoliques .Ces derniers se présentent sous différentes formes, essentiellement sous forme d'acide phénolique, flavonoïdes ou d'anthocyane. Ils interviennent soit en interrompant la phase de propagation de l'oxydation soit en activant les catalyseurs d'oxydation. Les limites à la mise en œuvre des antioxydants dans les matrices alimentaires sont liées à leurs matrices et leurs interactions avec d'autres constituants (protéines et composé phénolique) ou aux modifications de couleur ou de flaveur (**Jeanret et al., 2006**).

Il ressort de ces résultats, que l'huile d'olive qu'elle soit enrichie ou pas, présente une meilleure stabilité oxydative par rapport à l'huile de soja, ce qui s'explique par la richesse de l'huile d'olive en substances antioxydantes (composés phénoliques, tocophérols, caroténoïdes,...etc).

La mesure du temps d'induction sous des conditions standards est généralement utilisée comme indice d'efficacité antioxydante (**Carrasco-Pancorbo *et al.*, 2006**). La stabilité oxydative ne dépend pas seulement du pool en antioxydant, elle est notamment affectée par les composés prooxydants pouvant exister dans l'huile (**Bester *et al.*, 2008**).

V. Détermination des indices de qualité d'huile de soja enrichie au cours des fritures

L'effet des différentes fritures sur les paramètres physico-chimiques de l'huile de soja enrichie sont illustrés dans le tableau XIII ci-après.

Tableau XIII : Evaluation des paramètres physico-chimique de l'huile de soja enrichie au cours du chauffage.

Huile de soja enrichie (ajout de l'extrait oignon)	IP (méq /Kg)	Couleur J/R 5'1/4	Composés polaires (%)	FFA (%)
Échantillon (E ₀) sans chauffage	0.8	10/1.0	00	0.06
5 ^{ème} Friture(E ₁)	1.2	34/3.1	00	0.08
10 ^{ème} Friture(E ₂)	2.2	39/3.9	00	0.08
Huile de soja témoin (non enrichie)	IP (méq /Kg)	Couleur J/R 5'1/4	Composés polaires	FFA (%)
Échantillon (E ₀) sans chauffage	0.8	15/1.1	00	0.06
5 ^{ème} Friture(E ₁)	3	18/1.7	1.2	0,0977
10 ^{ème} Friture(E ₂)	1.2	21/2.3	1.4	0.1128

V.1. Acidité

L'acidité des deux huiles de soja enrichies et témoins a augmenté en fonction du nombre de fritures, jusqu'à stabilisation à la 5^{ème} friture pour l'huile de soja enrichie, qui passe de 0,06 % (huile non chauffée) pour atteindre 0.08 % à la 10^{ème} friture, tandis que huile de soja témoin, l'acidité passe de 0.06% pour atteindre 0.1128%, cette dernière est plus élevée que celle d'huile enrichie.

Cette fluctuation de l'acidité des deux huiles est probablement due à une dégradation hydrolytique occasionnée au cours du procédé de friture (température élevée et présence d'eau dans les aliments pomme de terre), et également au temps séparant la prise d'échantillons et la friture, aussi l'analyse proprement dite, engendrant ainsi la libération des acides gras libres. (**Grandgirard, 1992 ; Vitrac *et al* 2003 ; Avellan et Alfos . 2005**).

Les résultats révèlent, que le chauffage influence l'acidité des deux huiles avec une meilleure performance pour l'huile de soja enrichie.

V.2. Indice de peroxyde

Les valeurs obtenues pour l'indice de peroxyde pour l'huile de soja enrichie, évoluent de 0,8 Méq g d'O₂/Kg (avant friture) à 1,2 Méq g d'O₂/Kg à la 5^{ème} friture, pour atteindre un maximum de 2,2 Méq g d'O₂/Kg à la 10^{ème} friture, dans le cas de huile de soja témoins, l'indice de peroxyde passe de 0,8 Méq g d'O₂/Kg (avant friture) pour atteindre un maximum de 3 Méq g d'O₂/Kg à la 5^{ème} friture, puis il diminue pour atteindre à la 10^{ème} friture (1,2 Méq g d'O₂/K).

La formation des peroxydes (composés primaires) pendant le procédé de friture est expliqué par l'exposition des deux huiles à de haute température (180°C), en présence de l'air libre(O₂), qui favorise les réaction d'oxydation cela se traduit par l'augmentation de l'indice de peroxyde (**Osawa *et al.*, 2012**). Ces produits radicalaires primaires, sont instables. Ils se transforment (phase de déclin) en d'autres produits secondaires, tel que les aldéhydes, les cétones (**Vitrac *et al.*, 2003**), ce qui explique la diminution de l'indice de peroxyde pour l'huile de soja témoins.

D'après les résultats obtenus, l'huile de soja enrichie présente une meilleure résistance au chauffage par rapport à l'huile témoins (non enrichie).

V.3. Couleur

L'altération des huiles de friture, se traduit par une intensification de la couleur d'origine exprimée en unité de jaune et rouge nécessaires pour l'obtention de la couleur adéquate des échantillons analysés.

Les résultats obtenus, indiquent que le nombre des unités rouges et jaunes augmentent en fonction du nombre de fritures pour les deux huiles.

Pour l'huile enrichie, la couleur jaune augmente de 15 unités (avant friture) à 34 unités et 5 unité après 5^{ème} et 10^{ème} friture respectivement, quant a la couleur rouge, celle-ci évolue de 1.0 (avant friture) à 3.1 et 3.9 après la 5^{ème} et 10^{ème} friture respectivement, contrairement à l'huile témoins la couleur jaune augmente de 15 unité (avant friture) à 18 unités et 21 unités après 5^{ème} et 10^{ème} fritures respectivement.

Cette augmentation pourrait s'expliquer par la présence de polymères thermo-oxydés (**Melton et al., 1994**), qui résulte du brunissement de l'huile de friture par les réaction de Maillard et aussi de la dégradation des substances colorantes naturelles présentes dans l'huile d'origine (**Pokorny, 2003**). La couleur peut également être influencée par la nature de l'aliment à frire (**Perrin, 1992**).

V.4. Composé polaire

Les teneurs en composés polaires de l'huile de soja témoins, augmentent avec l'augmentation du nombre de friture. En effet, elle passe de 0% (avant friture) à 1,2 à la 5^{ème} friture et 1,4 après la 10^{ème} friture, par contre dans l'huile de soja enrichie, aucune apparition des composés polaire n'a été enregistrée au cour des différentes fritures, ce qui est expliqué par sa richesse en composés phénoliques qui assure sa stabilité.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que les huiles enrichies par les extraits phénoliques de l'oignon rouge, présentent une meilleure stabilité lors des différents chauffages grâce aux substances antioxydante qu'elle renferme.

Conclusion

Conclusion

Cette étude a été menée dans le but d'optimiser l'extraction des composés phénoliques par micro-onde à partir d'*Allium cepa*, et l'évaluation de l'enrichissement des huiles végétales à savoir l'huile d'olive extra vierge et l'huile de soja par les polyphénols d'*Allium cepa* (oignon rouge).

D'après les résultats obtenus, l'optimisation d'extraction par microonde des polyphénols d'oignon rouge montrent que cette méthode peut être une alternative à la méthode conventionnelle car elle nous a permis d'avoir le même rendement avec un gain important du temps d'extraction et l'activité biologique des polyphénols n'a pas été affectée.

Une analyse quantitative des composés phénoliques totaux des échantillons d'huiles enrichies et témoins a été réalisée. L'analyse statistique a révélée des différences significatives entre ces deux huiles (enrichie et témoins). En effet les teneurs en composés phénoliques varient selon la quantité d'extrait phénolique ajoutée entre 272mg/kg (à50ppm) pour l'huile d'olive et 78,8mg/kg (à150ppm) pour l'huile de soja. Ces valeurs sont nettement supérieurs aux huiles témoins (241,481 mg/Kg pour l'huile d'olive, et 2,16 mg/Kg pour l'huile de soja), ce qui suggère de dire que l'enrichissement a permis de fortifier le potentiel en polyphénols des huiles étudiées.

L'activité scavenger sur le radical DPPH de l'huile d'olive enrichie et témoins, révèle une augmentation du pourcentage d'inhibition dans les huiles enrichies, il passe de 32.95%(huile d'olive témoins) à 47,36% (huile d'olive enrichie avec 50ppm), ce qui témoigne l'efficacité de l'enrichissement.

Néanmoins, l'évaluation de la stabilité oxydative révèle que le pouvoir antioxydant des polyphénols ajoutés n'a pas été le même dans les deux huiles étudiées. En effet, le test de Rancimat a révélé un effet pro oxydant dans l'huile d'olive enrichie(diminution du temps d'induction de 42,44 à 35,33h) et un effet antioxydant (augmentation du temps d'induction de 16.61 à 19.27 heures) dans l'huile de soja, ce qui a été confirmé par le test des fritures répétées, où une meilleure stabilité thermique a été enregistrée par l'huile de soja enrichie.

Afin d'approfondir cette étude, d'autres aspects du thème peuvent être envisagés à savoir :

- élargir l'étude en testant d'autres variétés ;
- évaluer l'effet antioxydant des polyphénols extraits de l'oignon rouge, en le comparant à d'autres antioxydants synthétique et naturels (tocophérols),

- procéder à l'analyse sensorielle, qui est un élément fondamental dans l'évaluation de la qualité des huiles enrichies ;
- étudier l'activité antimicrobienne des huiles enrichies ;
- tester la stabilité oxydative dans les conditions de stockage ;
- utiliser des techniques d'analyse développées (HPLC, RMN etc) pour identifier la composition des extraits;
- réaliser des tests *in vivo* avec ces composés bioactifs afin d'évaluer leur pouvoir antioxydant sur la prévention de certaine maladie chroniques telle que le diabète, le cancer.

*Références
Bibliographiques*

A

- Adrian J, Dan villier P, Poiffait A et Potus J.** (1998). Introduction a l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. Ed. Tec et doc : 29-145.
- Adriane J, potus J et Frangne R.** (2003). Les sciences alimentaires de A à Z 3^{ème} Ed. lavoisier, paris. pp. 432,454, 504.
- Albitar N.** (2010). Etude comparative des procédés de séchage couplés à la texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC, en termes de cinétique et de qualité nutritionnelle. Applications à la valorisation des déchets agro-industriels. th.doc : Génie des Procédés Industriels. Université de la Rochelle. 191 p.
- Artajo L. S, Romero M. P, Morello J. R et Motilva M. J.** (2006). Enrichment of refined olive oil with phenolic compounds : evaluation of their antioxidant activity and their effect on the bitter index. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 6079-6088.
- Avellan A. V, Alfos C.** (2005). Valorisation non alimentaire des huiles de friture usagées en tant que lubrifiants biodégradables. *Oléagineux, corps gras, lipides.*12 (4).
- Ayadi M. A, Grati-Kamoun N, Attia H.** (2009). Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants, *Food and Chemical Toxicology* 47, 2613–2619.

B

- Ballard T, Mallikarjunan W, Zhou K, Sean O.** (2010). Microwave-assisted extraction of phenolique antioxidant compound from peanut skins, *food chemistry.* 120 : 1185-1192.
- Belarbi-Ouarkoub S, Allaf K et Hamdi A.** (2008). Séchage de l'oignon par DIC, *Revue des Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger*, 97 – 104.
- Ben amour.** (2008). Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principe actif, texturation par détente instantanée contrôlée dic. *Thèse doctorat* : Université la Rochelle, France. 207 p.
- Ben Youssef N, Leïla A, Youssef O, Mohamed S. N, Nizard D, Chedly A et Mokhtar Z.** (2012). Influence of the Site of Cultivation on Chétoui Olive (*Olea europaea* L.) Oil Quality *Plant Production Science* Vol.15 : 228-237.
- Benítez V, Mollá E, Martín-Cabrejas M. A, Aguilera Y, López-Andréu F J, Cools K, Terry L. A, Esteban R. M.** (2011). Characterization of Industrial Onion Wastes (*Allium cepa* L.): Dietary Fibre and Bioactive Compounds. *Plant Foods Hum Nutr*, 66 : 48–57.

Berger M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*. (20). P: 48–53.

Bester E, Butinar B, Bucar-Miklavcic M et Golob T. 2008. Chemical changes in extra virgin olive oils from Slovenian Istra after thermal treatment. *Food Chemistry*, 108: 446-454.

Bezerra M. A, Santelli R, Oliviera E, Villar L, et Escaleir L.A. (2008). Reponse surface methodology (RMS) as tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977.

Bianco A. et Uccella N, (2000). Biophenolic components of olives. *Food Research International*, 33 : 475-485.

Bonvehí J. S, Torrent M. S et Lorente E. C. (2001). Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honey-bee collected pollen produced in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 : 1848-1853.

C

Cai Y, Luo Q, Sun M et Corke H, (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74 : 2157-2184.

Campelo Borges GS, Vieira FGK, Copetti C, Gonzaga L.V et Fett R. (2011). Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. *Food Research International*, 44, 708–715.

Carrasco-Pancorbo A, Cerretani L, Segura-Carretero A, Gallina-Toschi T, Lercker G et Fernandez-Gutierrez A. (2006). Evaluation of individual antioxidant activity of single phenolic compounds on virgin olive oil. *Progress In Nutrition*, 8 (1) : 28-39.

Catchala M, Woin N et Essang T. (2002). L'oignon, une production en plein essor au Nord-Cameroun. Actes du colloque, Garoua, Cameroun.

Cerretani Lorenzo, Motilva MJ, Romero MP, Bendini A, Lercker G. (2008). Pigment profile and chromatic parameters of monovarietal virgin olive oils from different Italian cultivars. *Eur Food Res Technol* 226:1251–1258.

Chan SW, Lee CY, Yap CF, Wan Aida WM and Ho CW. (2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. *International Food Research Journal*, 16 : 203-213.

Chandrika L. P et Shahidi F. (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, 93 : 47–56.

Chemat F, Ginies C, Romdhane M et Farhat A. (2009). Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy: experimental and theoretical study. *Journal of chromatography*, 1216 : 5077-5085.

Chiou A, Kalogeropoulos N, Salta F, Efstathiou P, Andri Kopolous N.K. (2009). Pan frying of french fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract: oxidation stability and fate of microconstituents. *Food Science and technology*, 42 : 1090-1097.

Codex alimentarius. (1989). Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév. 1-1989).

Communauté Economique Européenne. Règlement (CEE) N° 2568 /91 de la commission, du 11 juillet 1991. Relative aux caractéristiques des huiles d'olives et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes : p27-30

Conseil Oléicole International norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive COI/T.15/NC n° 3/Rév. 6 Novembre 2011.

Conseil Oléicole International. (2003). Classification des huiles d'olive. Normes internationales Applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.

Corzo-Martinez M, Corzo N et Villamiel M. (2007). Biological properties of onions and garlic. *Trends in Food Science & Technology*, 18 : 609-625.

Cossut J. (2002). Les corps gras entre tradition et modernité. Projet réalisé dans le cadre du dess. Qualimapa institue agroalimentaire de Lille. 30-31.

D

Dini I, Tenore G. C, Dini A. (2008). Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of *Allium caepa* L. Var. *tropeana* (red onion) seeds. *Food Chemistry*, 107 : 613–621.

Donner H, Gaob L et Mazza G. (1998). Separation and characterization of simple and malonylated anthocyanins in red onions, *Allium cepa* L. *Food Research International*, 30, 637-643.

Doymaz I, Gorel O, et Akgun A. (2004). Drying characteristics of the solid by product of olive oil extraction. *Biosystems engineering*, 88 : 213-219.

E

El antari A, Hilal A, Boulouha B 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*, N°80, p. 29-36.

Eymard S. (2003). Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. 126p. Thèse de doctorat : Nantes : université de Nantes : *Ecole Doctorale Mécanique, Thermique et Génie Civil ; Laboratoire : IFREMER.*

F

Fakourelis N, Lee E. C. et Min D. B. (1987). Effects of chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 27: 31.

Faller A. L. K. et Fialho E. (2009). The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International*. (42). P: 210-215.

Faraga R. S, Mahmoud E. A et Basuny A. M. (2007). Use crude olive leaf as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil heating. *International journal of Food Science and Technology*. 42(1): 107-115.

Fki I, Allouche N & Sayadi S. (2005). The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: A potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93 : 197–204.

Fossen T, Andersen ØM, Øvstedal DO, Pedersen AT et Raknes SÅ. (1996). Characteristic Anthocyanin Pattern from Onions and other *Allium* spp. *Journal of Food Science*, 61 (4) : 703-706.

François R. (1974). Généralité, huileries. In « les industries des corps gras ». Ed Lavoisier : Paris. pp : 32-138.

Fuhrer F, Limacher A, Mikle H, Truttmann M, Friedli R, Pasquier M, Pfefferli H, Schneller R et Gremaud G. (2005). Graisses comestibles, huiles comestibles et graisses émulsionnées. In : Manuel suisse des denrées alimentaires, 27 p.

G

Gao M, Song B. Z et Liu, C Z. (2006). Dynamic microwave-assisted extraction of flavonoids from *Saussurea medusa* Maxim cultured cells. *Biochemical Journal*, 79-83.

Garcia A, Inarejos M, Androulaki A. M, D Salvador , Fregapane G, Tsimidou M. Z. (2009). Discussion on the objective evaluation of virgin olive oil bitterness, *Food Research International* 42 : 279–284.

Georgeä S, Brat P, Alter P, et Marie J. Amiot. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 53 : 1370-1373.

Gharib Naseri MK, Yahyavi H et Arabian M. (2008). Antispasmodic Activity of Onion (*Allium cepa* L.) Peel Extract on Rat Ileum. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (2) : 155-159.

Gigon F et Le Jeune R. (2010). Huile d'olive, *Olea europaea* L. *Phytothérapie* 8: 129–135.

Gorinstein S, Martin-Belloso O, Karich E, Lojek A, CIZ M, Gligelmo-Miguel N, Haruenkit R, Park Y. S, Jung S. T et Trakhtenberg S. (2003). Comparaison of the contents of the main biochemical and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. *JNB*. 14 : 154-159.

Goupy J et Creighton L. (2005). Introduction aux plans d'expériences (Dunod, Paris ed).

Grandgirard (1992). Transformation des lipides au cours des traitements thermiques, effets nutritionnels et toxicologiques. **In** : aspect nutritionnel des constituants des aliments influence des technologies. **Ed. Tec. et Doc.**; Paris ; pp. 49-63 ; ISSN : 0221-0347.

Guignard JL. (1996). Biochimie végétale. éd, Masson, Paris, p 189.

H

Halliwell B et Gutteridge JMC. (1990). The antioxidants of human extra cellular fluids. *Arch Biochemistry Biophysic.* (280), 8 p.

Havsteen BH. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*, 96 : 67– 202.

Hennebelle T, Alegre L, Breusegem F.V et Munne-Bosch S. (2008). How relevant are flavonoides as in plante foods Human Ntrition. 103 : 24-36.

J

Jacotot B. (1996). Huile d'olive et prévention. *Nutrition. Clinique. Métabolique.* 10 : 7 S-9 S.

Jacotot B. (1997). Intérêt nutritionnel de la consommation de l'huile d'olive. Oléagineux, corps gras et lipides, *Nutrition. Clinique. Métabolique.*, 4, (5) :373-734.

Jeanret R, Croguennect T, Schuck, Brulle G. (2006). Science des aliments Ed. Tech et Doc Vol 1, ISBN-2-730-0833-4p 197-223.

Jurcau A, PhD. (2008). Acute cerebral ischemia and oxidative stress. *Romanian Journal of Neurology*-Volume VII, No.2, Pp 45.

K

- Kalantzakis G, Blekas G, Pegklidou K, Boskou D.** (2006). Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 108,329–335.
- Karleskind A.** (1992). Manuel des corps gras. Tome 1.Paris : Tec & Doc : Lavoisier, 787p. ISBN : 2-85206-662-9.
- Kartika I. A.** (2005). Nouveau procédé de fractionnement des grains de tournesol: expression et extraction en extrudeur bi-vis, purification par ultrafiltration de l'huile de tournesol. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse: 333p.
- Khizar H, Sarfaraz H, Shabbar A, Umar F, Baomiao D, Shuqin X, Chenggsheng J, Xiaoming Z, Wenshui X.** (2009). Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Separation and Purification Technology*, 70(1): 63-70.
- Khizar H, Xiaoming Z, Hanqing C, Shuqin X, Chenggsheng J, Fang Z.** (2010). Effet of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of citrus mandarin pomace. *Food Chemistry*, 123(2) : 423-429.
- Kiassos E, Mylonaki S, Makris D. P, Kefalas P.** (2009). Implementation of response surface methodology to optimise extraction of onion (*Allium cepa*) solid waste phenolics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 246–252.
- Kim H. J, Hahm T. S et Min D. B.** (2007). Hydroperoxide as a Prooxidant in the Oxidative Stability of Soybean Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84: 349-355.
- Kopjar M, Piližota V, Šubarić D et Babić J.** (2009). Prevention of thermal degradation of red currant juice anthocyanins by phenolic compounds addition. *Journal of Food Science and Technology*, 1 (1): 24-30.
- Kormin F, Ahmed I, bin Mohd Yunus R, Abidin Mohd Yusof Z.** (2010). The potential of modified microwave extraction system (MMES) to extract bioactive components from ferns. *International Journal of Engineering & Technology IJET-IJENS*, 10(02): 7-12.
- Kouami J, Gnoula C, Palé E, Bassolé H, Guissou I. P, Simporé J, Nikiéma J. B.** (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuille et de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et Technique et science de la santé*, 32 : 1-2.
- Krichene D, Allalout A, Mancebo-Campos V, Salvador M. D, Zarrouk M et Fregapane G.** (2010). Stability of virgin olive oil and behaviour of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. *Food Chemistry*, 121: 171-177.

Krichene D, Taamalli W, Daoud D, Salvador M. D, Fregapane G et Zarrouk M. (2006). Phenolic compounds, tocopherols and other minor components in virgin olive oils of some tunisian varieties. *Journal of Food Biochemistry*, 31: 179-194.

Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Grignon C et Abdelly C, (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. *Plant physiology and biochemistry*, 45: 244-249.

Kuti JO. (2004). Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*, 85: 527–533.

L

Lee O. H, Lee B. Y, Lee H. B, Son J. Y, Park C. S, Shetty K et Kim Y. C. (2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fraction of olive leave and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*. 100: 6107-6113.

M

Macheix J. J, Fleuriet A et Sarni-Manchado P. (2005). Les composés phénoliques dans la plante : structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc : Lavoisier.

Marc F, Davin A, Deglène-Benbrahim L, Ferrand C, Baccaunaud M et Fritsch P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *médecine sciences*, vol. 20, n° 4, p. 458-463.

Martens S, Preuß A , Matern U. (2010). Multifunctional flavonoid dioxygenases: Flavonol and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. *Phytochemistry*, 71: 1040–1049.

Melton S. L, J D et Trigiano M K. (1994). Review of stability measurement for frying oil and fried food flavor. *American journal oil chemist's and society*, 71:1301-1308.

Middleton E et Kandaswani C. (1992). Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochemical Pharmacology*. (43). P: 1167-1179.

Minguez-mosquera Mi, Rejanol L, Gandul B, Higini A et Caridoj. (1991). Color pigment Correlation in virgin olive oil. *Journal of American oil chemist's society*, 68: 332-336.

Montedoro G, Servilli M, Baldioli M. et Miniati E. (1992). Simple and hydrolysable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1571-1576.

Morot J. F, Gaudry et Roger P. (2009). Biologie végétale croissance et développement. éd,

O

O.N.H. (2012). Office National de l'Huile. La filière de l'huile d'olive, composante stratégique de l'agriculture tunisienne et de l'économie nationale. République tunisienne. Ministère de l'agriculture.

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

Oren-Shamir M. (2009). Does anthocyanin degradation play a significant role in determining

Osawa C. C, Guaraldo A. L, Ragazzi S. (2007). Correlation between free fatty acids of vegetable oils evaluated by rapid tests and by the official method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 523–528.

P

Pellegrini N et Battino M. (2006). Total antioxidant capacity of olive oil. *In Olive Oil and Health*. Ed J.L Quiles, M. C. Ramirez Tortoza and P Yaqcob. CAB International. Pp 63-71.

Paz Aguilera M, Beltran G, Ortega D, Fernandez A, Jimenez A, Uceda M. (2005). Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. *Food Chemistry*, 89: 387–391.

Pelletier D. (2000). Étude du marché ouest-africain de l'oignon et de la pomme de terre. éd, PAEP, SENEGAL.

Perez-Serradilla J. A, Japon-Lujan R, Luque de Castro M. D. (2007). Simultaneous microwave-assisted solid–liquid extraction of polar and nonpolar compounds from alperujo. *analytica chimica acta* , 602 : 82–88.

Perrin J. L. (1992). Analyse des corps gras, détermination de l'altération. In : Manuel des corps gras. Tome 2. Ed. *Tec et doc* : 1015 :1031.

Perrin J. L. (1992). Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. Etude et recherche, 4: 25-31. Pigment concentration in plants. *Plant Science*, 177, 310-316.

Pokorny J. (2003). Problème de stabilité des produit lies a la presence des lipides. In : lipides et corps gra alimentaires. Ed. *Tec et doc* : 51-75.

Prasad KN, Hassan FA, Yang B, Kong KW, Ramanan RN, Azlan A et Ismail A. (2011). Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilised *Mangifera pajang* Kosterm Peels. *Food Chemistry*, xxx, xxx–xxx.

Psomiadou E, Tsimidou M, Boskou D. (2000). Alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oils. *J. Agric. Food Chem.*, 48: 1770-75.

Q

Quiles L. J. M, Ramírez-Tortosa C et Yaqoob P. (2006). OLIVE OIL AND HEALTH ISBN-10: 1-84593-068-1. P 53:1-361.

R

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

Radojkovića M, Zekovića Z, Jokićb S, Vidovića S. (2012) .Determination of optimal extraction parameters of mulberry leaves using Response Surface Methodology (RSM). *Printed in Romania. Vol. 17, No.3.*

Riahi J et Marzouk B. (2000). Effects of light on some vegetal oils quality and stability. Preliminary note. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 2000, 77 : 25-30.

Ribereau G. P, (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris. P : 254.

Rolland Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. *Burgundy Botanical Extracts, Actiparc de Pont de Vaux, Les Chapelles Sud, 01190 Reysseuze-France*, 11 : 419-424.

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

S

Salta F.N, Mylona A, Chiou A, Boskou G et Andrikopoulos N. K. (2007). Oxidative Stability of Edible Vegetable Oils Enriched in Polyphenols With Olive Leaf Extract. *Food Science and Technology International*. 13: 413-421.

Santas J, Carbo R, Gordon M. H, Almajano M. P. (2008). Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties. *Food Chemistry*, 107: 1210–1216.

Shon M. Y, Choi S. D, Kahng G. G, Nam S. H, Sung N. J. (2004). Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 659–666.

Song J, Li D, Liu C, Zhang Y . (2007). Optimization microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from Ipomoea batatas leaves and its antioxidant activity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1-39.

Spencer J. P, Schroeter H, Rechner A. R et Rice-Evans C. (2001). Bioavailability of flavan-3-ols and procyanidins: gastrointestinal tract influences and their relevance to bioactive forms in vivo. *Antioxid Redox Signal.* (3) : 1023-39.

Stephanie D, Xavier V, Philipe C, Marion W, Jean-michel M. (2009). Comparative study of antioxidant Propertie and total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORACA assay. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 57: 1768-1774.

Sultana B, Anwar F et Przybylski R. (2007). Antioxidant potential of corncob extrats for stabilization of corn oil subjected to microwave heating. *Food chemistry*, 104: 997-1005.

T

Talli A, Mahboub N, Boudjeneh S, Siboukeur O. E. K et Moulti-Mati F. (2010). Optimisation des conditions d'extraction des polyphenols de dattes lyophilisees (*phoenix dactylifera* l) variete *ghars*. *Annales des Sciences et Technologie*, 2 : 107-112.

Tanouti K, Serghini-Caid H, Chaieb E, Benali A, Harkous M, Elamrani A. (2011). Amelioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le maroc oriental , Quality Improvement of Olive Oils Produced In The Eastern Morocco. *LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE* -, Volume 6, N°22.

U

Uğurlu Asık Hatice, Gülcan Özkan, (2011). Physical, Chemical and Antioxidant Properties of Olive Oil Extracted from Memecik Cultivar, *Akademik Gıda* 9(2): 13-18.

Uma DB, Ho CW et Wan Aida WM. (2010). Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolic Compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) Leaves. *Sains Malaysiana*, 39 (1): 119–128.

V

Valnet J. La santé par les fruits, les légumes et les céréales. 9^e édition, *revue et augmentée*. Paris: Vigot, 2001. 411p. ISBN : 2711415163.

Veillet S. (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : entre tradition et innovation .Thèse présentée pour le grade de docteur en sciences, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse .thèse de doctorat .3-42.

Vitrac O, Trystram G, Anne-Lucie, Raoult-Walck. (2003). Procédé de friture et produits frits. In *Lipides et corps gras alimentaires*; **Ed.** : Tec. Et Doc. ; Lavoisier ; Paris ; pp 231-269; ISBN : 2-7430-0594-7.

W

Wang J, Sun B, Cao Y, Tian Y et Li X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food chemistry*, 106: 804-810

Wang S, Chen F, Wu J, Wang Z, Liao X, Hu X. (2008). Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78: 693-700.

Wang SP et Huang KJ. (2004). Determination of flavonoids by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1032, 273–279.

Wettasinghe M et Shahidi F. (1999). Evening primrose meal: A source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1801–1812.

Wu X, Gu L, Holden J, Haytowitz D. B, Susan E, Gebhardt, Gary B, Prior R. L. (2004). Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study, *Journal of Food Composition and Analysis* 17: 407–422.

Y

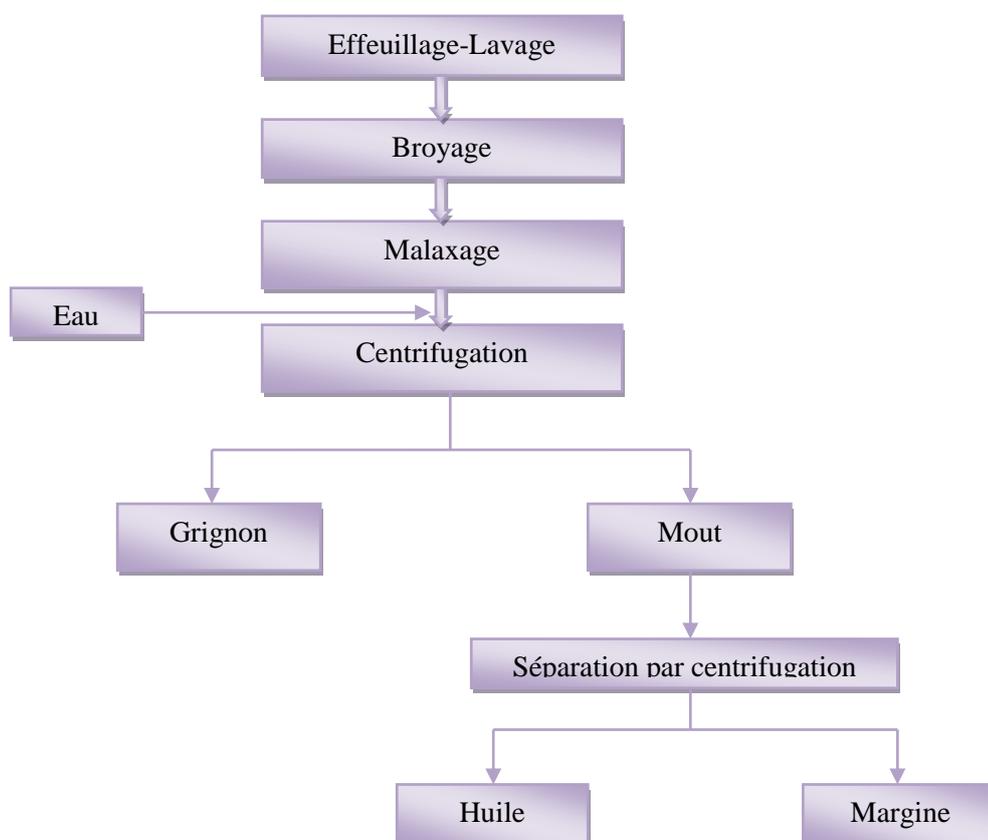
Yap CF, HO CW, Wan Aida WM, Chan SW, Lee CY et Leong YS. (2009). Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues. *Sains Malaysiana*, 38: 511–520.

Annexes

Annexe I

Données physico-chimiques et organoleptiques de la classification des huiles d'olive.

Paramètres \ Huile	Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive vierge	Huile d'olive vierge courante	Huile d'olive vierge lampante	Huile d'olive raffiné	Huile d'olive
Caractéristiques Organoleptiques ● Fruité ● Défaut	Me >0 Me =0	Me >0 0 < Me <2,5	Me = 0 2,5 < M <6,0	Me >6,0		
Densité relative (à 20°C)	/	/	0,910-0,916	/	0,910-0,916	/
Acidité libre (% d'acide oléique)	≤ 0,8	≤ 2	≤ 3,3	> 3,3	0,3	≤ 1
Indice de peroxyde (meq O ₂ /Kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité	<5	<15
Extinction spécifique (UV) ● K232 ● K270	≤ 2,5 ≤ 0,22	≤ 2,6 ≤ 0,25	≤ 0,3	/ /	/ ≤ 1,1	< 0,15 0,9



Processus d'extraction continu avec centrifugation à trois phases.

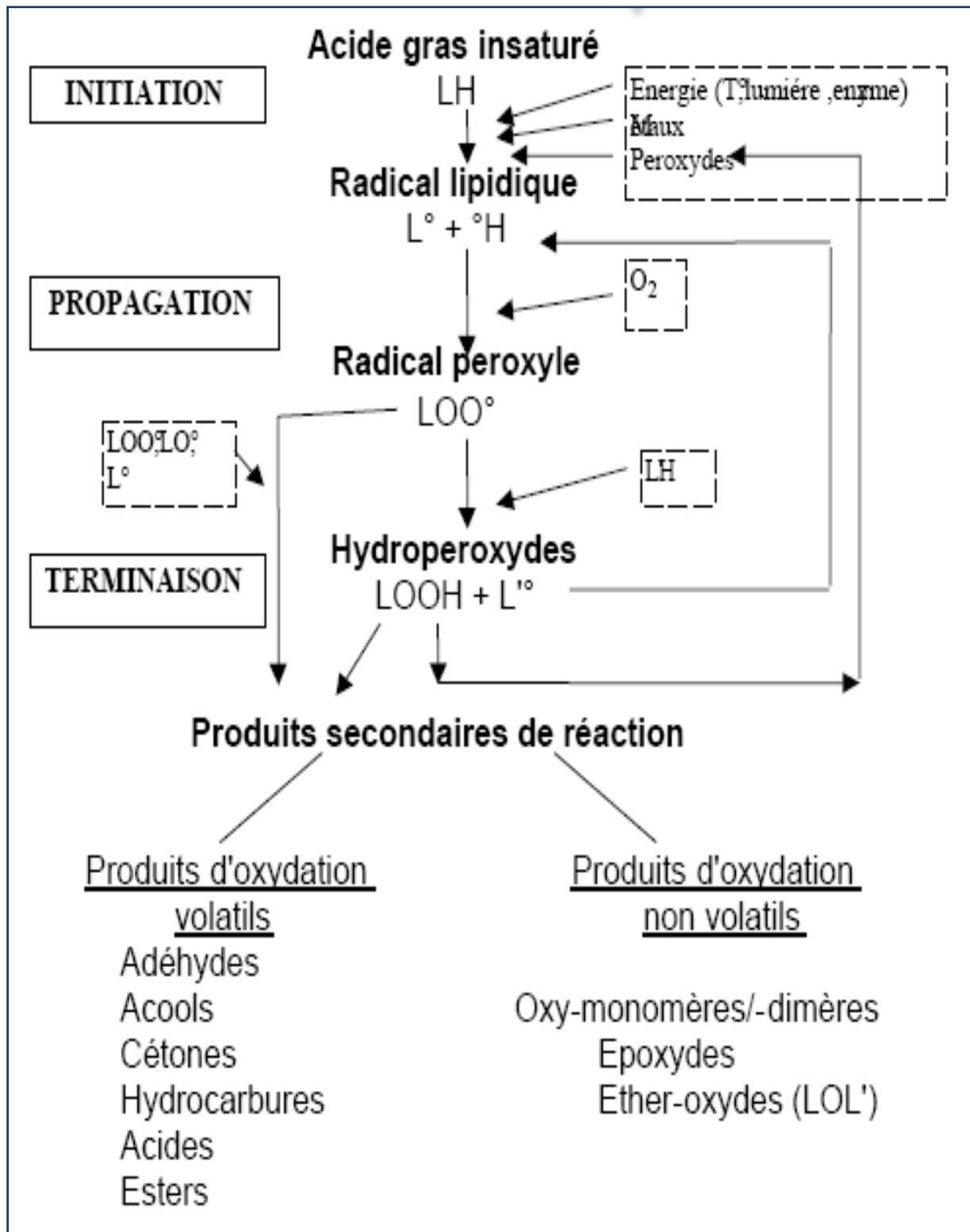
Annexe II

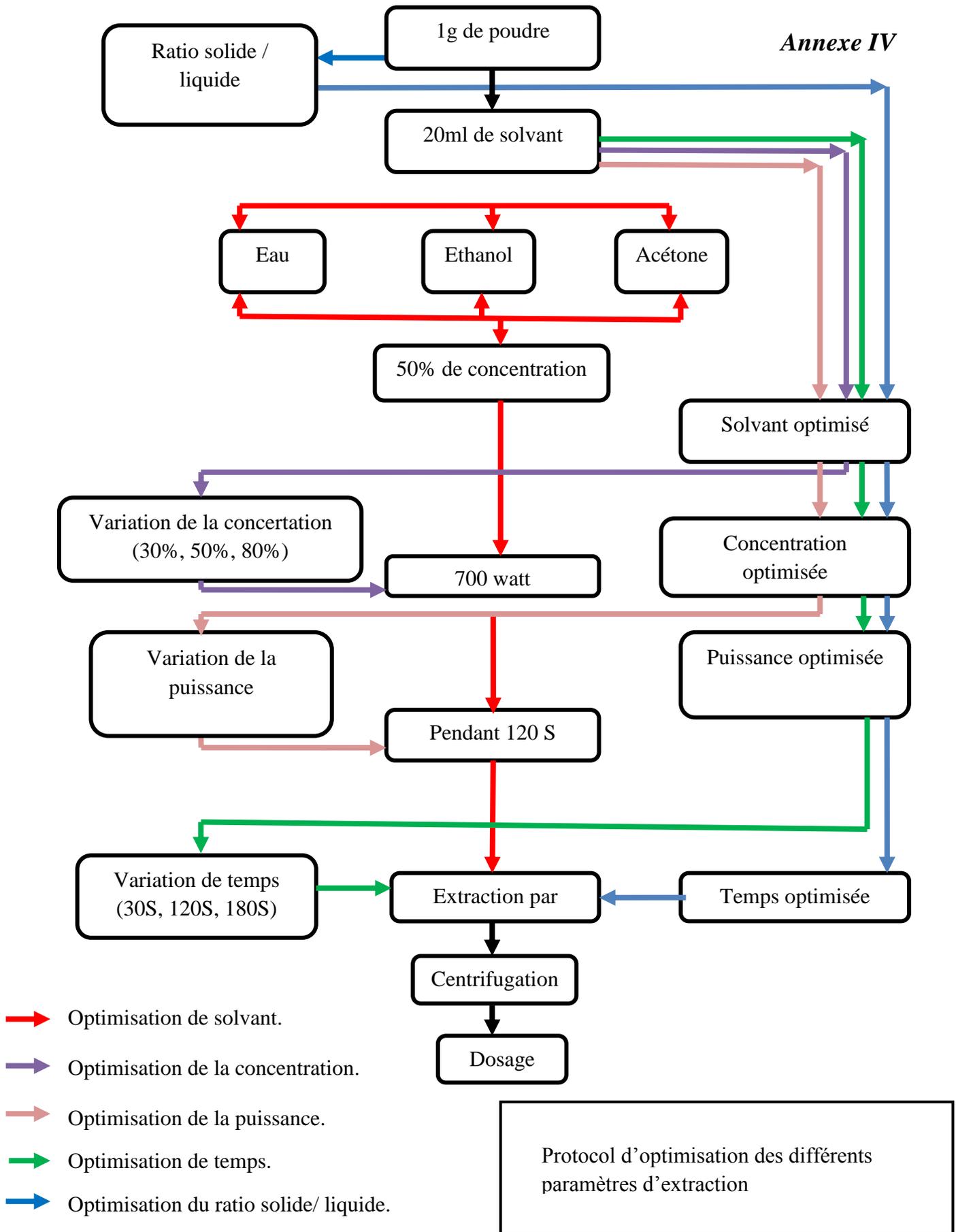
Principaux constituant d'huile d'olive.

Famille de constituants	Constituants	Teneur(%)
Acides gras saturée	Acide palmitique	7,5 -20 %
Acides gras mono – insaturée	Acide palmitoléique	0 ,3- 3,5%
	Acide stéarique	0,5- 5,0%
	Acide oléique	55 -83%
Acide gras polyinsaturés	Acide arachidique	<0,7%
	Acide gondoïque	0,5%
	Acide lignocérique	<0,5%
	Acide linoléique	9%
Phytostérols	Bétasistostérol, campestérol, stigmastérol	
Vitamines	Tocophérols (vitamine E), vitamine A, vitamine K	
Polyphénols	Séco-iridoides : oleuropéine, déméthyleuropéine, ligstroside, hydroxytyrosol, tyrosol	
Lignanes	Acétoxy-pinorésinol, pinorésinol	
Triterpènes	Acide oléanolique, érythrodiol	

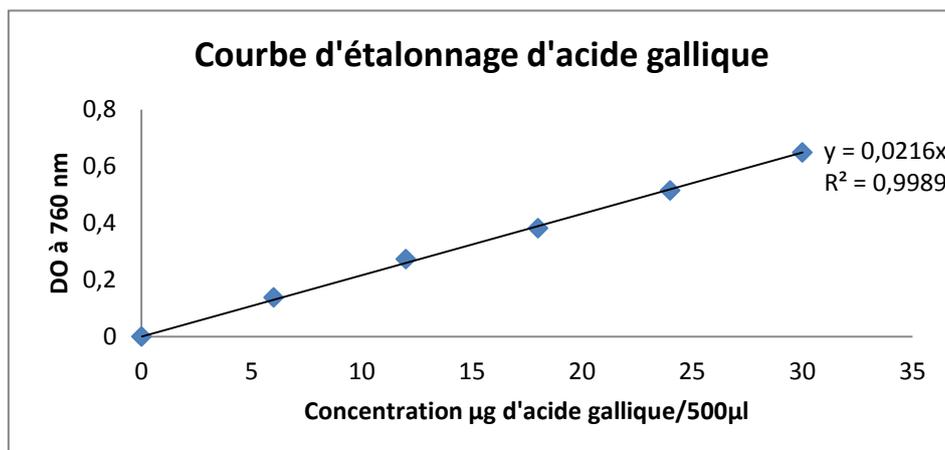
Annexe III

Mécanismes de l'oxydation de l'huile d'olive.

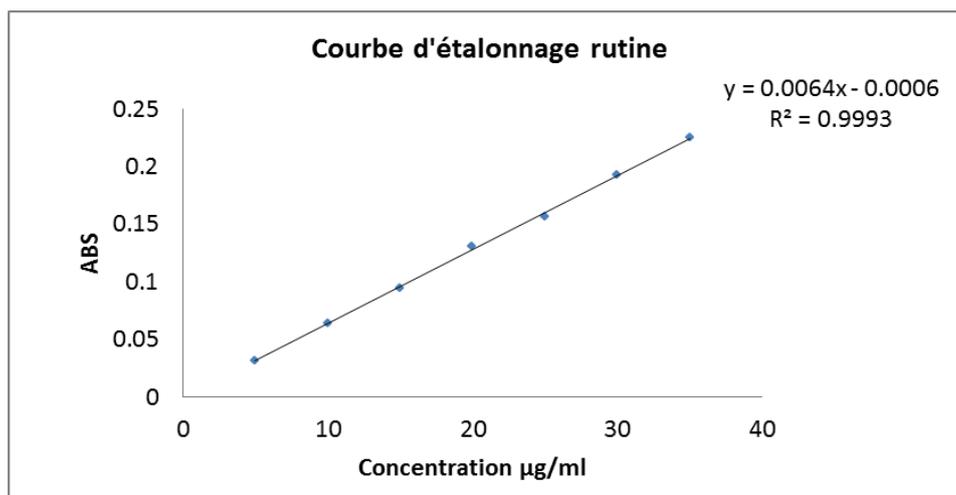




Annexe V



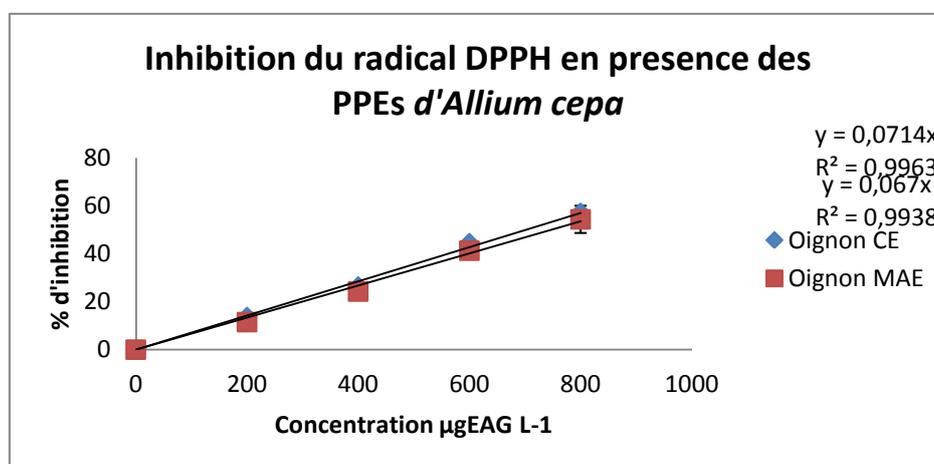
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



Courbe d'étalonnage de la rutine.

Rapport frite sur volume d'huile

Nombre de friture	Volume d'huile dans la friteuse en ml	Quantité de pomme de terre dans chaque bain en g dont le rapport Pomme de terre / huile est de 100g/l	
Données		100g	l
1 ^{ère} friture	2500	250	
2 ^{ème} friture	2322,80	232,28	
3 ^{ème} friture	2147,52	214,75	
4 ^{ème} friture	1974,15	197,42	
5 ^{ème} friture	1802,67	180,27	
6 ^{ème} friture	1633,06	163,31	
7 ^{ème} friture	1465,29	146,53	
8 ^{ème} friture	1299,34	129,93	
9 ^{ème} friture	1135,20	113,52	
10 ^{ème} friture	972,85	97,29	



Le pourcentage (%) d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations.

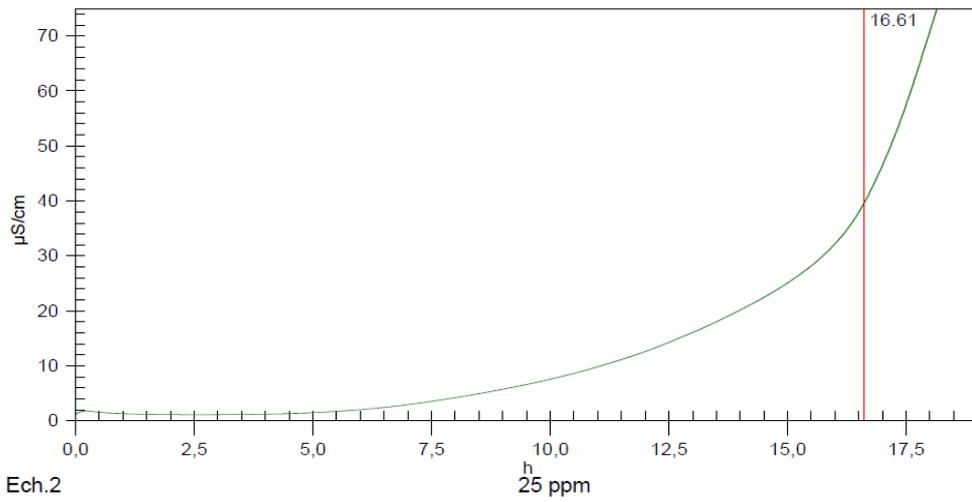
Annexe VI

Ech.1

Témoïn

Induction time

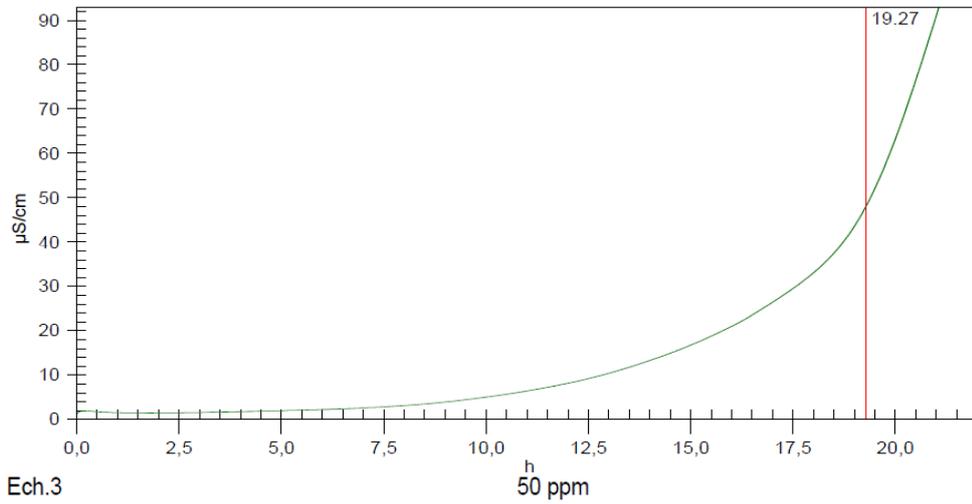
16,61 h



Ech.2

Induction time

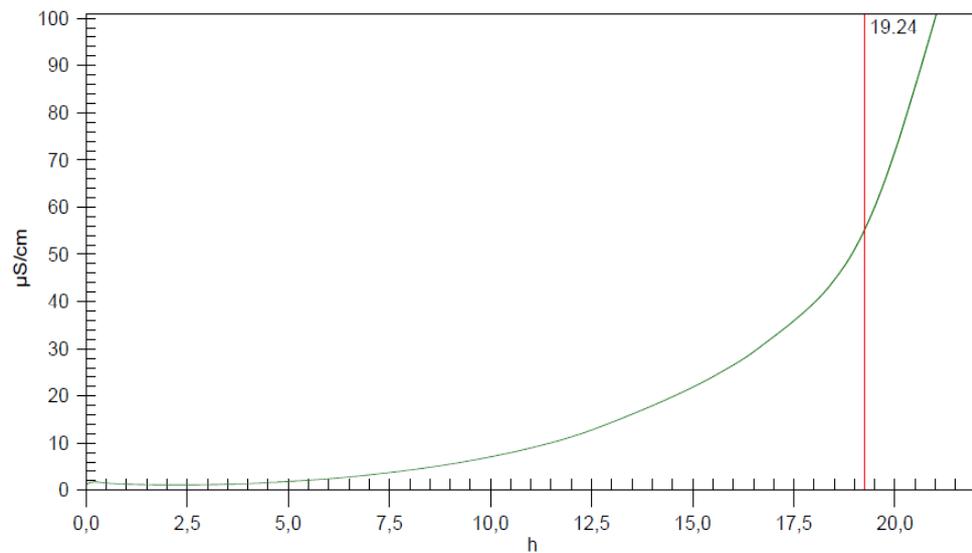
19,27 h



Ech.3

Induction time

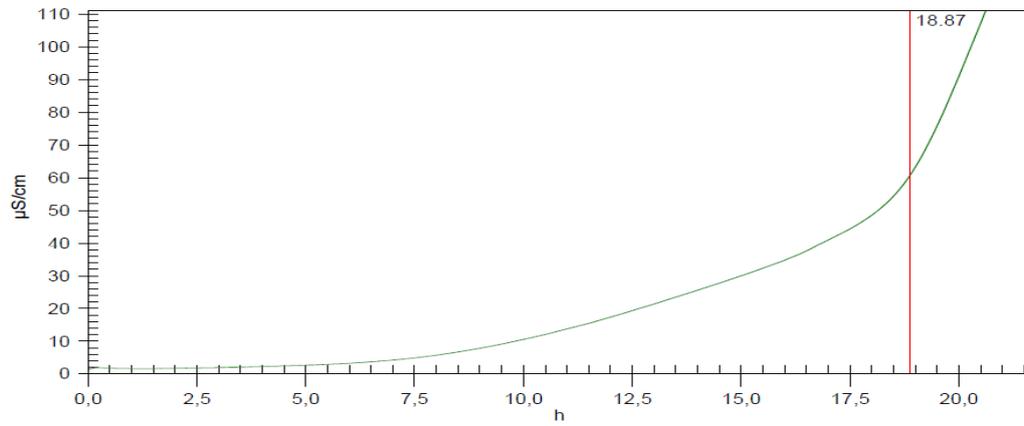
19,24 h



Annexe VI

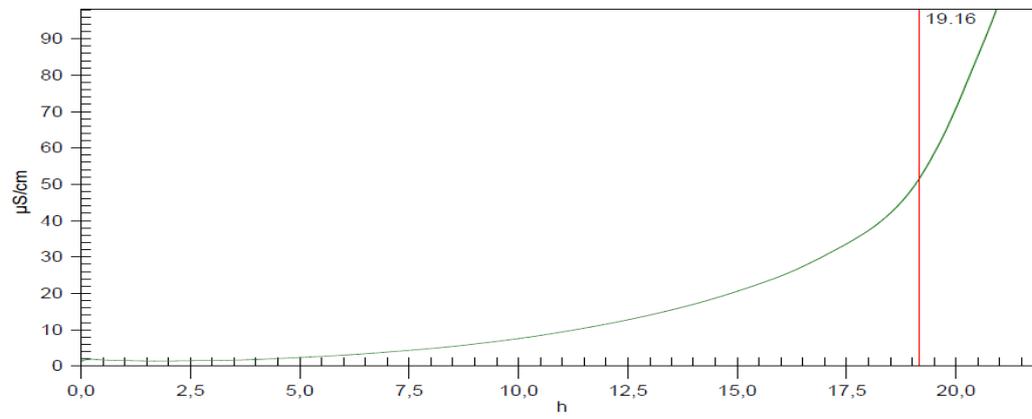
Ech.4 100 ppm

Induction time 18,87 h



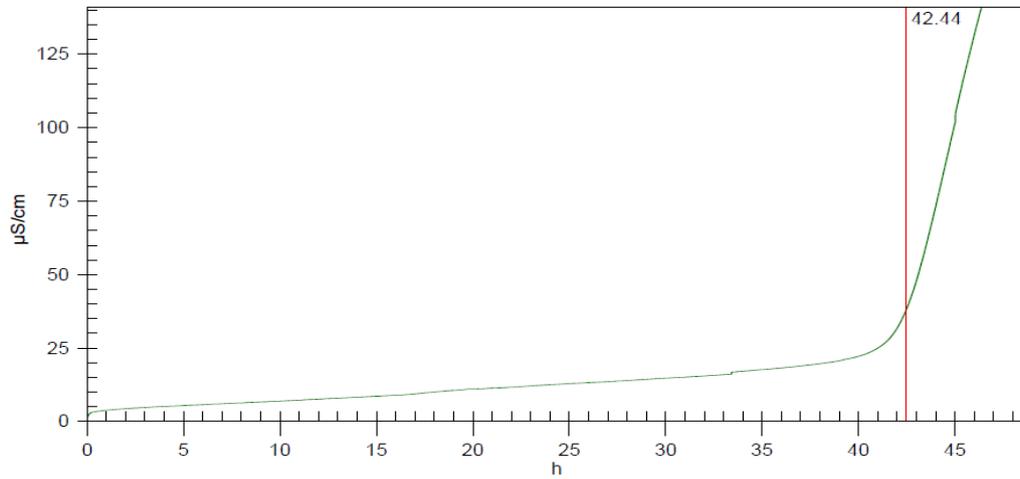
Ech.5 150 ppm

Induction time 19,16 h

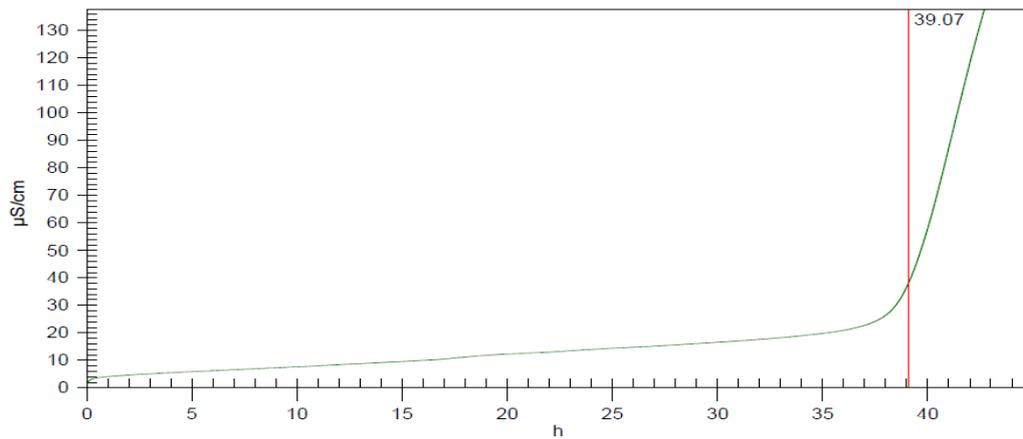


Annexe VI

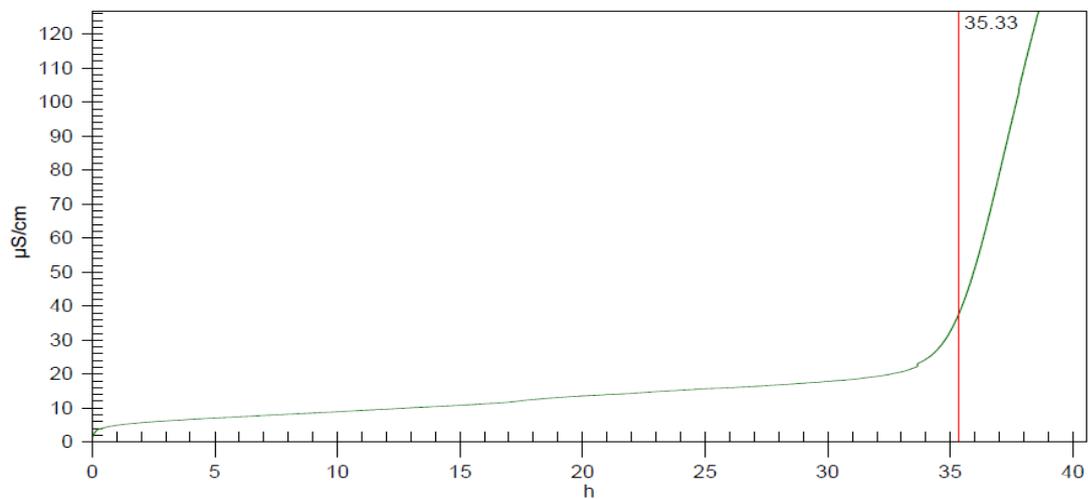
Ech.1 Témoin (Huile d'olive)
Induction time 42,44 h



Ech.2 25 ppm extrait dans l'huile d'olive
Induction time 39,07 h



Ech.3 50 ppm extrait dans l'huile d'olive
Induction time 35,33 h



Résumé

L'objectif de notre étude consiste d'une part à l'optimisation de l'extraction par microonde des polyphénols d'oignon rouge (*Allium Cepea*), en utilisant la Méthode de Surface de Réponse. Différents facteurs sont étudiés : la concentration du solvant, le temps, la puissance ainsi que le rapport solide/liquide. D'une autre part, l'enrichissement de l'huile d'olive et l'huile de soja afin de valoriser les extraits des polyphénols (PP) en tant qu'antioxydants naturels. Les résultats d'optimisation montrent que la méthode microonde peut être une alternative à la méthode conventionnelle pour extraire les PP d'oignon rouge. Les résultats de l'activité antioxydant sur le DPPH montrent une amélioration du pouvoir antioxydant des huiles enrichies. De plus, l'évaluation de la stabilité oxydative par le test Rancimat, montre un effet pro oxydant de l'huile d'olive enrichie et un effet antioxydant pour l'huile de soja enrichie (temps d'induction passant de 16.6 pour l'huile non enrichie à 19.27 Heures). L'ajout de 25 ppm de polyphénols à l'huile de soja, évalué par le test de la friture a contribué à une meilleure stabilité thermique, par rapport à l'huile de soja non enrichie. Les polyphénols d'oignon rouge peuvent être une source naturelle d'antioxydants.

Mots-clés : huile végétal, optimisation, composés phénolique, oignon rouge (*Allium cepea*), enrichissement.

Abstract

The aim of our study consists on the one hand with the optimization of the extraction by microwave of red onion's polyphenols (*Allium Cepea*), using the Method of Surface of Answer. Various factors are studied: concentration of solvent, time, power as well as the solid report/ratio/liquid. Of another share, the enrichment of the olive oil and the soya oil in order to develop the extracts of the polyphenols (PP) as natural antioxydants. The results of optimization show that the method microwave can be an alternative to the conventional method to extract PP of onion red. The results of the scavenging activity of DPPH show an improvement of providing antioxydant with enriched oils. Moreover, the evaluation of oxidative stability by the Rancimat test shows a pro effect oxidizing of the enriched olive oil and an antioxydant effect for the soya oil enriched (time of induction passing of 16.6 for the oil not enriched at 19.27 Hours). The addition of 25 ppm of polyphenols to the soya oil, evaluated by the test of the crackling contributed to a better thermal stability, compared to the not enriched soya oil. The red onion's polyphenols can be considered as natural source of antioxydants.

Key words: vegetable oil, phenolic compounds, optimization, red onion (*Allium cepea*), enrichment.